

VU Research Portal

Fibrin structure and mechanics

Vos, B.E.

2018

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Vos, B. E. (2018). *Fibrin structure and mechanics: A journey across scales*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

SAMENVATTING

Het onderwerp van dit proefschrift was het onderzoeken van de structuur en de mechanische eigenschappen van fiberachtige materialen. In het bijzonder wordt fibrine onderzocht: een eiwit-netwerk dat stevigheid geeft aan bloedstolsels. Hoewel we ze zoveel mogelijk proberen te mijden, zijn bloedstolsels wel essentieel in ons leven: zodra een bloedvat beschadigt, vormt een bloedstolsel een beschermende laag die verder bloedverlies voorkomt, en ook de eerste stap is in het herstel. De fibrine-netwerken zelf bestaan uit fibers, die op hun beurt ontstaan zijn uit een kettingreactie waarbij uit fibrinogeen-monomeren eerst zogenaamde protofibrillen worden gevormd, die op hun beurt de dikkere fibers vormen waaruit het netwerk is opgebouwd. Het netwerk heeft de interessante eigenschappen dat het zijn functie vervult bij een heel lage concentratie van eiwit, grote krachten en vervormingen kan weerstaan zonder kapot te gaan, en steviger wordt als het sterk vervormd wordt.

Tot dusver is niet goed begrepen hoe fibrine aan deze opmerkelijke eigenschappen komt. Modellen die het mechanische gedrag beschrijven, zijn gebaseerd op elastische filamenten, en gaan voorbij aan de vloeistof die tussen de fibers in zit, de interne structuur van de fibers, en de mogelijkheid van fibers om interacties aan te gaan met andere fibers.

In dit proefschrift staat de vraag centraal hoe de complexe structuur van fibrine (en van de fibers, protofibrillen en monomeren) in verband staat tot de complexe mechanica van fibrine. Om deze vraag te beantwoorden, implementeren we in hoofdstuk 2 eerst drie bestaande modellen [51–53], waarmee, met lichtverstrooiingsexperimenten op fibrine, de straal en de massa-dichtheid van de fibers kunnen worden bepaald. We breiden deze modellen uit met een correctie voor de golflengte-afhankelijkheid van de brekingsindex van water en de differentiële brekingsindex van het eiwit. We maken gebruik van een ‘power spectral density’-analyse om de fractale dimensie van het netwerk te bepalen. De fractale dimensie is een parameter in één van de verstrooiingsmodellen, waardoor ook de structuur van het netwerk in beschouwing wordt genomen. Met de analyse van de verstrooiingsspectra krijgen we informatie over de structuur van de fibrine-fibers, wat een vereiste is om het mechanische gedrag te interpreteren. Deze analyse kan ook gebruikt worden voor andere materialen die uit fibers bestaan.

Daarna beschouwen we drie verschillende mechanische aspecten van de fibrine-gel: (1) de rol die vloeistof speelt in de mechanische eigenschappen van de gel, en de koppeling tussen het netwerk en de vloeistof; (2) veranderingen die optreden op verschillende lengteschalen wanneer het fibrine-netwerk wordt vervormd, en (3) het herstructureren van het netwerk door fiber-fiber interacties.

Beginnend bij de grootste schaal, van het macroscopische stolsel, laten we in hoofdstuk 3 zien dat het netwerk en de vloeistof aan elkaar gekoppeld zijn op een korte tijdschaal, die wordt bepaald door de elastische modulus van de gel, de poriegrootte van het netwerk, de viscositeit van de vloeistof, en de afmetingen van de gel. Wanneer het

netwerk en de vloeistof gekoppeld zijn, is hun geheel niet te comprimeren; pas op langere tijdschalen, waarbij de vloeistof en het netwerk ten opzichte van elkaar kunnen bewegen, kan het netwerk vervormd worden. Met een combinatie van theorie en experimenten laten we zien dat de fibrine-gel zich inderdaad gedraagt als een materiaal dat uit een vloeibare en een vaste component bestaat, zowel tijdens compressie als tijdens een afschuifvervorming. Bij de afschuifvervorming zien we dat de richting van de normaalkracht die de gel uitoefent zowel positief als negatief kan zijn, afhankelijk van de mate van koppeling tussen de vloeistof en het netwerk. Deze resultaten lossen een paradox op tussen netwerken van biopolymeren en netwerken van synthetische materialen, waarbij tot nu toe werd aangenomen dat de eerstgenoemde een negatieve normaalkracht hebben, en de synthetische materialen een positieve normaalkracht. Wij laten zien dat beide klassen in staat zijn om zowel positieve als negatieve normaalkrachten uit te oefenen, zolang maar op de juiste tijdsschaal gemeten wordt.

Tot dusver hebben we de fibrine-gel nog beschouwd als een uniform, elastisch materiaal. In hoofdstuk 4 combineren we optische microscopie en röntgenverstrooiing met uitrek- en afschuifvervormingen van een fibrine-netwerk, om het mechanische gedrag van fibrine te begrijpen bij verschillende maten van vervorming. We laten zien dat het oriënteren van de fibers die het netwerk vormen, niet genoeg is om het mechanische gedrag te begrijpen. Bij kleine vervormingen, voordat oriëntatie van fibers een rol gaat spelen, worden entropische fluctuaties uit de fibers getrokken, wat tot een grotere stijfheid van het netwerk leidt. Bij grote vervormingen wordt de mechanische respons van het netwerk bepaald door uitrekking van de fibrine-fibers zelf. We laten zien dat de oorsprong hiervan ligt in het uitrekken van de α C-domeinen van het fibrine-monomeer, in plaats van het ontvouwen van de gestructureerde delen van het monomeer, wat tot nu toe werd aangenomen.

Vervolgens laten we in hoofdstuk 5 zien dat de fibers die het fibrine-netwerk vormen, nieuwe verbindingen met elkaar aan kunnen gaan wanneer ze met elkaar in contact worden gebracht. Dit speelt vooral een rol bij compressie van het netwerk, wanneer fibers dicht bij elkaar komen. We laten zien dat de α C-domeinen die aan beide uiteindes van het monomeer zitten, een verbinding aan kunnen gaan met α C-domeinen die vastzitten aan monomeren op nabijgelegen fibers. De verbinding die op deze manier wordt gevormd kan grote krachten weerstaan, zodat, wanneer het netwerk weer naar zijn originele vorm wordt teruggebracht, de nieuwe verbindingen onder spanning komen te staan, maar niet breken. De spanning die op deze manier in het netwerk wordt ingebouwd zorgt voor een verstijving van het netwerk, die bovendien nauwkeurig te controleren is door de mate van compressie aan te passen.

Tenslotte presenteren we in hoofdstuk 6 de ontwikkeling van een *light sheet* microscoop, een fluorescentiemicroscoop die met een brede, platte (2D) laserstraal werkt in plaats van de meer gebruikelijke (1D) laserstraal. Deze microscoop combineren we met een apparaat dat fibrine kan uitrekken. Hiermee kunnen we het effect van uitrekking op de structuur van het netwerk meten, zowel de korte, elastische respons als de langzamere, inelastische respons.

Samenvattend laat het onderzoek in dit proefschrift zien hoe de structuur en de functie van het fibrine-netwerk met elkaar in verband staan. Dit is essentieel om de rol van fibrine te begrijpen in bijvoorbeeld hemostase, trombose en wondgenezing. We hebben

laten zien dat de mechanische eigenschappen van het fibrine-netwerk niet komen van een set perfecte, homogene staafjes, maar van filamenten met een duidelijke, hiërarchische opbouw, die kunnen uitrekken maar ook onderling interacties aan kunnen gaan, en omgeven worden door vloeistof die, op korte tijdschaal, aan het netwerk gekoppeld is om het een grote stevigheid te geven. Deze principes kunnen worden gebruikt om nieuwe materialen te ontwerpen, met specifieke mechanische eigenschappen. In een bredere context laat dit proefschrift zien hoe de natuur over een uitgebreid arsenaal aan natuurkundige principes beschikt om ons optimaal te laten functioneren in de complexe en uitdagende omstandigheden die het leven ons biedt.