CZÉTÉNYI ANDRÁS DIPLOMATERV

#### BUDAPESTI MŰSZAKI ÉS GAZDASÁGTUDOMÁNYI EGYETEM GÉPÉSZMÉRNÖKI KAR MOGI TANSZÉK



SZAKDOLGOZATOK

## BUDAPESTI MŰSZAKI ÉS GAZDASÁGTUDOMÁNYI EGYETEM GÉPÉSZMÉRNÖKI KAR MOGI TANSZÉK

# CZÉTÉNYI ANDRÁS

# DIPLOMATERV

# Inak kollagén felépítésének többszintű vizsgálata

Konzulens:

Sárosiné Dr. Lakatos Ilona Éva Horváthné Dr. Tóth Brigitta Krisztina Egyetemi adjunktus Témavezető: Kiss Rita

Egyetemi tanár

# Budapest, 2021



Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem

Gépészmérnöki Kar

Mechatronika, Optika és Gépészeti Informatika Tanszék

https://mogi.bme.hu

# DIPLOMAMUNKA-FELADAT

#### NYILVÁNOS

S	Név: Czétényi András			Azonosító: 73611193834		
NOSÍTÁ	Képzéskód: 2N-MM0		Specializád	ció kódja:	Feladatkiírás azonosítója:	
	Szak: Mechatronikai mérnöki mesterképzési szak		2N-MM0-BI-2012 GEMI:2022-1:2N-MM0:ZRR0		GEMI:2022-1:2N-MM0:ZRRQRC	
	Diplomamunka feladatot kiadó tanszék:		Záróvizsgát szervező tanszék:			
ZC	Mechatronika, Optika és Gépészeti Informatika Tanszék		Mechatronika, Optika és Gépészeti Informatika Tanszék			
A	Témavezető: Dr. Kiss Rita Mária (71957806243), egyetemi tanár					
		<b>T T T T T T T T T T</b>				
	Cím	lnak kollagén felépítésének többszíntű vízsgálata				
		Research of multilevel structure in tendon collagens				
	Részletes feladatok	Irodalomkutatás és kritikai elemzés, ez alapján a célok pontosítása.				
		Állati ínrostköteg húzó kísérletével a lépcsőzetes tönkremenetel és a képlékenyedés folyamatának				
		vizsgálata.				
<u> </u>		Eredmények összehasonlítása szakirodalomból nyert, teljes ínra vonatkozó adatállományokkal.				
LAC		Mérethatás elemzése.				
FELAD		Kísérleti eredmények alapján, a rostköteget alkotó rostok lépcsőzetes szakadásával a rostköteg				
		kepiekenyedesenek vegeselemes szimulacioja.				
		A kutatas koriatainak feitarasa, gyakoriati aikain	nazasok, tov	abblepes.		
		A diplomamunka készítés helye:				
	Hely	Budapest Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem				
		1111 Budapest, Budapest Műegyetem rkp.				

Konzulens: Sárosiné Dr. Lakatos Ilona Éva, adjunktus
--

<b>A</b> E	1. záróvizsga tantárgy(csoport)	2. záróvizsga tantárgy(csoport)	3. záróvizsga tantárgy(csoport)
<b>ZÁRÓVIZSO</b>	ZVEGEMINMAM Adaptív rendszerek modellezése	<b>ZVEGEMINMHB</b> Humán és állati anyagok biomechanikája	ZVEGEMINMSM Speciális mozgások elemzése

	Feladat kiadása: 2021. szeptember 6.		Beadási határidő: 2021. december 10.	
	Összeállította:	Ellenőrizte:		Jóváhagyta:
	Dr. Kiss Rita Mária (71957806243)	Dr. Budai Csaba s.k.		Dr. Györke Gábor s.k.
s	témavezető	tanszékvezető-helyettes		dékánhelyettes
HITELESÍTÉ	Alulírott, a feladatkiírás átvételével egyúttal kijelente lomamunka-készítés c. tantárgy előkövetelményeit r teljesítettem. Tudomásul veszem, hogy jogosulatlan t esetén a jelen feladatkiírás hatálytalan. Czétényi András	m, hogy a D naradéktalar antárgyfelvé 	ip- tel	

## Tartalomjegyzék

1	Bev	ezetés	1
2	Koll	agén	1
	2.1	Hierarchikus felépítés	2
	2.2	A kollagén anyagi tulajdonságai	4
3	Az íı	nakon végzett szakítóvizsgálatok	5
	3.1	Az irodalom áttekintése	5
	3.2	A próbamérések	11
	3.3	A mérések és kiértékelésük	14
4	Мос	dellek megalkotása	23
	4.1	Rostszál	24
	4.2	Rost	38
5	Össz	zefoglalás	46
6	Irod	alomjegyzék:	47

## Köszönetnyilvánítás:

Ezúton szeretnék köszönetet mondani Dr. Kiss Rita témavezetőmnek, hogy irányításával elkészíthettem a szakdolgozatomat, és megosztotta velem észrevételeit, valamint Horváthné Dr. Tóth Brigitta Krisztina és Sárosiné Dr. Lakatos Ilona Éva konzulenseimnek az önzetlen és nagyon értékes segítségét.

# Jelölések jegyzéke

#### Betűszók:

Rövidítés	Megnevezés	Jelentés
PBS	Phophate buffered saline	Foszfáttal bufferelt sóoldat
MEMS	Microelectromechanical	Mikroelektromechanikus
	system	rendszer
DNS	Dezoxiribonukleinsav	Dezoxiribonukleinsav
DOF	Degrees of freedom	Szabadságfokok

# Görög betűk

Jelölés	Jelentés	Mértékegység
Ψ	Alakváltozási energia	[-]
	függvény	
λ	Nyúlási főirány	[-]
σ	Feszültség	[Pa]
ε	Alakváltozás	[-]
η	Viszkozitás	[1/s]

## 1 BEVEZETÉS

Diplomatervem témájának a kollagén, azon belül is az inak kollagén tartalmának szerkezeti modellezését választottam. Ezen anyag különleges tulajdonságainak okát már régóta vizsgálják makro-, és mikroszkopikus szinten is, azonban a bonyolult felépítés miatt továbbra sem sikerült a molekuláris felépítés és a mechanikai tulajdonságok közötti kapcsolatot feltérképezni.

Dolgozatomban először áttekintem a kollagén előfordulását és alapvető jellemzőit, majd irodalmi alapokra támaszkodva megtervezek és elvégzek egy szakítóvizsgálatot állati ínakon. Ezt követően ANSYS mechanical APDL-ben megtervezem az ínrost és a molekulák geometriáját, és a mérések adatait felhasználva végeselem szimulációt végzek. Utolsó lépésként a szimulációk eredményeit összevetem egymással és az irodalommal.

Természetesen a dolgozat során számtalan egyszerűsítéssel fogok élni, de a célom, egy, az eddigieknél pontosabb modellt létrehozni.

## 2 KOLLAGÉN

A kollagén molekula az állatvilágban előforduló fehérjék 25%-át adja, ezzel a leggyakoribb a többsejtű élőlényekben, valamint a sejtközti mátrix fő alkotója. Moláris tömege 300000 dalton körül van (ez 300000g/mol-nak felel meg), és jellemzői közé tartozik a non-toxicitás, a hemosztázis, immunogenitás és a sejtburjánzás. Jelenleg 29 fajtájuk ismert, melyeket számozással különböztetnek meg. Típustól függően előfordulhatnak kötő- és támasztószövetekben, mint például a csontban, az ínban, a szalagban, az érfalban, stb., mechanikai stabilitást, rugalmasságot és szilárdságot biztosítva. Felépítését tekintve 4 szintet különböztethetünk meg (1. ábra). [2][3]



1. ábra Kollagén hierarchikus felépítése [1]

#### 2.1 HIERARCHIKUS FELÉPÍTÉS

A kollagén rostok és rostszálak méretüket tekintve a a szerveződés legfelső szintjét alkotják, és önszerveződés segítségével jönnek létre. Ennek jelentése, hogy az alkotóik a testen belül, megfelelő körülmények mellett képesek szálakba és különböző formájú gélekbe rendeződni, ez határozza meg a kollagén rendszer felhasználását a szervezetben. A szálak építőelemei a molekulák, melyek hosszúsága ~300 nm, átmérőjük kb. 1,5 nm. Felülről haladva a harmadik szintet az úgynevezett alfa-láncok alkotják, melyek egyenként kb. 1000 aminósavból állnak és hármasával tripla-helikális, balra csavarodó struktúrát alkotnak, melyeket hidrogén-, és keresztkötések tartanak össze. Legalacsonyabb szinten a már előzőleg említett aminosavak állnak, hármasával összekapcsolódva Gly-X-Y formában. Minden harmadik helyen glicil található, az X és Y pozíciókban pedig a kollagén típustól függően más-más savak állhatnak (leggyakrabban prolin és 4-hidroxiprolin, így helyezkednek el az 1-es kollagénban is, mely a leggyakrabban fordul elő az emberekben).[1]

A szálakat szerkezetileg homogénnek szokás tekinteni, egy longitudinális ismétlődést leszámítva. Ezt D-elrendeződésnek (angolul D-banding) nevezik, és a molekulák egymáshoz képesti eltolódásából adódik (2./a és 2./b ábrák). Nagyjából 67 nm-ként figyelhető meg, és ezekben a résekben a molekulaszám kb. 4/5-e az átlapolódott résznek. A molekulák dimenzióit felírhatjuk az eltolódás nagyságának segítségével (D=67 nm). Ekkor egy teljes molekula hossza~ 4,4\*D, a hossztengely mentén való molekulatávolság 0,4\*D, a hozzájuk képest eltolt molekulákkal való átlapolódás nagysága pedig 0,6\*D. Ezen felül szakítóvizsgálattal kimutatták, hogy kb. 0,5 mikrométerenként megfigyelhetőek szakaszok, ahol a rugalmassági modulus alacsonyabb, ám a molekulasűrűségben nem figyelhető meg változás, így ez valószínűleg a keresztkötések sűrűségében való különbséggel magyarázható [5]. A D-elrendeződésen kívüli periodicitásról csupán ebben a forrásban találtam említést és az ok nem teljesen világos, így a modellben nem vettem figyelembe.

A molekulák a rostszálon belül úgynevezett rész-szálakba (mikrofibril) rendeződnek. Ezek ötös csoportok, amik egymáshoz képest lépcsőzetesen helyezkednek el. A [D-banding rajzolt kép]-en egy ilyen mikrofibril látható. Ezen belül a molekulák középpontjainak távolsága nagyjából 1,6 nm, átmérőjük pedig 1,3 nm. A szomszédos rész-szálak középpontjainak távolsága kb. 4 nm, amennyiben az [7] cikkben látható trapézos alakot feltételezzük, akkor ez a molekula távokból ki is adódik.

Az első feltételezésekkel ellentétben a molekulák nem szabályosak teljes hosszukban, a végükön nem tekerednek fel, itt N és C terminálisokat alkotva[7]. A köztük kialakuló keresztkötések ezeken a terminálokon keresztül jönnek létre, hidroxi-piridinolin molekula segítségével. Ennek köszönhetően a fázisok között létrejövő kötések viszonylag egyszerűen leírhatók egymáshoz képest eltolt molekulák között, mindegyik összesen kettő másikkal van összekötve [8]







2. ábra /a A D-banding mikroszkópos képe, a skála 5µm hosszú [4] 2. ábra /b A D-banding rajzolt képe átfedési és lyuk szakaszokkal [6]



3. ábra A keresztkörések elmélete, legfelül a kiegészítő kötéseket létrehozó egyéb kollagén típusok, alul a 2C-1N, 2N-1C kötés megvalósulása piridinolinnal [8]

#### 2.2 A KOLLAGÉN ANYAGI TULAJDONSÁGAI

A legtöbb biológiai anyaghoz hasonlóan a kollagén is egy nemlineáris anyag. Ínakban erő átvitel a szerepük, mely során energiát kell tárolniuk, közvetíteniük és elnyelniük, ezért a viszkoelaszticitás létfontosságú jellemzőjük. Anyagi jellemzőik szorosan összefüggnek a felépítésükkel és a makromolekulátis komponensek tulajdonságaival. Közelítésükhöz és a molekula anyagi jellemzőinek meghatározásához Kelvin-Voigt modellt használtam (ábra), amely alakváltozás-erő görbéje kellő pontossággal érintkezik a mérések során tapasztaltakhoz [9]



4. ábra A viszkózus anyag Kelvin-Voigt modellje, a folyás egyenletével [9]

### 3 AZ ÍNAKON VÉGZETT SZAKÍTÓVIZSGÁLATOK

Diplomatervem részeként állati szöveteken végeztem szakítóvizsgálatot. Erre a szimulációhoz szükséges anyagtulajdonságok meghatározása miatt volt szükségem, valamint a modell pontosságának ellenőrzéséhez össze tudtam hasonlítani a mérés során kapott görbéket a program által generáltal. A vizsgálat elvégzéséhez állati ínakat (házi csirke és sertés, gallus gallus domesticus, sus scrofa domesticus) használtam, részben mert ezen szövetek nagyrészt egyes típusú kollagént tartalmaznak, mely a vizsgálat tárgya, az egyszerű beszerzés és megfelelő méretek, részben pedig az ezekhez kapcsolódó irodalom bősége miatt.

#### 3.1 Az irodalom áttekintése

: A vizsgálat részleteinek kidolgozásához szükséges volt irodalomkutatást végeznem, hogy a szakítási sebességet, a szövet típusát, a mérés körülményeit és az esetlegesen felmerülő problémákat meg tudjam határozni. Ebben a fejezetben 15 darab kollagén mechanikai vizsgálatával foglalkozó cikket tekintek át a módszerekre koncentrálva, az eredményeiket csak a saját mérés igazolására, és a szimulációval való összehasonlítás céljából használom fel.

Doillon és mtsai. [10] a bőr sérülése után képződő hegszövet normálistól való eltérését vizsgálja különböző gyógyulási idők után. A felhasznált szövetet Dunkin-Hartley "albino" tengerimalacból nyerték ki (borotvált bőrt izomhüvelyig vágták ki), majd nem több, mint egy óráig 4 °C-on 7,2 pH-jú foszfát oldatban tárolták. A szakítóvizsgálatot szobahőmérsékleten hajtották végre a nedves szöveteken, a befogófejek között eredetileg 2 cm hosszal. A terhelés a sebre merőlegesen történt, 10%/perc (2 mm/perc) húzási sebességgel történt szakadásig. A szakadási feszültséget a maximális erő és az eredeti keresztmetszet hányadosával kapták meg, melyet négyszögnek tekintettek és a szélesség és vastagság szorzatával kapták meg. A megnyúlást pedig a szakadáskori nyúlásból adták meg.

Kukreti és mtsai. [11] a szerkezeti változásokat vizsgálja nyúlás hatására. 9 darab Új-Zélandi fehér nyúltól származó hátsó lábat használtak, a térdnél található ínt mérve. A szakítóvizsgálathoz a rögzítést a csont segítségével oldották meg, és közben a 37 °C-os sóoldat segítségével 99%-os páratartalmú környezetet hoztak létre a megfelelő hidratáláshoz. Előkondícionálásként +4 N és -4 N közötti ciklikus terhelést használtak. A mérést ezúttal nem szakadásig végezték, hanem adott mértékű nyúlásokig (0%,8% és 12%) 0,15mm/másodperces sebességgel.

Silver és mtsai.-től származik a következő három írás, első [12] a környezet pH-jának és hőmérsékletének hatását vizsgálta a molekulák önszerveződésére. Ezeket fehér Sprague Dawley nőstény patkányok farkából nyerték ki (ez egy kísérleti célokra tenésztett albínó patkány, melynek hosszú farkából az átlagos patkányénál hosszabb ín nyerhető ki), kb. 100 mikrométer hosszúságú ínakat húztak ki, az összehasonlító méréshez és az oldat készítéshez is ezeket használva. A szálak geometriája elektronmikrszkóp segítségével lett meghatározva, a méréseket egy erre a célra alkotott hidratáló kamrában végezték a szövet kiszáradásának elkerülése

érdekében. A szakítóvizsgálat során 50%/perc sebességgel nyújtották a szöveteket szakadásig, a deformációt a befogófejek elmozdulásából határozva meg, a szakítószilárdságot pedig a feszültség-alakváltozás görbéből számolva. A cikkben ezen felül viszkoelaszticitást is vizsgáltak, ám ennek módja az általam tervezett méréshez irreleváns.

A következő [13] írásban szintén a viszkoelasztikus tulajdonságok meghatározása a cél, ám ebben házi pulyka (Meleagris gallopavo) lábikra ínát hasonlították össze az oldatból előállítottal. Az állatokból eltávolított szöveteket -20 °C-on 7,4 pH-jú 0,1 tömegszázalékú foszfáttal pufferelt sóoldatban (PBS) tárolták a mérések előtti napig, az azt megelőző éjszaka pedig ugyanebben olvasztották fel 4 °C-on. A szélességet és vastagságot mikrométerrel határozták meg, a keresztmetszetet ellipszoidnak feltételezték. A vizsgálat során az ínak PBS oldatba voltak mártva, a pneumatikus gép pedig 60 psi-vel működött. Az előző bekezdésben bemutatott cikkhez hasonlóan a mérés menete most sem fontos, az eredményeket pedig egy későbbi fejezetben fogom vizsgálni.

Ugyanezen szerzőktől még egy vizsgált cikk [14] foglalkozik patkányok, ebben az esetben fehér Sprague Dawley nőstény patkányok farkából nyert rostokkal. Ezeket először foszfát bufferelt sóoldatba helyezték szobahőmérsékleten, majd feszültség alatt szárították. Ezt követően a végeket epoxi alapú ragasztóba mártották, 2 cm nagyságú mérési hosszt hagyva. A szöveteket mérés előtt legalább 30 percig ismét PBS-be helyezték, hogy visszanyerjék nedvességüket. A szakítást 10mm/perc sebességgel végezték nedvesen tartó kamrában.

Shen és mtsai. [15] a rostszálak kis alakváltozás során mutatott viselkedéseit vizsgálja, mikroelektromechanikus rendszer segítségével. Egyes típusú kollagént izoláltak tengeri uborka bőréből. Azért erre esett a választás, mert a különálló, néhány mikron hosszú és 10-500 nm közötti átmérőjű szálak ebből a szövetből könnyen kinyerhetők, és felépítésben (geometria, Delrendeződés és keresztkötés kémia) nagyban hasonlítanak a gerincesekben található kollagénhez. Mivel itt nem egész szövet vizsgálatáról van szó, ezért a befogás módja és a terhelés tulajdonságai nem relevánsak a saját mérés megtervezéséhez. Fontos megemlíteni azonban, hogy előkondícionálás nem végeztek a szálon, és a teszt során ebben az esetben is igyekeztek a környezetben átlagosnál nagyobb páratartalmat biztosítani (jelen esetben a MEMS celofánnal való lefedésével és nedves papírtörlők platform alá helyezésével).

Newton és mtsai.[16] a rotátorköpeny (a rotátorköpeny lapos ínak együttese, melyek a vállízületet ölelik körbe) mechanikai változásait mérte a kor függvényében. Ehhez különböző korú F344XBN patkányok (a fischer344 és a barna norvég patkány keresztezéséből, jellemzője a nagyobb élettartam, és kevesebb idősödéssel járó betegség [17]) bal és jobb vállát használták fel, elkülönítve az alsó és felső lapocka alatti-, a lapockatövis alatti és feletti-, és a görgeteg izomoz tartozó inakat, minden felesleges szövetet eltávolítva róluk. A keresztmetszet nagysága egy lézeres berendezés segítségével lett meghatározva. A mérések előtt a szövetek 0,1 N előterhelésnek és 30 ciklusnyi 0,125% és 0,375% közötti 0,25 Hz frekvenciájú nyújtásnak lettek

kitéve. A méréshez a felkarcsonton hagyták az ínakat, a befogás ezen túl nem volt részletezve. Ezen mérések során a szövetek nedvesen tartása nem volt biztosítva.

Zwirner és mtsai. [18] az emberi halántéki izompólya kemény agyburokhoz viszonyatott mechanikai tulajdonságait vizsgálta. A mintákat a halál után 11-146 óra között metszették ki, majd -80 °C-os fagyasztóba helyezték. A kiolvasztás fokozatosan történt, először egy -20 °C-os tárolóba tették 24 óráig, majd a szobahőmérsékleten való feldolgozás előtt még egy óráig 4 °C- on tartották. A méréshez a szövetet kutyacsont alakra vágták (dog bone shape, a befogásnál széles, a mért hosszon vékonyabb keresztmetszet) (5. ábra), a teljes hossz 20 mm, a befogók közötti hossz 10 mm, a vastagság (a vékonyabb részen) 5 mm volt. A keresztmetszet nagyságát szilikon lenyomat készítése segítségével határozták meg. A befogáshoz erre a célra 3D nyomtatott fejeket használtak a kicsúszás elkerülése érdekében, a befogott szövetek pedig egy szintén nyomtatott segítő kézzel lettek a gépbe helyezve, ami biztosította a szabályos befogási távolságot. Előkondícionálásként 20 ciklusnyi 0,5-2N közötti fel-le terhelést használtak, a vizsgálat pedig szakadásig történt, 20mm/perc sebességgel. A mérések közbeni hidratálás itt ismét nincs említve, ám az eredmények alapján a szakadásig a nagy húzási sebesség miatt egyszer sem telt el 10 másodpercnél több, így erre lehet, hogy a rövid idő miatt nem volt szükség.



#### 5. ábra A cikkben használt "dog bone shape" kutyacsont alak

Firminger és mtsai. [19] a befogás módjának hatását vizsgálja a lokalizált alakváltozásra és a teljes anyagi tulajdonságokra. Ehhez sertések térdkalács-ínát használták, mindkét oldalon a csonthoz rögzítve, a sípcsonti oldalon a csontról leválasztva, vagy mindkét csontról leválasztva és úgy befogva. A mintákat hentestől szerezték be, a boncolás után rögtön sós oldatba áztatott

gézbe burkolták őket és 2 hétig -20 °C-on tárolták fagyasztóban. A kiolvasztás 45 perc alatt történt szintén sóoldatban, szobahőmérsékleten. A csontok megfogásához egyedi befogófejeket használtak, amikor közvetlenül az ín megfogására került a sor, akkor ennek a belsejére smirdlit erősítettek, és összeragasztották, hogy a kicsúszást meggátolják (6. ábra). A mérések elvégzése előtt a szövetek 1N előterhelést kaptak, és 1 Hz frekvenciájú szinuszos terhelési mintában 5-ször 5Mpa feszültségig terhelték őket. A vizsgálat alatt a hidratálást 3ml/perc sebességű sóoldat csepegtetéssel oldották meg. Az eredmények azt mutatták, hogy amennyiben a befogás közvetlenül az ín felületén történik, akkor jelentősen megnő az alakváltozás és csökken a Young-modulus és a Poisson tényező, így a kis karcsúságú szövetek vizsgálatánál előnyös lehet a rögzítést csonttal együtt megvalósítani.



6. ábra A smirdlik közé erősített szövet [19]

A tároláshoz használt oldat is befolyásolhatja a szövetek mechanikai tulajdonságait [20]. Maximum 4 hónapig fagyasztva tárolt Long–Evans patkány (WISTAR laboratóriumi albínó és vadon élő patkány keveréke, kisméretű és tumorok kialakulásával szemben ellenálló) farkából nyert szövettel végezték a vizsgálatokat, ezeket a mikroszkópos vizsgálatok megkönnyítéséhez fényfehérítésnek tették ki. Ezután a mintákat két csoportba osztották, egyiket 15 mM (milimolár) PBS-ben (foszfát bufferelt sóoldat), a másikat 8 tömegszázalékos polietilén-glikol és 15 mM trisz bufferelt sóoldatban tárolták, 90 perctől 6 óráig terjedő időtartamig, olvadás után végig szobahőmérsékleten tartva. Mérés előtt 5 mN előterhelést helyeztek a szövetekre, és 5 ciklusos 0 és 2% alakváltozás közötti prekondícionálás végeztek. A vizsgálatot két szakaszban végezték, elsőként 6%-os nyúlásig, innen engedték visszanyerni a referencia hosszt, amin 40 percig tartották, végül szakadásig terhelték, mindezt 0,1%/másodperc sebességgel. Az eredmények azt mutatták, hogy a második csoportba tartozó szövetek tulajdonságai jobban hasonlítottak a friss szövetéhez, és a PBS-ben tárolt szövetek eredményeit csak megfelelő kutatás és megfontoltság után érdemes modellezéshez használni.

Grega és mtsai. [21] disznó tricepszének alkarhoz tartozó bőnyéjét vizsgálta. A boncolás során a lehető legtöbb izomszövetet eltávolították a bőnyéről, és mind boncolás, mind mérés közben PBS segítségével tartották nedvesen. A vizsgálatok során a szöveteket a már korábban említett kutyacsont alakra vágták, ezek hossza 22 mm, vastagsága pedig 5 mm volt. Előkondícionálásnak

20 ciklusnyi 0,5N és 1N közötti terhelést alkalmaztak. A mérés nem szakításig történt, a deformáció sebessége 1-2%/másodperc volt. A leírtak alapján a bőnyét nehezebben lehet pontosan elválasztani az izomtól, valamint az ebben található kollagén elrendeződéséről is kevesebb adat áll rendelkezésre, így az eddig használt szöveteknél kevésbé megfelelő.

Hammer és mtsai. [22] emberi illiotibiális szalagokon végeztek uniaxiális vizsgálatokat. Összesen 24 donor 24 szövetét használták fel. A boncolás közben szódium-klorid segítségével biztosították a megfelelő nedvességet. A szükséges területeket megszabadították a felesleges szövetektől, majd 3 °C-ra való előhűtés után hirtelen fagyasztották tárolás céljából -85 °C-ra. Öt pár mintát a friss szövet folyadéktartalmának, és ennek a többi szalagban való befolyásolására való protokoll kidolgozására használták fel, ezt ozmotikus nyomás segítségével valósították meg. Kilenc minta párt használtak mechanikai tesztelésre, a maradék tizet pedig a sejtmentesítés után DNS tartalom meghatározására. A befogásba való rögzítéshez a szövetek végeiből alacsony hőmérsékleten kioldották a vizet (freeze-substitution), majd poliuretánban rögzítették. A középső részt zselatin és egy előre kivágott forma védték meg az eljárás hatásaitól. Ezek után végezték el a geometria meghatározását, a szövetek 69,7±2,3 milliméter hosszúak és több mint 10 mm vastagok voltak. A mechanikai teszteket 21 °C-on végezték és a mintákat kutyacsont alakra alakították, melynek vastagsága a legvékonyabb ponton univerzálisan 10 mm volt 10 N előterhelés alatt. A keresztmetszet négyszög alakúnak volt feltételezve, és a szakításig való terhelés előtt 20 ciklus 10-100N közötti előkondícionálásnak tették ki a szövetet, 20mm/perc szakítási sebességgel. A vizsgálat közben nem hidratálták a szöveteket, mert a korábban említett protokoll segítségével eleinte az összes nedvességtartalma megegyezett, így ennek az egységes értéke a vizsgálatok alatt feltételezhető volt.

Az utolsó felhasznált, természetes szövetet vizsgáló [23] írásban emberi kemény agyburkot nyertek ki 75 4°C-on tárolt donorból, a haláluk után 11-146 óra elteltével. A minták vastagsága 0,4 mm és 1,4 mm között változott, és kimetszésük után -80 °C-on tárolták őket. A nedvességtartalom az előzőhöz cikkhez hasonlóan ozmotikus stressz protokoll segítségével lett egységes értékre állítva. A befogásból való kicsúszás elkerülése érdekében a szöveteket kutyacsont alakra vágták és a 7. ábrán is látható 3D nyomtatott fejeket használták. Prekondícionálásról és a mérés közben való nedvesen tartásról nem esik szó, a húzás sebessége 20mm/perc volt.



7. ábra A 3D nyomtatott befogó [23]

Az eddigi cikkeken kívül még kettő mesterségesen előállított kollagénrosttal foglalkozó írást vettem figyelembe a mérések megtervezése előtt [24][25]. Ezekből az első egy erre a célra létrehozott eszköz segítségével nyerte ki a kollagén szálakat, egy patkányfarokból származó szövetekből készített oldatból. A mérések a korábbi silver [12][13] mintájára zajlottak, megfogás, tárolás és a terhelés módja szempontjából nem nyújtottak újat. A második elektro-szálképzéssel hozott létre egyes típusú kollagént 80mg/ml kollagén oldatból (borjúbőrt használva hozták létre). Az így létrehozott rostok mérete rendkívül kicsi (átlagos átmérőjük 302±126 nm), így a mechanikai vizsgálatok menete teljes szövet vizsgálata szempontjából nem releváns. A két cikk alapján a mesterségesen előállított kollagén nem megfelelő a most tervezett mérésekhez, mert előállítása körülményes és a természetestől eltérő eredményeket ad.

A kiválasztott cikkek olvasása után a próbamérések módjának meghatározása következett. A felhasznált szövet típusa valamilyen állati ín, mert a bőr és bőnye szöveteknél könnyebb az előkészítése, és kevesebb korlátozás vonatkozik ezekre, mint az emberi szövetekre (az egyes típusú kollagén vizsgálatára pedig ugyanúgy megfelelnek). Optimális lenne, ha a ezeket az állatok levágása és boncolása után rögtön sóoldatba tudnánk helyezni, nem hentesnél vásárolt öreg szöveteket kellene használni, mert ezek anyagi tulajdonságai különböznek a frisstől. [19]

alapján érdemes lenne vékony ínakat, mondjuk csirkét mérni, így a közvetlenül ínon történő megfogás kevesebb problémét okozna. Ez azt is jelenti, hogy ezeknél a szöveteknél az ún. kutyacsont formára alakítás nem valósítható meg. A szakítás közben a környezeti hőmérsékletet nem szükséges befolyásolni, és amennyiben a mintákat a mérés kezdetéig a sós desztillált vízben tároljuk, akkor a mérések hossza alatt a folyamatos nedvesen tartás sem fontos. Azért jutottam erre a következtetésre, mert a mérésem rövig ideig tart, ami idő alatt az ín a tömegének csak kis részét veszti el kiszáradás miatt [18]. A megfogáshoz a próbamérések alkalmával a gyári befogópofát fogom használni, a szövetek végeit megfagyasztva. A szakítási sebesség az irodalomban eléggé szórt, így 1 mm/perc és 10 mm/perc között többet is ki fogok próbálni.

#### 3.2 A PRÓBAMÉRÉSEK

A mérés megtervezésének részeként az irodalomkutatáson túl próbaméréseket is végeztem. Ezek során pontosítottam a vizsgált szövet típusát, a befogás módját, valamint a szakítási sebességet is.

A próbához 3 darab házi csirke (gallus gallus domesticus) hentesnél beszerzett combjából kivágott, valamint 2 darab házi sertés (sus scrofa domesticus) szintén hentesnél vett lábából általam preparált ínt használtam (8. ábra). A méreteiket egy Mitotoyo absolute digimatic tolómérő segítségével határoztam meg, a szakítást egy Instron 5965 elektromechanikus szakítógépen végeztem. Ennek mérőcellája 5 kN, mérőfeje 2 kN-es volt, befogója 5 barnyi sűrített levegős nyomással tudta összeszorítani a mintákat, alakra pedig lapos és recés műanyag volt. A befogásnál való túlzott szövetroncsolódás ellen folyékony nitrogén hiányában -50 °C-os fagyasztó sprayt használtam.

Az első méréshez használt minta egy 2,2 mm\*0,5 mm keresztmetszetű, 37,68 mm befogási hosszú csirke ín volt. A fagyasztás nem sikerült tökéletesen, a befogott végeken kívül a szövet közepe is megfagyott, ez a mérés előtt ujjal lett kiolvasztva. Szakítási sebsségnek 1 mm/percet választottam, ám ez lassúnak bizonyult, mert bár a szakadás megkezdődött, a teljes tönkremenetel előtt az alsó befogásból kicsúszott (9. ábra).

A második minta szintén csirke ín volt, 2,39 mm\*0,5 mm keresztmetszettel, 35,4 mm befogási hosszal. Ezúttal a fagyasztás során a szövet közepe érintetlen maradt, és a szakítási sebességet 5mm/percre növeltem (mindegyik ezutáni méréshez is ezt használtam), valószínűleg ennek tulajdonítható, hogy ezúttal tönkremenetelig sikerült elvégezni a mérést, az ín a felső befogás közelében elszakadt (9. ábra).



8. ábra A felhasznált sertésláb, és az abból preparált ínak

A harmadik csirke minta mérése az előzőéhez hasonlóan zajlott, ennek méretei 2,05 mm\*0,95 mm keresztmetszet, és 33,61 mm befogási hossz volt. Itt a szakadás szintén a fenti befogás közelében ment végbe (9. ábra).

A negyedik és ötödik méréshez a sertés lábból preparált ínakat használtam. Ezek mérete jelentősen nagyobb a csirkéénél, így a befogás még nagyobb problémát jelentett. Egyik esetben a keresztmetszet 11,29 mm\*4,2 mm, a befogási hossz 49,96 mm volt. A végek befagyasztása nem sikerült tökéletesre, részben kiolvadtak mire befogásra kerültek. A mérés során a szövet az alsó befogásból kicsúszott, azon a helyen szakadt is.

A másik sertés ín fagyasztása jobban sikerült, azonban a befogás ferde lett, valamint a szövet vastagsága miatt a befogófej kipréselte a minta egy részét. A mérés így ismét hibás lett, az alsó befogásból ismét kicsúszott (9. ábra).



9. ábra A próbamérések eredményei

Ezen tapasztalatok alapján arra a következtetésre jutottam, hogy a rendelkezésre álló eszközökkel érdemesebb a sertés lábban találhatónál kisebb szövetekkel dolgozni, mert ezek keresztmetszete esetenként túl nagy lehet a befogófejhez képest. A szakítási sebességet is újra kellett gondolnom, bár az 5 és 10 mm/perces sebesség a mérések alapján megfelelőnek tűnt. A legnagyobb problémát a befogás jelentette, az 5 bar nyomás ugyanis a szövetet könnyedén roncsolná a fejek között, így meggyengítve azt, és hamis eredményt adva.

Erre a problémára az irodalomban több különböző megoldás is adódik. Egyik ezek közül a befogópofa módosítása, vagy úgy, hogy megoldható legyen a mérés közben a folyamatos száraz jég segítségével való hűtés [26], vagy speciálisan erre a célra tervezett fejek készítése [27][28]. A második lehetőség a szövet megfelelő (kutyacsont) alakra vágása [21][27], így a befogó által károsított ín a vastagsága miatt nem fog rosszabb anyagtulajdonságokkal rendelkezni, mint a befogási hossz. Harmadik lehetőségként fagyasztás helyett ragasztót használnak (cianokrilát-, vagy epoxi alapú ragasztót, vagy poliuretán gyantát [19][22][29][30]), így azok megfelelő szilárdságúak maradtak. Ezek a megoldások az elsőtől az utolsóig haladva egyre egyszerűbben valósíthatók meg, de a legkevésbé problémás a befogott részek folyékony nitrogénnel való fagyasztása.

#### **3.3** A MÉRÉSEK ÉS KIÉRTÉKELÉSÜK

A dologzatban feldolgozott mérésekhez szintén hentestől szereztem be az állati szöveteket (csirke és sertés lábakat) és ezekből magam preparáltam ki az ínakat (10. ábra). Mostani méréseim során a befogásban való tönkremenetel ellen folyékony nitrogénnel történő fagyasztást használtam, ami megbízhatóbb, mint a próbaméréseknél alkalmazott fagyasztó spray, azonban a kis méretű szövetek esetén nehézkes a befogási hosszt érintetlenül hagyni. Több próbálkozás után végül arra jutottam, hogy a házi sertés lábából preparált ínak lesznek megfelelőbbek, így az elvégzett 6 szakítópróbához 5 darab sertés és 1 darab csirke szövetet használtam. A méréseket ismét a próbákhoz is használt Instron 5965 elektromechanikus szakítógépen végeztem, a mérőcella és a szükséges nyomás adatai szintén megegyeznek a próbamérésnél írtakkal. A geometriát Mitutoyo digitális tolómérő segítségével határoztam meg. A méréseket szobahőmérsékleten, 10mm/perc sebességgel végeztem, a rövid időtartam miatt a folyamatos hidratálást továbbra sem ítéltem szükségesnek.



10. A preparált minták sóoldatban

Dolgozatom következő részében a használt mintákat fogom bemutatni. Az első szövet egy 9,6 mm szélességű és 3,17 mm vastagságú sertés ín volt, melynek befogási hossza 76,86 mm. Az átmérőt téglalapnak feltételezve, értékét egyszerű szorzással határoztam meg, ez 30,432 mm<sup>2</sup>-nek adódott (11./a ábra). Terhelés hatására a tönkremenetel a befogásnál indult meg (11./b ábra).

A második minta szintén sertéslábból származott, szélessége azonban csak nagyjából fele az elsőnek (4,61 mm), vastagsága 3,54 mm, befogási hossza 130,2 mm, átmérője pedig 16,32  $mm^2$ . A terhelés hatására ismét a befogás környezetében történt károsodás, az alsó befogás felett el is szakadt a szövet (11./c és d ábra).

A mérésekhez használt szövetek közül a hármas számmal jelölt volt az egyetlen, ami csirkéből lett preparálva. Szélessége 1,35 mm, vastagsága 0,82 mm, befogási hossza 45,6 mm, kezdeti átmérője 1,1  $mm^2$  (12./a ábra). A méretekben észrevehető markáns különbségen túl a minta alakváltozás-feszültség görbéje is nagyban eltér a sertés ínaktól, ezért az átlagszámításnál nem vettem figyelembe. Az eddigiekhez hasonlóan a tönkremenetel a befogásnál indult meg, de teljes szakadás nem történt (12./c ábra).





11./a és b: Az egyes számú szövet befogva és mérés után c és d: A kettes szövet befogva és mérés után

A negyedik minta méreteit tekintve nagyobb az eddigieknél, szélessége 13,7 mm, vastagsága 5,48 mm, befogási hossza 131 mm, kezdeti átmérője pedig 75,076  $mm^2$  (12./b ábra). Szakadás ebben az esetben sem történt, de a szövet nagy mértékű károsodást szenvedett a befott részén, a teherviselési képessége nullára csökkent. A 12./c ábrán az első 4 minta mérés utáni képe látható egymás mellett.



12./a A harmadik minta befogva /b A negyedik minta befogva /c Az első négy minta a mérések után (fentről lefele 3.,1.,4.,2.)



13./a Az ötödik minta befogva /b Az ötödik minta a mérés végén /c A hatodik minta befogva /d A hatodik minta a mérés végén

A szakításhoz szükséges erőt tekintve az ötödik és hatodik minta messze az előzőek fölé emelkedett (14. ábra). Az ötödik 911,5 N maximum értéket ért el, szélessége 11,36 mm, vastagsága 4,2 mm, befogási hossza 78,6 mm, kezdeti átmérője 47,7  $mm^2$  volt (13./a). Szakadás ez alkalommal se ment végbe, de a károsodás ismét a befogásnál történt (13./b). A hatodik szövet volt képes a legnagyobb terhelést elviselni (maximum értéke kb. 1057,5 N). Átmérője 14,1\*5,9 mm (83,19  $mm^2$ ), befogási hossza pedig 90 mm volt (13./c). Mint az összes esetben a roncsolódás most is a befogott rész környezetében történt, de a szakadás most sem volt teljes (13./d).



Minták 1-6

14. ábra A 6 darab minta megnyúlás-terhelés görbéje

A szakítópróbák elvégzése után arra jutottam, hogy az irodalom nem alkot teljesen pontos képet a befogás nehézségeiről. A próbamérések során használt fagyasztás, és a folyékony nitrogén használata sem tudta megakadályozni, hogy a tönkremenetel a befogó által roncsolt szövetrészeken menjen végbe először. A jövőben ezt a problémát esetlegesen orvosolni lehet egy nehezebben kivitelezhető (ragasztó segítségével merevített) befogással, vagy egy kisebb nyomással üzemelő gép segítségével. A mostani méréseim során azonban minden szakításnál a tönkremenetel a roncsolt részeken kezdődött, így a kapott görbéknek csupán a kezdeti szakaszát tudom felhasználni, az első feszültségcsökkenésig.

A mérés során kapott adatokat Microsoft Excel segítségével dolgoztam fel. Feltételeztem, hogy az anyagom térfogata a hosszváltozás közben is állandó marad, így az egyes időlépésekre a nyúlás alapján megváltozott keresztmetszeti átmérőt számoltam. Innentől minden adott volt, hogy alakváltozást ( $\varepsilon = \frac{\Delta l}{l}$ ) és feszültséget ( $\sigma = \frac{N}{A}$ ) határozzak meg, melyeket grafikonon ábrázoltam is. A kapott ábrák alapján megbecsültem a tartományt, amin a kapott adatokat

használni tudom (ez a kezdeti sík szakasz és az első feszültségcsökkenés közötti lineáris rész), majd a kezdőpontot 0-ba toltam, így kapva meg a korrigált görbéket. Az anyag feszültségalakváltozás diagramja jól közelíthető összenyomhatatlan hiperelasztikus anyagokkal. Esetemben a Mooney–Rivlin anyagmodellt választottam, azon belül is az 5 változós leírást. Ekkor az alakváltozási energiafüggvényt (melynek deriválásából kaphatók meg a feszültségek) felírhatjuk az

$$\Psi = c_1 * (I'_1 - 3) + c_2 * (I'_2 - 3) + c_3 * (I'_1 - 3)^2 + c_4 * (I'_1 - 3)(I'_2 - 3) + c_5 * (I'_2 - 3)^2$$
(1)

egyenletet, melyben

$$\mathbf{I'}_1 = \lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2 \tag{2}$$

$$I'_{2} = \lambda_{1}^{2}\lambda_{2}^{2} + \lambda_{2}^{2}\lambda_{3}^{2} + \lambda_{3}^{2}\lambda_{1}^{2}$$
(3)

továbbá tudjuk, hogy  $\lambda_i$ -k a nyúlási főirányoknak felelnek meg, melyekről tudjuk, hogy  $\lambda_1 \lambda_2 \lambda_3 = 1$ , az anyag összenyomhatatlansága miatt és  $c_i$  anyagi konstansok. Egytengelyű húzásról lévén szó, tudhatjuk, hogy  $\lambda_1 = \lambda$  és  $\lambda_2 = \lambda_3 = \frac{1}{\sqrt{\lambda}}$ . Ezt az energiafüggvény  $\lambda$  szerinti deriváltjába helyettesítve kaptam meg a feszültség-nyúlás függvényt:

$$\sigma_{11} = 2 * c_1 * \left(\lambda^2 - \frac{1}{\lambda}\right) + 2 * c_2 * \left(\lambda - \frac{1}{\lambda^2}\right) + 4 * c_3 * \left(\lambda^4 - 3 * \lambda^2 + \lambda - \frac{2}{\lambda^2} + \frac{3}{\lambda}\right) + 6 * c_4 * \left(\lambda^3 - \lambda^2 - \lambda - \frac{1}{\lambda^3} + \frac{1}{\lambda^2} + \frac{1}{\lambda}\right) + 4 * c_5 * \left(2 * \lambda^2 + 3 * \lambda - \frac{1}{\lambda^4} + \frac{3}{\lambda^2} - \frac{1}{\lambda}\right)$$
(4)

Innen a legkisebb négyzetek módszerét használva megkaptam a c értékeket és a közelítő görbéket ábrázoltam (15. ábra). Az ötös mintára nem találtam megfelelőnek az öt változós illesztést, mert a nagy értékeknél elválik az eredeti vonaltól, így a számolt szekáns rugalmassági modulus értékét nagyban befolyásolná. Alternatívaként ennél a három változós Mooney–Rivlin anyagmodellt választottam, ami a görbe végén jobban illeszkedik (ebben az esetben az egyenletek kicsit módosulnak, eltűnik a  $c_3$  és  $c_5$  tag).

Következő lépésben a mérések átlagára is görbét illesztettem, ám a kiugró értékei miatt a 3-as számú mintán végzett mérést ebbe nem vettem bele (16. ábra). A nagymértékű eltérés azzal magyarázható, hogy ez volt az egyetlen szakítóvizsgálat, melyet sertés helyett csirkéből preparált szöveten végeztem.



15. ábra A 6 mérés korrigált eredményeire illesztett görbék (pirossal az illesztett), bal felső sarokból jobbra haladva 1-6-ig



16. ábra A mérések átlagára illesztett görbe (feketével az eredeti korrigált értékek, pirossal az illesztett)

Mint korábban említettem az illesztett görbék segítségével minden méréshez és az átlaghoz is szekáns rugalmassági modulust számítottam. Ehhez az első és utolsó pontját kötöttem össze a grafikonjaimnak, és az így kapott vonal meredekségét számoltam. Az eredmények a 2. Táblázatban láthatók.

1. Táblázat: A mérésekből számolt szekáns rugalmassági modulus

Minta	Szekáns rugalmassági modulus [Mpa]
1	14,916
2	5,226
4	9,084
5	22,043
6	14,64
Átl.	4,194

Mint látható az átlagokra illesztett görbéből számolt modulus lett a legalacsonyabb, ez annak köszönhető, hogy ennek számításakor a százalékos nyúlás maximumok közül a legkisebbik (a kettes mérésnél kapott) értékig vizsgáltuk csak a görbéket, így az átlagot a legtöbb görbének a kezdeti, kisebb meredekségű szakaszából kaptam.

Az eredmények nagyságrendileg megegyeznek a szakirodalomban olvasottal [35]. A cikkben 8 sertés lábból preparált térd ínt vizsgáltak, a nyúlás közben a tangenciális modulust mérték és ennek átlagát számolták ki. Az eredmények az 2. Táblázatban olvashatók. Összességében véve a méréseim lineáris szakasza validálásra alkalmas, a szakadással kapcsolatos tulajdonságok számolására azonban más mérési összeállítást kell majd használnom.

Sertés	Kezdeti átmérő [mm <sup>2</sup> ]	Átlagos tangenciális nyúlási
		rugalmassági modulus [MPa]
1	86,3	2,74
2	114,0	4,22
3	95,3	2,08
4	71,0	5,41
5	48,6	3,74
6	54,0	3,42
7	48,3	2,72
8	46,6	6,99
Átlag	70,5125	3,915

2. Táblázat A forrásban olvasott nyúlási rugalmassági modulusok

#### 4 MODELLEK MEGALKOTÁSA

A kollagén hierarchikus felépítéséről már egy korábbi fejezetben szó esett. Ennek legmagasabb szintje a kollagén rost, melyet mind élőben, mind szimulációs szinten sokat vizsgáltak már. A pusztán ezen a szinten megfigyelhető anyagi tulajdonságok nem magyarázzák a kollagén viselkedését és összetett viszkoelasztikus tulajdonságait, amiből arra lehet következtetni, hogy ezek oka az alacsonyabb szinteken keresendő.

A modell ismertetése előtt röviden áttekintem a szakirodalomban olvasott módszereket. A kutatás során főleg a mikro-, és molekuláris szintű modelleket kerestem, mert ez a mérettartomány az, ahol a legtöbb ismeretlen található. Elsőként a keresztkötés elméleti modelljét bemutató [8] forrással foglalkoztam. Mint a 3. ábrán is látható, a kollagén molekulák között pirinidolin molekulák segítségével valósítja meg a kapcsolatot, így két végződést egy harmadikhoz kötve. Ezen felül az esetleges nem kötő elemeket más típusú kollagén rendszerhez adásával tenné stabillá. Síkban ábrázolva remekül működik a modell és jól közelíti a valóságot, azonban három dimenziós esetben nem tartható ez a cikk-cakkos forma, ugyanis a molekulák kör, vagy hatszögben való elhelyezésével nem lesz elég elem, hogy a molekulánkénti maximum 2 kötéssel kihagyás nélkül tudjuk a rendszert létrehozni. Egy másik elrendezéssel foglalkozó írás a [7]. Ebben az írók molekuláris modellező szoftver segítségével hozták létre a molekulákat, majd ezeket a D-banding figyelembe vételével mikrofibrilekbe rendeztek. Az így kapott elemeket egy körcikkben helyezte el egymástól kb. 4 nm távolságra, majd ezt körbeforgatva hozta létre a teljes rostszálat. Mint az látható a 19. ábrán is, ez közel szabályosnak tűnik, de a

közepén nagyon szétcsúszik és ott zavarosan helyezkednek el a molekulák, ami miatt a köztük lévő kötéseket nem lehet modellezni.

Dolgozatom céljához legközelebb a Gautieri és társai által írt [9]-es cikk áll. Egy korábbi írásukban bemutatott amino-savak szintjétől felépített molekula modell használatával hoztak létre egy rostszál részletet, és vizsgálták ezek mechanikai tulajdonságait. Számítási korlátok miatt csupán 20 nm hosszúságú szakaszt tudtak vizsgálni, valamint a molekulák elrendeződését és a kémiai kötéseket is jelentősen egyszerűsítették. Előbbit koncentrikus szabályos hatszögekkel közelítette. Ez az én esetemben nem megfelelő, mert pont az elrendeződésből adódó tulajdonságokat hanyagolta el. A keresztkötéseket a 3. ábrán látható 2N-1C, 2C-1N rendszer helyett mindössze a szomszédos molekulák egyszeres kapcsolásával oldotta meg. Az általam alkotott rostszálban a bonyolultabb kötésrendszer megvalósítására törekedtem, így ilyen szempontból sem volt felhasználható az itt olvasott geometria. A cikk továbbá a szimuláció eredményeire Kelvin-Voigt anyagmodell segítségével illeszt görbét igen jó pontossággal, így én is ezt használtam a dolgozatom során.

Az első modell, amit a dolgozatomban megalkotok egy rostszál lesz, az azt felépítő molekulákkal.

#### 4.1 Rostszál

A második, mikroszintű modellben egy rostszál felépítése volt a cél kollagén molekulákból, melyhez meg kellett ismernem a szálak felépítését, valamint a molekulák elrendeződését és a közöttük kialault kötéseket.

Ezek a szálak az alapvető építőelemei a sejtközti mátrixoknak az állatvilágban, ínakban egymással párhuzamosak és hosszuk 1000 nm körüli, átmérőjük változó lehet 30 és 500 nm között [9]. Elektronmikroszkópos képen jól megfigyelhető benne egy 67 nm-ként ismétlődő periodicitás, amit D-elrendeződésnek (D-banding) neveznek. Atomi mikroszkópos méréseken egy szöveten belül ennek hossza 66 nm és 68,5 nm között is változhatott, de egy adott rostszálon belül állandónak mondható [4], így ezt ebben a modellben is tekinthettem egy konstans értéknek. A D-banding a molekulák egymáshoz képest való eltolódásából adódik, átfedési és lyukas zónákat alakítva ki (2. ábra/b). A tropokollagének hossza nagyjából 300 nm (17. ábra), ami az eltolódás 4,4-szerese, az átfedés nagysága ugyanígy kifejezve 0,4\*D, a lyuk pedig 0,6\*D [6]. A hossz és az egymáshoz képesti helyzet alapján ötösével úgynevezett mikroszálakba oszthatjuk a molekulákat (18. ábra). Egy ilyen mikroszál mindig egy adott típusú kollagén molekulából épül fel, átmérője kb. 4 nm, és ennek a szerkezetnek az ismétlődése alakítja ki a rostszálat. [7]



17. ábra Egyes felépítési szintek elemeinek hossza [31]



18.ábra Az egymáshoz képest eltolt molekulák mikrofibrilbe rendeződése. A számozás a különböző elhelyezkedésű elemeket jelöli.[7]

A molekulákat keresztkötések tartják össze, amik csak a végeken lévő, normális helikális struktúrától eltérő N és C bázisok között alakulnak ki (3. ábra). Ezek a bázisok ugyanolyan aminosavakból állnak, de szerkezetük eltérő a molekula középső részétől, például esetünkben (egyes típusú kollagénnél) nem rendeződnek egybefonódó szálakká. A kötések egy piridinolinnak nevezett molekula segítségével jönnek létre, ezek 2 molekula N végződését kötik össze egy harmadik C végződésével, vagy 2 C-t egy harmadik N-el [8]. A valóságban a szál stabilitásának megőrzéséhez szükséges egyesen kívül más típusú kollagén molekula is (kettes, hármas, ötös, kilences, huszonnégyes és huszonhetes) [6], azonban ezeket a jelenlegi modellben az egyszerűség kedvéért elhanyagolom.

A geometriában a molekulák hossz/átmérő aránya miatt modellezésük vonalelemekkel célszerű, melyek keresztmetszetét az anyagtulajdonságok beállításakor lehet megadni. Az irodalomban viszonylag kevés modell áll rendelkezésre a tényleges geomtriai elrendezéssel kapcsolatban, ezért az elrendezés kitalálása is problémás volt. A rostszál kör alakú keresztmetszetét hatszöggel lehet megadni (20. ábra)[9], ám az ebben látható egyszerű, egyre növekvő szabályos síkidomokból álló geometria túlságosan sok tényezőt hanyagol el, ezért nem találtam megfelelőnek. Egy másik két dimenzióban kiterített geometriát ábrázol (19. ábra) [7] is.

Megalkotásához az ötös csoportokat veszi alapul, melyeket egy körszeletben rendez el. A szeletet ezután körbeforgatja egy középpont körül, így alkotva meg a teljes rostszálat. Megvizsgálása után észrevettem, hogy a módszerrel nem tudok megfelelően homogén kötésrendszert létrehozni, valamint nem áll annyival közelebb a valósághoz, hogy az a plusz számítási erőforrásokat indokolja.



19. ábra A molekulák elhelyezkedésének 2 dimenziós ábrázolása [7]

A síkbeli modellekből levonható tanulság, hogy a teljes keresztmetszetet érdemes valamilyen szabályos, vagy szabályoshoz közeli sokszöggel közelíteni és fontos a mikrofibrilek kialakítása is ezen belül. A megoldást öt pontot tartalmazó szimmetrikus trapézok jelentették, ezekből hoztam létre egy közel szabályos hatszöget összesen 395 pontból, melynek leghosszabb átlója 33,6 nm hosszú (21. ábra). A szimmetrikus trapézokkal való modellezés előtt a hatszög szabályosságára fektettem a hangsúlyt, és ahhoz próbáltam illeszteni az ötszögeket, ez azonban nem vezetett kielégítő eredményre (20. ábra). Ezt a közelítést szintén az [8] forrás alapján tettem meg. A vonalakat rétegenként elhelyezett pontokon keresztül vezetve alkottam meg. A rétegek távolságát 0,2\*D-nek adtam meg, hogy az átfedés és lyuk zónákat is kellő pontossággal tudjam ábrázolni. A források alapján a molekulák párhuzamosak egymással, azonban bizonyos mértékű (egy rostszálon belül maximum 10 fokos) elcsavarodás figyelhető meg bennük. Ábrázolásához a legtávolabb eső pontokra számoltam ki, hogy rétegenként mennyit kell elfordulniuk a hossztengely körül.

$$r = 11 * 1,6 = 17,6 \text{ nm}$$
 (5)

$$D = 67nm \tag{6}$$

$$\tan(10^\circ) = \frac{x}{0.2*D}$$
 (7)

$$x = 2,3628 \text{ nm}$$
 (8)

$$\frac{x}{2*r*\pi} = \frac{\alpha}{360^{\circ}} \tag{9}$$

$$\alpha = 7,6919^{\circ} \tag{10}$$

Így az állandó értékű eltolás és elfordulás miatt a 42 darab (azért 42, hogy minden eltolódású molekulából legyen egy teljes) réteget egyszerűen létre lehetett hozni egy \*DO parancs segítségével, a munkasíkot minden iterációban 0,2\*D-vel pozitív irányba csúsztatva a z-tengely mentén, és akörül 7,7°-al forgatva.



20. ábra Szabályos hatszög alakban elhelyezett kulcspontok, vonalakkal bejelölve a mikrofibrilek



21. ábra Szabályos ötszögekből megalkotott hatszög

Ezután a létrehozott pontok közötti íveket kellett megalkotni, hogy tükrözzék az aktuális molekulák elhelyezkedését. A korábbi képen kirajzolódó trapézok mindegyikében az 5 pont különböző egymáshoz képesti eltolással rendelkezik, minden 1+(n\*5) a nulladik síkban induló molekula, a 2+(n\*5) számozásúak ehhez képest D-vel vannak eltolva, és így tovább. Ezért ezt szintén könnyen meg lehetett oldani ANSYS-ban, a fent említett számozás alapján csoportosítva a pontokat a 0\*D eltolásúak 0-22 és 25-42 síkok között, az 1\*D a 0-2, 5-27 és 30-42 között, a 2\*D 0-7, 10-32 és 35-42 között, 3\*D a 0-12, 15-37, 40-42 között, és végül a 4\*D a 0-17 és a 20-42 rétegek között alakítva ki. (22. ábra)



22. ábra A rostszál modellje

A következő problémát a molekulák közötti keresztközések jelentették, melyek szükségesek ahhoz, hogy a molekulák ne csússzanak szét tengely irányban, ezért a pontos modellhez törekedni kellett a megfelelő pontosságra. Először ebben is a [9] forrás alapján dolgoztam volna, ám további kutatás után arra jutottam, hogy ez nagyon túlegyszerűsíti a problémát, a kötések ebben az esetben csak 1-1 molekulát kötöttek össze, és az N illetve C végződéseknek sem tulajdonított jelentőséget. Az elméleti modellel [8] a probléma az volt, hogy bár síkban jó leírása a kötések kialakulási módjának és a különböző végződéseknél máshogyan kapcsolódó molekuláknak, azt nem lehetett univerzálisan felírni térben, a cikk-cakkos kötések túl sok molekulát hagynának ki. Ezért találni kellett egy megoldást, ami az elméleti modellhez hasonló pontosságú, de alkalmazható a térbeli modellre. Erre végül sikerült megoldást találni. A választ két könnyen általánosítható minta jelentette (23./a és 23./b). Előbbi használható volt az 1-2, 2-3, 4-5 rétegek között, míg az utóbbi a 3-4 és 5-1 rétegek között. Első próbálkozásként a kötéseket görbült vonal elemként helyeztem el a modellben (23./c), ám arra jutottam, hogy ezzel csak az előterhelés nélküli mérést modellezném, ami a számítási igényekhez viszonyítva nem biztosít elegendő plusz információt. Ennek megfelelően a megfelelő molekula végződések síkjában megalkottam a keresztkötéseket, amiket a képen (23./a) egyenes vonalak jelöltek, a modellben pedig a résztvevő csomópontok szabadságfokainak összekötésével hoztam létre ezeket. (feltételezve, hogy a vizsgálat elején úgy vesszük, hogy a kötések már ki vannak egyenesedve, amit előterheléssel szoktak elérni.)

A hálózáshoz a vonalakat hossz alapján csoportosítottam, és a csoportoknak külön adtam meg elemszámot, hogy minden elem azonos hosszúságú legyen. A csomópontok átlátható számozásához nem csak a hossz, hanem az egymáshoz képesti eltolás alapján is szétválogattam ezeket, így a kijelölésük egyszerűbbé vált. A keresztkötéseket ezek között tudom CP paranccsal megvalósítani, amely a kiválaszott csomópontok megadott szabadságfokait köti össze egy halmazba. Strukturális vizsgálat során ennek hatására a halmazban szereplő pontok adott iránybeli elmozdulása megegyező lesz.



23./a: A keresztkötések első és második réteg között /b A keresztkötések harmadik és negyedik réteg között /c Kötések első közelítése görbe vonalakkal a kulcspontok között

Mint azt egy korábbi bekezdésben is említettem, a valóságban más kollagén típusok is részt vesznek a stabil kötésrendszer kialakításában. Ezek főképp a rostszál szélén figyelhetők meg (23./b). Ennek okára a modellezés során is fény derült, ugyanis ha végignéztem az egyes N-C, C-N rétegekben található kötéseket és tartottam magam a 2C-1N, illetve 2N-1C szabályhoz, akkor egyes rétegekben maradtak molekulák, melyek semmilyen szinten nem csatlakoztak másikhoz és szomszédaik már részt vettek a maximális megengedett számú kötésben. Ezt a hibát hivatottak

orvosolni a rostszál mentén végigfutó exta molekulák, melyek az egymáshoz képest vertikálisan eltolt alkotók között létesítenek kötéseket. Azonban mint korábban is említettem, ezeket a plusz molekulákat elhanyagolom, és a szabadon maradtakat pedig bekötöm a mellettük található molekulák mellé. A rostköteg nagyságához viszonyítva azonban számosságuk elhanyagolható, ezért a szabálytalan kötések létrehozásával jelentős számításbeli eltérés nem keletkezik.

Elsőként elemtípusnak a 3 szabadságfokkal rendelkező LINK180 elemet választottam. Az összeállítás Z = 0 koordinátájú nodejait mindhárom  $(U_X, U_Y, U_Z)$  DOF szerint megkötöttem, határozottan rögzítve azokat. A szimulációhoz használt terhelés egy időfüggő elmozdulást választottam a molekulák hosszanti irányával megegyező tengely mentén, értéke  $U_Z = \frac{Time}{60000}$  (*a Time az időt jelzi, melynek mértékegysége másodperc*). Ezt a rostszál befogással ellentétes végére helyeztem, az  $U_X$  és  $U_Y$  szabadságfokokra pedig 0 elmozdulás kényszert helyeztem.

A szimuláció azonban nem futott le, a program egyes csomópontokat határozatlannak érzékelt. Ez a kötésrendszer többszöri újragondolása és ellenőrzése hatására sem változott, valamint az anyag és terhelés egyszerűbbre vétele sem segített. A következő próbálkozás során a molekulák csavarodási szögét 0-ra állítottam, azonban ez sem jelentett megoldást a problémára.

A tapasztalatok alapján új elemtípust választottam, húzott kötélelem helyett hajlított gerenda elemet, a BEAM188-at. A végpontjain nem csuklók helyezkednek el, így az elmozdulások mellett további szabadságfok is megjelenik, az x, y és z tengelyek mentén történő elfordulások ( $ROT_X, ROT_Y, ROT_Z$ ). Ezekre mind a terhelt, mind a terheletlen végen 0 elfordulás kényszert helyeztem. Ekkor a szimuláció végig futott, azonban a modell közepéből kiindulva a molekulák kicsavarodnak, vagy kimozdultak x irányba (24. ábra). A csomóponti elmozdulásokat listában kiírva megfigyelhető volt, hogy az x irányban történő elmozdulás abszolút értéke a z tengely mentén való terhelés irányától függetlenül nagyjából tízszerese a z irányú elmozdulásnak. Ez normális esetben nem kellene, hogy megtörténjen, így a modellben kellett keresni a hibát.



24. ábra Gerenda elemekkel lefuttatott szimuláció utáni deformált alak

A link elemhez hasonló módon most is a kötésrendszer átnézésével kezdtem, azonban ez most sem vezetett ereményre. A csomóponti eredmények listázása után látható, hogy a rotációk értéke a köztes rétegekben nem zéró, tehát a az x irányban történő elmozdulásokat ez okozhatja (25. ábra). Ezt sikerült orvosolni a csavarodási szög 0-ra csökkentésével, bár az elfordulások ebben az esetben sem tűntek el teljesen, ami megmagyarázza, hogy ez a módszer miért nem segített a LINK elemeknél. Az eredményekből arra lehet következtetni, hogy a végtelen erősségűként modellezett kötések (résztvevő csomópontok szabadságfokainak összekötése) egyszerű húzás hatására is elforgatnák a molekulákat, így a megfelelő összetettségű modell megalkotása előtt újra kell majd gondolni ezeket. Egy kézenfekvő megoldás lenne, ha valamilyen módon rögzítenénk az elfordulásokat egy tengely mentén. Ez a valósággal is összeegyeztethető, hiszen az ínak sem csavarodhatnak el bármilyen irányba terhelés közben.



25. ábra Gerenda elemekkel lefuttatott szimuláció utáni X tengely irányú elmozdulások vektorosan

A szimuláció futtatása előtt még a megfelelő anyagmodellt is meg kellett határoznom. Ennek elmélete a másik modellben is használható lesz más paraméterekkel. A kollagén viszkoelasztikus tulajdonságai miatt egy közvetett tartós kúszást (implicit creep) leíró egyenletet választottam. Ezek az ANSYS anyag referencia dokumentában olvashatóak. Én a hármas számút, az általánosított exponenciálisat választottam.

$$\dot{\varepsilon}_{cr} = C_1 \sigma^{C_2} r e^{-rt}, r = C_5 \sigma^{C_3} e^{-C_4/T}$$
(11)

έ<sub>cr</sub>: A folyás változása az időben C1 – C5: Program által befogadott konstans anyagi paraméterek σ: Mechanikai feszültség [Pa] t: Idő [s] T: Hőmérséklet [K] Az ebben található C paramétereket a [9] cikk alapján a Kelvin-Voigt modell paraméterei segítségével tudom megadni paraméteresen és számszerűen is, mely egy rugó és egy csillapító elem párhuzamos kötésével közelíti az anyagot, és a tartós folyása a következő egyenlettel írható le.

$$\varepsilon(t) = \frac{\sigma_0}{E} (1 - e^{\frac{E}{\eta}t})$$
(12)

 $\varepsilon(t)$ : Folyás nagysága az idő függvényében

E: Rugalmassági modulus [GPa]

η: Viszkozitás [1/s]

A (12) deriválásával megkaptam az időbeli változást és így meg tudtam határozni a C paramétereket.

$$\dot{\varepsilon} = -\frac{\sigma}{\eta} * e^{\frac{Et}{\eta}} \tag{13}$$

A fentiek alapján az alkalmazott paraméterek a következők:  $C_1 = -\frac{1}{E}$ ;  $C_2 = 1$ ;  $C_3 = 0$ ;  $C_4 = 0$ ;  $C_5 = -\frac{1}{\tau}$  és E = 5,4 GPa;  $\tau = \frac{1}{\eta} = 0,5 * 10^{-9}$  s

A megfelelő mértékben egyszerűsített modellt statikus analízisben futtattam 5 másodpercig, 0,1 másodperces időlépésekkel. Elsőként lefuttattam a szimulációt állandó nagyságú, Z irányú erő (F = 1 pN) teherrel., melynek megoldása után a deformált alak a 26. ábrán látható. Itt a direkt eredmények listázása nélkül is jól megfigyelhető, hogy a különböző eltolású molekulák azonos erő hatására más mértékben mozdulnak el. A pontos értékek idő függvényében a (27/a)-n olvashatók le, (27/b)-n kinagyítva az egymáshoz közeli értékeket 3 másodperc után.



26. ábra Z irányú elmozdulások 1 pN terhelés hatására





27. ábra/a: Az 1 pN hatására történő Z irányú elmozdulás a terhelt csomópontokban b) Az a ábrán látható elmozdulások kinagyítva 3 másodperc után

Következő terhelésnek a korábban említett időfüggő elmozdulást használtam. Mint a 28. ábrán is jól látható az egyes csomópont rétegekben a terheléstől a befogásig haladva egyre kisebb lesz az elmozdulás. A kötések modellezésének módjából adódóan két összekötött molekula gyakorlatilag egybefüggőnek tekinthető, így a terheléstől való távval közel egyenesen arányosan változik a nyúlás.



28. ábra Az időben változó terhelés hatására bekövetkező z irányú alakváltozás

Amennyiben a terhelt pontokban ébredő reakció erőket idő (29./a), vagy elmozdulás (29./b) függvényében ábrázoljuk lineáris függvényeket kapunk. Ez annak köszönhető, hogy bár az anyagunk nem lineáris, azzal a feltételezéssel éltünk, hogy már előterhelés hatására a molekulák és a kötések is kiegyenesedtek, valamint nem adtunk meg határértéket, amikor elkezdődik az anyag tönkremenetele. Ha megvizsgáljuk a valóságban is elvégzett mérések görbéit, azokon is megfigyelhető egy lineáris szakasz a kezdeti lépcső és a tönkremenetel kezdete között, a modellünk ezt közelíti.



29. ábra/a Az ébredő reakció erők idő függvényében /b Az egyes csomópontokon ébredő reakcióerők elmozdulás függvényében

Az ábrákon az 5 különböző eltolású molekula terhelt végén ébredő reakció erő látható. Észrevehető, hogy ezek egymástól eltartanak mind idő, mind elmozdulás függvényében. Ez nem csak rétegenként, hanem azonos rétegben elhelyezkedő molekulánként is eltérő lehet, a létrejött kötések mennyiségétől függően. Minél több kereszt kötésben vesz részt az adott molekula, annál nagyobb reakcióerő fog ébredni. Megfigyelhető, hogy a FZ\_6-tal jelölt erő kiugróan alacsony a többihez képest, ez annak köszönhető, hogy a 4-es eltolású molekulák között több olyan is van, amelyik mindössze 1 kötéssel csatlakozik más molekulához.

A teljes rostszál rugalmassági modulusának meghatározásához a terhelt csomópontok reakcióerejét összegeztem a futás 3 lépésében, mely a linearitás miatt elegendő a meredekség számolásához. Ennek eredményei a következők lettek:

1.  $időlépés: F = 0,68302 * 10^{-7}N; U = 0,166667 * 10^{-7}m; t = 0,1 s$ 5.  $időlépés: F = 0,62325 * 10^{-6}N; U = 0,15208 * 10^{-6}m; t = 0,9125 s$ 10.  $időlépés: F = 0,34252 * 10^{-5}N; U = 0,8333 * 10^{-6}m; t = 5 s$ 

A mechanikai feszültséget az erő és a keresztmetszet hányadosaként számolhatom ki. A keresztmetszet nagysága  $A = 952,32 nm^2 = 9,5232 * 10^{-16}m^2$ . A három feszültség nagysága  $\sigma_1 = 71,72 MPa; \sigma_2 = 654,45 MPa; \sigma_3 = 3596,69 MPa$ , a fajlagos nyúlások pedig  $\varepsilon_1 = 0,0297; \varepsilon_2 = 0,2706; \varepsilon_3 = 1,483$ . A három modulus érték nagyjából megegyezik, és értéke 2,4 GPa. Az irdoalmi értékek szórása 0,07-3,12 GPa közötti [8], így kijelenthető, hogy a modell elfogadható pontosságú.

#### 4.2 Rost

Az I-es típusú kollagén rost egymástól jól elkülöníthető kötegekből áll össze, amiket rostszálak alkotnak. Ez a szerkezet az elektronmikroszkópos képen szépen megfigyelhető (30. ábra). A szálak átmérője igen eltérő, 10 nm-es nagyságrendtől akár 500 nm-ig is terjedhet.



30. ábra Elektronmikroszkópos kép egy ínról, a skála 50 µm nagyságú [32]

A szálas szerkezet kialakulásának több mechankai előnye is van. Ismeretes, hogy bármilyen struktúrában a feszültség alatt lévő elemek teljes szilárdsága az őket felépítő anyagtól és a keresztmetszettől függ. Egy alkotó több szálra való felbontása növeli a biztonsági tényezőt az úgynevezett Cook–Gordon hatás miatt, ami kimondja, hogy egy esetleges repedés megáll a szálak határán, így nem terjedhet végig olyan könnyen, mint egy egységes szilárd testen belül. Ezen túl a rugalmasság is jelentősen nő, ezzel rendkívül alkalmassá téve a a szálas szerkezeteket a húzási igénybevétel elviselésére. A szálak nagyságában megfigyelhető jelentős eltérések azzal magyarázhatók, hogy a nagyobb átmérővel rendelkező szálak nagyobb terhelés elviselésére képesek, míg a vékonyabbak (ezek hossza általában nagyobb) esetében nagyobb a szálak közötti kötések száma. Így egy szöveten belül minden szál el tud látni egy számára megfelelő feladatot, alkalmasabbá téve azt a teherviselésre, mintha homogén nagyságúak lennének. [32] A szálakhoz hasonlóan a rostok átmérője is változó, 1 és 300 µm között.

Mint a 30. ábrán is látható a kötegek különböző méretűek, sokszög alakúak, és egymáshoz rendkívül közel helyezkednek el. Habár a keresztmetszetek alakja és mérete eltérő, ez egy szűk tartományon belül mozog, ezért a modellezéshez megfelelő geometriát kellett választani, hogy a valósághoz közel legyen. A választásom a voronoi-diagramra esett, mert adott számú cellát (jelen esetben szálköteget) képes véletlenszerűen generálni, melyek eltérő méretűek, de adott szabály szerint jönnek létre. A Voronoi-cella egy geometriai fogalom. Két dimenziós esetben a ponthalmaz egy elemének Voronoi-cellája azokat a síkbeli pontokat tartalmazza, amikhez a ponthalmazból az adott elem van a legközelebb. Egyszerűbben megfogalmazva, a diagramot alkotó cellák a véges számú (és esetünkben a sík egy részében véletlenszerűen elhelyezett) pontok körül a többi elemhez képesti felezőmerőlegest határozzák meg (31. ábra). Az egyszerűsítés érdekében a kötegek közötti rések és kötések helyett a modell tartományát teljesen kitöltik a cellák, és az egymással való kölcsönhatásokat az elemek érintkezésénél kontakt-elemek létrehozásával oldottam meg.



31. ábra 2 Dimenziós Voronoi-cellák ábrázolása [34]

Első lépésként meg kellett oldanom a cellák generálását. A Voronoi geometria létrehozásához a Matlab program beépített "voronoi(x,y)" parancsát használtam. Ez ábrázolja a Voronoi-diagram zárt poligonjait, amik középpontjait az "x" és "y" paraméterek segítségével meghatározott területen (x és y oszlopvektorok) hozza létre véletlenszerűen. A nevezetes (csomó-, és metszés-) pontok koordinátáit visszakaphatom a "[vx,vy] = voronoi(x,y)" segítségével, így a x,y,vx,vy-t mátrix alakban visszakaphatom [33]. Mivel Matlabból nem lehetséges az ANSYS-ba közvetlenül a geometria importálása, ezért más megoldást kellett találnom. Végül a problémát Microsoft Excel segítségével oldottam meg. Minden pont koordinátáját kiírtam egy fájlba, ezután a metszéspontokat szűrtem, mert sok ismétlés volt található bennük. Ezt követően minden metszésponthoz hozzárendeltem a legközelebb eső csomópontokat (ezt a távolságok számolásával, és a legkisebb 2, 3 vagy 4 kiválasztásával tettem), majd ezeket megfordítva megkaptam az egyes csomópontokhoz tartozó cellák csúcspontjait. Ez azonban még nem volt elég a területek létrehozásához, mert az Ansys Mechanical APDL-ben a pontok alapján való generáláshoz szükséges a megfelelő körüljárás megadása. A Matlab sajnos nem koordináták szerint sorbarendezve írta ki az adatokat, ezért ennek megoldásához minden csomóponthoz tartozó metszéspont halmazban meg kellett keresnem a legnagyobb x koordinátával rendelkezőt, és a többi ponttal bezárt szög tangense alapján sorba rendezni őket. Ezt követően egyszerűen ki lehetett írni a parancsokat, majd ezt átmásolni ANSYS-ba.

Az első modell létrehozásánál 40 csomópontból álló ponthalmaz Voronoi-celláit készítettem el, és a létrehozott diagramból kivágtam egy elliptikus területet (32./a). Mint a képen is látható, ebben az esetben a cellák nagysága nem lett megfelelően egyenletes, a széleken sokkal nagyobbak, nem adva vissza a mikroszkópos képen látható elrendezést. Ennek megoldásához növelnem kellett a csomópontok számát, először 80, majd 160, végül pedig 250 darabra. Ez utóbbi esetében (32./b) már látható, hogy a diagram szélén látható cellákon kívül sokkal egyenletessebb az eloszlás, a belső területekből egyszerűen ki lehet vágni egy területet, amelyben kellően egyenletes az eloszlás. A kapott diagramból vágtam ki egy 1 µm sugarú kört, amely a rostot ábrázolja (32./c).







32. ábra Fentről lefelé: /a, 40 csomópontból létrehozott cellákból kivágott ellipszis; /b, 250 csomópontból alkotott háló; /c, A kivágott 1 egység sugarú kör.

A programok közötti átalakítást megvalósító excel 250 csomópontos geometria generálása esetén semmi, vagy csak minimális módosítást igényel az új diagram megalkotásához. Amennyiben a számot növelni szeretnénk, szükséges a már meglévő függvények számának növelése is, amit az általam létrehozott táblázat lehetővé tesz.

A két dimenziós geometriából az ANSYS APDL VEXT parancsa segítségével alkottam meg az ínrost köteg háromdimenziós modelljét. Minden területnek kihúzás után meg kellett, hogy maradjanak az oldallapjai, így az egyes térfogatok találkozásánál ügyelni kellett a felületek kettőzésére. Ez nem valósul meg, ha az összes területet egyszerre húzom ki, ezért listáztam és egyesével extrudáltam őket. A térfogatok megalkotása előtt azonban még hálóztam a területeket, és ezzel együtt valósítottam meg a kihúzást. A kollagén rost hosszát 10 µm-nek választottam (33. ábra).



#### 33. ábra A kihúzott és hálózott területek

A rostszálak egymással való kölcsönhatását a megalkotott térfogatok felületén létrehozott kontakt elemek segítségével modelleztem. Első lépésként a kontakt típusát választottam ki, először az általános érintkezéssel (general contact) próbálkoztam. Ez automatikusan hozza létre

az érintkező felületeket, minimális felhasználói beavatkozást igényelve. Akkor érdemes használni, ha a felületek kiválasztása bonyolult lenne. A program magától kiválasztja ezeket és az érintkezések módját is, minden felületre kontakt és cél (contact és target) elemeket is létrehozva. Elsőként a nagymennyiségű kettős felület miatt esett erre a választásom. Azonban többszöri próbálkozás után arra jutottam, hogy ennek segítégével olyan érintkezések is létre jönnek, amik a valóságban nem, vagy csak kis szerepet játszanának, a szimuláció futásában viszont problémát okoztak.

Következőnek pár alapú (pair-based) érintkező felületekkel próbálkoztam, ezen belül a szimmetrikus kontaktal, mert az általánoshoz hasonlóan ebben az esetben sem kell kézzel kiválasztani a contact-target felületeket a program magától létrehoz minden kijelölt területen contact és target elemeket is. Létrehozásukhoz ki kellett választanom a megfelelő csomópontokat a modellben, hogy az ESURF parancs segítségével a felületek hálójához idomuló elemeket hozzak létre. Elsőként kijelöltem a térfogatok külsején elhelyezkedő csomópontokat és létrehoztam a kontakt elemeket, majd kitöröltem a teljes henger alak felszínén képzetteket, így a 34. ábrán látható hálót kapva.



34. ábra A kontakt elemek hálója

A háló létrehozása után beállítottam az érintkezések tulajdonságait. Fontos kiemelni ezek közül, hogy a felületek közötti esetleges réseket a modell automatikusan 0-nak érzékeli, a

szimmetrikusan létrehozott kontaktok közül magától asszimetrikus párokat alkot, valamint el nem váló (no separation) típusú az érintkezés, azaz csak csúszást enged.

Anyagmodellnek az előző modellel megegyezőt választottam, mindössze a C paraméterek értéke lesz más, ezeket részben a mikroszinten kapott eredmények alapján állítottam be. A rugalmassági modulus 2,4 GPa, a viszkozitás reciproka pedig  $\frac{1}{rr}$  s.

Terhelésnek percenként 10 mikrométeres, időben állandó, hossztengely irányú elmozdulást választottam, statikus analízisben 10 másodpercig futtattam 0,1 másodperces időlépésekkel. A henger húzott körlapjával szemben elhelyezkedőnek minden irányban való elmozdulását 0-ra állítottam, így befogva azt. Ennek következtében a 35. ábrán látható módon megváltozik a rost hossza. Mivel összenyomhatatlan anyagról van szó, ezért térfogata állandó marad a vizsgálat során, így a z tengely menti nyúlást x és y tengely menti rövidülés kíséri (36./a és b).



35. ábra /a A rost modell geometriájának megváltozása /b A modell z irányú alakváltozásai



36. ábra /a Az x irányú elmozdulások a szimuláció végén /b Az y irányú elmozdulások a szimuláció végén

A terhelés hatására ébredő reakcióerőt az utolsó időlépésben a befogás pontjaiban vizsgáltam. Három választott csomópontban ébredő erőt idő és z irányú elmozdulás alapján is ábrázoltam, mindkét alkalommal lineáris görbéket kapva (37./a és b ábra). Ez annak köszönhető, hogy a rost legszembetűnőbb nemlinearitásait a rostszálak egyesével való szakadása jelentené, ám esetünkben ezt még nem vettem figyelmbe. Megfigyelhető ezeken a képeken, valamint a 35./b ábrán is, hogy egyes térfogatok elemei más-más mértékben vesznek részt a nyúlásban, így az ébredő reakcióerők is eltérőek. Ez annak köszönhető, hogy ezek változó nagyságú felületekkel érintkeznek, ezért a súrlódásból származó ellenerő is más nagyságú lesz.



37. ábra/a Az egy csomópontban ébredő reakciórerő az idő függvényében /b Az egy csomópontban ébredő reakciórerő az időfüggvényében

A rost anyagi tulajdonságainak vizsgálatához összegeztem a 0 elmozdulás kényszerrel terhelt kör terület csomópontjaiban ébredő reakcióerők abszolút értékét, és 4 időlépésben kiírtam a z irányú elmozdulásokkal egyetemben. Ennek eredményei a következők lettek:

1. 
$$időlépés: F = 143,99 * 10^{-6} N; U = 0,1667 * 10^{-6} m; t = 0,1 s$$
  
5.  $időlépés: F = 1313,9 * 10^{-6} N; U = 0,152 * 10^{-5} m; t = 0,9125 s$   
10.  $időlépés: F = 7456,1 * 10^{-6} N; U = 0,863 * 10^{-5} m; t = 5,1781 s$   
15.  $időlépés: F = 14399 * 10^{-6} N; U = 0,1667 * 10^{-4} m; t = 10 s$ 

A mechanikai feszültséget az erő és a keresztmetszet hányadosaként számolhatom ki. A keresztmetszet nagysága  $A = 3,14159 \ \mu m^2 = 3,14159 \ * 10^{-12} m^2$ . A három feszültség nagysága  $\sigma_1 = 45,83 \ MPa; \sigma_2 = 418,23 \ MPa; \sigma_3 = 2373,35 \ MPa \ \sigma_4 = 4583,344 \ MPa$ , a fajlagos nyúlások pedig  $\varepsilon_1 = 0,01667; \varepsilon_2 = 0,152; \varepsilon_3 = 0,863; \ \varepsilon_4 = 1,667$ . A három modulus érték nagyjából megegyezik, és értéke 2,75 GPa. Ez több nagyságrenddel nagyobb, mint az irodalomban olvasható értékek, ez lehet az előző modellből kapott fibril rugalmassági modulus felhasználása miatt, vagy a rostszálak közötti súrlódás általam választott értékének (0,8) köszönhetően.

A rugalmassági modulus csökkentése érdekében a rostszálak tulajdonságát a [9] forrásban olvasottra (0,9 GPa) változtattam, valamint a súrlódási együtthatót 0,2-ra csökkentettem. Az analízis beállításait változatlanul hagyva, a reakcióerő értéke az utolsó időlépésben  $F = 5399 * 10^{-6} N$ -re csökkent, így a feszültség értéke  $\sigma_4 = 1718,555 MPa$  lett. Az  $\varepsilon$  értéke nem változott, így a kapott rugalmassági modulus 1,03 GPa lett. Ez továbbra is egy 10-szeres szorzóval nagyobb, mint az irodalmi érték, így a modell további javításra szorul.

### 5 Összefoglalás

A dolgozat célja egy korábbiaknál pontosabb, inakat felépítő egyes típusú kollagén vizsgálata és modellezése volt. Első lépésben irodalomkutatás segítségével szakítóvizsgálatot terveztem a teljes ín vizsgálatához, és ebből tanulságokat vontam le későbbi validáló mérések elvégzéséhez. A legfontosabb ezek közül, hogy a szövetek befogásának helyénél a folyékony nitrogénes fagyasztás helyett valamilyen más módszert kell használnom, hogy a túlzott roncsolódást megakadályozhassam. Ezt követően létrehoztam egy mikro-, és mezoszintű modellt amelynek pontosságát az ezekből számolt rugalmassági modulusok irodalmi értékekkel való összehasonlításával határoztam meg. Mindkét típusú modell esetében teljesen új, a korábbiaknál bonyolultabb és valóságűbb geometriát alkalmaztam. A numerikus megoldás során adódó problémák miatt számos egyszerűsítéssel kellett élnem, például a fibril esetében az eredetileg tervezett húzott kötél elemekből álló csavart modellt hajlított gerenda elemekkel kellett helyettesítenem 0° csavarási szöggel. A kollagén molekulákat összekapcsoló kémiai kötéseket pedig a csomópontok szabadságfokainak összekötésével valósítottam meg. A szimuláció alapján a teljes modell rugalmassági modulusára 2,4 GPa értéket kaptam, amely beleesik az irodalomban

[9] olvasott mérések és szimulációk során kapott tartományba, ezért kijelenthető, hogy az egyszerűsítések ellenére is megfelelő pontosságú modellt alkottam. A dolgozat utolsó lépése egy mezoszintű, rostról készült modell létrehozása aminek alkotóelemei a rostszálak. A geometriát Voronoi-cellák segítségével közelítettem, majd ezekből homogén térfogatokat húztam ki melyek között a kapcsolatot kontakt elemekkel valósítottam meg Az analízis futtatása után a rugalmassági modulus 2,7 GPa-ra adódott, ami egy tízes nagyságrenddel eltér az irodalomban olvasott értéktől. Az érintkezéseknél fellépő súrlódás csökkentésévek, és a rostszálak anyagtulajdonságainak megváltoztatásával sikerült a Young-modulust 1,03 GPa-ig csökkenteni, azonban ez a modell így is további optimalizációt igényel. A megoldást az egyes térfogatok anyagi tulajdonságának pontosítása jelentheti, hiszen a természetben a hossztengely irányában nem homogén 10 mikrométer hosszú rostszálak alkotják a rostot, hanem ezek között ebben az irányban is kötések jönnek létre. Amennyiben ezt sikerül ábrázolni, a szakadás modellezése is lehetségessé válik.

A jövőben további méréseket kell majd végeznem, hogy a szakítóvizsgálat közbeni problémákra megoldást találjak, és a modellek gyakorlati validációja lehetségessé váljon. Továbbá szeretném az analízisben használt egyszerűsítések számát csökkenteni, valamint az esetleges hibákat kijavítani. Távolabbra tekintve a rostszál modellt molekuláris szintre is felbontanám, ezzel még mélyebben feltárva és ábrázolva az anyag működését.

## 6 IRODALOMJEGYZÉK:

[1] Kaili Lin, Dawei Zhang, Maria Helena Macedo, Wenguo Cui, Advanced Collagen-Based Biomaterials for Regenerative Biomedicine, Advanced Functional Materials, 2018

[2] Loureiro dos Santos, Natural Polymeric Biomaterials: Processing and Properties, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil, 2017

[3] Lang He, Jian Yang, Chengzhi Xu, Sheng Li, Benmei Wei, Juntao Zhang, Yuling Xu, Haibo Wang, Effect of pre-shearing treatment on the molecular structure, fibrillogenesis behavior and gel properties of collagen, New Journal of Chemistry, Issue 17, 2020

[4] Hai-Nan Su, Li-Yuan Ran, Zhi-Hua Chen, Qi-Long Qin, Mei Shi, Xiao-Yan Song, Xiu-Lan Chen, Yu-Zhong Zhang and Bin-Bin Xie, The ultrastructure of type I collagen at nanoscale: largo or small D-spacing distribution?, Nanoscale, Issue 14, 2014

[5] Samuel J. Baldwin, Josh Sampson, Christopher J. Peacock, Meghan L. Martin, Samuel P. Veres, J. Michael Lee, Laurent Kreplak, A new longitudinal variation in the structure of collagen fibrils and its relationship to locations of mechanical damage susceptibility, Journal of the Mechanical Behaviot of Biomedical Materials, Volume 110, 2020

[6] Frederick H. Silcer, Michael Jaffe, Ruchit H. Shah, Structure and behavior of collagen fibers, Handbook of properties of Textile and Technical Fibres, Pages 345-365, 2018

[7] David J. Hulmes, Building Collagen Molecules, Fibrils and Suprafibrillar Structures, Journal of Structural Biology 137, 2–10 2002

[8] David R. Eyre, Mary Ann Weis, Jiann-Jiu Wu, Advances in collagen cross-link analysis, Methods, 45(1):65-74., 2008

[9] Alfonso Gautieri, Simone Vesentini, Alberto Redaelli, Markus J. Buehler, Viscoelastic properties of model segments of collagen molecules, Matrix Biology 31, 141-149, 2012

[10] Charles J. Doillon, Michael G. Dunn, Edward Bender, Frederick H. Silver, Collagen Fiber Formation in Repair Tissue: Development of Strength and Toughness, Collagen Res. Rel. Vol. 5/1985, pp. 481-492

[11] Udita Kukreti, Stephen M. Belkoff, Collagen fibril D-period may change as a function of strain and location in ligament, Journal of Biomechanics 33 (2000) 1569-1574

[12] Frederick H. Silver, David L. Christiansen, Patrick B. Snowhill, Yi Chen, Transition from viscous to elastic-based dependency of mechanical properties of self-assembled type I collagen fibers, Journal of Applied Polymer Science, Vol. 79, 134-142 (2001)

[13] Frederick H. Silver, David L. Christiansen, Patrick B. Snowhill, Yi Chen, Williwam J. Landis, The role of mineral in the storage of elastic energy in turkey tendons, Biomacromolecules 2000, 1, 180-185

[14] Frederick H. Silver, David L. Christiansen, Patrick B. Snowhill, Yi Chen, Role of storage on changes in the mechanical properties of Tendon and Self-Assembled collagen fibers, Connective Tissue Research, Vol. 41(2), pp. 155-164

[15] Zhilei L. Shen, Mohammad Reza Dodge, Harold Kahn, Roberto Ballarini, Steven J. Eppel, Stress-Strain experiments on individual collagen fibrils, Biophysical Journal Volume 95, October 2008, 3956-3963

[16] Joseph B. Newton, George W. Fryhofer, Ashley B. Rodriguez, Andrew F. Kuntz, Louis J. Soslowsky, Mechanical properties of the different rotator cuff tendons in the rat are similarly and adversely affected by age, Journal of Biomechanics 117 (2021) 1, 10249

[17] Jacqueline Fannin, Kevin M. Rice, Srininvas Thulluri, Lucy Dornon, Ravi Kumar Arvapalli, Paulette Wehner, Eric R. Blough, Age-associated alterations of cardiac structure and function in the female F344xBN rat heart, DOI 10.1007/s11357-014-9684-6

[18] Johann Zwirner, Benjamin Ondruschka, Mario Scholze, Gundula Schulze-Tanzil, Niels Hammer, Biomechanical characterization of human temporal muscle fascia in uniaxial tensile tests for graft purposes in duraplasty, *Sci Rep* **11**, 2127 (2021). https://doi.org/10.1038/s41598-020-80448-1

[19] Colin R. Firminger, W. Brent Edwards, A biomechanical study of clamping technique on patellar tendon surface strain and material properties using digital image correlation, Journal of Mechanical behavior of biomedical materials 113 (2021)

[20] Ellen T. Bloom, Andrea H. Lee, Dawn M. Elliot, Tendon multiscale structure, mechanics and damage are effected by osmolarity of bath solution, Annals of Biomedical Engineering (2020), https://doi.org/10.1007/s10439-020-02649-z

[21] Keith L. Grega, Ruth N. Segall, Anurag J. Vaidya, Chong Fu, Benjamin B. Wheatley, Anisotropic and viscoelastic tensile mechanical properties of aponeurosis: Experimentation, modeling and tissue microstructure, Journal of mechanical behavior of biomedical materials 110 (2020)

[22] Hammer N, Huster D, Fritsch S, Hädrich C, Koch H, et al. (2014) Do Cells Contribute to Tendon and Ligament Biomechanics? PLoS ONE 9(8): e105037. doi:10.1371/journal.pone.0105037

[23] Johann Zwirner, Mario Scholze, John Neil Wadell, Benjamin Ondruschka, Niels Hammer, Dura mater in tension – An analysis at an age range of 2 to 94 years, Scientific Reports (2019) 9:16655 | https://doi.org/10.1038/s41598-019-52836-9

[24] Frederick H. Silver, Ali Ebrahimi, Patrick B. Snowhill, Viscoelastic properties of selfassembled type I collagen fiberss: molecular basis of elastic and viscous behaviors, Connective Tissue Research 43: 569-580 (2002)

[25] Christine R. Carlisle, Corentin Coulais, Martin Guthold, The mechanical stress-strain properties of single electrospun collagen type I nanofibers, Acta Biomater. 2010 August; 6(8): 2997-3003

[26] Gy. Hangody, G. Pánics, G. Szebényi, R. Kiss, L. Hangody, K. Pap, Pitfalls during biomechanical testing – Evaluation of different fixation methods for measuring tendons endurance properties, Physiology International, Volume 103 (1), PP. 86-93 (2016)

[27] Mario Scholze, Aqeeda Singh, Pamela F. Lozano, Benjamin Ondruschka, Maziar Ramezani, Michael Werner, Niels Hammer, Utilization of 3D printing technology to fascilitate and standardize sof tissue testing, SCIENTIFIC Reports, (2018) 8:11340, DOI:10.1038/s41598-018-29583-4

[28] DuFang Shi, DongMei Wang, ChengTao Wang, Anmin Liu, A novel, inexpensive and easy use of tendon clamp for in vitro biomechanical testing, Medical Engineering and Physics 34 (2012) 516-520

[29] Y. Pedro Kato, David L. Christiansen, Rita A. Hahn, Sheu-Jane Shieh, Jack D. Goldstein, Frederick H. Silver, Mechanical properties of collagen fibers: a comparison of reconstituted and rat tail tendon fibres, Biomaterials 1989, Vol 10 January

[30] Smith M. V., Castile R. M., Brophy R. H., Dewan A., Bernholt D., Lake S. P., Mechanical Properties and Microstructural Collagen Alignment of the Ulnar Collateral Ligament During Dynamic Loading. The American Journal of Sports Medicine. 2019;47(1):151-157

[31] Markus J. Buehler, Nature designs tough collagen: Explaining the nanostructure of collagen fibrils, PNAS 33, 2006

[32] Vittoria Ottani, Mario Raspanti, Azzurra Ruggeri, Collagen structure and functional implications, Micron 32, 251-260, 2001

[33] <u>https://www.mathworks.com/help/matlab/ref/voronoi.html</u>, 2021.11.07.

[34] <u>https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Coloured\_Voronoi\_2D.svg</u>, 2021.11,07.

[35] Zhi Jie Zhang, Siu Ngor Fu, Shear Elastic Modulus on Patellar Tendon Captured from Supersonic Shear Imaging: Correlation with Tangent Traction Modulus Computed from Material Testing System and Test–Retest Reliability, Plos One june 2013 volume 8, issue 6

### 7 SUMMARY

The non-linear behavior of collagens and tissues made up of them has been a subject of investigation for a long time now. The aim of this study was to develop a finite element model of type I collagen fibrils and fibers found in tendons, and perform tensile strength tests, to validate these models.

First I reviewed the different mechanical tests usually done on collagenous tissues, and conducted practice measurments to determine the best setup for my own tests. After considering my results I decided to use tissues purchased from a butcher, mainly from pig legs, the speed of the displacement was 10 mm/minute. I used liquid nitrogen at the clamped areas, to prevent failure occurring near these damaged parts. Unfortunately even with this precaution, all the samples either slipped out of the clamp, or sustained the most damage in that area, therefore I was not able to use the entire graph I got. I decided that the only part I will only use the near linear part between the initial straightening and the first dip in the values. I compared the results of my analysis with ones I found in literature, and decided that it will need further improvements before I will be able to use it for validation purposes.

In order to achieve my second goal, I looked over the existing models of collagen that I was able to find in scientific articles. Most of these were either theoretical, with a good overview of the actual molecular and fibrillary structure of the collagen [7][8], but did not offer a good method of creating a 3D model. The practical one [9] did not have the desired accuracy, so I only used some parts of it. For the fibril model, I made up a molecula distribution and the cross-bonding system, to match the patterns seen in nature and literature. After finishing he geometry, I ran a finite element analysis, and got a result for the fibrils Young's modulus (2.4 GPa) that was within the acceptable range.

The bases of the fiber model geometry were the Voronoi-cells, I created the cross-section with them, then extruded the areas and defined contact elemenets between the volumes. I have used a homogeny material for these volumes, therefore I could not reproduce the wanted results of a lessened Young's modulus.

In summary, I have successfully created working fiber and fibril models, the latter with good results and an accurate geometry, the former as a frame for further research.