



**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA**



**DIPARTIMENTO DI
INGEGNERIA
DELL'INFORMAZIONE**

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

**“UTILIZZO DELLA DIGITAL IMAGE CORRELATION NELLE PROVE
MECCANICHE PER LA CARATTERIZZAZIONE DEI MATERIALI
BIOLOGICI”**

Relatore: Dr. Alice Berardo

Laureando: Filippo Schiochetto

ANNO ACCADEMICO 2022 – 2023

16 marzo 2023

Ringraziamenti:

*Un ringraziamento speciale alla mia famiglia
che ha sempre creduto in me,
così come tutti i miei amici,
vi voglio bene!*

Indice

.....	i
1	Introduzione 3
2	Introduzione DIC 4
3	Principio di funzionamento 6
4	Preparazione della superficie dei campioni biologici 9
5	Parametri dell’algoritmo di correlazione 13
5.1	Dimensioni della sfaccettatura 14
5.2	Spaziatura della griglia 16
5.3	Finestra di calcolo della deformazione 17
5.4	Quota di validità 17
5.5	Filtraggio 17
5.5.1	Filtri lineari 19
5.5.2	Filtri per immagini digitali 19
5.5.3	Tecniche di combinazione applicate ad immagini e distribuzioni di deformazione 20
6	Errori che influenzano le misurazioni DIC in biomeccanica 20
6.1	Accuratezza e precisione 20
6.2	Errori dovuti al pattern 21
6.3	Errori che influenzano le immagini acquisite 21
6.4	Errori dovuti al processo di correlazione 22
6.5	Raccomandazioni per ridurre al minimo gli errori di misura nelle applicazioni biomeccaniche 22
7	Applicazioni ai tessuti molli 22
8	Esempi di applicazione a tessuti biologici 23
8.1	Introduzione 23
8.2	Dal lavoro di Zhang et al., applicazione della DIC per lo studio del comportamento meccanico dell’arteria bovina 24
8.2.1	Preparazione dei campioni per l’utilizzo della DIC 24
8.2.2	Metodo 25
8.2.3	Risultati 25
8.3	Dal lavoro di Luyckx et al., applicazione della DIC per lo studio del comportamento meccanico del tessuto tendineo umano 27
8.3.1	Preparazione dei campioni per l’utilizzo della DIC 27

8.3.2	Metodo.....	28
8.3.3	Risultati	31
9	Conclusioni.....	36
10	Bibliografia.....	38

1 Introduzione

Perché è importante misurare a pieno campo spostamenti e tensioni nei materiali biologici e come è possibile farlo?

La misurazione dello spostamento e della deformazione è un'attività importante in biomeccanica sperimentale perché permette di caratterizzare i tessuti biologici, gli organi e le loro interazioni con i dispositivi biomedici. A causa delle caratteristiche dei campioni biologici, che sono principalmente non omogenei ed anisotropi, è estremamente importante ottenere misurazioni a tutto campo per identificare i danni locali, come l'insacco o la propagazione di una crepa. Le misurazioni puntuali, come quelle fornite dagli estensimetri, a volte non sono sufficienti per monitorare completamente un esperimento. Nelle ultime decadi, perciò, è stata sviluppata la Digital Image Correlation, una tecnica che, tramite l'acquisizione di immagini digitali di un oggetto sottoposto a diversi carichi ed eseguendo l'analisi dell'immagine con algoritmi di corrispondenza basati sulla correlazione e approcci di differenziazione numerica, è in grado di estrarre tutte le informazioni riguardanti lo spostamento e la deformazione a tutto campo dei campioni biologici.

2 Introduzione DIC

Tra le diverse tecniche ottiche, quelle più frequentemente utilizzate al giorno d'oggi sono quelle digitali che consentono l'automazione del processo di acquisizione e analisi. Dopo una prima fase di generale diffidenza durante gli anni '80, seguita dalle prime applicazioni di successo sui test meccanici negli anni '90, le tecniche di misura ottica sono diventate molto interessanti e vengono sempre più applicate negli ambienti industriali e di ricerca. Queste tecniche di misura consentono:

- Misurazioni a tutto campo attraverso la visualizzazione di gradienti e concentrazioni di tensione. Ciò produce una descrizione più completa nel comportamento dei campioni biologici durante i test in vitro;
- Misurazioni senza contatto che consentono la misura della tensione senza disturbare la risposta meccanica locale del materiale. Questo requisito è particolarmente importante per i materiali deformabili come i tessuti molli
- Preparazione relativamente semplice della superficie rispetto ad altre tecniche di misura, come l'applicazione di estensimetri o sensori a fibra di Bragg

Alcune tecniche di misurazione ottica, come l'interferometria olografica, l'interferometria speckle (compresa la sua versione digitale, l'interferometria elettronica speckle pattern) sono molto accurate, ma sono troppo sensibili a piccoli spostamenti e quindi inadatte a materiali deformabili come i tessuti biologici. Altre tecniche ottiche, come l'interferometria Moirè, richiedono la preparazione di un modello regolare sulla superficie del campione, che può essere molto difficile per i campioni biologici con una geometria irregolare. In generale, tutte queste tecniche hanno trovato recentemente un'applicazione molto limitata a causa della loro complessità nell'uso pratico. Una tecnica ottica promettente per il campo biomeccanico è la correlazione digitale d'immagine (DIC), la quale è in grado di superare la maggior parte di queste limitazioni.

La popolarità sempre maggiore della DIC può essere attribuita alla sua capacità di adattarsi facilmente a diverse dimensioni, alla flessibilità del suo principio di funzionamento, alla sua robustezza e alla semplicità d'uso. Negli ultimi tre decenni è stata applicata in molteplici settori dell'ingegneria che prevedono misure full-field senza contatto, tra cui la meccanica sperimentale, la biomeccanica/meccanica delle cellule, il monitoraggio della salute strutturale, la meccanica della frattura e dei materiali compositi.

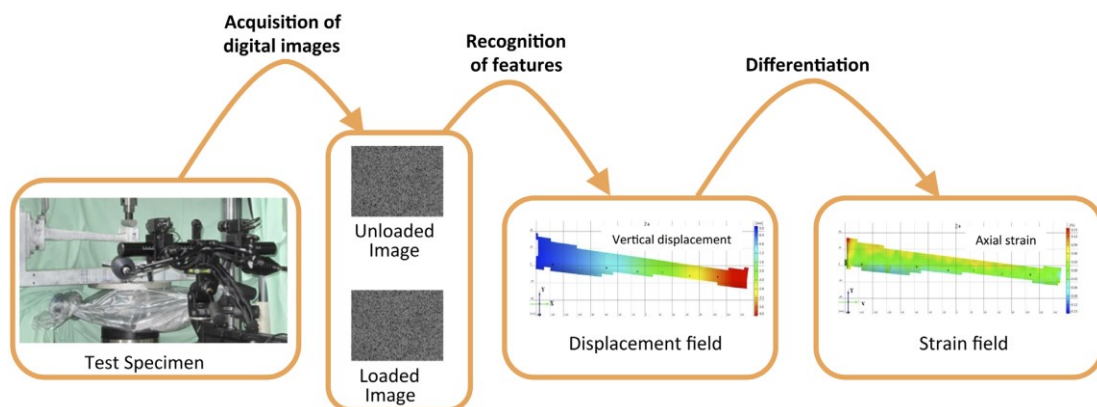


Fig.1 Flusso di lavoro per la misurazione dello spostamento e dello stiramento con DIC: come esempio è stato preso un sistema 3D-DIC per analizzare una tibia umana (Palanca et al, 2016).

L'algoritmo tradizionale utilizzato dalla DIC confronta le immagini di riferimento non deformate con le immagini target deformate per ottenere informazioni complete sullo spostamento e sulla deformazione. Per affrontare la complessità computativa della corrispondenza di correlazione a tutto campo sono state introdotte alcune strategie di elaborazione ad alte prestazioni come il calcolo parallelo e algoritmi di correlazione incrociata basati sulla trasformata di Fourier. Per far fronte a immagini speckle rumorose con deformazioni eterogenee sono stati sviluppati alcuni trattamenti specifici, ad esempio algoritmi di prefiltraggio dell'immagine, schemi di regolarizzazione numerica e funzioni di finestra auto-adattive per migliorare la stabilità e la robustezza delle misurazioni DIC. Inoltre, anche il deep learning è un potente strumento che offre un'alternativa per recuperare i dati di deformazione poiché può risolvere problemi di ottimizzazione non lineare. La conoscenza del comportamento meccanico dei tessuti molli e duri è spesso preziosa per la diagnosi delle malattie e per la progettazione di nuovi biomateriali. Le tecniche ottiche sono state utilizzate con successo per caratterizzare le proprietà

di materiali avanzati, in particolare quelli che mostrano anisotropia o inomogeneità. Tuttavia, le proprietà fisiche e meccaniche dei tessuti sono generalmente più difficili da valutare rispetto a quelle dei materiali ingegneristici, sia convenzionali che avanzati. La necessità di mantenere l'idratazione, le limitazioni di dimensione o geometriche dei campioni di tessuto disponibili e le difficoltà incontrate nella preparazione dei provini sono fattori cruciali di cui tener conto. Pertanto, c'è stato un notevole interesse nell'utilizzo di metodi ottici per caratterizzare il comportamento meccanico dei tessuti biologici. Questi metodi si basano sull'illuminazione laser e sull'interferometria, e sono stati adottati per la ricerca di biomeccanica in medicina e odontoiatria. I metodi ottici basati sul laser per la misurazione dello spostamento sono molto precisi e in grado di risolvere tipicamente spostamenti submicrometrici. Tuttavia, il range di misura è spesso limitato per la maggior parte dei tessuti, soprattutto per quelli molli, che subiscono deformazioni moderate in vivo superiori alla gamma di misura disponibile dalle tecniche interferometriche. Inoltre, la preparazione della superficie è complessa e deve essere condotta senza disidratare il tessuto, il che rappresenta un'ulteriore sfida.[1]

3 Principio di funzionamento

La Digital Image Correlation si basa sull'acquisizione di immagini della superficie di un campione allo stato originale di riferimento e deformato. La DIC può essere implementata sia in versione bidimensionale (2D-DIC, con una sola telecamera) che tridimensionale (3D-DIC, con due o più telecamere). Una tipica disposizione sperimentale per la 2-DIC è mostrata nella Fig.1.

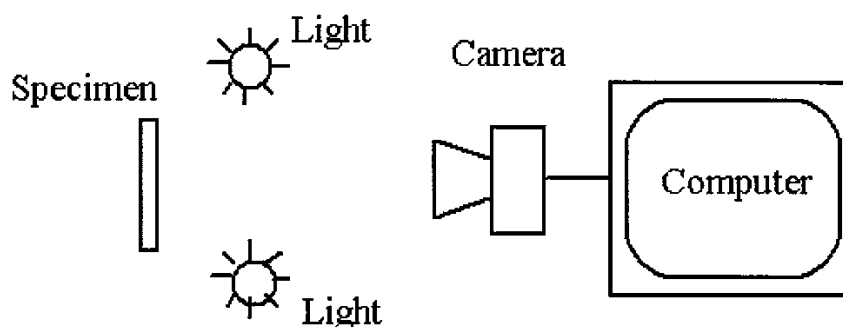


Fig.2 Diagramma schematico delle apparecchiature per DIC (Zhang et al., 2004).

Una sorgente luminosa incoerente (l'emissione avviene in modo caotico, i massimi ed i minimi tendono a sottrarsi in alcuni punti e a sommarsi in altri) viene utilizzata per illuminare uniformemente la superficie dell'oggetto ed una telecamera digitale ad alta risoluzione spaziale viene posizionata perpendicolarmente alla superficie illuminata. Vengono quindi scattate le già menzionate due immagini, una precedente ed una successiva alla deformazione. Grazie ad un'adeguata preparazione della superficie che apparirà "macchiata", l'interazione tra la luce incidente e la superficie del campione produce un'immagine con variazioni casuali, ad alto contrasto e ad alta frequenza rispetto all'intensità della luce. I due fotogrammi registrati prima e dopo la deformazione documentano la distribuzione delle "macchie" e possono essere rappresentate dalla distribuzione dell'intensità in scala di grigi. I valori dei livelli di grigio variano da 0 a 255, dove 0 rappresenta l'intensità luminosa nulla e 255 l'intensità luminosa massima.

La diffusione dell'intensità luminosa è unica in ogni punto della superficie e può essere descritta dalla matrice $F(x, y)$ su un sottoinsieme selezionato dell'immagine digitale. Successivamente alla deformazione del provino, si assume che ogni posizione della superficie (x, y) esista in una nuova posizione (x^*, y^*) . Lo spostamento della superficie in piano può essere determinato trovando la collocazione della distribuzione dell'intensità luminosa $F^*(x^*, y^*)$ che più si avvicina a quella dell'immagine originale $F(x, y)$.

La posizione di $F^*(x^*, y^*)$ può essere ricavata attraverso il calcolo del coefficiente di correlazione massimo (C) secondo la seguente formula:

$$C = \frac{\langle FF^* \rangle - \langle F \rangle \langle F^* \rangle}{[\langle (F - \langle F \rangle)^2 \rangle \langle (F^* - \langle F^* \rangle)^2 \rangle]^{\frac{1}{2}}}$$

Dove F e F^* sono rispettivamente le matrici in scala di grigi del sottoinsieme in posizione (x, y) nell'immagine non deformata e (x^*, y^*) nell'immagine deformata. Il simbolo $\langle \ \rangle$ indica il valore medio degli elementi della matrice. La ricerca del punto con il coefficiente di correlazione massimo sull'immagine deformata viene inizialmente implementata in posizioni di pixel interi fino a quando non viene trovata la posizione con il valore massimo. Il metodo classico della cross-correlazione si è dimostrato efficiente e robusto nell'effettuare una ricerca di correlazione di questo tipo. Per aver maggiore precisione, la ricerca della posizione

di C può essere portata avanti dal pixel intero in successivi passi di ricerca da 0,1 pixel a 0,01 pixel fino ad una risoluzione massima finale di 0,001 pixel.

Esistono diverse strategie di ricerca, la più comune delle quali è il metodo di Newton-Raphson il quale è stato più volte perfezionato con correzioni differenziali per accelerare il tempo di ricerca. L'algoritmo modificato ha ridotto il tempo di determinazione della deformazione, eliminando un numero di iterazioni non necessarie, riuscendo comunque a raggiungere un'accuratezza equivalente alla tecnica iterativa grossolana precedentemente utilizzata.

Se lo spostamento fuori piano della superficie è piccolo e può essere trascurato, la posizione nell'immagine deformata (x^*, y^*) è descritta da

$$x^* = x + u + \frac{\partial u}{\partial x} \Delta x + \frac{\partial u}{\partial y} \Delta y$$
$$y^* = y + v + \frac{\partial v}{\partial x} \Delta x + \frac{\partial v}{\partial y} \Delta y$$

dove u e v sono rispettivamente gli spostamenti del centro del sottoinsieme nelle direzioni x e y . Le grandezze u , v , $\partial u/\partial x$, $\partial v/\partial y$, $\partial u/\partial y$ e $\partial v/\partial x$ sono valutate iterativamente e determinate a partire dalla posizione con il massimo coefficiente di correlazione. Dato che gli spostamenti sono molto maggiori delle derivate parziali corrispondenti, il processo può essere semplificato se si ottengono solo gli spostamenti dalla correlazione e la deformazione viene determinata dalle derivate prime

$$\varepsilon_x = \frac{du}{dx}$$
$$\varepsilon_y = \frac{dv}{dy}$$

Dai termini du e dv si nota che il contributo del moto del corpo nelle direzioni x e y verrà eliminato. La funzione di cross-correlazione è capace di rilevare rotazioni nel piano inferiori a 10 gradi. Se la rotazione nel piano è più significativa, ci sono altre tecniche di correlazione che possono essere utilizzate per rilevare il contributo della rotazione. Lo spostamento fuori piano dovrebbe essere limitato alla deformazione risultante dagli effetti di Poisson.

Per minimizzare gli effetti dello spostamento fuori piano, la distanza tra l'obiettivo della fotocamera ed il campione dovrebbe essere massimizzata. Tuttavia, è

necessario fare attenzione a non sacrificare la risoluzione delle misurazioni a causa della corrispondente riduzione dell'ingrandimento dell'immagine.[2] Il 3-DIC può essere considerato come un'estensione del 2-DIC in quanto i principi di funzionamento sono simili, ma estesi su una terza dimensione utilizzando due o più telecamere stereoscopiche.

4 Preparazione della superficie dei campioni biologici

L'attendibilità delle misurazioni di deformazione tramite correlazione d'immagini digitali (DIC) dipende fortemente dalla qualità del pattern sulla superficie del campione.

Un pattern ideale dovrebbe essere altamente contrastato, stocastico, isotropo e che si deforma insieme alla superficie del campione. Se esso presenta un pattern casuale naturale, dovuto ad una texture intrinseca o a una disomogeneità, questo può essere sfruttato direttamente dal sistema DIC.

In tutti gli altri casi è necessario generare un modello casuale. Per garantire l'accuratezza e la precisione degli spostamenti e delle deformazioni calcolate, il pattern speckle deve soddisfare tutti i requisiti:[3]

- Distribuzione casuale, per rendere ogni area della superficie del campione univocamente identificabile
- Elevato contrasto con lo sfondo, per ridurre il livello di rumore nelle immagini raccolte e consentire all'algoritmo di correlazione di funzionare efficacemente
- Rapporto bianco/nero di 50:50, per evitare regioni che non possono essere riconosciute correttamente
- La rugosità deve essere mantenuta al minimo, per evitare di alterare la geometria della superficie
- Dimensione dei punti speckle in relazione alla dimensione del campione.

Quest'ultima è probabilmente la questione più importante nelle applicazioni biomediche poiché è importante sfruttare in modo ottimale la risoluzione della telecamera. Infatti, più grande è la finestra di misurazione, più grande è l'area corrispondente coperta da ciascun pixel (per una data risoluzione del sensore) e quindi anche i punti del pattern speckle avranno dimensioni maggiori.

Ciò significa che la dimensione dello speckle dovrebbe essere diversa per ogni applicazione per ottenerne la versione migliore. La dimensione ideale dei punti speckle corrisponde a 3-5 pixel. Il fattore di ingrandimento, M , è definito come il rapporto tra il numero di pixel sul lato lungo del sensore della fotocamera e il lato lungo della finestra di misurazione. M indica quindi quanti pixel corrispondono all'unità di lunghezza del campione fisico. Di conseguenza, la dimensione ottimale dei punti speckle corrisponde a 3-5 pixel divisi per M . Per esempio, utilizzando un sensore di una fotocamera da 5 Megapixel (2448x2050 pixel) su un campo visivo di 2 mm x 2 mm (ad esempio, poche trabecole), si ottiene una dimensione ottimale del pattern speckle di circa 0,003 mm. Lo stesso sensore applicato a un'area di interesse più ampia di 2 m x 2m (ad esempio, un intero corpo umano) richiederebbe punti speckle più grandi, circa 3,25 mm.[1]

I punti speckle dovrebbero avere una limitata variabilità in termini di dimensione perché nelle aree con punti speckle piccoli, le dimensioni ridotte dei sottoinsiemi possono fornire spostamenti accurati, mentre nelle aree con punti speckle grandi sono richiesti sottoinsiemi più grandi.

Tuttavia, la creazione di un pattern speckle ottimale è difficile e dipende dall'applicazione (materiale del campione, estensione dell'area osservata, ecc. come riportato in seguito in tabella 1).

Tabella 1. Panoramica dei vari metodi per la produzione di speckle pattern.

Metodo	Dimensione tipica delle macchie (speckle)	Dimensione tipica del campione ed applicazione	Limiti
Nano punti di platino depositati tramite fascio di elettroni focalizzato (FEB)	> 15 nanometri	5,43 x 4,66 μm Microscopio elettronico a scansione con pistola a emissione di campo – fascio ionico focalizzato (FEGSEM/FIB)	L'accuratezza della DIC dipende dall'ingrandimento
Deposizione chimica di particelle di zirconio stabilizzato con ittrio	20-30 nanometri	Microscopio FEGSEM/FIB	L'accuratezza della DIC dipende dall'ingrandimento

Nano punti di platino e deposizione a fascio ionico focalizzato (FIB)	> 30 nanometri	23,3 x 20 µm microscopio FEGSEM/FIB	L'accuratezza della DIC dipende dall'ingrandimento. La deposizione assistita da FIB induce un danno superficiale
Deposizione in soluzione di nanoparticelle di silice fluorescenti	140-180 nanometri	170 x 140 µm microscopio a fluorescenza	
Composto di resina epossidica e particelle di grafite in polvere	3 micrometri	Microscopio ottico	Difficoltà ad eliminare gli agglomerati durante la preparazione del pattern
Dipinto con aerografo a punta fine (ugello da 0,18 mm)	10-30 micrometri	6,4 x 4,8 mm stereomicroscopio	
Particelle calibrate di poliammide	150 micrometri	6 x 10 mm fotocamera CCD	Agglomerazione; sottostima per valori di deformazione superiori al 10% a causa della rigidità delle particelle
Motivo casuale generato al computer e stampato sulla superficie dei campioni	Non indicato	80 x 12,5 mm fotocamera CCD	Solo le superfici possono essere rivestite

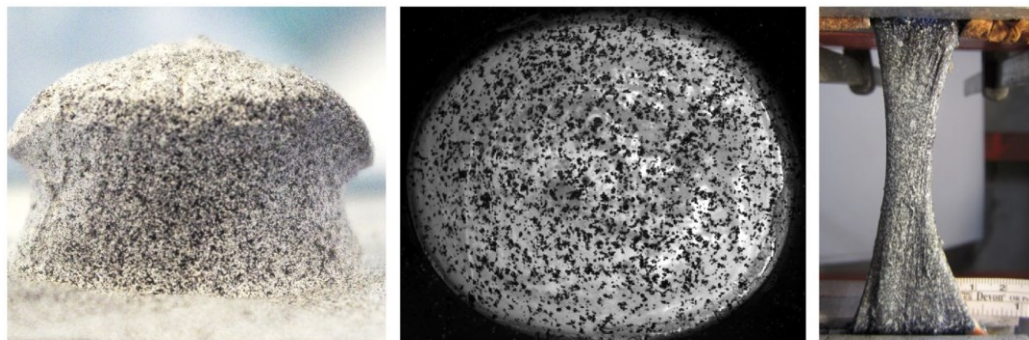
(Lionello et al., 2014)

Per ottenere risultati più attendibili è stato sviluppato un programma per valutare la qualità e l'idoneità di un determinato modello di speckle per una determinata applicazione DIC. Le tecniche per la preparazione di un modello speckle più comunemente utilizzate sono:

- Vernice ad alto contrasto spruzzata con una pistola ad aria compressa. Questa tecnica è adatta sia per piccole che per grandi deformazioni in quanto lo speckle dot stesso viene sollecitato durante la deformazione

- Una dispersione di toner/polvere di grafite posizionata in modo casuale sul campione.

Questa è una procedura ottima in caso di piccole deformazioni, in particolare per i tessuti molli, grazie all'adesione eccellente sulle superfici umide. Al contrario, in caso di grandi deformazioni può produrre una sottostima della deformazione, poiché le particelle di polvere si spostano ma non si deformano quando il campione sottostante viene alterato.



(a) black-on-white; airbrush (b) black-on-white; powder (c) white-on-black; airbrush

Fig. 3 Esempi di campioni con diversi pattern speckle: (a) pattern speckle nero su bianco creato con l'aerografo su una vertebra porcina; (b) pattern speckle nero su bianco creato con la tecnica della polvere su una cornea bovina (Boyce et al. 2008); (c) pattern speckle bianco su nero creato con l'aerografo su un tendine d'Achille umano (Luyckx et al. 2014).

Il pattern speckle nero su bianco è il più utilizzato: prima viene creato uno sfondo bianco uniforme, sul quale vengono aggiunti i puntini neri. Questa preparazione fornisce un contrasto perfetto. Se la superficie del campione è già di colore chiaro (ad esempio l'osso), la preparazione del fondo bianco può essere evitata. L'uso di vernici a base di acqua riduce al minimo l'alterazione dei campioni biologici. In casi sporadici soprattutto per i tessuti molli, si può utilizzare il pattern bianco su nero. Lo sfondo scuro si ottiene immergendo il campione in un agente colorante (tipicamente la colorazione con blu di metilene). In questo modo si evita la delaminazione e lo sgretolamento dello strato di fondo anche in caso di grandi deformazioni, come può accadere con uno strato di vernice. Il pattern speckle bianco viene quindi prodotto sempre con una pistola ad aria compressa. È stata utilizzata anche una preparazione diversa del campione, in cui la colorazione nucleare con bromuro di editio è stata adoperata per incorporare un motivo ad alto

contrasto. Ciò consente un'incorporazione permanente del pattern nella microstruttura del campione.

Di solito le impostazioni dell'aerografo vengono regolate iterativamente fino a quando il pattern speckle creato è qualitativamente simile a quello desiderato. La strategia per tentativi ed errori può richiedere molto tempo, dipende dall'operatore e non garantisce il raggiungimento sistematico delle condizioni ottimali.

Diverse impostazioni operative influenzano il processo di verniciatura ma i quattro fattori principali (controllabili) per aumentare/diminuire la dimensione media delle macchie e la loro dispersione sono:[4]

- Diluzione della vernice
- Flusso d'aria
- Distanza di spruzzatura
- Pressione di esercizio dell'aerografo

5 Parametri dell'algoritmo di correlazione

Per ottenere i migliori risultati possibili da questa tecnica di misurazione è richiesto l'adattamento di alcuni parametri per ogni tipologia di applicazione:

- Dimensione della sfaccettatura (sotto-immagine utilizzata nell'elaborazione)
- Spaziatura della griglia (passo tra sfaccettature consecutive)
- Finestra di calcolo della deformazione (tipicamente più grande della singola sfaccettatura) utilizzata per ricavare il campo di derivazione su un'area più ampia, al fine di attenuare il rumore
- Quota di validità (percentuale minima di punti di calcolo che devono essere disponibili per il calcolo della deformazione in una determinata finestra di calcolo)
- Filtraggio (talvolta applicato alle diverse fasi della correlazione per ridurre il rumore)

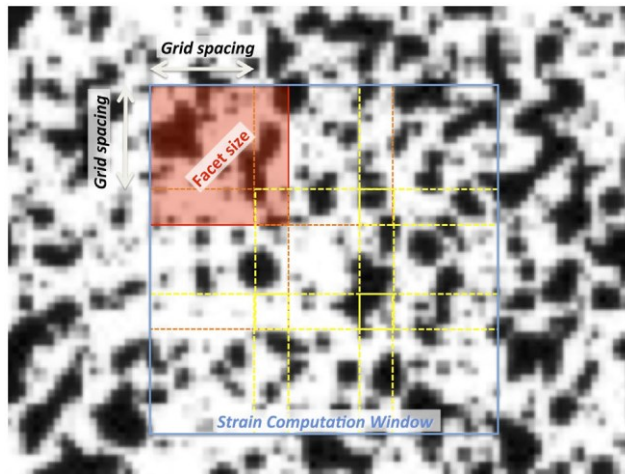


Fig.4 Dettaglio della superficie del campione, preparata con un pattern speckle casuale, visto dopo l'acquisizione come immagine digitale (Palanca et al., 2016)

I valori assegnati a tali parametri determinano l'accuratezza, la precisione, e la risoluzione spaziale. A causa delle numerose possibilità di utilizzo della DIC non esiste un insieme di parametri universalmente ottimale, in particolare in biomeccanica. La scelta deve essere fatta in relazione all'applicazione specifica, cioè tessuto, anatomia e dimensione dei campioni.[1]

5.1 Dimensioni della sfaccettatura

Le immagini digitali vengono suddivise in sotto-immagini, dette facce, di $M \times N$ pixel (in genere quadrati). Ogni sfaccettatura è rappresentata da una distribuzione di livelli di grigi che, nella maggior parte dei casi, viene interpolata da una spline bicubica per ottenere un'approssimazione della scala di grigi tra pixel adiacenti. Ogni sfaccettatura è riassunta dalle informazioni sul modello e dalla sua posizione nello spazio. L'algoritmo di correlazione identifica la regione con la migliore corrispondenza nelle diverse fasi di carico. L'influenza delle dimensioni delle faccette è notevole, deve essere definita in base alle dimensioni del campione (o del campo visivo), alle dimensioni delle macchioline (speckles), ai gradienti di deformazione previsti in base alle condizioni di carico e all'anatomia.

La sfaccettatura dovrebbe essere più grande dei punti speckle per consentire il rilevamento di piccoli spostamenti. Tuttavia, la sfaccettatura non deve essere inutilmente grande in modo da evitare una perdita di risoluzione.[1]

La dimensione dell'insieme di sottoinsiemi è un parametro cruciale per il metodo DIC poiché è una delle principali fonti di errore. La dimensione dei sottoinsiemi dovrebbe essere abbastanza grande da contenere almeno tre punti speckle. Aumentare la dimensione dei sottoinsiemi migliora la soluzione del problema di correlazione, ovvero il grado di somiglianza nella distribuzione di livelli di grigio nel sottoinsieme di destinazione di una sequenza di immagini. Sfortunatamente, aumentare la dimensione dei sottoinsiemi diminuisce anche la risoluzione spaziale e l'accuratezza nella misurazione di gradienti di spostamento o deformazione elevati. Per questa ragione, i punti speckle non dovrebbero essere eccessivamente grandi, al fine di evitare una perdita di risoluzione spaziale.

Per quantificare la qualità dell'immagine del sottoinsieme per la correlazione delle immagini viene utilizzato un parametro chiamato entropia del subset.

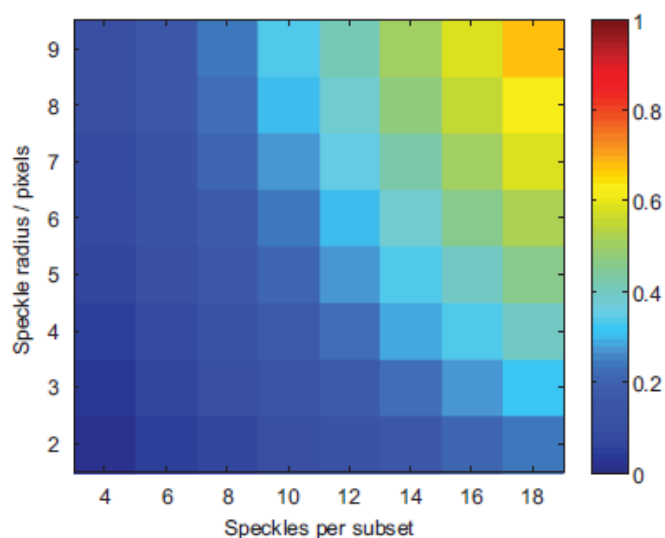


Fig.5 Entropia di Shannon (Crammond et al., 2013).

L'entropia del sottoinsieme è la media delle derivazioni assolute dell'intensità in qualsiasi punto del sottoinsieme dai suoi punti vicini ed è normalizzata dalla profondità del pixel dell'immagine. La figura mostra che più è piccolo il sottoinsieme, più le entropie dei sottoinsiemi in un'immagine sono disperse. È evidente che le immagini con entropie sparse dei sottoinsiemi possono essere utilizzate per studiare la relazione tra l'entropia dei sottoinsiemi e l'accuratezza della misura dello spostamento di un punto misurato.[5]

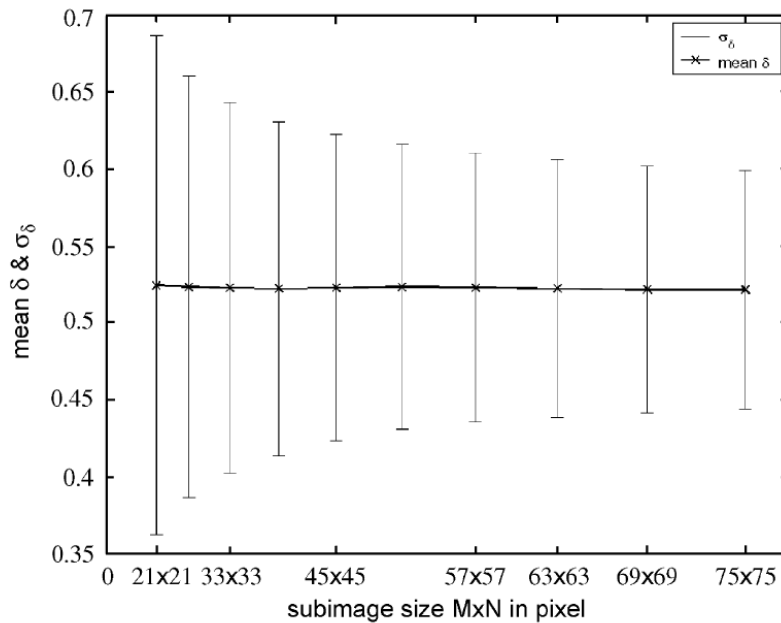


Fig.6 Entropia media del sottoinsieme con barra della deviazione standard rispetto alla dimensione del sottoinsieme (Yaofeng et al., 2007)

5.2 Spaziatura della griglia

Questo parametro indica la distanza tra due sfaccettature consecutive. Esso descrive la densità delle sfaccettature nella finestra di misura: minore è la spaziatura della griglia, maggiore è il numero di sfaccettature il che comporta maggior lavoro computazionale. L'influenza della spaziatura della griglia sulla precisione e l'accuratezza è minima. Al contrario, la sovrapposizione fornisce vantaggi in termini di precisione e accuratezza del campo di deformazione calcolato. La densità dei punti di misura deve essere selezionata in base ai dettagli della prova (tipo di provino, campo visivo, modello e gradiente di deformazione). Per una deformazione uniforme prevista (ad esempio, un osso lungo in flessione) può essere preferibile una maggiore spaziatura della griglia. Al contrario, se si prevedono gradienti di deformazione elevati (ad esempio, campioni con geometria complessa), è necessaria una spaziatura della griglia più piccola.[1], [6]

5.3 Finestra di calcolo della deformazione

Una volta calcolati gli spostamenti per ciascuna sfaccettatura, il campo di deformazione viene calcolato per derivazione. Sebbene in linea di principio 2 x 2 sfaccettature siano sufficienti per calcolare la deformazione locale, spesso si utilizzano finestre più ampie per attenuare il rumore nel campo di deformazione derivato. Se da un lato le finestre di derivazione delle deformazioni più grandi riducono il rumore nella distribuzione delle deformazioni calcolate con DIC, dall'altro ciò può comportare un'attenuazione dei gradienti di deformazione esistenti, che può essere dannosa quando si analizzano campioni con una geometria irregolare (spesso accade con i campioni anatomici). Questo effetto è quindi simile a quello della spaziatura della griglia.[1]

5.4 Quota di validità

La quota di validità rappresenta la tolleranza per calcolare/ignorare la deformazione in una certa regione: se il numero di punti vicini validi è inferiore alla soglia, il software non valuta la deformazione. Un livello elevato della quota di validità significa che le deformazioni vengono calcolate solo quando sono disponibili informazioni ridondanti, fornendo così un valore di deformazione più affidabile. Se il campione avesse una geometria complessa (ad esempio una vertebra o un bacino) potrebbe essere necessaria una soglia più bassa, con conseguenti stime di deformazioni meno affidabili.[1]

5.5 Filtraggio

In generale, la DIC consente di ottenere campi di spostamento molto precisi (cioè affetti da un rumore molto basso, tipicamente sub-pixel). Tuttavia, poiché la derivazione agisce come l'opposto di un filtro (migliorando il rumore nel campo di spostamento calcolato da immagini digitali rumorose), il campo di deformazione è generalmente affetto da un grande errore casuale. Il filtraggio può essere applicato alle immagini digitali e/o al campo di spostamento calcolato con la DIC. Esistono diversi filtri che si differenziano principalmente per l'intensità dell'attenuazione e

la strategia di filtraggio (locale o globale). Tuttavia, in questo modo si smussano anche eventuali concentrazioni di gradiente o di sollecitazione/deformazione, con conseguente perdita di informazione.

Per una deformazione omogenea è possibile utilizzare una spline di lisciatura per attenuare il rumore facendo una media dei risultati ottenuti sull'intero campo visivo. Aree più grandi sono associate a una perdita di informazioni più grave. Al contrario, quando il campione è sottoposto a gradienti di deformazione elevati è preferibile utilizzare un filtraggio locale (a discapito di risultati più rumorosi). In alternativa, la deformazione può essere calcolata mediante un solutore FE, in cui gli spostamenti misurati dal DIC sono imposti ai nodi FE. L'ipotesi di continuum (intrinseca alla modellazione FE) agisce come un filtro passa basso. [1]

Il campo di spostamento nella maggior parte dei casi può essere misurato con precisione di sub-pixel e rumore trascurabile ma ciò non vale per le misure di deformazione a causa del processo di derivazione che tende a enfatizzare il rumore. Nella maggior parte dei casi il rumore appare come un pattern di deformazione non periodico che nasconde i gradienti reali. Le cause di tale rumore sono legate a molteplici fenomeni:

- rumore derivante dalla qualità delle immagini in ingresso associato all'illuminazione irregolare del campione, alla turbolenza dell'aria e alle dimensioni non adeguate degli speckle ed indotto dalla fotocamera stessa.
- rumore legato al processo di correlazione e quindi da un'imprecisa calibrazione del sistema ed imprecisioni numeriche nel software di calcolo

Il rumore non casuale invece crea pattern periodici nelle distribuzioni di tensione. Di solito, viene etichettato come aliasing ed è correlato all'impossibilità di rappresentare pattern di speckle eccessivamente fini nelle immagini acquisite. Nonostante esista un'ampia letteratura sulla filtrazione del rumore per quanto riguarda l'elaborazione delle immagini, vi sono pochi studi che trattano metodi per ridurre il rumore filtrando le immagini di input o le distribuzioni di tensione calcolate dalla DIC. I manuali d'uso dei sistemi DIC commerciali suggeriscono l'uso iterativo di filtri di media e mediana per raggiungere le distribuzioni di deformazione previste. La maggior parte degli studi esistenti sulla riduzione del rumore e miglioramento dell'accuratezza si concentra sulle funzioni di forma e sui

metodi di correlazione di immagini utilizzati per ottenere la precisione a livello di sub-pixel nelle misurazioni di tensione e spostamento oppure esplorano la possibilità di filtrare i campi di spostamento e poi reintrodurre gli spostamenti filtrati nel processo di calcolo del software.

5.5.1 Filtri lineari

I processi di filtraggio basati su filtri lineari sono di solito disponibili nei software commerciali DIC. Le maschere di mediazione (o filtro di mediazione) o di mediazione ponderata sostituiscono ogni valore della matrice dati con la media, o la media ponderata, dei valori della zona definita dalla maschera di filtro.

Le uniche opzioni disponibili per l'utente sono di solito l'aumento delle dimensioni della maschera o l'applicazione della stessa maschera di filtraggio più volte. Ciò causa anche la perdita di informazioni ai bordi e ai margini dei dati filtrati. Queste tipologie non sono adatte al rumore impulsivo e possono portare a una perdita incontrollata di informazioni anche con il rumore casuale. Inoltre, l'utente non ha a disposizione alcun criterio di ottimizzazione. La distanza tra i valori di deformazione calcolati dal software DIC e il valore teorico di deformazione viene misurata attraverso l'errore quadratico medio (RMSE)

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n} \frac{1}{m} \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m (\varepsilon_{DIC\ i,j} - \hat{\varepsilon}_{i,j})^2}$$

Dove $n \times m$ è il numero di punti di deformazione calcolato dalla DIC, $\varepsilon_{DIC\ i,j}$ è la deformazione locale lungo una dimensione determinata dal software ed $\hat{\varepsilon}_{i,j}$ è il valore di deformazione teorica corrispondente.

5.5.2 Filtri per immagini digitali

Nel dominio spaziale possono essere implementati filtri mediani adattivi (filtri non lineari di smoothing che conservano i bordi). Rappresentano un miglioramento dei filtri mediani poiché possono distinguere meglio piccoli dettagli dal rumore. I filtri mediani adattivi sono utilizzati nell'elaborazione delle immagini per rimuovere il rumore, preservando i dettagli dalla sfocatura. Il filtro mediano adattivo identifica i pixel rumorosi confrontando ogni pixel dell'immagine con i suoi pixel vicini circostanti. La dimensione della maschera del filtro è regolabile, così come la soglia per il confronto. I pixel rumorosi vengono sostituiti dal valore mediano dei pixel

non rumorosi in prossimità. Nel dominio della frequenza spaziale vengono implementati filtri passa-basso gaussiani e filtri notch. I filtri passa-basso gaussiani sono utilizzati per rimuovere le componenti ad alta frequenza dagli spettri di Fourier e per controllare gli artefatti di ringing prodotti dai filtri ideali.

I filtri a fenditura (notch filters) sono utilizzati per rimuovere determinate frequenze dallo spettro di Fourier in una determinata vicinanza attorno ad una certa frequenza centrale. Questa tipologia di filtro di solito viene utilizzata solo per le immagini di input poiché applicarlo per filtrare il campo di deformazione richiederebbe una conoscenza a priori della distribuzione di deformazione attesa. Al contrario, i notch filters sono ampiamente impiegati nelle elaborazioni delle immagini dove possono migliorare efficacemente la loro qualità. Il filtraggio di frequenze multiple può essere eseguito applicando ricorsivamente le opportune funzioni di trasferimento o sommando insieme i termini gaussiani in una singola funzione.

5.5.3 Tecniche di combinazione applicate ad immagini e distribuzioni di deformazione

Una strategia di combinazione delle immagini si basa sull'acquisizione di uno stack (pila) di immagini della stessa scena. Combinando insieme un certo numero di fotogrammi si riduce il rumore casuale e si aumenta il rapporto segnale-rumore. L'unica condizione necessaria è che la scena non cambi durante l'acquisizione della serie di immagini. Le varie immagini acquisite sono state combinate tramite mediana pixel-per-pixel. A differenza della media, la mediana esclude i pixel anomali, senza lisciare l'immagine.

Le stesse considerazioni possono essere applicate alle serie di distribuzioni di deformazione. In questo caso, invece di una combinazione mediana pixel-per-pixel, viene calcolata una combinazione mediana punto-per-punto.[7]

6 Errori che influenzano le misurazioni DIC in biomeccanica

6.1 Accuratezza e precisione

È importante distinguere tra errore sistematico, ovvero la distorsione dalla media e dunque con conseguente mancanza di accuratezza, ed errore casuale dato da una grande deviazione standard e quindi causa di assenza di precisione.

L'accuratezza e la precisione non possono essere date per scontate se il sistema di misura e l'elaborazione numerica non stati ottimizzati. Gli errori che riguardano lo

spostamento e la deformazione sono originariamente indotti dalla qualità complessiva delle immagini.

Il campo di spostamento calcolato con la DIC è meno sensibile alle modifiche dei parametri del software mentre il loro effetto è maggiore sulle deformazioni.[1]

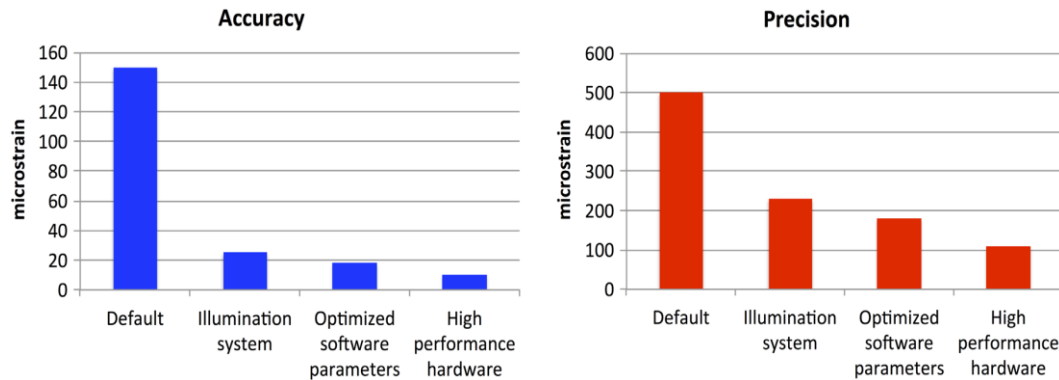


Fig. 7 I grafici mostrano come l'errore sistematico e il rumore casuale siano alti se non si fa attenzione a ridurli (Palanca et al. 2015).

6.2 Errori dovuti al pattern

L'analisi DIC si basa sulla presenza di un pattern adeguato sulla superficie, per valutare gli errori legati alla morfologia del pattern.

Un pattern speckle inadeguato può rendere impossibile la correlazione in alcune sfaccettature, riducendo il numero di punti di misurazione. Esiste un rapporto ottimale tra la dimensione della sfaccettatura e la dimensione media dello speckle per ridurre gli errori che influenzano i posizionamenti calcolati con DIC.

È dimostrato che una dispersione limitata delle dimensioni degli speckle produce misure di spostamento più accurate e che i punti più grandi comportano errori casuali maggiori nel campo di spostamento. Le differenze tra i pattern speckle nero su bianco e bianco su nero sono trascurabili in termini di qualità della misurazione. Esiste una chiara relazione tra l'errore di misurazione e l'unicità del modello, che dipende dalla dimensione e dalla forma dello speckle e dalla dimensione della sfaccettatura.[1]

6.3 Errori che influenzano le immagini acquisite

Gli errori casuali influenzano le immagini acquisite dalla telecamera digitale, come il rumore termico (o dark noise, "rumore buio") o il rumore dovuto al sensore

dell'obiettivo. Inoltre, una fonte di errore sistematico nel 2D-DIC deriva dagli spostamenti fuori piano durante la deformazione.[1]

6.4 Errori dovuti al processo di correlazione

La scelta subottimale dei parametri software può generare un grande rumore o, al contrario, può nascondere le deformazioni esistenti. I parametri ottimali possono essere identificati attraverso prove di spostamento imposte virtualmente.[1]

6.5 Raccomandazioni per ridurre al minimo gli errori di misura nelle applicazioni biomeccaniche

È possibile e in qualche modo obbligatorio convalidare le misurazioni DIC mediante confronto con misurazioni indipendenti, ovvero confrontare le deformazioni calcolate mediante DIC con singoli estensimetri o altri sistemi di misura.[2] Una validazione più estesa può includere l'uso di campioni con proprietà materiali note e sottoposti a condizioni di carico ben definite. In aggiunta, test preliminari per identificare gli spostamenti spaziali potrebbero aiutare a evitare artefatti fuori piano in un 2D-DIC.[1]

7 Applicazioni ai tessuti molli

Prima dell'introduzione della DIC la deformazione nelle strutture dei tessuti molli veniva misurata mediante estensimetri. Questo metodo perturba significativamente il campione in osservazione, sia in termini di irrigidimento locale che di intaglio. Un metodo migliore è quello basato sugli estensimetri ottici i quali hanno però il limite che tracciano lo spostamento di due soli punti del campione. Pertanto, il campo di deformazione tra tali punti viene mediato, senza alcuna informazione sulla distribuzione locale della deformazione. Inoltre, la maggior parte delle tecniche ottiche tende a perdere la correlazione quando sono coinvolti grandi spostamenti, come spesso accade nei tessuti molli. La DIC supera questi problemi, aprendo la possibilità di nuove misurazioni su scale micrometriche. La DIC ha permesso di migliorare il campo della microindentazione che originariamente si concentrava solamente sulla relazione forza-indentazione. La DIC consente di misurare la deformazione della superficie intorno al punto di applicazione del

carico. Poiché l'affidabilità della DIC per quanto riguarda la microindentazione è stata dimostrata in vitro, questa tecnica ha il potenziale per essere impiegata in vivo per scopi diagnostici futuri.

L'applicazione in vitro della DIC per misurare la distribuzione delle deformazioni in vari componenti del sistema cardiovascolare è estremamente importante per il suo potenziale impatto nel migliorare la comprensione delle patologie e fornire un trattamento migliore. Tuttavia, lo stato di stress/deformazione è difficile da misurare a causa della natura pseudoelastica, delle piccole dimensioni dei campioni e della difficoltà di riprodurre le condizioni di lavoro fisiologiche.[1]

8 Esempi di applicazione a tessuti biologici

8.1 Introduzione

I lavori analizzati in questa tesi sono “*Applications of digital image correlation to biological tissues, D. Zhang e D. Arola, Journal of Biomedical Optics, 2004*” dove gli autori hanno applicato la DIC per studiare il comportamento meccanico dei tessuti arteriosi di un bovino tramite prove di trazione monoassiale e “*Digital Image Correlation as a tool for three-dimensional strain analysis in human tendon tissues, Luyckx et al., Journal of Experimental Orthopaedics, 2014*” nel quale attraverso la DIC è stata esaminata la risposta alla deformazione del tessuto tendineo umano. Il comportamento meccanico dei due tessuti viene delineato anche attraverso la determinazione del modulo elastico (E) e del coefficiente di Poisson (ν).

Il modulo elastico o modulo di Young esprime il rapporto tra tensione e deformazione e rappresenta dunque la rigidità longitudinale del campione nel tratto lineare della curva.

Il coefficiente di Poisson, invece, descrive il grado con cui il campione si restringe o si dilata trasversalmente quando sollecitato da una forza monodirezionale longitudinale.

Le ricerche che ho scelto di studiare riguardano aspetti fondamentali della salute umana, infatti l'ictus rappresenta la terza causa di morte e la principale causa di disabilità a lungo termine, ed è causato principalmente dalla rottura di placche aterosclerotiche all'interno della carotide la quale fornisce sangue al cervello.

Comprendere le condizioni meccaniche e la distribuzione dello stress nelle pareti arteriose è essenziale per ridurre il rischio di rottura della placca e prevenire l'ictus.[2]

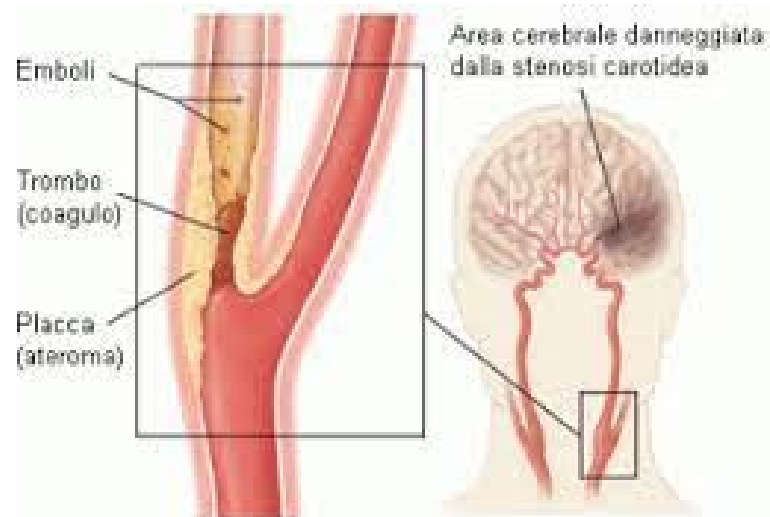


Fig. 8 Placca aterosclerotica (centrosancamillo.it)

Lo studio del comportamento meccanico dei tendini umani è importante per diversi motivi. Innanzitutto, i tendini sono essenziali per il movimento del corpo umano e per la trasmissione della forza dai muscoli alle ossa, quindi comprenderne il comportamento meccanico è fondamentale per lo sviluppo di tecniche di riabilitazione e per prevenire lesioni.

Inoltre, lo studio dei tendini può anche essere utile per la progettazione di protesi o impianti medici che richiedono materiali resistenti e affidabili. Infine, la conoscenza del comportamento meccanico dei tendini può essere utilizzata per migliorare la nostra comprensione delle malattie ad essi legate, come la tendinite, e per sviluppare trattamenti specifici.

In sintesi, lo studio del comportamento meccanico dei tessuti è fondamentale per il miglioramento della salute e del benessere umano.

8.2 Dal lavoro di *Zhang* et al., applicazione della DIC per lo studio del comportamento meccanico dell'arteria bovina

8.2.1 Preparazione dei campioni per l'utilizzo della DIC

In questo studio l'aorta e l'arteria bovina sono state ottenute mezz'ora dopo la morte dell'animale e sono state mantenute in soluzione salina.

Sono stati prelevati campioni rettangolari di circa 25x100 mm e di spessore uniforme di circa 2 mm.

Il taglio del tratto arterioso potrebbe aver causato dei danni al tessuto influenzandone il comportamento strutturale ma in questo caso sono stati ignorati. I campioni esaminati in questo studio erano composti dallo strato intimo e da una porzione di strato medio, dato che la superficie intima è di colore bianco opaco è stata applicata una vernice smaltata nera per creare un motivo a macchie ad alto contrasto. Tuttavia, questa vernice contiene solventi che potrebbero influire sulle proprietà del tessuto, ma è stato deciso di ignorare questo potenziale effetto poiché lo strato di vernice era sottile e il periodo di prova era breve (minore di 30 minuti). Inoltre, dopo l'applicazione le macchie erano quasi asciutte e quindi non erano presenti evidenti segni di scorrimento o diffusione della vernice.[2]

8.2.2 Metodo

Sono stati applicati incrementi di allungamento di 1,27 mm alle sezioni dell'aorta fino a raggiungere una deformazione assiale massima di 25 mm.

È stata registrata un'immagine della superficie del campione all'inizio e ad ogni passo di spostamento assiale. Per i campioni arteriali gli esperimenti di trazione consistevano nel sottoporre, consecutivamente per quattordici volte, il tessuto ad una forza che lo allungava del 25% rispetto alla sua lunghezza originaria per poi scaricarlo ogni volta per le prime dodici, mentre il 13° e il 14° ciclo consistevano nel portare l'allungamento nominale rispettivamente fino al 30% e al 40%.

I primi 12 cicli sono stati condotti per condizionare i campioni e ottenere una risposta meccanica in stato stazionario. Le immagini sono state documentate ad ogni 2% di allungamento durante il 1°, il 4°, l'8°, il 12°, il 13° e il 14° ciclo insieme al carico assiale corrispondente.[2]

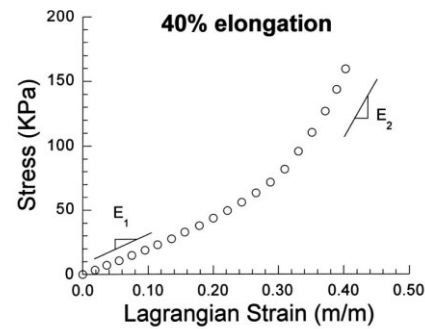
8.2.3 Risultati

Il tessuto arterioso è composto da strati di elastina e collagene che mostrano un alto grado di non linearità in risposta a grandi deformazioni.

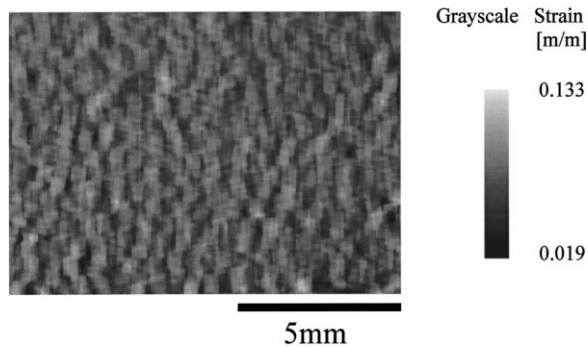
Le variazioni locali dell'anisotropia e della disomogeneità dei tessuti arteriosi non sono state esaminate in dettaglio, in parte a causa delle limitazioni degli approcci sperimentali tradizionali.

È stato eseguito un confronto delle distribuzioni digitalizzate delle macchie acquisite ad ogni passo di carico per determinare lo spostamento a tutto campo

mediante DIC. Una tipica risposta stress/deformazione per una sezione arteriosa al 14° ciclo è mostrata in figura.



a) stress/strain response of a bovine arterial section during cycle 14



b) axial strain distribution in the arterial wall

Fig. 9 Risposta tipica di un'arteria bovina sottoposta a tensione monoassiale: (a) risposta tensione/deformazione di un'arteria bovina durante il 14° ciclo. (b) distribuzione della deformazione assiale nella parete arteriosa (Zhang et al., 2004).

I moduli elastici medi primari (E_1) e secondari (E_2) dei campioni arteriosi erano rispettivamente di 192 e 912 kPa.

Nella figura 9(b) si possono notare i diversi modelli nella distribuzione di deformazione, evidenti dalla variazione nella scala di grigi. Il coefficiente di Poisson era di circa 0,16 indipendentemente dal grado di allungamento mentre il modulo elastico era di 248 kPa per campioni composti dallo strato medio ed intimo. Le proprietà meccaniche delle arterie sono dominate dallo strato medio in quanto è composto dalla percentuale più alta di fibre di collagene e sulla base della differenza nel rapporto tra i componenti intimi e medi, è ragionevole che il modulo elastico, risultante da una media di 192 kPa, fosse inferiore a quello riportato in letteratura. Tuttavia, si noti che lo sforzo assiale è stato calcolato utilizzando l'area trasversale effettiva, basandosi sull'assunzione che il volume sia conservato.

La Digital Image Correlation, con una preparazione accurata della superficie del substrato, può essere utilizzata come metodo efficace per analizzare il

comportamento costitutivo dei tessuti molli, valutandoli su un'ampia gamma di deformazioni, incluso l'effetto di eventuali variazioni strutturali o patologie. [2]

8.3 Dal lavoro di Luyckx et al., applicazione della DIC per lo studio del comportamento meccanico del tessuto tendineo umano

8.3.1 Preparazione dei campioni per l'utilizzo della DIC

In questo studio per esaminare la distribuzione della deformazione del tendine d'Achille umano tramite la 3D-DIC, sono stati ottenuti sei campioni (comprendenti anche di un blocco osseo), 3 destri e 3 sinistri, da tre donatori la cui età media era di 62,3 anni.

Tabella 1 Variabili demografiche dei campioni (Luyckx et al., 2014).

Donatore	Sesso	Età	Peso (kg)
A	Uomo	48	64
B	Uomo	69	90
C	Donna	70	40

I campioni sono stati conservati a -22°C prima dell'esperimento ed il giorno prima della prova sono stati scongelati a temperatura ambiente per 12 ore.

Successivamente il tendine, dopo esser stato rimosso di tutti i tessuti molli, è stato fissato da un morsetto applicato all'osso calcaneare in un'estremità mentre nell'altra parte prossimale da un altro apposito morsetto dotato di una cremagliera dentata in polimero. Inoltre, il campione è stato mantenuto umido in ogni momento durante l'esperimento utilizzando un panno umido e un nebulizzatore d'acqua.

In conclusione, è stato utilizzato il blu di metilene per colorarlo in modo uniforme e renderlo di colore blu scuro. Questo colorante, disciolto in acqua, è in grado di penetrare nel tessuto senza formare uno strato superficiale, permettendo così l'applicazione diretta del modello di punti. In aggiunta, il colore scuro del tessuto ha ridotto la diffusione della luce durante l'analisi. Per terminare, il modello di punti

è stato applicato utilizzando un aerografo e una vernice bianca opaca a base d'acqua, anziché nera, per ottenere un contrasto ottimale.[8]

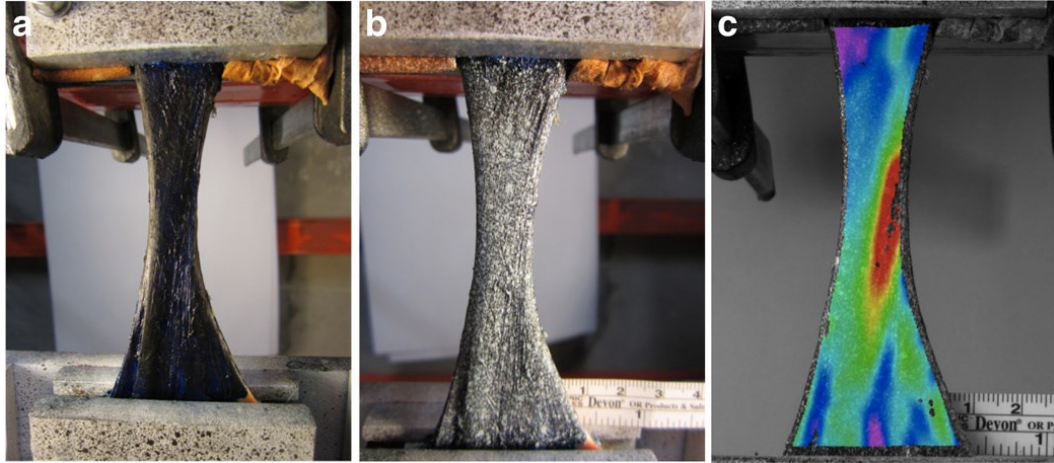


Fig. 10 (a) Il tendine d'Achille nei morsetti colorato con blu di metilene, (b) puntinato con vernice bianca e (c) la mappa di deformazione 3D-DIC tracciata sul campione che mostra la deformazione longitudinale. (Luyckx et al., 2014).

8.3.2 Metodo

Prima di effettuare le misurazioni, sono state acquisite diverse immagini della condizione di precarico del campione per valutare l'accuratezza delle misure di sforzo. Durante il test sono state scattate tre immagini successive per ciascuna posizione di carico al fine di valutare il rumore sperimentale nelle diverse condizioni di carico. L'accuratezza è stata determinata in base alla dispersione delle misurazioni di sforzo ottenute da queste immagini. Ciò è stato fatto in due modi: valutando la differenza tra lo sforzo minimo e massimo nell'intero campo e valutando la dispersione nella parte centrale del campione. Il secondo metodo è stato utilizzato per correggere gli effetti perturbativi dei bordi dell'area analizzata, poiché è noto che la correlazione è meno accurata ai bordi e si osservano anche sforzi maggiori vicino al sito di bloccaggio del tessuto. I morsetti del dispositivo sono stati preparati per la misura DIC con una vernice bianca e un modello a punti nero, in modo da registrare la distanza tra i due morsetti utilizzando la DIC come un LVDT virtuale. Un Linear Variable Differential Transformer è un dispositivo che rileva il movimento meccanico lineare come uno spostamento e lo converte in segnali elettrici. Per tutti i campioni, lo spostamento dei morsetti (deformazione morsetto-morsetto), ottenuto attraverso la DIC (di seguito denominato DIC-1), è

stato confrontato con gli spostamenti medi misurati dai due LVDT fissati accanto ai morsetti. Inoltre, sono stati rilevati gli spostamenti sul campione stesso, adiacenti ai morsetti (di seguito denominati DIC-2). La differenza tra le misurazioni DIC-1 e

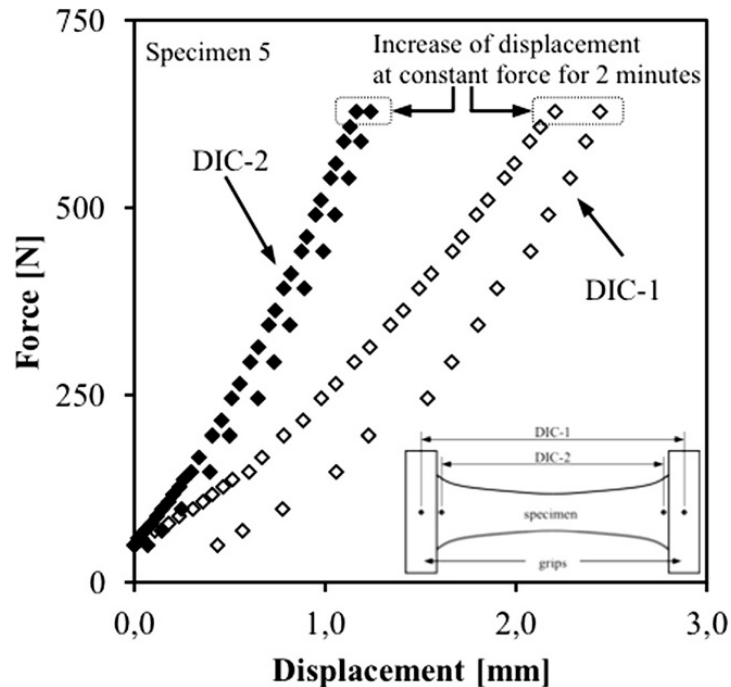


Fig. 11 Una tipica curva forza-spostamento del campione 5. Sono mostrate entrambe le fasi di carico e scarico. Al carico massimo i campioni sono stati mantenuti a forza costante per circa due minuti prima dello scarico. Per le misure di spostamento effettuate sui campioni (DIC-2) la differenza tra carico e scarico è stata attribuita all'isteresi mentre per le misure morsetto-morsetto (DIC-1) la differenza è stata principalmente causata dallo scivolamento nelle pinze di presa (Luyckx et al., 2014).

DIC-2 ha permesso di quantificare lo scorrimento dei morsetti.

Sulla base dei valori degli spostamenti ottenuti sono stati calcolati i corrispondenti componenti di deformazione: la deformazione longitudinale (ϵ_{yy}) è definita come la deformazione che si verifica nella direzione del carico applicato; la deformazione trasversale (ϵ_{xx}) è definita come la deformazione misurata in una direzione perpendicolare al carico applicato e la deformazione di taglio (ϵ_{xy}) è stata definita

come la deformazione che si verifica in una direzione angolata di 45° rispetto alla deformazione longitudinale e trasversale.

Per valutare l'effetto del pre-condizionamento del tendine, è stata applicato un carico di 607,8 N per 10 minuti nei campioni 4-6.

I risultati del modulo di Young sono mostrati nella Tabella 2.

Tabella 2 Effetti del pre-condizionamento sul modulo di Young per ogni campione (Luyckx et al., 2014).

	Donatore	Pre-carico	Modulo di Young (MPa)
Campione 1	A sinistro	No	387,97
Campione 2	B sinistro	No	294,83
Campione 3	B destro	No	371,23
Campione 4	C sinistro	Si	514,68
Campione 5	A destro	Si	573,27
Campione 6	C destro	Si	787,68

Il tendine è stato sottoposto a un carico statico progressivo fino a 628,3 N ed a un successivo scarico utilizzando dei pesi predefiniti.

Il pre-carico era di 48,9 N e il carico aggiuntivo nei primi dieci step di 10 N, poi sono stati utilizzati passi di 25 N fino al carico massimo di 628,3 N. Al carico

massimo i campioni sono stati tenuti sotto forza costante per circa due minuti prima essere scaricati a step di 50 N.[8]

8.3.3 Risultati

La relazione sforzo-deformazione derivata dall'analisi dei tendini d'Achille utilizzati è mostrata in figura 11.

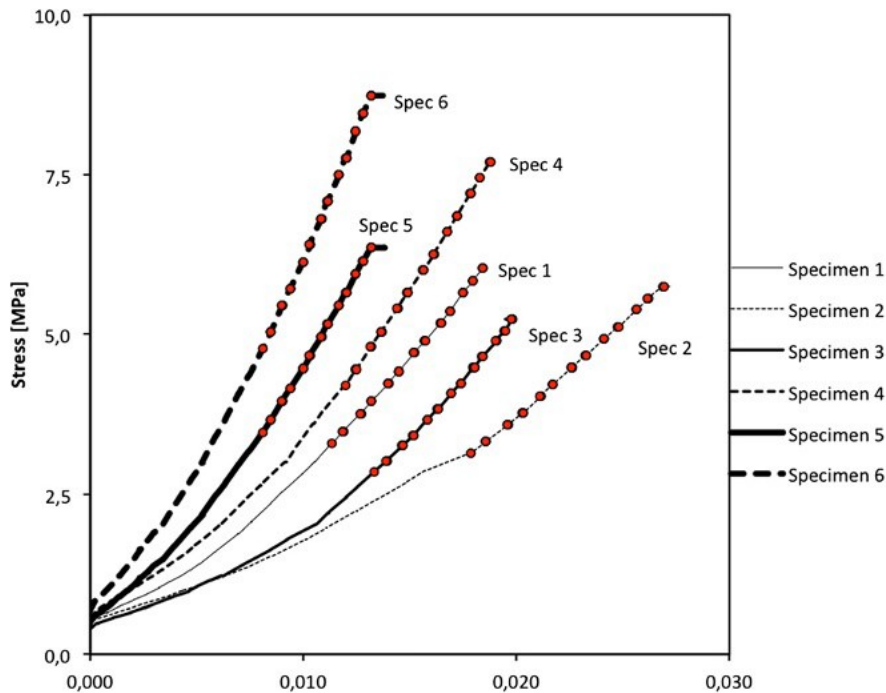


Fig. 12 Curva sforzo-deformazione per tutti e 6 i campioni. I contrassegni sono stati posizionati sulla parte lineare della curva. Il modulo E è stato determinato dall'inclinazione di questa parte della curva per ciascun campione (Luyckx et al., 2014).

Il metodo 3D-DIC ha permesso di calcolare con precisione lo sforzo del tendine in ogni sua regione a partire dalle immagini ottenute. L'analisi ha evidenziato un basso grado di dispersione (scattering) in tutti i campioni analizzati. In particolare, l'accuratezza della misurazione DIC è risultata maggiore al centro del campione, dove si sono ottenuti valori di dispersione dello sforzo pari in media allo 0,03%

(con una deviazione standard di 0,00794%) e complessivamente lo scattering rimaneva al di sotto dello 0,3% in tutti i campioni.

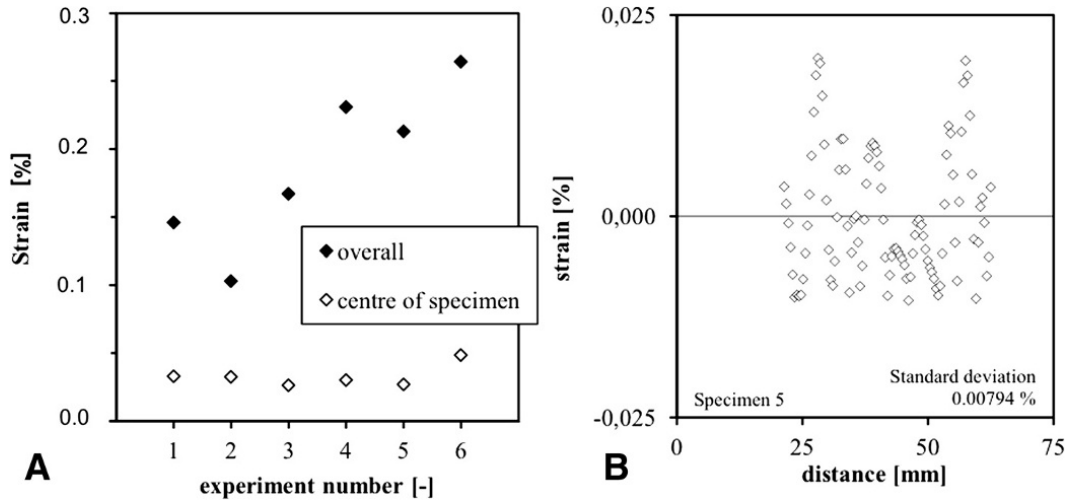


Fig. 13 (A) Panoramica della dispersione ottenuta in tutti i campioni sia nella parte centrale che nell'intero tendine. (B) Esempio dell'area centrale per il campione 5 mostrato in dettaglio (Luyckx et al., 2014).

La risoluzione spaziale del metodo 3D-DIC sui tessuti del tendine umano è stata calcolata essere di $0,1 \text{ mm}^2$. Inoltre, la correlazione tra le misurazioni 3D-DIC e le misurazioni LVDT è stata eccellente in tutti i campioni, con un coefficiente di correlazione di $R^2 = 0,99$. L'esperimento ha evidenziato uno scivolamento significativo nei morsetti durante il confronto tra le misurazioni DIC-1 e DIC-2 in funzione del carico applicato, con uno slittamento maggiore nel morsetto del blocco osseo. In media, lo scivolamento ai morsetti ha rappresentato il 53% degli

spostamenti totali, il che ha portato a una sovrastima dello sforzo nel tendine di un fattore di circa 2 (se si fosse utilizzato solo LVDT come strumento di misura).

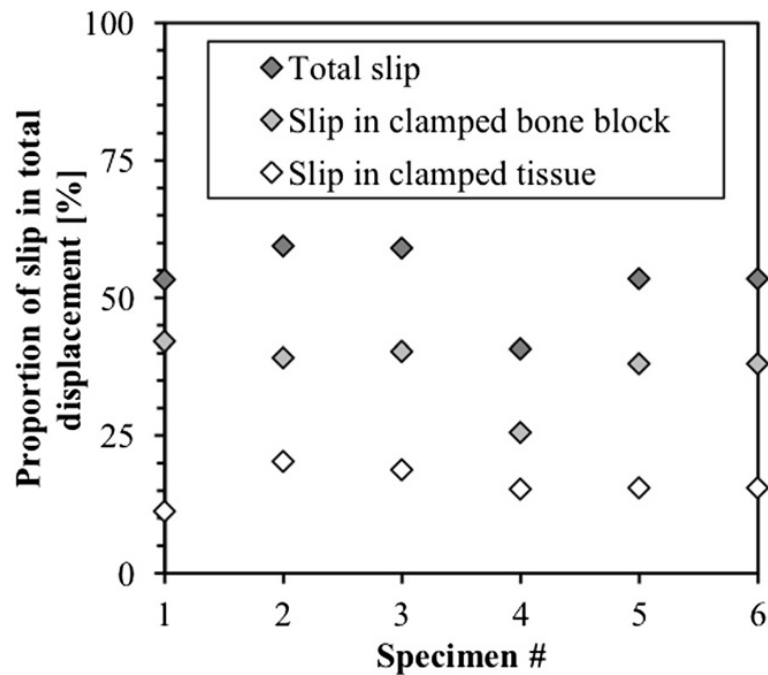


Fig. 14 Differenza tra le misurazioni DIC-1 e DIC-2 per ciascun campione. È stata fatta una distinzione tra la pinza del blocco osseo e quella del tessuto, con quest'ultima che mostra uno scivolamento significativamente inferiore (Luyckx et al., 2014).

Tuttavia, utilizzando le misurazioni DIC-2 l'analisi è diventata indipendente da qualsiasi scivolamento. Infine, la distribuzione dello sforzo medio è stata analizzata durante il ciclo di carico, evidenziando come tale distribuzione cambi in funzione del carico applicato su un'area centrale di 4 mm di diametro.

In tutti i campioni sono state osservate deformazioni trasversali (ϵ_{xx}) ancora maggiori rispetto agli sforzi longitudinali (ϵ_{yy}) ed la deformazione di taglio (ϵ_{xy}) è stata minima e rimasta vicino allo zero durante tutto il test in tutti i campioni. La presenza di grandi sforzi trasversali positivi indica che il campione si è deformato

diventando più largo all'aumentare del carico applicato e parte di questa deformazione è stata permanente.

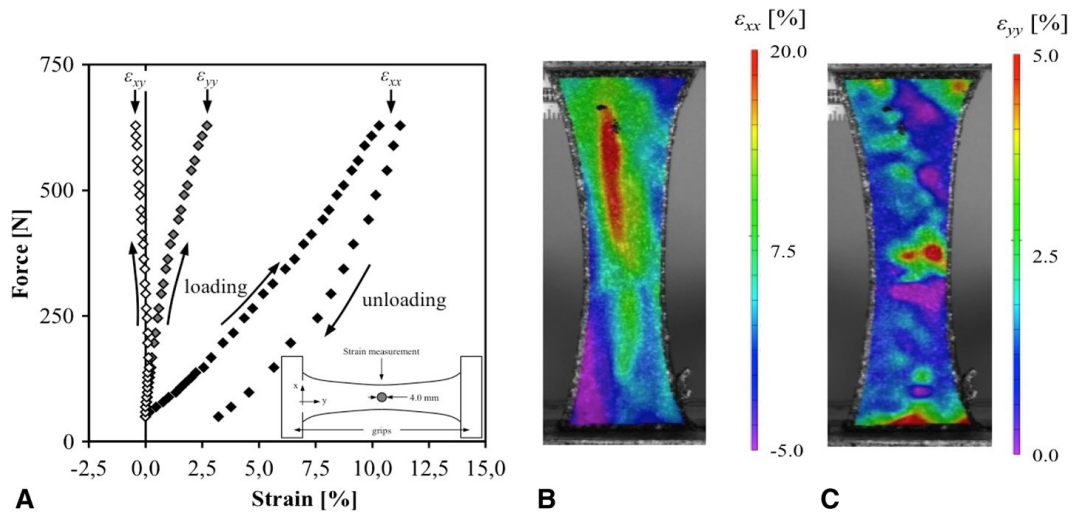


Fig. 15 (A) Evoluzione delle componenti di deformazione sull'area centrale del campione 5 in funzione della forza applicata. (B) Mappe di deformazione trasversale (C) e longitudinale corrispondenti al carico massimo (Luyckx et al., 2014).

Attraverso le misurazioni a campo intero è possibile valutare lo sforzo in ogni punto del tendine e questo ha rivelato significative disomogeneità regionali all'interno di ciascun campione e anche tra i diversi campioni. Sebbene tale approccio fornisca informazioni dettagliate sul comportamento meccanico del tendine, risulta impraticabile data la forte disomogeneità dei campi di deformazione.

Per superare i problemi pratici legati all'analisi dei dati dovuti all'eterogeneità locale delle diverse mappe di deformazione, è stata creata una distribuzione cumulativa delle deformazioni. In questo modo l'area analizzata è stata suddivisa in quadrati di 1×1 mm e la deformazione è stata valutata al centro di ciascun quadrato. Successivamente, è stata creata una distribuzione cumulativa per l'intero tendine di ciascun campione, ovvero è stata calcolata l'area superficiale relativa che mostra una deformazione inferiore o uguale a $x\%$ per ogni $x\%$ di deformazione. La distribuzione cumulativa del campione 5 rappresentata nella figura 14A ha mostrato una crescente disomogeneità con l'aumentare del carico. La distribuzione cumulativa è stata ottenuta al massimo carico per tutti i campioni (Figura 14B), indicando che circa il 60% della superficie di ciascun tendine ha valori di deformazione compresi tra 0 e 2%. Ad eccezione del campione 1, una deformazione

superiore al 5% (la soglia di danno presunta) è stata riscontrata solo nel 10% o meno dell'area superficiale dei tendini.

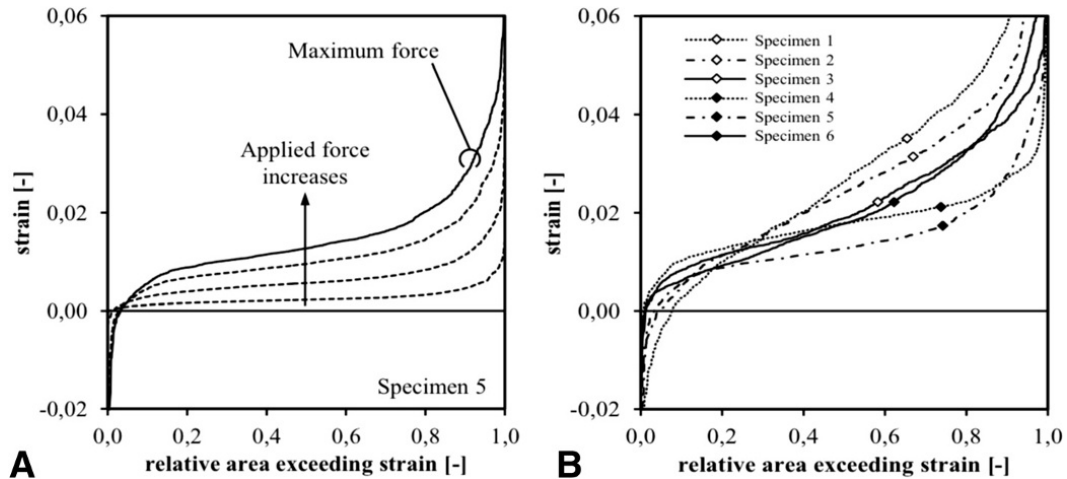


Fig. 16 Distribuzione cumulativa della deformazione che traccia l'area superficiale relativa del tendine rispetto alla deformazione (Luyckx et al., 2014).

È importante notare che la deviazione standard delle deformazioni rivelate nel campione di tessuto tendineo è comparabile a quella rilevata in esperimenti di altri studi condotti su blocchi d'acciaio. Questo dimostra che l'accuratezza delle misurazioni ottenute tramite 3D-DIC è stata molto elevata nel tessuto tendineo, pertanto l'utilizzo di questa tecnologia potrebbe essere esteso anche ad altri tessuti umani che contengono collagene, come i legamenti, offrendo molteplici applicazioni per la ricerca scientifica. Un grande vantaggio dell'utilizzo del 3D-DIC rispetto all'analisi bidimensionale è la possibilità di calcolare i movimenti del corpo rigido e questo apre delle prospettive per misurare anche le deformazioni su oggetti in movimento sottraendo tali spostamenti.

È stata osservata una deformazione significativa nella direzione perpendicolare al carico applicato, superando la componente di deformazione longitudinale. Nonostante possa sembrare controintuitivo, questo risultato era atteso dato che i campioni di tessuto tendineo erano leggermente convessi e quindi diventano più dritti e larghi quando vengono sottoposti a tensioni longitudinali.

Il 3D DIC fornisce un'analisi a campo completo ad alta risoluzione, con dati dell'intero tendine a livello di sub-pixel, permettendoci di visualizzare l'eterogeneità regionale nella distribuzione delle deformazioni tipica del tessuto biologico. Questa

eterogeneità sottolinea l'importanza di effettuare un'analisi a campo completo di questo tipo, che i classici estensimetri non possono fornire.

Per catturare tutti i dati forniti dalla mappa di deformazione, abbiamo introdotto la distribuzione cumulativa della deformazione (Figura 14), che è indipendente dal volume del tendine fissato e potrebbe quindi far luce su nuovi schemi di rottura nel tessuto tendineo. Questo strumento ci permette di affermare che la rottura del tendine si è verificata quando una certa percentuale della sua area superficiale (ad esempio 30%) ha raggiunto una certa soglia di deformazione (ad esempio 8%). Questa deformazione cumulativa di rottura sarà effettivamente inferiore rispetto alla corrispondente deformazione morsetto-morsetto a causa dell'inomogeneità regionale nella distribuzione delle deformazioni. Questo strumento potrebbe fornire importanti informazioni sull'assorbimento di energia di spostamento all'interno del tendine e potrebbe mostrare una migliore correlazione con l'accumulo di danni e gli schemi di rottura.[8]

9 Conclusioni

La letteratura documentata fino al 2016 presenta pochi lavori sui tessuti molli e con solo alcuni tessuti umani studiati tra cui: tessuto arterioso, cartilagine, tendini e legamenti, sclera e nervo ottico, pelle, sezioni muscolari degli arti inferiori, il fegato e pochi altri. Per quanto riguarda il mondo animale la situazione non è molto diversa, gli animali da cui vengono prelevati i campioni sono prevalentemente ratti ovini e suini ed anche qui tra gli studi possiamo trovare sempre tessuto arterioso, cartilagineo, la cornea e tutti quelli precedentemente citati per la specie umana.

Le ricerche riguardanti i tessuti duri si concentrano principalmente sull'osso trabecolare umano ricavato dal femore, sulle vertebre e sui denti mentre le ossa più studiate di origine animale sono ancora il femore e la tibia. A differenza dei tessuti molli, dove per ogni caso di studio veniva usato un unico campione o poche unità, per gli *hard tissues* generalmente il numero di campioni utilizzati è superiore ma

pur sempre limitato. Esistono poi alcuni lavori su tessuti sintetici quali ossa composite, composito dentale, valvole cardiache, corde vocali e gel siliconici.

Nelle analisi il tipo di pattern maggiormente impiegato è l'*airbrush*, seguito dal *natural pattern* e in alcuni casi il *powder*, mentre relativamente ai test meccanici effettuati per la maggior parte sono prove di trazione e di compressione (confinata e non), ma in alcuni casi viene effettuato anche lo *shear test* (taglio) e in particolare per la cornea l'*inflation test*, il quale valuta la resistenza alla pressione. Dai test vengono registrati i dati per valutare in primo piano la distribuzione degli spostamenti e delle deformazioni, poi modulo di Young e di Poisson in genere.

Per quanto concerne il sistema DIC utilizzato, invece, si può notare come nella maggior parte dei casi sia autoprodotta per il 2D-DIC, mentre per i 3D-DIC vengono adoperati Aramis 3D o DaVis.

Dato l'alto potenziale di adattabilità della tecnica DIC è facile prevedere che si assisterà ad un'evoluzione ed aumento del numero di applicazioni nel campo della biomeccanica, sia in vitro che in vivo. Infatti recenti studi propongono un nuovo metodo basato su reti neurali convoluzionali (CNN) per valutare la qualità dei pattern speckle, senza alcuna preesistente conoscenza qualitativa, garantendo prestazioni migliori rispetto alle metriche tradizionali. [9]

Una delle ultime DIC-Net sviluppate, diversamente dagli algoritmi DIC convenzionali, non richiede un criterio di correlazione specifico né è necessario eseguire calcoli iterativi ma è sufficiente dare in input degli adeguati set di dati di allenamento all'algoritmo. Questa nuova tecnologia non solo rappresenta un'alternativa per misurare in modo accurato, preciso ed affidabile la deformazione, ma apre anche la strada allo sviluppo di una DIC ad altissima efficienza con capacità di elaborazione in tempo reale. [10]

Per completare la mia tesi, fornisco una panoramica riassuntiva dei principali vantaggi e svantaggi della Digital Image Correlation per la misura degli spostamenti

e delle deformazioni, in modo da offrire una visione d'insieme delle caratteristiche salienti di questa tecnica.

Tabella 3. Principali potenzialità e limiti della DIC (Palanca et al., 2016)

Vantaggi	Svantaggi
- Misura a tutto campo di spostamento/deformazione	- Meno accurata e precisa di altre tecniche di misura
- per campioni di qualsiasi dimensione	- necessità di un'accurata ottimizzazione per la specifica applicazione
- Determinazione del gradiente di deformazione e della sollecitazione	- Non dà i risultati in tempo reale
- Sia per piccole che grandi deformazioni	- Necessità di un accesso ottico al campione
- Utilizzabile <i>in vivo</i>	- Richiede la preparazione della superficie
- Sinergie con FE	
- Non invasiva	

10 Bibliografia

- [1] M. Palanca, G. Tozzi, and L. Cristofolini, "The use of digital image correlation in the biomechanical area: A review," *International Biomechanics*, vol. 3, no. 1. Taylor and Francis Ltd., pp. 1–21, 2016. doi: 10.1080/23335432.2015.1117395.
- [2] D. Zhang and D. D. Arola, "Applications of digital image correlation to biological tissues," *J Biomed Opt*, vol. 9, no. 4, p. 691, 2004, doi: 10.1117/1.1753270.

- [3] G. Crammond, S. W. Boyd, and J. M. Dulieu-Barton, "Speckle pattern quality assessment for digital image correlation," *Opt Lasers Eng*, vol. 51, no. 12, pp. 1368–1378, Dec. 2013, doi: 10.1016/j.optlaseng.2013.03.014.
- [4] G. Lionello and L. Cristofolini, "A practical approach to optimizing the preparation of speckle patterns for digital-image correlation," *Meas Sci Technol*, vol. 25, no. 10, Oct. 2014, doi: 10.1088/0957-0233/25/10/107001.
- [5] S. Yaofeng and J. H. L. Pang, "Study of optimal subset size in digital image correlation of speckle pattern images," *Opt Lasers Eng*, vol. 45, no. 9, pp. 967–974, Sep. 2007, doi: 10.1016/j.optlaseng.2007.01.012.
- [6] H. Schreier, J. J. Orteu, and M. A. Sutton, *Image correlation for shape, motion and deformation measurements: Basic concepts, theory and applications*. Springer US, 2009. doi: 10.1007/978-0-387-78747-3.
- [7] J. Baldoni, G. Lionello, F. Zama, and L. Cristofolini, "Comparison of different filtering strategies to reduce noise in strain measurement with digital image correlation," *Journal of Strain Analysis for Engineering Design*, vol. 51, no. 6, pp. 416–430, Aug. 2016, doi: 10.1177/0309324716646690.
- [8] T. Luyckx, M. Verstraete, K. de Roo, W. de Waele, J. Bellemans, and J. Victor, "Digital image correlation as a tool for three-dimensional strain analysis in human tendon tissue," *J Exp Orthop*, vol. 1, no. 1, pp. 1–9, Dec. 2014, doi: 10.1186/s40634-014-0007-8.
- [9] T. H. Kwon, J. Park, H. Jeong, and K. Park, "Assessment of Speckle-Pattern Quality using Deep-Learning-Based CNN," *Exp Mech*, vol. 63, no. 1, pp. 163–176, Jan. 2023, doi: 10.1007/s11340-022-00906-x.
- [10] X. Duan, H. Xu, R. Dong, F. Lin, and J. Huang, "Digital image correlation based on convolutional neural networks," *Opt Lasers Eng*, vol. 160, Jan. 2023, doi: 10.1016/j.optlaseng.2022.107234.