

## ODREĐIVANJE PONAŠANJA SVINJSKE AORTE PRIMJENOM METODE KORELACIJE DIGITALNE SLIKE

Tomičević, Z., Nemčić, I. & Kodvanj, J.

**Sažetak:** Bolesti srca i krvnih žila predstavljaju jedan od najvećih medicinskih problema suvremenog svijeta i jedan su od vodećih uzroka smrtnosti u razvijenim zemljama. Kako bi se bolje razumjele posljedice bolesti krvnih žila postoji potreba za provedbom mehaničkih ispitivanja s ciljem određivanja pouzdanijih materijalnih svojstava krvožilnog tkiva. U radu su provedena i analizirana tri ravninska dvoosna eksperimenta na uzorcima pripremljenim od svinjske aorte. U dosadašnjim istraživanjima pomaci i deformacije na biološkom mekom tkivu su zbog zahtijevnog eksperimentalnog postava mjereni s videoekstenzometrom. Analizom digitalnih slika zabilježenih tijekom ispitivanja dobiva se podatak o pomaku između dva markera na uzoraku. Cilj provedenog istraživanja je primjena i validacija naprednijih optičkih tehnika koje uzimaju u obzir mjerenje cijelog polja pomaka. Sukladno tome u ovom radu korišteni su istovremeno videoekstenzometar i metoda korelacije digitalne slike (DIC). Rezultati dobiveni videoekstenzometrom uspoređeni su s DIC metodom primjenom virtualnog/optičkog tenzometra na izmjerenim poljima pomaka. Budući da su RT3-DIC algoritmom određena polja pomaka i deformacija na cijeloj površini uzorka promatran je utjecaj eksperimentalnog postava. Dobiveni rezultati pokazali su da DIC metoda rezultira manjom standardnom rezolucijom pomaka i deformacija zbog uzimanja u obzir kontinuiranosti polja pomaka. Eksperimentalni rezultati su također pokazali da ispitano biološko meko tkivo ima veću krutost u smjeru protoka krvi.

**Ključne riječi:** aorta, ravninski dvoosni eksperiment, videoekstenzometar, metoda korelacije digitalne slike.

### 1 UVOD

Zbog učestalosti kardiovaskularnih bolesti u svjetskoj populaciji, te s ciljem prevencije, ranog otkrivanja i poboljšanja u liječenju, provode se brojna biomehanička istraživanja. Za njihovu provedbu potrebno je povezivanje različitih disciplina, poput inženjerstva i medicine. U posljednje vrijeme mnogo se napora ulaže u području istraživanja računalnog modeliranja kardiovaskularnih zahvata. Da bi se izradili računalni modeli, potrebno je definirati konstitutivne materijalne modele za opisivanje mehaničkog ponašanja tkiva krvnih žila. Kako bi se tome približilo, teorijske osnove i eksperimentalna ispitivanja u razvoju konstitutivnih modela za ovo područje postala su predmet istraživanja mnogih autora. To ponajprije podrazumijeva eksperimentalna ispitivanja, dobivanje mehaničkih karakteristika i informacija o strukturi tkiva, što je prvi i najvažniji korak o kojem ovisi pouzdanost konstitutivnih, a u konačnici i numeričkih modela. Po svojoj strukturi biološka tkiva su najčešće anizotropna i nelinearno elastična. Njihovo složeno ponašanje nije lako predvidjeti, te jednoosna ispitivanja na takvim materijalima nisu dovoljna za potpuni uvid u ponašanje mekih

tkiva. Upravo iz tog razloga bilološki meki materijali se u novije vrijeme ispituju najmanje dvoosnim (biaksijalnim) testovima, što će biti opisano u ovome radu.

Često se kod pretkliničkih istraživanja krvnih žila koriste životinjski modeli koji svojim karakteristikama odgovaraju žilama kod čovjeka. Iako se ni jednim životinjskim modelom ne može u potpunosti kopirati složenost ljudskih patoloških stanja, oni su ključan element u istraživanjima mehanizama bolesti te testiranjima dijagnostičkih i interventnih tehnologija. U pretkliničkim istraživanjima kao životinjski model se često uzima domaća svinja. U usporedbi s ostalim životinjskim vrstama, svinja ima određene fiziološke i anatomske značajke koje su vrlo slične ljudskoj fiziologiji i anatomiji. Zbog toga su za neka istraživanja svinjska tkiva najbolji izbor. Sustavi koji se najčešće navode kao prikladni uključuju krvožilni, mokraćni, pokrovni i probavni sustav. Mehanička in vitro ispitivanja u sklopu ovog rada provedena su na svježim uzorcima aorte svinje u svrhu dobivanja mehaničkih podataka o ponašanju krvnih žila, točnije arterija.

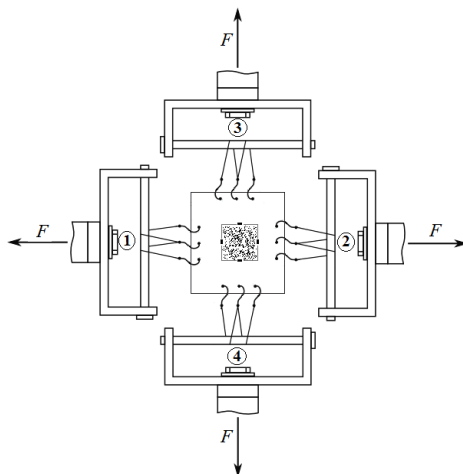
Kvaliteta rezultata isključivo ovisi o metodi koja se primjenjuje za dobivanje pomaka i/ili deformacija ispitnog uzorka. U dosadašnjim istraživanjima najčešće se za mjerenje pomaka koristio videoekstenzometar koji prati ponašanje materijala između dvije referentne točke (markera). Ta metoda je izuzetno dobra ako se mjerenje provodi na homogenom materijalu koji ima izotropna svojstva. Kao što je već spomenuto, za biološke materijale to nije slučaj. Zbog toga se rezultati dobiveni ovom metodom moraju uzeti s oprezom i potrebno ih je usporediti s drugim naprednijim metodama. U ovom radu, uz videoekstenzometar, za mjerenje pomaka korištena je i metoda korelacije digitalne slike. Ova optička metoda omogućuje praćenje cijelog polja pomaka kojom je moguće dobiti više informacija budući se mjerenje primjenjuje na više stupnjeva sloboda. Na taj način će uvid u odziv materijala omogućiti bolje opisivanje njegovog ponašanja.

## **2 EKSPERIMENT**

U sklopu ovog rada provedena su tri in vitro eksperimentalna ispitivanja svinjske aorte koja imaju za cilj dobivanje što boljeg uvida u mehaničko ponašanje krvnih žila uslijed narinutog dvoosnog mehaničkog opterećenja. Određivanje odziva materijala mjerenjem pomaka/deformacija na površini ispitnog uzorka poslužiti će za daljnju validaciju i identifikaciju parametara hiperelastičnih materijalnih modela. S obzirom da se ispitivanje odnosi na biološki meka tkiva potrebno je zadovoljiti određene standarde eksperimentalne procedure.

Ispitivanja su provedena na Tehničkom sveučilištu u Grazu na ravninskoj dvoosnoj kidalici koja je posebno namijenjena za ispitivanja mekih bioloških tkiva i umjetnih materijala. Slika 1 prikazuje shemu eksperimentalnog ispitivanja analiziranog dvoosnog testa. Brojevima je označen raspored aktuatora koji će biti bitan prilikom definiranja orijentacije uzoraka. Uzorci su kvadratnog oblika, te su na svakom rubu postavljene po tri međusobno povezane udice/kukice. One služe kao prihvat između uzorka i ispitnog uređaja te prenose silu sa svakog aktuatora. Međusobno su povezane koncem. Korišteni postav temeljen je na sustavu kojeg je osmislio Eilaghi [1], a ciljano je razvijen za eksperimente na mekim tkivima. Eilaghi i dr. [1] proučavali su međusobni utjecaj oblika uzoraka i rubnih uvjeta uzimajući u obzir prijenos opterećenja preko udica i konca. Numeričke simulacije metodom konačnih elemenata

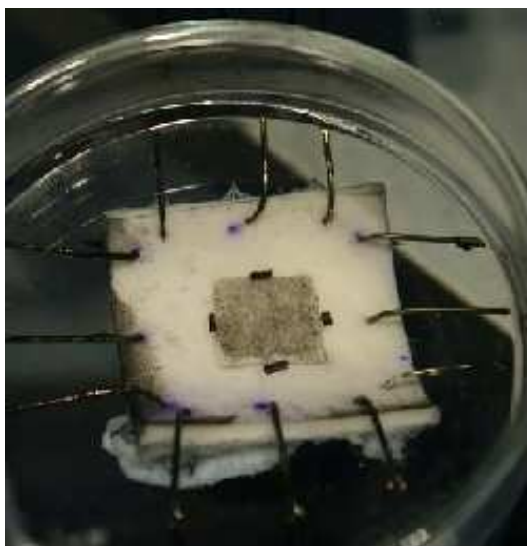
pokazale su da je za najbolje rezultate (tj. homogeno polje pomaka u sredini uzorka) potrebno koristiti minimalno pet udica na svakom rubu uz jednak razmak između svake od njih. Također, udaljenost ruba uzorka od mjesta prihвата svake udice smije biti od 0,6 do 1 puta vrijednost udaljenosti između dvije udice.



Sl. 1. Shematski prikaz ravninskog dvoosnog ispitivanja uzorka svinjske aorte

Korišteni su uzorci približnih dimenzija 25×25 mm. Svi su uzorci pripremljeni u sterilnim uvjetima (Slika 2). Nakon pripreme između svakog ispitivanja preostali uzorci su skladišteni u antibiotskoj otopini na temperaturi 4°C. Budući da je građa žile slojevita (a u ovom radu se razmatra kao jedan sloj), ne može se točno definirati smjer vlakana koja preuzimaju veći dio opterećenja. U ovom istraživanju analizirani su eksperimenti gdje su za prihvat uzorka korištene tri udice na svakom rubu pošto je prvotni cilj bio primjena novih mjernih tehnika u području mekih tkiva. Kod eksperimentalnog ispitivanja svakog materijala potrebna je odgovarajuća priprema ispitnih uzoraka. Kako se ovdje radi o mekom tkivu krvne žile, priprema ima posebnu važnost jer treba osigurati posebne uvjete ispitivanja zbog simulacije fizioloških uvjeta. Također, bilo je potrebno pripremiti površinu uzoraka za primjenu dvije optičke metode. Prvotno je definirana zona interesa veličine 10×10 mm i na njenim rubovima zalijepljena su četiri spužvasta markera koja su praćena videoekstenzometrom. Nakon toga slijedilo je nanošenje rastera potrebnog za primjenu metode korelacije digitalne slike. Raster predstavljaju fino raspršene točkice kontrastne boje koju je potrebno nanijeti jer je postojeća površina uzorka jednolične bijele boje. U ovom slučaju je na svijetlu podlogu uzoraka airbrushom nanesen stohastički taman raster (slika 2.). Korištena je brzосуšiva boja, te su uzorci bili podvrgnuti sobnoj temperaturi svega nekoliko minuta pa se taj utjecaj na uzorke može zanemariti.

Debljine uzoraka izmjerene su nakon pripreme te su navedene u Tablici 1. Uzorak je postavljen na ispitni uređaj tako da dva glavna smjera vlakana odgovara smjeru opterećenja. Aksijalni smjer označen s A odnosi se na smjer uzduž žile (tj. paralelno sa smjerom protoka krvi) i transverzalni T (okomito na smjer protoka krvi). Tijekom ispitivanja uzorci su potopljeni u fiziološka otopinu puferiranu fosfatom (eng. *Phosphate Buffered Saline*, PBS) temperature oko 37°C koja odgovara temperaturi tijela čovjeka, te su tako simulirali normalni fiziološki uvjeti.



Sl. 2. Pripremljeni ispitni uzorak svinjske aorte

Tablica 1. Debljine uzoraka

UZORCI	AORTA 1	AORTA 2	AORTA 3
Debljina uzorka $t$ , mm	2,44	2,6	1,83

Eksperimenti su provedeni s kontrolom pomaka, a brzina ispitivanja je bila konstantna za sve uzorke i iznosila je 4 mm/min. Mehaničko ispitivanje podijeljeno je u četiri faze: *predkondicioniranje 1* (P1), *test 1* (T1), *predkondicioniranje 2* (P2) i *test 2* (T2). Faze predkondicioniranja podrazumijevaju uzastopno opterećivanje i rasterećivanje uzoraka kroz 5 ciklusa kako bi se vlakna tkiva pravilno usmjerila. Time se također osigurava da sva vlakna sudjeluju u prijenosu opterećenja [2,3]. U ovom istraživanju korišten je protokol kontroliranog vlačnog opterećenja u aksijalnom i transverzalnom smjeru u omjeru 1:1 (tj. biaksijalni režim opterećenja). To znači da se uzorak rastezao jednakim intenzitetom pomaka u oba smjera kroz svih 5 ciklusa. Nakon toga provedena je faza *Test 1 ili 2* koji odgovara jednom ciklusu prethodno narinutog predkondicioniranja.

Kako bi rezultati dobiveni na sva četiri uzorka bili usporedivi određeno je maksimalno dopušteno naprezanje za sve slučajeve. Naime za prvi dio ispitivanja (tj. *prekondicioniranje 1* i *test 1*) odabrano maksimalno opterećenje iznosilo je  $\sigma_{\max 1} = 0,050 \text{ N/mm}^2$ , a za drugi dio  $\sigma_{\max 2} = 0,125 \text{ N/mm}^2$ . Budući da su uzorci različitih debljina bilo je potrebno normalizirati granično opterećenje. Normalizacija je provedena tako da se maksimalno narinuto opterećenje pomnožilo s površinom koja iznosi  $A = lt$  tj.:

$$\sigma_{\max} = \frac{F_{\max}}{A}, \quad (1)$$

gdje je  $t$  debljina uzorka a  $l$  je veličina kvadratnog presjeka promatrane zone interesa ( $l \times l$ ). Iz jednadžbe (1) vidljivo je da normalizacija odgovara izrazu za *Cauchyvevo* naprezanje.

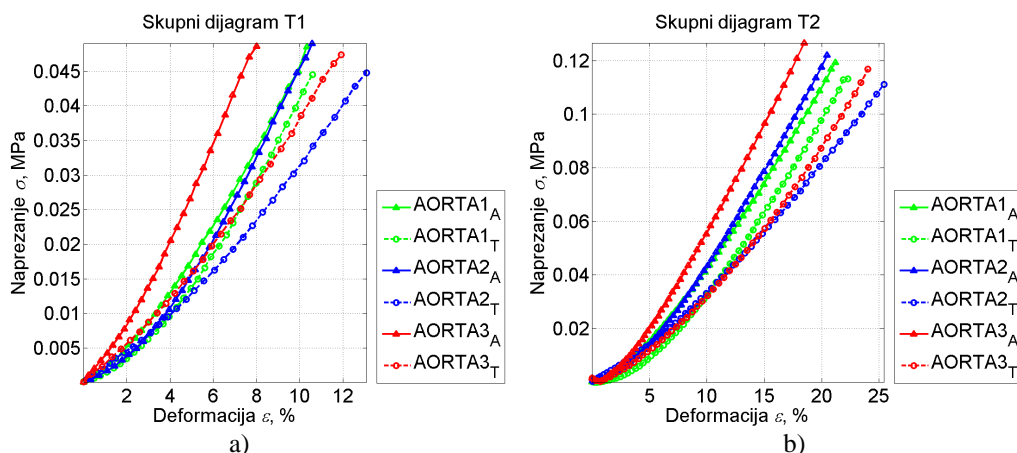
### 3 REZULTATI

Mjerenje pomaka i deformacija provedeno je videoekstenzometrom i metodom korelacije digitalne slike (DIC). Metode mjerenja cijelog polja pomaka dosada nije primijenjena u korištenom eksperimentalnom postavu te se pretpostavlja dobivanje pouzdanijih rezultata.

Stoga je veliki doprinos savladavanje ispitnih uvjeta (uzorak je uronjen u fiziološku tekućinu) koja unose dodatno povećanje standardne rezolucije pomaka i deformacija. Kao validacija rezultata dobivenih DIC mjernom tehnikom koristiti će se podaci dobiveni videoekstenzometrom. Također će se provjeriti koja metoda daje rezultate s manjom standardnom rezolucijom pomaka/deformacija. Primjena DIC metode omogućit će dobivanje cijelog polja pomaka i deformacija na površini uzoraka čime će se doprinijeti boljem razumijevanju mehaničkog ponašanja tkiva na narinjuto opterećenje. Za DIC analizu koristit će se regularizacijski RT3–DIC algoritam. Predloženi DIC algoritam je nova metoda koja još nije korištena u mehaničkoj analizi bioloških mekih tkiva. Prednost navedenog algoritma je u tome što filtrira sve fluktuacije koje nisu mehanički podatljive [4].

Kako bi se lakše usporedilo mehaničko ponašanje tkiva pojedinih uzoraka prikazan je odnos napreznja i deformacija za sva tri ispitna uzorka. Na Slici 3 prikazan je  $\sigma$ – $\epsilon$  dijagram opterećenja eksperimentalne faze *Test 1* i *Test 2*. Indeksi A i T uz nazive uzoraka predstavljaju aksijalni i transverzalni smjer opterećenja.

Bitno je primijetiti da sva tri uzorka u aksijalnom smjeru imaju veću krutost u odnosu na transverzalni smjer. To znači da je deformacija u transverzalnom smjeru veća. Također, vidljivo je da uzorak AORTA1 pokazuje najmanju razliku između aksijalnog i transverznog smjera. Najveća razlika je za uzorak AORTA3. Te razlike upućuju na anizotropnost tkiva. Odstupanja rezultata pokazuju da se anizotropnost pojavljuje u različitom stupnju. Razlog toga može biti u mjestu tkivu s kojeg je uzorak preuzet, debljini uzorka i sl.



Sl. 3. Ovisnost napreznja i deformacija izmjerenih RT3-aloritmom na tri uzorka svinjske aorte za: a) *Test 1* i b) *Test 2*

Uzorak AORTA3 rezultira najvećom krutosti u aksijalnom smjeru. Razlog navedenog odstupanja je debljina uzorka koja je 30% manja nego kod uzoraka

AORTA1 i AORTA2. Međutim, u transverzalnom smjeru za *Test 1* vrijednosti za uzorak AORTA3 dobro se poklapaju s ispitnim uzorkom AORTA1. Također važno je napomenuti da je razlika između aksijalnog i transverznog smjera jednaka za uzorke AORTA 1 i AORTA 3 pri fazama eksperimentalnog ispitivanja *Test 1* (Slika 3a) i *Test 2* (Slika 3b).

#### 4 ZAKLJUČAK

Rezultati dobiveni s dvije optičke metode (tj. DIC-om i videoekstenzometrom) međusobno odstupaju što je i za očekivati jer se radi o metodama s različitim standardnim mjernim rezolucijama. Budući DIC metoda ima manju mjernu nesigurnost (time je pouzdanija) u analizi rezultata korištene su vrijednosti deformacija dobivene tom metodom. Štoviše, najveći utjecaj na odstupanje prosječnih deformacija uzrokovano je različitim konceptima primijenjenih optičkih metoda. Videoekstenzometrom nisu uzeti u obzir lokalizacijski efekti uzrokovani prihvatom kojima je pričvršćen ispitni uzorak. Praćenjem samo dva markera gube se informacije koje opisuju ponašanje materijala uslijed narinutog opterećenja. Suprotno tome, DIC metoda pretpostavlja kontinuitet polja pomaka i time je fenomen lokalizacije uslijed nedovoljnog broja prihvata uzet u obzir.

Ravninsko dvoosno eksperimentalno ispitivanje na tri ispitna uzorka potvrđuje dosadašnje spoznaje o mehaničkim svojstvima krvnih žila. Iz prikazanih rezultata u ovom poglavlju može se zaključiti da je krutost ispitanog mekog tkiva (tj. svinjske aorte) veća u smjeru protoka krvi.

#### Literatura:

- [1] Eilaghi, A., Flanagan, J. G., Brodland, G. W., Ethier, C. R., Strain uniformity in biaxial specimens is highly sensitive to attachment details, *Journal of Biomechanical Engineering*, Vol. 131, No. 9, 2009.
- [2] Sommer, G., Eder, M., Kovacs, L., Pathak, H., Bonitz, L., Regitnig, P., Holzapfel, G.A., Mueller, C., Multiaxial mechanical properties and constitutive modeling of human adipose tissue: A basis for preoperative simulations in plastic and reconstructive surgery, *Acta Biomaterialia*, Vol. 9, No. 11, 2013, pp. 9036-9048.
- [3] Sommer, G., Schriebl, A.J., Andrä, M., Sacherer, M., Viertler, C., Wolinski, M., Holzapfel, G.A., Biomechanical properties and microstructure of human ventricular myocardium, *Acta Biomaterialia*, Vol. 24, 2015, pp. 172-192.
- [4] Tomičević, Z., Pamuković, F., Surjak, M., Kodvanj, J., Primjena regularizacije na korelaciju digitalne slike, *Peti susret Hrvatskog društva za mehaniku*, Terme Jezerčica, Donja Stubica, lipanj 2013, str. 201-206.

#### Autori:

**Zvonimir Tomičević**, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet strojarstva i brodogradnje, Zavod za tehničku mehaniku, Ivana Lučića 5, HR-10000 Zagreb, tel. 01/6168-533, e-mail: [zvonimir.tomicevic@fsb.hr](mailto:zvonimir.tomicevic@fsb.hr)

**Ivan Nemčić**, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet strojarstva i brodogradnje, Zavod za tehničku mehaniku, Ivana Lučića 5, 10000 Zagreb, e-mail: [ivan.nemcic90@gmail.com](mailto:ivan.nemcic90@gmail.com)

**Janoš Kodvanj**, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet strojarstva i brodogradnje, Zavod za tehničku mehaniku, Ivana Lučića 5, HR-10000 Zagreb, tel. 01/6168-425, e-mail: [janos.kodvanj@fsb.hr](mailto:janos.kodvanj@fsb.hr)