

Diss. ETH No. 22791

Multiscale Mechanical Behavior of Fetal Membranes

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH
(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

ARABELLA DIANA MARIA MAURI

MSc ETH ME
born on 11.04.1986
citizen of Quinto (TI)

accepted on the recommendation of
Prof. Dr. Edoardo Mazza, examiner
Prof. Dr. Catalin R. Picu, co-examiner

2015

Abstract

The fetal membrane is a thin and strong membrane which surrounds the fetus during the entire gestation period to protect and preserve its environment. In 1% to 2% of all pregnancies the membrane suddenly ruptures prior to the 37th week of gestation and without contractions, resulting in a preterm birth with high risks of morbidity and mortality for the newborn. Mechanisms leading to the timely rupture of the membrane have not yet been completely understood and are linked to the local deformation and rupture behavior of the membrane. The present work focuses on the mechanical characterization of the fetal membrane at different length scales and on the formulation of corresponding models to investigate clinically relevant loading conditions.

A comprehensive set of experimental investigations at macroscopic (1-10 mm) and microscopic (10-100 μm) length scales was generated during this thesis using novel experimental setups and protocols. The collagen microstructure of fresh, hydrated and unfixed membranes was visualized through second harmonic generation and multiphoton microscopy. These techniques enable the three-dimensional visualization during mechanical tests of the spatial and hierarchical arrangement of collagen fibers and of the position of cell nuclei. Relevant microstructural parameters such as thickness, collagen orientation and distribution were quantified from microscopy images for different loading conditions and helped rationalizing the structural response of the material. Repeated mechanical loading representative of early contractions was shown to affect the structural integrity of the collagenous network in the interface layer. Further investigations on the amnion emphasize the large volume reduction upon uniaxial and biaxial elongation and show that there is no long-term volume or microstructural changes during relaxation tests. Additionally, in-plane and out-of-plane dissipation mechanisms were found to be associated with fiber rearrangement and water in- and out-flow, thus showing the transversely isotropic nature of amnion in both its elastic and dissipative components.

Two fundamentally different modeling approaches were proposed to rationalize the complex deformation behavior of the human amnion and were validated with the experimental data based on both the macroscopic and microscopic deformation behavior. First, a continuum model formulation based on the framework developed by Rubin and Bodner [213] was proposed to capture the compressible behavior of the amnion and the two observed relaxation mechanisms: a volume reduction due to water outflow in the short-term response (up to ca. 20 s); and a long-term response related to intrinsic fiber dissipation and

stable macroscopic kinematics. A new approach to determine model parameters enabled including the inter- and intra-patient tissue variability in the model with a single parameter. The model well captures the complex time-dependent response of the amnion and can be used to address open medical questions with corresponding numerical simulations.

Second, a discrete network model was developed to represent the amnion kinematics at the macroscopic and microscopic length scales. This model has a rapid convergence, which allows simulating the entire domain with dimensions and boundary conditions representative of the experimental investigations. Representative parameters for the human amnion were identified using data from uniaxial experiments and the model well predicted the equibiaxial response. These model parameters are physically motivated and their effect on the tension-stretch and in-plane kinematic responses was analyzed in detail. The clinically relevant problem of a circular hole under global equibiaxial tension was addressed and revealed a large kinematic rearrangement at the free boundaries, leading to compaction and strong alignment of the network in the near field of the defect. This mechanism provides higher toughness to the tissue and its impairment might lead to a more brittle behavior and thus to rupture.

Riassunto

La membrana fetale è un tessuto molto sottile e robusto, che circonda il feto durante tutta la gravidanza, proteggendolo e preservandone l'ambiente. Nel 1-2% di tutti i parti, la membrana si rompe improvvisamente e senza la presenza di contrazioni prima del compimento della trentasettesima settimana di gravidanza, causando in un parto prematuro con elevati rischi di mortalità e di complicazioni. I meccanismi reponsabili della rottura provvidenziale della membrana non sono ancora stati capiti completamente e sono collegati alla risposta di deformazione locale e di rottura della membrana. Questo lavoro si concentra sulla caratterizzazione multi-scala della membrana fetale e sulla formulazione di modelli corrispondenti, i quali permettono di indagare e razionalizzare condizioni di carico cliniche.

Un set completo di investigazioni sperimentali a lunghezze di scala macroscopica (1-10 mm) e microscopica (10-100 μm) è stato generato durante questa tesi tramite attrezzature e protocolli sviluppati appositamente. La microstruttura del collagene è stata osservata in condizioni fisiologiche (ovvero tessuto fresco, idratato e non fissato chimicamente) tramite la generazione della seconda armonica in un microscopio a multifotoni. Questa tecnica permette una visualizzazione in tre dimensioni della disposizione spaziale delle fibre di collagene e della posizione dei nuclei cellulari mentre la membrana è sottoposta a carichi meccanici. Importanti parametri strutturali, come ad esempio lo spessore, l'orientamento e l'architettura del collagene, sono stati quantificati dalle immagini del microscopio per diverse tipologie di tests. Carichi ciclici rappresentanti le contrazioni iniziali sulla membrana hanno dimostrato di influenzare l'integrità strutturale della rete di collagene dell'interfaccia tra amnios e corion. Ulteriori indagini sull'amnios sottolineano la riduzione significativa del suo volume sotto tensione uniassiale e biassiale, mentre nessun cambiamento di volume o dell'arrangiamento della microstruttura era visibile a lungo termine durante le prove di rilassamento. Inoltre, i meccanismi di dissipazione nel piano e fuori dal piano, sono stati associati rispettivamente con il riarrangiamento delle fibre ed il flusso d'acqua, quindi mostrando la natura trasversalmente isotropa di entrambe le componenti elastiche e dissipative dell'amnios.

Due approci di modellizzazione fondamentalmente diversi tra loro sono stati proposti per rappresentare la risposta complessa di deformazione del amnios umano e sono stati validati con i dati sperimentali acquisiti sul suo comportamento macroscopico e microscopico di deformazione. Per primo una formulazione del modello basata su quella sviluppata

da Rubin e Bodner [213] è stata proposta per catturare il comportamento compressibile dell'ammios e i due meccanismi di rilassamento osservati negli esperimenti: riduzione del volume a causa della fuoriuscita dell'acqua nella risposta a breve termine (fino a circa 20 s); e dissipazione intrinseca delle fibre associata a cinematiche macroscopiche stabili nella risposta a lungo termine. Inoltre, un nuovo approccio ai parametri del modello ha dato la possibilità di includere la variabilità inter- ed intra-paziente nel modello attraverso un solo parametro. Questo modello rappresenta accuratamente il comportamento complesso e viscoelastico dell'ammios e potrà essere usato per indagare con simulazioni numeriche problemi medici ancora irrisolti.

In seguito, un modello discreto a rete è stato proposto per rappresentare la cinematica dell'ammios su scale macroscopiche e microscopiche. Questo modello ha una convergenza rapida, permettendo la simulazione di domini e condizioni al contorno rappresentative dei test sperimentali. Un set di parametri rappresentanti l'ammios umano è stato identificato per condizioni uniassiali ed è stato in grado di predire la risposta sotto carico biassiale. I parametri del modello hanno una motivazione fisica e il loro effetto sul comportamento globale del modello è stato studiato e discusso in dettaglio. La situazione critica di un foro circolare nel tessuto sotto tensione equibiassiale è stata analizzata e ha mostrato come la riorganizzazione della microstruttura al bordo del foro addensa ed allinea il network in prossimità del foro. Questo meccanismo aumenta la resistenza del materiale e, se prevenuto, può portare ad un infragilimento del tessuto e pertanto alla sua rottura.