

PROVE BIASSIALI VISCOELASTICHE SU TESSUTI BIOLOGICI MOLLI

G. La Rosa^a, F. Lo Savio^b

^a *Università di Catania - Dipartimento di Ingegneria Industriale
Viale Andrea Doria 6, 95125 Catania, email: glarosa@dii.unict.it*

^b *Università di Catania - Dipartimento di Ingegneria Industriale
Viale Andrea Doria 6, 95125 Catania, email: flosavio@dii.unict.it*

Sommario

Il lavoro presenta alcuni risultati di uno studio più complesso sulle caratteristiche biomeccaniche dei tessuti molli, in particolare, la determinazione delle caratteristiche del tessuto costituente lo stomaco. Si è proceduto ad effettuare una campagna di prove (monoassiali, planari, creep tramite bulge test, equibiassiali) per determinare i parametri caratteristici per grandi deformazioni e in funzione del tempo. Nel presente lavoro sono presentati i risultati ottenuti dalle prove monoassiali ed equibiassiali. Le prove monoassiali sono state effettuate su provini rettangolari estratti da stomaci di suino, valutando le caratteristiche viscoelastiche mediante un modello a cinque parametri. Le prove equibiassiali sono state effettuate su provini quadrati mediante un dispositivo appositamente costruito per la misura dei parametri viscoelastici in materiali iperelastici. Il dispositivo permette l'esecuzione di prove di rilassamento, applicando una deformazione controllata e misura le forze nel tempo.

Abstract

The paper presents some results of a study on the biomechanical characteristics of the soft tissues; in particular, the determination of the characteristics of the stomach tissue. We proceeded to conduct a campaign of tests (uniaxial, planar, creep by bulge test, equibiaxial) to determine the characteristic parameters for large deformations and in function of time. In this paper, we present the results obtained from the uniaxial and equibiaxial tests. The uniaxial tests were carried out on rectangular specimens extracted from pig stomachs, evaluating the viscoelastic characteristics through a model to five parameters. The equibiaxial tests were carried out on square test using a specially purposed device for the measurement of viscoelastic parameters in hyperelastic materials. The device allows the execution of relaxation tests, by applying a controlled deformation and measuring the forces as a function of the time.

Parole chiave: Tessuti molli, prove biassiali, viscoelasticità, tessuto gastrico, biomeccanica dello stomaco.

1. INTRODUZIONE

La necessità di utilizzare materiali innovativi per la sostituzione o l'integrazione di parti di apparati corporei, impone la conoscenza delle caratteristiche biomeccaniche dei tessuti biologici sia in termini funzionali che di risposta dinamica. Lo studio dei biomateriali, quindi, riguarda la caratterizzazione fisico-chimica, meccanica e biologica e la produzione di nuovi materiali [1, 2].

La ricerca si avvale spesso delle potenzialità della sperimentazione animale come sostituzione indispensabile alla sperimentazione diretta sull'uomo. L'utilizzo di organi derivanti dalle specie suine come modello-animale nello studio della fisiologia umana rende il maiale tra gli animali più utilizzati

nella ricerca biomedica. Il tipo di alimentazione onnivora, l'anatomia e la fisiologia dell'apparato digerente sono molto simili a quelli umani rispetto a quelli della maggior parte dei mammiferi, grazie alle notevoli somiglianze fisiologiche e anatomiche del tratto digerente dell'uomo e del maiale, entrambi dotati di apparati monogastrici [3-8].

Nel presente lavoro viene studiato il tessuto complesso dello stomaco suino e le sue proprietà meccaniche. In particolare, considerando le caratteristiche viscoelastiche del materiale, sono state effettuate prove di rilassamento per valutarne i parametri viscoelastici [6, 7]. Il tessuto dello stomaco si può equiparare ad un materiale elastomerico, considerando le grandi deformazioni cui è soggetto, quindi sono necessarie prove di vario tipo per una caratterizzazione significativa [9, 10]. In precedenti lavori è stata presentata la risposta alle prove di bulge test [11, 12], questo studio è invece relativo alle prove monoassiali ed ai primi risultati ottenuti da prove equibiassiali, ottenute mediante un apparato di prova appositamente realizzato.

2. CENNI DI ANATOMIA DELLO STOMACO

Lo stomaco è una dilatazione sacciforme del canale alimentare, interposta fra l'esofago e l'intestino (Figura 1). È situato nella cavità addominale, al di sotto del diaframma, ed occupa l'ipocondrio sinistro ed una parte dell'epigastrio. La capacità normale nell'adulto si può valutare mediamente poco più grande di 1 dm³. Lo stomaco si presenta come un materiale complesso ed eterogeneo, costituito da un insieme di tessuti con dimensioni, strutture, finalità e caratteristiche meccaniche differenti [13].

La parete dello stomaco risulta costituita da quattro tonache sovrapposte, che dalla superficie interna verso l'esterna sono rispettivamente: la tonaca mucosa, la tonaca sottomucosa, la tonaca muscolare e la tonaca sierosa (Figura 2).

La tonaca mucosa varia le sue dimensioni crescendo dalla regione del fondo verso il piloro. A stomaco disteso è liscia, ma per la contrazione o per la retrazione dello strato muscolare si increspa in pieghe mucose con la tonaca sottomucosa.

La tonaca sottomucosa è uno strato di connettivo, che unisce la tonaca muscolare alla tonaca mucosa. Ha i caratteri del connettivo fibrillare lasso con molte fibre elastiche e con piccoli cumuli di cellule adipose.

La tonaca muscolare è sottile nella regione del fondo e si ingrandisce nella regione pilorica; è costituita da fasci di cellule muscolari lisce disposte su tre piani: un piano superficiale di fibre longitudinali, un piano medio di fibre circolari ed un piano profondo di fibre oblique. Gli strati muscolari sono intimamente collegati da tessuto connettivo ricco di fibre elastiche; in tal modo elementi in contrazione trasmettono il loro movimento ad altre zone, favorendo la mescolazione del contenuto.

La tonaca sierosa, infine, è formata dal peritoneo; è sottile, liscia, trasparente, elastica ed aderisce alla tonaca muscolare.

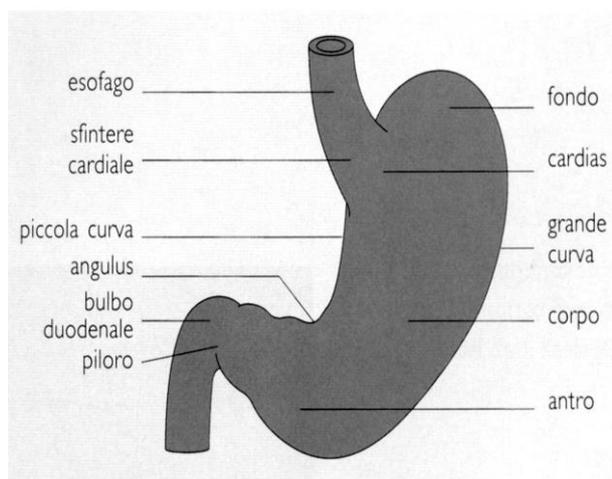


Figura 1: Parti dello stomaco.

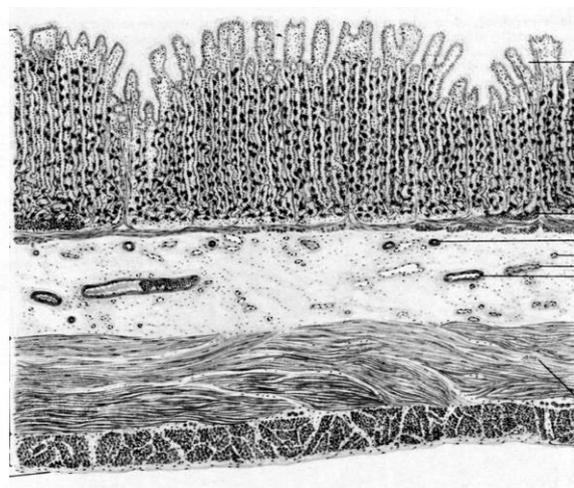


Figura 2: Parete gastrica.

3. DESCRIZIONE DELL'INDAGINE

La struttura e la natura organica del materiale biologico impongono particolare attenzione nell'esecuzione delle prove. Il materiale risulta deperibile se non conservato in modo adeguato, alterando i risultati delle prove, in particolare durante le prove di rilassamento, data la lunga durata temporale del test (fino a 7-8 ore). Quindi, durante le prove di rilassamento si è dovuto intervenire idratando il provino per prevenire l'alterazione delle caratteristiche biomeccaniche [14].

La struttura non omogenea e non regolare del materiale rende le misurazioni complesse. Difficoltà sorgono nella definizione delle geometrie: lo spessore non è costante lungo tutto il provino, l'anisotropia è elevata e il taglio del provino stesso non è mai regolare [2]. L'elevata comprimibilità rende difficile l'afferraggio e la misura delle dimensioni reali deve essere effettuata per gran parte della prova valutando le variazioni di geometria in tutte le direzioni per ottenere le tensioni effettive.

La natura organica del materiale crea ulteriori ostacoli. Dato il numero di prove e la dimensione dei provini, è stato necessario utilizzare differenti stomaci per avere numero adeguato di campioni da testare, con conseguente disuniformità dei provini per le diverse condizioni di età e metabolismo dei suini, di macellazione e di conservazione.

Le prove monoassiali sono state effettuate utilizzando una macchina di prova materiali standard, quelle equibiaxiali, invece, mediante un dispositivo appositamente realizzato.

3.1. Prove monoassiali

E' stata utilizzata una macchina di prova per carichi quasi statici Zwick-Roell Z100 con telaio progettato per carichi fino a 100 kN, applicando afferraggi e cella di carico T1-FR100TL.A80 per un carico nominale di 1 kN.

Sono stati realizzati provini rettangolari tagliandoli dallo stomaco del suino seguendo una dima di 90x35 mm. E' stato però comunque difficile realizzare provini di dimensioni regolari, le dimensioni finali variano tra 80 mm e 100 mm di lunghezza e tra 30 mm e 40 mm di larghezza. Anche lo spessore non risulta costante, variando in base alla zona di prelievo ed ovviamente dalle grandezze differenti degli stomaci suini; per i provini utilizzati varia da 2.3 mm a 5 mm.

La lunghezza libera è misurata a provino montato in corrispondenza dell'annullamento del carico, variando da 40 mm a 60 mm. Per misurare le sezioni reali, necessarie per valutare le tensioni effettive, si sono filmate le prove di carico facendo uso di due telecamere poste perpendicolarmente una di fronte e l'altra di fianco al provino (Figura 3).

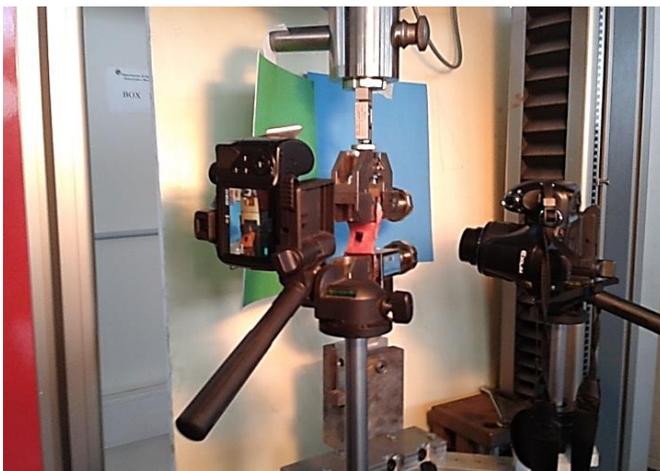


Figura 3: Setup per le misure monoassiali.

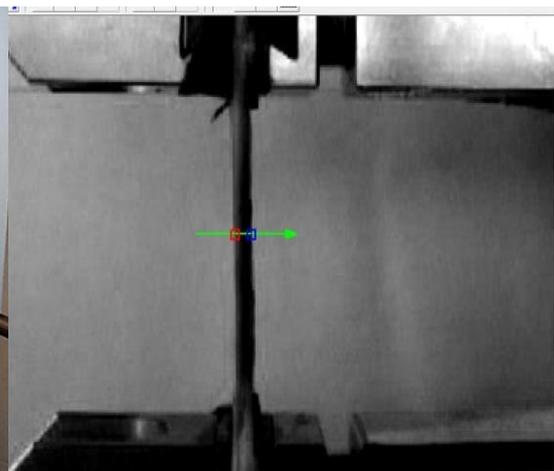


Figura 4: Misura dello spessore.

Per la misura della sezione reale si è utilizzato il software National Instruments Vision Builder for Automated Inspection (AI). Le due registrazioni si sono sincronizzate in base al momento della lacerazione del provino, ben visibile sia nelle immagini sia nel grafico. Si è eseguito, quindi il filtraggio delle stesse in scala di grigi. Infine, tramite le funzioni Find Edge, Geometry e Data Logging, è stata eseguita la misura della larghezza (telecamera frontale) e dello spessore (telecamera laterale, Figura 4).

Come era prevedibile, è evidente la variabilità dei risultati delle prove se si osserva l'andamento delle curve delle forze (Figura 5). Così, l'andamento delle curve tensioni reali-deformazioni è differente da provino a provino (Figura 6), sia come carichi di rottura, da un minimo di 287 kPa ad un massimo di 1481 kPa, che come deformazione massima a rottura, dal minimo 61% al massimo 133%.

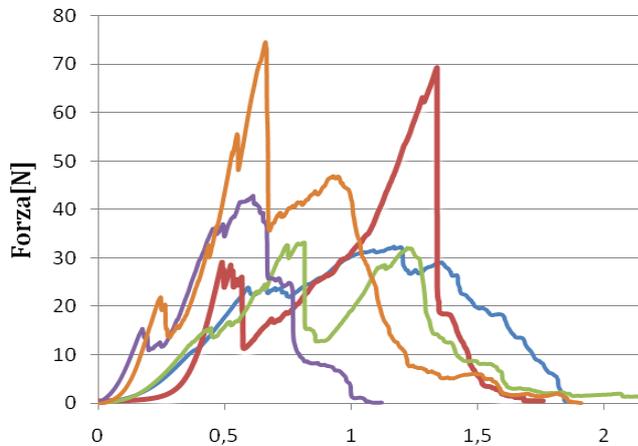


Figura 5: Curva forze-deformazioni monoassiali.

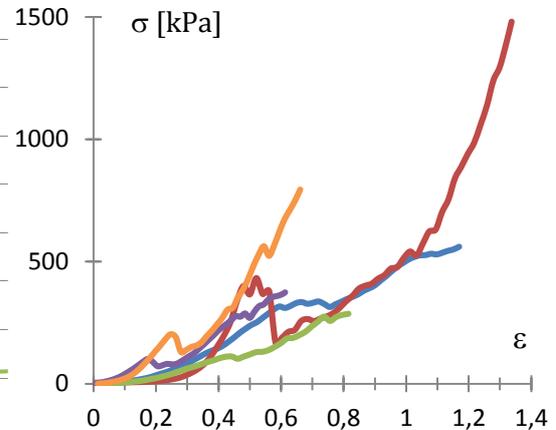


Figura 6: Tensioni reali.

Caratteristica comune a tutte le prove è la presenza di una o più punte di massimo relativo nella fase iniziale della prova, seguite da un ulteriore incremento delle capacità di resistenza fino al carico massimo e alla rottura. Questi picchi si attestano intorno al 30% del carico massimo di rottura. Questo comportamento può trovare spiegazione nei fenomeni della differente rigidità delle tonache e del reclutamento delle fibre, non allineate nella fase iniziale, sul modello di quanto accade nei legamenti.

3.1. Prove equibiassiali

Le prove di rilassamento equibiassiale sono state eseguite utilizzando una macchina di prova appositamente costruita per misure su elastomeri. La macchina consiste in un telaio verticale in materiale plastico (PMMA), che supporta un sistema di carico/deformazione basato sullo spostamento di una traversa mobile. Questa, mediante un cavo di acciaio che scorre su apposite pulegge, muove simmetricamente gli afferraggi orizzontali e verticali. Celle estensimetriche realizzate appositamente ed opportunamente calibrate, permettono il controllo del carico che, sincronizzato con la deformazione imposta, viene trasferito ad un sistema di controllo e processo (Figura 7). La macchina, pur se di più semplice costruzione rispetto ad altre [15-20], si dimostra versatile ed efficace per piccoli carichi.

La macchina base, precedentemente usata per analisi di materiali elastomerici, è stata modificata aumentando i limiti di spostamento delle ganasce, consentendo lo studio di provini di maggiori dimensioni, e rendendo possibili maggiori deformazioni. Il massimo spostamento possibile delle ganasce è aumentato a 50 mm (Figura 8).

Le caratteristiche del materiale biologico necessitano di afferraggi che non comprimano troppo il provino e nel contempo non lo facciano scivolare, le dimensioni della superficie utile all'afferraggio sono state portate a 20x15 mm utilizzando blocchetti di alluminio. Le ganasce sono collegate attraverso un cavetto di acciaio alla traversa superiore rigidamente collegata a sua volta allo stativo verticale comandato dal motore passo-passo bipolare NEMA 23 da 2,5 A, 1 Nm, controllato dal computer tramite la scheda di controllo Phidget Stepper Bipolar 1-Motor 1063.

Tra le ganasce e la traversa sono interposte due celle di carico (una orizzontale e una verticale), costituite da un blocchetto di poliossimetilene (POM), su cui è stato incollato un estensimetro per misurare la deformazione lineare (Figura 9). Guide e pulegge di maggiore dimensione sono quindi state sostituite alle precedenti in modo da avere una maggiore stabilità della struttura e di poter fissare più saldamente gli afferraggi più grandi. Le guide hanno una larghezza di 27 mm, le pulegge hanno un diametro di 29 mm (Figura 10).

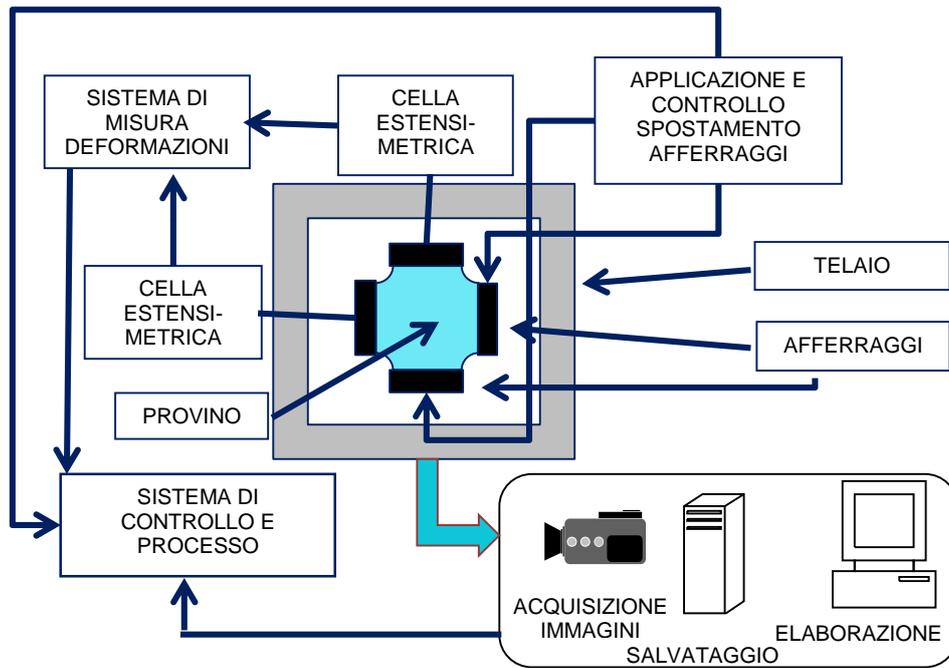


Figura 7: Schema della macchina di prova equibiassiale.



Figura 8: Macchina di prova equibiassiale.

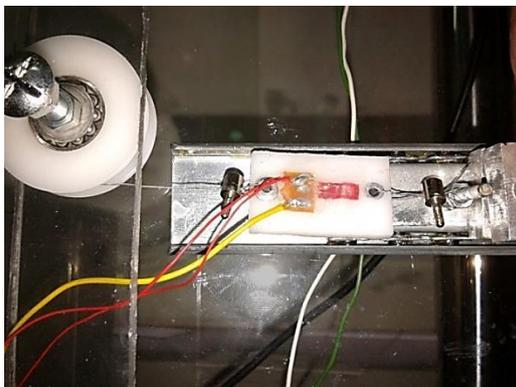


Figura 9: Cella di carico.



Figura 10: Guide e pulegge.

La centralina estensimetrica usata è una National Instruments SCXI 1600. Il software che consente alla centralina di compiere tali operazioni è stato sviluppato interamente in LabView. Il diagramma a blocchi, una volta selezionate le sorgenti del segnale in tensione proveniente dalle celle di carico, consente di calibrare il ponte di Wheatstone, filtrare il segnale da eventuali disturbi provenienti dalla rete elettrica, amplificarlo ed ottenere in uscita un file di testo contenente i dati con la frequenza di campionamento scelta (Figura 11). I compressori utilizzati eseguono una media su un determinato numero di valori misurati dalle celle, si è scelto di analizzare 2 dati/s. La calibrazione dei segnali orizzontale e verticale, effettuata per un materiale omogeneo ed isotropo (silicone) è riportata in Figura 13.

Il pannello frontale LabView simula i dispositivi di uscita degli strumenti e visualizza i dati che lo schema a blocchi acquisisce o genera; permette di controllare l'andamento delle deformazioni in tempo reale (in Figura 12 il grafico in alto visualizza il segnale della cella di carico orizzontale mentre il grafico in basso quella verticale) e azionare o interrompere il salvataggio dei dati (levetta a sinistra).

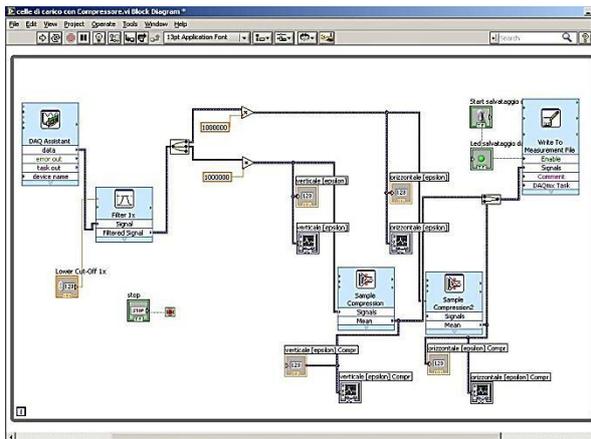


Figura 11: Block diagram per acquisizione dati.

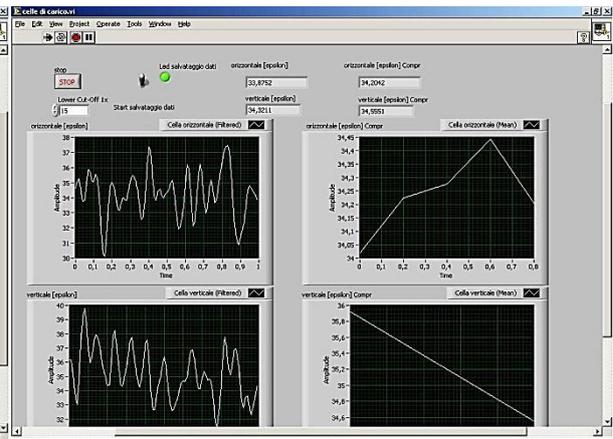


Figura 12: Front panel.

La registrazione delle immagini è stata eseguita tramite telecamera ad alta definizione GigE mono DMK 23G445, che permette di acquisire fino a 30 fps; so o state utilizzate lenti FUJINON TV LENS HF35HA-1B con risoluzione fino a 1.5 Mpixel. Le immagini sono state analizzate mediante Vision Builder AI, filtrate opportunamente in scala di grigi; quindi, definiti i punti caratteristici, è stato possibile definire la loro distanza in pixel. Mediante una semplice conversione in base a grandezze note presenti nell'immagine, si è valutato lo spostamento relativo [21, 22].

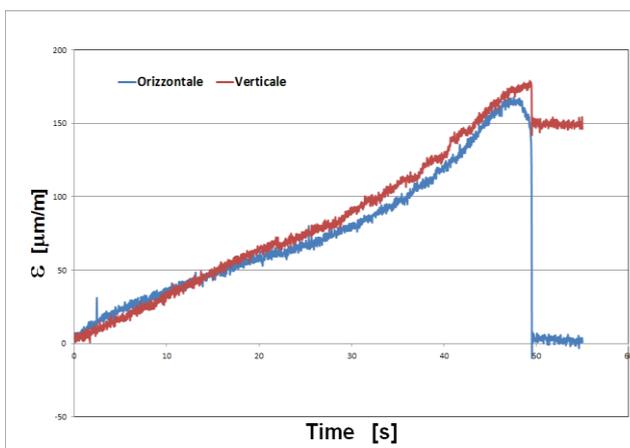


Figura 13: Calibrazione delle celle di carico.

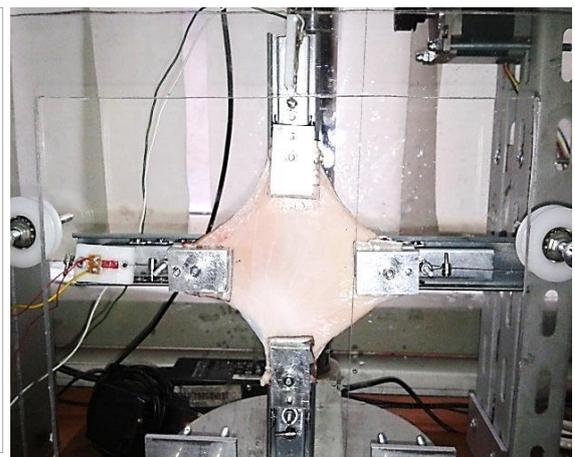


Figura 14: Prova di rilassamento equibiassiale.

Per eseguire la prova equibiassiale è stato utilizzato un provino quadrato delle dimensioni di 50 mm per lato e dello spessore di 3.5 mm (Figura 14). Il provino è stato sottoposto ad un allungamento di 20 mm nelle due direzioni, corrispondente ad una deformazione del 43%.

4. RISULTATI

Per le prove monoassiali, sono stati misurati sia i moduli elastici relativi al tratto iniziale (modulo iniziale) che quelli relativi alla seconda fase (modulo generale). Ovviamente, anche questi sono risultati estremamente variabili: da 15 kPa a 205 kPa per il modulo iniziale, da 323 kPa ad un massimo di 1888 kPa per quello generale.

La prova di rilassamento monoassiale si riferisce ad un provino di 85 mm di lunghezza, 35 mm di larghezza e 3 mm di spessore. La lunghezza libera era di 62.7 mm. E' stato applicato un allungamento impulsivo di 54 mm, corrispondenti ad una deformazione dell'85%. La tensione iniziale è risultata di 121 kPa, per ridursi gradualmente a 19.4 kPa dopo circa 4 ore (Figura 15).

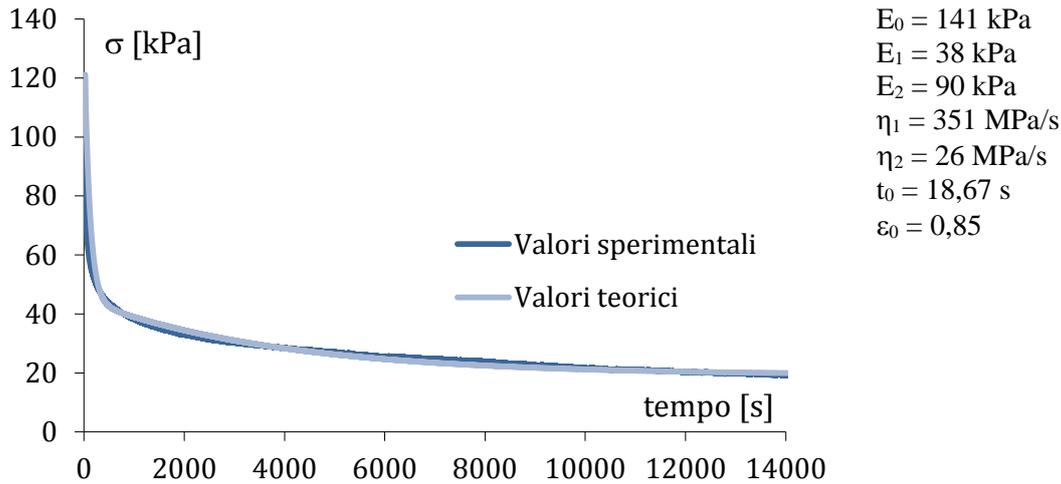


Figura 15: Curva di rilassamento monoassiale ed approssimazione con modello teorico.

Il modello utilizzato per rappresentare l'andamento della curva di rilassamento è quello a 5 parametri (Figura 16). Consta di un elemento elastico collegato in serie a due modelli di Kelvin-Voigt. La risposta del sistema nel dominio del tempo è espressa in termini di tensione:

$$\sigma(t) = \varepsilon_0 \frac{g}{b} + \frac{\varepsilon_0}{p_1} \left(\frac{E_0 p_1^2 + f p_1 + g}{p_1 - p_2} \right) e^{p_1(t-t_0)} - \frac{\varepsilon_0}{p_2} \left(\frac{E_0 p_2^2 + f p_2 + g}{p_1 - p_2} \right) e^{p_2(t-t_0)}$$

con

$$a = \frac{E_1 \eta_2 + E_2 \eta_1 + E_0 \eta_2 + E_0 \eta_1}{\eta_1 \eta_2},$$

$$b = \frac{E_1 E_2 + E_0 E_1 + E_0 E_2}{\eta_1 \eta_2},$$

$$f = \frac{E_0 (E_1 \eta_2 + E_2 \eta_1)}{\eta_1 \eta_2}, \quad g = \frac{E_0 E_1 E_2}{\eta_1 \eta_2},$$

$$p_1 = \frac{-a + \sqrt{\Delta}}{2}, \quad p_2 = \frac{-a - \sqrt{\Delta}}{2}, \quad \Delta = a^2 - 4b$$

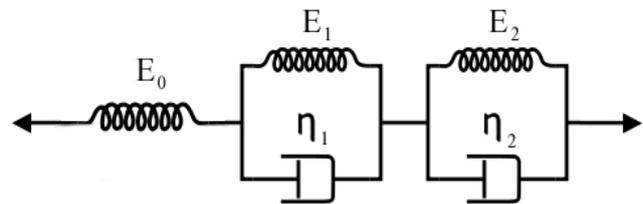


Figura 16: Modello a 5 parametri

Per trovare la curva che approssima meglio la curva di rilassamento misurata sperimentalmente, è stata riportata la precedente formula su un foglio di calcolo Excel per ogni istante di tempo; quindi si è trovata la curva approssimante modificando i valori di E_1 , E_2 , η_1 , η_2 fino a trovare un buon accordo con la curva sperimentale (Figura 14). Accanto al grafico sono riportati i valori dei parametri ottenuti.

Nella prova equibiassiale, essendo il materiale anisotropo e non omogeneo, le due celle di carico della macchina di prova (verticale ed orizzontale) hanno misurato due grafici distinti. La differenza tra i valori

misurati nelle due direzioni risulta in media del 20%, con valori più elevati soltanto nella fase iniziale impulsiva, con la cella orizzontale che ha misurato valori maggiori durante tutta la prova. La forza massima misurata dalla cella orizzontale equivale a 24.0 N, mentre quella della cella verticale è risultata 15.3 N. La stabilizzazione è avvenuta in circa 45 minuti, ad un valore asintotico di 8.9 N per l'asse orizzontale, di 7.3 N per l'asse verticale (Figura 17).

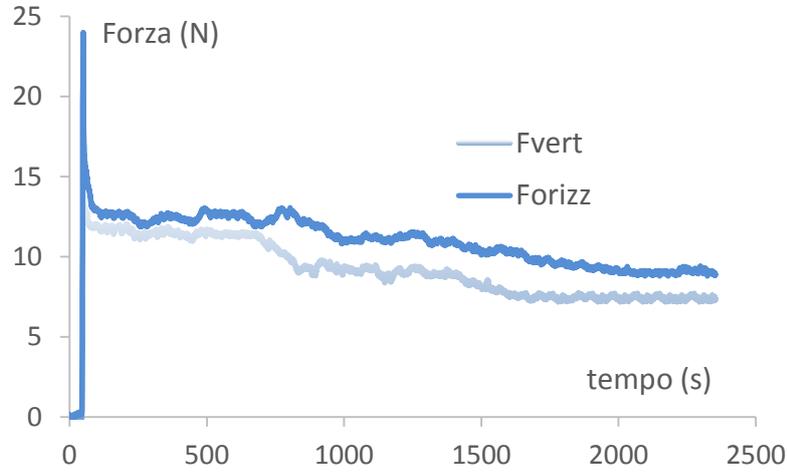


Figura 17: Curve di rilassamento nella prova equibiassiale.

Anche per la prova di rilassamento equibiassiale, il modello usato per la rappresentazione della curva è stato quello a 5 parametri. In questo caso, al momento attuale, sono riportati i valori delle costanti elastiche (k_i) e dei coefficienti di smorzamento (c_i) relativi all'intero provino anziché quelli di E_i e η_i . La distribuzione delle tensioni, infatti, come noto per piastre sollecitate agli angoli, presenta un andamento tensionale piuttosto complesso. La difficoltà di realizzare provini cruciformi, più adatti alla determinazione dei parametri viscoelastici del materiale, a causa della natura del tessuto e della necessità di una rapida manipolazione a temperatura ambiente, limita lo studio in questa fase. Nelle Figure 18 e 19 sono riportate le curve approssimanti per le celle di carico orizzontale e verticale. Accanto ai grafici, sono riportati i valori dei parametri trovati.

I valori ricavati sono piuttosto differenti nelle due direzioni, dimostrando la sostanziale anisotropia del tessuto. Inoltre, sono maggiori dei valori riscontrati nel caso monoassiale, come ci si aspetta in accordo con le teorie sugli elastomeri, fino ad un ordine di grandezza. La causa di questa grande differenza è da ricercare anche nella dispersione di risultati che si evidenzia nell'analisi di stomaci differenti per età, metabolismo, conservazione. In ogni caso, comunque, le funzioni trovate sono indicative dell'andamento viscoelastico del tessuto.

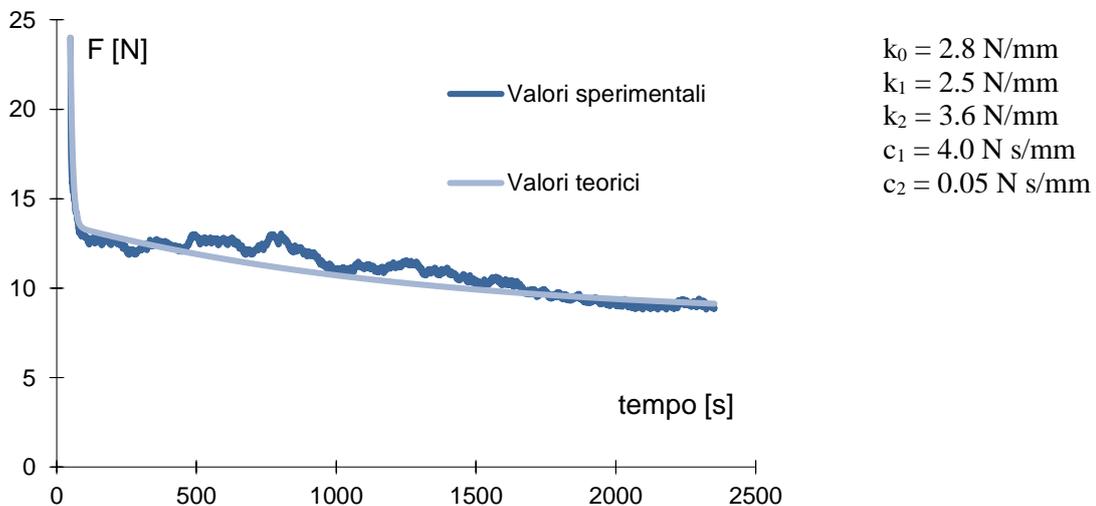


Figura 18: Curve sperimentale e teorica per l'asse orizzontale.

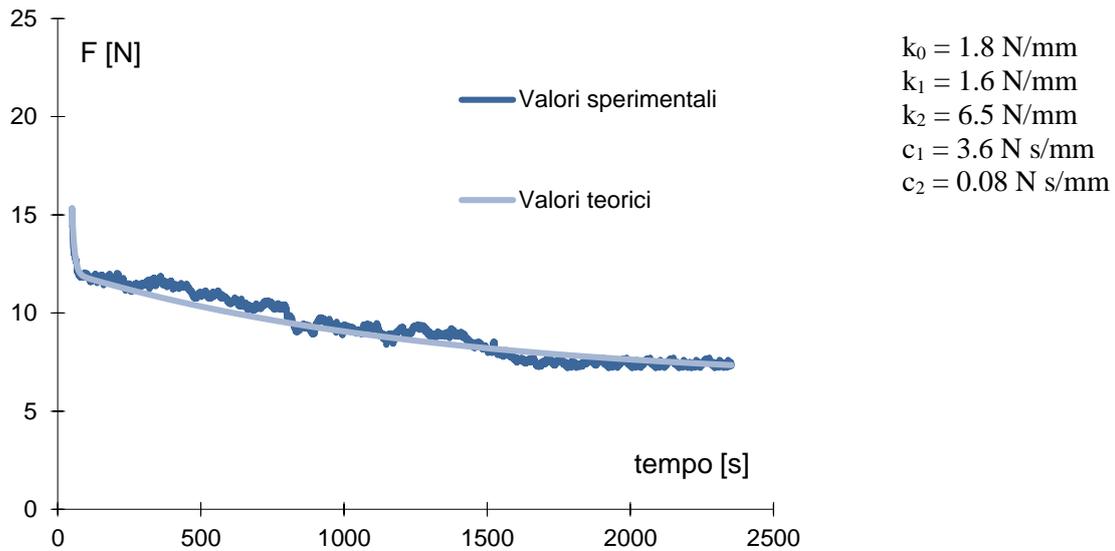


Figura 18: Curve sperimentale e teorica per l'asse verticale.

5. CONCLUSIONI

Lo studio condotto è stato finalizzato alla caratterizzazione del materiale biologico dello stomaco di suino. Come era prevedibile, i risultati delle prove sono stati fortemente influenzati dalla natura anisotropa e non omogenea del materiale, per cui, per i vari provini analizzati, i valori trovati per i parametri caratteristici (carico di rottura, modulo di Young, deformazione massima a rottura, ...) hanno fornito valori anche fortemente discosti tra loro.

La fase iniziale della ricerca è stata finalizzata alla misurazione dei carichi di rottura e del modulo elastico sulla base di prove di trazione monoassiali. Le prove hanno fornito valori del carico di rottura compresi tra 287 kPa e 1481 kPa. Le deformazioni massime a rottura si attestano tra un valore minimo di 61% e massimo di 133%. Successivamente alla rottura, per ogni prova, si è evidenziato il mantenimento di una discreta resistenza al carico fino ad allungamenti notevoli.

Dalle stesse prove di trazione monoassiale sono stati ottenuti i valori del modulo di Young iniziale, che sono risultati compresi tra 15 kPa e 205 kPa e del modulo di elasticità generale, ottenuto dalla tangente alla curva nel tratto successivo a quello iniziale, ottenendo valori compresi tra 323 kPa e 1888 kPa.

Nella seconda parte dell'analisi a tensione monoassiale è stato studiato il comportamento a rilassamento del materiale biologico, che ha mostrato una risposta che può essere ben descritta dal modello a 5 parametri.

Per la prova di rilassamento biassiale è stata utilizzata una macchina di prova equibiassiale. La macchina precedentemente usata per misure su elastomeri, è stata modificata ed ottimizzata, in questo lavoro, in funzione delle caratteristiche del materiale e delle prove da effettuare.

Come previsto, il materiale ha dimostrato un comportamento anisotropo e non omogeneo fornendo valori distinti per le due direzioni di carico. È stata riscontrata una differenza tra i valori misurati nelle due direzioni in media del 20% con valori massimi in corrispondenza del carico iniziale. Anche per le prove equibiassiali, il modello a 5 parametri ha mostrato di approssimare in maniera adeguata la realtà sperimentale. Pur se non fortemente significativi in termini di valori assoluti, a causa della grande dispersione tipica dei tessuti biologici molli, i valori trovati confermano la possibilità di usare le metodologie proposte per la valutazione del comportamento viscoelastico del materiale.

Come suddetto, gli autori ritengono che risultati più significativi sul materiale potranno essere ottenuti utilizzando provini cruciformi, per i quali l'andamento tensionale è più facilmente controllabile e si propongono di proseguire le prove in tal senso.

In conclusione, i risultati ottenuti hanno dimostrato la concretezza dell'utilizzo del suddetto modello per la caratterizzazione del materiale biologico rappresentandone con buona approssimazione il comportamento viscoelastico.

BIBLIOGRAFIA

- [1] H. Tie, P. D. Jaydev. “Characterization of Soft-Tissue Material Properties: Large Deformation Analysis”. *Medical Simulation. Lecture Notes in Computer Science* 2004; 3078: 28-37.
- [2] M. A. J. Cox, N. J. B. Driessen, C. V. C. Bouten, F. P. T. Baaijens. “Mechanical Characterization of Anisotropic Planar Biological Soft Tissues Using Large Indentation: A Computational Feasibility Study”. *Transactions of the ASME* 2006, 128: 428-36.
- [3] S. M. Belkoff, E. C. Naylor, R. Walshaw, E. Lanigan, C. Lee, R. C. Haut. “Effects of subcutaneous expansion on the mechanical properties of porcine skin”. *J Surg Res* 1995; 58 (2):117–23.
- [4] M. Cheng, W. Chen. “Compressive Stress-Strain Behavior of a Porcine Skin Perpendicular to the Body Axis at Various Loading Rates”. *SEM X International Congress & Exposition on Experimental & Applied Mechanics* 2004.
- [5] O.A. Shergold, N.A. Fleck, D. Radford. “The uniaxial stress versus strain response of pig skin and silicone rubber at low and high strain rates”. *Int J Impact Eng* 2006; 32 (9):1384–402.
- [6] Z. G. Jia, W. Li, Z. R. Zhou. “Mechanical characterization of stomach tissue under uniaxial tensile action”. *J Biomech.* 2015; 48 (4):651-8.
- [7] J. Zhao, D. Liao, P. Chen, P. Kunwald, H. Gregersen. “Stomach stress and strain depend on location, direction and the layered structure”. *J Biomech.* 2008; 41 (16):3441-7.
- [8] V.I. Egorov, I.V. Schastlivtsev, E.V. Prut, A.O. Baranov, R.A. Turusov, “Mechanical properties of the human gastrointestinal tract”, *Journal of Biomechanics*, 35, 1417–1425 (2002).
- [9] R. P. Vito. “The mechanical properties of soft tissues—I. A mechanical system for biaxial testing”. *J. Biomechanics*, 1980 (13): 947–950.
- [10] M. S. Sacks., “Biaxial Mechanical Evaluation of Planar Biological materials”. *J. Elasticity*, 2000 (61): 199–244.
- [11] G. La Rosa, F. Lo Savio. “Analisi sperimentale viscoelastica su tessuti biologici molli”. 43° Convegno Nazionale AIAS, Bologna (2014).
- [12] G. Basile, C. Cirimi, G. La Rosa, F. Lo Savio, “Caratterizzazione equibiassiale con bulge test di materiali biologici ed iperelastici, X Giornata di Studio in Bioingegneria, Catania (2011).
- [13] D. I. Soybel, MD. “Anatomy and Physiology of the Stomach”. *Surg. Clin. N. Am.* 2005 (85): 875–894.
- [14] T. K. Boon, K. Jung, S. A. Mandayam. “*In Vivo* Mechanical Behavior of Intra-abdominal Organs”. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 2006; 53 (11): 2129–38.
- [15] A. Avanzini, D. Battini, M. Berardi, M. Lancini. “Banco prova biassiale per la caratterizzazione meccanica di tessuti biologici e biomateriali”. 43° Convegno Nazionale AIAS, Bologna (2014).
- [16] Y. Hanabusaa, H. Takizawab, T. Kuwabara. “Numerical verification of a biaxial tensile test method using a cruciform specimen”. *Journal of Materials Processing Technology* 2013 (213) 961– 970.
- [17] S. Kawabata, M. Matsuda, K. Tei, H. Kawai. “Experimental Survey of the Strain Energy Density Function of Isoprene Rubber Vulcanizate”. *Macromolecules* 1981 (14): 154-162.
- [18] A. Samir, A. Simon, A. Scholz, C. Berger. “Service-type creep-fatigue experiments with cruciform specimens and modelling of deformation”. *International Journal of Fatigue* 2006 (28): 643–651.
- [19] M. Brieu, J. Diani, N. Bhatnagar. “A New Biaxial Tension Test Fixture for Uniaxial Testing Machine—A Validation for Hyperelastic Behavior of Rubber-like Materials”. *Journal of Testing and Evaluation*, 2007 (35), 4: 1-9.
- [20] E. Hoferlin, A. Van Bael, P. Van Houtte, G. Steyaert, C. De Maré. “The design of a biaxial tensile test and its use for the validation of crystallographic yield loci”. *Mod. Simul. Mater. Sci. Eng.* 2000 (8): 423–433.
- [21] M. Sasso, D. Amodio, “Development of biaxial stretching machine for rubbers by optical methods”, *Proc. of SEM Annual Conference & Exposition on Experimental and Applied Mechanics, St Louis – MO, U.S.A.* (2006).
- [22] M. Sasso, D. Amodio, “Sistema ottico di rilievo delle deformazioni per prove di tensione equibiassiale su elastomeri”, XXXVI Convegno AIAS, Napoli (2007).