

paper

Robert

9 de abril de 2024

1 Introdução

O colágeno tipo I é uma proteína da família dos colágenos, sendo sua classe do tipo fibrilar, ou seja, que é capaz de formar fibrilas [1]. Essa proteína está presente em praticamente toda a matriz extracelular humana (ECM), que é a base estrutural para as células e tecidos. Além disso, o colágeno tipo I pode ser encontrado na pele [2], tendões [3], tecido ósseo [4, 5], cartilagem [6] e até mesmo na córnea [7]. A presença dessa proteína nas diversas estruturas do corpo garante elasticidade e resistência a tração, bem como sustentação e manutenção dos tecidos [1, 8].

As moléculas de colágeno são o primeiro nível de uma estrutura hierárquica mais complexa. Essas proteínas apresentam tamanhos típicos de 300 nm de comprimento e 1,5 nm de diâmetro, com sua forma semelhante a bastões [9, 1]. Naturalmente, essas moléculas podem se auto-organizar para formar fibrilas alongadas com comprimentos típicos em torno de $500\mu m$ e diâmetro de $500nm$, sendo compostas por cerca de 10^7 moléculas [10, 11, 12]. A forma de agregação dessas proteínas gera espaçamentos no interior dessas estruturas, esse intervalos possuem um tamanho típico de $67nm$ [13]. As fibrilas são blocos usados para compor as fibras de colágeno. Elas possuem morfologias variados dependendo de qual tecido elas irão compor [8], contudo, seu diâmetro típico é em torno de $1 - 20\mu m$. Essa evolução de escala do colágeno tipo I garante capacidade as estruturas de transmitir e armazenar energia decorrentes de deformações ou movimentos dos tecidos compostos por essas proteínas [14].

A complexidade hierárquica das fibras de colágeno torna um desafio estudar sua estrutura e funções. A escala nanométrica das fibrilas e das próprias moléculas impõe dificuldades na investigação de suas propriedades mecânicas, exigindo equipamentos de altíssima precisão para tais análises [15]. Entre as técnicas empregadas, a Microscopia de Força Atômica (AFM) destaca-se por sua aplicabilidade frequente no estudo detalhado das fibrilas de colágeno, com um foco particular na análise de sua estrutura [16, 17]. Pioneiramente, Van der Rijt e colaboradores [18] utilizaram a AFM para avaliar as propriedades mecânicas de fibrilas isoladas de tendões, elucidando seu comportamento sob tensão até o ponto de falha. Svensson et al desenvolveu uma técnica usando um atuador piezoelétrico e cantiléver microscópico para medir a distensão e a força aplicada nas fibrilas [19], respectivamente. A técnica possui alta precisão nos testes de tensão até

a fratura, mas possui um maior erro para forças baixas, comparado com a técnica de AFM [20].

A literatura evidencia uma diversidade de modelos computacionais dedicados ao estudo das fibrilas de colágeno e suas características mecânicas. Notavelmente, Buehler e seus colaboradores [21, 22, 23] introduziram uma metodologia baseada em granulação grossa, onde se trata as moléculas, de grande tamanho, como partículas para fins de otimização computacional, e dinâmica molecular, que elucida profundamente a arquitetura e o comportamento das fibrilas sob tensões ou em processos de degradação, e examina o efeito de componentes minerais incorporados [24, 25, 26]. Alternativamente, uma abordagem fundamentada em primeiros princípios emprega osciladores harmônicos, analogamente a molas, para simular a natureza elástica das fibrilas. Este modelo, aplicado em uma configuração bidimensional, foi explorado por Araújo e equipe para investigar as alterações nas propriedades mecânicas de tecidos sob influência de agentes degradantes [27]. Tal estratégia permite a aplicação de modelos de degradação na escala microscópica no nível de fibras, na tentativa de compreender efeitos da degradação de tecidos em uma escala superior, quando estes são submetidos a tensões e atividade enzimática.

Em nosso trabalho, adotamos um modelo de Agregação Limitada por Difusão (*Diffusion Limited Aggregation - DLA*) para simular o processo de formação de agregados com morfologias análogas às fibrilas de colágeno [28]. Após a formação das fibras, conduzimos uma análise aprofundada de sua resistência mecânica sob a aplicação de tensões externas, empregando para tal um modelo mecânico probabilístico, conforme delineado no trabalho de Parkinson et al [29]. Essa investigação foi fundamentada em parâmetros cruciais extraídos do modelo construtivo adotado. Adicionalmente, empreendemos um estudo detalhado das propriedades geométricas das fibras, focando especificamente na densidade e na configuração espacial destas. Identificamos a ocorrência de avalanches durante o processo de ruptura, caracterizadas por leis de escala precisas. Acreditamos que essa abordagem integrada, que combina simulação da formação com análise mecânica, possa oferecer perspectivas valiosas de como as características estruturais intrínsecas das fibras contribuem para a sua funcionalidade e resistência global, fornecendo insights valiosos para aplicações práticas e teóricas no campo da engenharia de materiais e ciência dos biomateriais.

2 Metodologia

No presente estudo, desenvolvemos a investigação em duas etapas principais: na primeira, usamos um modelo para a formação de fibrilas de colágeno para estudar sua estrutura; na segunda, analisamos as propriedades mecânicas desses agregados.

2.1 Estrutura das fibrilas

Utilizamos um modelo baseado em Agregação Limitada por Difusão (*Diffusion Limited Aggregation - DLA*) [30] em três dimensões para simular a formação de fibrilas de colágeno. Representamos as moléculas de colágeno como paralelepípedos regulares de dimensões

$1 \times 18 \times 1$, sendo o comprimento na direção y . Empregando uma rede regular cúbica, definimos o centro como a origem e fixamos a primeira molécula do agregado, denominada *seed*. Em seguida, novas moléculas são lançadas a partir de uma casca esférica de raio R e se difundem até que ocorra uma das seguintes situações: serem capturadas pelo agregado ou atingirem uma distância $2R$ em relação ao centro, caso em que a simulação é reiniciada. Esse processo está representado na Figura 1.

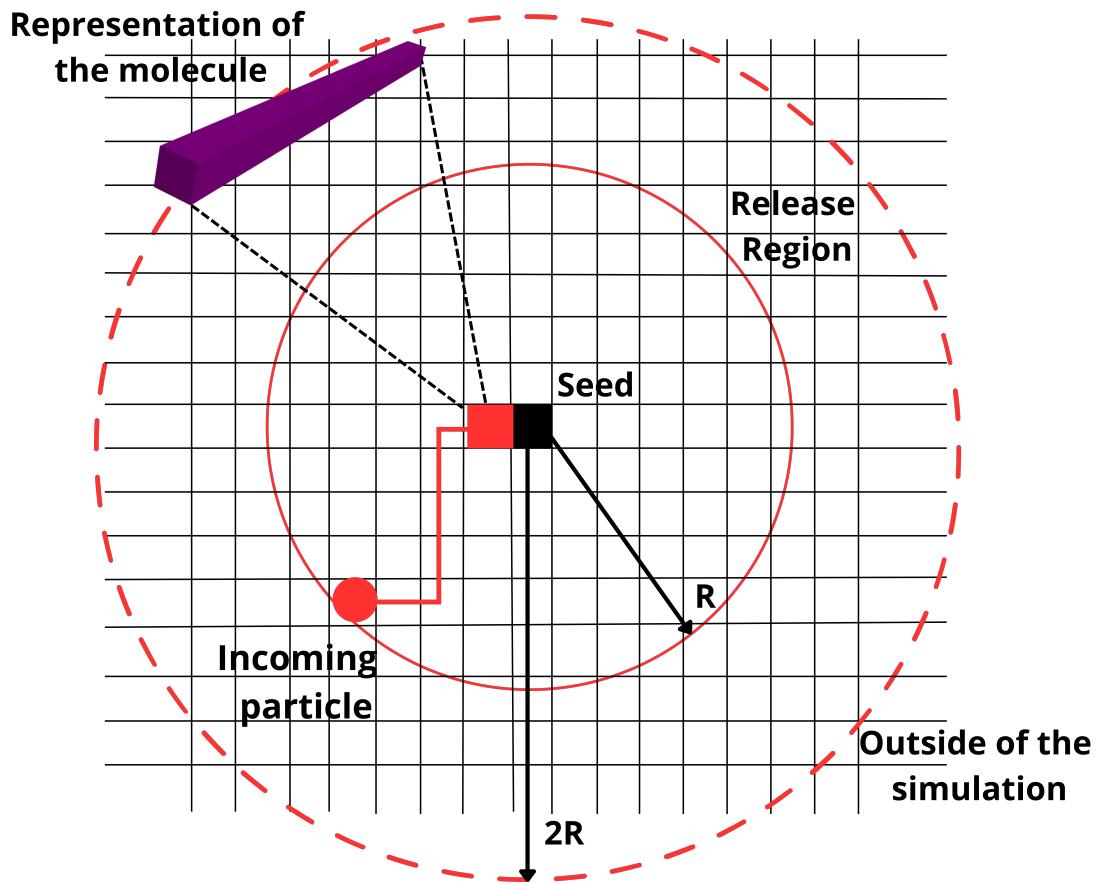


Figura 1: Consideramos as moléculas de colágeno como paralelepípedos regulares de dimensões $1 \times 18 \times 1$. Estas moléculas são lançadas a partir de uma distância R da *seed*, que representa a primeira molécula do processo de agregação. As moléculas podem se difundir no interior de uma casca esférica até serem capturadas pelo agregado ou atingirem uma distância $2R$ da *seed*, fora da zona de interesse, o que leva à reinicialização da simulação.

O processo de difusão das moléculas é modelado por um *random walk* tridimensional, permitindo movimentos para os primeiros e segundos vizinhos no plano X-Z, enquanto no eixo Y, o movimento é restrito para frente e para trás. Na realidade, as moléculas

de colágeno agregam-se lateralmente e em posições escalonadas, com um comprimento característico $D = 67$ nm. Assim, uma molécula é capturada pelo agregado somente em posições específicas, que são múltiplos de $D = 4$, em relação a uma molécula já pertencente ao agregado [28]. Levando em conta o tamanho representativo de 18 da nossa modelagem, identificamos cinco configurações possíveis para a captura de uma molécula. A Figura 2 ilustra cada uma dessas posições possíveis, conforme descrito pela regra de agregação específica.

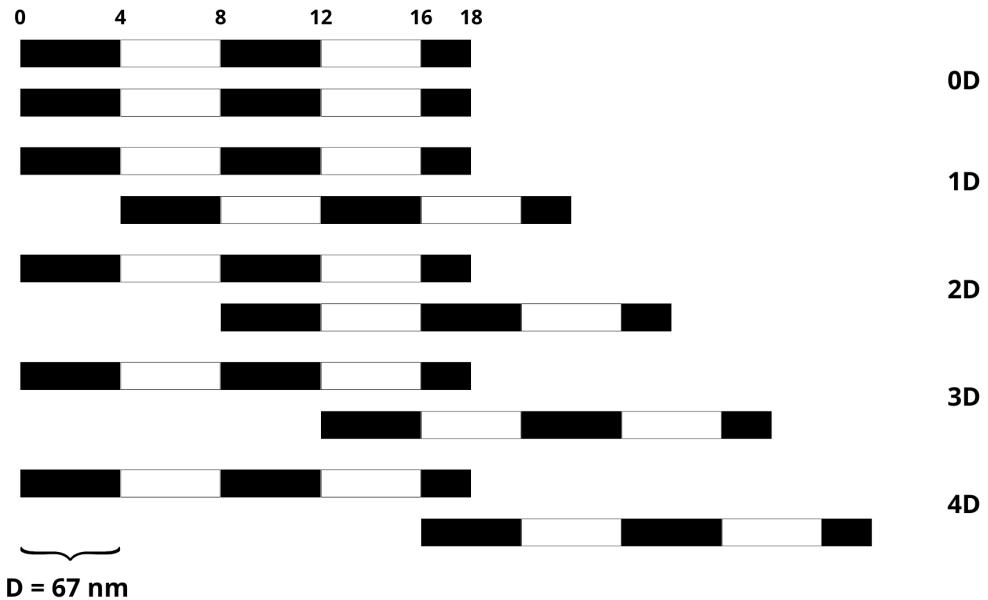


Figura 2: Na imagem, temos uma visualização bidimensional dos objetos que representam as moléculas de colágeno na nossa simulação. Esse objetos possuem um comprimento 18 unidades de rede e o espaçamento entre quatro unidades, representado por uma cor continua, equivale ao comprimento típico de $D = 67$ nm observado em moléculas reais de colágeno. Novas capturas ocorrem somente se uma nova molécula estiver em contato com uma pertencente ao agregado e em uma das cinco configurações mostradas acima.

A formação de fibrilas reais é impulsionada por forças hidrofóbicas resultantes das interações entre as moléculas, as quais buscam minimizar sua superfície exposta [31, 28]. Implementamos um algoritmo de difusão lateral na superfície, permitindo que uma molécula recém-agregada explore a superfície, mantendo sua coordenada y fixa, a fim de localizar uma posição que minimize sua superfície exposta [32]. Em situações onde mais de uma posição minimiza a superfície, a molécula permanece na primeira posição encontrada. Este mecanismo é regulado pelo parâmetro T_s , que determina o número de tentativas disponíveis para a molécula explorar a superfície do agregado [28].

Utilizando esse algoritmo e levando em consideração que as fibrilas variam suas características estatisticamente, optamos por gerar 50 fibrilas, cada uma contendo 30.000

bastões, para diferentes valores de T_s , a fim de investigar o efeito desse parâmetro na morfologia das fibrilas.

2.2 Propriedades Mecânicas

Para a análise das propriedades mecânicas das fibrilas, adotamos um modelo mecânico probabilístico[29], diferente da abordagem utilizada por Saitoh et al [33] onde as fibras são representadas por meio de um conjuntos de molas acopladas.

Primeiramente, realizamos o corte de um tronco de dimensão $17 \times 201 \times 17$ em uma fibrila. Após este corte, procedemos com uma limpeza para assegurar a ausência de moléculas desconectadas devido ao corte e para determinar o esqueleto ativo. Consideramos que o tronco é composto por 201 camadas, e cada molécula, dividida em parcelas de tamanho unitário, pode estender-se por mais de uma camada. Iniciamos pela primeira camada do tronco, marcando como ativas todas as moléculas que possuem ao menos um segmento nesta camada. Em seguida, avançamos para as camadas superiores e, para cada segmento ativo em uma dada camada, verificamos a existência de vizinhos ativos. Caso existam, a molécula correspondente é marcada como ativa. Este procedimento é repetido até alcançarmos a última camada. Com o conjunto de moléculas ativas identificado, as inativas são descartadas e o processo é então repetido, agora iniciando da camada 201 e procedendo em direção à primeira camada, conforme ilustrado na Figura 3.

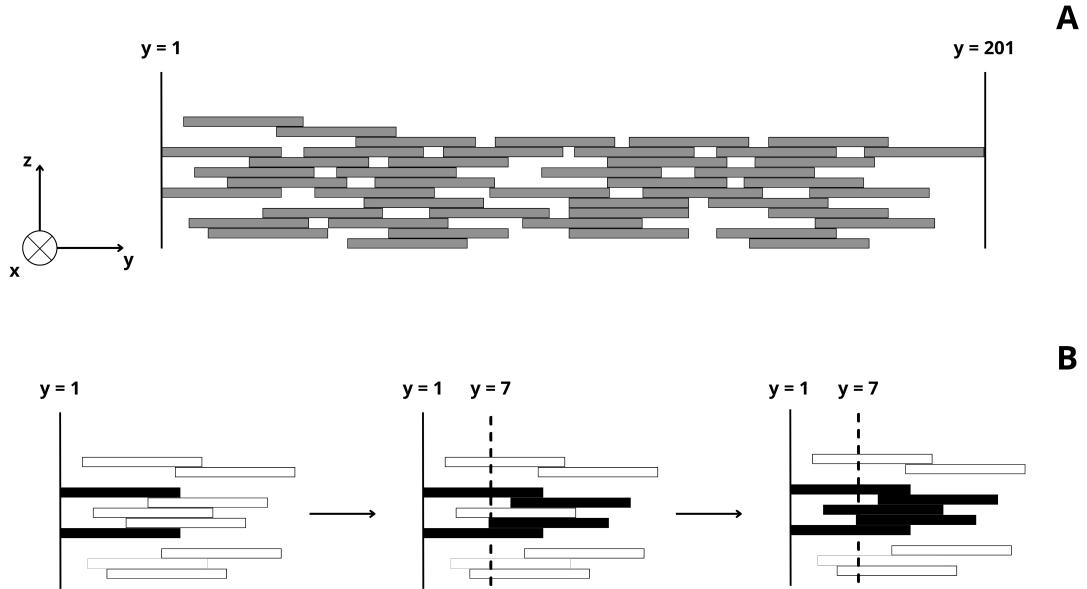


Figura 3: Em (A) mostramos a seção selecionada para que possamos identificar o esqueleto ativo, parte da fibrila que efetivamente sofre a força aplicada. Em (B), da esquerda para direita ilustramos os passos necessários até identificação do agregado que definimos como esqueleto ativo. À medida que o processo evolui destacamos em preto a parte ativa da fibra que efetivamente sofre a força externa aplicada. O processo ocorre até atingirmos a extremidade oposta da fibra.

Quando uma força externa é aplicada as extremidades da fibra, cada molécula que compõe a fibra sofre uma parcela dessa força total, proporcional ao número de partículas presentes em sua respectiva camada. Consequentemente, na i -ésima camada contendo M partículas, a equipartição da força sentida por cada molécula é aproximada por:

$$\sigma_i \approx \frac{F}{M_i}, \quad (1)$$

onde σ_i representa a tensão sentida por cada partícula na i -ésima camada e F é a força total aplicada ao agregado. A força sentida por uma molécula individual no agregado é, portanto, a média dos σ_i correspondentes às camadas em que a molécula está presente.

Quando temos o rompimento de uma ligação interna na estrutura essa quebra aumenta a probabilidade de outras rupturas, levando a uma cascata de falhas na fibrila até acontecer um rompimento global. Esse processo de avalanche é bastante recorrente na natureza, sendo observado em pilhas de areia [34], terremotos [35], redes de neurônios [36] e até mesmo doenças cardiovasculares [37].

Consideramos a probabilidade de ruptura para a molécula como um todo, ao invés de para cada partícula individual que a compõe. Adicionalmente, assumimos que o número de ligações responsáveis por manter a molécula fixada no esqueleto ativo é igual

ao somatório do número de partículas vizinhas em cada camada onde a molécula está presente.

Com base nesses pressupostos, definimos nossa probabilidade de ruptura pela equação:

$$P_R = \left(\frac{\langle \sigma_i \rangle}{N\sigma_s} \right)^m, \quad (2)$$

onde N representa o número de ligações de uma dada molécula, σ_s denota a tensão das ligações entre as moléculas, e m é um fator que modula a dissipação de energia [29, 38]. Por questões de simplicidade, adotamos $m = 2$ em todas as nossas simulações.

O processo de ruptura é simulado com aplicação de uma força ao esqueleto ativo, em uma tentativa de reproduzir os comportamentos observados em experimentos de distensão. Inicialmente, calculamos a probabilidade de remoção P_R para cada molécula. Em seguida, realizamos um sorteio de um valor entre 0 e 1 para cada molécula; se o valor sorteado for menor ou igual a P_R , a molécula é removida. Este processo é repetido para todas as moléculas do agregado. Após a primeira varredura, recalculamos P_R para as moléculas remanescentes sob a mesma força aplicada e continuamos o processo até que não ocorram mais quebras. A força é então incrementada em meia unidade, e o procedimento é repetido. Consideramos que a fibrila se rompe quando ao menos uma camada fica vazia, indicando que o esqueleto ativo não mais forma permitindo que a força seja transmitida para a vizinhança próxima na fibra. Esse procedimento está esquematizado na Figura 4. Monitoramos o processo de remoção das moléculas, registrando a quantidade de moléculas removidas para uma dada força e a tensão máxima suportada antes da ruptura.

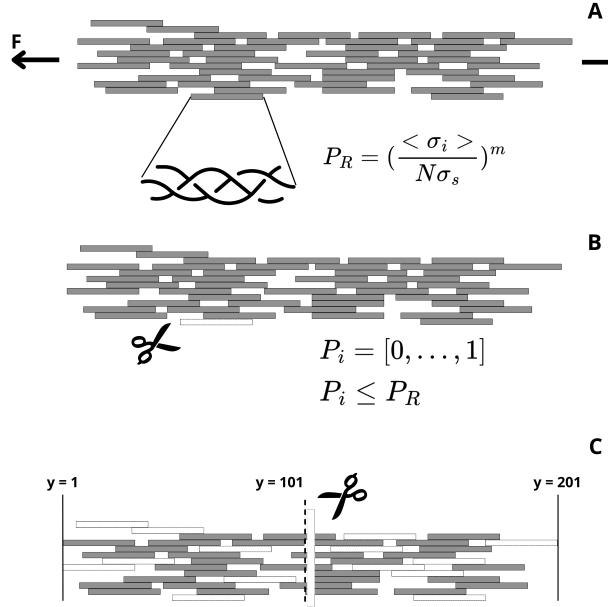


Figura 4: Na figura, em (A) representamos a fibra sujeita a uma força F aplicada em suas extremidades. Cada pedaço (bloco) que compõe a fibra representa um entrelaçado de moléculas que podem se romper a depender da probabilidade P_R [Usar Eq.(2)]. Em (B) o processo de ruptura é testado estatisticamente (número entre zero e um) e a depender do teste, um pedaço da fibra se rompe. Em (C), após vários testes estatísticos a fibra se rompe por completo na condição que há uma ruptura de uma seção transversal da fibra.

Consideramos a quantidade de moléculas rompidas como um indicador da deformação da nossa fibrila. Além disso, determinamos a tensão em relação às forças calculadas para aproximar a simulação a uma fibrila real. A força necessária para romper uma ligação é considerada constante, e utilizamos o diâmetro médio das fibrilas para calcular a tensão.

Para cada valor de T_s , selecionamos 10 fibrilas para submeter ao procedimento de simulação. Para cada fibrila, realizamos mil experimentos. Registrarmos, para cada nível de força aplicada, o número de moléculas removidas do esqueleto e quantas permaneceram.

Conhecendo como ocorreu o processo de ruptura, nós analisamos os dados a fim de verificar a ocorrência de avalanches. Para cada simulação de ruptura, nós contamos quantas moléculas foram removidas ao todo para cada valor único de força. Com isso, consideramos os tamanhos de avalanches, s , como sendo a quantidade de moléculas removidas ao todo para uma força. Para cada simulação de mesmo parâmetro T_s , nós tomamos essas medidas e agrupamos. Nos determinamos a probabilidade das avalanches e verificamos se a distribuição obedece a uma lei de potência da forma [39]:

$$P(s) \approx s^{-\gamma}, \quad (3)$$

onde s é o tamanho das quebras de moléculas, $P(s)$ a probabilidade e γ o expoente característico.

2.3 Medidas de fractalidade e Tensão sobre as fibrilas

Para realizar a medida da fractalidade, utilizamos o tronco cortado para o teste de tensão antes da simulação ser realizada. Nos realizamos uma série de cortes transversais na fibrila, indo de -90 a 90 com 18 unidades de distância. Nessas seções, nos utilizamos a relação massa-raio para calcular a dimensão fractal das fibrilas [40]:

$$m \approx F_D \times R, \quad (4)$$

onde m é a quantidade de partículas dentro de círculo de raio R e F_D a dimensão fractal. Nós consideramos o centro de massa da seção como o centro do disco de raio R . A dimensão fractal de uma fibrila foi calculada como a média da dimensão sobre as seções. A dimensão fractal média de uma fibrila para dado T_s foi calculada pela média da dimensão fractal sobre 50 fibrilas de mesmo parâmetro.

Desse algoritmo, nós retiramos o raio da seção transversal como sendo o R de disco que continha todo o agregado da seção. O raio médio de uma fibrila foi calculado como a média sobre o raio de cada seção para uma mesma fibrila. O raio médio de uma fibrila para dado T_s foi calculado pela média sobre 50 fibrilas de mesmo parâmetro.

Como nossa fibrila, no plano X-Z, é um quadrado de lado unitário, nós consideramos que esse valor é equivalente ao diâmetro médio das fibrilas reais, 500nm [11, 12], desse modo, nos calculamos o raio médio das fibrilas em uma escala real.

No processo de ruptura, como ele ocorre probabilisticamente, temos que a uma variação no valor de ruptura das fibrilas e, portanto, no tamanho dos dados, dificultando o cálculo médio. Dessa forma, nós optamos pela seguinte abordagem: calculamos a tensão suportada média para cada fibrila para as mil simulações. Em seguida, nós consideramos apenas os dados das simulações que foram até o valor médio. Com isso, nos determinamos a deformação média das fibrilas.

Para aproximar a simulação de experimentos reais, nós consideramos que cada unidade de força usada para romper as fibrilas é equivalente a $F_c = 0.5nN$ [41], o valor calculado para ligações cruzadas em fibrilas reais. Com isso, nos determinamos a tensão suportada pelas fibrilas como a razão da força pela área da seção transversal:

$$\sigma = \frac{F \times F_c}{\pi R^2}, \quad (5)$$

onde F é força que calculamos, F_c o fator de conversão para a escala real e R o raio médio que determinamos para as fibrilas.

3 Resultados

3.1 Morfologia das fibrilas

Os agregados gerados pelo modelo apresentam uma morfologia fibrilar, com características relevantes quanto a sua forma sendo determinadas pelo parâmetro T_s . Podemos observar, na Figura 5, a estrutura desses agregados para os valores de $T_s = 2$, baixa difusão, e $T_s = 10000$, alta difusão lateral sobre a superfície. As fibrilas com menor

T_s apresentam uma forma menos densa, enquanto para valores mais altos, observamos uma forma mais compacta e regular. A coloração indica o quanto antiga uma molécula pertence ao agregado, indo do azul escuro, mais antigas, para o amarelo, mais recentes. Nos agregados mais compactos, temos dificuldade em observar moléculas mais antigas visto que essas estão localizadas no interior da estrutura. Para fibrilas menos compactas fica mais fácil identificar as que pertencem ao agregado por mais tempo. Além disso, na visão lateral, observamos o comportamento alongado e com pontas afinadas, típico de fibrilas reais.

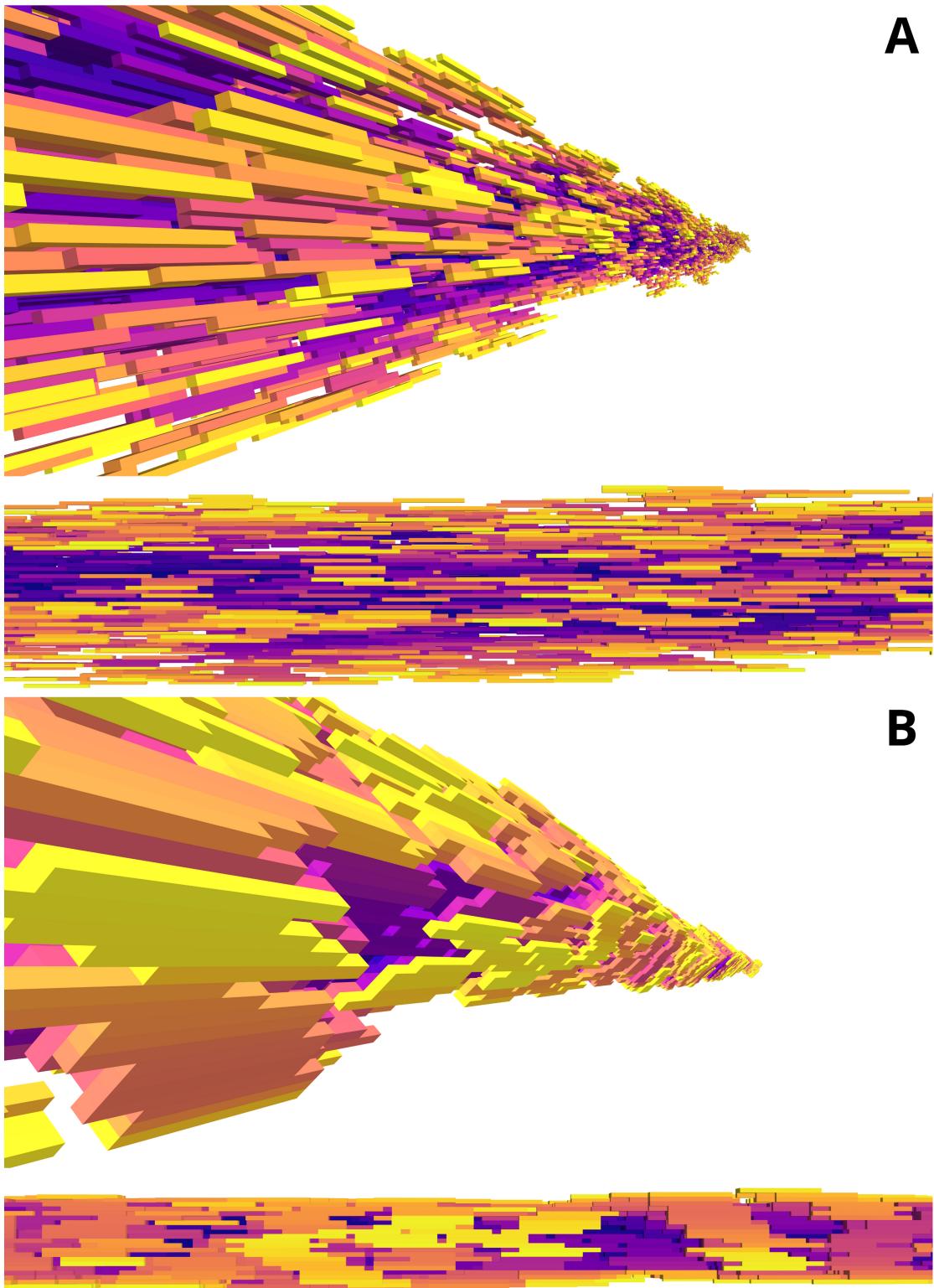


Figura 5: Representação das fibrilas geradas com o algoritmo de DLA contendo 30.000 moléculas. Em (A) e (B) destaque a visão transversal enquanto abaixo uma visão lateral da região central das fibrilas realçando a maior compactação das fibrilas. As cores indicam o tempo de pertencimento de cada bloco ao agregado. Quanto mais próximo do azul mais antigo esse bloco pertence ao agregado, enquanto uma tendência para o amarelo indica um pertencimento recente ao agregado. Em (A) temos uma fibrila gerada com $T_s = 2$, indicando baixa difusão, enquanto em (B) temos $T_s = 10000$, representando efeito de alta difusão.

O comprimento, o diâmetro e a densidade(ρ) da região central das fibrilas são características influenciadas pelo parâmetro T_s . Na Tabela 1, podemos observar como essas dimensões se alteram, em média, com o aumento desse parâmetro. Calculamos a densidade considerando o espaço ocupado pelas moléculas dentro de uma caixa que continha o tronco, o comportamento desse parâmetro e do comprimento tendem a aumentar com o incremento de T_s , enquanto o diâmetro tende a diminuir. Uma propriedade comum a essas medidas é que elas exibem um comportamento de estabilização à medida que nos aproximamos de $T_s = 512$; a partir desse ponto, elas oscilam em torno de um valor médio.

Tabela 1: Valores médios dos comprimentos, diâmetros e densidade de fibrilas geradas para diferentes valores de T_s .

T_s	Length(u.m)	Ray(u.m)	$\rho(\%)$
2	3668.36	32.40	0.17
8	3695.16	28.68	0.25
16	3764.27	24.63	0.34
32	3808.68	21.67	0.46
64	3891.56	17.6	0.57
128	3928.6	16.06	0.62
512	3913.24	14.07	0.66
1024	3912.52	14.14	0.65
4096	3892.28	14.06	0.66
8192	3892.52	14.16	0.66
10000	3917.16	13.94	0.65
Limit Upper	3905.54	14.08	0.65

Outra característica desses agregados é a relação linear entre a massa e a distância até as pontas. Na Figura 6, observamos que, independentemente do valor de T_s , todos os agregados exibem esse comportamento. Tal característica é recorrentemente observada tanto em fibrilas reais quanto nas simuladas com este modelo [28, 31]. Analisamos o comportamento de crescimento e decrescimento da massa e observamos que os coeficientes são praticamente os mesmos, indicando uma simetria na forma para cada fibrila com T_s específico. Na Tabela ??, temos as regressões para os diversos valores de T_s , bem como para os comportamentos de crescimento e decrescimento e o R^2 para cada ajuste linear.

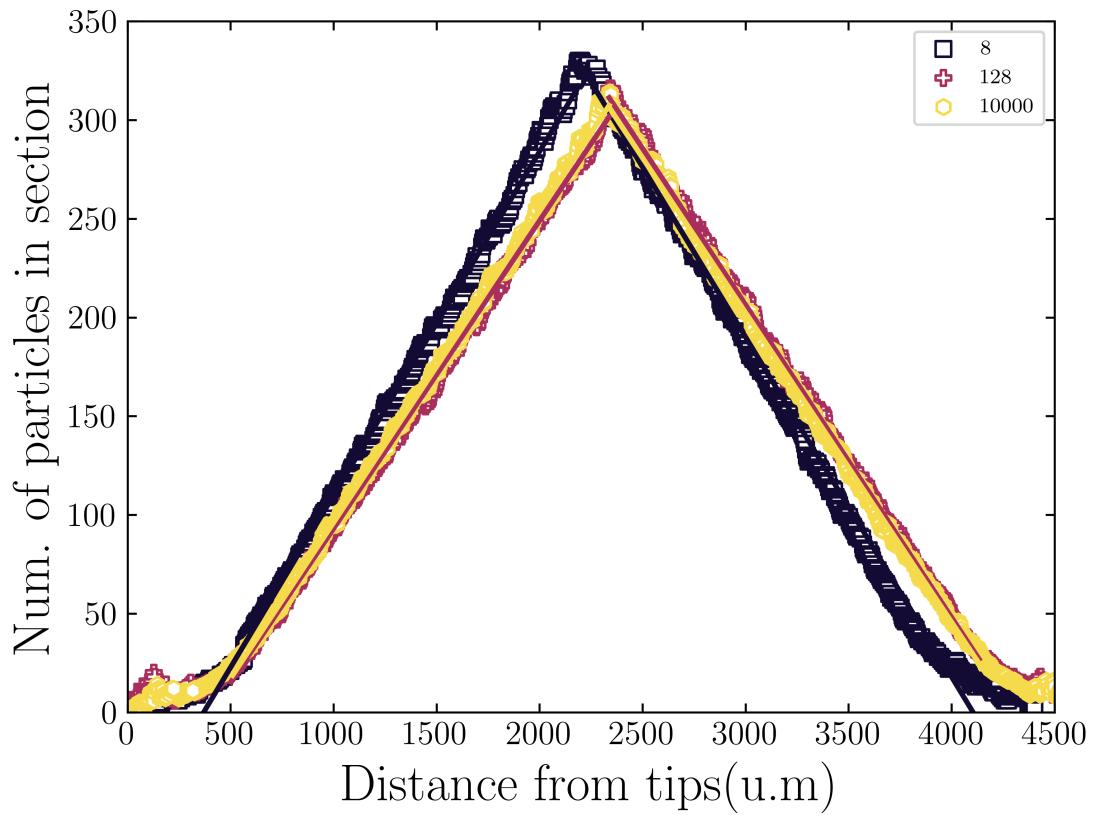


Figura 6: A figura mostra a quantidade de partículas por seção transversal das fibrilas geradas em função da distância desta seção até a sua extremidade. Partindo de uma ponta, a massa cresce linearmente até bem próximo da região central da fibrila. À medida que nos afastamos dessa região, a massa decai linearmente. Os símbolos correspondem aos valores de $T_S = 8, 128, 10000$. Fica evidente que o valor escolhido para T_S não tem efeito sobre esse efeito.

Tabela 2: Insira o título da tabela aqui

T_s	$A + Bx$ Left	R^2	$A + Bx$ Right	R^2
2	$-48.615 + 0.179x$	0.999	$713.46 - 0.182x$	0.999
8	$-64.41 + 0.174x$	0.999	$706.46 - 0.172x$	0.997
16	$-41.42 + 0.175x$	0.999	$674 - 0.17x$	0.999
32	$-57.08 + 0.173x$	0.999	$686.21 - 0.169x$	0.999
64	$-59.12 + 0.162x$	0.999	$675.93 - 0.16x$	0.999
128	$-62.913 + 0.156x$	0.999	$681.53 - 0.159x$	0.999
512	$-65.124 + 0.161x$	0.999	$686.25 - 0.161x$	0.999
1024	$-61.04 + 0.161x$	0.999	$680.18 - 0.161x$	0.999
4096	$-75.367 + 0.164x$	0.999	$686.55 - 0.16x$	0.999
8192	$-59.066 + 0.161x$	0.999	$676.11 - 0.161x$	0.999
10000	$-61.868 + 0.158x$	0.999	$672.66 - 0.157x$	0.999

Com o objetivo de obter um entendimento mais preciso acerca do efeito do parâmetro T_s sobre a morfologia das fibrilas geradas analisamos a seção transversal na posição $y = 0$, conforme ilustrado na Figura 7. Observamos que o aumento do parâmetro T_s resulta na diminuição dos espaços vazios dentro da seção, levando à formação de agregados mais compactos e quase completamente preenchidos. Devido a essa característica progressiva em função do parâmetro T_s e de seu aspecto não euclidiano, optamos por calcular a dimensão fractal das seções e constatamos que, à medida que T_s aumenta, ocorre um incremento no valor médio da dimensão fractal da seção até atingir uma saturação. Na Figura 8, é evidente que para valores mais baixos de T_s , a dimensionalidade é próxima da observada em aglomerados gerados pelo modelo de Agregação Limitada por Difusão (DLA) [30], que é de 1.71, recuperando os valores esperados que remete aos ingredientes básicos presente em nosso modelo de formação. Por outro lado, para valores mais elevados de T_s , a dimensão fractal tende a estabilizar em valores próximos a 1.93, que se assemelha muito à dimensão euclidiana para objetos bidimensionais.

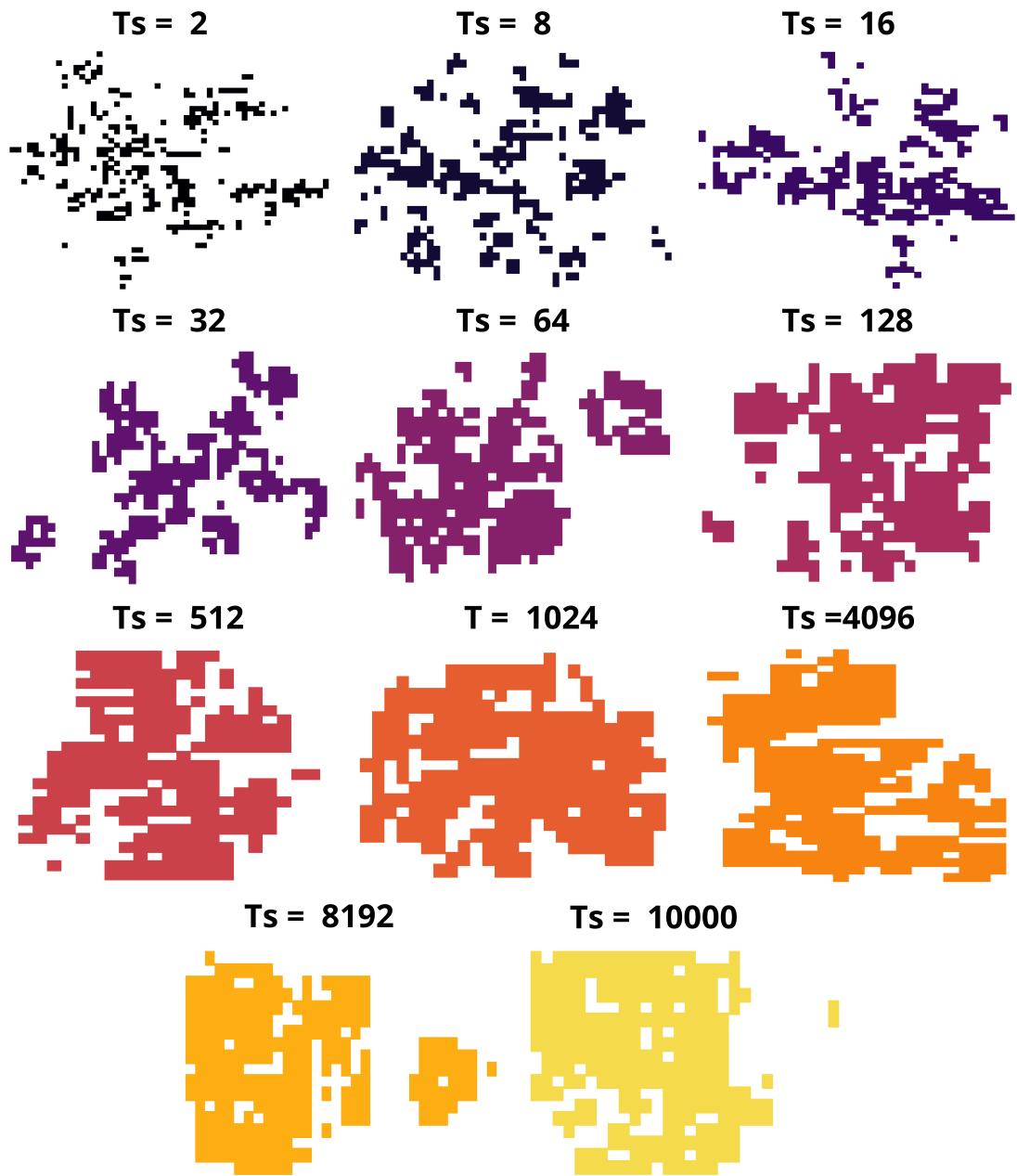


Figura 7: A figura mostra a visualização de diferentes cortes transversais localizados em $y = 0$ para diferentes valores do parâmetro T_S . Da esquerda para direita e de cima para baixo temos os seguintes valores para o parâmetro $T_S = 2, 8, 16, 32, 64, 128, 512, 1024, 4096, 8192, 10000$.

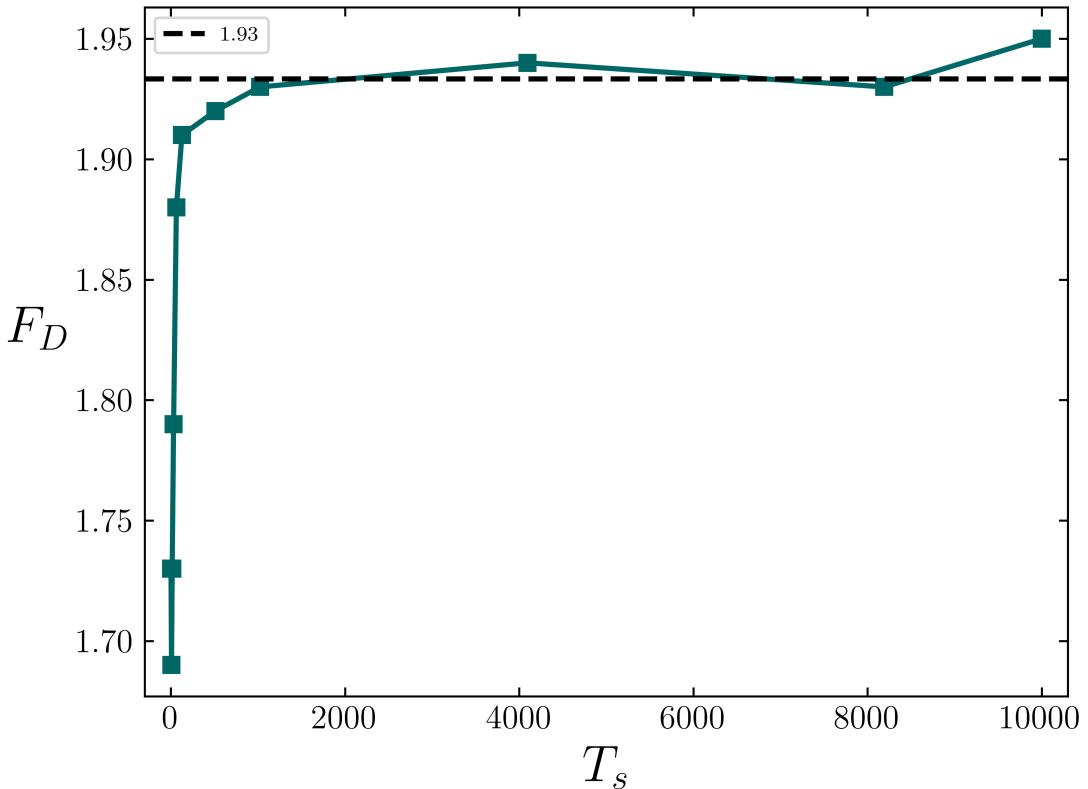


Figura 8: Gráfico da dimensão fractal média, F_D , em função do parâmetro de difusão T_s . Os valores para dimensão fractal foram obtidos por meio da média sobre diferentes seções de uma mesma fibrila e sobre os agregados de mesmo T_s . Usamos a relação massa-raio para determinar essa propriedade. A linha pontilhada representa o valor médio da dimensão fractal para os valores de $T_S = 512, 1024, 4096, 8192, 10000$.

3.2 Propriedades mecânicas

Para compreender como nosso agregado responde à aplicação de uma força axial, avaliamos como o número de moléculas na fibrila varia com a força. Na Figura 9, apresentamos a curva de tensão-deformação para agregados gerados com diferentes valores de T_s . Observamos que o aumento desse parâmetro influencia no incremento da tensão máxima de ruptura, além disso, a deformação sofrida por essas fibrilas começa a ocorrer apenas para valores de tensão mais altos, em comparação a fibrilas de baixo T_s . No entanto, a partir de $T_s = 512$, esses valores se tornam bastante próximos e as curvas começam a se sobrepor. Comumente, esperaríamos que essas curvas crescessem de forma mais abrupta até o valor máximo, o que não é observado aqui. Esse comportamento mais suave até valor limite é uma consequência do módulo de Weibull que utilizamos no modelo. Para valores baixos, a curva resultante é não determinística [29]. A tensão máxima suportada que encontramos foi de $45,1\text{ MPa}$, valor muito próximo ao encontrado

por Yang et al. [42] ao analisar fibrilas reconstituídas do tendão de Aquiles bovino purificado. Em contraste, no trabalho de Yamamoto [43], foram utilizadas fibrilas isoladas do fascículo dos tendões da cauda de ratos, obtendo um valor de 100 ± 32 MPa. A discrepância em relação ao nosso valor pode estar associada à dimensão das fibrilas utilizadas por ele, que apresentavam um diâmetro significativamente maior do que as modeladas neste trabalho.

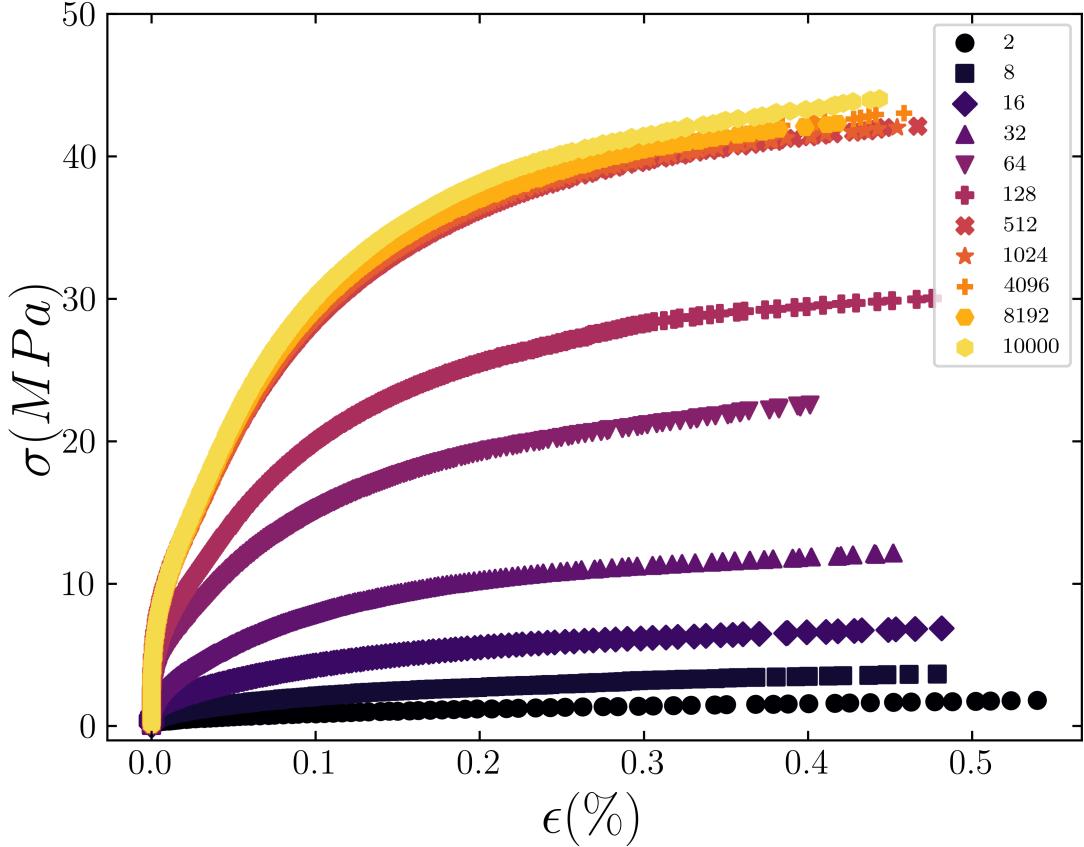


Figura 9: Tensão em função da deformação da fibrila para diferentes valores de T_s . A deformação foi calculada como a porção de moléculas removidas sobre o total de moléculas no início da simulação. Nos aproximamos a simulação de uma medida real considerando que a unidade de força para romper as ligações internas equivale a $F_c = 0.5nN$.

Investigando o comportamento tensão em função da deformação, conseguimos determinar a existência de dois regimes para cada curva após elas começarem a sofrer deformação. Na Figura 10, temos os comportamentos analisados para as curvas de $T_s = 8, 128, 1000$. Na região cinza, temos o comportamento não linear, regido por um logaritmo natural da forma $A \times \ln(BX)$. A separação ocorre próximo a 28% de deformação das fibrilas. Após isso, entramos em um regime linear, na região branca, da forma $AX + B$. Na Tabela 3,

temos os valores dos coeficientes das regressões para os dois regimes em cada parâmetro T_s e o R^2 . Novamente, para os valores a partir de $T_s = 512$, as curvas apresentam os coeficientes muito próximos, indicando que elas representam o mesmo processo de ruptura. Na literatura, é conhecido que as fibras e fibrilas de colágeno possuem um comportamento viscoelástico [14, 44]. Nós conseguimos identificar, para cada T_s , a região linear da curva de tensão-deformação, de modo que esse comportamento, apesar de não ser uma lei de Hooke perfeita, é descrita por uma equação de primeiro grau. Além disso, o coeficiente angular poderia ser interpretado como um módulo de Young para o nosso modelo.

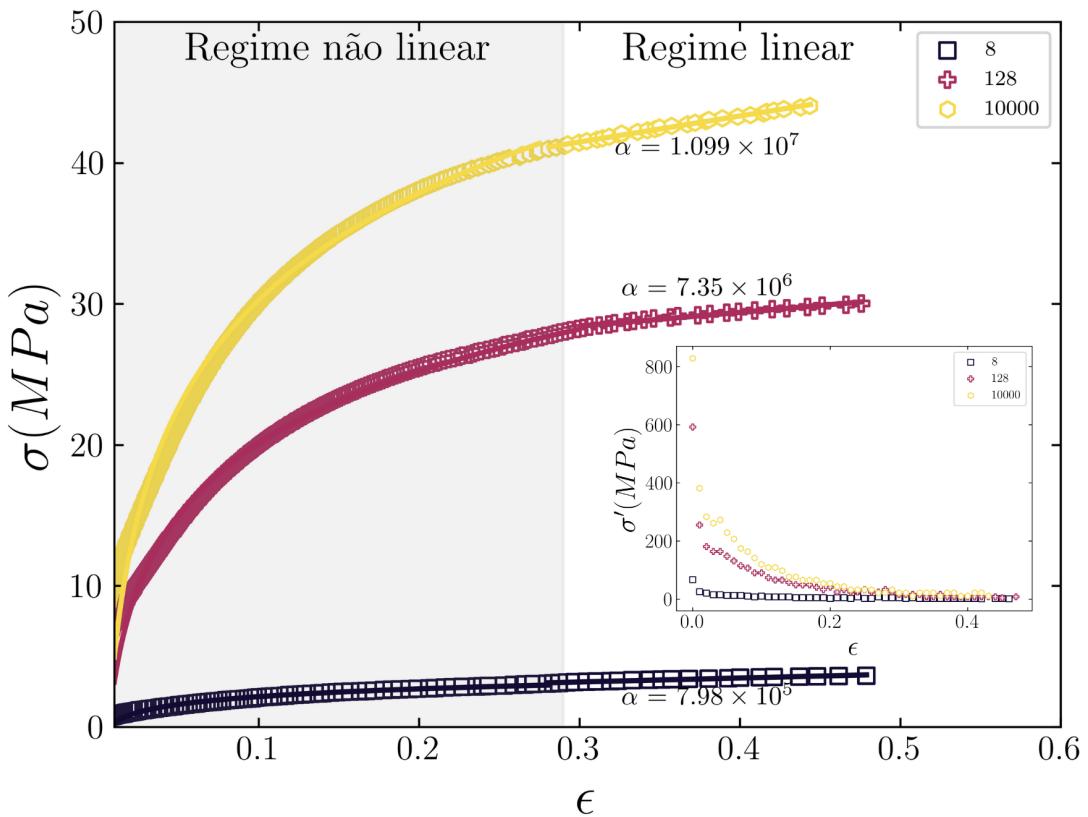


Figura 10: Curva de tensão em função da deformação para $T_s = 8, 128, 1000$. A região cinza delimita a região de comportamento não linear. A região branca, o regime linear das curvas. O coeficiente angular de cada curva é indicado. Na figura menor, temos o comportamento da derivada de cada curva de tensão, em função da deformação.

Tabela 3: Regressões para os diferentes regimes da curva de tensão-deformação para os diferentes valores de T_s . Os dois comportamentos, logaritmo natural e linear, estão acompanhados dos seus respectivos R^2 .

T_s	Aln(Bx)	R^2	A + Bx	R2
2	$3.7 \times 10^5 \ln(126.19x)$	0.97	$8.98 \times 10^5 + 1.68 \times 10^6 x$	0.999
8	$7.98 \times 10^5 \ln(146.69x)$	0.986	$2.34 \times 10^6 + 2.80 \times 10^6 x$	0.988
16	$1.65 \times 10^6 \ln(140.8x)$	0.988	$4.99 \times 10^6 + 3.95 \times 10^6 x$	0.998
32	$2.98 \times 10^6 \ln(155.47x)$	0.99	$9.5 \times 10^6 + 5.86 \times 10^6 x$	0.998
64	$5.7 \times 10^6 \ln(145.58x)$	0.989	$1.62 \times 10^7 + 1.60 \times 10^7 x$	0.997
128	$7.35 \times 10^6 \ln(154.32x)$	0.99	$2.55 \times 10^7 + 9.37 \times 10^6 x$	0.99
512	$1.03 \times 10^7 \ln(164.02x)$	0.99	$3.49 \times 10^7 + 1.6 \times 10^6 x$	0.993
1024	$1.04 \times 10^7 \ln(158.23x)$	0.99	$3.51 \times 10^7 + 1.58 \times 10^7 x$	0.991
4096	$1.08 \times 10^7 \ln(157.09x)$	0.99	$3.65 \times 10^7 + 1.45 \times 10^7 x$	0.996
8192	$1.07 \times 10^7 \ln(157.16x)$	0.991	$3.54 \times 10^7 + 1.7 \times 10^7 x$	0.994
10000	$1.1 \times 10^7 \ln(157.02x)$	0.99	$3.59 \times 10^7 + 1.84 \times 10^7 x$	0.997

Na Figura 11, podemos observar como os valores de tensão máxima suportada variam com um parâmetro importante das fibrilas, a densidade. Escolhemos essa análise visto que o comportamento de σ e da densidade, ρ , exibem formas semelhantes quando analisados em função de T_s . Identificamos um comportamento exponencial no aumento da tensão máxima até um limite superior de $45,1 MPa$. A saturação da densidade ocorre em 65%, valor este próximo ao encontrado por Parkinson et al.[28] com esse modelo, porém um pouco abaixo do determinado por Katz et al.[45], que calculou experimentalmente cerca de 80% do espaço disponível ocupado para as fibrilas de colágeno. Com base nessa característica de saturação, consideramos que, dado o custo computacional elevado, este modelo pode ser executado, para os parâmetros que inicialmente utilizamos, com $T_s = 512$, uma vez que nesse ponto já obtemos fibrilas com os valores de interesse médios equivalentes para valores superiores desse parâmetro.

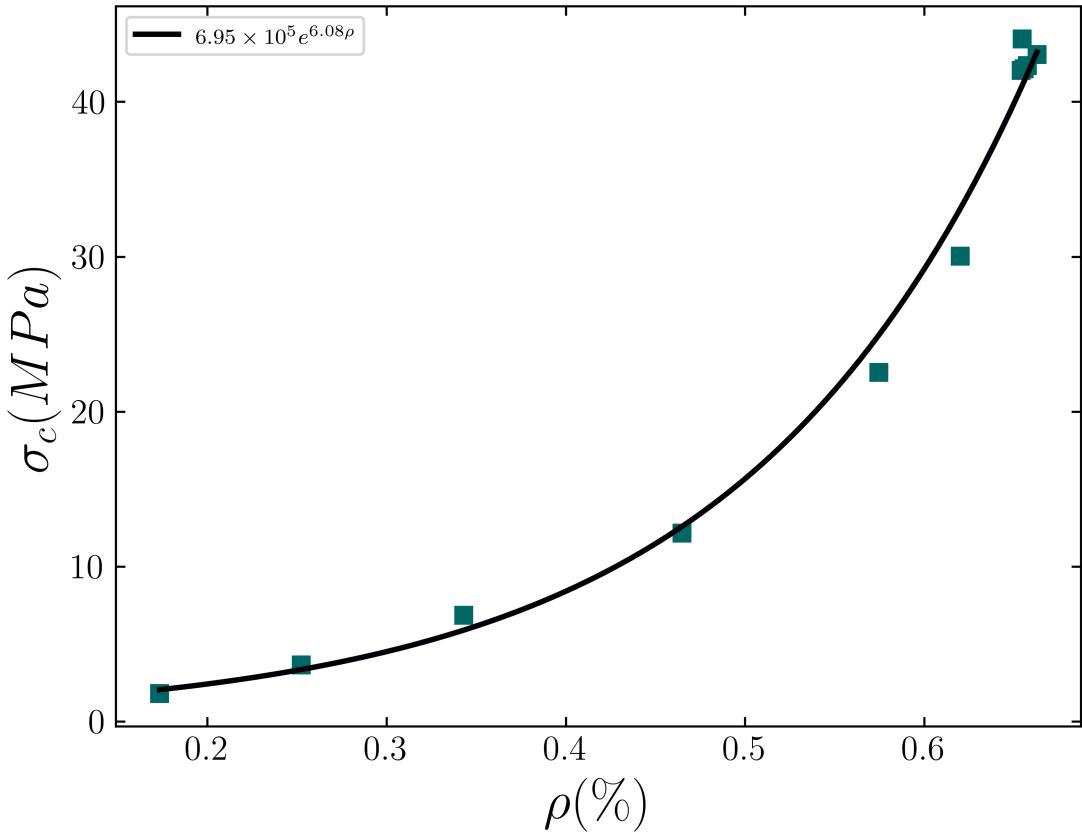


Figura 11: Tensão crítica em função da densidade das fibrilas. Os dados medidos são os quadrados verdes. A curva continua preta é o ajuste exponencial dos dados. A forma da exponencial, mostrada na legenda da curva, é dada por $6.95 \times 10^5 e^{6.08\rho}$.

Ao analisar como o processo de ruptura ocorre no nosso modelo, bem como em outros, constatamos que a redistribuição de tensão, para uma mesma força, pode levar à ocorrência de rupturas em cascata. Na Figura 12, apresentamos a distribuição das avalanches de ruptura em função do seu tamanho. É possível observar a existência de duas ordens de grandeza bem definidas; após isso, os dados são afetados pelo efeito de tamanho finito. Analisando a região de interesse, até próximo de $10^{2.5}$, conseguimos determinar o expoente das leis de escala de modo que eles aumentam com o crescimento de T_s . Este comportamento é compreensível ao considerarmos que a densidade aumenta com este parâmetro, resultando em mais moléculas para contribuir com os tamanhos das avalanches. Assim, temos que as avalanches durante o processo de ruptura são independentes do tamanho do sistema; contudo, elas são influenciadas pelo quanto compacta é a fibrila, com o expoente γ variando de -1.94 até -2.60. Na Tabela 4, temos os outros coeficientes para cada valor do parâmetro T_s . No trabalho de Mayya e colaboradores, eles verificaram ocorrência de avalanches durante a fratura de ossos bovinos [46]. Eles encontraram expoentes variando de 1.8 a 2.06 [46]. Apesar de serem em escalas diferentes, encontramos valores

similares para baixos valores de T_s , o que pode indicar uma relação entre ossos e fibrilas menos compactas.

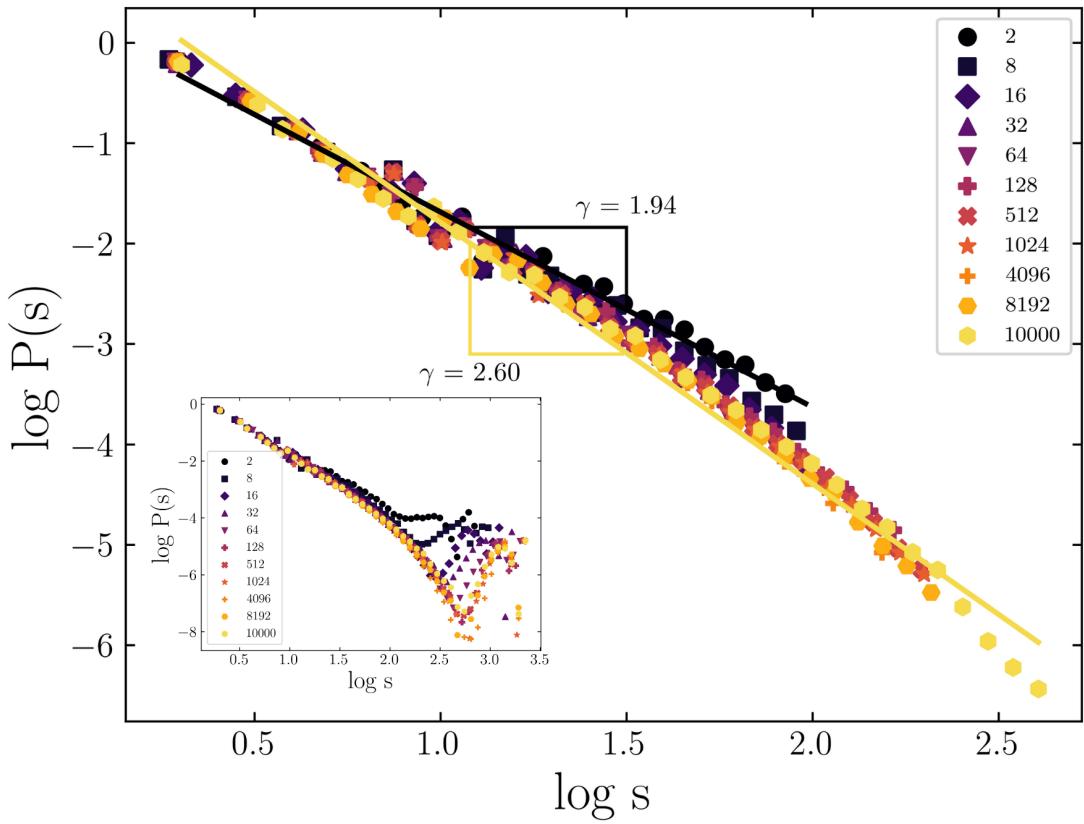


Figura 12: Distribuição das avalanches de ruptura em função do seu tamanho para diferentes valores de T_s . Podemos observar um comportamento em lei de potência com expoentes γ bem definidos para todos os valores do Parâmetro T_s . Os expoentes variam de -1.94 a -2.60.

Tabela 4: Exponente γ das leis de escala das avalanches para cada parâmetro T_s .

T_s	γ
2	1.94
8	2.11
16	2.25
32	2.35
64	2.35
128	2.39
512	2.46
1024	2.49
4096	2.51
8192	2.56
10000	2.6

4 Conclusões

Neste estudo, demonstramos a capacidade de um modelo baseado em Agregação Limitada por Difusão (DLA) com difusão superficial para simular a formação de fibrilas de colágeno, resultando em agregados com características morfológicas semelhantes às das fibrilas reais. O parâmetro T_s mostrou-se crucial para definir várias propriedades das fibrilas, como comprimento, densidade e diâmetro, que tendem a variar de maneira inversamente proporcional a T_s . Observou-se uma relação linear entre a massa das fibrilas e a distância até as pontas, além de uma variação na dimensão fractal da seção central, que aumenta com T_s , variando de 1.71 a 1.93.

A resistência máxima à tensão das fibrilas aumenta com T_s , alcançando um limite de $45,1 MPa$, e a tensão crítica suportada apresenta uma correlação exponencial com a densidade das fibrilas. A relação tensão-deformação mostrou ter dois regimes após o início do processo de deformação. Um não linear descrito por um logaritmo natural e outro linear. Os regimes são separados em pontos diferentes para valores diferentes de T_s , mas o ponto 28% aparece com frequência. O processo de ruptura revelou avalanches de ruptura com leis de potência definidas, cujos expoentes variam de -1.94 a -2.60, indicando que, embora as avalanches sejam independentes do tamanho do sistema, elas são influenciadas pela compactação da fibrila.

Essas descobertas sugerem que as fibrilas geradas pelo modelo apresentam uma tensão máxima suportada que aumenta com a densidade e com T_s . Fibrilas mais resistentes tendem a ter uma dimensão fractal mais próxima da dimensão euclidiana de objetos bidimensionais e exibem valores mais elevados no expoente das leis de potência. Além disso, muitas das propriedades analisadas tendem a saturar, indicando que simulações realizadas com $T_s = 512$ são suficientes para observar os valores máximos de interesse, otimizando o uso de recursos computacionais.

Referências

- [1] Frederick H. Silver, Michael Jaffe, and Ruchit G. Shah. Structure and behavior of collagen fibers. In *Handbook of Properties of Textile and Technical Fibres*, pages 345–365. Elsevier, 2018. doi: 10.1016/b978-0-08-101272-7.00011-0. URL <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-101272-7.00011-0>.
- [2] Evan Davison-Kotler, William S Marshall, and Elena García-Gareta. Sources of collagen for biomaterials in skin wound healing. *Bioengineering (Basel)*, 6(3):56, June 2019.
- [3] Ilaria Tresoldi, Francesco Oliva, Monica Benvenuto, Massimo Fantini, Laura Masuelli, Roberto Bei, and Andrea Modesti. Tendon's ultrastructure. *Muscles Ligaments Tendons J.*, 3(1):2–6, January 2013.
- [4] Neal S. Fedarko. Chapter 5 - osteoblast/osteoclast development and function in osteogenesis imperfecta. In Jay R. Shapiro, Peter H. Byers, Francis H. Glorieux, and Paul D. Sponseller, editors, *Osteogenesis Imperfecta*, pages 45–56. Academic Press, San Diego, 2014. ISBN 978-0-12-397165-4. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397165-4.00005-8>. URL <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123971654000058>.
- [5] Gustavo A. Rico-Llanos, Sara Borrego-González, Miguelangel Moncayo-Donoso, José Becerra, and Rick Visser. Collagen type i biomaterials as scaffolds for bone tissue engineering. *Polymers*, 13(4):599, February 2021. doi: 10.3390/polym13040599. URL <https://doi.org/10.3390/polym13040599>.
- [6] Alice J Sophia Fox, Asheesh Bedi, and Scott A Rodeo. The basic science of articular cartilage: structure, composition, and function. *Sports Health*, 1(6):461–468, November 2009.
- [7] Shoujun Chen, Michael J. Mienaltowski, and David E. Birk. Regulation of corneal stroma extracellular matrix assembly. *Experimental Eye Research*, 133:69–80, 2015. ISSN 0014-4835. doi: <https://doi.org/10.1016/j.exer.2014.08.001>. URL <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014483514002152>. Ocular extracellular matrix: Role in development, homeostasis and disease.
- [8] Ibrahim N Amirrah, Yogeswaran Lokanathan, Izzat Zulkiflee, M F Mohd Razip Wee, Antonella Motta, and Mh Busra Fauzi. A comprehensive review on collagen type I development of biomaterials for tissue engineering: From biosynthesis to bioscaffold. *Biomedicines*, 10(9):2307, September 2022.
- [9] K Gelse. Collagens—structure, function, and biosynthesis. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 55(12):1531–1546, November 2003. doi: 10.1016/j.addr.2003.08.002. URL <https://doi.org/10.1016/j.addr.2003.08.002>.

- [10] Jean Charvolin and Jean-François Sadoc. Type-i collagen fibrils: From growth morphology to local order. *The European Physical Journal E*, 42(4), April 2019. doi: 10.1140/epje/i2019-11812-1. URL <https://doi.org/10.1140/epje/i2019-11812-1>.
- [11] Karl E. KADLER, David F. HOLMES, John A. TROTTER, and John A. CHAPMAN. Collagen fibril formation. *Biochemical Journal*, 316(1):1–11, May 1996. doi: 10.1042/bj3160001. URL <https://doi.org/10.1042/bj3160001>.
- [12] David A. D. Parry and Alan S. Craig. Growth and development of collagen fibrils in connective tissue. In *Ultrastructure of the Connective Tissue Matrix*, pages 34–64. Springer US, 1984. doi: 10.1007/978-1-4613-2831-5_2. URL https://doi.org/10.1007/978-1-4613-2831-5_2.
- [13] Shichen Zhu, Qijuan Yuan, Tao Yin, Juan You, Zhipeng Gu, Shanbai Xiong, and Yang Hu. Self-assembly of collagen-based biomaterials: preparation, characterizations and biomedical applications. *Journal of Materials Chemistry B*, 6(18):2650–2676, 2018. doi: 10.1039/c7tb02999c. URL <https://doi.org/10.1039/c7tb02999c>.
- [14] Frederick H. Silver and William J. Landis. Viscoelasticity, energy storage and transmission and dissipation by extracellular matrices in vertebrates. 2008. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:91697957>.
- [15] Mathis Nalbach, Franziska Chalupa-Gantner, Felix Spoerl, Victor de Bar, Benedikt Baumgartner, Orestis G. Andriotis, Shingo Ito, Aleksandr Ovsianikov, Georg Schitter, and Philipp J. Thurner. Instrument for tensile testing of individual collagen fibrils with facile sample coupling and uncoupling. *The Review of scientific instruments*, 93:054103, 2022. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:248580817>.
- [16] O G Andriotis, S W Chang, M Vanleene, P H Howarth, D E Davies, S J Shefelbine, M J Buehler, and P J Thurner. Structure-mechanics relationships of collagen fibrils in the osteogenesis imperfecta mouse model. *J. R. Soc. Interface*, 12(111):20150701, October 2015.
- [17] Vinayak Mull and Laurent Kreplak. Adhesion force microscopy is sensitive to the charge distribution at the surface of single collagen fibrils. *Nanoscale Adv.*, 4(22):4829–4837, November 2022.
- [18] Joost A. J. van der Rijt, Kees O. van der Werf, Martin L. Bennink, Pieter J. Dijkstra, and Jan Feijen. Micromechanical testing of individual collagen fibrils. *Macromolecular Bioscience*, 6(9):697–702, 2006. doi: <https://doi.org/10.1002/mabi.200600063>. URL <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/mabi.200600063>.
- [19] Rene B. Svensson, Stuart T. Smith, Patrick J. Moyer, and S. Peter Magnusson. Effects of maturation and advanced glycation on tensile mechanics of collagen fibrils from rat tail and achilles tendons. *Acta Biomaterialia*, 70:270–280, 2018.

ISSN 1742-7061. doi: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.02.005>. URL <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706118300758>.

- [20] Orestis G. Andriotis, Mathis Nalbach, and Philipp J. Thurner. Mechanics of isolated individual collagen fibrils. *Acta Biomaterialia*, 163:35–49, 2023. ISSN 1742-7061. doi: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2022.12.008>. URL <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S174270612200811X>. The Mechanics of Cells and Fibers.
- [21] Markus J. Buehler. Nature designs tough collagen: Explaining the nanostructure of collagen fibrils. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(33):12285–12290, 2006. doi: 10.1073/pnas.0603216103. URL <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.0603216103>.
- [22] Markus J. Buehler. Atomistic and continuum modeling of mechanical properties of collagen: Elasticity, fracture, and self-assembly. *Journal of Materials Research*, 21(8):1947–1961, 2006. doi: 10.1557/jmr.2006.0236.
- [23] Markus J. Buehler. Molecular architecture of collagen fibrils: A critical length scale for tough fibrils. *Current Applied Physics*, 8(3):440–442, 2008. ISSN 1567-1739. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cap.2007.10.058>. URL <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567173907002283>. AMN-3 (Third International Conference on Advanced Materials and Nanotechnology).
- [24] Markus J. Buehler. Nanomechanics of collagen fibrils under varying cross-link densities: Atomistic and continuum studies. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 1(1):59–67, 2008. ISSN 1751-6161. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2007.04.001>. URL <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751616107000057>.
- [25] David C Malaspina, Igal Szleifer, and Yasin Dhaher. Mechanical properties of a collagen fibril under simulated degradation. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, 75:549–557, November 2017.
- [26] Baptiste Depalle, Zhao Qin, Sandra J Shefelbine, and Markus J Buehler. Large Deformation Mechanisms, Plasticity, and Failure of an Individual Collagen Fibril With Different Mineral Content. *Journal of Bone and Mineral Research*, 31(2):380–390, 09 2015. ISSN 0884-0431. doi: 10.1002/jbmr.2705. URL <https://doi.org/10.1002/jbmr.2705>.
- [27] Ascânio D. Araújo, Arnab Majumdar, Harikrishnan Parameswaran, Eunice Yi, Jean L. Spencer, Matthew A. Nugent, and Béla Suki. Dynamics of enzymatic digestion of elastic fibers and networks under tension. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(23):9414–9419, 2011. doi: 10.1073/pnas.1019188108. URL <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.1019188108>.

- [28] John Parkinson, Karl E. Kadler, and Andy Brass. Simple physical model of collagen fibrillogenesis based on diffusion limited aggregation. *Journal of Molecular Biology*, 247(4):823–831, April 1995. doi: 10.1016/s0022-2836(05)80157-3. URL [https://doi.org/10.1016/s0022-2836\(05\)80157-3](https://doi.org/10.1016/s0022-2836(05)80157-3).
- [29] John Parkinson, Andy Brass, Giles Canova, and Yves Brechet. The mechanical properties of simulated collagen fibrils. *Journal of Biomechanics*, 30(6):549–554, June 1997. doi: 10.1016/s0021-9290(96)00151-0. URL [https://doi.org/10.1016/s0021-9290\(96\)00151-0](https://doi.org/10.1016/s0021-9290(96)00151-0).
- [30] T. A. Witten and L. M. Sander. Diffusion-limited aggregation. *Physical Review B*, 27(9):5686–5697, May 1983. doi: 10.1103/physrevb.27.5686. URL <https://doi.org/10.1103/physrevb.27.5686>.
- [31] K E Kadler, Y Hojima, and D J Prockop. Assembly of collagen fibrils de novo by cleavage of the type I pC-collagen with procollagen c-proteinase. assay of critical concentration demonstrates that collagen self-assembly is a classical example of an entropy-driven process. *Journal of Biological Chemistry*, 262(32):15696–15701, November 1987. doi: 10.1016/s0021-9258(18)47783-6. URL [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)47783-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)47783-6).
- [32] Juan M. García-Ruiz and Fermín Otálora. Diffusion limited aggregation. the role of surface diffusion. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*, 178(3):415–420, November 1991. doi: 10.1016/0378-4371(91)90030-g. URL [https://doi.org/10.1016/0378-4371\(91\)90030-g](https://doi.org/10.1016/0378-4371(91)90030-g).
- [33] Ken ichi Saitoh, Tomohiro Sato, Masanori Takuma, and Yoshimasa Takahashi. Molecular dynamics study of collagen fibrils: Relation between mechanical properties and molecular chirality. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 2020. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:225284088>.
- [34] Heinrich M. Jaeger and Sidney R. Nagel. Physics of the granular state. *Science*, 255: 1523 – 1531, 1992. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:44568820>.
- [35] C. Godano, M.L. Alonso, and V. Caruso. Self-organized criticality and earthquake predictability. *Physics of the Earth and Planetary Interiors*, 80(3):117–123, 1993. ISSN 0031-9201. doi: [https://doi.org/10.1016/0031-9201\(93\)90042-8](https://doi.org/10.1016/0031-9201(93)90042-8). URL <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0031920193900428>.
- [36] John M Beggs and Dietmar Plenz. Neuronal avalanches in neocortical circuits. *J. Neurosci.*, 23(35):11167–11177, December 2003.
- [37] Xunjie Yu, Béla Suki, and Yanhang Zhang. Avalanches and power law behavior in aortic dissection propagation. *Science Advances*, 6, 2020. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:219180371>.
- [38] *Engineering Materials 2*. Elsevier, 2013. doi: 10.1016/c2009-0-64289-6. URL <https://doi.org/10.1016/c2009-0-64289-6>.

- [39] Stefano Zapperi, Alessandro Vespignani, and H. Eugene Stanley. Plasticity and avalanche behaviour in microfracturing phenomena. *Nature*, 388(6643):658–660, August 1997. doi: 10.1038/41737. URL <https://doi.org/10.1038/41737>.
- [40] Nicholas J Giordano. *Computational physics*. Pearson Education India, 2012.
- [41] Anna Pandolfi, Alessio Gizzi, and Marcello Vasta. A microstructural model of cross-link interaction between collagen fibrils in the human cornea. *Philosophical Transactions of the Royal Society A*, 377, 2019. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:81985945>.
- [42] L. Yang, K.O. van der Werf, P.J. Dijkstra, J. Feijen, and M.L. Bennink. Micromechanical analysis of native and cross-linked collagen type i fibrils supports the existence of microfibrils. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 6:148–158, 2012. ISSN 1751-6161. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2011.11.008>. URL <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751616111002955>.
- [43] Noritaka Yamamoto. Tensile strength of single collagen fibrils isolated from tendons. *European Journal of Biophysics*, 5(1):1–6, 2017. doi: 10.11648/j.ejb.20170501.11. URL <https://doi.org/10.11648/j.ejb.20170501.11>.
- [44] Zhilei Liu Shen, Harold Kahn, Roberto Ballarini, and Steven J Eppell. Viscoelastic properties of isolated collagen fibrils. *Biophysical journal*, 100(12):3008–3015, 2011.
- [45] Elton P. Katz and Shu Tung Li. The intermolecular space of reconstituted collagen fibrils. *Journal of Molecular Biology*, 73(3):351–369, 1973. ISSN 0022-2836. doi: [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(73\)90347-1](https://doi.org/10.1016/0022-2836(73)90347-1). URL <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0022283673903471>.
- [46] Ashwiy Mayya, P. C. Praveen, Anuradha Banerjee, and Ramesh Rajesh. Splitting fracture in bovine bone using a porosity-based spring network model. *Journal of The Royal Society Interface*, 13, 2016. URL <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:35084608>.