

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní obor: Biologie
Studijní program: Antropologie a genetika člověka



Bc. Viktória Königová

Vliv ontogeneze endostu na chybu měření biomechanických parametrů transverzálního průřezu kosti stehenní

The effect of the growth and development of the endosteal surface on the estimation of cross-sectional properties

Diplomová práce

Školitel: doc. Mgr. Vladimír Sládek, Ph.D.

Praha, 2022

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 11. 8. 2022

.....
Viktória Königová

Poděkování:

Chtěla bych poděkovat svému školiteli, doc. Mgr. Vladimíru Sládkovi, Ph.D., za trpělivost při vedení mé diplomové práce a také za velmi přínosné konzultace, které pomohly nasměrovat moji práci. Ráda bych poděkovala také Mgr. Erikovi Mitro, za pomoc při matematickém zpracování metodiky. Dále bych ráda poděkovala členům Laboratoře antropologie kostní tkáně za ochotnou pomoc, sdílení jejich zkušeností, a především za vytváření inspirující a přátelské atmosféry.

Abstrakt

Ve studiích zabývajících se metodikou měření biomechanických parametrů transversálního průřezu na základě mikro-CT snímků dlouhých kostí nedospělých jedinců byla zjištěna největší chyba měření při použití automatické metody vyznačení endostálního obrysu. Zároveň byl pozorován pokles chyby měření s věkem. Cílem této práce je vytvoření kritéria umožňujícího spolehlivé použití automatické metody vyznačení endostálního obrysu u nedospělých jedinců na základě ontogenetických změn nepravidelnosti tvaru endostálního obrysu. Tvar endostálního obrysu byl kvantifikován pomocí čtyř parametrů (cirkularita, solidita, kulatost a poměr os), které byly následně testovány na 91 jedincích od narození do rané dospělosti. Z ontogenetických změn tvaru endostálního obrysu jsme pozorovali signifikantní pokles míry členitosti, který byl nejvíce patrný na změnách cirkularity. Na základě cirkularity bylo vytvořeno kritérium pro použití automatické metody vyznačení endostálního obrysu. Cirkularita automaticky vyznačeného endostálního obrysu signifikantně predikuje, jestli chyba měření parametrů průřezové geometrie při použití automatické metody přesáhne hranici 5 % procentuální predikční chyby. Aplikace kritéria minimální hranice cirkularity (0,83 pro MA, 0,71 pro CA a 0,7 pro Z_P) umožní spolehlivé použití časově úsporné automatické metody vyznačení endostálního obrysu pro měření parametrů průřezové geometrie u nedospělých jedinců.

Klíčová slova:

cirkularita, endost, chyba měření, mikro-CT, nedospělí jedinci, průřezová geometrie

Abstract

Past studies concerning deriving periosteal and endosteal contours from micro-CT scans of non-adult long bones found the greatest error to stem from the automatic processing of the endosteal contours. Furthermore, with increasing age, a decrease in the estimation error of the cross-sectional properties was observed. This study aims to identify the specific source of the estimation error and to optimize the use of the automatic method of deriving endosteal contours. Four parameters (circularity, solidity, roundness, and aspect ratio) were used to quantify the shape properties of the endosteal contour. These parameters were tested on 91 individuals from birth to early adulthood. As for the ontogenic changes in the endosteal contour, a continuous decrease in the jaggedness of the endosteal contour had been observed, mainly based on the changes in the circularity. Circularity was chosen as the parameter upon which the criteria of use of the automatic method of deriving the endosteal contour was based. The criterium is based on the prediction of whether the customary threshold of 5 % percent prediction error would be surpassed while using the automatic method at a certain level of circularity. Applying the criteria of the minimum threshold of circularity (0,83 for MA, 0,71 for CA, and 0,7 for Z_P) will allow reliable use of the automatic method of deriving endosteal contour for the computation of cross-sectional properties in non-adults.

Keywords:

circularity, cross-sectional geometry, endosteal contour, estimation error, micro-CT, non-adults

Seznam zkratek

%CA	<i>percent cortical area</i> ; relativní množství hutné kostní tkáně
%PE	<i>percent prediction error</i> ; procentuální predikční chyba
95 % LoA	<i>95 % limits of agreement</i> ; 95 % limity shody
A	<i>area</i> ; plocha
abs %PE	absolutní hodnota procentuální predikční chyby
A-P	antero-posteriorní
AR	<i>aspect ratio</i> ; poměr os
BMD	<i>bone mineral density</i> ; hustota minerálů v kostní tkáni
CA	<i>cortical area</i> ; plocha hutné kostní tkáně
CRC	<i>circulaity</i> ; cirkularita
CSG	<i>cross sectional geometry</i> ; geometrické uspořádání transverzálního průřezu
CT	<i>computed tomography</i> ; počítačová tomografie
Diff	rozdíl
EO	endostální obrys
I	<i>second moment of inertia</i> ; kvadratický moment plochy průřezu
Igf-I	<i>Insulin-like growth factor I</i> ; inzulinu-podobný růstový faktor
J	<i>polar second moment of area</i> ; polární kvadratický moment plochy průřezu
M-L	medio-laterální
MA	<i>medullary area</i> ; plocha dřevné dutiny
max	maximální
min	minimální
μCT	mikro-CT; <i>micro-computed tomography</i> ; mikro výpočetní tomografie
RD	<i>roundness</i> ; kulatost
ROI	<i>region of interest</i> ; selekce periostu a endostu v makru EPmacroJ
SD	směrodatná odchylka
SLD	<i>solidity</i> ; solidita
SMA	<i>second moment of area</i> ; kvadratický moment plochy průřezu
TA	<i>total area</i> ; celková (subperiostální) plocha příčného průřezu

x	medio-laterální osa
y	antero-posteriorní osa
Z	<i>section modulus</i> ; průřezový modul
Z _P	<i>polar section modulus</i> ; polární průřezový modul

Obsah

1. Úvod	1
2. Cíl práce.....	3
3. Mechanické vlastnosti kosti	4
4. Růst a vývoj dlouhé kosti	7
5.2. Modelace, remodelace a funkční adaptace kosti	9
5. Biomechanické parametry příčného průřezu dlouhé kosti	10
5.1. Plošné parametry	10
5.2. Kvadratický moment plochy průřezu	11
5.3. Průřezový modul	12
5.4. Chyba měření CSG parametrů	12
6. Materiál a metody.....	14
6.1. Odhad věku	14
6.2. Příčné průřezy	15
6.3. CSG parametry.....	15
6.4. Vyhodnocení endostálního obrysu	16
6.5. Statistické metody.....	17
6.5.1. Procentuální predikční chyba	18
6.4.2. Limity shody.....	19
8. Výsledky	20
8.1 Parametry nepravidelnosti endostálního obrysu.....	20
8.2. Změny parametrů endostálního obrysu v ontogenezi	20
8.3. Procentuální predikční chyba (%PE).....	22
8.3.1 Srovnání parametrů EO podle abs %PE.....	23
8.4. Limity shody.....	23
8.4.1 Srovnání parametrů EO podle 95 % limitů shody	24

9. Diskuse.....	25
9.1. Kvantifikace tvaru endostálního obrysu	25
9.2. Změny parametrů EO v ontogenezi.....	26
9.3. Kritérium pro použití automatické metody vyznačení endostu.....	28
10. Závěr	31
Použitá literatura.....	33
Přílohy.....	44

1. Úvod

Kost je dynamická tkáň, která se během života přizpůsobuje nárokům, které jsou na ni kladeny (Carter et al., 1996; Ruff et al., 1994; van Der Meulen et al., 1993). Vedle mechanické funkce, kdy kosti zajišťují pevnou oporu pohybové soustavy a musí tak odolávat mechanické zátěži kterou na ně působí svaly a síly z okolního prostředí (Lanyon et al., 1982; Ruff et al., 2006), plní kosti také funkci zásobárny minerálních látek (Confavreux, 2011; Copp & Shim, 1963). Ze změn ve struktuře a uspořádání kostní tkáně můžeme inferovat na životní podmínky a habituální fyzické aktivity minulých populací (Holt et al., 2018; Pearson, 2000; Ruff, 2017; Ruff et al., 1993, 2015; Sládek et al., 2006, 2016, 2017; Stock, 2006; Stock & Pfeiffer, 2001; Trinkaus et al., 1991, 1994; Trinkaus & Ruff, 1989). Adaptaci kostní tkáně na mechanickou zátěž můžeme zkoumat na základě geometrického uspořádání transversálního průřezu dlouhé kosti (Ruff, 2019). Výzkum funkční adaptace kostní tkáně na základě transversálního průřezu je široce aplikovaný přístup při studiu dospělých jedinců (Larsen et al., 2019; Miller et al., 2018; Rhodes & Knüsel, 2005; Ruff & Hayes, 1983; Sládek et al., 2016; Sparacello et al., 2020; Trinkaus, 1997; Trinkaus & Ruff, 1989; Zaki et al., 2015), nicméně studií zabývajících se průřezovou geometrií nedospělých jedinců není mnoho (Cowgill, 2010; Cowgill & Hager, 2007; Harrington, 2010; Lovejoy et al., 2003; Ruff, 2003; Ruff et al., 1994). Měření biomechanických parametrů průřezové geometrie dlouhých kostí nedospělých jedinců s sebou přináší limitace jednak v podobě často nedostatečné zachovalosti nedospělých koster (Bello et al., 2006) a zároveň v metodických přístupech, které jsou obvykle vyvinuty pro použití na dospělých kostech (Sládek et al., 2018, 2019).

Ve studii Sládka a kolektivu (2018) byla zkoumána závislost chyby měření parametrů průřezové geometrie kostí stehenní nedospělých jedinců na metodě (manuální, semiautomatické nebo automatické) vyznačení periostálního a endostálního obrysu. Bylo zjištěno, že největší chybu měření (nejmenší shoda s výsledky na základě plně manuálně vyznačených obrysů) vykazovaly hodnoty získané na základě plně automatické metody, přičemž větší procentuální predikční chyba (%PE) byla zjištěna pro endost a parametry na něm přímo závislé (%PE pro plochu dřevěné dutiny = 3,5–15,5 %), zatímco pro periost a celkovou plochu průřezu byla %PE menší (%PE pro celkovou plochu byla v rozsahu –1,26 až –0,12 %). Dále byl pozorován vztah mezi chybou měření a věkem jedinců, kdy jedinci z nejmladší věkové kategorie (*Infans Ia*) vykazovali větší chybu měření parametrů průřezové geometrie než jedinci z nejstarší hodnocené věkové kategorie (*Infans II*). Například pro polární sekční modul (Z_p) byla v kategorii *Infans Ia* zjištěna procentuální predikční chyba v rozsahu od –6,46 do 2,35,

a pro kategorii *Infans II* byla procentuální predikční chyba Z_P zjištěna v rozsahu od $-2,71$ do $2,00$ (Sládek et al., 2018). Pokles procentuální predikční chyby mezi kategoriemi *Infans Ia* a *Infans II* by mohl souviset s vývojovými změnami endostálního obrysu (Sládek et al., 2018).

Během ontogeneze dochází ke změnám tvaru a struktury endostu v souvislosti s růstem a remodelací dlouhých kostí. U jedinců do jednoho roku není endostální hranice ještě pevně definována vzhledem k probíhajícímu procesu endostální resorpce primární vláknité kosti (Cambra-Moo et al., 2014). Větší množství trabekulů zasahujících do dřevné dutiny a zvýšená míra porozity hutné kostní tkáně byly pozorovány také u dětí z věkové kategorie *Infans* (1-13 let; Cambra-Moo et al., 2014). Trabekuly v kombinaci s vysokou mírou porozity na endostální hranici se na příčných snímcích mohou projevit jako nepravidelnosti tvaru endostálního obrysu, které komplikují použití automatické metody vyznačení endostálního obrysu založené na automatickém prahování.

Možnost spolehlivého použití automatické metody vyznačení endostálního obrysu představuje významnou úsporu času a lidské práce oproti manuální metodě zpracování snímků zahrnující manuální vyznačení endostální hranice pozorovatelem. Identifikace příčiny vzniku rozporu mezi manuálním a automatickým vyznačením endostálního obrysu by umožnila vliv těchto příčin odfiltrovat a následně spolehlivě použít automatickou metodu.

2. Cíl práce

Hlavním cílem práce je optimalizace použití automatické metody vyznačení endostálního obrysu pro měření parametrů průřezové geometrie dlouhých kostí u nedospělých jedinců.

Prvním z dílčích cílů práce je vytvoření metody umožňující kvantifikaci tvaru a míry nepravidelnosti endostálního obrysu. Použití měřitelných parametrů popisujících nepravidelnost endostálního obrysu umožní objektivní posouzení vlivu míry nepravidelnosti endostu na chybu měření biomechanických parametrů příčného průřezu. Dále budou parametry tvaru a nepravidelnosti endostálního obrysu vztaženy k biologickým procesům, jejichž změny popisují.

Druhým cílem je vyzkoušet, nakolik použité parametry endostálního obrysu v praxi reflektují ontogenetické změny endostu. Předpokládáme, že míra nepravidelnosti endostálního obrysu se s věkem bude snižovat.

Třetím dílčím cílem je využití vytvořené metodiky kvantifikace tvaru endostu k nalezení kritéria, které by umožnilo minimalizovat chybu měření parametrů průřezové geometrie u nedospělých jedinců při použití automatické metody vyznačení endostálního obrysu.

3. Mechanické vlastnosti kosti

Důležitou funkcí kosti je odolávat zatížení, které vzniká působením svalů a mechanických sil z vnějšího prostředí. Působící síly v kostní tkáni vyvolávají mechanické napětí (*stress*; σ). Mechanické napětí je definováno jako síla F , která působí na jednotku plochy S , a můžeme ji vyjádřit pomocí vzorce $\sigma = \frac{F}{S}$ (Plánička & Kuliš, 2009). Mechanické napětí v materiálu způsobuje různou míru deformace (*strain*; ε) definované jako změna délky ΔL na jednotku délky L ; vyjádřeno vzorcem $\varepsilon = \frac{\Delta L}{L}$ (Plánička & Kuliš, 2009). Míra deformace materiálu se s rostoucím mechanickým napětím zvyšuje podle napětíově-deformační (*stress-strain*) křivky (Cole & van der Meulen, 2011; Plánička & Kuliš, 2009). Průběh napětíově-deformační křivky je specifický pro každý materiál a může se lišit i v závislosti na způsobu (směru, rychlosti, prudkosti) působení síly. Na Obrázku 1 je vynesena křivka s průběhem typickým pro jednorázové zatížení dlouhé kosti.

Na napětíově-deformační křivce (Obrázek 1) můžeme rozlišit několik oblastí, které vymezují chování materiálu za daných podmínek. V první fázi (lineární oblast) stoupá míra deformace úměrně k napětí. Konstanta této úměrnosti se nazývá Youngův modul pružnosti ($E = \frac{\sigma}{\varepsilon}$) a vyjadřuje míru pružnosti (elasticity) materiálu (Plánička & Kuliš, 2009). Oblast elastické deformace je shora ohraničena mezí kluzu. Pokud bude na kost působit napětí přesahující mez kluzu, dochází k plastické deformaci. Plastická deformace způsobuje nevratné změny materiálu. U kostí se plastická deformace projevuje vznikem mikrofraktur uvnitř struktury kostní tkáně (Robling et al., 2006), jejichž vznik je předpokládaným spouštěčem reparačních a remodelačních procesů (Heino et al., 2009; Heinonen et al., 2002). Oblast plastické deformace, kde se projevuje pevnost kosti, je ukončena v bodě zvaném mez pevnosti. Mez pevnosti označuje maximální napětí, kterému je kost schopná odolávat při daném typu zatížení. Za touto hranicí již nedochází ke zvyšování mechanického napětí v materiálu, při dalším působení síly dochází ke zlomení kosti, definovanému bodem zlomu (Cole & van der Meulen, 2011; Nordin & Frankel, 2001; Plánička & Kuliš, 2009).

Rozlišujeme čtyři základní typy mechanického zatížení: tlak, tah, ohyb, smyk a krut (Goodno & Gere, 2020). Při tlaku dochází k působení sil proti sobě v jedné ose kolmé na průřez kosti, při tahu se jedná o síly působící od sebe. Ohyb je kombinací tlaku na konkávní straně ohýbané kosti a tahu na straně konvexní. Pokud působí síly proti sobě rovnoběžně s průřezem kosti, dochází ke smyku. Při krutu dochází ke kroucení materiálu kolem podélné osy a jedná se o kombinaci tlaku, tahu a smyku. Za fyziologických podmínek jsou lidské dlouhé kosti

nejčastěji vystavovány zatížení ohybem a krutem (Pearson & Lieberman, 2004). Míra odolnosti kosti vůči mechanickému zatížení je dána dvěma parametry: mechanickými vlastnostmi materiálu (kostní tkáň) a prostorovým uspořádáním (struktura a rozložení kostní tkáň kolem osy zatížení).

Kostní tkáň se skládá z buněk a mezibuněčné hmoty, která hraje zásadní roli pro mechanickou odolnost kosti (Nyman & Makowski, 2012). Mezibuněčná hmota kosti je dvousložkový materiál tvořený organickou a anorganickou složkou, které zajišťují pevnost a zároveň pružnost kosti (Nordin & Frankel, 2001). Organická složka, ossein, je tvořena svazky kolagenních vláken obklopenými amorfni hmotou. Význam pro mechanické vlastnosti má také množství přítomné vody, protože míra hydratace ovlivňuje pružnost a odolnost kolagenu (Granke et al., 2015; Hollinger et al., 2004). Kolagen je hlavní složkou zajišťující pružnost kosti, tedy odolnost vůči zlomení. Anorganickou složkou kostní tkáň tvoří minerální látky, které v kostní tkáni zajišťují pevnost, tedy odolnost kosti vůči ohybu. Nejvíce zastoupený je kalcium fosfát převážně ve formě krystalického hydroxyapatitu $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ (Ruben & Bennett, 1987).

Podíl anorganické složky v kostní tkáni se mění s věkem. Zatímco u nedospělých jedinců tvoří minerální látky jen asi 48 % hmotnosti kosti, u dospělých tvoří až 65 % (Pearson & Lieberman, 2004). Množství minerálů v kostní tkáni (BMD; *bone mineral density*) je podmíněno geneticky (Arden et al., 2009; Danielson et al., 1999), z enviromentálních faktorů hraje významnou roli dostatek vápníku ve stravě (Ruiz et al., 1995) v kombinaci s dostatkem vitamínu D (Bischoff-Ferrari et al., 2001) a mírou mechanického zatížení kostí (Conroy et al., 1993; Snow-Harter et al., 1990; Teegarden et al., 1995; Welten et al., 2009). Velký význam při budování BMD má adekvátní mechanická zátěž spojená s fyzickou aktivitou v mladém věku (Karlsson et al., 2000) a především během puberty (Kontulainen et al., 2013; Kröger et al., 1993).

Z hlediska mechanické odolnosti kosti je BMD důležitým (Currey, 1969; Zumstein et al., 2012), ale ne rozhodujícím parametrem. Stěžejním faktorem je struktura a prostorové uspořádání kostní tkáň (Felsenberg & Boonen, 2005). Podle míry strukturální organizace rozlišujeme trámčitou a kompaktní (hutnou) kostní tkáň (Currey, 2002). Z hlediska složení se od sebe trámčitá a hutná kostní tkáň nijak neliší, rozdíl mezi nimi je dán mírou porozity (Scheuer & Black, 2000). Trámčitá kostní tkáň je typicky přítomná uvnitř těl obratlů, krátkých kostí, konců dlouhých kostí a v místech úponu svalů. Hutná kostní tkáň tvoří těla dlouhých kostí a nachází se také na povrchu kloubních ploch (Currey, 2002).

Významným parametrem mechanické odolnosti dlouhých kostí je rozložení hutné kostní tkáně na příčném průřezu (Ruff, 2019). Plocha hutné kostní tkáně je na příčném průřezu ohraničena zevně vazivovým periostem kryjícím povrch kosti. Na vnitřní straně je plocha hutné kostní tkáně od dřevnaté dutiny nacházející se uvnitř kosti oddělena vrstvou vaziva – endostem. Dovnitř dřevnaté dutiny vybíhají spikuly trámčité kosti. Podíl trámčité kosti na příčném průřezu klesá s věkem a zároveň od konců směrem do středu těla dlouhé kosti. Rozložení, tvar, míra mineralizace i míra porozity kostní tkáně na příčném průřezu se s věkem mění v závislosti na vývoji mechanických nároků kladených na kosti v souvislosti s vývojem pohybu (Cowgill et al., 2010; Swan et al., 2020). K adaptaci dlouhých kostí na mechanickou zátěž dochází jak v rámci evoluce tak během ontogeneze nejčastěji změnou geometrického uspořádání hutné kostní tkáně na příčném průřezu (Burr et al., 2002; Erickson et al., 2002; Seeman, 2008). Morfologická variabilita i mechanická odolnost dlouhých kostí vzniká postupně během ontogeneze a k jejímu pochopení je klíčové porozumění základním principům vývoje kostní tkáně (Burr & Organ, 2017).

4. Růst a vývoj dlouhé kosti

Proces vzniku kosti se nazývá osifikace. Při osifikaci dlouhých kostí dochází k nahrazování chrupavčitého modelu kostní tkáně (Mackie et al., 2008). Podle lokalizace v chrupavce rozlišujeme dva typy chondrogení osifikace. Perichondrální osifikace probíhá na povrchu chrupavky, technicky procesem osifikace ve vazivu, kdy osteoblasty vznikají diferenciací buněk mezenchymatické vrstvy perichondria (Eames et al., 2003), a uplatňuje se při vzniku kostěného pláště diafýzy, centrální části rostoucí dlouhé kosti. Uvnitř chrupavky probíhá enchondrální osifikace, při které působením růstového hormonu a hormonů štítné žlázy dochází ke stimulaci chondrocytů, jejich množení, řazení do sloupečků, hypertrofii a postupné degeneraci (Mackie et al., 2008). Následně dochází k proniknutí cévy, která do centra chrupavky přináší mezenchymatické buňky, ze kterých se diferencují osteoblasty a buňky primitivní kostní dřevě (Walzer et al., 2014). Osteoblasty produkují organickou extracelulární hmotu bohatou na kolagen I. typu, kterou následně mineralizují (Walsh, 2015). Osteoblasty obklopené mineralizovanou kostní hmotou se přeměňují v osteocyty a vzniká kostní tkáň – primární osifikační jádro (Stout & Crowder, 2011). Z primárního osifikačního jádra se kostní tkáň v podobě neuspořádaných trámečků rozšiřuje směrem k obvodu vznikající kosti a k oběma koncům diafýzy (Shapiro & Wu, 2019).

Chrupavčitý model kosti stehenní se začíná tvořit šest týdnů po oplození (Gardner & Gray, 1970). Na konci embryonální fáze, v osmém týdnu, je chrupavčitý model již vytvořen a je zahájena perichondrální osifikace kostního pláště (Gardner & Gray, 1970). Primární osifikační jádro kosti stehenní se objevuje v devátém týdnu prenatalního vývoje (Bagnall et al., 1982) a na začátku čtvrtého fetálního měsíce osifikace dosahuje konců diafýzy (Burr & Organ, 2017). Procesem osifikace vzniká neuspořádaná síť primární vláknité kosti. Vláknitá kost ve středu diafýzy je odbourávána a začíná se tvořit dřevná dutina která se rychle rozšiřuje směrem k oběma koncům diafýzy (Hollinger et al., 2004).

Perinatálně tvoří vláknitá kostní tkáň ještě většinu mineralizované části kostí a postupně je nahrazována lamelárním typem kostní tkáně, který se vyznačuje vyšší mírou organizace (Cambra-Moo et al., 2014). Po obvodu diafýzy dohází k fúzi trámců enchondrálně osifikujícího jádra s periostálním pláštěm. Působením mechanických sil dochází k paralelnímu uspořádání kolagenních vláken a vápenatých krystalů po směru zatížení (Currey, 2002). Postupně se zvyšuje míra organizace a jednotlivé trámce vytvářejí propojenou síť trabekulární (trámčité) kostní tkáně (Hollinger et al., 2004). Po obvodu diafýzy se objevuje hutná kostní tkáň organizovaná do lamel. Postnatálně probíhá sekundární osifikace a vznikají Haversovy

systemy, ve kterých lamely tvoří soubor koncentrických vrstev kostní tkáně uložené kolem centrálního kanálku obsahujícího cévu (Hollinger et al., 2004).

Konce dlouhých kostí vznikají na základě sekundárních osifikačních jader, ze kterých procesem enchondrální osifikace vznikají epifýzy (Scheuer & Black, 2000). Kost stehenní má čtyři sekundární osifikační jádra. Kromě osifikačních jader pro proximální a distální epifýzy také samostatná osifikační jádra pro apofýzy velkého a malého chocholíku (Panattoni et al., 2000; Serrat et al., 2007). Osifikační jádro distální epifýzy se u zdravých jedinců objevuje od 32. fetálního týdne (Gentili et al., 1984) a jeho přítomnost, tvar a velikost je sledována při posuzování donošenosti plodu (Mahony et al., 1985). Sekundární osifikační jádra proximální epifýzy a apofýz velkého a malého chocholíku (v tomto pořadí) jsou patrná až po narození, v šesti měsících, ve čtyřech a ve dvanácti letech (Dhawan et al., 2014).

Mezi epifýzou a diafýzou se nachází oblast zvýšené proliferační a hypertrofické aktivity, epifyzální růstová ploténka, která umožňuje longitudinální růst dlouhé kosti (Scheuer & Black, 2000). Růstová chrupavka je ovlivňována hormonálně pomocí růstového faktoru Igf-1 (Mackie et al., 2011). Proliferační aktivita epifyzální ploténky a s ní spojený růst jsou podmíněny přiměřeným mechanickým zatěžováním kosti (Frost, 1990b; LeVeau & Bernhardt, 1984). Na konci puberty dochází k vyčerpání proliferačního potenciálu růstové chrupavky, která se následně uzavírá (srůst epifýzy a diafýzy), čímž je ukončen longitudinální růst kosti (Smith, 1962).

Společně s longitudinálním růstem dochází také k růstu kosti do šířky. Oba procesy jsou vzájemně synchronizovány, takže růst kosti do šířky je úměrný longitudinálnímu růstu, čímž je kompenzován nárůst míry mechanického zatížení v důsledku prodloužení ramene páky působících sil (Rauch, 2005). Růst kosti do šířky a s tím spojená modelace tvaru diafýzy probíhá prostřednictvím apozice a resorpce kostní tkáně na periostálním a endostálním povrchu (Goda et al., 2016). V období růstu převažuje apozice na periostálním povrchu, která je doprovázena endostální resorpcí (Ruff et al., 1994). Tím dochází k přesouvání hutné kostní tkáně dál od středu kosti a ke zvětšování dřevné dutiny (Pearson & Lieberman, 2004). Rychlost a vzájemná koordinace periostální apozice s endostální resorpcí dávají základ budoucímu rozložení hutné kostní tkáně na příčném průřezu a tím i mechanické odolnosti kosti. Tyto procesy jsou částečně determinovány geneticky (Blank, 2001; Havill et al., 2013; Pandey et al., 2009), dále jsou podmíněny hormonálně (Walsh, 2015) a v neposlední řadě také mírou a typem mechanické zátěže (Frost, 1990a; Ruff et al., 1994). Obecně lze říci, že zatímco mechanická zátěž se projevuje zvýšenou mírou periostální apozice (Bass et al., 2002),

systemové faktory, jako například nutriční nebo zdravotní stav, se projeví spíše na endostálním povrchu kosti (Garn et al., 1969; Krempien, 1979; Van Gerven et al., 1985).

Kosti nedospělých jedinců reagují na biomechanické i fyziologické vlivy citlivěji, než kosti dospělých (Ruff et al., 1994; Skedros et al., 2007; Steinberg & Trueta, 1981; Wallace et al., 2017). Struktura kostí vzniklá v důsledku habituální fyzické aktivity před dosažením puberty přetrvává do dospělosti (Lovejoy et al., 2003; Sumner & Andriacchi, 1996; Warden et al., 2014). Robusticita, neboli celková mechanická odolnost dospělé kosti, je do velké míry determinována mírou a typem mechanické zátěže, které na kost působí v období růstu, především před pubertou (Tan et al., 2014; Warden et al., 2014). Výrazný vliv na robusticitu kostí má mechanická zátěž zejména v raném období puberty (Ducher et al., 2011). Studie provedená na pre-, peri- a post-pubertálních tenistkách indikuje, že se zvýšenou mírou fyzické zátěže před dokončením puberty dochází ke zvýšení míry periostální apozice. Naopak po ukončení puberty převažovala adaptace pažní kosti hrající končetiny na zátěž prostřednictvím endostální apozice (Bass et al., 2002; Kontulainen et al., 2002). Postpubertální přechod od periostální k endostální apozici je dán zvýšenou hladinou estrogenu, který zabraňuje endosteální resorpci kostní tkáně (Edwards et al., 1992; Wang et al., 2006).

5.2. Modelace, remodelace a funkční adaptace kostí

Modelace a remodelace kostní tkáně je stimulována především působením mechanického napětí, které vzniká působením gravitace a svalové aktivity na kostní tkáň (Frost, 1987; Huiskes et al., 2000; Ruff et al., 2006). V průběhu ontogeneze dochází k modelaci kosti takovým způsobem, aby co nejlépe odolávala běžné míře deformace způsobené mechanickým zatížením (Pearson & Lieberman, 2004; Ruff et al., 2006). Pokud je kost vystavována zvýšené mechanické zátěži, například zvýšením tělesné hmotnosti nebo svalové aktivity, reaguje zvýšením výstavby nové kostní tkáně takovým způsobem, aby lépe odolávala zátěži a bylo opět dosaženo optimální míry běžné mechanické deformace (Lanyon, 1992). Předpokládaným impulsem pro zahájení remodelace je vznik a následná reparace mikrofraktur uvnitř kostní tkáně, způsobených napětím lokálně přesahujícím mez kluzu (Robling et al., 2006). Stejně tak dochází k resorpci kostní tkáně v situaci, kdy kosti nejsou vystaveny zatížení, například při paralýze nebo dlouhodobém snížení aktivity (Ruff et al., 2006). Princip reakce kostní tkáně na mechanickou deformaci je známý jako „funkční adaptace kostí“ (Lanyon, 1987; Ruff et al., 2006) a vychází z konceptu mechanické regulace formování kostí známého jako „Wolffův zákon“ (Bertram & Swartz, 1991; Ruff et al., 2006; Wolff, 1870 podle překladu Wolff, 2010). Funkční adaptace kosti je dosaženo prostřednictvím strukturních změn uspořádání kostní tkáně

(Goodship et al., 1979; Parfitt et al., 2000), které během růstu a vývoje obvykle zahrnují celkový nárůst množství hutné kostní tkáně, dále také přestavbu vnitřní organizace kostní tkáně a změny ve vnější morfologii kosti (Cole & van der Meulen, 2011).

5. Biomechanické parametry příčného průřezu dlouhé kosti

Kvantifikace mechanické odolnosti dlouhých kostí na základě geometrického uspořádání hutné kostní tkáně na transverzálním průřezu (*cross sectional geometry*, CSG) vychází z předpokladu, že dlouhá kost se při působení mechanických sil bude chovat podobně jako nosník (Huiskes, 1982). Nosič je v klasické mechanice definovaný jako těleso, jehož jeden rozměr je výrazně delší než zbývající dva rozměry (Bauchau & Craig, 2009). Eulerova-Bernoulliho hypotéza (známá jako teorie nosníku) dále předpokládá, že při ohýbání nosníku podél osy procházející těžištěm ve směru nejdelšího rozměru (tj. neutrální osa) zůstává plocha příčného průřezu v každém bodě kolmá na neutrální osu ohybu a mechanické zatížení materiálu se se vzdáleností od neutrální osy zvyšuje (Bauchau & Craig, 2009). Z přirovnání těla dlouhé kosti k nosníku ve tvaru trubky (prut s pláštěm a dutinou, Currey, 2002) vyplývá, že stěžejním předpokladem mechanické odolnosti dlouhé kosti je (vedle materiálových vlastností kostní tkáně) množství hutné kostní tkáně a její rozložení na příčném průřezu ve vztahu k neutrální ose (Cole & van der Meulen, 2011; Goodno & Gere, 2020; Nordin & Frankel, 2001). Na základě geometrických parametrů plochy průřezu kolmého k neutrální ose je tak možné kvantifikovat mechanickou odolnost dlouhé kosti vůči zátěži.

Biomechanické parametry příčného průřezu dlouhé kosti (dále je v této práci používán pojem „CSG parametry“) můžeme rozdělit na tři skupiny: plošné parametry, kvadratické momenty plochy průřezu a průřezové moduly. Jednotlivé parametry jsou včetně jednotek a definic uvedeny v Tabulce 1 a podrobněji jsou popsány v následujících podkapitolách.

5.1. Plošné parametry

Plošné parametry vyjadřují množství kostní tkáně na příčném průřezu kosti. Plocha pod vnější hranicí průřezu kosti, za živa ohraničená periostem, se označuje jako celková plocha průřezu (TA; *total area*). Celková plocha průřezu je endostem rozdělená na vnější oblast: plochu hutné kostní tkáně (CA; *cortical area*) a vnitřní oblast: plochu dřevňové dutiny (MA; *medullary area*). Někdy se udává také parametr %CA (*percent cortical area*), který vyjadřuje relativní množství hutné kostní tkáně na příčném průřezu (Ruff et al., 1993). Přímý mechanický význam plošných parametrů je ale u člověka omezený, protože množství hutné kostní tkáně na příčném průřezu přímo ovlivňuje pouze odolnost kosti vůči mechanické zátěži (tlaku a tahu)

působící v těžišti ve směru dlouhé osy kosti (Trinkaus & Ruff, 1989). Tento typ zatížení dlouhých kostí je u člověka velmi vzácný, nejvíc se mu blíží zatížení metatarsálních kostí kopytníků (Lieberman et al., 2004). U člověka mají plošné parametry především morfologický význam a často jsou sledovány v souvislosti s ontogenetickými změnami kostí (Ruff, 2019).

5.2. Kvadratický moment plochy průřezu

Dlouhé kosti člověka jsou za fyziologických podmínek obvykle vystavovány zatížení v ohybu a v krutu (Pearson & Lieberman, 2004; Ruff, 2019). Veličina vypovídající o pružnosti¹ kosti v ohybu je kvadratický moment plochy průřezu (SMA; *second moment of area*), častěji označovaný I (*cross-sectional moment of inertia*; průřezový moment setrvačnosti; Goodno & Gere, 2020). Kvadratické momenty plochy průřezu pro ohyb se stanovují vůči ose ohybu procházející průřezem. Osa, ke které je SMA vztažen je indikována dolním indexem. Obvykle se SMA stanovují k anatomickým osám, I_x pro ohyb podle M-L (medio-laterální) osy a I_y pro ohyb kolem A-P (antero-posteriorní) osy, nebo k osám s maximální (I_{max}) a minimální (I_{min}) odolností vůči deformaci v ohybu (viz Obrázek 2).

Úhel, který svírá osa maximální odolnosti vůči deformaci s osou x , se popisuje řeckým písmenem θ (théta) a využívá se například ve studiích zaměřených na změny hlavního směru působení mechanické zátěže na kost, například v kontextu ontogeneze (Goldman et al., 2009; Swan et al., 2020). SMA se vypočítá jako integrál součinu nekonečně malých částí plochy hutné kostní tkáně a druhé mocniny vzdálenosti pomyslného středu těchto ploch od osy ohybu:

$$I_x = \int y^2 dA$$

$$I_y = \int x^2 dA$$

Pro zatížení v krutu se stanovuje polární kvadratický moment plochy průřezu (označovaný J nebo I_p) vůči těžišti průřezu, které se používá jako aproximace pro neutrální osu (Ruff, 2019). Polární kvadratický modul může sloužit také jako ukazatel celkové odolnosti kosti vůči deformaci v ohybu (Trinkaus & Ruff, 1989). Polární kvadratický moment plochy průřezu

¹ Pružnost je definována jako „odolnost vůči defomaci“ (Mrňák & Drla, 1981). Anglický termín *bending/torsional rigidity* (Ruff, 2019) by bylo vhodnější přeložit jako „nepružnost v ohybu/krutu“, protože s rostoucím SMA zároveň roste množství síly potřebné k ohnutí/zkrutu kosti (Goodno & Gere, 2020).

se vypočítá jako součet kvadratických momentů plochy průřezu podle dvou na sebe kolmých os, tedy:

$$J = I_x + I_y$$

nebo

$$J = I_{max} + I_{min}$$

Výsledná hodnota polárního i ostatních kvadratických momentů plochy průřezu se udává v mm^4 (Goodno & Gere, 2020). Při interpretaci konkrétních naměřených hodnot SMA je vhodné brát v potaz, že při reálném zatěžování kosti při pohybu neutrální osa těžištěm průřezu neprochází, jak bylo experimentálně dokázáno *in vivo* na ovčím modelu (Lieberman et al., 2004).

5.3. Průřezový modul

Pevnost neboli odolnost kosti vůči zlomení je charakterizována průřezovými moduly (Z ; *section modulus*) pro zatížení v ohybu a polárním průřezovým modulem (Z_P ; *polar section modulus*) pro zatížení v krutu. Průřezové moduly jsou stejně jako SMA stanoveny vůči osám ohybu (nebo vůči těžišti pro krut) a jsou odvozeny od SMA podle odpovídající osy vztažené na vzdálenost vnějšího okraje plochy průřezu od dané osy ohybu, nebo od těžiště při krutu (Ruff, 2019). Vzdálenost vnějšího okraje plochy průřezu od osy ohybu hraje zásadní roli v odolnosti vůči zátěži, protože napětí, které vzniká působením síly na kost roste se vzdáleností od neutrální osy (Currey, 2002). Paralelně k SMA se průřezové moduly obvykle stanovují k anatomickým osám (Z_x pro ohyb podle M-L osy a Z_y pro ohyb podle A-P osy) a k osám s maximální (Z_{max}) a minimální (Z_{min}) odolností (Ruff, 2019). Polární průřezový modul se rovněž používá jako proxy pro celkovou pevnost kosti a je vhodným parametrem pro interpretaci relativní mechanické odolnosti dlouhých kostí dolní končetiny (Pearson & Lieberman, 2004). Polární sekční modul je často využíván v retrospektivních studiích habituálních aktivit a lokomoce (Ruff et al., 2015; Sládek et al., 2006; Sládek, Berner, et al., 2017; Stock, 2006; Stock & Pfeiffer, 2001, 2004).

5.4. Chyba měření CSG parametrů

Měření CSG parametrů se provádí na základě vyhodnocení transversálního průřezu dlouhé kosti (Ruff & Larsen, 2014), který může být získán destruktivní metodou nebo z přirozeně zlomených kostí (Lovejoy et al., 1976), nebo prostřednictvím moderních

zobrazovacích metod (CT, mikro-CT; O'Neill & Ruff, 2004), které umožňují zpracování mnohem větších souborů. Při zpracování snímků je stěžejním krokem vyznačení periostální a endostální hranice a to manuálně, kdy hranice stanovuje sám výzkumník, semiautomaticky, nebo automaticky, kdy je k vyznačení periostální a endostální hranice používán počítačový program (Sládek et al., 2018, 2019). Manuální vyznačení hranice je považováno za přístup nejvíce se blížící skutečným hodnotám (Sparacello & Pearson, 2010). Standardně je za akceptovatelnou chybu měření pro vyznačení periostálního a endostálního obrysu považována hranice 5 % (O'Neill & Ruff, 2004; Stock, 2002; Trinkaus & Ruff, 1989).

U nedospělých jedinců vzniká chyba měření CSG parametrů při vyznačení endostální hranice (Sládek et al., 2018), protože endostální povrch není u nedospělých jedinců jasně definován kvůli trámčině zasahující do dřevné dutiny (Gosman et al., 2013). Vyšší chyba měření endostu pro interpretaci mechanických vlastností kostní tkáně nemusí být klíčovým problémem, protože pro stanovení mechanických vlastností je nejdůležitější periostální obrys (MacIntosh et al., 2013). Výsledky vyhodnocení biomechanických vlastností na základě celkového uspořádání průřezu jsou vhodnější pro detailnější analýzy, nebo při srovnávání jedinců v rámci jedné populace (Sparacello & Pearson, 2010). Vliv změn velikosti dřevné dutiny a relativního množství hutné kostní tkáně je významným faktorem při zkoumání změn souvisejících s ontogenezí (Ruff et al., 1994; Ruff & Larsen, 2014) a mohou poukázat také na vliv nemechanických faktorů na organizaci kostní tkáně (Garn et al., 1969; Ruff, 1999).

6. Materiál a metody

Kosterní materiál zahrnoval kosti stehenní 91 nedospělých jedinců pocházejících z lokalit Pohansko 2. kostel (n = 42) a Mikulčice (n = 49). Obě lokality jsou datovány do období Velké Moravy, na přelomu 9. a 10. století n. l. (Poláček, 2008; Sládek & Macháček, 2017). Preferenčně byly použity levé kosti stehenní. U osmi jedinců, jejichž levá kost stehenní nebyla zachována nebo byla poškozená, byla v zájmu zachování velikosti souboru použita pravá kost stehenní. Na základě předchozích studií lze předpokládat, že míra stranové asymetrie kostí stehenních je zanedbatelná a nemá vliv na měření CSG parametrů (Auerbach & Ruff, 2006; Ruff & Hayes, 1983). Soubor byl posuzován bez ohledu na pohlaví jedinců. Pohlaví nedospělých jedinců nebylo zjišťováno, jelikož u nedospělých jedinců nejsou mezi pohlavími významné morfologické rozdíly a ačkoli existují morfologické metody umožňující odhad pohlaví nedospělých jedinců, nejsou jejich výsledky příliš spolehlivé (Harrison, 2019). Navíc při odhadu CSG parametrů nemá pohlaví významný efekt ani u dospělých jedinců (O'Neill & Ruff, 2004). Posuzované kosti nebyly poškozené (Sládek & Makajevová, 2017) a nevykazovaly žádné viditelné patologické změny (Sládek et al., 2018).

6.1. Odhad věku

Odhad věku byl proveden v rámci studie (Sládek, Makajevová, et al., 2017) metodou založenou na hodnocení vývoje dentice (Ubelaker, 1987) a metodou založenou na délce diafýz (Stloukal & Hanáková, 1978). Věkové složení souboru zahrnuje jedince od narození až do rané dospělosti, početně nejvíce zastoupení jsou jedinci od 1 roku do 8 let. Početní zastoupení jednotlivých věkových kategorií v rámci obou lokalit je uvedeno v Tabulce 2.

Rozdělení jedinců do věkových kategorií bylo provedeno v návaznosti na předchozí práce (Sládek, Makajevová, et al., 2017). Kategorie *Infans Ib* byla navíc rozdělena na *Infans Ib.1*, zahrnující jedince od jednoho roku do tří let, a *Infans Ib.2*, zahrnující jedince od tří do sedmi let. Toto rozdělení bylo použito, aby bylo možné sledovat změny v souvislosti s vývojem chůze a typem zatížení dolních končetin (Cowgill et al., 2010). Věkové vymezení a rozdělení kategorie *Infans Ib* je založeno na obecných vývojových etapách dle (*Centers for Disease Control and Prevention*, CDC, 2021), které reflektují psychomotorický vývoj dítěte a s tím související vývoj chůze.

6.2. Příčné průřezy

V práci byly použity snímky transverzálních průřezů diafýzy získané prostřednictvím mikro výpočetní tomografie (μ CT). Snímání kostí bylo provedeno v rámci studie Sládka a kolektivu (2018) na přístroji GE PHOENIX V|TOME|X L240 za použití rentgenové trubice o výkonu 240 kV/320 W. Rozlišení bylo nastaveno v závislosti na věkové kategorii a velikosti jednotlivých diafýz na velikost voxelu v rozmezí 0,05 až 0,186 mm (Sládek et al., 2018). Při skenování byly diafýzy po 4 až 7 kusech umístěny a fixovány v papírových tubusech. Následně byla každá kost v programu VGSTUDIO virtuálně srovnána do anatomické polohy pomocí 3 os: longitudinální osa spojující anteriorní body na proximálním a distálním konci, osa spojující laterální body na obou koncích diafýzy a třetí osa spojující mediální a laterální body na povrchu metafýz. Kolmo na vytyčené osy byly pořízeny snímky transverzálních průřezů diafýzy (Sládek et al., 2018).

Z každé diafýzy byl vybrán jeden snímek reprezentující transverzální průřez v 50 % délky. Na snímcích byly v programu FIJI (Schindelin et al., 2012) vyznačeny periostální a endosteální obrysy. Vyznačení obrysů bylo provedeno manuálně a automaticky. Při manuálním vyznačení byly pozorovatelem umístěny vzájemně propojené body na vnější (pro periostální obrys) a na vnitřní (pro endosteální obrys) hranici hutné kostní tkáně. V případě, že endosteální hranice nebyla jasně definována kvůli trabekulům zasahujícím do oblasti dřevné dutiny, byl endostální obrys manuálně vyznačen tak, aby zachycoval vnitřní hranici hutné kostní tkáně. Podle studie Ruff & Hayes (1983) trabekuly zasahující do dřevné dutiny ve střední části těla dlouhé kosti přispívají pouze minimálně k celkovým mechanickým vlastnostem kosti, a tudíž by při výpočtu neměly být započítány do plochy hutné kostní tkáně. Při automatickém vyznačení byla využita funkce automatického prahování v programu FIJI, která periostální i endosteální obrys vyznačila na základě stanovené minimální intenzity šedé barvy (metoda podle Prewitt & Mendelsohn, 1966). Rozdíl mezi manuálně a automaticky vyznačenými obrysy je zobrazen na Obrázku 3.

Automatické i manuální vyznačení obrysů bylo provedeno v rámci studie Sládka a kolektivu (2018).

6.3. CSG parametry

Na základě manuálně i automaticky vyznačených obrysů byly pro každý snímek v programu FIJI s implementací makra EPmacroJ (Sládek et al., 2018) vypočítány CSG parametry. Měřeny byly plošné parametry (TA, CA a MA) a průřezové moduly (Z_x , Z_y a Z_p).

Vlastnosti a výpočet jednotlivých CSG parametrů jsou popsány ve čtvrté kapitole a shrnuty v Tabulce 1.

Tato práce je zaměřena na rozdíly v naměřených hodnotách vzniklé rozdílným způsobem digitalizace endostu, tudíž z CSG parametrů naměřených v rámci studie Sládka a kolektivu (2018) byla pro tuto práci využita data získaná na základě snímků s manuálně vyznačeným periostem v kombinaci s manuálně a automaticky vyznačeným endostem. Pro účely této práce byly za “*true value*” považovány výpočty založené na kompletně manuálně vyznačených obrysech, které byly srovnávány s daty získanými ze snímků s automaticky vyznačeným endostálním obrysem. Hodnocenými CSG parametry byly CA, MA a Z_P.

6.4. Vyhodnocení endostálního obrysu

Tvarové parametry EO byly měřeny v programu FIJI. Pro analýzu byly použity snímky příčných průřezů diafýzy kosti stehenní zpracované v rámci studie Sládek a kol. (2018), které zahrnovaly vyznačené endostální a periostální obrysy. Pro každý snímek byla vyvolána selekce (*region of interest*, ROI) automaticky vyznačeného endostálního obrysu, který byl analyzován pomocí funkce “*Measure*”. Byla sbírána data pro obvod (*Perimeter*), obsah (*Area*), cirkularitu (*Circularity*, CRC), soliditu (*Solidity*, SLD), poměr os (*Aspect ratio*, AR) a kulatost (*Roundness*, RD).

Cirkularita vyjadřuje poměr mezi plochou a obvodem útvaru adjustovaný tak, aby výsledkem byly hodnoty na škále mezi 0 a 1, kdy hodnota $CRC = 1$ odpovídá kruhu. Matematicky je cirkularita vyjádřena vzorcem

$$CRC = 4\pi \times \frac{S}{o^2}$$

kdy S vyjadřuje plochu a o obvod sledovaného útvaru. Pro výpočet cirkularity endostálního obrysu byla použita plocha dřevné dutiny (*medullary area*, MA) a jako obvod byla dosazena délka EO (viz Obrázek 4).

$$CRC = 4\pi \times \frac{MA}{\text{délka } EO^2}$$

Druhým použitým parametrem byla **solidita**. Solidita je vyjádřena jako poměr celkové plochy útvaru a plochy konvexního obalu (*convex hull area, chA*):

$$SLD = \frac{MA}{chA}$$

Konvexní obal si lze představit jako pevnou gumičku obepínající všechny vystupující body měřeného útvaru, čímž dojde k eliminaci úseků s konkávním průběhem (viz Obrázek 4). Solidita nabývá hodnot od 0 do 1, přičemž $SLD = 1$ odpovídá útvaru zcela bez úseků s konkávním průběhem.

Dalším testovaným parametrem byl **poměr os**. Jedná se o poměr nejdelší a nejkratší osy elipsy automaticky proložené přes vyznačený EO (viz Obrázek 4). Poměr os nabývá hodnot větších než 1, kdy $AR = 1$ odpovídá stejně dlouhým osám sledovaného útvaru. Výpočet poměru os byl proveden pomocí vzorce:

$$AR = \frac{\text{nejdelší osa elipsy}}{\text{nejkratší osa elipsy}}$$

Výpočet **kulatosti** vychází ze vzorce pro cirkularitu, kdy je plocha dřevové dutiny dělena druhou mocninou délky nejdelší osy elipsy proložené EO (viz Obrázek 4). Vzorec je upravený tak, aby byly výsledky na škále od 0 do 1, kdy $RD = 1$ platí pro kruh:

$$RD = \frac{4 \times MA}{\pi \times \text{nejdelší osa elipsy}^2}$$

6.5. Statistické metody

Všechna data byla zpracována v programu Excel 2019 (Microsoft, 2019). Následné statistické analýzy byly provedeny v programu Statistica (StatSoft, 2013).

V části práce zabývající se ontogenezí tvaru endostálního obrysu byli do analýz zahrnuti jedinci ze všech věkových kategorií, aby bylo možné sledovat vývoj od pre/perinatálního období až po ranou dospělost. Nulová hypotéza, že se jednotlivé parametry endostálního obrysu nebudou lišit mezi věkovými kategoriemi, byla testována pomocí Kruskal-Wallisova testu.

Druhá část práce zabývající se vztahem mezi tvarem endostálního obrysu a chybou měření CSG parametrů, vychází z dat získaných v rámci studie Sládka a kolektivu (2018),

do které byli zařazeni pouze jedinci z kategorií *Infans Ia*, *Infans Ib* a *Infans II*, takže byl v této části práce soubor omezen na stejné věkové kategorie (n = 80). Jedinci byli rozděleni do skupin podle rozdílu v naměřených CSG parametrech při použití automatické metody vyznačení endostálního obrysu oproti výsledkům dosaženým za použití manuální metody (rozdíl byl měřen pomocí procentuální predikční chyby a pomocí 95 % limitu shody). Pomocí Mann-Whitney párového U-testu pak byla testována nulová hypotéza, že se tyto skupiny mezi sebou neliší v jednotlivých parametrech tvaru endostálního obrysu.

6.5.1. Procentuální predikční chyba

Procentuální predikční chyba (%PE, *percent prediction error*) udává direkcionální chybu odhadu CSG parametrů získaných na základě obrysů vyznačených automaticky proti výsledkům zjištěných podle manuálně vyznačených obrysů. Výpočet %PE byl proveden podle vzorce (Sládek et al., 2018):

$$\%PE = \frac{true - estimated}{estimated} \times 100$$

Ve výpočtu parametr “*true*” vyjadřuje hodnotu měřeného CSG parametru získanou na základě manuálně vyznačeného obrysu (jak endostálního, tak periostálního) a “*estimated*” vyjadřuje hodnotu získanou na základě snímku s automaticky vyznačeným endostálním obrysem. %PE nabývá kladných i záporných hodnot a umožňuje zjistit, jestli v daném případě dochází k nadhodnocení nebo podhodnocení automatické metody oproti manuálnímu vyznačení obrysů. Kladné hodnoty %PE vyjadřují podhodnocení automatické metody a negativní hodnoty %PE značí nadhodnocení.

Při měření CSG parametrů je za hranici akceptovatelné %PE obvykle považována hodnota $\pm 5 \%$ (cit viz Prezentace). Na základě tohoto předpokladu byl soubor rozdělen na dvě skupiny. V první skupině byli jedinci, u kterých byla při použití automatické metody zjištěna %PE v rozmezí od -5% do 5% , a tudíž u nich lze považovat použití automatické metody za spolehlivé. Ve druhé skupině byli jedinci, kteří tuto podmínku nespĺňují, a tudíž je u nich žádoucí použití manuální metody. Pomocí Mann-Whitney párového U-testu pak bylo testováno, jestli se obě skupiny mezi sebou signifikantně liší v některém ze zkoumaných parametrů tvaru endostálního obrysu.

6.4.2. Limity shody

Při srovnávání odhadů hodnot zjištěných různými metodami zůstává skutečná hodnota (*true value*) neznámá. Srovnávání výsledků pomocí korelace a regrese může být zavádějící (Bland & Altman, 2003). Za odhad nejbližší skutečné hodnotě je považován průměr hodnot získaných dvěma metodami, přičemž za akceptovatelné rozmezí je považováno rozmezí 95 % limitů shody (LoA, *limits of agreement*; Bland & Altman, 1986). Pro výpočet 95 % limitů shody je potřeba nejprve spočítat rozdíl (*Diff*) mezi hodnotami získanými manuální a automatickou metodou podle vzorce

$$Diff = \text{manuální} - \text{automatická}$$

Následně byl spočítán průměr rozdílu (*mean Diff*) a směrodatná odchylka rozdílu (SD_{diff}). 95% limity shody pak byly dopočítány podle vzorce

$$\pm 95\% LoA = \text{mean Diff} \pm 1,96 \times SD_{diff}$$

Vstupní data byla logaritmicky transformována, aby byl odstraněn potenciálně zavádějící vliv rozdílné velikosti průřezů u jednotlivých věkových skupin.

Stejně jako v případě procentuální predikční chyby byl následně soubor rozdělen na dvě skupiny. První skupina zahrnovala jedince, kteří splňovali podmínku 95 % limitu shody, ve druhé skupině byli jedinci, u kterých byl zjištěn rozdíl manuální a automatické metody větší než $\pm 1,96$ SD od průměrného rozdílu, a tudíž nesplňovali podmínku limitu shody mezi oběma metodami. Rozdíl mezi oběma skupinami ve všech sledovaných parametrech tvaru endostálního obrysu byl testován pomocí Mann-Whitney párového U-testu.

8. Výsledky

8.1 Parametry nepravidelnosti endostálního obrysu

Pro tuto práci byly vybrány čtyři parametry, pomocí kterých byla kvantifikována nepravidelnost endostálního obrysu. Specifické vlastnosti, které parametry EO popisují můžeme rozdělit do dvou kategorií: cirkularita a solidita popisují míru členitosti obrysu (viz tvary 3-5 v Grafu 1) a kulatost a poměr os popisují celkový tvar neboli míru oválnosti obrysu.

V Grafu 1 jsou vyneseny hodnoty jednotlivých parametrů EO pro specifické útvary (Graf 1, testované tvary 1-6) a pro srovnání také pro jeden (nahodile vybraný) skutečný endostální obrys vyznačený automatickou metodou. V grafu můžeme vidět, že hodnoty všech sledovaných parametrů EO pro kruh (Graf 1, útvar 1) jsou rovny 1 a od této hodnoty se následně odchylní v souvislosti s tím, jak se mění sledovaný tvar. Parametry cirkularita, solidita a kulatost v souvislosti s odchýlením od kruhu klesají (nabývají hodnot od 0 do 1), zatímco poměr os stoupá (nabývá hodnot > 1). Pro elipsu (Graf 1, útvar 2) vidíme nepatrný pokles cirkularity, solidita se nemění a kulatost i poměr os se odchylní od 1 v podobném rozsahu. I dále můžeme vidět, že jak parametry členitosti (cirkularita a solidita) tak parametry celkového tvaru (kulatost a poměr os) kopírují podobné trajektorie ve vztahu ke změnám sledovaných útvarů. Pro útvary 3 až 5, které jsou charakterizované rostoucí mírou členitosti vidíme progresivní pokles cirkularity, pokles solidity rovněž klesá, ačkoli je pokles oproti cirkularitě méně výrazný. Pro čtverec (Graf 1, útvar 6) jsou hodnoty všech parametrů s výjimkou cirkularity rovny 1. V Grafu 1 dále můžeme vidět, že pro automaticky vyznačený endostální obrys (útvar 7) nabývají všechny parametry endostálního obrysu hodnot odlišných od 1, nepravidelnost endostálního obrysu je tedy dána jak členitostí, tak tvarem obrysu.

8.2. Změny parametrů endostálního obrysu v ontogenezi

V souvislosti s růstem dochází mezi věkovými kategoriemi k nárůstu průměrných hodnot plochy dřevné dutiny (MA) i délky endostálního obrysu (obvod endostu). V Grafu 2A můžeme pozorovat kontinuální růst plochy dřevné dutiny mezi jednotlivými věkovými kategoriemi, přičemž strmější růst pozorujeme mezi kategoriemi *Infans II* a *Juvenis*. U MA se s rostoucím věkem zároveň zvyšuje směrodatná odchylka. Nárůst obvodu endostu je zobrazen v Grafu 2B. Oproti růstu MA se obvod endostu zvětšuje pozvolněji a mezi kategoriemi *Infans Ib.1*, *Ib.2* a *II* dochází jen k minimálnímu nárůstu. Směrodatná odchylka pro obvod endostu s rostoucím věkem mírně klesá, s nápadně nízkou hodnotou u kategorie *Infans Ib.2*. Vzájemný vztah mezi plochou dřevné dutiny a obvodem endostu můžeme

pozorovat v Grafu 3, kde je patrný mocinný vztah mezi oběma veličinami a zároveň je vidět vychýlení jedinců ve směru delšího endostálního obvodu vůči hodnotám MA.

V Grafech 4 a 5 jsou zobrazeny změny tvaru a členitosti endostálního obrysu mezi věkovými kategoriemi. V Grafu 4A můžeme pozorovat kontinuální nárůst cirkularity během celého sledovaného období, přičemž signifikantní rozdíly jsou mezi kategoriemi *Infans Ia* a *Juvenis* (p-value = 0,040) a mezi kategoriemi *Infans Ib.1* a *Infans II* (p-value = 0,047). Směrodatná odchylka mezi jednotlivými kategoriemi mírně klesá a je výrazně menší u kategorie *Juvenis*. Celkový trend růstu cirkularity lze pozorovat také v Grafu 6A, kde jsou zobrazeny změny cirkularity na kontinuální škále podle věku jedinců. U jedinců do čtyř let věku můžeme pozorovat velký rozptyl hodnot cirkularity, který se v menším měřítku opakuje kolem devátého roku. S rostoucím věkem se rozptyl hodnot cirkularity značně snižuje. Celkový trend růstu cirkularity v kontinuálním i kategorickém zobrazení opisuje mocinnou křivku podobně jako hodnoty obvodu endostu vztažené k MA.

V případě solidity pozorujeme v Grafu 4B kontinuální nárůst s rostoucím věkem. Signifikantní rozdíly byly zjištěny mezi kategorií *Infans Ia* a kategoriemi *Infans Ib.2* (p-value = 0,041), *Infans II* (p-value = 0,0001) a *Juvenis* (p-value = 0,0006); dále mezi kategorií *Infans Ib.1* a kategoriemi *Infans II* (p-value = 0,003) a *Juvenis* (p-value = 0,025). Směrodatná odchylka mezi všemi kategoriemi mírně klesá. V Grafu 6B s kontinuální věkovou škálou pozorujeme podobné trendy jako u cirkularity, ale celkový rozsah hodnot solidity je oproti cirkularitě výrazně omezený (viz Graf 6: celkový rozsah hodnot CRC = 0,2–0,9; celkový rozsah hodnot SLD = 0,79–0,97).

Jak se s věkem mění kulatost můžeme pozorovat v Grafu 5A. V grafu můžeme vidět stoupající trend průměrné hodnoty mezi kategoriemi *Infans Ia* až *Infans Ib.2*, kde dochází ke zlomu trendu a následně dochází k poklesu průměrných hodnot. Ačkoli jsou z průměrných hodnot patrné trendy, nebyly mezi věkovými kategoriemi zjištěny žádné signifikantní rozdíly. Směrodatné odchylky všech věkových kategorií jsou relativně vysoké a z Grafu 7A je patrná vysoká míra rozptylu hodnot kulatosti napříč celým souborem.

V Grafu 5B popisujícím změny poměru os mezi věkovými kategoriemi můžeme vidět podobný trend jako v případě kulatosti, je ale zrcadlově obrácený kolem hodnoty 1. Hodnoty poměru os se (jako jediného z parametrů popisujících tvar endostálního obrysu) k hraniční hodnotě 1 (popisující kruh, nebo jiný osově symetrický útvar) přibližují shora, a tudíž je nutné průběh grafu interpretovat opačně. Klesající trend v grafu v případě poměru os znamená nárůst míry symetrie os. Stejně jako u kulatosti nejsou ani v případě poměru os rozdíly mezi věkovými kategoriemi signifikantní a v Grafu 7B můžeme pozorovat velký rozptyl hodnot.

Popisná statistika změn všech parametrů endostálního obrysu mezi věkovými kategoriemi je uvedena v Tabulce 3. Celkově bylo napříč věkovými kategoriemi zjištěno, že během růstu dochází k signifikantnímu poklesu míry členitosti endostálního obrysu a že mezi věkovými kategoriemi nedochází k signifikantním změnám celkového tvaru dřeňové dutiny.

8.3. Procentuální predikční chyba (%PE)

Procentuální predikční chyba pro všechny sledované CSG parametry se mění s věkem. V Grafu 8 je vynesena absolutní hodnota %PE (abs %PE) pro MA, CA a Z_P proti věku jedinců z věkových kategorií *Infans Ia* až *Infans II*. U všech parametrů můžeme vidět tendenci poklesu velikosti abs %PE s věkem. Pomocí plných a prázdných bodů jsou v Grafu 8 rozlišeni jedinci, u kterých abs %PE nepřesáhla hranici 5 % (a je tedy považována za akceptovatelnou viz Trinkaus & Ruff, 1989; zobrazeno prázdnými body) a jedinci, kteří tuto hranici překročili (zobrazeno plnými body). Celkově největší abs %PE byla zjištěna pro MA (průměr = 8,62 %), menší u CA (průměr = 5,24 %) a nejmenší pro Z_P (průměr = 3,27 %). U MA je zároveň nejvíce jedinců, kteří překročili hranici 5 %PE (n = 31).

V Grafu 8 pro MA můžeme vidět, že většina jedinců (83 %), kteří mají abs %PE větší než 5 % je soustředěna ve věkovém období od narození do čtyř let a pouze pět jedinců (16 %) je ve věku mezi sedmým a devátým rokem. Ve věkových kategoriích celkový podíl jedinců s abs %PE > 5 % klesá s věkem (Graf 9 pro MA).

V Grafu 8 pro CA (popisujícím věkové změny abs %PE pro CA) pozorujeme oproti MA úbytek jedinců překračujících hranici 5 % abs %PE (n = 21). Rozdíl je také v distribuci jedinců, kdy největší podíl jedinců s abs %PE > 5 % pozorujeme ve věku od jednoho roku do tří let, tedy v kategorii *Infans Ib.1* (viz Graf 9 pro CA). U dvou jedinců ve věku 8 a 9 let pozorujeme abs %PE těsně na hranici 5 % (abs %PE = 5,18 a 5,04; v tomto pořadí).

V Grafu 8 pro Z_P pozorujeme stejné trendy jako pro CA; počet jedinců překračujících hranici 5 % abs %PE je ještě nižší než u CA (n = 13) a největší část z nich spadá do věkové kategorie *Infans Ib.1* (viz Graf 9 pro Z_P), přičemž z kategorie *Infans Ia* má abs %PE > 5 % pouze jeden jedinec a v kategorii *Infans II* žádný. Na rozdíl od plošných parametrů jsou hodnoty abs %PE pro Z_P celkově nižší s maximální hodnotou 32,71 % (max abs %PE MA = 52,4 % a max abs %PE CA = 56,61 %).

8.3.1 Srovnání parametrů EO podle abs %PE

Pro každý ze sledovaných CSG parametrů byly mezi skupinami jedinců vzniklými rozdělením souboru podle 5% hranice absolutní hodnoty %PE vzájemně srovnávány parametry EO. Výsledky srovnání jsou zobrazeny v Grafu 10 a popisná statistika parametrů EO v jednotlivých skupinách je uvedena v Tabulce 4. Boxy jednotlivých parametrů EO jsou v Grafu 10 odlišeny barevně, boxy bez výplně vždy reprezentují skupinu s abs %PE < 5 % a box s výplní příslušné barvy reprezentují skupinu s abs %PE > 5 % (paralelně k prázdným a plným bodům v Grafu 8).

V Grafu 10 pro MA můžeme vidět, že při srovnání parametrů EO skupin rozdělených na základě abs %PE, jsou mezi skupinami viditelné rozdíly u cirkularity a u solidity, zatímco u poměru os a kulatosti není mezi skupinami patrný žádný rozdíl. U skupiny s menší než 5 % abs %PE pozorujeme signifikantně (p -value < 0,001) vyšší hodnotu cirkularity (průměr = 0,728) než u skupiny s větší abs %PE (průměr = 0,546). Solidita je u skupiny s abs %PE menší než 5 % také signifikantně (p -value < 0,001) vyšší (průměr = 0,931) než u skupiny s větší abs %PE (průměr = 0,886). Nicméně jak u cirkularity, tak v případě solidity vidíme významný překryv hodnoty mezi oběma skupinami.

Velmi podobná situace je i v Grafech 10 pro CA a pro Z_P. Signifikantní rozdíly mezi skupinami vykazuje cirkularita (pro CA p -value < 0,001, pro Z_P p -value < 0,001) a solidita (pro CA p -value < 0,001, pro Z_P p -value < 0,001), poměr os ani kulatost se mezi skupinami výrazně neliší. V Grafech 10 pro CA a pro Z_P vidíme také celkově vyšší cirkularitu i soliditu u skupiny s abs %PE menší než 5 %. Oproti Grafu 10 pro MA je ale patrný pokles míry překryvu hodnot mezi skupinami, který se snižuje v případě CA těsně pod hranici třetího kvartilu první skupiny a v případě Z_P dosahuje překryv ke střední hodnotě první skupiny.

8.4. Limity shody

Výsledky založené na posouzení %PE byly replikovány s využitím přístupu Bland-Altmanovy analýzy (Bland & Altman, 1986). Limity shody hodnot jednotlivých CSG parametrů získaných manuální automatickou metodou jsou zobrazeny v Grafu 11. V rozdílových grafech jsou uvedeny logaritmicke transformované hodnoty, aby byl eliminován efekt velikosti. Zároveň jsou všechny rozdílové grafy škálovány stejně, aby byly dobře patrné rozdíly mezi výsledky pro jednotlivé CSG parametry.

V Grafu 11 pro MA je plnou čarou vyznačena průměrná hodnota rozdílu mezi manuální a automatickou metodou (průměr = 0,005) a přerušovaně 95 % limity shody (horní hranice = 0,1267, dolní hranice = -0,1167). V grafu je patrný velký rozptyl hodnot jak do kladných, tak

do záporných hodnot, s rostoucím průměrem hodnot pak rozptyl rozdílů mírně klesá. Směrodatná odchylka pro MA je poměrně vysoká ($SD = 0,0621$).

Rozdílové grafy pro CA a Z_P (Graf 11) mají vzájemně velmi podobné rozložení. Oproti MA můžeme u obou grafů vidět menší míru rozptylu hodnot rozdílů, kdy hodnoty za hranicí 95 % limitu shody se vychylují spíše do kladných hodnot. Tento trend je obzvláště výrazný pro Z_P , kdy žádná z hodnot nepřesahuje dolní hranici limitu shody. Většina hodnot se v Grafu 11 pro CA i pro Z_P nachází mírně pod nulou, nicméně vzhledem k velkému vychýlení několika jedinců do kladných hodnot je průměrná hodnota kladná (plná čára; pro CA průměr = 0,0008; pro Z_P průměr = 0,0025). Směrodatná odchylka oproti MA klesá, pro CA $SD = 0,0407$ a pro Z_P $SD = 0,0263$, s tím je spojeno i rozložení hranic 95 % limitů shody (přerušovaná čára; pro CA horní hranice = 0,0807, dolní hranice = -0,079; pro Z_P horní hranice = 0,054, dolní hranice = -0,049).

8.4.1 Srovnání parametrů EO podle 95 % limitů shody

Pro každý z CSG parametrů byli jedinci rozděleni na dvě skupiny podle 95 % limitů shody. Popisná statistika takto vzniklých skupin je uvedena v Tabulce 5 a výsledky srovnání parametrů EO mezi jednotlivými skupinami jsou zobrazeny v Grafu 12. Stejně jako u %PE (Graf 10) jsou boxy jednotlivých parametrů EO v Grafu 12 odlišeny barevně, box bez výplně vždy reprezentuje skupinu jedinců spadajících mezi limity shody a box s výplní příslušné barvy reprezentuje skupinu jedinců, kteří limity shody nespĺňují.

V Grafu 12 pro MA můžeme vidět, že při srovnání parametrů EO skupin rozdělených podle 95 % limitů shody jsou mezi skupinami patrné rozdíly u cirkularity a solidity, u poměru os a kulatosti není mezi skupinami téměř žádný rozdíl. U skupiny spadající do rozmezí limitů shody pozorujeme signifikantně (p -value = 0,007) vyšší hodnotu cirkularity (průměr = 0,673) než u skupiny jedinců za hranicemi limitů shody (průměr = 0,484). Solidita je u skupiny v rozmezí 95 % limitů shody také signifikantně (p -value < 0,001) vyšší (průměr = 0,918) než u skupiny mimo limity shody (průměr = 0,866).

Podobná situace je i v Grafu 12 pro CA a pro Z_P . Signifikantní rozdíly mezi skupinami pozorujeme u cirkularity (pro CA p -value = 0,001, pro Z_P p -value = 0,018) a solidity (pro CA p -value = 0,003, pro Z_P p -value = 0,032), poměr os ani kulatost se mezi skupinami výrazně neliší. Cirkularita i solidita je jak pro CA, tak pro Z_P celkově vyšší u skupiny spadající do rozmezí 95 % limitů shody než u skupiny, která mezi limity shody nespĺďá. Míra

signifikance rozdílu mezi skupinami je nejvyšší pro MA a postupně klesá přes CA až k Z_P, kde je rozdíl mezi skupinami jak pro cirkularitu, tak pro soliditu na hranici signifikance.

9. Diskuse

9.1. Kvantifikace tvaru endostálního obrysu

Prvním z dílčích cílů této práce bylo vytvoření metody kvantifikace tvaru endostálního obrysu. Aby bylo možné sledovat tvarové změny endostálního obrysu, bylo nutné tvar endostálního obrysu matematicky vyjádřit. Z hlediska kosterní antropologie se jedná o nový přístup, takže byly potenciální metody kvantifikace tvaru endostálního obrysu inspirovány výzkumem v jiných oblastech (Liu et al., 2015; Matsumoto et al., 2015; Takashimizu & Iiyoshi, 2016; Walters et al., 2017). Celkem byly vybrány a testovány čtyři parametry: cirkularita, solidita, poměr os a kulatost. Použité tvarové parametry vycházejí ze studie zabývající se hodnocením tvaru jaterních nodulů na sonografických snímcích (Matsumoto et al., 2015) a ze studie hodnotící tvar částic vulkanického popela (Liu et al., 2015).

Cirkularita je zjednodušeně poměr plochy a obvodu. Jestliže se zvětšuje obvod při zachování konstantní plochy, hodnota cirkularity klesá a roste míra členitosti obrysu. Cirkularita tak zachycuje přítomnost trabekulů zasahujících do prostoru dřeňové dutiny. Pokud srovnáme automaticky a manuálně vyznačený endostální obrys (Obrázek 3), můžeme vidět, že automaticky vyznačený EO vykazuje vyšší míru členitosti než manuálně vyznačený EO. Tento rozdíl je dán tím, že automatické prahování založené na minimální hladině šedi rozpoznává trabekuly zasahující do dřeňové dutiny jako „hutnou kostní tkáň“ a zahrnuje je do vyznačení obrysu. Druhým zdrojem členitosti je porozita na endostální hranici, která se projevuje lokálními kovexitami endostálního obrysu. Přítomnost takto vychlípených úseků endostálního obrysu zvyšuje míru členitosti a je tím pádem rozpoznatelná prostřednictvím cirkularity a solidity. K mírnému poklesu cirkularity dochází také pokud se celkový tvar endostálního obrysu odchýlí od tvaru kruhu, protože kruh je těleso s nejmenším obvodem vůči ploše (viz Graf 1, útvar 2).

Solidita, na rozdíl od cirkularity, nese informaci o celkovém tvaru, ale pouze o průběhu obrysu. Konvexní obal útvaru efektivně eliminuje konkávní oblasti, což v případě endostálního obrysu obvykle znamená trabekuly zasahující do dřeňové dutiny. Prakticky tak solidita vyjadřuje poměr plochy automaticky vyznačené dřeňové dutiny a plochy dřeňové dutiny včetně do ní zasahujících trabekulů.

Členitost endostálního obrysu je dána aktivitou endostální resorpce, kdy trámce, které ještě nebyly odbourány zasahují nepravidelně do dřevné dutiny. Endostální resorpce je stěžejní pro růst kosti a během ontogeneze můžeme pozorovat zrychlení endostální resorpce v etapách intenzivnějšího růstu nebo přestavby kosti (Gosman et al., 2013). Zvětšená míra resorpce byla pozorována také u nedospělých jedinců postižených malnutricí (Hummert, 1983).

Poměr os je jednoduchým ukazatelem celkového tvaru endostálního obrysu, kdy zvyšující se hodnota poměru os vypovídá o zvýšení míry “oválnosti” EO. Adjustací cirkularity na poměr os získáme kulatost (Takashimizu & Iiyoshi, 2016). Výhodou kulatosti oproti prostému poměru os by mělo být lepší zachycení celkového tvaru bez limitace způsobené orientací proložené elipsy, jejíž nejkratší osa je vždy kolmá na nejdelší osu a nemusí dobře zachytit skutečný rozměr měřeného útvaru. Nevýhodou obou parametrů celkového tvaru je neschopnost rozlišit orientaci nejdelší osy.

9.2. Změny parametrů EO v ontogenezi

Druhým z dílčích cílů práce bylo posouzení změn endostálního obrysu v průběhu ontogeneze. Z výsledků je patrné, že s věkem dochází ke změnám endostu. Z Grafu 2A je patrný kontinuální nárůst plochy dřevné dutiny mezi kategorií *Infans Ia* až *Juvenis*. Zdánlivý pokles rychlosti růstu MA u kategorie *Infans II* je pravděpodobně způsoben nízkým průměrným věkem v kategorii *Infans II* (průměr = 8,5 roku) a následné urychlení růstu MA je dáno skokovým nárůstem průměrného věku v kategorii *Juvenis* (průměr = 16,5 roku). Tento rozdíl může být způsoben do velké míry nedostatečným zastoupením jedinců od 10 do 14 let (viz Grafy 6 a 7).

Z Grafu 3 vyplývá, že u většiny jedinců společně se zvětšováním MA dochází i k nárůstu obvodu endostu podle očekávatelného mocninného vztahu vycházejícího z obecného vzorce obvodu (lineární hodnoty) a obsahu (kvadratické hodnoty). U jedinců, kteří se z tohoto trendu vymykají pozorujeme oproti očekávání větší obvod endostu, což je pravděpodobně zapříčiněno zvýšenou mírou členitosti endostálního obrysu (viz Graf 1). V Grafu 3 také můžeme vidět, že se jedná o jedince s menší MA, což naznačuje mladší věk jedinců. U nejmladších jedinců je ještě zachována velká část primární vláknité kosti, která je resorbována při zvětšování dřevné dutiny. U jedinců z kategorie *Infans Ia* tvoří vláknitá kost většinu kostní tkáně na průřezu a zbytky vláknité kosti se zachovávají i u kategorie *Infans Ib.1* (Cambra-Moo et al., 2014). Endostální linie v těchto případech nepředstavuje hranici hutné kostní tkáně, ale hranici mezi mineralizovanou částí průřezu a dřevnou dutinou, která je vzhledem k vlastnostem a struktuře vláknité kosti značně nepravidelná.

Vývoj obvodu endostu mezi věkovými skupinami je dán dvěma proměnnými. Jednak celkovým zvětšováním dřevné dutiny během ontogeneze vlivem endostální resorpce (Gosman et al., 2013; Ruff et al., 1994), s čímž souvisí souběžný růst MA i obvodu endostu (Graf 2). Druhým faktorem délky obvodu endostu je množství trabekulů zasahujících do dřevné dutiny, které s věkem klesá, jak bylo pozorováno i v předchozích studiích (Cambra-Moo et al., 2014; Gosman et al., 2013). Při srovnání Grafů 2A a 2B můžeme pozorovat, že zatímco MA mezi kategoriemi *Infans Ib.1* a *Infans II* rovnoměrně pokračuje v růstu, u obvodu endostu dochází v tomto období k výraznému zpomalení růstu. Zpomalení růstu obvodu endostu mezi kategoriemi *Infans Ib.1* až *Infans II* může být způsobeno poklesem míry členitosti endostu, doložené signifikantním nárůstem cirkularity a solidity v tomto období (viz Graf 4).

Oba parametry EO popisující míru členitosti endostálního obrysu (tj. cirkularita a solidita) s věkem v průměru rostou, čímž poukazují na celkový trend klesající míry členitosti endostálního obrysu a úbytek trabekulů zasahujících do dřevné dutiny (Graf 4). Za povšimnutí stojí fakt, že s věkem klesá celkový rozsah hodnot cirkularity i solidity (Graf 6). U jedinců do tří let pozorujeme hodnoty téměř v celém rozsahu spektra souboru a s věkem ubývají jedinci s nejnižšími hodnotami cirkularity i solidity. Toto zjištění je v souladu s výsledky studie Cambra-Moo et al. (2014), kde byla také pozorována vysoká míra variability struktury endostu u novorozenců a dětí. V Grafu 6A je patrný také pokles míry rozptylu hodnot cirkularity po čtvrtém roce věku, který by z biologického hlediska mohl být interpretován v souvislosti s ukončením batolecího období a ustálením vzorců mechanického zatěžování dolních končetin při chůzi (Ivanenko et al., 2007). Limitem těchto interpretací je relativně malý počet jedinců v našem souboru, kdy tyto jevy mohou být připsány náhodě.

Během ontogeneze dochází vlivem změn typu a směru mechanického zatěžování kostí stehenních ke změnám tvaru průřezu těla kosti (Swan et al., 2020). Tyto změny mohou být reflektovány i na tvaru dřevné dutiny, ale jelikož ani poměr os ani kulatost nevypovídají o směru (A-P, nebo M-L) nejdelší osy, byly tyto trendy v našich výsledcích překryty a mezi věkovými kategoriemi nebyly zjištěny signifikantní rozdíly v poměru os ani v kulatosti (viz Graf 5). Navzdory nesignifikantním výsledkům je v kategoriích *Infans Ib.1* i *Infans Ib.2* (batolecí a předškolní období (CDC, 2021), kdy se vytvářejí a následně ustalují pohybové vzorce chůze; viz Dewolf et al., 2020; Ivanenko et al., 2004; Lacquaniti et al., 2012) patrný pokles poměru os a nárůst kulatosti, přičemž se obě veličiny zrcadlově přibližují k hodnotě 1 a tedy tvar endostálního obrysu se blíží kruhu. Toto zjištění je v souladu s výsledky předchozích prací (Goldman et al., 2009; Swan et al., 2020).

9.3. Kritérium pro použití automatické metody vyznačení endostu

Výběr kritéria pro použití automatické metody byl prováděn pomocí dvou statistických přístupů. První přístup byl založen na základě stanovení procentuální predikční chyby (%PE). Metoda %PE je statistické stanovení procentuálního rozdílu mezi výsledky získanými zkoumanou metodou (v našem případě automatické vyznačení endostu) a skutečnou hodnotou zkoumaného parametru (v našem případě jsou za *true value* považovány hodnoty získané na základě manuálně vyznačeného endostu). Metoda %PE je standardně používána pro tento typ studií (MacIntosh et al., 2013; Ruff, 2000; Sládek et al., 2018; Sparacello & Pearson, 2010; Stock & Shaw, 2007; Wescott, 2006), kdy za hladinu akceptovatelné %PE je považována hranice $\pm 5\%$ (O'Neill & Ruff, 2004; Trinkaus & Ruff, 1989). Pro účely této studie bylo se zjištěnými hodnotami %PE pracováno ve formě absolutní hodnoty, jelikož pro naše výsledky není důležitá direkcionálnost hodnot, ale pouze celková velikost %PE.

Dalším přístupem pro stanovení kritéria použití automatické metody byla metoda 95 % limitů shody podle Bland & Altmana (1986), která je považována za vhodnější přístup ke srovnávání výsledků získaných pomocí dvou metod, z nichž ani jedna není skutečnou hodnotou. Limity shody byly v minulosti použity ke srovnání metodologických přístupů k měření CSG parametrů (Sládek et al., 2018, 2019). Oproti %PE není hranice akceptovatelného rozdílu výsledků získaných zkoumanými metodami stanovená pevně, ale je dopočítávána na základě průměru rozdílů hodnot naměřených oběma metodami, ke kterému je na obou stranách přidána $1,96 \times SD$, čímž jsou vytyčeny horní a dolní limity shody, které mezi sebou pojmu 95 % hodnot.

Výsledky získané na základě obou statistických přístupů jsou v naší práci obdobné a shodují se se závěry Sládka a kol. (2018). Metody %PE i limity shody ukazují, že nejmenší spolehlivost má použití automatické metody vyznačení endostu pro výpočet MA, vyšší pro CA a nejvyšší pro Z_P (Grafy 8 a 11). Hlavní příčinou je míra závislosti daného parametru na vyznačení endostu. Z logiky stanovení MA je zřejmé, že MA bude nejvíce ovlivněným parametrem (způsob vyznačení endostu bude přímo zvětšovat nebo zmenšovat plochu dřevové dutiny). Oproti MA je CA závislý také na vyznačení periostu, který je v naší práci vyznačen manuálně a vykazuje malou chybu měření i při použití automatické metody (Sládek et al., 2018). Z_P je ovlivněno množstvím kostní tkáně a pak její vzdáleností od neutrální osy, takže stěžejní je správné vyznačení periostu. Vyznačení endostu má jen malý vliv, z toho důvodu se hodnoty Z_P získané na základě manuálně a automaticky vyznačeného endostu vzájemně nejvíce shodují.

Na základě přístupu podle %PE i podle limitů shody byli jedinci rozděleni do skupin podle toho, jestli je u nich možné spolehlivě použít automatickou metodu vyznačení endostu pro výpočet jednotlivých CSG parametrů. Cílem bylo zjistit, jestli se jedinci, u kterých lze spolehlivě použít automatickou metodu vyznačení endostu, liší v některém ze zkoumaných parametrů endostálního obrysu od jedinců, u kterých automatickou metodu nelze spolehlivě použít. Výsledky napříč oběma přístupy (%PE i limity shody) pro všechny CSG parametry ukazují, že stěžejním rozdílem mezi skupinami je míra členitosti endostálního obrysu (v Grafech 10 a 12 vyjádřená signifikantními rozdíly mezi skupinami v cirkularitě a soliditě). Výsledky naopak neukazují na významnou roli celkového tvaru endostu (poměr os ani kulatost se mezi skupinami neliší, viz Grafy 10 a 12).

Konzistentně signifikantní rozdíly v cirkularitě mezi skupinami ukazují, že míra cirkularity by mohla být dobrým ukazatelem, jestli bude možné k výpočtu CSG parametrů použít data získaná na základě automaticky vyznačeného endostu. Na základě našich výsledků lze očekávat, že při nízké cirkularitě automaticky vyznačeného endostu se data získaná pomocí automatické metody budou významně lišit od výsledků získaných pomocí manuální metody, která je pro účely této práce stanovena jako *true value*, a bude nutné endost vyznačit manuálně.

Solidita se ve všech zkoumaných CSG parametrech mezi skupinami liší s podobnou signifikancí jako cirkularita. Nevýhodou solidity je malý rozptyl hodnot, se kterým se pojí riziko, že naměřené hodnoty solidity mohou být významně ovlivněny chybou v měření nebo změnou ve škálování softwaru. Tyto vlastnosti významně omezují možnost spolehlivě aplikovat námi vytvořené kritérium založené na soliditě na odlišné soubory. Navzdory signifikanci výsledků je proto solidita z důvodu nízké robustnosti nevhodným parametrem pro praktické využití.

Pokud srovnáme výsledky získané na základě rozdělení podle %PE (Graf 10) s výsledky podle limitů shody (Graf 12), je patrné, že mezi skupinami vytvořenými na základě 95 % limitů shody je viditelně menší míra překryvu, ale rozdíly mezi skupinami jsou méně signifikantní. Příčinou je velmi malý počet jedinců, kteří nespĺňují limity shody (z principu metody se jedná o 5 % jedinců). Kritérium vytvořené podle limitů shody by tak bylo vhodné k eliminaci potenciálně nejvíc problematických jedinců (tj. jedinci vykazující největší chybu měření při použití automatické metody oproti manuální metodě vyznačení endostálního obrysu), ale není zárukou spolehlivosti použití automatické metody. Abychom odfiltrovali 95 % jedinců, u kterých nebude splněna podmínka 95 % limitů shody mezi výsledky získanými na základě automatické a manuální metody, musí být cirkularita pro MA minimálně 0,6, pro CA minimálně 0,55 a pro Z_P minimálně 0,59. Významným limitem těchto výsledků je fakt, že jsou vytvořeny

na základě malého počtu jedinců a pro spolehlivou aplikaci by bylo nutné je otestovat na větším souboru.

Vhodný přístup pro budoucí využití našich výsledků v dalších studiích se odvíjí od velikosti souboru a individuálních výzkumných cílů. Doporučujeme vycházet z rozdělení na základě %PE a konkrétní hraniční hodnotu cirkularity vybírat podle toho, kolik procent jedinců, u kterých není možné spolehlivě použít automatické vyznačení endostu, chceme odfiltrout. Při odfiltrování 95 % jedinců s $\text{abs \%PE} > 5 \%$ nevyhnutelně odfiltrujeme i část jedinců u kterých by použití automatické metody bylo možné, což je způsobeno překryvem mezi jedinci nevhodnými a vhodnými pro automatické vyhodnocení. V tomto případě bychom hranici cirkularity nastavili na 0,83 pro MA, 0,71 pro CA a 0,7 pro Z_P. Tento přístup je vhodné zvolit u menšího souboru, kdy každý chybně změřený jedinec může významně ovlivnit závěr studie. Naopak, pokud pracujeme se souborem kde sledujeme obecné populační trendy a spokojíme se s potenciálně vyšší individuální chybou, lze nastavit hranici cirkularity pro použití automatické metody vyznačení endostu na 0,7 pro MA, 0,64 pro CA a 0,55 pro Z_P, čímž odfiltrujeme 75 % jedinců u kterých můžeme očekávat $\text{abs \%PE} > 5 \%$.

Vyšší spolehlivosti predikce chyby měření by mohlo být dosaženo použitím kombinace několika parametrů EO a věku jedinců. Tyto výpočty je možné provádět například za použití umělé inteligence, což je směr, kterým by mohly vést další kroky při optimalizaci automatických metod měření biomechanických parametrů průřezové geometrie.

10. Závěr

U nedospělých jedinců dochází během růstu a vývoje kosti stehenní ke změnám na úrovni endostálního obrysu, které ovlivňují chybu měření biomechanických parametrů průřezové geometrie. Hlavním cílem práce byla optimalizace použití automatické metody vyznačení endostálního obrysu pro měření parametrů průřezové geometrie dlouhých kostí u nedospělých jedinců, tak aby bylo možné časově výhodnou automatickou metodu spolehlivě použít. Za tímto účelem byla nejprve vytvořena metoda pro kvantifikaci nepravidelnosti endostálního obrysu. Ke kvantifikaci byly vybrány čtyři parametry, dva popisující míru členitosti EO (cirkularita a solidita) a dva parametry popisující celkový tvar (kulatost a poměr os). Parametry cirkularita a solidita vycházejí na základě našich zjištění jako vhodné proxy pro míru členitosti EO, kdy členitost můžeme vyjádřit jako množství trabekulů zasahujících do dřevné dutiny, nebo míru porozity na endostální hranici.

Ve druhé části práce byly vybrané parametry EO posuzovány v kontextu ontogeneze, a to jak na kontinuální škále, tak prostřednictvím věkových kategorií. U cirkularity a solidity byl pozorován kontinuální nárůst napříč celým sledovaným obdobím ontogeneze (průměrná hodnota cirkularity vzrostla z 0,512 u kategorie *Infans Ia* na 0,778 u kategorie *Juvenis*), se signifikantními rozdíly především mezi nejmladšími (*Infans Ia* a *Infans Ib.1*) a nejstaršími (*Infans II* a *Juvenis*) věkovými kategoriemi. Tyto výsledky byly v souladu s předpokládaným poklesem míry nepravidelnosti endostálního obrysu s rostoucím věkem. Ve změnách parametrů celkového tvaru endostálního obrysu (kulatost a poměr os) nebyly zjištěny signifikantní trendy.

Třetím cílem bylo vytvoření kritéria pro spolehlivé použití automatické metody vyznačení endostálního obrysu u nedospělých jedinců. Byly testovány dva přístupy k vytvoření kritéria pro použití automatické metody vyznačení EO. První přístup založený na 95 % limitech shody je vhodný ke srovnání skutečných rozdílů hodnot mezi manuální a automatickou metodou, nicméně pro vytvoření kritéria se ukázal jako méně vhodný, jelikož umožňuje odfiltrovat pouze 5 % jedinců vykazujících nejmenší míru shody mezi výsledky získanými na základě automaticky a manuálně vyznačeného endostálního obrysu. Použití tohoto přístupu lze doporučit pouze v případě velkých souborů sloužících například ke srovnání populačních průměrů. Jako vhodnější pro praktické využití se ukázal být druhý přístup založený na nastavení kritéria podle obvykle používané hranice ± 5 %PE.

Nejvhodnějším parametrem pro vytvoření kritéria pro použití automatické metody je cirkularita, která signifikantně rozděluje jedince do skupin podle hranice ± 5 %PE pro všechny testované parametry průřezové geometrie. Navzdory signifikantnímu výsledku je mezi

oběma skupinami významný překryv, takže nastavení konkrétní hranice cirkularity pro použití automatické metody je na uvážení výzkumníka, podle individuálních potřeb souboru a požadované přesnosti výsledků. Na základě našich výsledků je možné spolehlivé použití automatické metody, tak, aby bylo odfiltrováno 95 % jedinců s procentuální predikční chybou větší než 5 %, za předpokladu, že cirkularita automaticky vyznačeného endostálního obrysu nepřekročí hranici 0,83 pro měření plochy dřevné dutiny, 0,71 pro měření plochy hutné kostní tkáně a 0,7 pro měření polárního sekčního modulu.

Použitá literatura

- Arden, N. K., Baker, J., Hogg, C., Baan, K., & Spector, T. D. (2009). The heritability of bone mineral density, ultrasound of the calcaneus and hip axis length: A study of postmenopausal twins. *Journal of Bone and Mineral Research*, *11*(4), 530–534.
- Auerbach, B. M., & Ruff, C. B. (2006). Limb bone bilateral asymmetry: variability and commonality among modern humans. *Journal of Human Evolution*, *50*(2), 203–218.
- Bagnall, K. M., Harris, P. F., & Jones, P. R. M. (1982). A radiographic study of the longitudinal growth of primary ossification centers in limb long bones of the human fetus. *The Anatomical Record*, *203*(2), 293–299.
- Bass, S. L., Saxon, L., Daly, R. M., Turner, C. H., Robling, A. G., Seeman, E., & Stuckey, S. (2002). The Effect of Mechanical Loading on the Size and Shape of Bone in Pre-, Peri-, and Postpubertal Girls: A Study in Tennis Players. *Journal of Bone and Mineral Research*, *17*(12), 2274–2280.
- Bauchau, O. A., & Craig, J. I. (2009). Euler-Bernoulli beam theory. In O. A. Bauchau & J. I. Craig (Eds.), *Structural Analysis. Solid Mechanics and Its Applications* (pp. 173–221). Springer.
- Bello, S. M., Thomann, A., Signoli, M., Dutour, O., & Andrews, P. (2006). Age and sex bias in the reconstruction of past population structures. *American Journal of Physical Anthropology*, *129*(1), 24–38.
- Bertram, J. E. A., & Swartz, S. M. (1991). The “law of bone transformation”: a case of crying Wolff? *Biological Reviews*, *66*(3), 245–257.
- Bischoff-Ferrari, H. a., Dietrich, T., & Dawson-Hughes, B. (2001). Positive association between 25-hydroxy vitamin D levels and bone mineral density: A population-based study of Younger and Older Adults. *The American Journal of Medicine*, *116*, 634–639.
- Bland, J. M., & Altman, D. G. (2003). Applying the right statistics: Analyses of measurement studies. In *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* (Vol. 22, Issue 1, pp. 85–93).
- Bland, M. J., & Altman, D. G. (1986). Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *The Lancet*, *327*(8476), 307–310.
- Blank, R. D. (2001). Breaking down bone strength: A perspective on the future of skeletal genetics. *Journal of Bone and Mineral Research*, *16*(7), 1207–1211.
- Burr, D. B., & Organ, J. M. (2017). Postcranial Skeletal Development and Its Evolutionary Implications. In C. J. Percival & J. T. Richtsmeier (Eds.), *Building Bones: Bone Formation and Development in Anthropology* (pp. 148–174). Cambridge University Press.
- Burr, D. B., Robling, A. G., & Turner, C. H. (2002). Effects of biomechanical stress on bones in animals. *Bone*, *30*(5), 781–786.
- Cambra-Moo, O., Nacarino Meneses, C., Rodríguez Barbero, M. Á., García Gil, O., Rascón Pérez, J., Rello-Varona, S., D’Angelo, M., Campo Martín, M., & González Martín, A. (2014). An approach to the histomorphological and histochemical variations of the humerus cortical bone through human ontogeny. *Journal of Anatomy*, *224*(6), 634–646.
- Carter, D. R., Van Der Meulen, M. C. H., & Beaupré, G. S. (1996). Mechanical factors in bone growth and development. *Bone*, *18*(1 SUPPL.), S5–S10.

- Centers for Disease Control and Prevention.* (2021). <https://www.cdc.gov/ncbddd/childdevelopment/positiveparenting/toddlers.html>
- Cole, J. H., & van der Meulen, M. C. H. (2011). Whole bone mechanics and bone quality. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 469(8), 2139–2149.
- Confavreux, C. B. (2011). Bone: from a reservoir of minerals to a regulator of energy metabolism. In *Kidney international. Supplement* (Vol. 79, Issue 121, pp. S14–S19). Elsevier.
- Conroy, B., Kraemer, W., Maresh, C., Fleck, S., Stone, M., Fry, A., Miller, P., & Dalsky, G. (1993). Bone mineral density in elite junior Olympic weightlifters. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 25(10), 1103–1109.
- Copp, D. H., & Shim, S. S. (1963). The homeostatic function of bone as a mineral reservoir. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 16(6), 738–744.
- Cowgill, L. W. (2010). The ontogeny of Holocene and late Pleistocene human postcranial strength. *American Journal of Physical Anthropology*, 141(1), 16–37.
- Cowgill, L. W., & Hager, L. D. (2007). Variation in the development of postcranial robusticity: an example from Çatalhöyük, Turkey. *International Journal of Osteoarchaeology*, 17(3), 235–252.
- Cowgill, L. W., Warrenner, A., Pontzer, H., & Ocobock, C. (2010). Waddling and toddling: The biomechanical effects of an immature gait. *American Journal of Physical Anthropology*, 143(1), 52–61.
- Currey, J. D. (1969). The mechanical consequences of variation in the mineral content of bone. *Journal of Biomechanics*, 2(1), 1–11.
- Currey, J. D. (2002). *Bones: Structure and mechanics*. Princeton University Press.
- Danielson, M. E., Cauley, J. A., Baker, C. E., Newman, A. B., Dorman, J. S., Towers, J. D., & Kuller, L. H. (1999). Familial resemblance of bone mineral density (BMD) and calcaneal ultrasound attenuation: The BMD in mothers and daughters study. *Journal of Bone and Mineral Research*, 14(1), 102–110.
- Dewolf, A. H., Sylos-Labini, F., Cappellini, G., Lacquaniti, F., & Ivanenko, Y. (2020). Emergence of Different Gaits in Infancy: Relationship Between Developing Neural Circuitries and Changing Biomechanics. In *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* (Vol. 8, p. 473). Frontiers Media S.A.
- Dhawan, V., Kapoor, K., Sharma, M., Singh, B., Sehgal, A., & Kochhar, S. (2014). Histological study of the developing human femur. *European Journal of Anatomy*, 18(4), 273–282.
- Ducher, G., Bass, S. L., Saxon, L., & Daly, R. M. (2011). Effects of repetitive loading on the growth-induced changes in bone mass and cortical bone geometry: A 12-month study in pre/peri- and postmenarcheal tennis players. *Journal of Bone and Mineral Research*, 26(6), 1321–1329.
- Eames, B. F., De La Fuente, L., & Helms, J. A. (2003). Molecular ontogeny of the skeleton. *Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews*, 69(2), 93–101.
- Edwards, M. W., Bain, S. D., Bailey, M. C., Lantry, M. M., & Howard, G. A. (1992). 17 β Estradiol stimulation of endosteal bone formation in the ovariectomized mouse: An animal model for the evaluation of bone-targeted estrogens. *Bone*, 13(1), 29–34.

- Erickson, G. M., Catanese, J., & Keaveny, T. M. (2002). Evolution of the biomechanical material properties of the femur. *The Anatomical Record*, 268(2), 115–124.
- Felsenberg, D., & Boonen, S. (2005). The bone quality framework: Determinants of bone strength and their interrelationships, and implications for osteoporosis management. *Clinical Therapeutics*, 27(1), 1–11.
- Frost, H. M. (1987). Bone “mass” and the “mechanostat”: A proposal. *The Anatomical Record*, 219(1), 1–9.
- Frost, H. M. (1990a). Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 1. Redefining Wolff’s Law: The bone modeling problem. *The Anatomical Record*, 226(4), 403–413.
- Frost, H. M. (1990b). Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 3. The hyaline cartilage modeling problem. *The Anatomical Record*, 226(4), 423–432.
- Gardner, E., & Gray, D. J. (1970). The prenatal development of the human femur. *American Journal of Anatomy*, 129(2), 121–140.
- Garn, S. M., Guzmán, M. A., & Wagner, B. (1969). Subperiosteal gain and endosteal loss in protein-calorie malnutrition. *American Journal of Physical Anthropology*, 30(1), 153–155.
- Gentili, P., Trasimeni, A., & Giorlandino, C. (1984). Fetal ossification centers as predictors of gestational age in normal and abnormal pregnancies. *Journal of Ultrasound in Medicine*, 3(5), 193–197.
- Goda, I., Ganghoffer, J. F., & Maurice, G. (2016). Combined bone internal and external remodeling based on Eshelby stress. *International Journal of Solids and Structures*, 94–95, 138–157.
- Goldman, H. M., McFarlin, S. C., Cooper, D. M. L., Thomas, C. D. L., & Clement, J. G. (2009). Ontogenetic patterning of cortical bone microstructure and geometry at the human mid-shaft femur. *Anatomical Record*, 292(1), 48–64.
- Goodno, B. J., & Gere, J. M. (2020). *Mechanics of materials* (9th ed.). Cengage learning.
- Goodship, A. E., Lanyon, L. E., & McFie, H. (1979). Functional adaptation of bone to increased stress. An experimental study. *Journal of Bone and Joint Surgery - Series A*, 61(4), 539–546.
- Gosman, J. H., Hubbell, Z. R., Shaw, C. N., & Ryan, T. M. (2013). Development of Cortical Bone Geometry in the Human Femoral and Tibial Diaphysis. *Anatomical Record*, 296(5), 774–787.
- Granke, M., Does, M. D., & Nyman, J. S. (2015). The Role of Water Compartments in the Material Properties of Cortical Bone HHS Public Access. *Calcif Tissue Int*, 97(3), 292–307.
- Harrington, L. (2010). Ontogeny of postcranial robusticity among Holocene hunter-gatherers of southernmost Africa. In *Graduate Department of Anthropology University of Toronto*.
- Harrison, D. L. (2019). Background in juvenile sexual dimorphism. In *Investigations in Sex Estimation* (pp. 35–50). Elsevier Inc.

- Havill, L. M., Allen, M. R., Harris, J. A. K., Levine, S. M., Coan, H. B., Mahaney, M. C., & Nicoletta, D. P. (2013). Intracortical bone remodeling variation shows strong genetic effects. *Calcified Tissue International*, *93*(5), 472–480.
- Heino, T. J., Kurata, K., Higaki, H., & Väänänen, H. K. (2009). Evidence for the role of osteocytes in the initiation of targeted remodeling. *Technology and Health Care*, *17*(1), 49–56.
- Heinonen, A., Sievänen, H., Kannus, P., Oja, P., & Vuori, I. (2002). Site-specific skeletal response to long-term weight training seems to be attributable to principal loading modality: A pQCT study of female weightlifters. *Calcified Tissue International*, *70*(6), 469–474.
- Hollinger, J. O., Einhorn, T. A., Doll, B., & Sfeir, C. (2004). *Bone Tissue Engineering* (J. O. Hollinger, T. A. Einhorn, B. Doll, & C. Sfeir (Eds.)). CRC Press.
- Holt, B., Whittey, E., Niskanen, M., Sládek, V., Berner, M., & Ruff, C. B. (2018). Temporal and Geographic Variation in Robusticity. In C. B. Ruff (Ed.), *Skeletal Variation and Adaptation in Europeans: Upper Paleolithic to the Twentieth Century* (Issue March, pp. 91–132). John Wiley & Sons, Inc.
- Huiskes, R. (1982). On the modelling of long bones in structural analyses. *Journal of Biomechanics*, *15*(1), 65–69.
- Huiskes, R., Ruimerman, R., van Lenthe, G. H., & Janssen, J. D. (2000). Effects of mechanical forces on maintenance and adaptation of form in trabecular bone. *Nature*, *405*, 704–706.
- Hummert, J. R. (1983). Cortical Bone Growth and Dietary Stress Among Subadults From Nubia's Batn El Hajar. *American Journal of Physical Anthropology*, *62*, 167–176.
- Ivanenko, Y. P., Dominici, N., Cappellini, G., Dan, B., Cheron, G., & Lacquaniti, F. (2004). Development of pendulum mechanism and kinematic coordination from the first unsupported steps in toddlers. *Journal of Experimental Biology*, *207*(21), 3797–3810.
- Ivanenko, Y. P., Dominici, N., & Lacquaniti, F. (2007). Development of independent walking in toddlers. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, *35*(2), 67–73.
- Karlsson, M., Linden, C., Karlsson, C., Johnell, O., Obrant, K., & Seeman, E. (2000). Exercise during growth and bone mineral density and fractures in old age. *The Lancet*, *355*(9202), 469–470.
- Kontulainen, S. A., Kawalilak, C. E., Johnston, J. D., & Bailey, D. A. (2013). Prevention of Osteoporosis and Bone Fragility: A Pediatric Concern. *American Journal of Lifestyle Medicine*, *7*(6), 405–417.
- Kontulainen, S., Sievänen, H., Kannus, P., & Vuori, I. (2002). Effect of Long-Term Impact-Loading on Mass, Size, and Estimated Strength of Humerus and Radius of Female Racquet-Sports Players: A Peripheral Quantitative Computed Tomography Study Between Young and Old Starters and Controls. *Journal of Bone and Mineral Research*, *17*(12), 2281–2289.
- Krempien, B. (1979). Bone modelling processes at the endosteal surface of human femora. *Virchows Archiv A Pathological Anatomy and Histology*, *382*(1), 73–88.

- Kröger, H., Kotaniemi, A., Kröger, L., & Alhava, E. (1993). Development of bone mass and bone density of the spine and femoral neck — a prospective study of 65 children and adolescents. *Bone and Mineral*, 23(3), 171–182.
- Lacquaniti, F., Ivanenko, Y. P., & Zago, M. (2012). Development of human locomotion. In *Current Opinion in Neurobiology* (Vol. 22, Issue 5, pp. 822–828).
- Lanyon, L. E. (1987). Functional strain in bone tissue as an objective, and controlling stimulus for adaptive bone remodelling. *Journal of Biomechanics*, 20(11–12), 1083–1093.
- Lanyon, L. E. (1992). Control of bone architecture by functional load bearing. *Journal of Bone and Mineral Research*, 7(2), 369–S375.
- Lanyon, L. E., Goodship, A. E., Pye, C. J., & MacFie, J. H. (1982). Mechanically adaptive bone remodelling. *Journal of Biomechanics*, 15(3), 141–154.
- Larsen, C. S., Knüsel, C. J., Haddow, S. D., Pilloud, M. A., Milella, M., Sadvari, J. W., Pearson, J., Ruff, C. B., Garofalo, E. M., Bocaage, E., Betz, B. J., Dori, I., & Glencross, B. (2019). Bioarchaeology of Neolithic Çatalhöyük reveals fundamental transitions in health, mobility, and lifestyle in early farmers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(26), 12615–12623.
- LeVeau, B. F., & Bernhardt, D. B. (1984). Developmental biomechanics: Effect of forces on the growth, development, and Maintenance of the human body. *Physical Therapy*, 64(12), 1874–1882.
- Lieberman, D. E., Polk, J. D., & Demes, B. (2004). Predicting Long Bone Loading from Cross-Sectional Geometry. *American Journal of Physical Anthropology*, 123(2), 156–171.
- Liu, E. J., Cashman, K. V., & Rust, A. C. (2015). Optimising shape analysis to quantify volcanic ash morphology. *GeoResJ*, 8, 14–30.
- Lovejoy, C. O., Burstein, A. H., & Heiple, K. G. (1976). The biomechanical analysis of bone strength: A method and its application to platycnemia. *American Journal of Physical Anthropology*, 44(3), 489–505.
- Lovejoy, C. O., McCollum, M. A., Reno, P. L., & Rosenman, B. A. (2003). Developmental Biology and Human Evolution. *Annual Review of Anthropology*, 32(1), 85–109.
- MacIntosh, A. A., Davies, T. G., Ryan, T. M., Shaw, C. N., & Stock, J. T. (2013). Periosteal versus true cross-sectional geometry: A comparison along humeral, femoral, and tibial diaphyses. *American Journal of Physical Anthropology*, 150(3), 442–452.
- Mackie, E. J., Ahmed, Y. A., Tatarczuch, L., Chen, K. S., & Mirams, M. (2008). Endochondral ossification: How cartilage is converted into bone in the developing skeleton. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 40(1), 46–62.
- Mackie, E. J., Tatarczuch, L., & Mirams, M. (2011). The skeleton: A multi-functional complex organ. The growth plate chondrocyte and endochondral ossification. In *Journal of Endocrinology* (Vol. 211, Issue 2, pp. 109–121). BioScientifica.
- Mahony, B. S., Callen, P. W., & Filly, R. A. (1985). The distal femoral epiphyseal ossification center in the assessment of third-trimester menstrual age: sonographic identification and measurement. *Radiology*, 155(1), 201–204.

- Matsumoto, N., Ogawa, M., Takayasu, K., Hirayama, M., Miura, T., Shiozawa, K., Abe, M., Nakagawara, H., Moriyama, M., & Udagawa, S. (2015). Quantitative sonographic image analysis for hepatic nodules: a pilot study. *Journal of Medical Ultrasonics*, 42(4), 505–512.
- Miller, M. J., Agarwal, S. C., Aristizabal, L., & Langebaek, C. (2018). The daily grind: Sex- and age-related activity patterns inferred from cross-sectional geometry of long bones in a pre-Columbian muisca population from Tibanica, Colombia. *American Journal of Physical Anthropology*, 167(2), 311–326.
- Mrňák, L., & Drla, A. (1981). *Mechanika: Pružnost a pevnost pro SPŠ strojnické* (3rd ed.). Státní nakladatelství technické literatury.
- Nordin, M., & Frankel, V. H. (2001). *Basic biomechanics of the musculoskeletal system*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Nyman, J. S., & Makowski, A. J. (2012). The contribution of the extracellular matrix to the fracture resistance of bone. *Current Osteoporosis Reports*, 10(2), 169–177.
- O’Neill, M. C., & Ruff, C. B. (2004). Estimating human long bone cross-sectional geometric properties: A comparison of noninvasive methods. *Journal of Human Evolution*, 47(4), 221–235.
- Panattoni, G. L., D’Amelio, P., Di Stefano, M., & Isaia, G. C. (2000). Ossification Centers of Human Femur. *Calcified Tissue International*, 66(4), 255–258.
- Pandey, N., Bholá, S., Goldstone, A., Chen, F., Chrzanowski, J., Terranova, C. J., Ghillani, R., & Jepsen, K. J. (2009). Interindividual variation in functionally adapted trait sets is established during postnatal growth and predictable based on bone robustness. *Journal of Bone and Mineral Research*, 24(12), 1969–1980.
- Parfitt, A. M., Travers, R., Rauch, F., & Glorieux, F. H. (2000). Structural and cellular changes during bone growth in healthy children. *Bone*, 27(4), 487–494.
- Pearson, O. M. (2000). Activity, climate, and postcranial robusticity. *Current Anthropology*, 41(4), 569–607.
- Pearson, O. M., & Lieberman, D. E. (2004). The aging of Wolff’s “law”: Ontogeny and responses to mechanical loading in cortical bone. *American Journal of Physical Anthropology*, 125(39), 63–99.
- Plánička, F., & Kuliš, Z. (2009). *Základy teorie plasticity*. České vysoké učení technické.
- Poláček, L. (2008). *Great Moravia, the Power Centre at Mikulčice and the Issue of the Socio-economic Structure*. 11–44.
- Prewitt, J. M. S., & Mendelsohn, M. L. (1966). The analysis of cell images. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 128(3), 1035–1053.
- Rauch, F. (2005). Bone growth in length and width: The Yin and Yang of bone stability. *Journal of Musculoskeletal Neuronal Interactions*, 5(3), 194–201.
- Rhodes, J. A., & Knüsel, C. J. (2005). Activity-related skeletal change in medieval humeri: Cross-sectional and architectural alterations. *American Journal of Physical Anthropology*, 128(3), 536–546.

- Robling, A. G., Castillo, A. B., & Turner, C. H. (2006). Biomechanical and molecular regulation of bone remodeling. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 8, 455–498.
- Ruben, J. A., & Bennett, A. A. (1987). The evolution of bone. *Evolution*, 41(6), 1187–1197.
- Ruff, C. B. (1999). Skeletal structure and behavioral patterns of prehistoric Great Basin populations. In *Prehistoric lifeways in the great basin wetlands: bioarchaeological reconstruction and interpretation*.
- Ruff, C. B. (2000). Body size, body shape, and long bone strength in modern humans. *Journal of Human Evolution*, 38(2), 269–290.
- Ruff, C. B. (2003). Ontogenetic adaptation to bipedalism: Age changes in femoral to humeral length and strength proportions in humans, with a comparison to baboons. *Journal of Human Evolution*, 45(4), 317–349.
- Ruff, C. B. (2017). Skeletal Variation and Adaptation in Europeans: Upper Paleolithic to the Twentieth Century. In C. B. Ruff (Ed.), *Skeletal Variation and Adaptation in Europeans: Upper Paleolithic to the Twentieth Century*.
- Ruff, C. B. (2019). Biomechanical analyses of archaeological human skeletons. In M. A. Katzenberg & A. L. Grauer (Eds.), *Biological Anthropology of the Human Skeleton* (pp. 183–206). John Wiley & Sons.
- Ruff, C. B., & Hayes, W. C. (1983). Cross-sectional geometry of Pecos Pueblo femora and tibiae—A biomechanical investigation: I. Method and general patterns of variation. *American Journal of Physical Anthropology*, 60(3), 359–381.
- Ruff, C. B., Holt, B., Niskanen, M., Sládek, V., Berner, M., Garofalo, E., Garvin, H. M., Hora, M., Junno, J.-A., Schuplerova, E., Vilkama, R., & Whittey, E. (2015). Gradual decline in mobility with the adoption of food production in Europe. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(23), 7147–7152.
- Ruff, C. B., Holt, B., & Trinkaus, E. (2006). Who’s afraid of the big bad Wolff?: “Wolff’s law” and bone functional adaptation. *American Journal of Physical Anthropology*, 129(4), 484–498.
- Ruff, C. B., & Larsen, C. S. (2014). Long Bone Structural Analyses and the Reconstruction of Past Mobility: A Historical Review. In K. J. Carlson & D. Marchi (Eds.), *Reconstructing Mobility: Environmental, Behavioral, and Morphological Determinants* (pp. 13–29). Springer US.
- Ruff, C. B., Trinkaus, E., Walker, A., & Larsen, C. S. (1993). Postcranial robusticity in Homo. I: Temporal trends and mechanical interpretation. *American Journal of Physical Anthropology*, 91, 21–53.
- Ruff, C. B., Walker, A., & Trinkaus, E. (1994). Postcranial robusticity in Homo. III: Ontogeny. *American Journal of Physical Anthropology*, 93(1), 35–54.
- Ruiz, J. C., Mandel, C., & Garabedian, M. (1995). Influence of spontaneous calcium intake and physical exercise on the vertebral and femoral bone mineral density of children and adolescents. *Journal of Bone and Mineral Research*, 10(5), 675–682.
- Scheuer, L., & Black, S. (2000). Developmental Juvenile Osteology. In *Developmental Juvenile Osteology* (1st Editio). Academic Press.

- Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., Preibisch, S., Rueden, C., Saalfeld, S., Schmid, B., Tinevez, J. Y., White, D. J., Hartenstein, V., Eliceiri, K., Tomancak, P., & Cardona, A. (2012). Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature Methods* 2012 9:7, 9(7), 676–682.
- Seeman, E. (2008). Bone quality: The material and structural basis of bone strength. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 26(1), 1–8.
- Serrat, M. A., Reno, P. L., Mccollum, M. A., Meindl, R. S., & Lovejoy, C. O. (2007). Variation in mammalian proximal femoral development: comparative analysis of two distinct ossification patterns. *Journal of Anatomy*, 210(3), 249–258.
- Shapiro, F., & Wu, J. (2019). Woven bone overview: structural classification based on its integral role in developmental, repair and pathological bone formation throughout vertebrate groups. *European Cells and Materials*, 38, 137–167.
- Skedros, J. G., Sorenson, S. M., Hunt, K. J., & Holyoak, J. D. (2007). Ontogenetic structural and material variations in ovine calcanei: A model for interpreting bone adaptation. *Anatomical Record*, 290(3), 284–300.
- Sládek, V., Berner, M., Holt, B., Niskanen, M., & Ruff, C. B. (2017). Past Human Manipulative Behavior in the European Holocene as Assessed Through Upper Limb Asymmetry. In C. B. Ruff (Ed.), *Skeletal Variation and Adaptation in Europeans* (pp. 163–208). John Wiley & Sons, Inc.
- Sládek, V., Berner, M., & Sailer, R. (2006). Mobility in Central European Late Eneolithic and Early Bronze Age: Femoral cross-sectional geometry. *American Journal of Physical Anthropology*, 130(3), 320–332.
- Sládek, V., Čerevková, S., Zikmund, T., & Kaiser, J. (2019). Error in the estimation of periosteal and endosteal contours from micro-CT scans for nonadult tibiae and humeri. *American Journal of Physical Anthropology*, 170(2), 275–294. h
- Sládek, V., & Macháček, J. (2017). At the End of Great Moravia: Skeletons from the Second Church Cemetery at Pohansko-Břeclav (9th–10th Century A.D.). In V. Sládek & J. Macháček (Eds.), *At the End of Great Moravia: Skeletons from the Second Church Cemetery at Pohansko-Břeclav (9th–10th Century A.D.)*. BAR Publishing.
- Sládek, V., & Makajevová, E. (2017). The assessment of preservation of a skeletal sample excavated from the Pohansko second church cemetery. *At the End of Great Moravia: Skeletons from the Second Church Cemetery at Pohansko-Břeclav (9th–10th Century A.D.)*, May 2018, 19–34.
- Sládek, V., Makajevová, E., & Berner, M. (2017). Dental and skeletal age-at-death for non-adult and adult individuals from the Pohansko second church cemetery. *At the End of Great Moravia: Skeletons from the Second Church Cemetery at Pohansko-Břeclav (9th–10th Century A.D.)*, May 2018, 35–50.
- Sládek, V., Ruff, C. B., Berner, M., Holt, B., Niskanen, M., Schuplerová, E., & Hora, M. (2016). The impact of subsistence changes on humeral bilateral asymmetry in Terminal Pleistocene and Holocene Europe. *Journal of Human Evolution*, 92, 37–49.
- Sládek, V., Sabolová, V., Šebesta, O., Zikmund, T., Kaiser, J., & Čerevková, S. (2018). Effect of deriving periosteal and endosteal contours from microCT scans on computation of cross-sectional properties in non-adults: the femur. *Journal of Anatomy*, 233(3), 381–393.

- Smith, J. W. (1962). The structure and stress relations of fibrous epiphysal plates. *Journal of Anatomy*, 96(2), 209–225.
- Snow-Harter, C., Bouxsein, M., Lewis, B., Charette, S., Weinstein, P., & Marcus, R. (1990). Muscle strength as a predictor of bone mineral density in young women. *Journal of Bone and Mineral Research*, 5(6), 589–595.
- Sparacello, V. S., & Pearson, O. M. (2010). The importance of accounting for the area of the medullary cavity in cross-sectional geometry: A test based on the femoral midshaft. *American Journal of Physical Anthropology*, 143(4), 612–624.
- Sparacello, V. S., Samsel, M., Villotte, S., Varalli, A., Schimmenti, V., & Sineo, L. (2020). Inferences on Sicilian Mesolithic subsistence patterns from cross-sectional geometry and enthesal changes. *Archaeological and Anthropological Sciences*, 12(5).
- Steinberg, M. E., & Trueta, J. (1981). Effects of activity on bone growth and development in the rat. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 156(156), 52–60.
- Stloukal, M., & Hanáková, H. (1978). Length of long bones in ancient slavonic populations- with particular consideration to questions of growth. *Homo*, 29(1), 53–69.
- Stock, J. T. (2002). A test of two methods of radiographically deriving long bone cross-sectional properties compared to direct sectioning of the diaphysis. *International Journal of Osteoarchaeology*, 12(5), 335–342.
- Stock, J. T. (2006). Hunter-gatherer postcranial robusticity relative to patterns of mobility, climatic adaptation, and selection for tissue economy. *American Journal of Physical Anthropology*, 131(2), 194–204.
- Stock, J. T., & Pfeiffer, S. (2001). Linking structural variability in long bone diaphyses to habitual behaviors: Foragers from the southern African Later Stone Age and the Andaman Islands. *American Journal of Physical Anthropology*, 115(4), 337–348.
- Stock, J. T., & Pfeiffer, S. . (2004). Long bone robusticity and subsistence behaviour among Later Stone Age foragers of the forest and fynbos biomes of South Africa. *Journal of Archaeological Science*, 31(7), 999–1013.
- Stock, J. T., & Shaw, C. N. (2007). Which measures of diaphyseal robusticity are robust? A comparison of external methods of quantifying the strength of long bone diaphyses to cross-sectional geometric properties. *American Journal of Physical Anthropology*, 134(3), 412–423.
- Stout, S., & Crowder, C. (2011). Bone Remodeling, Histomorphology, and Histomorphometry. In S. Stout & C. Crowder (Eds.), *Bone Histology: An Anthropological Perspective* (pp. 1–21). CRC Press.
- Sumner, D. R., & Andriacchi, T. P. (1996). Adaptation to differential loading: Comparison of growth-related changes in cross-sectional properties of the human femur and humerus. *Bone*, 19(2), 121–126.
- Swan, K. R., Ives, R., Wilson, L. A. B., & Humphrey, L. T. (2020). Ontogenetic changes in femoral cross-sectional geometry during childhood locomotor development. *American Journal of Physical Anthropology*, 173(1), 80–95.
- Takashimizu, Y., & Iiyoshi, M. (2016). New parameter of roundness R: circularity corrected by aspect ratio. *Progress in Earth and Planetary Science*, 3(1), 1–16.

- Tan, V. P. S., Macdonald, H. M., Kim, S. J., Nettlefold, L., Gabel, L., Ashe, M. C., & McKay, H. A. (2014). Influence of physical activity on bone strength in children and adolescents: A systematic review and narrative synthesis. *Journal of Bone and Mineral Research*, 29(10), 2161–2181.
- Teegarden, D., Proulx, W. R., Martin, B. R., Zhao, J., McCabe, G. P., Lyle, R. M., Peacock, M., Slemenda, C., Johnston, C. C., & Weaver, C. M. (1995). Peak bone mass in young women. *Journal of Bone and Mineral Research*, 10(5), 711–715.
- Trinkaus, E. (1997). Appendicular robusticity and the paleobiology of modern human emergence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(24), 13367–13373.
- Trinkaus, E., Churchill, S. E., & Ruff, C. B. (1994). Postcranial robusticity in Homo. II: Humeral bilateral asymmetry and bone plasticity. *American Journal of Physical Anthropology*, 93(1), 1–34.
- Trinkaus, E., Churchill, S. E., Villemeur, I., Riley, K. G., Heller, J. A., & Ruff, C. B. (1991). Robusticity versus Shape: The Functional Interpretation of Neandertal Appendicular Morphology. *The Journal of Anthropological Society of Nippon*, 99(3), 257–278.
- Trinkaus, E., & Ruff, C. B. (1989). Diaphyseal cross-sectional morphology and biomechanics of the Fond-de-Foret.1 femur and the Spy 2 femur and tibia. *Anthropologie et Préhistoire*, 100, 33–42.
- Ubelaker, D. H. (1987). Estimating Age at Death from Immature Human Skeletons: An Overview. *Journal of Forensic Sciences*, 32(5), 11176J.
- van Der Meulen, M. C. H., Beaupré, G. S., & Carter, D. R. (1993). Mechanobiologic influences in long bone cross-sectional growth. *Bone*, 14(4), 635–642.
- Van Gerven, D. P., Hummert, J. R., & Burr, D. B. (1985). Cortical bone maintenance and geometry of the tibia in prehistoric children from Nubia's Batn el Hajar. *American Journal of Physical Anthropology*, 66, 275–280.
- Wallace, I. J., Demes, B., & Judex, S. (2017). Ontogenetic and Genetic Influences on Bone's Responsiveness to Mechanical Signals. In C. J. Percival & J. T. Richtsmeier (Eds.), *Building Bones: Bone Formation and Development in Anthropology* (pp. 233–253). Cambridge University Press.
- Walsh, J. S. (2015). Normal bone physiology, remodelling and its hormonal regulation. *Surgery (United Kingdom)*, 33(1), 1–6.
- Walters, B., Uynuk-Ool, T., Rothdiener, M., Palm, J., Hart, M. L., Stegemann, J. P., & Rolauffs, B. (2017). Engineering the geometrical shape of mesenchymal stromal cells through defined cyclic stretch regimens. *Scientific Reports 2017 7:1*, 7(1), 1–14.
- Walzer, S. M., Cetin, E., Grübl-Barabas, R., Sulzbacher, I., Rueger, B., Girsch, W., Toegel, S., Windhager, R., & Fischer, M. B. (2014). Vascularization of primary and secondary ossification centres in the human growth plate. *BMC Developmental Biology*, 14(1), 36.
- Wang, Q., Alén, M., Nicholson, P. H. F., Halleen, J. M., Alatalo, S. L., Ohlsson, C., Suominen, H., & Cheng, S. (2006). Differential effects of sex hormones on peri- and endocortical bone surfaces in pubertal girls. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 91(1), 277–282.

- Warden, S. J., Mantila Roosa, S. M., Kersh, M. E., Hurd, A. L., Fleisig, G. S., Pandy, M. G., & Fuchs, R. K. (2014). Physical activity when young provides lifelong benefits to cortical bone size and strength in men. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *111*(14), 5337–5342.
- Welten, D. C., Kemper, H. C. G., Post, G. B., van Mechelen, W., Twisk, J., Lips, P., & Teule, G. J. (2009). Weight-bearing activity during youth is a more important factor for peak bone mass than calcium intake. *Journal of Bone and Mineral Research*, *9*(7), 1089–1096.
- Wescott, D. J. (2006). Effect of mobility on femur midshaft external shape and robusticity. *American Journal of Physical Anthropology*, *130*(2), 201–213.
- *Wolff, J. (1870). Ueber die innere Architectur der Knochen und ihre Bedeutung für die Frage vom Knochenwachsthum. *Virchows Arch Pathol Anat Physiol*, *50*, 389–450.
- Wolff, J. (2010). The Classic: On the Inner Architecture of Bones and its Importance for Bone Growth (Ueber die innere Architectur der Knochen und ihre Bedeutung für die Frage vom Knochenwachsthum). *Clinical Orthopaedics and Related Research*, *468*(4), 1056–1065.
- Zaki, M. E., Azab, A. A., Yousef, W., Wassal, E. Y., & El-Bassyouni, H. T. (2015). Cross-sectional analysis of long bones in a sample of ancient Egyptians. *Egyptian Journal of Radiology and Nuclear Medicine*, *46*(3), 675–681.
- Zumstein, V., Kraljević, M., Wirz, D., Hügli, R., & Müller-Gerbl, M. (2012). Correlation between mineralization and mechanical strength of the subchondral bone plate of the humeral head. *Journal of Shoulder and Elbow Surgery*, *21*(7), 887–893.

Přílohy

Graf 1: Srovnání parametrů EO

Graf 2: Změny rozměrů dřeňové dutiny mezi věkovými kategoriemi

Graf 3: Vztah plochy dřeňové dutiny a obvodu endostu

Graf 4: Změny parametrů členitosti EO mezi věkovými kategoriemi

Graf 5: Změny parametrů tvaru EO mezi věkovými kategoriemi

Graf 6: Vývoj parametrů členitosti EO v průběhu ontogeneze

Graf 7: Vývoj parametrů tvaru EO v průběhu ontogeneze

Graf 8: Rozdělení jedinců podle hranice 5 % abs %PE

Graf 9: Podíl jedinců s abs %PE větší než 5 %

Graf 10: Srovnání parametrů EO rozdělených podle abs %PE

Graf 11: Rozdělení jedinců podle 95 % limitů shody

Graf 12: Srovnání parametrů EO rozdělených podle 95 % LoA

Obrázek 1: Napětově-deformační křivka

Obrázek 2: Příčný řez kostí stehenní nedospělého jedince

Obrázek 3: Srovnání automaticky a manuálně vyznačeného endostálního obrysu

Obrázek 4: Grafické znázornění parametrů EO

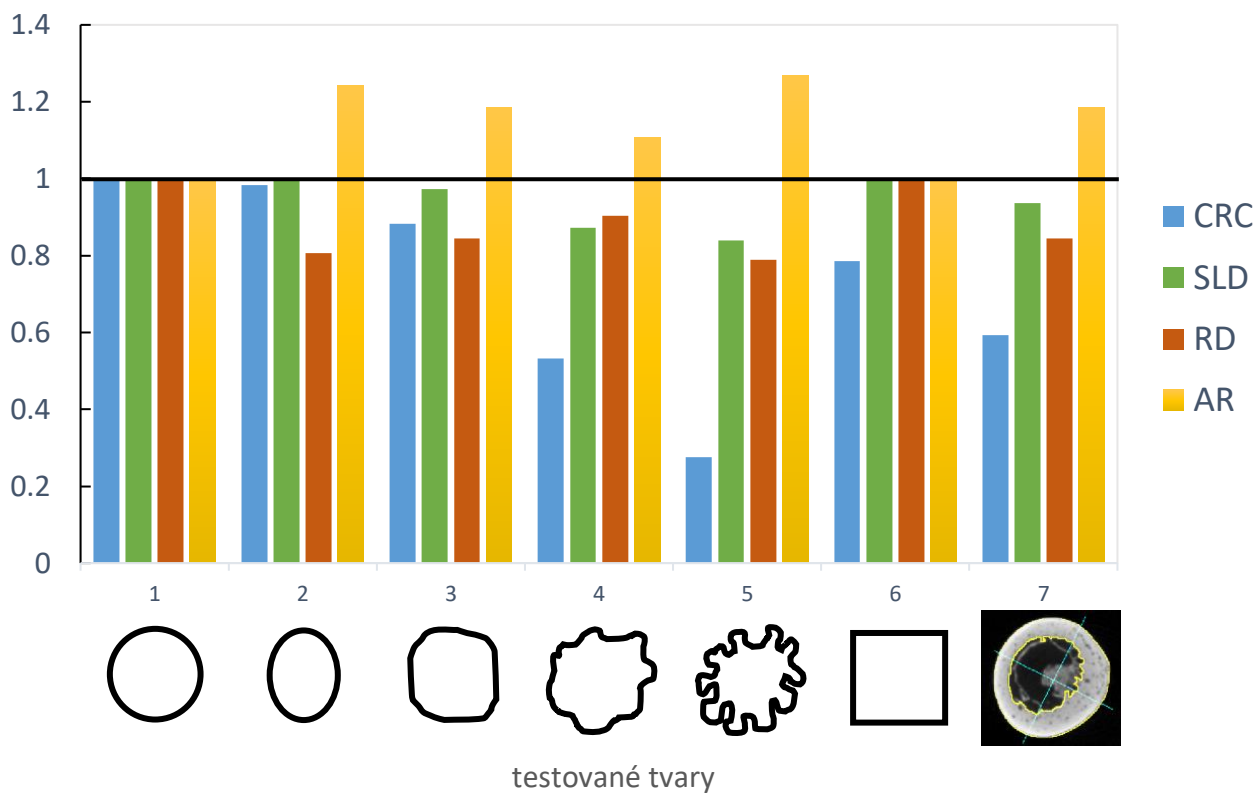
Tabulka 1: Přehled vybraných parametrů průřezové geometrie

Tabulka 2: Počet jedinců ve věkových kategoriích v rámci lokalit

Tabulka 3: Popisná statistika parametrů EO ve věkových kategoriích

Tabulka 4: Popisná statistika skupin vzniklých rozdělením souboru podle %PE

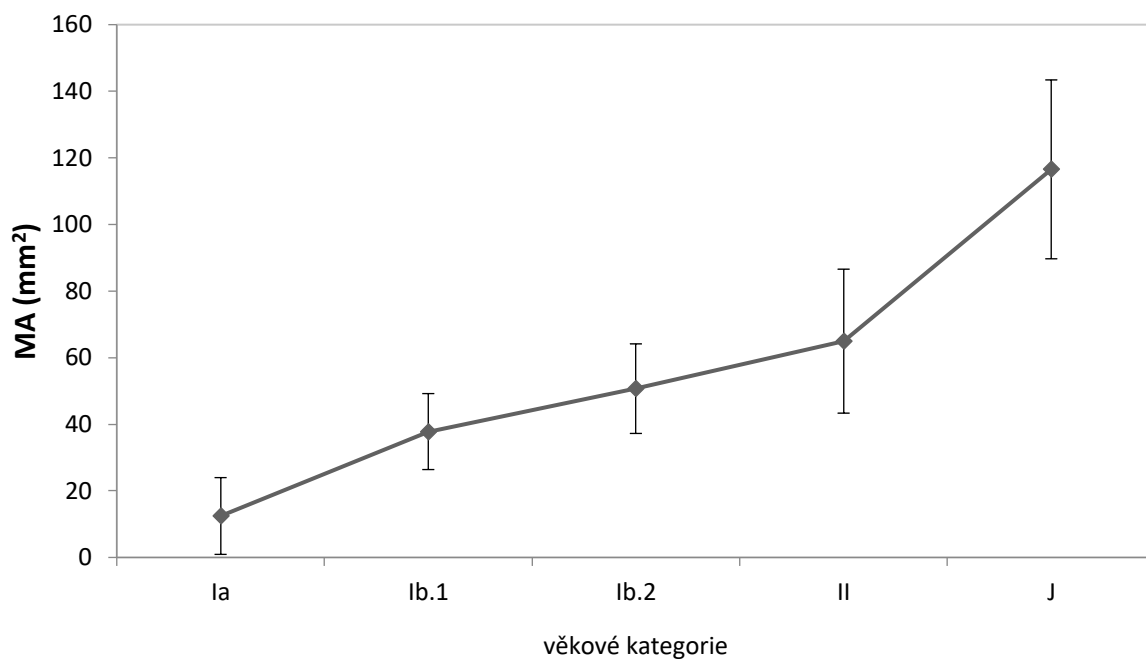
Tabulka 5: Popisná statistika skupin vzniklých rozdělením souboru podle 95 % LoA



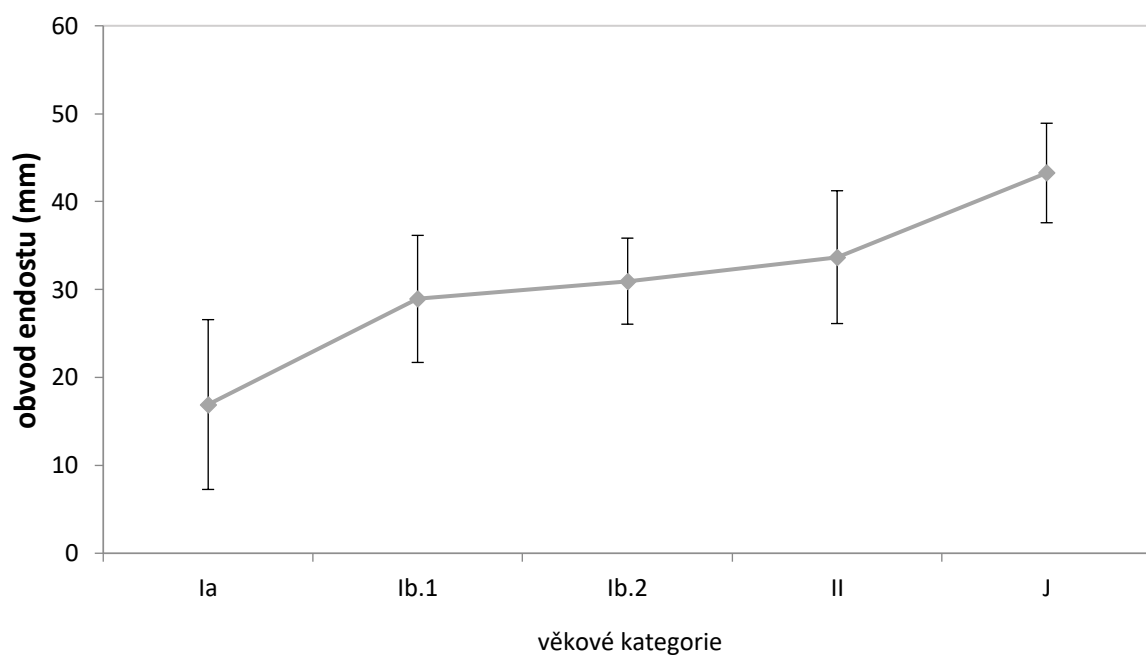
Graf 1: Srovnání parametrů EO.

Hodnoty parametrů endostálního obrysu (na ose y; bezrozměrné; CRC: cirkularita, SLD: solidita, RD: kulatost, AR: poměr os) změřené pro testovací tvary (1: kruh, 2: elipsa, 3-5: útvary se zvyšující se mírou členitosti, 6: čtverec, 7: automaticky vyznačený EO na transverzálním snímku).

2A

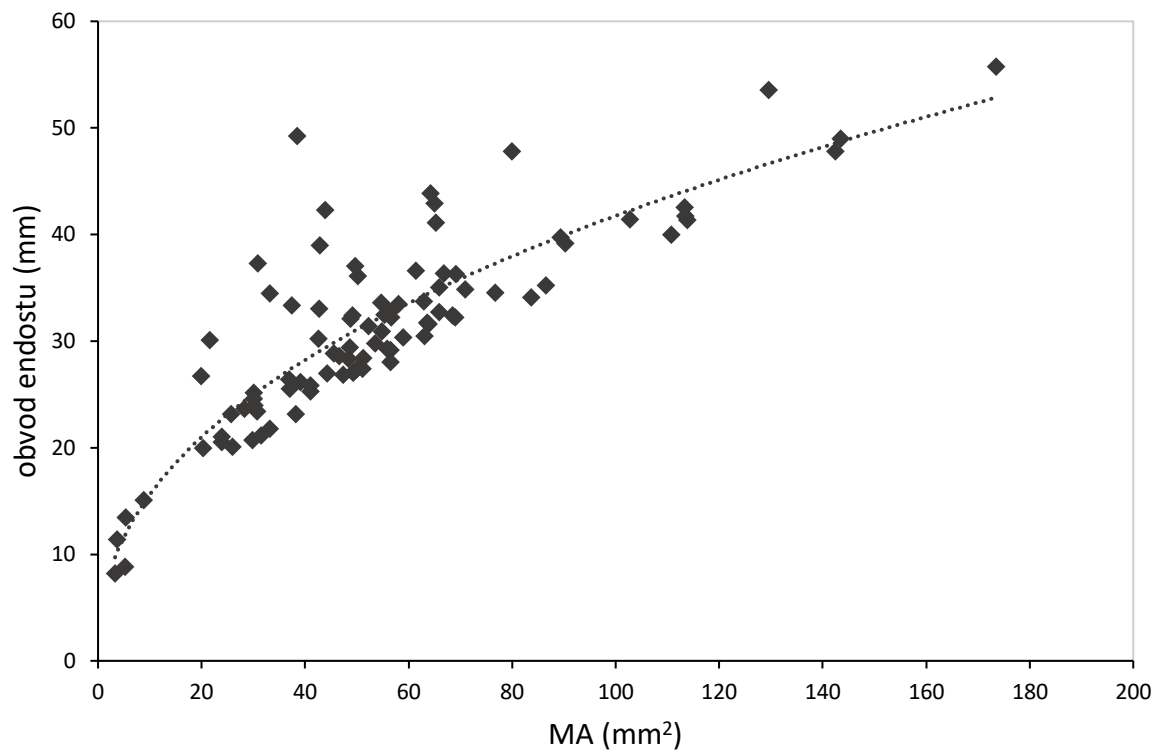


2B



Graf 2: Změny rozměrů dřevné dutiny mezi věkovými kategoriemi.

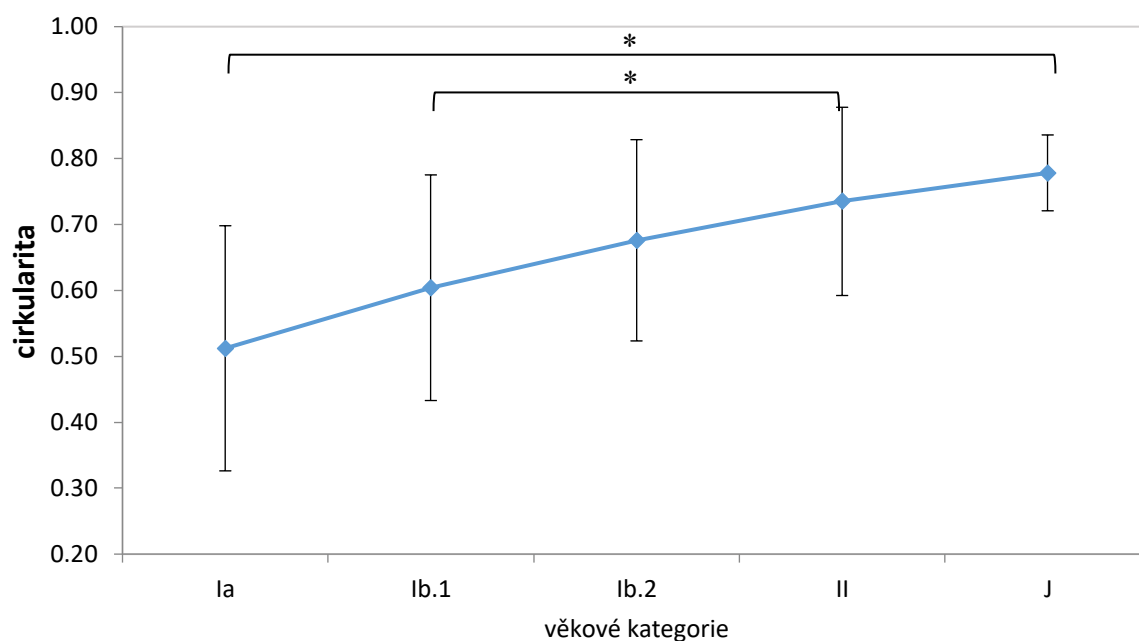
Propojené body vyznačují průměr hodnot pro danou kategorii, směrodatná odchylka (1 SD) je pro každou kategorii vyznačena chybovými úsečkami.



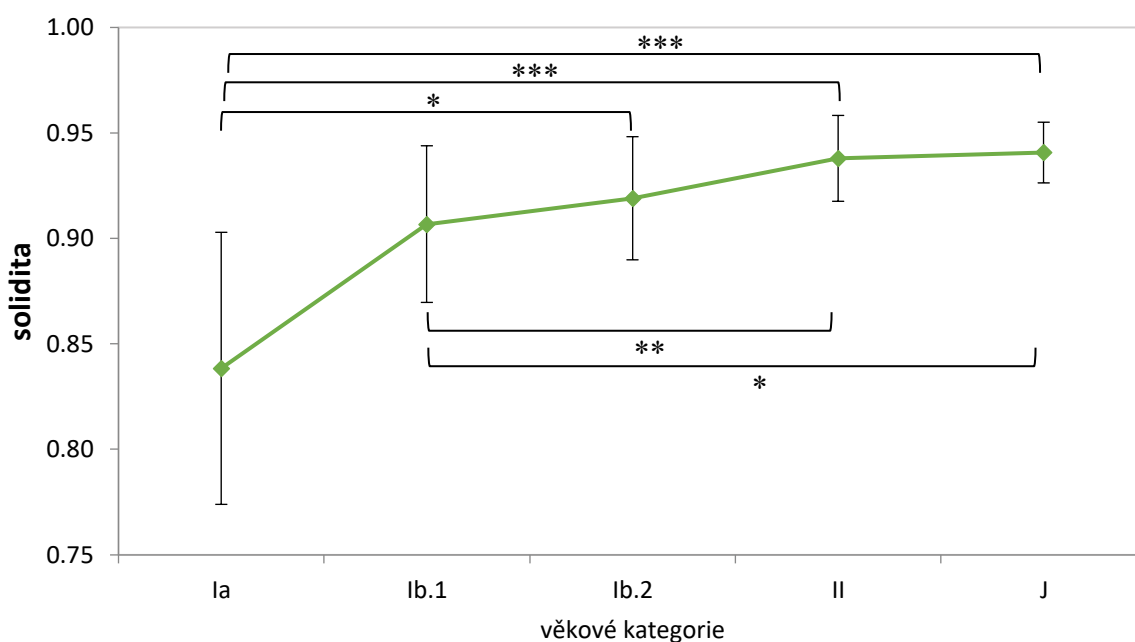
Graf 3: Vztah plochy dřevné dutiny (MA) a obvodu endostu.

Koeficient determinace $R^2 = 0,7342$.

4A



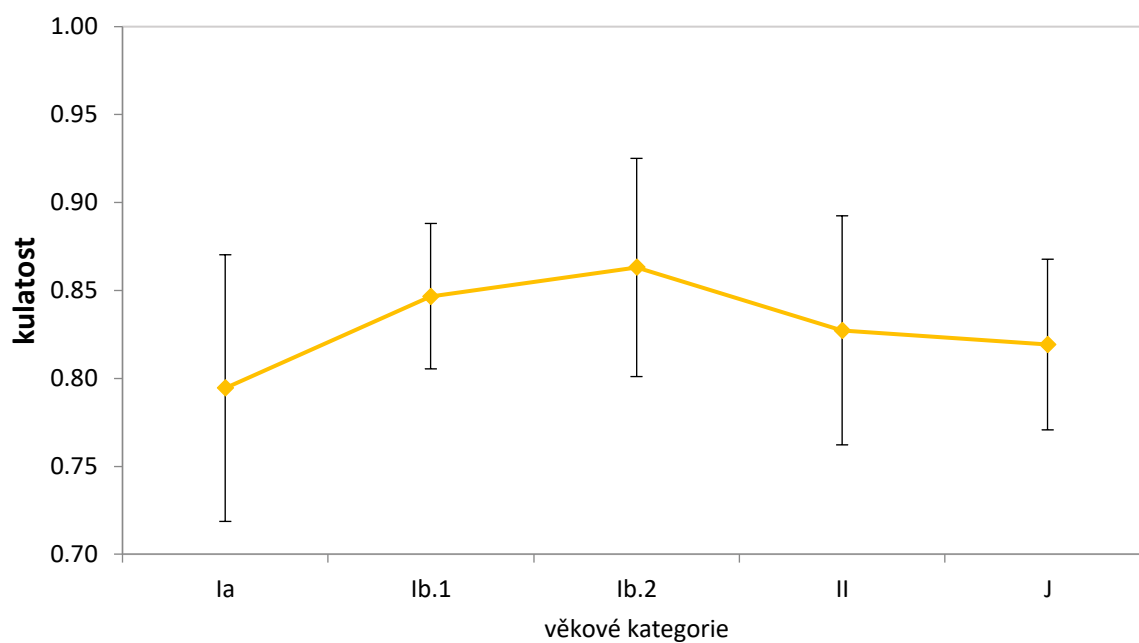
4B



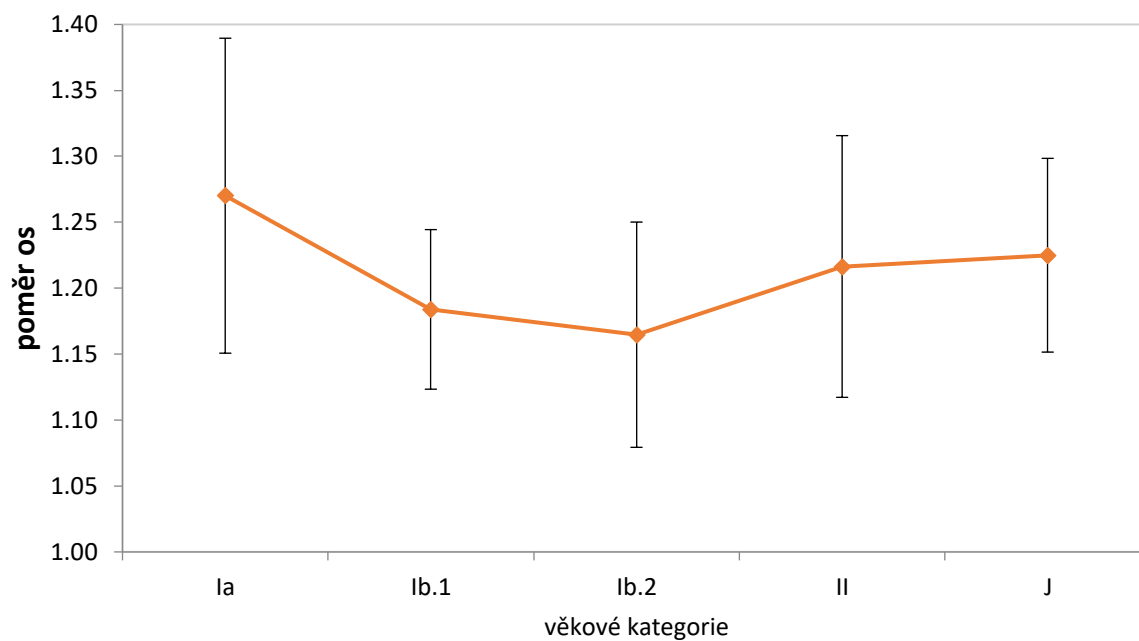
Graf 4: Změny parametrů členitosti EO mezi věkovými kategoriemi.

Propojené body vyznačují průměr hodnot pro danou kategorii, chybové úsečky vyznačují směrodatnou odchylku. Svorčky spojují kategorie, mezi kterými je signifikantní rozdíl. Míra signifikance je vyznačena pomocí hvězdiček (* p-value ≤ 0,05; ** p-value ≤ 0,01; *** p-value ≤ 0,001).

5A



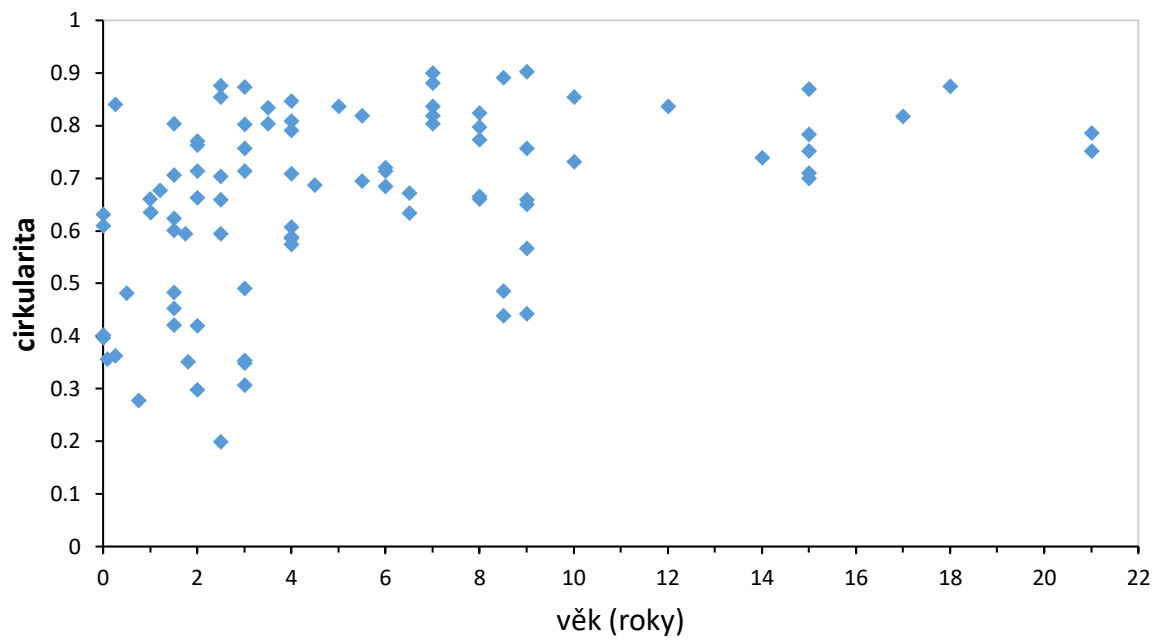
5B



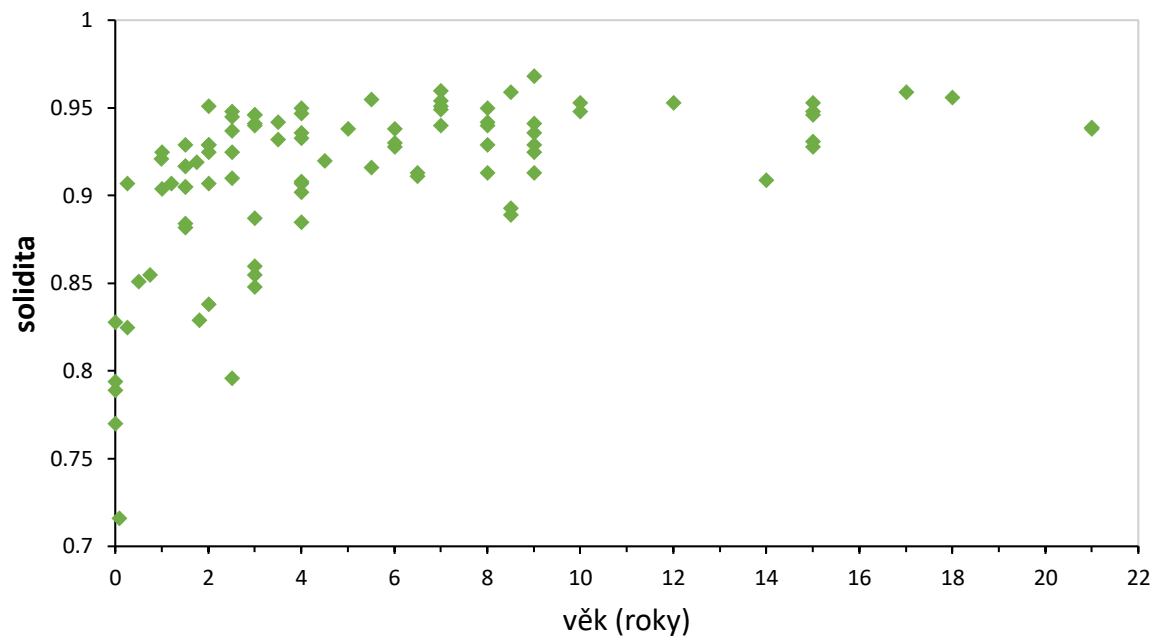
Graf 5: Změny parametrů tvaru EO mezi věkovými kategoriemi.

Propojené body vyznačují průměr hodnot pro danou kategorii, chybové úsečky vyznačují směrodatnou odchylku. Rozdíly mezi věkovými kategoriemi nejsou signifikantní.

6A

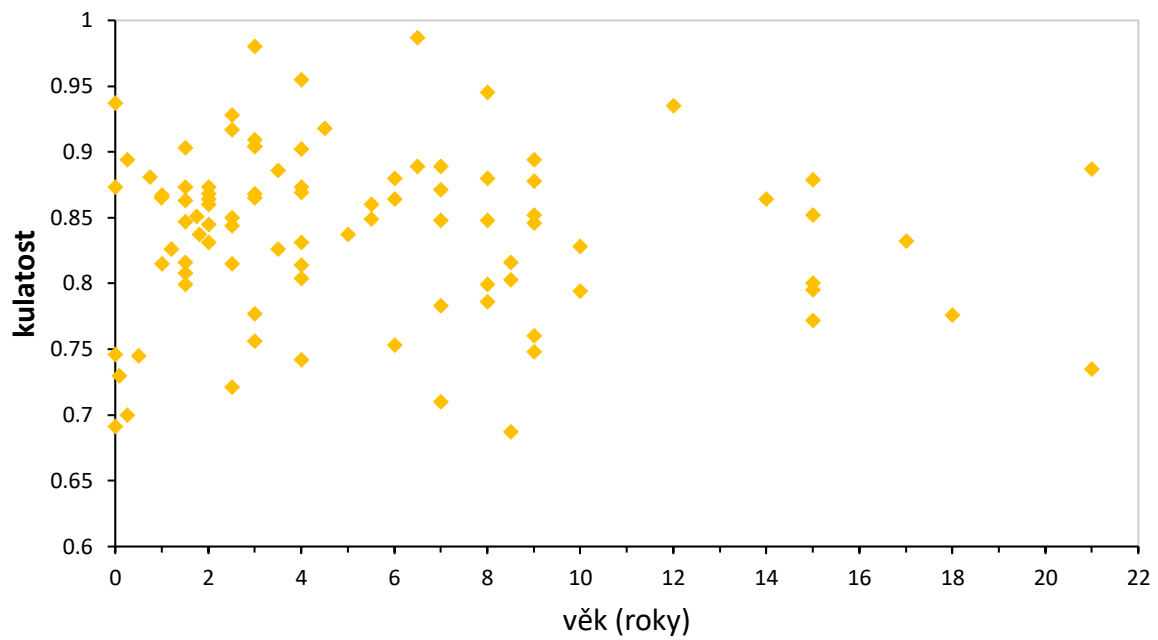


6B

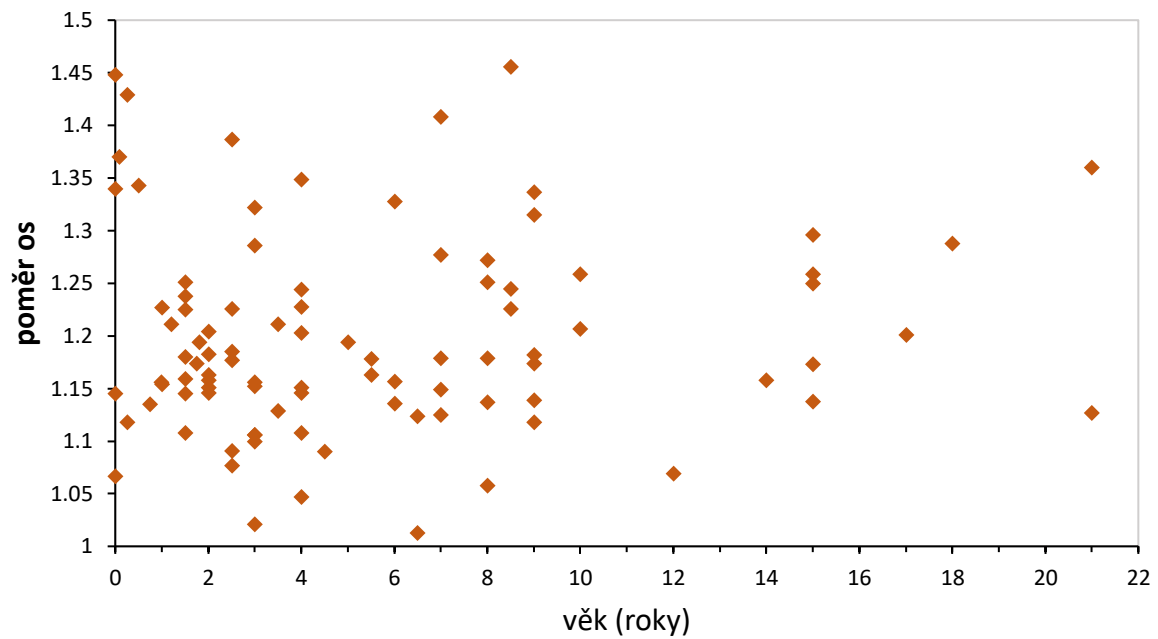


Graf 6: Vývoj parametrů členitosti EO v průběhu ontogeneze.

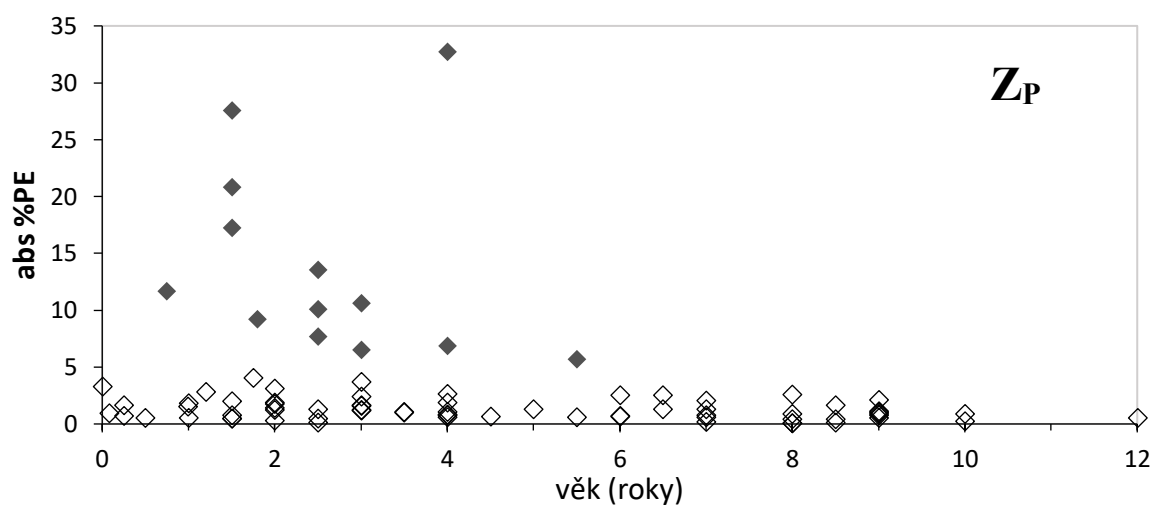
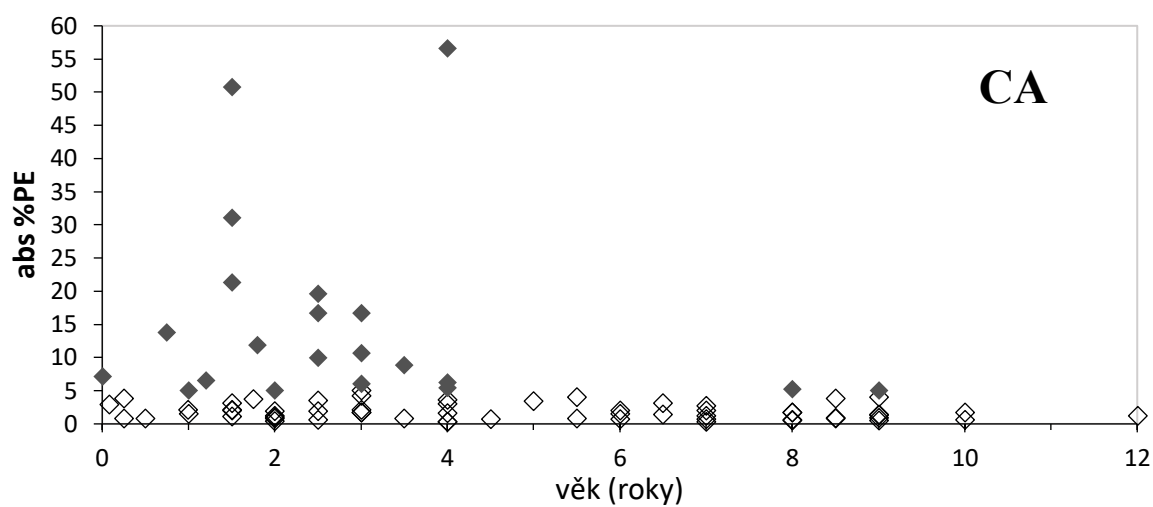
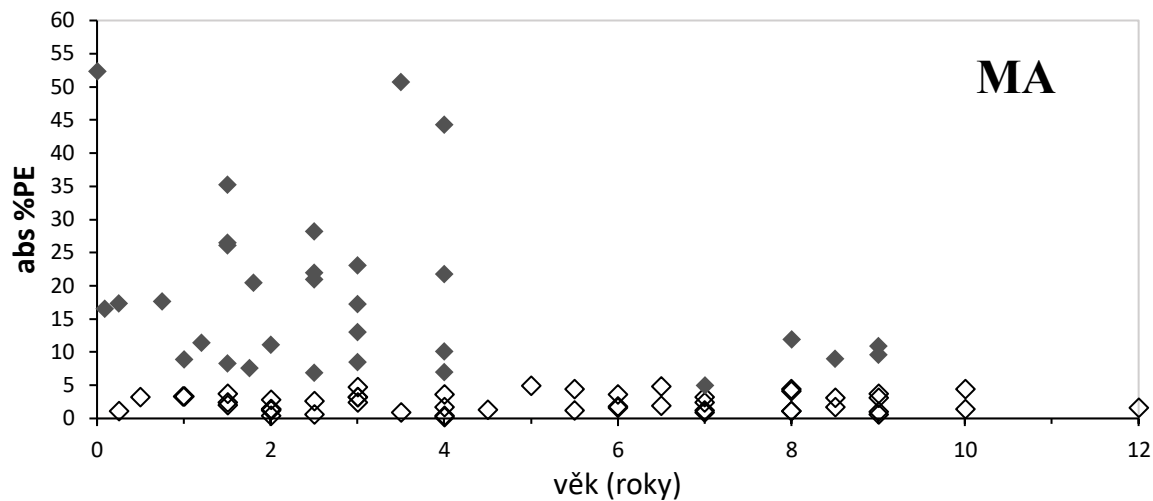
7A



7B



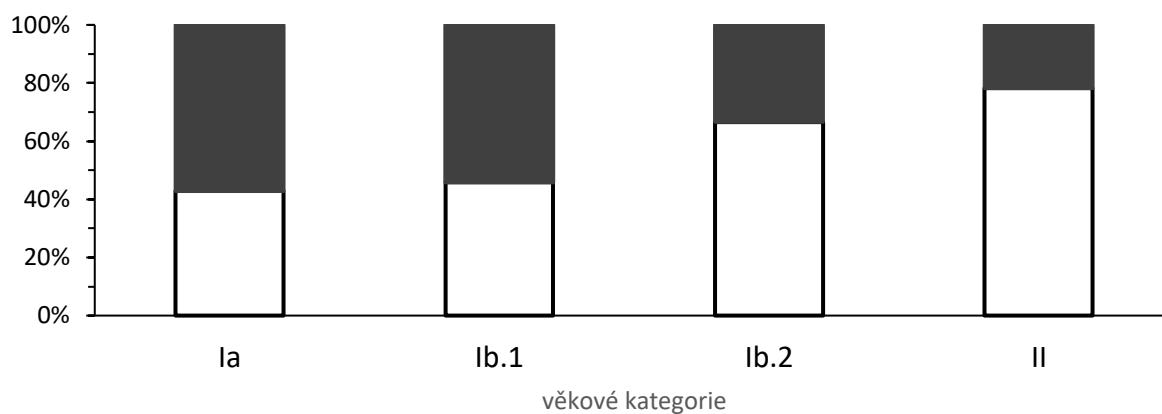
Graf 7: Vývoj parametrů tvaru EO v průběhu ontogeneze.



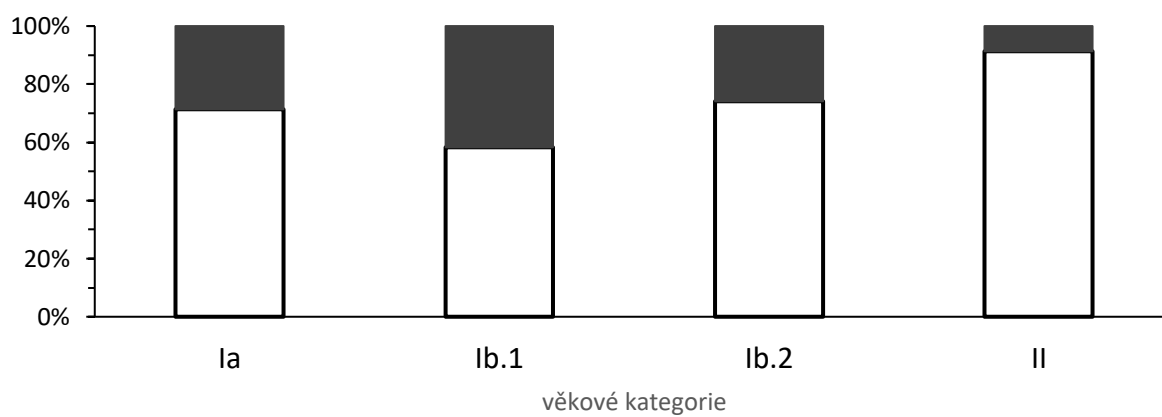
Graf 8: Rozdělení jedinců podle hranice 5 % abs %PE

Prázdné body zobrazují jedince s absolutní %PE menší než 5 %, plné body zobrazují jedince s absolutní %PE větší než 5 %.

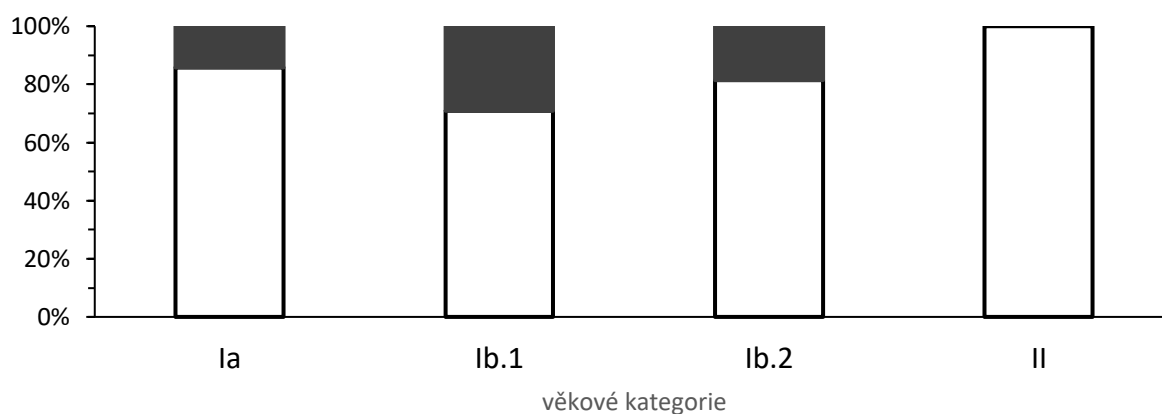
MA



CA

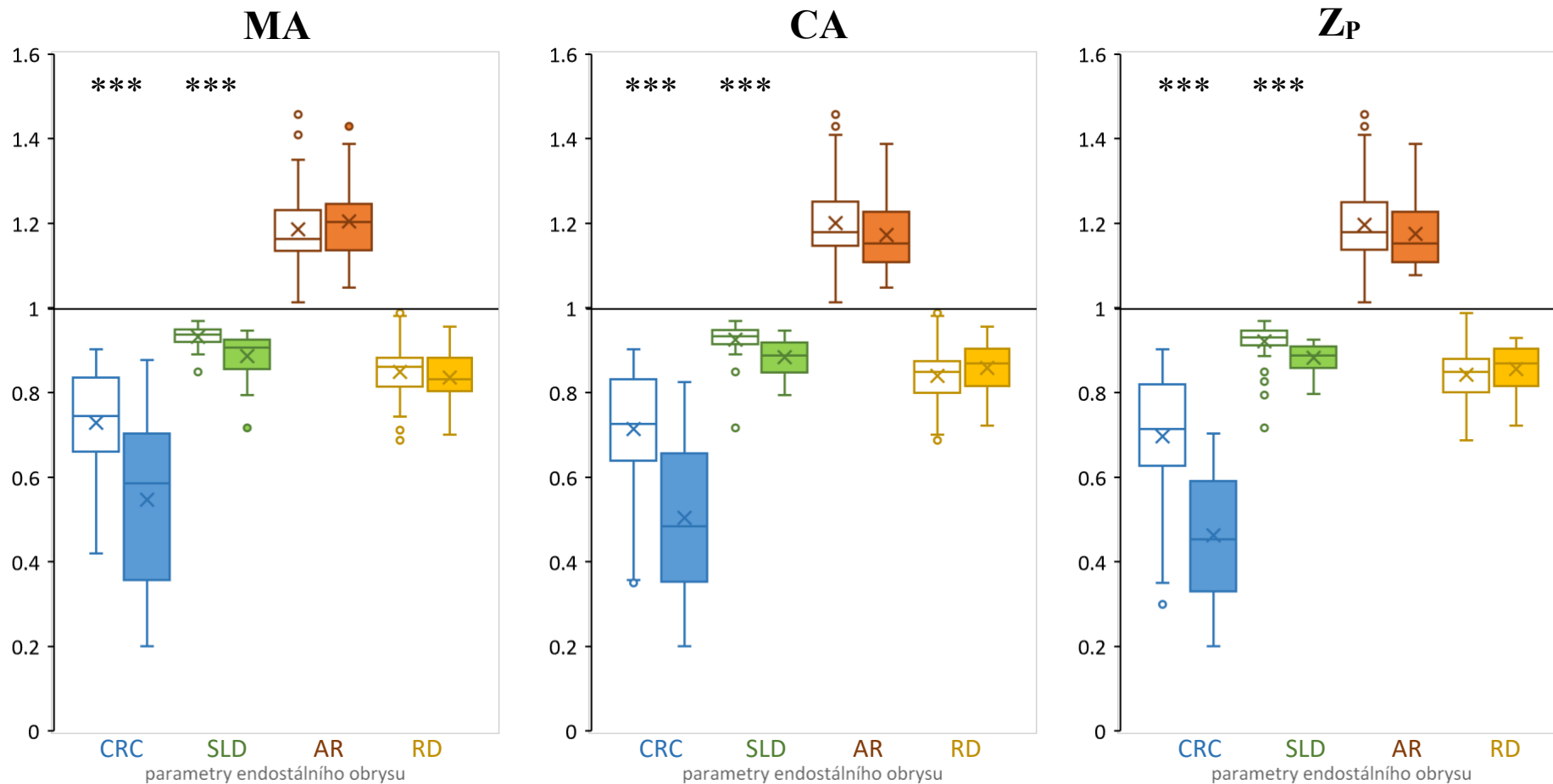


Z_P



Graf 9: Podíl jedinců s abs %PE větší než 5 % ve věkových kategoriích.

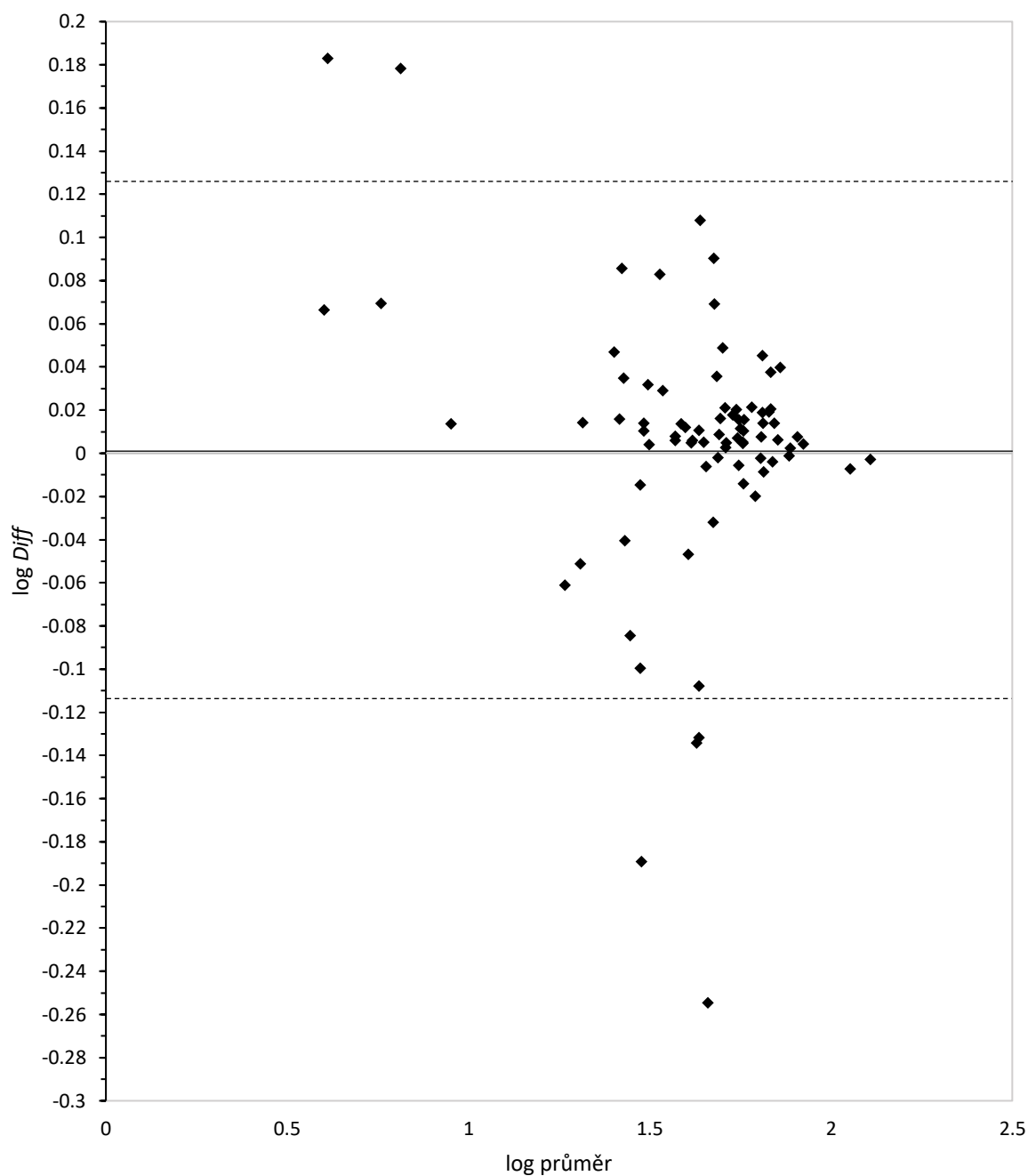
Podíl jedinců s absolutní %PE větší než 5 % je pro každou věkovou kategorii vyznačen v tmavé části sloupce.



Graf 10: Srovnání parametrů EO rozdělených podle %PE

Pro každý z parametrů EO je skupina jedinců s abs %PE < 5 % zobrazena v krabicovém grafu bez výplně a skupina jedinců s abs %PE > 5 % je zobrazena v grafu vyplněném barvou příslušného parametru. Jednotlivé krabicové grafy zobrazují rozdělení do kvartilů, středová čára označuje medián, průměr hodnot je vyznačen křížkem. Signifikantní rozdíl mezi skupinami jednotlivých parametrů EO je vyznačen pomocí hvězdiček (***) p-value ≤ 0,001).

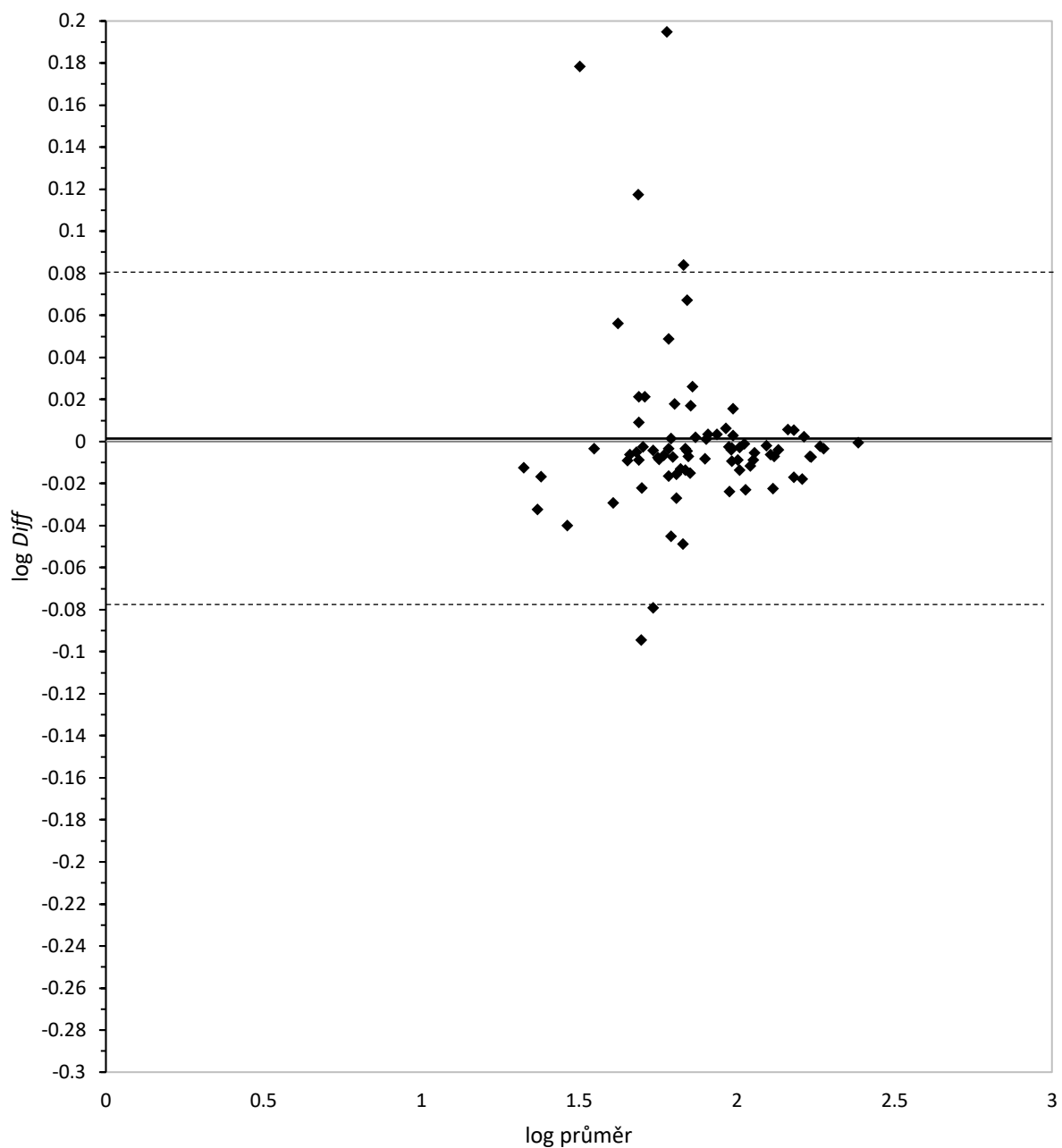
MA



Graf 11A: Rozdělení jedinců podle 95 % limitů shody pro MA

Vytvořeno podle metody Bland & Altman (1986). Plnou čarou je vyznačen průměrný rozdíl, přerušovaně je vyznačen horní a dolní limit shody (průměr $\pm 1,96 \times SD$). Hodnoty jsou logaritmicky transformovány, aby byl eliminován vliv velikosti.

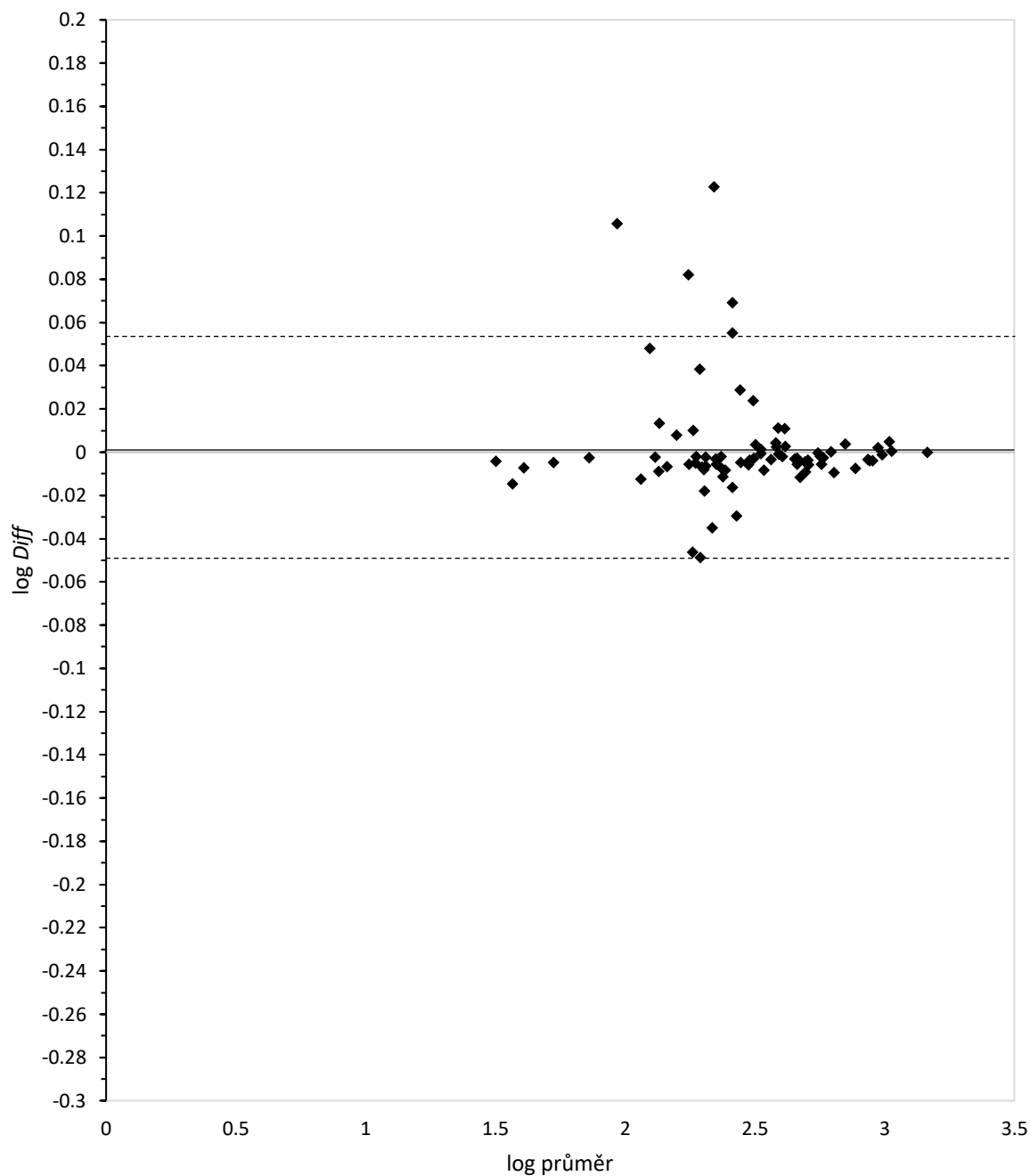
CA



Graf 11B: Rozdělení jedinců podle 95 % limitů shody pro CA

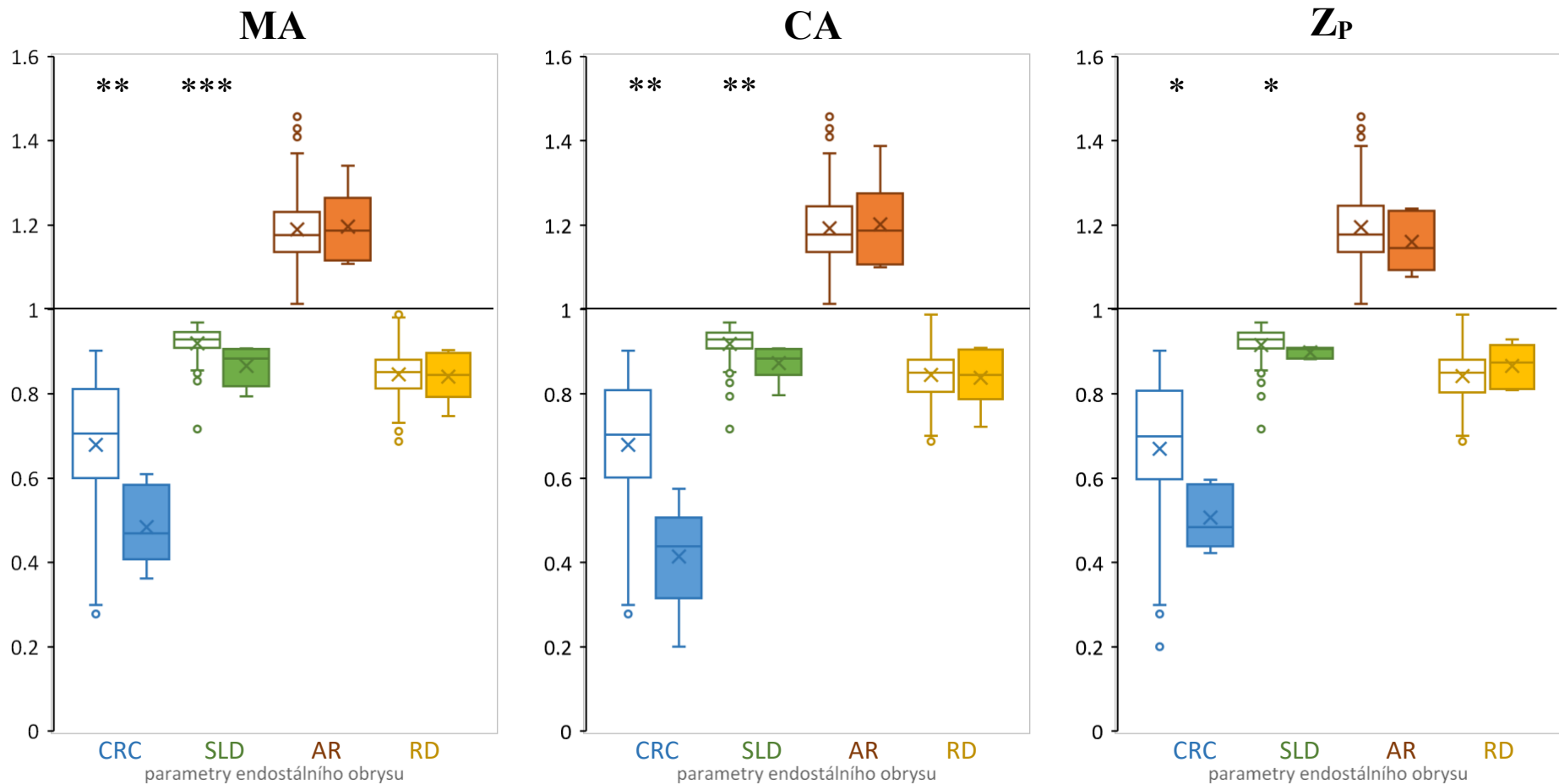
Vytvořeno podle metody Bland & Altman (1986). Plnou čarou je vyznačen průměrný rozdíl, přerušovaně je vyznačen horní a dolní limit shody (průměr $\pm 1,96 \times SD$). Hodnoty jsou logaritmicky transformovány, aby byl eliminován vliv velikosti.

Z_P



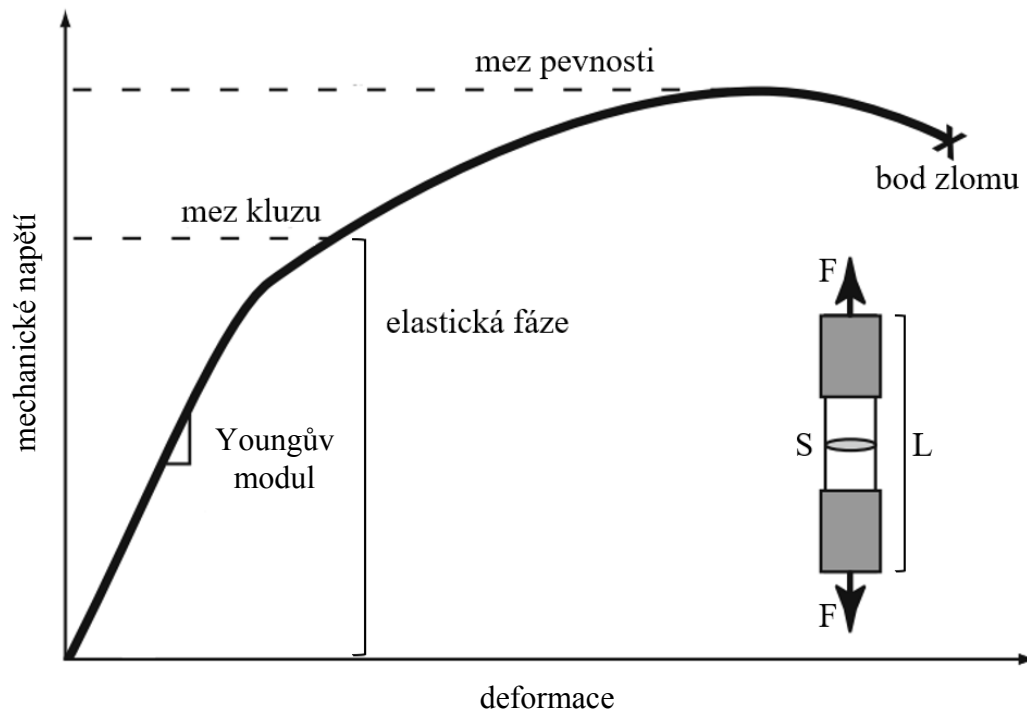
Graf 11C: Rozdělení jedinců podle 95 % limitů shody pro Z_P

Vytvořeno podle metody Bland & Altman (1986). Plnou čarou je vyznačen průměrný rozdíl, přerušovaně je vyznačen horní a dolní limit shody (průměr $\pm 1,96 \times SD$). Hodnoty jsou logaritmicky transformovány, aby byl eliminován vliv velikosti.

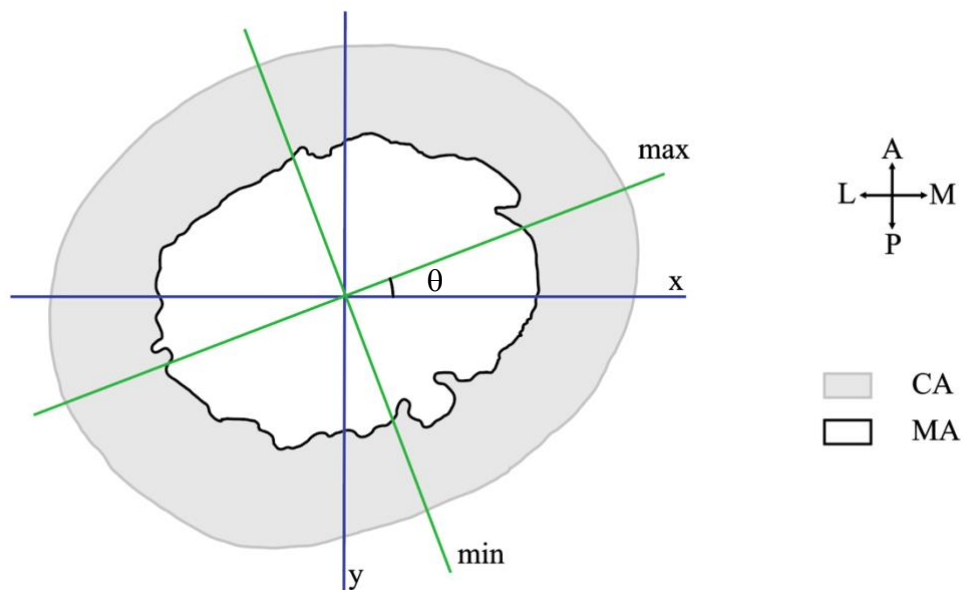


Graf 12: Srovnání parametrů EO rozdělených podle 95 % LoA

Pro každý z parametrů EO je skupina jedinců spadajících do rozmezí 95% limitů shody zobrazena v krabicovém grafu bez výplně a skupina jedinců, kteří limity shody nesplňují, je zobrazena v grafu vyplněném barvou příslušného parametru. Jednotlivé krabicové grafy zobrazují rozdělení do kvartilů, středová čára označuje medián, průměr hodnot je vyznačen křížkem. Signifikantní rozdíl mezi skupinami jednotlivých parametrů EO je vyznačen pomocí hvězdiček (* p-value $\leq 0,05$; ** p-value $\leq 0,01$; *** p-value $\leq 0,001$).

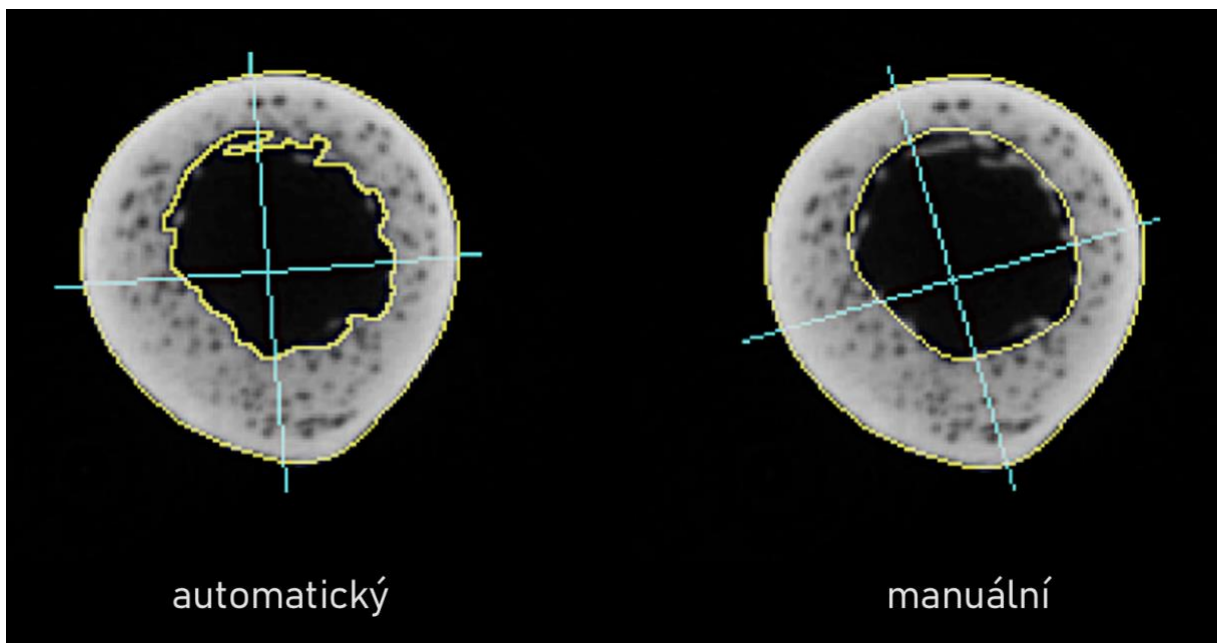


Obrázek 1: Napěťově-deformační křivka pro kontinuální jednorázové zatížení dlouhé kosti v tahu. Upraveno podle Cole & van der Meulen (2011).



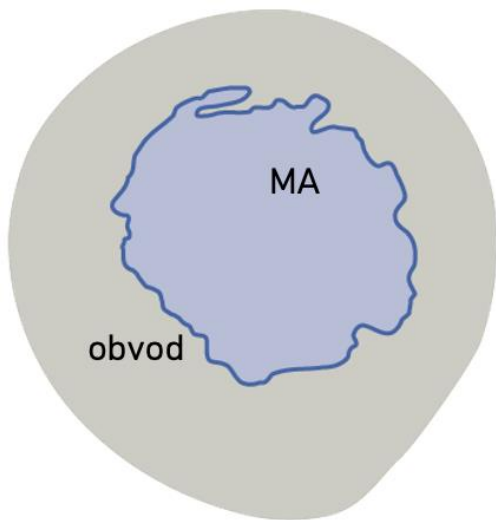
Obrázek 2: Příčný řez kostí stehenní nedospělého jedince.

V obrázku je vyznačená plocha hutné kostní tkáně (CA) a plocha dřeňové dutiny (MA). Modře jsou vyznačeny anatomicky orientované osy: medio-laterální osa x a antero-posteriorní osa y, zeleně je vyznačena osa maximální mechanické odolnosti vůči ohybu (max) a osa minimální mechanické odolnosti vůči ohybu (min). Úhel, který svírá osa maximální mechanické odolnosti s osou x se značí řeckým písmenem théta (θ).

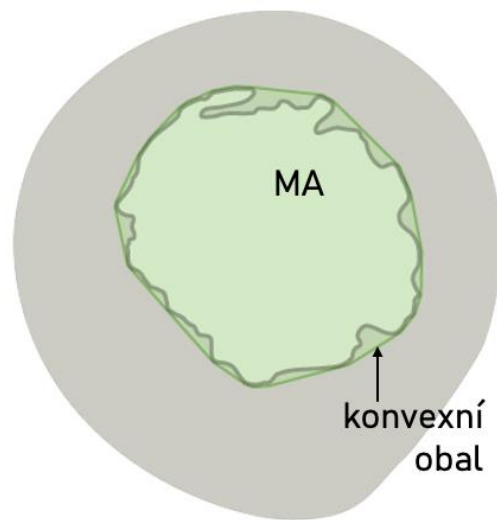


Obrázek 3: Srovnání automaticky a manuálně vyznačeného endostálního obrysu.

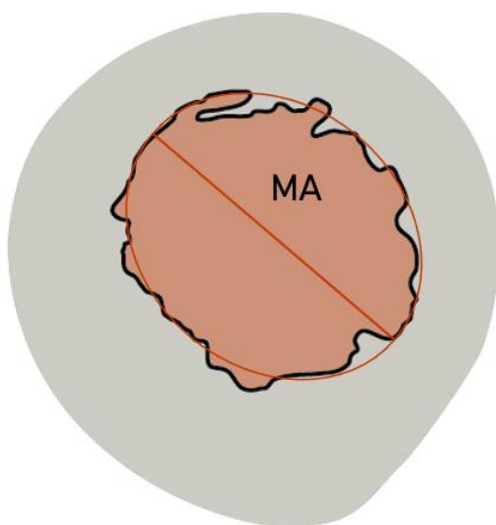
Oba snímky zobrazují příčný průřez v 50 % stehenní kosti stejného jedince starého 1,5 roku. Endostální linie je u obou snímků zobrazena žlutě. Periost je v obou případech vyznačen manuálně (světle žlutá). Modře jsou vyobrazeny osy maximální a minimální mechanické odolnosti.



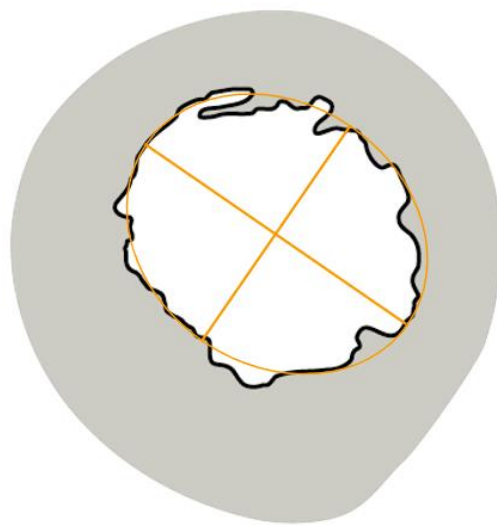
Cirkularita



Solidita



Kulatost



Poměr os

Obrázek 4: Grafické znázornění parametrů endostálního obrysu.

Na každém z vyobrazených průřezů jsou barevně vyznačené rozměry zahrnuté do výpočtu daného parametru EO.

Tabulka 1: Přehled vybraných parametrů průřezové geometrie, jejich zkratk, jednotek a definic. Upraveno podle Ruff (2019)

CSG parametr	zkratka	jednotka	definice
Plocha dřevové dutiny	MA	mm ²	plocha pod endostální hranicí
Celková plocha průřezu	TA	mm ²	subperiostální plocha
Plocha hutné kostní tkáně	CA	mm ²	odolnost vůči tahu/tlaku
Kvadratický moment plochy průřezu	I	mm ⁴	odolnost vůči deformaci v ohybu
Polární kvadratický moment plochy průřezu	J	mm ⁴	odolnost vůči deformaci v krutu a celková pružnost
Sekční modul podle M-L osy (x)	Z _x	mm ³	odolnost vůči zlomení v ohybu v A-P směru
Sekční modul podle A-P osy (y)	Z _y	mm ³	odolnost vůči zlomení v ohybu v M-L směru
Polární sekční modul	Z _P	mm ³	odolnost vůči zlomení v krutu a celková pevnost

Tabulka 1: Počet jedinců [n] ve věkových kategoriích v rámci lokalit Pohansko 2. kostel a Mikulčice

	věk	průměrný věk	Pohansko [n]	Mikulčice [n]
Infans Ia	0-0,99	0,40	5	2
Infans Ib.1	1-2,99	1,84	15	9
Infans Ib.2	3-6,99	4,24	10	17
Infans II	7-12,99	8,48	3	20
Juvenis	13-21	16,55	9	1
CELKEM		5,52	42	49

Tabulka 3: Popisná statistika parametrů endostálního obrysu v rámci věkových kategorií

		Ia	Ib.1	Ib.2	II	J
MA	mean	12.453	37.805	50.692	64.967	116.544
	SD	11.529	11.407	13.447	21.615	26.856
obvod	mean	16.915	28.930	30.952	33.682	43.255
	SD	9.659	7.228	4.896	7.554	5.660
CRC	mean	0.512	0.604	0.676	0.735	0.778
	SD	0.186	0.171	0.153	0.143	0.058
SLD	mean	0.838	0.907	0.919	0.938	0.941
	SD	0.064	0.037	0.029	0.020	0.014
AR	mean	1.270	1.184	1.165	1.216	1.225
	SD	0.119	0.061	0.085	0.099	0.073
RD	mean	0.794	0.847	0.863	0.827	0.819
	SD	0.076	0.041	0.062	0.065	0.049

Tabulka 4: Popisná statistika skupin vzniklých rozdělením souboru podle %PE jednotlivých CSG parametrů

		MA		CA		Z _P	
		< 5 %PE	> 5 %PE	< 5 %PE	> 5 %PE	< 5 %PE	> 5 %PE
počet jedinců		50	31	60	21	68	13
věk	mean	5,1	3,2	4,9	2,9	4,7	2,6
	SD	2,99	2,53	3,06	2,13	3,10	1,25
CRC	mean	0,728	0,546	0,713	0,503	0,696	0,461
	SD	0,1187	0,1860	0,1366	0,1706	0,1485	0,1546
SLD	mean	0,931	0,886	0,925	0,883	0,920	0,882
	SD	0,0237	0,0517	0,0368	0,0442	0,0415	0,0362
AR	mean	1,185	1,204	1,200	1,171	1,196	1,174
	SD	0,0892	0,0958	0,0938	0,0841	0,0941	0,0794
RD	mean	0,848	0,835	0,838	0,858	0,841	0,855
	SD	0,0608	0,0646	0,0631	0,0588	0,0639	0,0539
abs %PE	mean	2,35	18,74	1,76	15,20	1,25	13,87
	SD	1,348	12,377	1,205	14,149	0,906	8,138

Skupiny značené < 5 %PE zahrnují jedince s %PE daného parametru v rozmezí od -5 % do 5 % (tj. v rozmezí akceptovatelné %PE). Skupiny značené > 5 %PE tuto podmínku nesplňují.

Tabulka 5: Popisná statistika skupin vzniklých rozdělením souboru podle limitů shody jednotlivých CSG parametrů

		MA		CA		Z _P	
		95 %	5 %	95 %	5 %	95 %	5 %
počet jedinců		75	6	75	6	76	5
věk	mean	4,5	2,0	4,5	2,3	4,5	2,2
	SD	2,99	1,35	3,03	0,94	3,01	0,98
CRC	mean	0,673	0,484	0,678	0,414	0,669	0,505
	SD	0,1702	0,0852	0,1610	0,1167	0,1727	0,0680
SLD	mean	0,918	0,866	0,917	0,872	0,915	0,898
	SD	0,0408	0,0421	0,0417	0,0376	0,0441	0,0120
AR	mean	1,192	1,196	1,192	1,201	1,195	1,159
	SD	0,0931	0,0816	0,0917	0,0989	0,0934	0,0641
RD	mean	0,844	0,840	0,844	0,838	0,842	0,865
	SD	0,0631	0,0555	0,0624	0,0654	0,0632	0,0476
log Dif	mean	0,00498		0,00089		0,00254	
	SD	0,06208		0,04074		0,02626	

Skupiny značené 95 % zahrnují jedince s rozdílem manuálně a automaticky získaných hodnot daného CSG parametru v rozmezí $\pm 1,96$ směrodatné odchylky od průměru (tj. spadají mezi limity shody). Skupiny značené 5 % zahrnují jedince, kteří limity shody nesplňují.