



**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA**



**DIPARTIMENTO
DI INGEGNERIA
DELL'INFORMAZIONE**

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

**CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN BIOINGEGNERIA DELLA
RIABILITAZIONE**

**“CARATTERIZZAZIONE BIOMECCANICA DEL TESSUTO ADIPOSO
INFRAPATELLARE E SOVRAPATELLARE OSTEOARTRITICO:
PROVE SPERIMENTALI MECCANICHE DI SCORRIMENTO
TANGENZIALE”**

Relatore: Prof.ssa Chiara Giulia Fontanella

Laureanda: Cristiana Gasparin

Correlatore: Dott.ssa Sofia Pettenuzzo

ANNO ACCADEMICO 2022 – 2023

Data di laurea 3 Luglio 2023

Abstract

Il ginocchio è l'articolazione più grande e complessa del corpo umano, sia dal punto di vista funzionale, che strutturale, nonché fondamentale per lo svolgimento delle attività quotidiane dell'individuo.

Risulta essere quella più frequentemente soggetta allo sviluppo di osteoartrite, una patologia estremamente diffusa tra la popolazione mondiale, i cui fattori determinanti, ad oggi, appaiono ancora poco noti.

Studi recenti stanno indagando il ruolo esercitato dal tessuto adiposo del ginocchio nella comparsa della malattia, concentrandosi, in particolare, sul cuscinetto infrapatellare e sovrapatellare.

Il presente elaborato si propone di focalizzare l'attenzione sul comportamento meccanico di questi tessuti. I campioni sono stati ottenuti da dieci soggetti diversi, sottoposti ad operazione di sostituzione protesica dell'articolazione, di cui uno non affetto da osteoartrite, allo scopo di confrontare le loro diverse caratteristiche biomeccaniche tramite prove sperimentali di scorrimento tangenziale, con cinque cicli di carico-scarico, realizzate a tre diverse velocità di deformazione.

Sulla base dei dati ricavati dalle esperienze di laboratorio sono stati calcolati dei parametri costitutivi quali lo shear stress τ (o sforzo di taglio), lo shear strain γ (o deformazione di taglio), poi rappresentati sottoforma di curve sforzo-deformazione di taglio.

Inoltre, sono stati valutati lo shear modulus G , l'energy dissipation density E_{DI} e il peak-to-peak shear stress (ptp).

Queste grandezze sono state poi utilizzate per operare dei confronti sia tra i diversi soggetti, sia tra gli individui raggruppati secondo le loro proprietà caratterizzanti quali sesso, età, BMI e presenza o assenza della patologia.

I valori sperimentali ottenuti dalle prove meccaniche sono stati confrontati con quelli presenti in letteratura, anche se quasi completamente assenti.

I risultati riportati possono essere considerati come un punto di partenza per comprendere come le caratteristiche biomeccaniche del tessuto influiscano sul progredire della malattia, oltre ad essere interessanti per lo sviluppo di modelli completi dell'articolazione del ginocchio e di dispositivi di sostituzione protesica.

Abstract

The knee is the largest and most complex joint of the human body, both functionally and structurally, and it's necessary to perform daily human activities. It is also the joint most frequently affected by osteoarthritis, the most common disorder among the global population, but the risk factors are basically still unknown. Recent studies are investigating the role played by adipose tissue in the knee in the onset of the disease, focusing specifically on the infrapatellar and suprapatellar fat pads (IFP and SFP).

The aim of this study is to observe the mechanical behavior of these tissues.

IFP and SFP specimens were obtained from ten different subjects, in order to compare their different biomechanical characteristics.

Experimental shear tests were performed at three different strain rates.

The data obtained from the tests were used to calculate mechanical parameters such as shear stress (τ), shear strain (γ), from which were calculated and represented stress-strain shear curves.

Moreover, shear modulus (G), energy dissipation density (EDI) and peak-to-peak shear stress (ptp) were evaluated.

These values were used to make comparisons between subjects and individuals, who underwent total knee arthroplasty (OA specimens), grouped according to their properties such as gender, age and BMI. Then, the OA specimens together were compared to a healthy specimen of a subject who underwent to amputation due to leg cancer.

The experimental data obtained from the mechanical tests were compared with those found in the literature, although they were largely absent.

The reported results can be considered as a starting point for understanding how the biomechanical characteristics of the tissue influence the progression of the disease, as well as being valuable for the development of models of the knee joint and prosthetic replacement devices.

Indice

<i>Introduzione</i>	1
<i>Capitolo 1: Anatomia del ginocchio</i>	5
1.1 Strutture ossee coinvolte.....	5
1.2 Articolazioni.....	8
1.2.1. Articolazione patellofemorale.....	8
1.2.2 Articolazione tibio - femorale.....	9
1.2.3. I menischi.....	10
1.2.4. La capsula articolare e le borse.....	11
1.2.5. I legamenti.....	11
1.3 I movimenti.....	13
1.4 Il tessuto adiposo.....	13
1.5 Il tessuto adiposo nell'articolazione del ginocchio.....	14
1.6 Osteoartrite.....	17
<i>Capitolo 2: Materiali e metodi</i>	20
2.1 Descrizione dei soggetti.....	20
2.2 Dissezione e trattamento dei campioni.....	21
2.3 Set up della strumentazione: Biomomentum v500csst Mach-1.....	24
2.4 Prove meccaniche.....	30
2.5 Protocollo.....	31
2.6. Elaborazione dei dati.....	37
<i>Capitolo 3: Risultati</i>	42
3.1. Soggetti singoli.....	42
3.1.1 Shear modulus G.....	48
3.1.2 Dissipazione dell'energia di deformazione E_{DI} e sforzo calcolato da picco a picco.....	50
3.2. Confronti.....	51
3.2.1. Osteoartrite.....	51
3.2.2. Età.....	54
3.2.3. BMI.....	56
3.2.4. Sesso.....	59
<i>Capitolo 4: Discussione</i>	63
<i>Conclusioni</i>	69
<i>Bibliografia</i>	72

Introduzione

L'obiettivo di questo elaborato è quello di indagare il comportamento meccanico del tessuto adiposo infrapatellare e sovrapatellare, sottoponendolo ad una serie di prove di scorrimento tangenziale, con il fine di comprenderne il ruolo svolto nella comparsa e nello sviluppo dell'osteoartrite.

Per quanto ne siamo a conoscenza, in letteratura non sono riportati esempi sullo svolgimento di questo tipo di prove su questo tipo di tessuto prima d'ora.

Il primo capitolo tratta un'inquadratura anatomica dell'articolazione del ginocchio, descrivendo i capi articolari coinvolti e il loro ruolo, oltre ai movimenti concessi da questo particolare tipo di articolazione. In seguito, vengono delineati nello specifico i legamenti presenti, i menischi, la capsula articolare e le borse articolari.

In particolare, ci si sofferma sulla presentazione del tessuto adiposo, prima a livello generale, poi, nello specifico, sulle caratteristiche di quello infrapatellare, o corpo di Hoffa e di quello sovrapatellare. Secondo studi recenti, infatti, essi risultano avere un'influenza, tramite il rilascio di citochine e adipochine, nello sviluppo dell'osteoartrite, la malattia articolare più diffusa nella popolazione, che colpisce principalmente l'articolazione del ginocchio.

Nel secondo capitolo vengono presentati i test sperimentali svolti presso il Laboratorio di Meccanica dei Tessuti Biologici. Da dieci soggetti sottoposti a sostituzione protesica dell'articolazione del ginocchio, il cui tessuto è stato fornito con la collaborazione del Dipartimento di Scienze Chirurgiche Oncologiche e Gastroenterologiche dell'Azienda Ospedale-Università di Padova sono stati ottenuti 26 campioni (5 di SFP e 21 di IFP). Essi sono variegati per età, sesso, BMI e grado di osteoartrite riportato; inoltre, uno di essi risulta affetto da artrite reumatoide e due da osteoartrite conseguente ad un trauma. Viene poi indicato il protocollo eseguito per le prove di scorrimento tangenziale: dopo un preconditionamento, vengono imposti cinque cicli di carico-scarico a tre diverse velocità di deformazione, 10%*s*, 100%*s* e 1000%*s*, con cinque minuti di pausa tra una rampa e la successiva, per consentire al tessuto di ripristinare le proprie caratteristiche strutturali.

I dati relativi alla forza esercitata lungo la direzione *y* e la posizione, suddivisi nelle tre velocità v_1 , v_2 e v_3 , sono stati elaborati per calcolare il valore dello shear stress τ e dello shear strain γ , da cui sono stati ricavati lo shear modulus *G*, corrispondente alla pendenza della curva ottenuta dal plottaggio dei valori precedenti. Inoltre, sono stati ottenuti anche lo strain-energy dissipation, ovvero la quantità di energia dissipata, corrispondente all'area sottesa dalla curva e il peak-to-peak shear stress, la differenza tra il valore di τ calcolato nel valore di γ massimo e

nel valore di γ minimo. Infine, il peak effective shear modulus è stato ottenuto trovando il valore della pendenza della curva nel tratto iniziale e finale e facendone la media.

Il terzo capitolo contiene la descrizione di come è stata realizzata l'elaborazione dei dati con l'utilizzo del software MATLAB (*Mathworks, R2023a*), le cui funzioni hanno permesso di plottare i valori medi di τ e γ relativi ai singoli soggetti assieme al valore medio rispettivamente con l'aggiunta e la sottrazione della deviazione standard, distinte per le velocità di deformazione v_1 , v_2 e v_3 .

Sono stati poi operati dei confronti tra l'unico soggetto non osteoartritico e quelli osteoartritici e, tra questi, delle comparazioni sulla base dell'età, del sesso e del BMI, prendendo in considerazione inizialmente solo i valori di τ e γ , poi anche lo shear modulus G , lo strain-energy dissipation e il peak-to-peak shear stress, questi ultimi calcolati servendosi della funzione *polyarea* e il peak effective shear modulus con *polyfit*.

I risultati ottenuti sono stati raggruppati in delle tabelle e rappresentati tramite curve sforzo-deformazione, in modo da analizzare le proprietà meccaniche del tessuto adiposo infrapatellare e sovrapatellare, traendo delle considerazioni sui fattori che le influenzano.

Il quarto e ultimo capitolo si concentra sulla discussione dei valori ottenuti, realizzando un confronto con i dati presenti in letteratura, reperiti con molta difficoltà perché scarsi in quanto numerosità. Inoltre, per quanto ne siamo a conoscenza, non vi è traccia negli articoli di prove di scorrimento tangenziale realizzate su tessuto adiposo infrapatellare e sovrapatellare; pertanto, le considerazioni sono state fatte confrontando le caratteristiche risultanti da altre tipologie di test, quali prove di compressione o trazione oppure su tessuti adiposi provenienti da altre zone dell'organismo, quali l'addome o il piede o addirittura effettuate su altri tipi di tessuto come cartilagine o tessuto nervoso.

Quindi, i risultati ottenuti da questo lavoro possono essere considerati come un punto di partenza per l'analisi e la ricerca delle caratteristiche biomeccaniche del tessuto adiposo infrapatellare e sovrapatellare. Possono infatti essere approfonditi avvalendosi di un numero più elevato di campioni, soprattutto per quanto riguarda il tessuto sovrapatellare e andando a ricercare soggetti con delle caratteristiche individuali specifiche da prendere in considerazione per comprenderne l'influenza. A partire da questi dati può essere individuato il modello costitutivo adeguato a riassumerne le caratteristiche, andando ad approfondire il legame con altre grandezze che descrivono il comportamento viscoelastico dei materiali.

Inoltre, integrandoli con quelli già presenti riguardo altri tipi di prove meccaniche, può essere valutato con più efficacia il loro ruolo, sia in generale a livello di funzionamento articolare, e quindi interrogarsi sull'asportazione o meno durante le operazioni chirurgiche (ed eventualmente su quale tipo di materiale si possa rivelare più adatto alla sostituzione), sia a

livello di sviluppo della malattia e dell'eventuale possibilità di prevenirla, diminuendo i fattori di rischio.

Capitolo 1: Anatomia del ginocchio

Il ginocchio è l'articolazione sinoviale più grande e complessa del corpo umano, costituita da due diartrosi e una pedartrosi. Tra le articolazioni degli arti inferiori è quella caratterizzata dalla maggiore ampiezza di movimento (fino a 160°) [1].

Grazie alla sua conformazione strutturale conferisce stabilità all'intero corpo umano e consente lo svolgimento di movimenti essenziali quali la deambulazione e il mantenimento della postura eretta.

1.1 Strutture ossee coinvolte

Il **femore** è l'osso più lungo e più pesante del corpo umano. Come si vede in Figura 1.1.1., è costituito da due estremità, chiamate epifisi e da un corpo centrale chiamato diafisi. L'epifisi distale si articola con la tibia a formare l'articolazione del ginocchio, mentre quella prossimale, di forma rotondeggiante, detta testa, si articola con la pelvi a livello dell'acetabolo, a formare l'articolazione dell'anca. La testa viene connessa al corpo del femore attraverso il collo, formando un angolo di circa 125° che permette i movimenti dell'anca e il supporto del peso corporeo.

I tendini si inseriscono in degli appositi solchi, chiamati trocanteri. Il grande trocantere, situato nel punto in cui il collo e il corpo si uniscono, si estende lateralmente, mentre il piccolo trocantere origina sulla superficie postero-mediale del femore. Anteriormente la linea intertrocanterica segna il limite della capsula articolare, proseguendo poi sulla superficie posteriore prende il nome di cresta intertrocanterica.

Per quanto concerne le inserzioni dei muscoli, al di sotto della cresta intertrocanterica troviamo la linea pettinea, in posizione mediale e la tuberosità glutea, in posizione laterale, che permettono rispettivamente l'inserzione del muscolo pettineo e del grande gluteo. Sulla superficie posteriore, invece, la linea aspra rappresenta il punto di inserzione dei muscoli adduttori del femore. A livello distale si suddivide in due creste sopracondiloidee, una mediale e una laterale, che vanno a delimitare la superficie poplitea. I condili mediale e laterale si trovano in posizione distale rispetto agli epicondili. Essi si fondono a determinare la superficie patellare, sulla quale scivola la patella, anteriormente, posteriormente invece i due condili sono separati dalla fossa intercondiloidea.

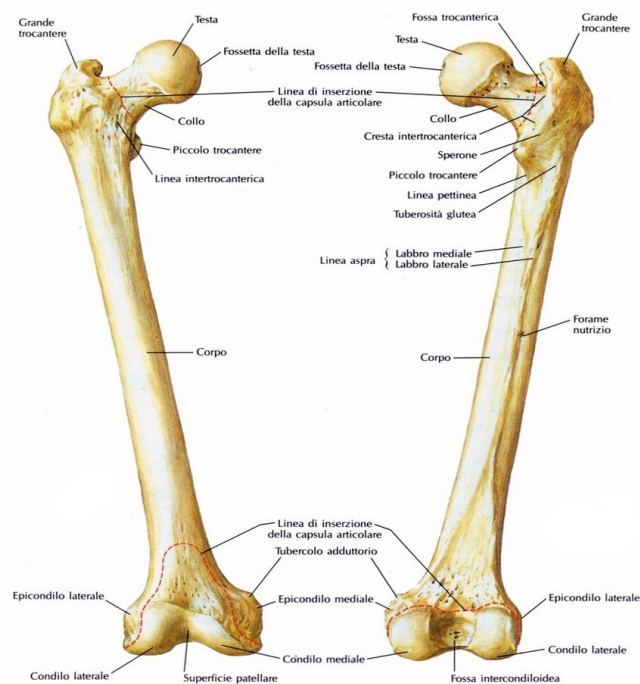


Figura 1.1.1: Visione anteriore (a sinistra) e posteriore (a destra) del femore.

La **patella**, o rotula, è il più grande osso sesamoide del corpo umano, ha una superficie approssimativamente triangolare, come si nota in Figura 1.1.2. e si trova all'interno del tendine del muscolo quadricipite femorale. La sua funzione è quella di rafforzare i tendini del quadricipite proteggendo la superficie anteriore del ginocchio e incrementando la forza di contrazione del muscolo. La patella ha una base inferiore e un apice relativamente appuntito e presenta una superficie convessa e corrugata. Questa, assieme alla base, permette l'inserzione del tendine del quadricipite (superiormente e anteriormente) e del legamento patellare (anteriormente e inferiormente), che prosegue fino alla tibia. Sulla superficie posteriore vi sono invece due faccette concave che si articolano con il condilo mediale e laterale del femore.

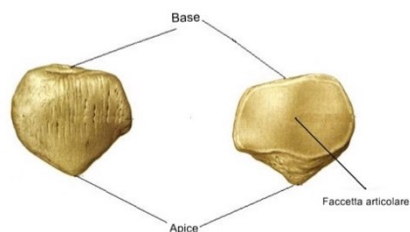


Figura 1.1.2: Visione anteriore e superiore patella

La **tibia** è l'osso mediale della gamba, anch'essa un osso lungo, quindi costituito da una diafisi e due epifisi. I condili mediale e laterale della tibia si articolano con i condili corrispondenti del femore. Essi sono separati l'uno dall'altro da una cresta, l'eminenza intercondiloidea, visibile in alto in Figura 1.1.3. sulla quale si trovano due tubercoli, laterale e mediale. Inoltre, il condilo laterale si articola anche con la fibula o perone nell'articolazione tibiofibulare superiore. In prossimità dei condili si trova il punto di inserzione del legamento patellare, a livello della tuberosità tibiale, sporgente e rugosa. Tutto il margine anteriore della tibia può essere facilmente percepito al tatto, al di sotto della cute. Il margine laterale, detto anche margine interosseo è quello che, attraverso una guaina di collagene, si collega al margine mediale della fibula. Man mano che si procede in direzione distale il diametro della tibia diminuisce, fino ad aumentare nuovamente di spessore a livello del malleolo mediale. Esso ha una funzione di supporto per l'articolazione della caviglia, impedendo lo scivolamento della tibia sull'astragalo. Questa articolazione ha lo scopo di trasmettere il peso del corpo, ricevuto dal femore a livello del ginocchio, al piede. A livello posteriore troviamo invece l'inserzione di numerosi muscoli della gamba, tra cui il soleo e il popliteo, che avviene a livello della linea poplitea.

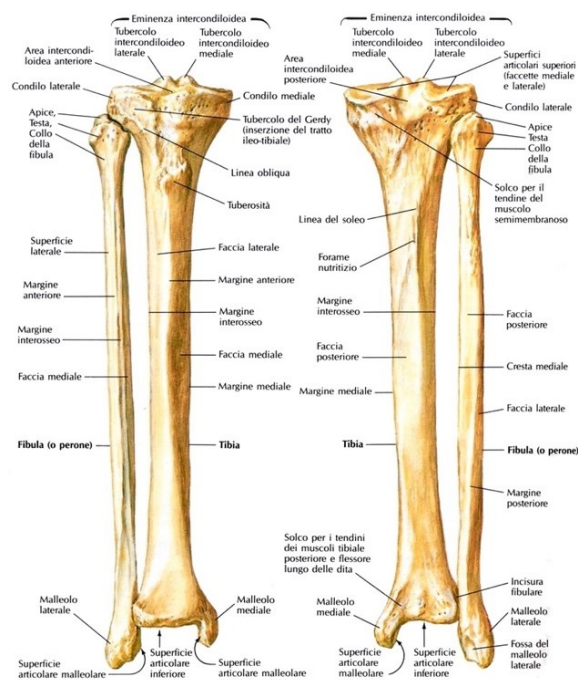


Figura 1.1.3: Tibia e fibula vista anteriore e posteriore

La **fibula**, o perone, è anch'essa un osso lungo, molto sottile ed esile, disposto parallelamente alla tibia. A livello prossimale, la sua testa, a forma di freccia, si articola con il margine laterale

della tibia, tramite il condilo laterale. Lungo tutto il margine mediale è presente la membrana interossea che si estende lungo i margini interni di tibia e fibula. Essa consente di stabilizzare la posizione rispettiva dei due capi ossei e, grazie alla sua estensione superficiale, permette l'inserzione di muscoli e tendini. A livello distale essa termina con il malleolo laterale, che fornisce stabilità alla caviglia e, come il malleolo mediale, ostacola lo scivolamento della tibia verso l'astragalo. La fibula non risulta parte dell'articolazione del ginocchio, né trasmette il peso del corpo alla caviglia, ma è fondamentale per l'inserzione di muscoli.

1.2 Articolazioni

Il ginocchio è l'articolazione intermedia della parte inferiore del corpo umano ed è caratterizzata da due gradi di libertà principali: la flessione-estensione, che avviene nel piano sagittale e la rotazione interna ed esterna lungo l'asse della tibia. Essa è costituita da due diartrosi, ossia articolazioni complesse circondate da una capsula articolare e contenenti liquido sinoviale e un'articolazione a sella o pedartrosi, caratterizzata da una superficie convessa e una concava che permette ampi movimenti angolari in flessione-estensione.

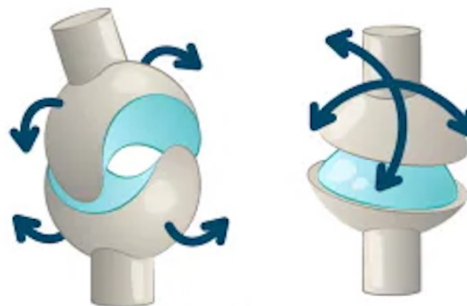


Figura 1.2.1: Schematizzazione dell'articolazione a sella (sinistra) e condiloidea (destra)

1.2.1. Articolazione patellofemorale

L'articolazione patellofemorale è un'articolazione a sella e si realizza tra la patella e la superficie intercondiloidea del femore. Nell'incavo centrale tra il condilo femorale e mediale si forma la superficie patellare che è complementare alla sporgenza della rotula chiamata cresta patellare. Entrambe le superfici sono rivestite da uno spesso strato cartilagineo.

Durante il movimento di estensione, le faccette patellari centrali entrano a contatto con la metà inferiore della superficie patellare del femore, mentre quando si raggiunge l'estensione massima, solo le faccette inferiori della rotula aderiscono al femore come si nota in Figura 1.3.2.

Quindi, durante la flessione la superficie di contatto si espande per far fronte all'incremento della sollecitazione, con la patella che compie uno scivolamento verso il basso.

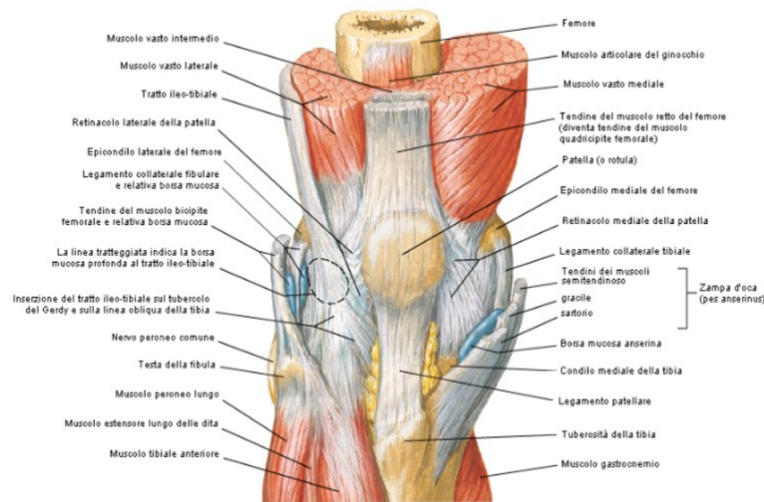


Figura 1.3.2. Visione anteriore dell'articolazione femoro rotulea

1.2.2 Articolazione tibio - femorale

L'articolazione tibio-femorale è un'articolazione sinoviale molto complessa. I capi articolari coinvolti sono la superficie tibiale prossimale, nota anche come piatto tibiale e i condili femorali mediale e laterale, ricoperti da uno strato di cartilagine.

Osservando i condili femorali in sezione, è possibile notare che non sono simmetrici, ma presentano delle differenze morfologiche. Il condilo femorale mediale ha una forma arcuata e nel suo insieme ovalare, più lunga rispetto al condilo femorale laterale che ha invece forma circolare. Ciò si riflette sul piatto tibiale: sul versante mediale si ha una superficie ovalare e su quello laterale una forma circolare. La superficie posteriore della tibia, presenta un solco rugoso orizzontale in cui sono attaccate la capsula fibrosa e la parte posteriore del legamento mediale collaterale.

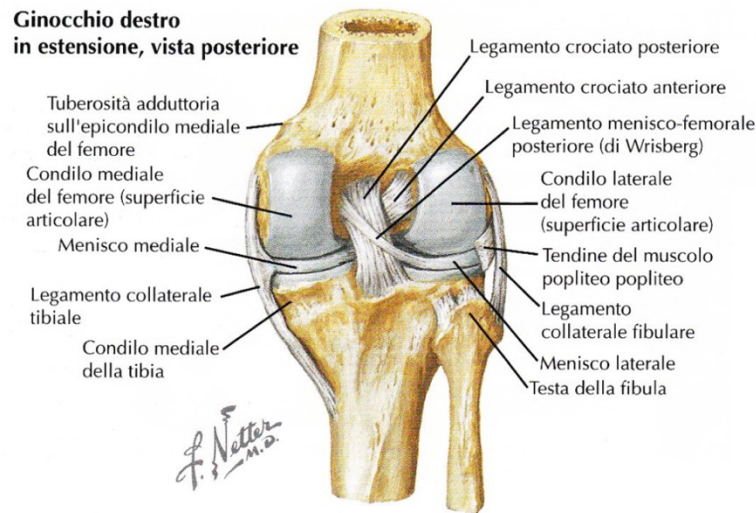


Figura 1.2.3: Visione posteriore dell'articolazione tibio-femorale

L'area compresa tra le superfici articolari dei condili, dall'aspetto rugoso, costituisce l'area intercondiloidea. In Figura 1.2.3 si può apprezzare posteriormente l'inserzione del legamento crociato anteriore. Il corno anteriore del menisco laterale invece si inserisce anteriormente all'eminanza intercondiloidea, mentre il corno posteriore si inserisce nella porzione posteriore. La porzione più liscia costituisce il sito di inserzione per il legamento crociato posteriore.

1.2.3. I menischi

I menischi sono strutture fibro-cartilaginee intracapsulari, a forma di mezzaluna, che hanno il compito di aumentare la congruità nel movimento dei condili femorali e del piatto tibiale. Dei menischi possiamo distinguere due estremità o corna, una anteriore, una posteriore e un corpo interposto. Guardandoli in sezione sagittale, si capisce che esternamente sono più alti e spessi, oltre che convessi e man mano che procediamo verso l'interno si assottigliano e assumono una forma concava. Il loro aspetto risulta quindi triangolare, con la base rivolta esternamente e l'apice internamente.

Sono costituiti da fibre lunghe e spesse, dette circonferenziali nella zona più periferica, utili a contrastare le forze di trazione, mentre all'interno, da fibre brevi che hanno andamento radiato per resistere a forze di compressione.

Il menisco mediale ha una forma aperta, a semiluna e il suo margine periferico aderisce alla capsula fibrosa e alla superficie del legamento collaterale mediale.

Il menisco laterale ha una forma ad "O" e le sue estremità risultano molto vicine, ricoprendo un'area più estesa di quello mediale, come si deduce in Figura 1.2.4.

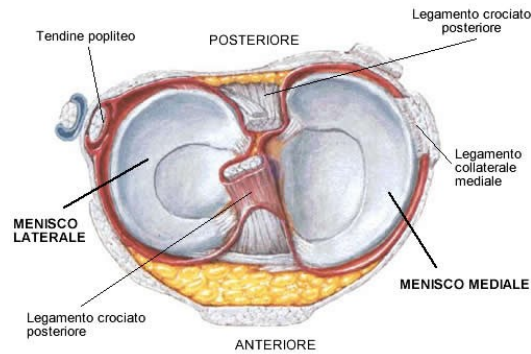


Figura 1.2.4. Visione trasversale del menisco

1.2.4. La capsula articolare e le borse

I capi articolari sono avvolti da una capsula dall'aspetto fibroso all'esterno e sinoviale all'interno. A causa della complessità dell'articolazione la capsula articolare risulta essere discontinua: infatti anteriormente viene sostituita dal tendine patellare ed è assente in luogo della patella [2].

All'interno della capsula troviamo la membrana sinoviale che risulta essere la più estesa e complessa dell'intero organismo. Il suo ruolo è quello di contenere e produrre il liquido sinoviale, ovvero un fluido lubrificante che riduce l'attrito tra le superfici articolari durante i movimenti e nutre le strutture cartilaginee.

Essa si inserisce esternamente alle superfici cartilaginee e deborda. Si porta superiormente verso l'alto, formando una borsa sinoviale sovrapatellare tra il quadricipite femorale e la diafisi del femore. Posteriormente costituisce delle debordanze retrocondilari e si organizza esternamente rispetto ai menischi e riveste le strutture legamentose dei crociati. Inoltre, attorno al tendine del muscolo oplito forma il recesso subpopliteo e posteriormente le borse del gastrocnemio, laterale e mediale.

1.2.5. I legamenti

La complessità dell'articolazione del ginocchio richiede un apparato legamentoso robusto ed esteso, costituito da sette legamenti:

- Il legamento patellare, ovvero l'estensione del tendine del muscolo quadricipite femorale, che passa sulla superficie anteriore dell'articolazione, avvolgendo la patella

fino alla tuberosità tibiale. Ha una lunghezza di circa 8 cm. Esso rende stabile la porzione anteriore dell'articolazione del ginocchio nella zona in cui la capsula articolare è discontinua.

Gli altri legamenti di supporto possono essere, a seconda della loro posizione, intra o extra capsulari e in entrambi i casi rafforzano la struttura della capsula fibrosa. Tra gli extracapsulari individuiamo:

- Il legamento collaterale tibiale, o mediale, si porta dall'epicondilo del femore fino al versante mediale della tibia. Ha un aspetto piatto e laminare, con delle strutture che dal condilo si dirigono verso la tibia e delle altre che vengono definite corte, o posteriori, che fanno un ponte sul menisco mediale. Ha una lunghezza di circa 10 cm. Funge da stabilizzatore quando il ginocchio è in estensione.
- Il legamento collaterale fibulare, o peroneale, o laterale, rafforza il versante laterale. È una struttura cordoniforme che si porta dall'epicondilo laterale fino alla testa della fibula. Si posiziona completamente all'esterno. Tra il legamento e il menisco decorre il tendine del muscolo opliteo e del tessuto fibroadiposo con vasi e nervi a separarlo. Anch'esso conferisce stabilità durante i movimenti di estensione.
- I legamenti poplitei obliquo e arcuato sono più superficiali e si trovano tra il femore e la testa della tibia e della fibula, sul versante posteriore del ginocchio, rafforzandolo. Il legamento arcuato ha un andamento a Y.

I legamenti intracapsulari, circondati completamente dalla membrana sinoviale, tranne posteriormente, sono i legamenti crociati, così definiti perché si incrociano tra loro durante il decorso:

- Il legamento crociato anteriore situato anteriormente rispetto alla tibia è una struttura laminare a doppia obliquità che dalla faccia interna del condilo laterale si porta davanti all'eminanza intercondiloidea. Nel suo decorso distinguiamo due fasci: uno posterolaterale e uno antero-mediale che si incrociano.
- Il legamento crociato posteriore, localizzato posteriormente rispetto alla tibia è una struttura cordoniforme che si porta dal versante interno del condilo mediale fino alla zona posteriore dell'eminanza intercondiloidea. Dal versante interno del condilo femorale-mediale si porta verso il basso e posteriormente, assumendo un aspetto "a virgola". Esso è più spesso e più forte di quello anteriore, risultando quindi anche meno soggetto a rottura.

1.3 I movimenti

I movimenti consentiti a livello dell'articolazione del ginocchio sono la flessione e l'estensione, la rotazione interna o mediale e la rotazione esterna o laterale. Dall'interazione tra il femore e la tibia otteniamo la flessione del ginocchio, che consiste principalmente in uno scivolamento dei due capi articolari l'uno sull'altro, con una maggiore libertà di movimento del condilo femorale laterale rispetto a quello mediale.

La funzione della rotula è quella di aumentare la leva del quadricipite femorale, accrescendo la distanza tra la linea d'azione della forza del quadricipite e il centro dell'articolazione. I legamenti crociati sono responsabili della stabilità dell'articolazione principalmente sul piano sagittale e poi su quello trasversale. La loro orientazione cambia durante il movimento di flessione, il legamento crociato anteriore si dispone più orizzontalmente, mentre quello posteriore diventa più verticale. Il movimento di flessione avviene grazie all'azione del bicipite femorale, con il supporto di gracile, sartorio e popliteo e dei legamenti crociati, mentre l'estensione grazie all'azione del quadricipite femorale e di tutte e quattro le principali strutture legamentose.

Al movimento di rotazione, che avviene in concomitanza con la flessione e l'estensione, concorrono il muscolo popliteo, semitendinoso e semimembranoso per quanto riguarda la rotazione interna, mentre quella esterna si realizza grazie al bicipite femorale.

1.4 Il tessuto adiposo

Il ruolo principale del tessuto adiposo è quello di conservare energia sottoforma di lipidi, anche se, a seconda della loro posizione, i diversi tipi di tessuto adiposo possono assumere una funzione differente.

Esso è principalmente costituito da cellule chiamate adipociti, dal diametro di circa 80 μ , inseriti all'interno di una struttura esterna di tessuto connettivo costituito principalmente da collagene di tipo IV, dello spessore di circa 100 nm. Gli adipociti maturi sono organizzati in lobuli del diametro di circa 1 mm e sono separati da un setto interlobulare costituito da collagene di tipo I, con un diametro che varia da 10 nm a 30 μ . I diversi tipi di tessuto adiposo differiscono per la dimensione dei lobuli e lo spessore dei setti oltre che per la differente composizione della matrice extracellulare [3].

A livello più generale si distinguono due diversi tipi di tessuto adiposo: il tessuto adiposo bianco e il tessuto adiposo bruno. Quello bianco, il più diffuso negli individui adulti, è caratterizzato

da un colore giallo pallido i cui adipociti sono costituiti essenzialmente da un'unica grossa goccia lipidica come è evidente dall'immagine istologica in Figura 1.4.1., per cui vengono definiti anche uniloculari.

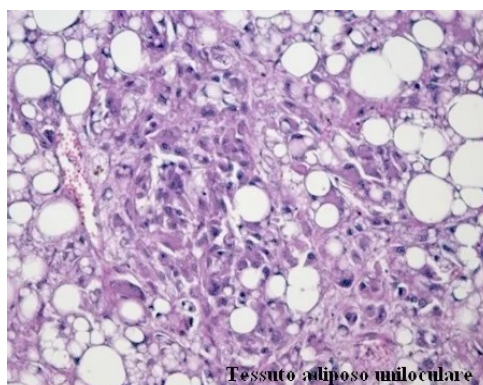


Figura 1.4.1 Istologia del tessuto adiposo bianco

La sua funzione è quella di ammortizzare gli urti, partecipare al mantenimento della temperatura corporea, riducendo la dispersione termica e compattare e riempire le strutture.

Il tessuto adiposo bruno è invece più abbondante nei neonati e nei bambini ed è caratterizzato da adipociti formati da tanti vacuoli di grasso e per questo definiti multiloculari. La ricca presenza di vasi sanguigni e di mitocondri gli conferiscono la tipica colorazione bruna. Il nucleo è rotondo e situato in posizione centrale. Si tratta di un tessuto molto attivo dal punto di vista biochimico, con il ruolo di regolarizzazione della temperatura.

Le proprietà meccaniche di questo tipo di tessuto possono essere valutate in vitro tramite prove meccaniche quali test di tensione e compressione, taglio e rotazione e indentazione.

In generale, esse dipendono dalla configurazione del tessuto, in particolare dalla dimensione dei lobuli e dallo spessore dei setti che condizionano la risposta meccanica alle sollecitazioni. Per interpretare le caratteristiche dei tessuti adiposi generalmente si ricorre a formulazioni costitutive iperelastiche. Infatti, presenta un comportamento elastico non lineare e quasi incomprimibile e una configurazione anisotropica [4].

1.5 Il tessuto adiposo nell'articolazione del ginocchio

L'articolazione del ginocchio è caratterizzata dalla presenza di tre corpi adiposi principali, localizzati nella porzione anteriore tra la capsula articolare e la membrana sinoviale: il corpo di Hoffa o tessuto adiposo infrapatellare, il tessuto adiposo sovrapatellare e il tessuto adiposo pre-femorale.

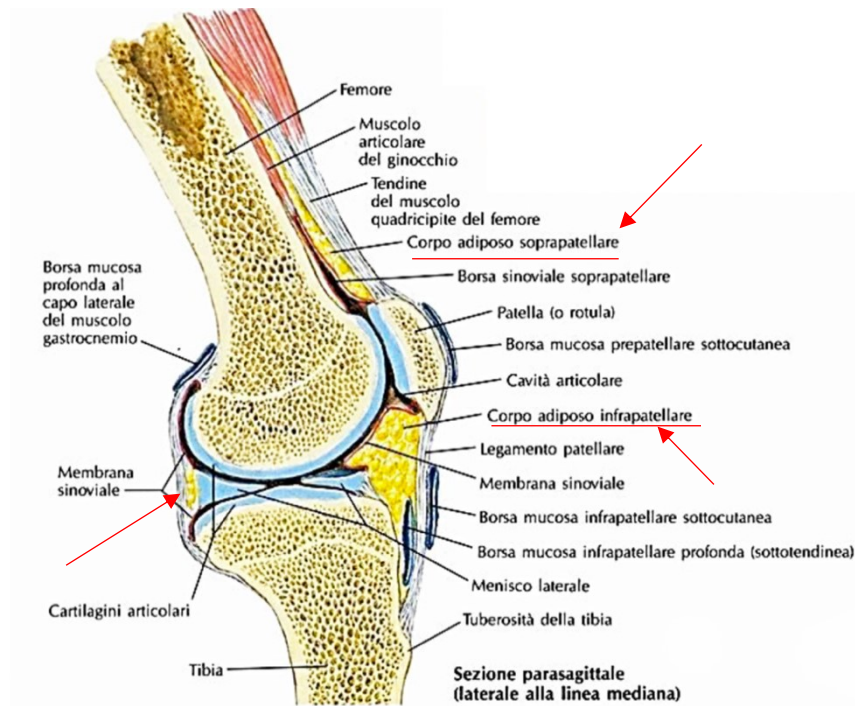


Figura 1.5.1 Visione parasagittale dell'articolazione del ginocchio

Il tessuto adiposo infrapatellare (IFP) è una struttura intracapsulare ma extrasinoviale [5] formata da un corpo centrale e due estensioni (mediale e laterale) ed è localizzato tra il tendine patellare, il solco intercondiloideo, l'estremità inferiore della patella, il piatto tibiale anteriore e i corni anteriori di entrambi i menischi e la superficie anteriore del femore [6].

Sul versante posteriore risulta continuo rispetto alla membrana sinoviale.

A livello microscopico è costituito da adipociti con lobuli delle dimensioni di 1.15 mm di diametro, racchiusi in uno scheletro di tessuto connettivo spesso 0.22 mm. Oltre agli adipociti presenta anche fibroblasti e cellule del sistema immunitario come macrofagi, mastociti e linfociti. Si presenta come un tessuto molto vascolarizzato, particolarmente nella sua porzione più esterna, oltre che altamente innervato e, di conseguenza, una importante fonte di dolore.

Esso può essere suddiviso in due strati, uno superficiale, caratterizzato dalla presenza di adipociti più larghi e l'altro, più profondo costituito da lobuli più piccoli; al contrario, lo spessore dei setti che racchiudono i lobuli più profondi è maggiore di quelli più superficiali [7].

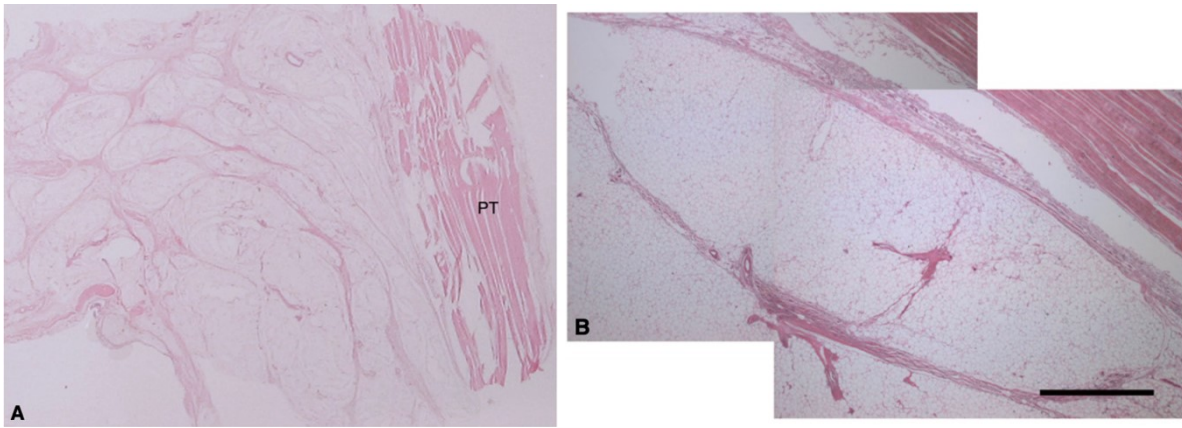


Figura 1.5.2. A) Lobuli più grandi nell'IFP in prossimità del tendine patellare B) Lobuli più piccoli ad un livello più profondo [7].

Da un punto di vista meccanico risulta avere un comportamento di tipo non-lineare e tempo dipendente, quasi incompressibile e una configurazione anisotropica. Può quindi essere descritto attraverso un modello costitutivo iperelastico [8-9].

La funzione di questo corpo adiposo, ad oggi, non è ancora del tutto chiara. In passato si pensava fungesse solamente da cuscinetto per attutire le forze durante i movimenti del ginocchio e supportare l'attività del tendine patellare e che aiutasse la distribuzione del liquido sinoviale all'interno della membrana. Risulta inoltre essere più robusto e resistente rispetto agli altri tessuti adiposi e avere un ruolo fondamentale nello sviluppo della deformazione se sollecitato da forze esterne [10].

Oltre a questa funzione biomeccanica, secondo studi recenti riveste anche un'importante funzione biochimica, poiché è in grado di secernere mediatori infiammatori come le citochine e le adipochine, strettamente coinvolte nella patogenesi di malattie come l'osteoartrite [11].

Viene inoltre spesso dibattuto il suo ruolo a livello chirurgico, interrogandosi sull'importanza del suo mantenimento o dell'asportazione in fase operatoria [5].

Il tessuto adiposo sovrapatellare (SFP) è una struttura intracapsulare ed extrasinoviale, localizzata sopra alla patella e dietro l'inserzione del tendine del quadricipite che agisce come supporto ai movimenti di estensione della rotula. Ha una forma approssimativamente triangolare [12].

Si è dimostrato che anch'esso produce un'elevata quantità di molecole infiammatorie [13]. Inoltre, molti studi riguardano la correlazione tra il dolore anteriore al ginocchio e la massa dell'SFP; tuttavia, non è ancora del tutto chiara la sua funzione [12].

1.6 Osteoartrite

L'osteoartrite è una malattia degenerativa che coinvolge tutti i tessuti che costituiscono un'articolazione. Si tratta della patologia cronica più diffusa a livello articolare, nonché di una delle principali cause di dolore e disabilità nella popolazione mondiale adulta. Si ritiene che, con la continua crescita dell'età media e della diffusione dell'obesità, anche la sua incidenza sia destinata ad aumentare [6-8-11]. Il ginocchio risulta essere l'articolazione più colpita da questa disfunzione [11].

Essa porta alla perdita totale del funzionamento dell'articolazione che colpisce, causando un assottigliamento della cartilagine e la formazione di nuovo tessuto osseo, con una conseguente riduzione della qualità della vita del paziente e un notevole costo economico per l'intera società [6].

Attualmente sono disponibili solamente cure farmacologiche palliative che non interrompono il decorso della malattia, fino a giungere, nello stadio finale, alla totale degenerazione dell'articolazione che può essere risolta solo con la sostituzione protesica totale dell'articolazione coinvolta [11].

Si tratta di una patologia sia sintomatica, che asintomatica [6]. Poiché attualmente la diagnosi si basa principalmente sulla presenza di sintomi, primo su tutti il dolore, risulta fondamentale comprendere quali siano i fattori di rischio che ne determinano la comparsa. Ad oggi sono stati individuati principalmente l'età, il sesso, (risulta essere più diffusa nelle donne che negli uomini [11]), il BMI, il disallineamento articolare e una distribuzione anomala del peso nell'articolazione [8].

Si tratta quindi di un insieme di fattori ormonali e metabolici, combinati con alterazioni biomeccaniche.

Studi recenti si sono focalizzati sul ruolo svolto dai cuscinetti di tessuto adiposo presenti nel ginocchio, come il corpo di Hoffa, noto per la produzione di citochine e adipochine [9], così come dal corpo adiposo sovrapatellare [13] nella patogenesi.

In particolare, a livello microscopico risulta notevole l'aumento della vascolarizzazione e dello spessore sia dei lobuli sia dei setti interlobulari nell'IFP dei pazienti soggetti da osteoartrite [14] con una conseguente modificazione della risposta meccanica alle sollecitazioni.

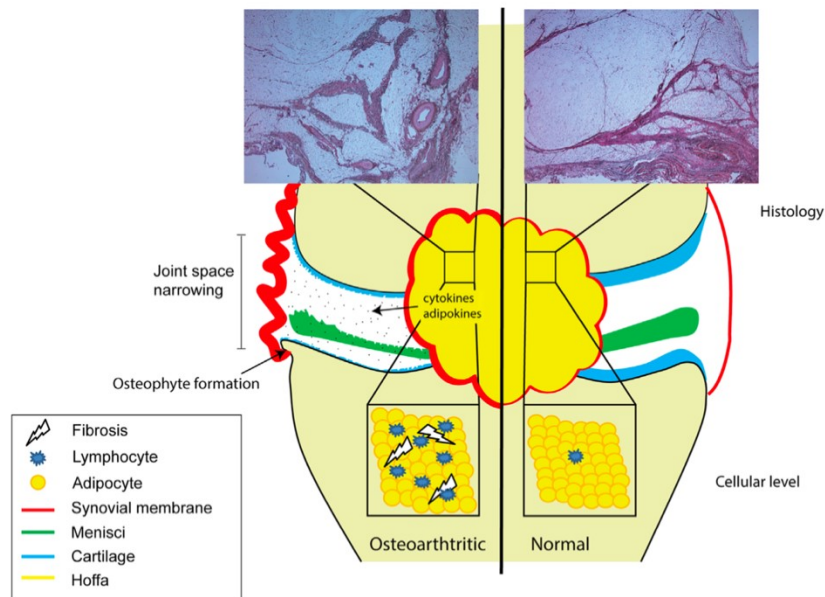


Figura 1.6.1 Rappresentazione delle trasformazioni subite da IFP affetto da osteoartrite [11].

In Figura 1.6.1. sono schematizzate le differenze tra un ginocchio affetto da osteoartrite sulla metà sinistra e uno sano, a destra. La diminuzione dello spazio articolare risulta evidente, così come la degradazione della cartilagine (azzurro), l'assottigliamento dei menischi (verde) e l'infiammazione della membrana sinoviale (rosso). Si nota inoltre come l'IFP sia colpito da fibrosi (bianco) e come vi sia un incremento del numero di linfociti. (blu)

Anche dal punto di vista biomeccanico è stato riscontrato un aumento della rigidità a compressione in condizioni patologiche, a causa dell'aumento dell'infiammazione e della fibrosi, con una maggiore estensione della matrice extracellulare [13].

Il tessuto adiposo sovrapatellare è stato esaminato per comprendere se abbia un ruolo attivo nello sviluppo dell'osteoartrite, al momento senza risultati significativi [13].

Capitolo 2: Materiali e metodi

Le prove sperimentali sono state eseguite presso il Laboratorio di Meccanica dei Tessuti Biologici, afferente al dipartimento di Ingegneria Industriale dell'Università degli Studi di Padova, in collaborazione con il Dipartimento di Scienze Chirurgiche Oncologiche e Gastroenterologiche, che ha fornito i campioni da sottoporre ai test sperimentali. Per esaminare il comportamento dei tessuti, sono state realizzate delle prove meccaniche di scorrimento tangenziale, costituite da cinque cicli di carico-scarico a tre diverse velocità di deformazione.

2.1 Descrizione dei soggetti

I campioni biologici sono stati forniti dal Dipartimento di Scienze Chirurgiche Oncologiche e Gastroenterologiche dell'Azienda Ospedale-Università di Padova. I dieci partecipanti sono stati messi a conoscenza dei rischi e dei benefici derivanti dall'inclusione nello studio e hanno fornito il loro consenso informato alla pubblicazione dei dati. I tessuti provengono per la maggior parte da individui colpiti da osteoartrite, di cui due conseguenti ad un trauma (GLA15051952 e AAB27111950), mentre l'unico campione sano appartiene ad un paziente (VGB280918945) affetto da artrite reumatoide. In tutti i casi analizzati, i soggetti sono stati sottoposti ad un intervento di sostituzione protesica totale dell'articolazione del ginocchio. Le loro principali caratteristiche sono riassunte in Tabella 2.1.1. I tessuti provengono da 6 individui di sesso femminile e 4 di sesso maschile, di età compresa tra i 55 e gli 86 anni (età media $71,8 \pm 10,2$).

ID	Data prelievo	Sesso	Età	OA	IFP	SFP
FAB06061936	06/10/22	F	86	X	2	2
SIA01031957	17/10/22	M	66	X	3	1
MCB20041943	24/03/23	F	80	X	1	0
VGB28061945	10/06/22	F	77		3	0
PMCB02101939	06/10/22	F	83	X	4	1
PFA02071964	22/02/23	M	58	X	1	1
GLA15051952	21/02/23	M	70	X(trauma)	2	0
MMA20121951	05/10/22	M	71	X	1	0
ELB28011968	24/03/23	F	55	X	2	0
AAB27111950	30/03/23	F	72	X(trauma)	2	0

Tabella 2.1.1. Caratteristiche principali dei soggetti coinvolti

Il prelievo dei campioni è stato eseguito nell'arco temporale di 9 mesi, in quanto il più remoto risale al 10/06/2022 e il più recente al 30/03/2023. Di quattro soggetti ci sono pervenuti sia il tessuto adiposo infrapatellare che sovrapatellare, mentre dei restanti (tra cui i soggetti con osteoartrite derivante da trauma e quello non osteoartritico) è stato recuperato solo il corpo adiposo di Hoffa. Si è ottenuto un totale di 26 campioni (di cui 5 di tessuto sovrapatellare e 21 infrapatellare) e realizzate altrettante prove.

Altre informazioni sui soggetti vengono riportate in Tabella 2.1.2. Il grado di osteoartrite riscontrato è massimo in quattro pazienti e al terzo stadio in tre pazienti, dei restanti non è noto. La classificazione del grado di osteoartrite si basa sulla scala di Outerbridge in cui il Grado 0 = cartilagine normale; Grado 1 = cartilagine più gonfia e molle; Grado 2 = un parziale difetto di spessore con crepe che non raggiunge l'osso subcondrale o eccede di 1.5 cm in diametro; Grado 3 = crepe a livello dell'osso subcondrale in un'area del diametro di 1,5 cm e Grado 4 = osso subcondrale esposto. [13]

Un soggetto della coorte risulta essere fumatore e uno ex fumatore. Per quanto riguarda l'indice di massa corporea, solo due individui (PFA02071964 e GLA15051952) vengono classificati come normopeso, ossia con BMI < 24.99 kg/m², quattro (SIA01031957, MCB20041943, MMA20121951 e ELB28011968) come sovrappeso, cioè BMI < 29.99 kg/m² e tre come obesi di classe I (PMCB02101939, FAB06061936 e AAB27111950) con BMI < 34.99 kg/m² (media 28,23 kg/m² ± 2,97 kg/m²). Non si ha alcuna informazione aggiuntiva sul paziente non osteoartritico VGB28061945.

ID	Grado OA	Fumo	BMI [kg/m ²]
FAB06061936	Non noto	0	30,44
SIA01031957	Non noto	0	28,41
MCB20041943	4	0	29,3
VGB28061945		Non noto	Non noto
PMCB02101939	4	Non noto	30,67
PFA02071964	3	1	23,77
GLA15051952	4	2	24,67
MMA20121951	3	Non noto	26,23
ELB28011968	3	0	27,68
AAB27111950	4	0	32,89

Tabella 2.1.2. Informazioni aggiuntive sui soggetti coinvolti (Fumo: 1 = Sì, 0 = No, 2 = Ex fumatore).

2.2 Dissezione e trattamento dei campioni

Il tessuto adiposo è stato completamente asportato durante gli interventi di sostituzione protesica a cui sono stati sottoposti i pazienti. Da un totale di 10 donatori sono stati ottenuti 14 campioni, di cui 4 di tessuto sovrapatellare e 10 di corpo adiposo di Hoffa. Dopo l'intervento i campioni sono stati congelati e mantenuti ad una temperatura di circa -20°C in un congelatore situato all'interno del laboratorio. Circa 30 minuti prima dello svolgimento delle prove sperimentali sono stati scongelati a temperatura ambiente e idratati con soluzione fisiologica. Per isolare il tessuto adiposo dai rimasugli di tessuto tendineo e per scartare frammenti bruciati durante l'operazione è stato utilizzato un bisturi. Una volta effettuata questa "pulizia" è stato possibile individuare ad occhio nudo le principali caratteristiche tipiche del tessuto adiposo, tra cui il colore giallognolo e la consistenza molle e compatta, in accordo con la sua funzione biomeccanica, di protezione dagli urti e dagli impatti e di supporto alla distribuzione del liquido sinoviale [8].



Figura 2.2.1. Taglio di un campione di tessuto con il bisturi

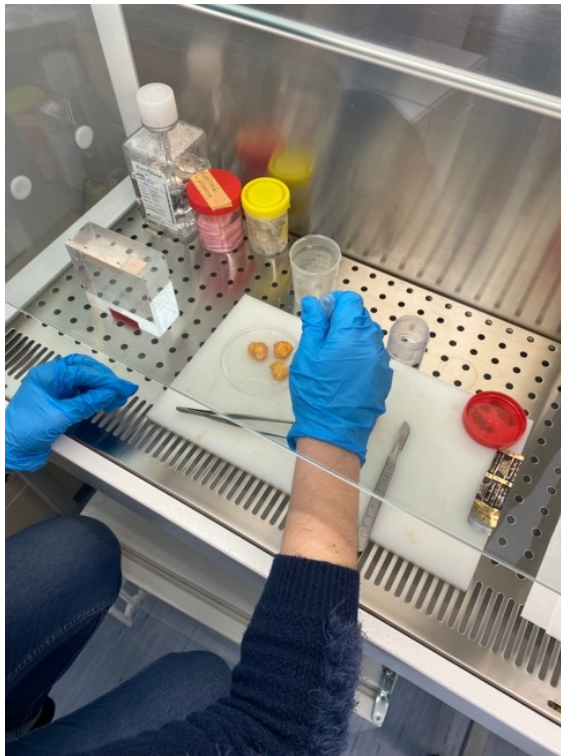


Figura 2.3.2. Campioni idratati con soluzione salina dopo il taglio

Sempre servendosi del bisturi, i tessuti sono stati ritagliati fino ad ottenere dei campioni di superficie rettangolare e forma pressoché cubica. A seconda delle dimensioni del campione di partenza, sono stati ottenuti un numero variabili di esemplari da testare. In particolare, ne sono stati ricavati in quantità superiore dai soggetti con un BMI più elevato o con un grado di osteoartrite più alto, in accordo con quanto riportato in letteratura. Specificatamente, da FAB06061936, obeso di tipo I, da PMCB02101939, anch'esso obeso di tipo I e al quarto stadio di osteoartrite e AAB27111950, come il precedente, sono stati ricavati rispettivamente 4, 5 e 5 campioni (di cui, dell'ultimo, 3 sono stati utilizzati per svolgere delle prove di compressione). È stato infatti riscontrato un legame tra il volume più elevato di IFP e un valore più alto di dolore e di conseguenza di stadio, di osteoartrite [6]. Allo stesso modo il volume dell'IFP sembra essere legato anche al BMI [16] anche se il relativo aumento di volume non risulta essere proporzionale con quello del peso corporeo. Tutte le operazioni di preparazione dei campioni sono state realizzate all'interno di una cappa (*Carlo Erba Reagents*) per creare un ambiente sterile e proteggere il tessuto da agenti microbici patogeni esterni. Inoltre, i campioni sono stati bagnati frequentemente con soluzione salina, sia durante le operazioni di taglio che prima di svolgere le prove, per prevenire la disidratazione del tessuto [17].

Le dimensioni di ciascun campione sono state valutate utilizzando la fotocamera integrata nel sistema Mach-1 Motion, realizzando un'immagine del campione con accanto una strisciolina

di carta millimetrata. Il braccio Z del macchinario, su cui è fissato l'indentatore è stato abbassato per applicare un precarico nominale (circa 0,3 N) sul campione, prima di fotografarlo per valutarne lo spessore [18]. Con un successivo esame dell'immagine è stata calcolata l'altezza, che per i campioni varia dai 5 agli 11,5 mm (media 7,3 mm \pm 1,5 mm). I campioni sono stati fotografati sia lateralmente che superiormente, accanto a carta millimetrata e ad un cartoncino su cui è riportato il codice identificativo del soggetto.

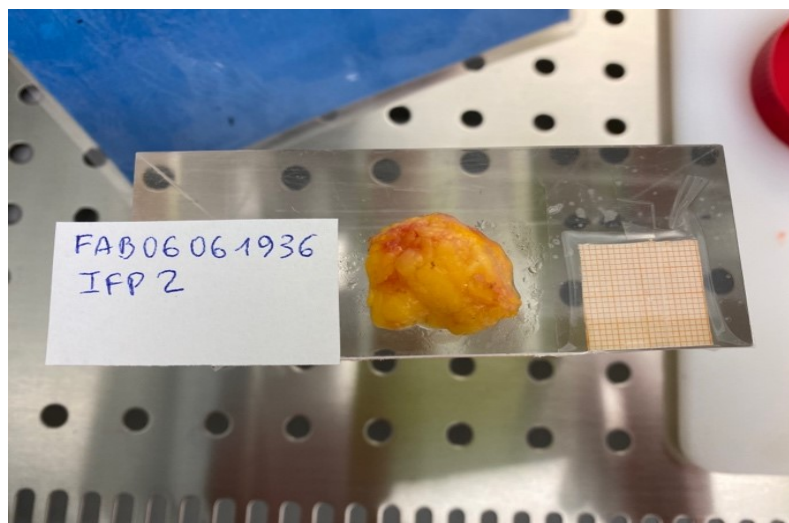


Figura 2.2.2 Esempio di campione fotografato accanto alla carta millimetrata e al codice identificativo

2.3 Set up della strumentazione: Biomomentum v500csst Mach-1

Per realizzare le prove meccaniche è stato utilizzato il sistema micromeccanico Biomomentum v500csst Mach-1 (*Laval, Quebec, Canada*). Si tratta di un tester meccanico multiasse, disponibile in commercio dal 1999, con la funzione di valutare le proprietà meccaniche di tessuti e materiali molli tramite prove ad alta precisione, principalmente di compressione, trazione, torsione e taglio. Grazie alla sua accuratezza è particolarmente indicato per i materiali di origine biologica, esibendo un'elevata sensibilità a proprietà meccaniche di debole intensità o a campioni di dimensioni dell'ordine dei cm o dei mm [15].

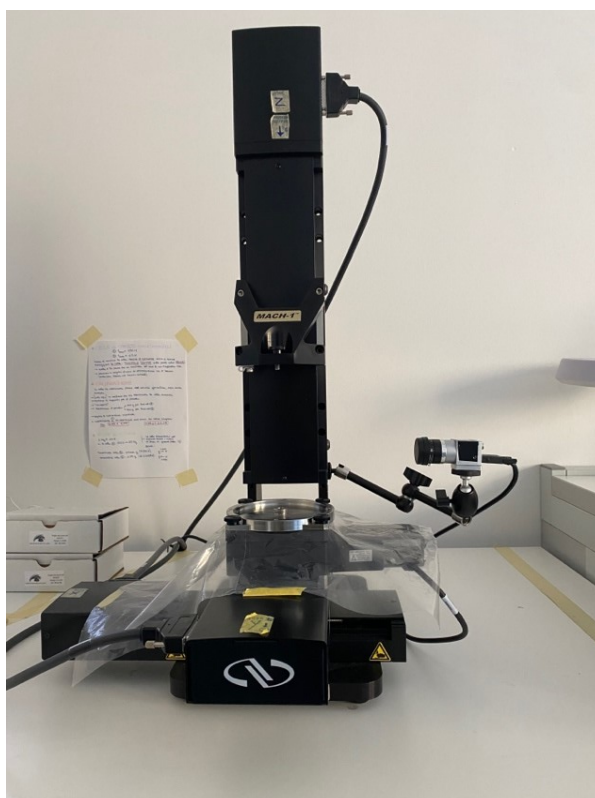


Figura 2.3.1 Biomomentum Mach-1 presente nel Laboratorio di Meccanica dei Tessuti Biologici

Il sistema è costituito dal telaio del tester, da un tavolino traslatore lungo le tre direzioni corrispondenti agli assi x, y e z (quest'ultimo con verso positivo diretto dall'alto in basso, come si può appurare in Figura 2.3.1.) e da un controller di movimento, collegato al PC del laboratorio.



Figura 2.3.2. Controller (Newport, Model ESP301)

Il controller permette il trasferimento dei dati ad un software, Mach-1 Motion, che consente di gestire il movimento degli assi, sia manualmente che in maniera automatica, in base alle funzioni impostate dall'utente.

Il software viene avviato contestualmente con l'accensione del PC e del controller, per dare inizio alle attività di laboratorio, selezionando il modulo "CSS", specifico per i test che si servono dei tre assi di traslazione della macchina .xyz.

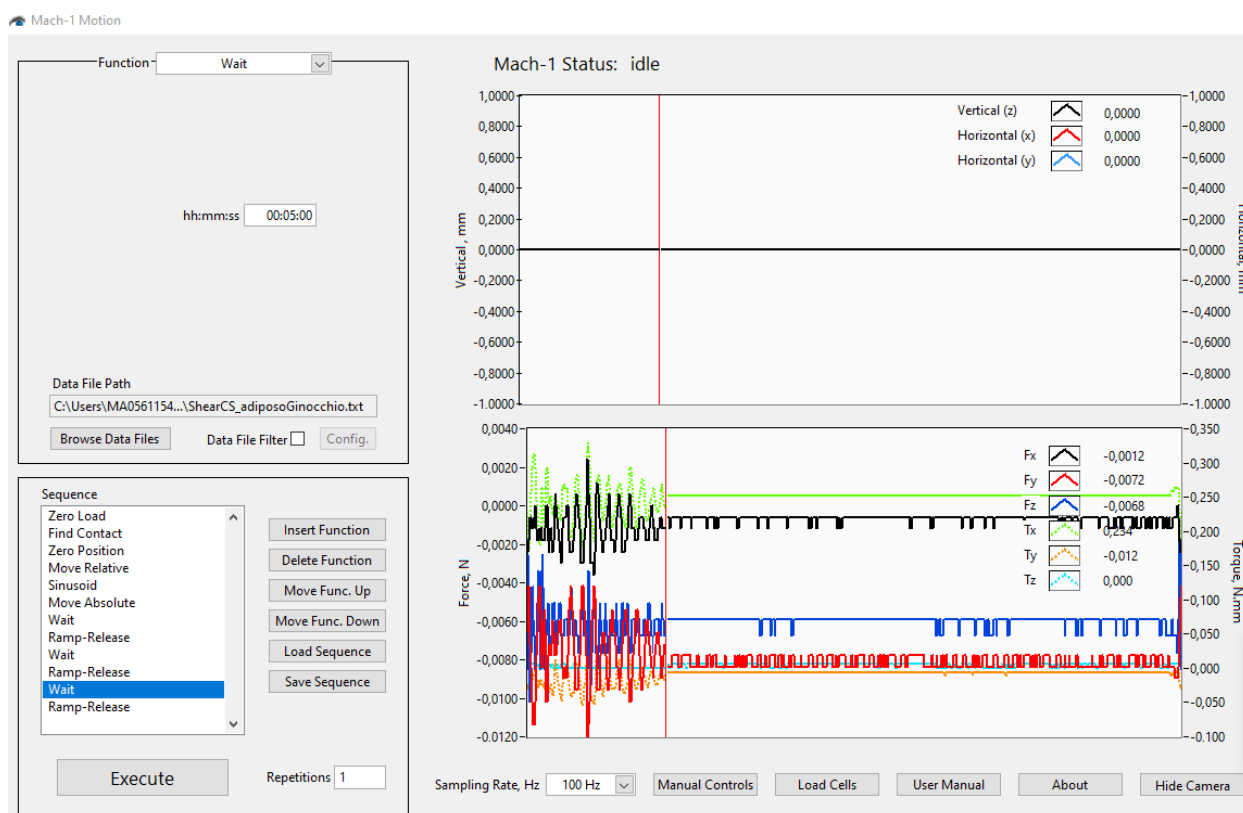


Figura 2.3.3. Screenshot della schermata iniziale all'accensione di Mach-1 Motion

Una volta acceso, appare la schermata principale, che può essere suddivisa in quattro riquadri differenti, come si vede in Figura 2.3.3.

In alto a destra viene rappresentata la posizione degli assi in tempo reale.

In basso a destra vengono raffigurate le forze registrate dalla cella di carico triassiale istantaneamente, sia in termini di forza che di momento.

In alto a sinistra la sezione "Function" consente di controllare tutte le funzioni disponibili che possono essere utilizzate per costruire una sequenza, ciascuna caratterizzata da diversi parametri da fornire come input.

In basso a sinistra il riquadro "Sequence" permette di inserire o eliminare nuove funzioni o sequenze e di salvarle per usi successivi. Inoltre, in basso a sinistra il tasto "Execute" viene utilizzato per avviare una sequenza di funzioni impostate, riportate in ordine nella finestra "Sequence".

Sotto ai grafici precedentemente descritti si trovano inoltre il riquadro “Sampling Rate”, nel quale viene settata la frequenza di campionamento, nel nostro caso di 100 Hz, e il riquadro “Manual Controls”, che apre una finestra per il controllo manuale degli assi.

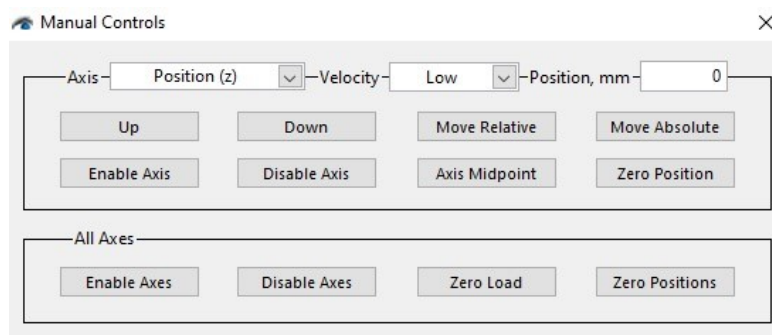


Figura 2.3.4. Screenshot della finestra “Manual Controls”

Con il menù a tendina “Axis” viene selezionato l’asse, nel nostro caso lo Z, e a quale velocità, “High”, “Medium” o “Low”, lo si vuole movimentare. Usando i tasti “Up” e “Down” si determina se alzare o abbassare l’asse di riferimento, mentre “Enable/Disable Axis”, consente di disabilitarne o abilitarne il movimento. “Axis Midpoint”, “Zero Position” e “Zero Load” vengono invece utilizzati rispettivamente per individuare il punto medio dell’asse di riferimento, per settare la posizione corrente come zero e per portare il carico della cella a 0.

In particolare, quest’ultimo comando risulta utile per la calibrazione, procedimento che viene effettuato ogni giorno per ridurre eventuali errori derivanti da rumore, prima di procedere con lo svolgimento dell’attività di laboratorio.

La cella di carico impiegata nei test di scorrimento tangenziale è una cella triassiale, con fondo scala di 70 N.



Figura 2.3.5. A sinistra la cella di carico triassiale utilizzata e a destra il fondo scala da 70 N

La cella viene montata sul braccio Z, utilizzando tre viti. Una volta fissata con l'ausilio di una chiave a brugola, con il comando “Load Cells” si verifica di aver selezionato la cella di carico corretta.



Figura 2.3.6. Zoom sull'area inferiore della schermata

In seguito, si avvita alla cella un supporto, al quale viene agganciato un peso cilindrico di massa 100 g e si procede con il comando “Calibrate” e “Install”.



Figura 2.3.7. Peso cilindrico da 100 g (destra) e supporto (sinistra)

Se il coefficiente di calibrazione ottenuto ha un valore compreso tra 0,95 e 1,05, il processo si considera concluso con successo. Dopo aver rimosso il peso e il suo supporto si verifica che il grafico nel riquadro in basso a destra riporti il valore 0 di forze e momenti. Si clicca su “Zero Load” per riportare gli assi alla posizione 0 e procedere con i test.

Per lo svolgimento delle prove è stato utilizzato un indentatore piatto del diametro 31.75 mm, avvitato alla cella di carico. Il campione invece, è stato deposto su una piastra di forma cilindrica, agganciato alla base del tester.

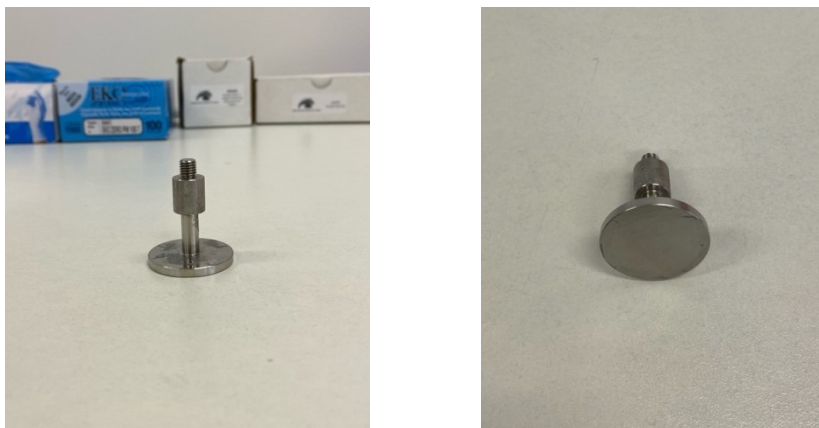


Figura 2.3.8. Indentatore utilizzato per le prove

Tutte le prove, inoltre, sono state filmate con il supporto di una fotocamera ad alta precisione, agganciata a Biomomentum e attivata/disattivata con il comando “Show Camera”/”Hide Camera”.



Figura 2.3.9. Fotocamera utilizzata per le riprese

2.4 Prove meccaniche

Complessivamente sono state realizzate 26 prove di scorrimento tangenziale, una per ciascun campione ottenuto dall'elaborazione precedente, di cui 5 su campioni di SFP e 21 di IFP.

Tutti i test sono stati eseguiti a temperatura ambiente [19].

Per evitare lo slittamento dei campioni durante lo svolgimento delle prove, la superficie dell'indentatore e quella della piastra del tester sono state rivestite di uno strato di scotch carta, sul quale è stato incollato, tramite una colla a aderenza istantanea (Loctite 401, Henkel), un rettangolino di carta vetrata. A sua volta il campione è stato incollato alla carta vetrata con una goccia di colla su entrambi i lati [18].

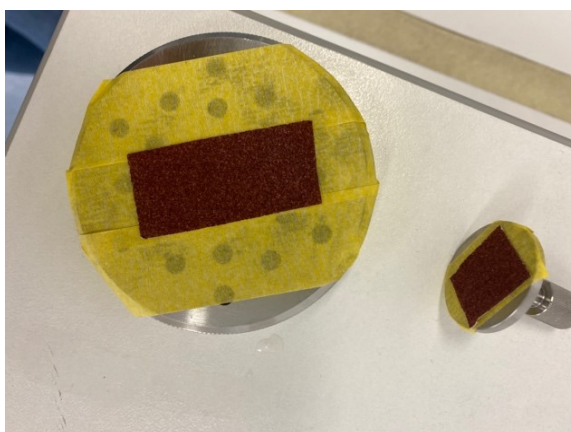


Figura 2.3.4. Superficie di piastra e indentatore ricoperti da scotch carta e carta vetrata

Durante le prove la superficie dell'indentatore, legato alla cella di carico triassiale, rimane ferma mentre la piastra inferiore si muove orizzontalmente per produrre lo scorrimento tangenziale richiesto dalla prova [17].

2.5 Protocollo

Per eseguire i test è stato realizzato e seguito il seguente protocollo. La prova di scorrimento tangenziale è caratterizzata da una sequenza di azioni, le quali possono essere divise in funzioni per la fase di preconditionamento del campione e funzioni per la prova di shear vera e propria.

Il preconditionamento consiste nell'applicare al campione un carico sinusoidale, composto da cinque curve, che sottopone il campione a compressione, fino a raggiungere una deformazione ϵ dell'8 % ad una velocità pari a $\epsilon/s = 0.1/s = 10\% s$, alla frequenza di 1 Hz.

Il preconditionamento con cicli di carico ripetuti viene comunemente applicato nelle prove meccaniche ex vivo di tessuti biologici molli, con lo scopo di ottenere una risposta meccanica stabile e ripetibile per misurare le caratteristiche del materiale che sono peculiari delle condizioni in vivo [20].

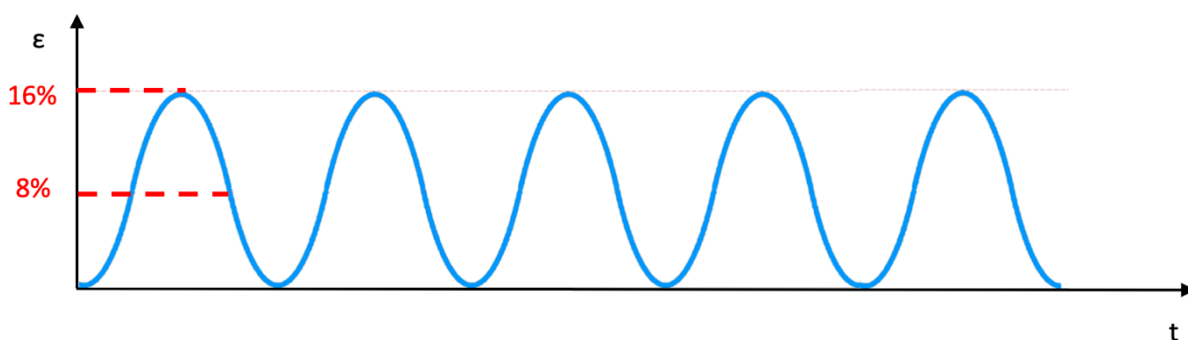


Figura 2.5.1. Sinusoide del preconditionamento in termini di tempo e deformazione

Per il preconditionamento vengono calcolati i seguenti parametri:

- Ampiezza della sinusoide [mm] = $h \times \epsilon$, dove h è l'altezza, ottenuta dopo aver schiacciato il campione tra le due superfici e ϵ la deformazione di preconditionamento. Per i primi quattro campioni abbiamo considerato l' h osservata, per i successivi è stata calcolata un'altezza ridotta del 10%, ottenuta moltiplicando h per 0,9;
- Velocità della sinusoide [mm/s] = $h \times v$, con v velocità di preconditionamento.

Tutti questi calcoli sono stati preimpostati ed eseguiti tramite formule in un foglio di lavoro Excel.

Dopo un tempo di attesa di un minuto, ha inizio la prova vera e propria, con l'applicazione di cinque cicli di carico-scarico, a tre diverse velocità di deformazione, corrispondenti a:

- $v1 = 0,1/s = h \times 10\% s$,
- $v2 = 1/s = h \times 100\% s$,
- $v3 = 10/s = h \times 1000\% s$,

con la velocità di carico identica a quella di scarico, ad una frequenza di campionamento di 100 Hz.

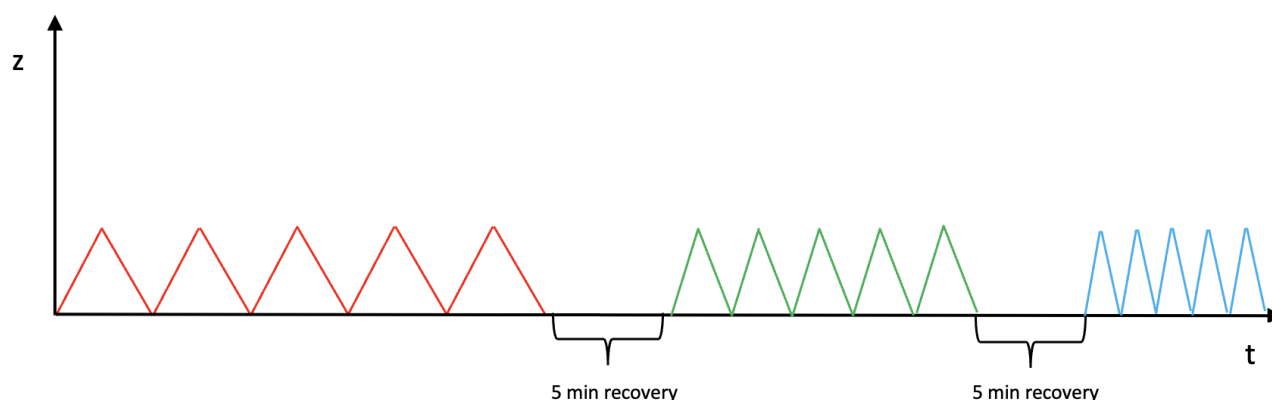


Figura 2.5.2. Rappresentazione del protocollo di carico-scarico. Rosso = rampe a $v1$, verde = rampe a $v2$, blu = rampe a $v3$

A partire da un angolo di shear α_{cs} di 60° sono state calcolate:

- l'ampiezza delle rampe Δh [mm] = $h \times \sin \alpha_{cs}$;
- la velocità [mm/s] = $v_{cs} \times \Delta h$, dove v_{cs} corrisponde alla velocità di carico-scarico, ossia $v1$, $v2$ e $v3$ e Δh è lo spostamento a cui va incontro il campione.

Fra un ciclo di rampe e il successivo vi è un tempo di recovery di cinque minuti per consentire al tessuto di ripristinare le proprie caratteristiche microstrutturali in modo da ottenere risultati più attendibili nei cicli successivi e confrontabili oggettivamente con quelli ricavati dalle altre prove [20].

Nel riquadro in basso a sinistra della schermata del software Mach-1 Motion, tramite la funzione “Load Sequence”, vengono caricate le funzioni da eseguire seguendo la successione qui riportata e avviata con il comando “Execute”:

a) Precondizionamento:

- *Zero Load*: riporta a 0 il valore di carico corrente letto dalla cella di carico;
- *Find Contact*: il braccio si abbassa fino a toccare la superficie del campione e finché la cella di carico non misura una variazione di carico predefinita, impostata come criterio di arresto; nel caso in esame 0,050 N per i primi 5 campioni testati e 0,090 N per i successivi. Inoltre, è stato scelto come criterio riposizionamento il “2XLoadResolution” che prevede che il riposizionamento avvenga dove la variazione di carico corrisponde al doppio della risoluzione della cella di carico, in questo caso a 0. In questo modo la superficie superiore assume una nuova posizione di riferimento;

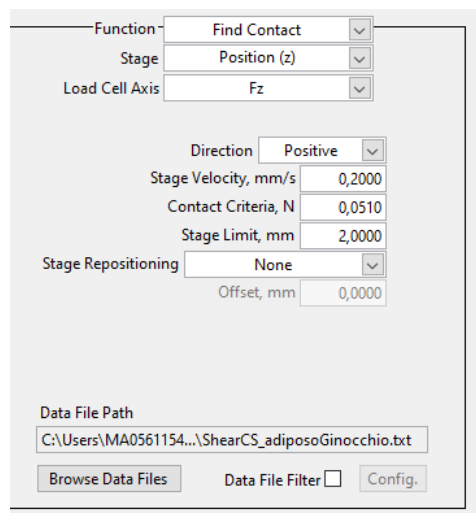


Figura 2.5.4. Impostazione dei parametri della funzione Find Contact

- *Zero Position*: La posizione individuata precedentemente viene impostata come nuova posizione di partenza per il precondizionamento;
- *Move Relative*: Tramite questa funzione si ottengono degli spostamenti relativi del braccio superiore. Per tale studio è stata impostata una deformazione totale del 16% nella fase di precondizionamento, suddivisa in un 8% da eseguire con la funzione Move Relative e il restante 8% con la funzione Sinusoid. Vengono inseriti i parametri di ampiezza e velocità calcolati come descritto precedentemente;

Figura 2.5.5. Parametri della funzione Move Relative del campione ELB28011969

- *Sinusoid*: questa funzione realizza il preconditionamento con l'esecuzione di spostamenti sinusoidali. Si basa sulla combinazione di tre parametri, ossia "Amplitude", "Frequency" e "Cycles". Sono stati impostati 5 cicli, ciascuno alla frequenza di 1 Hz, mentre l'ampiezza della sinusoide è identica a quella data in input nella funzione "Move Relative", ossia pari all'8%. In Tabella 2.5.1. sono riassunti i valori di "Amplitude" e "Velocity" medi di ogni soggetto

Figura 2.5.6. Parametri della funzione Sinusoid relative al campione ELB28011969

- *Move Absolute*: il braccio dell'asse Z torna alla posizione identificata come zero con la funzione Zero Position;
 - *Wait*: Tempo di attesa di 1 minuto.
- b) Prova di scorrimento tangenziale vera e propria:

- *Ramp-Release*: esegue i primi cicli di carico-scarico alla velocità v_1 , calcolata come indicato precedentemente. Richiede l’inserimento dei parametri “Amplitude”, “Velocity”, “Cycles”, (in tal caso 5) e di eventuali “Fixed Relaxation Time”, ovvero periodi di rilassamento, o plateau, che nel protocollo descritto sono pari a 0 s. Il valore di Amplitude ha segno negativo, a causa del verso dell’asse di riferimento. In Tabella 2.5.1. sono riassunti i valori medi, relativi ad ogni individuo, di “Ramp Amplitude” e delle tre diverse velocità di deformazione v_1 , v_2 e v_3 .

Function	Ramp-Release
Stage	Position (y)
Ramp Amplitude, mm	-7,0100
Velocity 1, mm/s	0,7010
Fixed Relaxation Time 1, s	0,000
Velocity 2, mm/s	0,7010
Fixed Relaxation Time 2, s	0,000
Number of Ramps	5
Data File Path	C:\Users\MA0561154...\ShearCS_adiposoGinocchio.txt
<input type="button" value="Browse Data Files"/> <input type="checkbox"/> Data File Filter <input type="button" value="Config."/>	

Figura 2.5.7. Parametri della funzione Ramo Release per il campione PFA02071964

- *Wait*: Tempo di attesa di cinque minuti;
- *Ramp-Release*: Cicli di carico-scarico alla velocità v_2 , richiede in input gli stessi parametri descritti precedentemente, cambia il valore di “Velocity”;
- *Wait*: Tempo di attesa di cinque minuti;
- *Ramp Release*: Cicli di carico-scarico alla velocità v_3 , vengono inserite le stesse misure indicate in precedenza, con la variazione del valore di “Velocity”. La velocità massima consentita per lo svolgimento della funzione è di 50 mm/s, che viene mantenuta anche per valori che, tramite il calcolo, risulterebbero superiori.

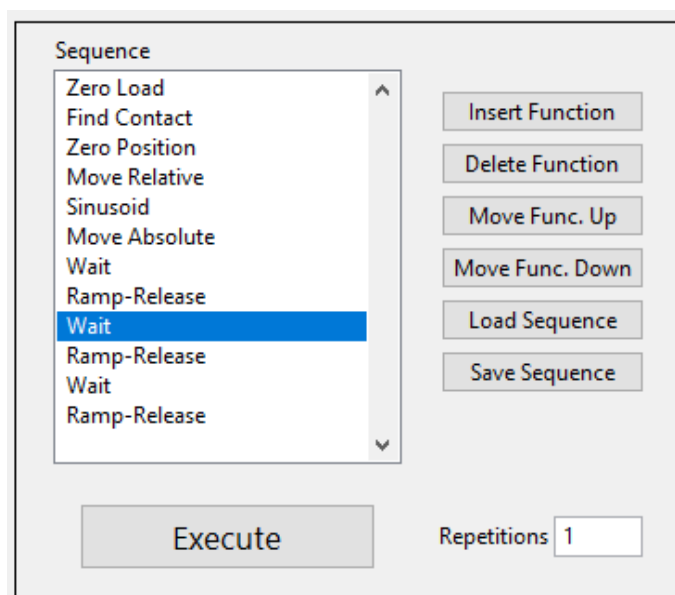


Figura 2.5.8. Sequenza delle funzioni che costituiscono il protocollo Shear_CS

Si sottolinea come le sette fasi di preconditionamento avvengano lungo l'asse Z, con direzione positiva dall'alto verso il basso, mentre le successive cinque funzioni, quelle del test, siano relative all'asse Y, che scivola in direzione tangenziale, con l'asse Z che rimane fisso nella propria posizione.

ID	Amplitude [mm]	Velocity [mm/s]	Ramp amplitude [mm]	v1 [mm/s]	v2 [mm/s]	v3 [mm/s]
FAB06061936	0,58 ± 0,08	0,73 ± 0,09	6,28 ± 0,83	0,63 ± 0,08	6,28 ± 0,83	62,77 ± 8,29 *
SIA01031957	0,64 ± 0,09	0,81 ± 0,11	6,97 ± 0,95	0,69 ± 0,09	6,97 ± 0,95	69,69 ± 9,52*
MCB20041943	0,43	0,54	4,68	0,47	4,68	46,75
VGB28061945	0,62 ± 0,15	0,78 ± 0,19	6,75 ± 1,62	0,68 ± 0,16	6,75 ± 1,62	67,53 ± 16,22*
PMCB02101939	0,61 ± 0,16	0,77 ± 0,2	6,63 ± 1,74	0,66 ± 0,17	6,63 ± 1,74	66,23 ± 17,4 *
PFA02071964	0,68 ± 0,05	0,86 ± 0,06	7,40 ± 0,55	0,74 ± 0,06	7,40 ± 0,55	74,02 ± 5,51 *
GLA15051952	0,65 ± 0,1	0,81 ± 0,13	7,01 ± 1,10	0,70 ± 0,11	7,01 ± 1,10	70,13 ± 11,0 *
MMA20121951	0,36	0,45	3,89	0,39	3,89	38,96
ELB28011968	0,58 ± 0,10	0,72 ± 0,13	6,23 ± 1,10	0,62 ± 0,11	6,23 ± 1,10	62,33 ± 11,02*
AAB27111950	0,50 ± 0,10	0,63 ± 0,13	5,45 ± 1,10	0,54 ± 0,11	5,45 ± 1,10	54,54 ± 11,01*

Tabella 2.5.1. Valore medio (\pm deviazione standard) dei parametri dati in input alle funzioni, divisi per soggetto. (* indica che le velocità reali inserite erano pari a 50 mm/s, poiché corrispondenti alla velocità massima tollerata. Fanno eccezione PMCB02101939 e AAB27111950 per cui la v3 inserita, per un campione di entrambi è di 46,75 mm/s).

2.6. Elaborazione dei dati

Il software Mach-1 Analysis, in dotazione con Biomomentum Mach-1, consente di rappresentare, leggere e analizzare i risultati rilevati da Mach-1 Motion. Al termine di ogni prova vengono visualizzati i dati concernenti la posizione dell'asse y, Δy , rispetto alla forza esercitata sull'asse Y, F_y , ed esportati, selezionando, con il tasto destro sul grafico, il comando *Export Data > Copy to Clipboard*. Sono stati poi raccolti su un foglio di calcolo Excel, suddivisi per campione e per velocità di deformazione v1, v2 e v3.

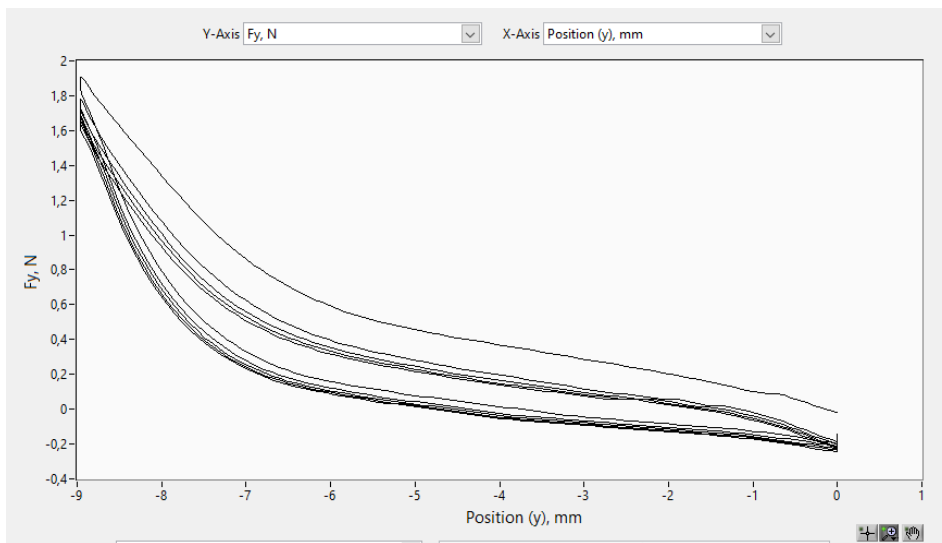


Figura 2.6.1. Esempio di grafico posizione [mm] – forza [N] visualizzato su Mach-1 Analysis

In seguito, la superficie dei campioni è stata determinata utilizzando il software ImageJ (imagej.nih.gov/ij/download/) a partire dall'immagine del tessuto accanto alla carta millimetrata, prima con la funzione *Analyze > Set scale*, a cui fornire un'unità di misura nota, selezionata dalla carta millimetrata, poi con la funzione *Analyze > Measure* che calcola la dimensione effettiva dell'area.

Il valore medio dell'area della superficie superiore dei campioni considerati è di $421,96 \text{ mm}^2 \pm 120,32 \text{ mm}^2$. In Tabella 2.6.1. sono riassunti i valori di area e altezza media dei soggetti, nessuna differenza significativa è stata rilevata tra le dimensioni dei campioni derivanti da individui affetti da osteoartrite e l'individuo sano.

ID	H [mm]	Area [mm ²]
FAB06061936	$7,25 \pm 0,96$	$419,89 \pm 56,85$

SIA01031957	$7,43 \pm 0,86$	$435,966 \pm 86,89$
MCB20041943	5,4	383,94
VGB28061945	$7,8 \pm 1,87$	$377,705 \pm 44,15$
PMCB02101939	$7,65 \pm 2,01$	$400,79 \pm 152,57$
PFA02071964	$8,55 \pm 0,64$	$382,01 \pm 157,96$
GLA15051952	$8,1 \pm 1,27$	$607,03 \pm 181,76$
MMA20121951	4,5	293,25
ELB28011968	$7,2 \pm 1,27$	$504,57 \pm 210,67$
AAB27111950	$6,3 \pm 1,27$	$372,96 \pm 114,55$

Tabella 2.6.1. Valore medio (\pm deviazione standard) di altezza e area dei singoli campioni

I valori esportati da Mach-1 Analysis, così come quelli calcolati di altezza h e di area A , sono stati importati nel software MATLAB R2021a (*The MathWorks Inc., Natick, MA*), per essere elaborati e per ricavarne la rappresentazione grafica.

Per ogni individuo è stato creato uno script di lavoro, in cui i dati sono stati importati suddivisi per campione (nel caso ne fosse presente più di uno), distinguendo le tre diverse velocità di deformazione v_1 , v_2 e v_3 .

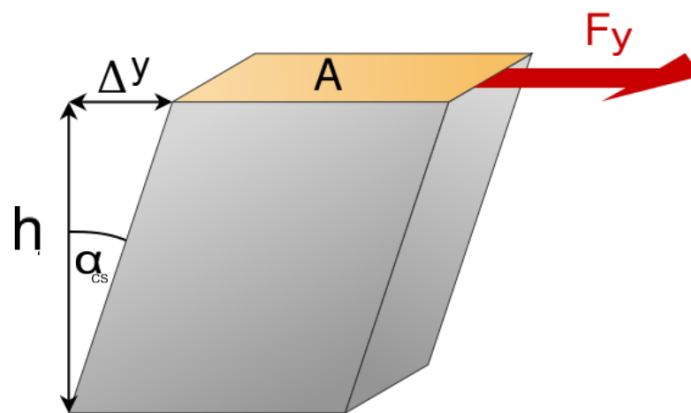


Figura 2.6.2. Rappresentazione schematica della prova di scorrimento tangenziale e rispettivi valori

Dopo una prima pulizia dei dati di forza e spostamento, sono stati calcolati i valori medi di F_y e Δy , nel caso fossero disponibili più campioni dello stesso soggetto, considerando separatamente IFP e SFP.

Così, per ogni velocità di deformazione v_1 , v_2 e v_3 , sono stati calcolati i valori di deformazione di taglio γ , shear strain e di sforzo di taglio τ , shear stress, come:

- $\gamma = \frac{\Delta y}{h}$ [mm/mm], dove Δy è lo spostamento applicato e h l'altezza del campione [21] come rappresentato in Figura 2.6.2.;
- $\tau = \frac{F_y [N]}{A [mm^2]} \times 10^3$ [KPa], dove F_y è la forza misurata dalla cella di carico durante la prova e A è l'area del campione parallela alla forza misurata [22-23], calcolata con ImageJ, che durante le prove di scorrimento tangenziale semplice può essere considerata come costante [17]. La quantità ottenuta viene moltiplicata per 10^3 , per convertire il risultato dall'ordine dei MPa a quello dei KPa.

Per ridurre al minimo gli effetti e gli eventuali errori dovuti a scivolamento del campione e alle dimensioni molto ridotte a livello di spessore e superficie, si è stabilito di considerare, per la velocità di deformazione v_1 (10% s) la curva relativa al quinto ciclo di carico-scarico, mentre per le velocità v_2 , (100% s) e v_3 (1000% s) quella relativa al primo. Il valore ideale, infatti, sarebbe quello delle rampe finali, in quanto l'area si stabilizza e il tessuto rappresenta al meglio le proprie peculiarità meccaniche, tuttavia, a velocità elevata il campione non segue correttamente il movimento del braccio e i dati rischiano di essere compromessi man mano che si procede con le rampe.

Le misure ottenute sono state rappresentate divise per soggetto, usando la funzione *plot*.

Dall'elaborazione di γ e τ sono state ricavate, secondo quanto riportato in letteratura [21], le seguenti grandezze:

- Dissipazione dell'energia di deformazione, strain-energy dissipation,

$$E_{DI} = \int_{\gamma_{min}}^{\gamma_{max}} \tau d\gamma \text{ [mJ/mm}^3\text{]},$$

corrispondente all'area sottesa dal grafico di sforzo-deformazione di taglio, utilizzando la funzione *polyarea*, disponibile in Matlab. I valori di γ_{min} e γ_{max} rappresentano il minimo e il massimo valore di deformazione di taglio considerati [24];

- Lo sforzo calcolato da picco a picco, o peak-to-peak shear stress,

$$\tau_{PP} = \tau(\gamma_{max}) - \tau(\gamma_{min}) \text{ [KPa]},$$

ossia la differenza tra il valore di τ calcolato nel picco massimo di γ e quello calcolato nel picco minimo [21];

- Il modulo di taglio effettivo, o peak effective shear strain,

$$G = \frac{\tau}{\gamma} \text{ [KPa]},$$

ovvero la pendenza della curva di sforzo-deformazione. Si è considerato il valore medio tra quello calcolato nel tratto iniziale G_{in} , ossia finché il valore di $\gamma < 0,1$ e finale G_{fin} , ossia in cui il valore di $0,7 < \gamma < 0,8$. La stima è stata ottenuta utilizzando la funzione *polyfit* [24]. Essa permette di ricavare il polinomio di primo grado che meglio si adatta ai dati rappresentati, quindi l'equazione della retta passante per l'intervallo di punti fornito come input, nella forma $ax + q$. Da essa viene rilevato il valore di a , ossia dell'intercetta, corrispondente a G e plottato assieme ai dati di partenza [25].

In Figura 2.6.3. viene rappresentato in modo schematico il valore del modulo di taglio effettivo, della dissipazione dell'energia di deformazione e dello sforzo da picco a picco, in relazione alla deformazione di taglio dovuta allo sforzo applicato.

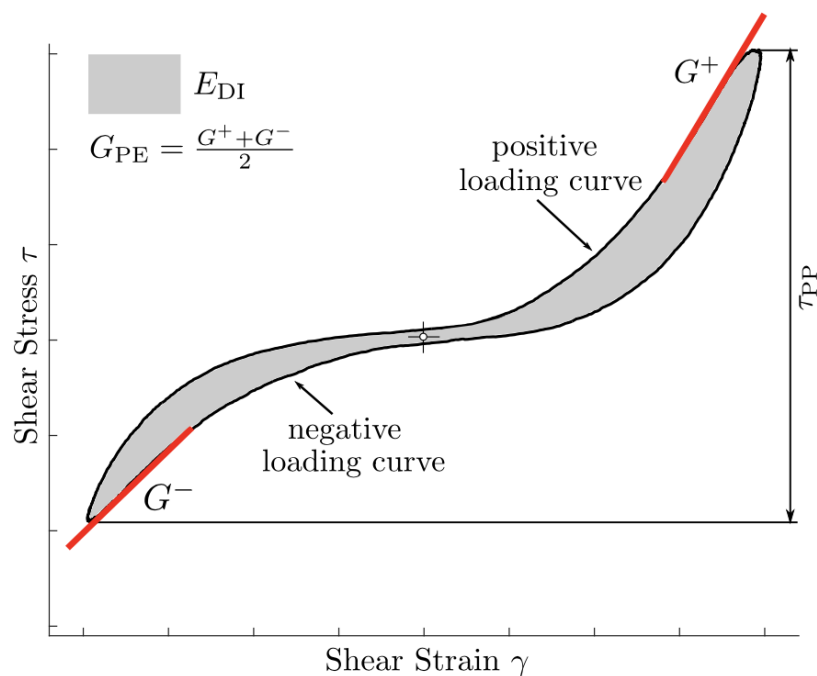


Figura 2.6.3. Visualizzazione schematica di energy dissipation density, peak-to-peak shear stress and peak effective shear modulus [21].

Capitolo 3: Risultati

Il comportamento meccanico di tessuto adiposo infrapatellare (IFP) e sovrapatellare (SFP) viene analizzato e rappresentato attraverso dei grafici di sforzo-deformazione di taglio. In generale ci si aspetta che il materiale si deformi, ma possa anche recuperare le proprie caratteristiche originali nel tempo, dopo che lo sforzo viene rimosso, assumendo un comportamento viscoelastico.

Qui vengono esaminati i fattori specifici che possono influire sulla risposta meccanica, come sesso, età, BMI e presenza o assenza di osteoartrite, oltre ad operare una distinzione tra i due diversi tipi di tessuto adiposo, IFP e SFP.

3.1. Soggetti singoli

Considerando separatamente le tre diverse velocità di deformazione v_1 , v_2 e v_3 , sono state realizzate, a partire da 26 campioni, 78 prove di scorrimento tangenziale; una per ogni diversa velocità.

I dati relativi alla forza (espressa in Newton) in funzione dello spostamento applicato (espresso in mm) sono stati inizialmente rappresentati considerando l'andamento di tutte e cinque le rampe. Nel caso in cui fossero presenti più di un campione per lo stesso soggetto e stesso tipo di tessuto, considerando separatamente IFP e SFP, è stato preso in considerazione il valore medio.

Inoltre, poiché il valore di "Ramp Amplitude", dato come parametro in input a Mach-1 Motion, è negativo e influenza il valore dello spostamento a cui è sottoposto il campione, è stato valutato il valore assoluto dello spostamento.

In Figura 3.1.1. viene raffigurata l'evoluzione della forza in funzione dello spostamento del campione MMA20121951 alla velocità di deformazione v_1 .

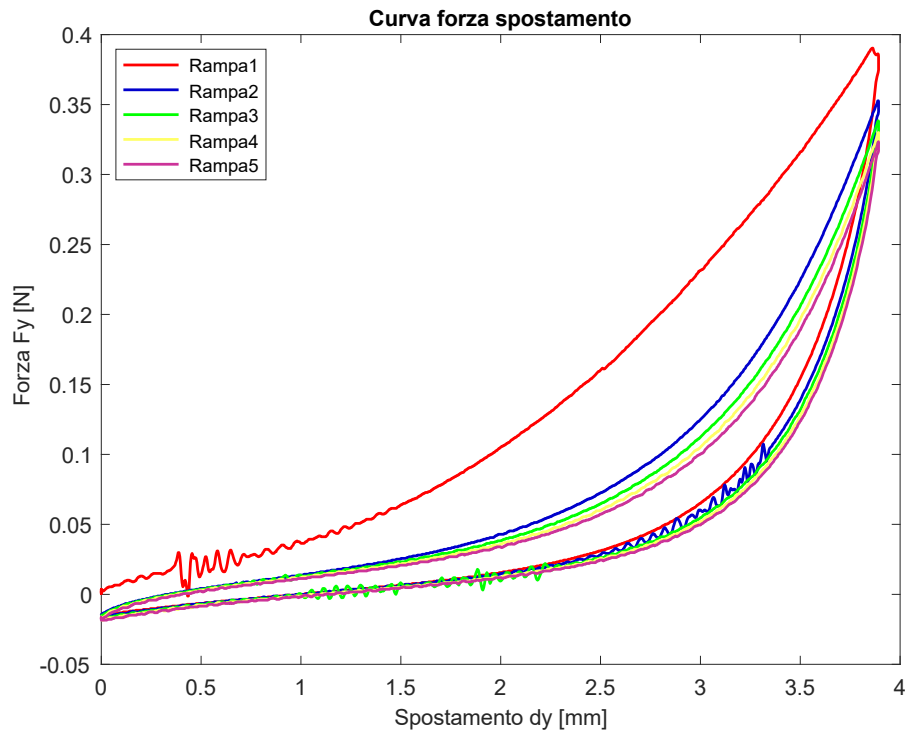


Figura 3.1.1. Curva forza – spostamento

Come indicato nel capitolo precedente sono stati poi calcolati i valori di shear stress τ e shear strain γ . Anche in questo caso è stato prima eseguito un plot dei dati riguardanti tutte cinque le rampe, come in Figura 3.1.2., che mostra l'andamento di τ , espresso in KPa, in funzione della deformazione γ , adimensionale [mm/mm], relativa al campione MMA20121951, alla velocità di deformazione massima.

Come si può notare, l'area di isteresi, che rappresenta la quantità di energia assorbita dal materiale durante la deformazione (e dunque, il lavoro speso dalle forze di taglio), è massima nella prima rampa e diminuisce nelle successive. Essa corrisponde all'area racchiusa tra le curve di carico e di scarico e nelle ultime rampe tende a stabilizzarsi.

Si tende quindi a valutare queste ultime, poiché rivelano in maniera più precisa le peculiari proprietà meccaniche del tessuto.

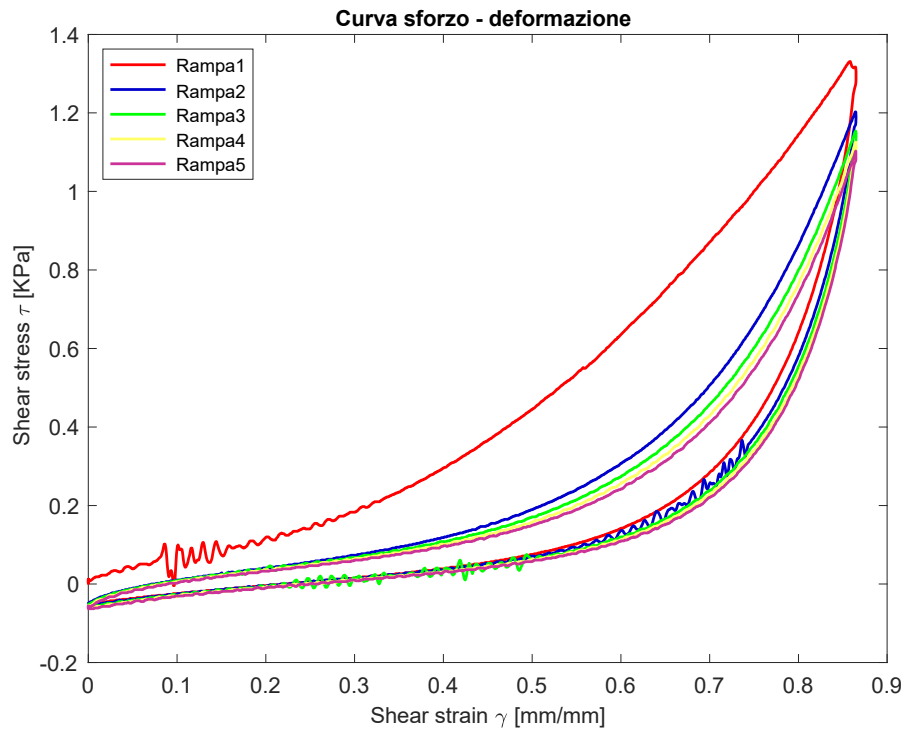


Figura 3.1.2. Curva sforzo- deformazione

In seguito, si è ritenuto opportuno separare le cinque rampe e considerare, come già riportato, la quinta curva per quanto riguarda la velocità minima di deformazione (v_1), e la prima per le velocità intermedia (v_2) e massima (v_3).

Si segnala che, per alcuni provini anche la prima curva alla velocità v_3 è risultata compressa (come il secondo campione di IFP del paziente AAB27111950) e pertanto i dati che la costituiscono sono stati esclusi dall'analisi generale.

A partire dalla selezione ottenuta, sono stati quindi calcolati nuovamente i valori di shear stress τ e di shear strain γ e sono stati normalizzati per renderli più adatti al confronto e ad una futura analisi statistica, anche se questa elaborazione, a livello figurativo, impedisce di apprezzare visivamente i valori massimi raggiunti dalle variabili considerate.

Per ogni soggetto, sono stati ottenuti due tipi di raffigurazione diversa: da una parte, utilizzando la funzione *subplot*, un'immagine con i tre grafici relativi alle tre diverse velocità di deformazione, nei quali, oltre al valore medio di γ e τ , si può apprezzare anche il valore medio della deviazione standard, come evidenziato in Figura 3.1.3.; dall'altra, una singola immagine in cui sono riportate, nello stesso piano, le curve medie attinenti le tre diverse velocità di deformazione, come si può apprezzare in Figura 3.1.4.

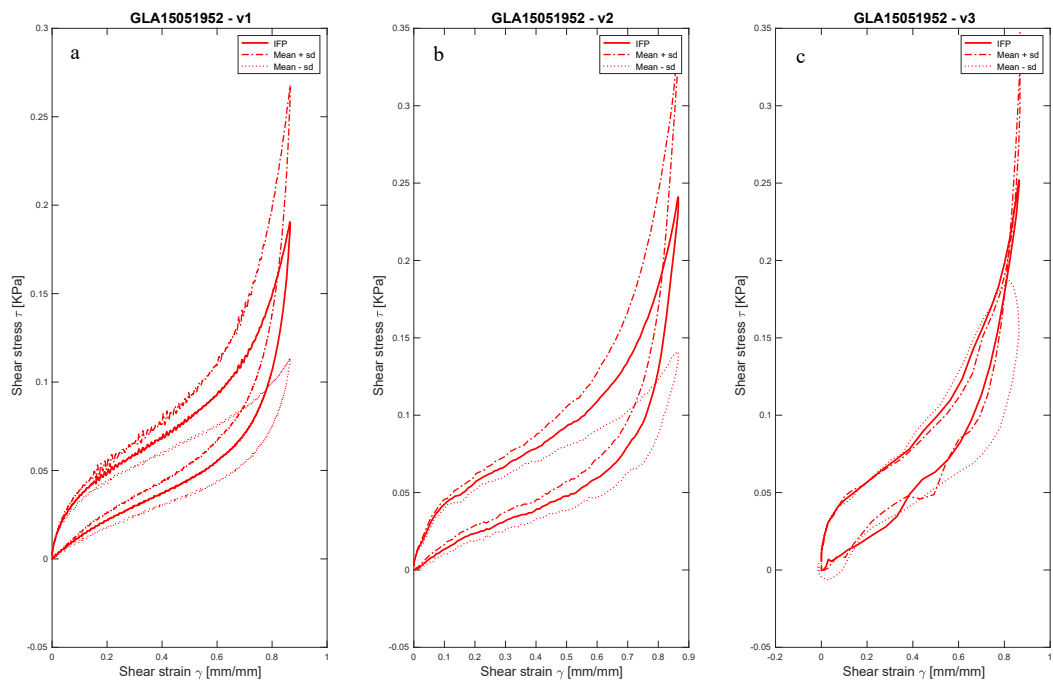
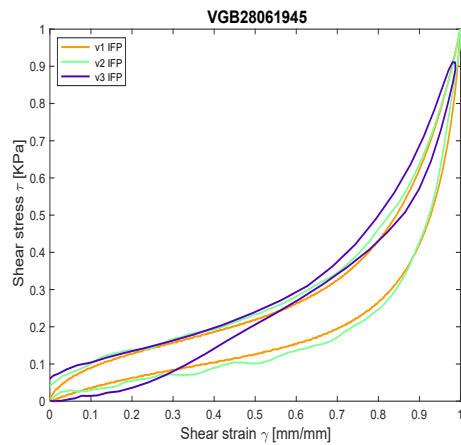
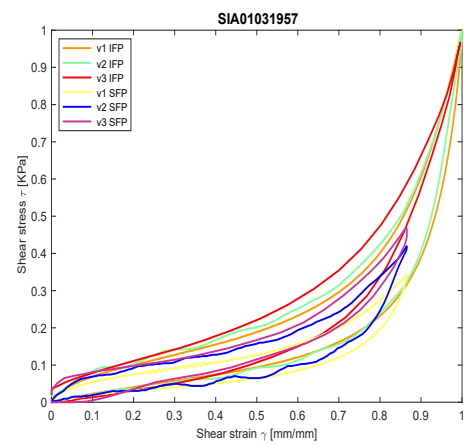


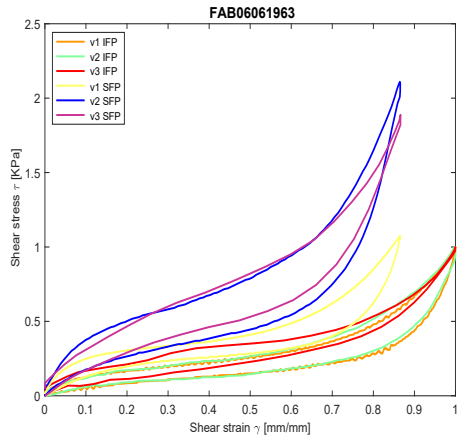
Figura 3.1.3 Andamento dello shear stress τ in funzione dello shear strain γ a cui vengono aggiunti e sottratti i valori di standard deviation (in tratteggiato) a partire da destra, alla velocità $v1$ (a), $v2$ (b) e $v3$ (c)



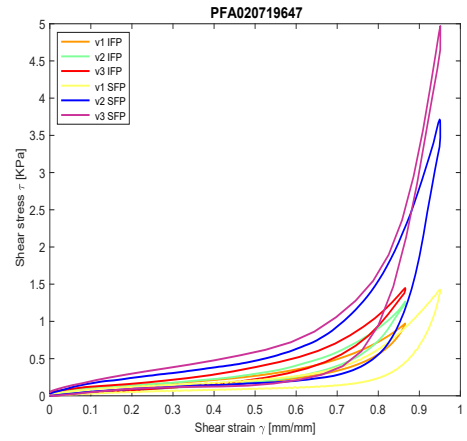
(a)



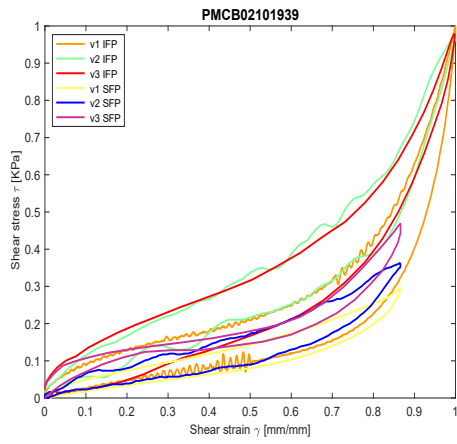
(b)



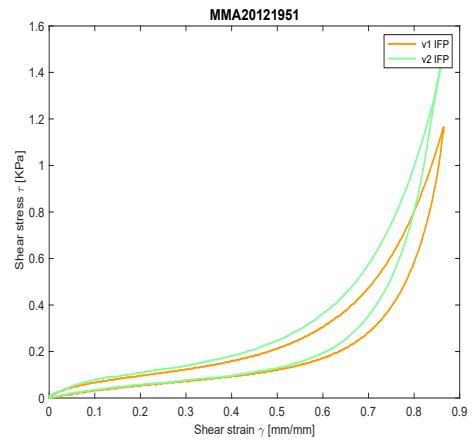
(c)



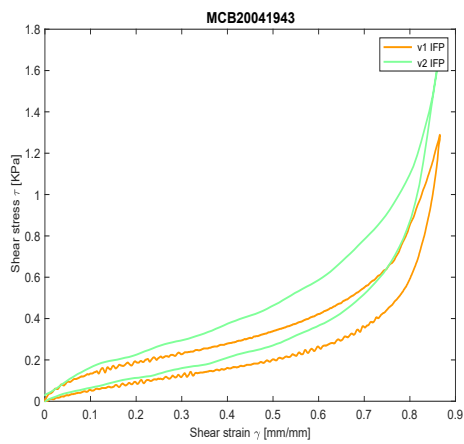
(d)



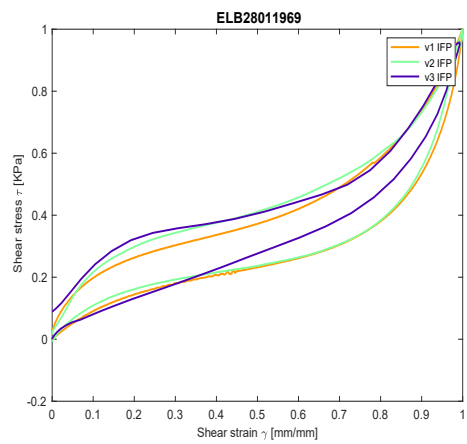
(e)



(f)



(g)



(h)

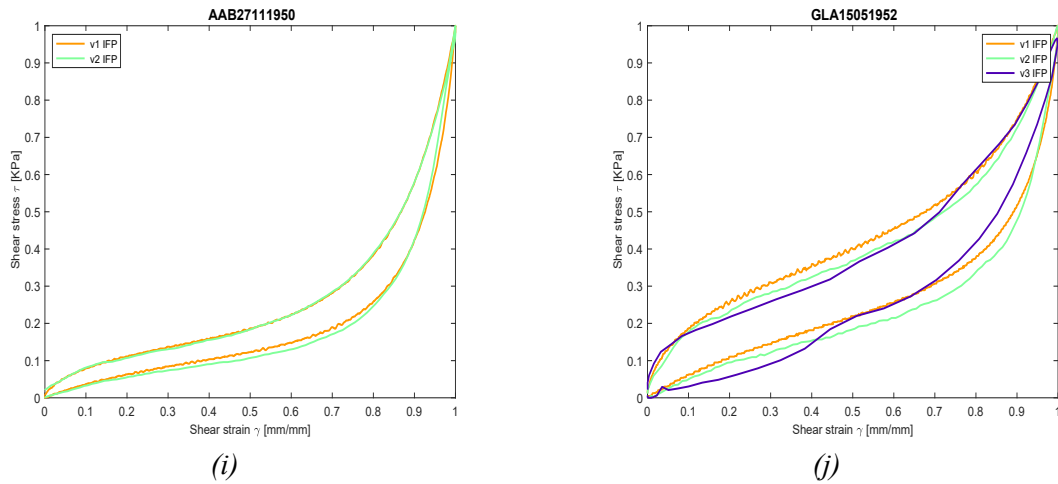


Figura 3.1.4. Andamento dello shear stress τ in funzione dello shear strain γ , suddiviso per soggetto con una curva per ogni velocità di deformazione. Dove non è specificato il tipo di tessuto adiposo, si tratta di IFP, dove manca la velocità v3, è stata esclusa dall'analisi per i motivi esplicitati in precedenza.

I risultati dei test sperimentali hanno confermato le tipiche proprietà meccaniche dei tessuti adiposi, caratterizzati da un comportamento rigido non lineare. Infatti, la deformazione risultante allo sforzo applicato, non è proporzionale in maniera lineare, ma presenta un aumento non uniforme. In particolare, segue una tipica forma ad S, con un iniziale aumento concavo non lineare, seguito da un punto di flessione e un aumento non lineare convesso corrispondente al massimo carico applicato, come si può apprezzare in tutte le figure riportate.

Da una prima osservazione i tessuti mostrano un comportamento viscoelastico: in generale con l'aumentare della velocità di deformazione si nota un aumento della rigidità del tessuto.

A conferma di quanto appena affermato, sono stati poi valutati i valori massimi di τ e γ corrispondenti ai diversi soggetti e alle diverse velocità di deformazione e riportati in Tabella 3.1.1.

ID	τ max v1 [KPa]	γ max v1 [mm/mm]	τ max v2 [KPa]	γ max v2 [mm/mm]	τ max v3 [KPa]	γ max v3 [mm/mm]
FAB06061936 - IFP	1,6684	0,8664	3,4018	0,8665	2,9366	0,8667
FAB06061936 - SFP	0,3758	0,4324	0,692	0,4308	0,7073	0,3992
SIA01031957 - IFP	0,9014	0,9619	1,2928	0,962	1,6827	0,9581
SIA01031957 - SFP	0,1043	0,4282	0,1303	0,4286	0,1735	0,4245
MCB20041943 - IFP	0,3077	0,4326	0,439	0,4308	0,6948	0,4238
VGB28061945 - IFP	0,4268	0,8655	0,5786	0,8658	0,6047	0,8553
PMCB02101939 - IFP	1,0068	0,8656	1,6223	0,8657	1,9339	0,8651
PMCB02101939 - SFP	0,1108	0,433	0,1374	0,4305	0,1932	0,4237

PFA02071964 - IFP	0,2618	0,4324	0,3199	0,4307	0,3918	0,3477
PFA02071964 - SFP	0,2514	0,4751	0,6576	0,4731	1,1948	0,4661
GLA15051952 - IFP	0,1905	0,8655	0,241	0,8656	0,252	0,8652
MMA20121951 - IFP	0,2323	0,4254	0,3093	0,4281	0,3999	0,2866
ELB28011968 - IFP	1,0112	0,8655	1,6505	0,8654	1,0112	0,8598
AAB27111950 - IFP	0,6155	0,8653	0,7845	0,8653	0,8181	0,8593

Tabella 3.1.1. Valori massimi di γ e τ di ogni soggetto suddivisi per velocità di deformazione. In giallo vengono evidenziati i valori massimi per ogni tipo di grandezza.

Il tessuto infrapatellare del soggetto SIA01031957 risulta essere caratterizzato dalla deformazione maggiore, a tutte e tre le diverse velocità di deformazione (rispettivamente 0,9619, 0,9620 e 0,9581).

Il valore più elevato di sforzo τ è invece quello sopportato dal tessuto infrapatellare del soggetto FAB06061936, anche in questo caso a tutte e tre le velocità di deformazione (rispettivamente 1,6884 KPa, 3,4018 KPa e 2,9366 KPa).

In ogni caso, si riscontra un'elevata variabilità tra i soggetti, sia per quanto riguarda la massima tensione raggiunta, sia per quanto riguarda la pendenza delle curve. Questa può derivare da svariati fattori, quali le dimensioni dei campioni testati o il possibile danneggiamento del provino in fase di test o di preparazione.

Inoltre, a parità di velocità, il corpo adiposo sovrapatellare risulta essere meno rigido del corpo adiposo infrapatellare, nel caso di SIA01031957 e di PMCB02101939, cosa che invece non accade nei soggetti FAB06061936 e PFA02071964. Da una prima analisi delle caratteristiche dei soggetti non sembra esserci una sostanziale differenza che accomuni i due gruppi, né a livello di caratteristiche individuali, né a livello di dimensione dei campioni considerati. Dunque, per ottenere risultati più significativi, sarebbe opportuno avere a disposizione una quantità superiore di provini di tessuto sovrapatellare.

3.1.1 Shear modulus G

I valori ottenuti sono stati utilizzati per calcolare lo shear modulus G, o modulo di elasticità tangenziale o trasversale, come descritto nel capitolo precedente. Esso consente di misurare quanto il tessuto si oppone alla deformazione causata dalla forza di taglio applicata parallelamente alla superficie del materiale e corrisponde alla pendenza, o slope, della curva di sforzo-deformazione.

Per ogni individuo è stata inizialmente selezionata la curva di sforzo-deformazione attinente

alla fase di carico, da cui è stato ottenuto il valore di G_{in} , corrispondente ad una deformazione $\gamma < 0,1$ e di G_{fin} , relativo ad un $\gamma > 0,8$. La media dei due dati è stata utilizzata per calcolare il G_{medio} , ovvero il peak effective shear modulus [24].

La Figura 3.1.1.1. mostra la curva di sforzo-deformazione di carico con all'inizio, in rosso, e alla fine, in blu, le equazioni lineari che meglio si adattano ai dati negli intervalli iniziali e finali considerati, la cui intercetta corrisponde al valore di G .

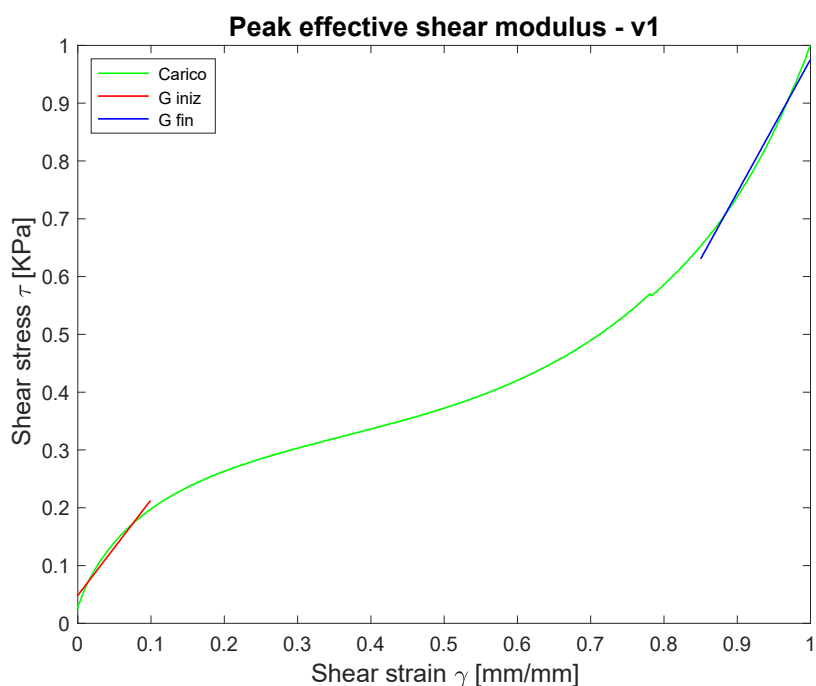


Figura 3.1.1. Rappresentazione schematica della curva di carico e del valore di G_{in} e G_{fin} per il soggetto ELB28011969 alla velocità di deformazione 1

In Tabella 3.1.1.1. sono riportati i valori di G_{in} , G_{fin} e G_{medio} di ogni soggetto, suddiviso per tipo di tessuto, separando le diverse velocità di deformazione $v1$, $v2$ e $v3$.

ID	G in v1 [KPa]	G fin v1 [KPa]	G medio v1 [KPa]	G in v2 [KPa]	G fin v2 [KPa]	G medio v2 [KPa]	G in v3 [KPa]	G fin v3 [KPa]	G medio v3 [KPa]
FAB06061936 - IFP	1,0143	3,2688	2,1416	1,1962	3,3216	2,2589	1,7029	3,5182	2,6106
FAB06061936 - SFP	2,2045	3,4794	2,8419	3,4354	7,2248	5,3301	2,775	6,2683	4,5216
SIA01031957 - IFP	0,4336	4,7444	2,5895	0,6488	6,0483	3,3486	0,5548	6,3915	3,4731
SIA01031957 - SFP	0,4790	1,0395	0,7592	0,7093	1,2319	0,9706	0,8567	1,4728	1,1648
MCB20041943 - IFP	1,1729	8,1765	4,6747	1,4013	10,0896	5,7455	1,8676	13,0932	7,4804
VGB28061945 - IFP	0,7861	3,7686	2,2774	0,6136	4,0342	2,3239	0,5321	2,9244	1,7283

PMCB02101939 - IFP	0,9127	3,1605	2,0366	0,9814	2,6225	1,8019	1,1003	2,5505	1,8254
PMCB02101939 - SFP	0,4224	0,6225	0,5225	0,5823	0,6857	0,6340	1,0188	1,3288	1,1738
PFA02071964 - IFP	0,8836	3,7791	2,3314	1,0513	5,6297	3,3405	0,7333	5,6297	3,3405
GLA15051952 - IFP	2,2906	2,5173	2,4039	1,8823	2,8551	2,3687	2,8206	2,5752	2,6979
MMA20121951 - IFP	0,6054	5,6584	3,1319	0,7534	8,0751	4,4143	0,3408	12,9206	6,6307
ELB28011968 - IFP	1,6556	2,6361	2,1459	2,2374	2,7045	2,4709	1,4978	2,4433	1,9705
AAB27111950 - IFP	0,6829	5,0303	2,8566	0,6149	5,3289	2,9719	0,2802	7,1204	3,7003

Tabella 3.1.1.1. Valori iniziale, finale e medio di G suddivisi per campione e per velocità di deformazione

Il campione di SFP di PFA02071964 è stato escluso dall'analisi poiché presentava valori molto discostanti da quelli degli altri soggetti, probabilmente a causa di un errore di inserimento dei parametri durante lo svolgimento della prova sperimentale.

In generale, negli individui, si registra un aumento del valore del modulo di elasticità tangenziale corrispondente ad un aumento della velocità di deformazione.

Tuttavia, la variabilità presente non ci permette di asserirlo come regola generale, pertanto si suggeriscono analisi più approfondite.

3.1.2 Dissipazione dell'energia di deformazione EDI e sforzo calcolato da picco a picco

La Tabella 3.1.2. riporta i valori di dissipazione dell'energia di deformazione (EDI), ossia l'area di isteresi sottesa alla curva di carico e i valori dello sforzo calcolato da picco a picco, per i diversi soggetti e alle diverse velocità di deformazione.

Come osservato in precedenza si nota come, nella maggior parte dei casi, il valore dell'area di isteresi tenda a diminuire con il crescere della velocità di deformazione.

Allo stesso modo, anche il peak-to-peak shear strain (ptp) non sembra avere un andamento preciso, ossia crescente o decrescente, al variare della velocità.

Questi risultati possono essere dovuti alla variabilità tra campioni, alla differenza di dimensioni dei provini testati, ad un possibile deterioramento delle camere adipose avvenuto durante la preparazione o all'utilizzo di campioni particolarmente sottili o già parzialmente deteriorati. In tal caso una correlazione può essere individuata avendo a disposizione un numero più elevato di soggetti da sottoporre alle prove sperimentali.

ID	EDI v1 [mJ/mm ³]	EDI v2 [mJ/mm ³]	EDI v3 [mJ/mm ³]	ptp v1 [KPa]	ptp v2 [KPa]	ptp v3 [KPa]
FAB06061936 - IFP	0,1811	0,1676	0,1278	0,9806	0,9841	0,9704
FAB06061936 - SFP	0,0858	0,2200	0,1475	1,0636	2,0703	1,8428
SIA01031957 - IFP	0,2437	0,3497	0,4107	0,8969	1,2734	1,6279
SIA01031957 - SFP	0,0334	0,0423	0,0554	0,3393	0,4156	0,448
MCB20041943 - IFP	0,2388	0,3234	0,2921	1,2795	1,6878	2,0151
VGB28061945 - IFP	0,2133	0,2159	0,1757	0,9915	0,9581	0,8505
PMCB02101939 - IFP	0,1793	0,1601	0,1315	0,9851	0,9433	0,9446
PMCB02101939 - SFP	0,0124	0,0135	0,0421	0,2917	0,3629	0,4387
PFA02071964 - IFP	0,1584	0,2454	0,2734	0,9658	1,2583	1,3949
PFA02071964 - SFP	0,3662	1,0176	1,4794	1,4196	3,6913	4,9188
GLA15051952 - IFP	0,0728	0,0975	0,0871	0,9813	0,9825	0,9256
MMA20121951 - IFP	0,2610	0,3584	0,4854	1,1640	1,4978	
ELB28011968 - IFP	0,0902	0,0625	0,0788	0,9703	0,9793	0,8688
AAB27111950 - IFP	0,2427	0,2512	0,2565	0,9939	0,9790	0,9033

Tabella 3.1.2. Valori di E_{DI} e di sforzo calcolato da picco di deformazione a picco successivo

3.2. Confronti

I valori ottenuti dall'elaborazione dei singoli soggetti sono stati poi salvati in matrici, con lo scopo di essere utilizzati per operare delle comparazioni tra coorti di soggetti, raggruppati a seconda di diverse caratteristiche: la presenza o assenza di osteoartrite, il BMI, l'età e il sesso. Per ogni gruppo di confronto sono state calcolate e rappresentate le stesse grandezze descritte in precedenza, con il fine di individuare quali fattori abbiano più influenza nella variazione della risposta meccanica del tessuto infrapatellare e sovrapatellare.

3.2.1. Osteoartrite

Le grandezze calcolate per l'unico soggetto non affetto da osteoartrite, ovvero VGB28061945, sono state paragonate alla media dei valori relativi agli altri soggetti, tutti affetti dalla patologia. Per apprezzare i confronti anche a livello visivo, sono stati presi in considerazione, da questo momento in poi, i dati non normalizzati.

Inoltre, poiché non vi è la disponibilità del tessuto sovrapatellare del soggetto VGB28061945, per la comparazione è stato osservato solo il tessuto infrapatellare.

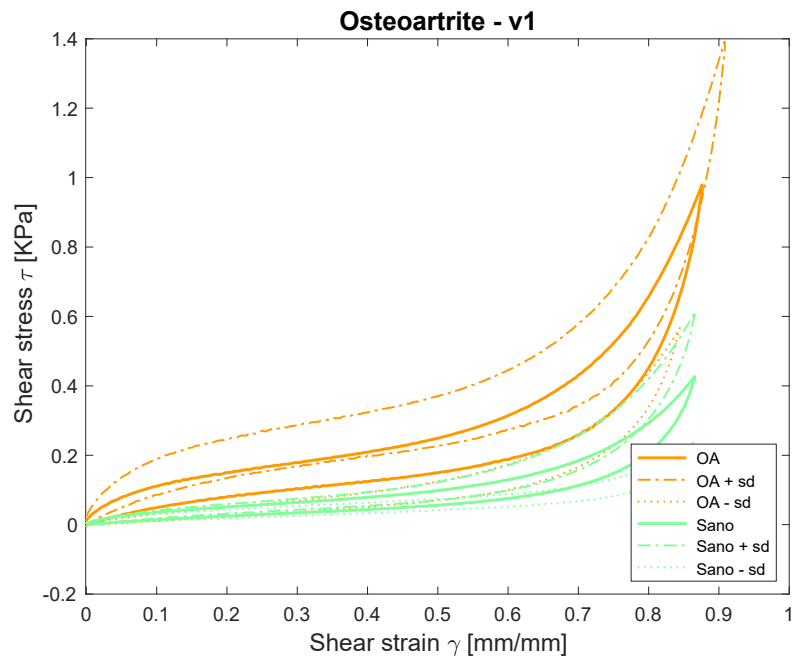


Figura 3.2.1.1. Andamento dello shear stress τ in funzione dello shear strain γ di soggetti osteoartrotici confrontati con VGB28061945 alla velocità di deformazione $v1$. Per ogni gruppo di confronto sono rappresentate la curva media e la deviazione standard.

La Figura 3.2.1.1. presenta la curva sforzo-deformazione in cui vengono confrontati gli individui malati con il soggetto VGB28061945 affetto da artrite reumatoide e non da osteoartrite.

Risulta estremamente evidente come i soggetti colpiti da osteoartrite manifestino, a parità di deformazione, un valore molto più elevato di sforzo (attorno a 0,95 MPa, contro gli 0,45 MPa del soggetto sano per la velocità di deformazione più lenta).

Inoltre, la curva si manifesta come molto più ripida nell'intervallo finale della deformazione, a parità di velocità di deformazione.

La Tabella 3.1.1.2. riporta i valori massimi di τ per ciascun gruppo, in cui risulta visibile, ancora una volta, la maggiore opposizione del tessuto osteoartrotico alla deformazione imposta, riscontrabile anche nei valori di G . La differenza si può apprezzare visivamente in Figura 3.1.1.2.

Anche in questo caso i valori di sforzo da picco a picco e di dissipazione dell'energia di deformazione non sembrano seguire un pattern preciso.

	OA	SANO
τ max v1 [KPa]	0,9789	0,4268
τ max v2 [KPa]	1,4956	0,5786
τ max v3 [KPa]	1,1968	0,6047
G medio v1 [KPa]	2,5871	2,2774
G medio v2 [KPa]	4,1531	2,3239
G medio v3 [KPa]	2,2367	1,7283
EDI v1 [mJ/mm ³]	0,1755	0,2133
EDI v2 [mJ/mm ³]	0,256	0,2159
EDI v3 [mJ/mm ³]	0,0357	0,1757
ptp v1 [KPa]	0,9682	0,9915
ptp v2 [KPa]	1,4708	0,9581
ptp v3 [KPa]	1,0873	0,8505

Tabella 3.2.1.1. Proprietà dei soggetti affetti da OA confrontate con le proprietà di VGB28061945

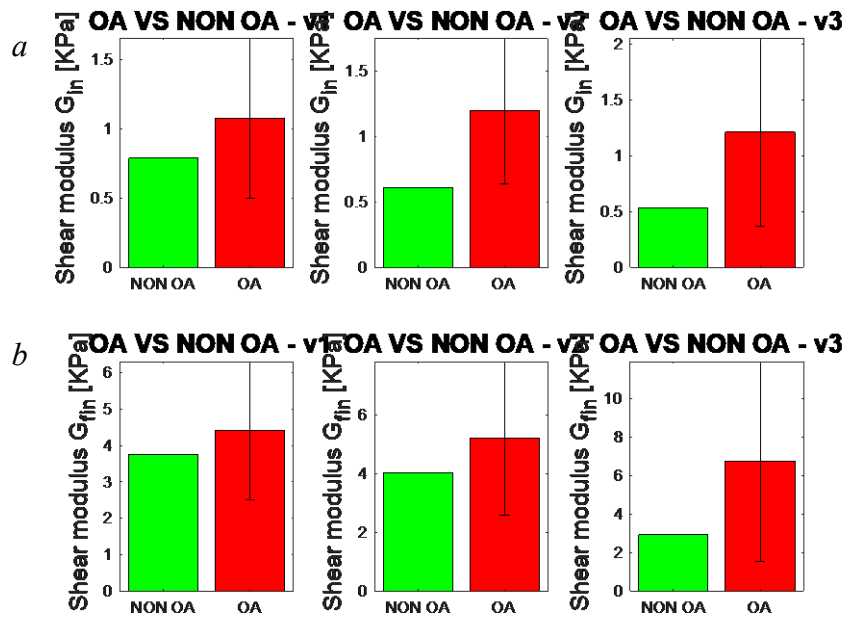


Figura 3.2.1.2. Istogramma dei valori di G_{in} (a) e G_{fin} (b) dei soggetti affetti da OA confrontati con NON OA

3.2.2. Età

A partire da questa analisi in poi, sono stati presi in considerazione solamente i soggetti malati, in modo da comprendere quali fattori abbiano una maggiore influenza sulla rigidità e sulla resistenza alla deformazione negli individui affetti da osteoartrite.

Poiché nella coorte di soggetti considerati l'età media è di $71,8 \pm 10,2$ anni, si è ritenuto opportuno distinguere un gruppo di "under 70", comprendente i soggetti PFA02071964, ELB28011968 e SIA01031957, da un gruppo di "over 70", costituito dai restanti individui.

In tal caso, grazie alla disponibilità di tessuti, è stato possibile comparare il comportamento meccanico sia di IFP che di SFP. Sono stati valutati gli stessi parametri descritti in precedenza.

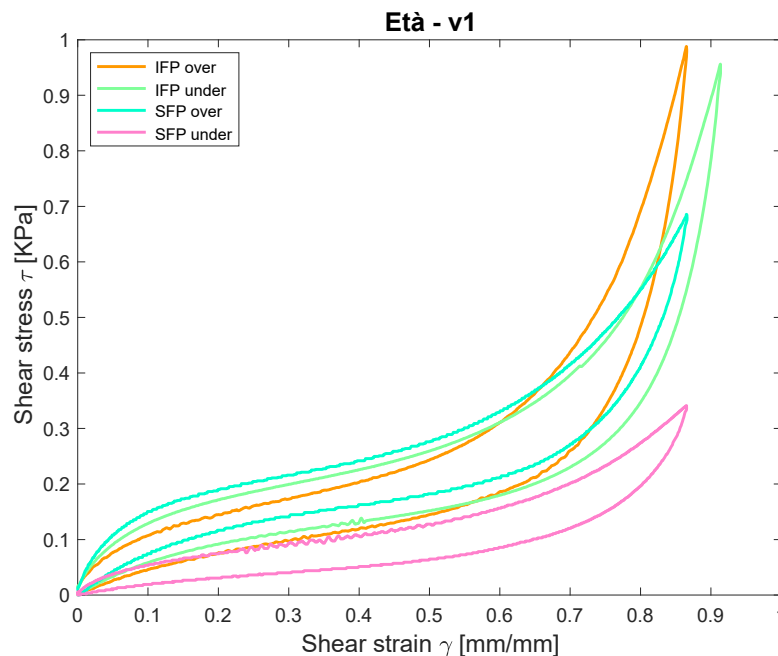


Figura 3.2.2.1. Andamento dello shear stress τ in funzione dello shear strain γ dei soggetti confrontati per età alla velocità di deformazione $v1$

In Figura 3.2.2.1. risulta evidente come i campioni relativi ai soggetti più anziani manifestino un comportamento più rigido di quelli più giovani, sia per quanto riguarda l'IFP, che l'SFP, anche se la differenza è molto più manifesta in quest'ultimo caso.

Inoltre, si può ben apprezzare come il tessuto SFP raggiunga valori di tensione di taglio notevolmente inferiori rispetto a quelli di IFP, sia nel caso di "over 70" che di "under 70".

Queste considerazioni possono essere apprezzate visivamente in Figura 3.2.2.2.

In Tabella 3.2.2.1. vengono riassunte le grandezze peculiari calcolate per le due coorti di soggetti, per tutte e tre le velocità di deformazione.

Anche alla velocità intermedia e massima vengono confermate le assunzioni fatte in precedenza, ossia una maggiore rigidezza dei soggetti più anziani e dell'IFP rispetto all'SFP. Nessuna informazione significativa può essere dedotta dai valori di dissipazione dell'energia di deformazione e di sforzo da picco a picco successivo.

	UNDER 70 - IFP	OVER 70 - IFP	UNDER 70 - SFP	OVER 70 - SFP
τ max v1 [KPa]	0,9651	0,9882	0,3412	0,6856
τ max v2 [KPa]	1,4717	1,5415	0,4194	1,2365
τ max v3 [KPa]	1,6959	1,0484	0,4689	1,1657
G medio v1 [KPa]	2,3423	2,7214	0,7592	1,6838
G medio v2 [KPa]	3,7350	4,3584	0,9706	2,9492
G medio v3 [KPa]	3,5255	1,6492	1,0488	2,8504
EDI v1 [mJ/mm ³]	0,1621	0,1825	0,0334	0,0493
EDI v2 [mJ/mm ³]	0,2286	0,2663	0,0423	0,1158
EDI v3 [mJ/mm ³]	0,2183	0,0039	0,0554	0,107
ptp v1 [KPa]	0,9414	0,9766	0,3393	0,6748
ptp v2 [KPa]	1,4535	1,5116	0,4156	1,2166
ptp v3 [KPa]	1,5667	0,9787	0,4480	1,1224

Tabella 3.2.2.1. Proprietà dei soggetti "under 70" confrontate con le proprietà dei soggetti "over 70", suddivisi per IFP e SFP.

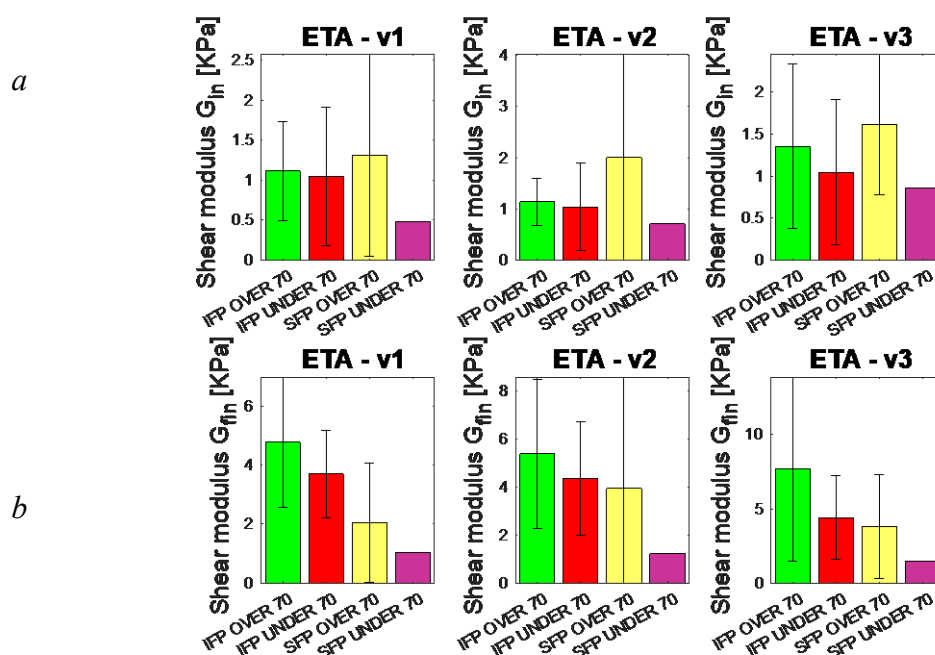


Figura 3.2.2.2. Istogramma dei valori di $G_m(a)$ e $G_{fm}(b)$ dei soggetti “under 70” confrontati con gli “over 70”

3.2.3. BMI

In questa comparazione gli individui sono stati ripartiti in base al loro indice di massa corporea o BMI.

Secondo la classificazione internazionale comunemente accettata, vengono definiti come normopeso i soggetti il cui BMI risulta compreso tra $18,50 \text{ kg/m}^2$ e $24,99 \text{ kg/m}^2$, sovrappeso coloro che hanno un BMI tra $25,00 \text{ kg/m}^2$ e $29,99 \text{ kg/m}^2$ e obesi di classe I, gli individui con un indice incluso tra $30,00 \text{ kg/m}^2$ e $34,99 \text{ kg/m}^2$ [26]. Pertanto, i soggetti della nostra coorte sono stati così divisi nei tre gruppi: normopeso (GLA15051952 e PFA02071964), sovrappeso (SIA01031957, MCB20041943, MMA20121951 e ELB28011968) e obesi di classe I (FAB06061936, PMCB02101939 e AAB27111950).

Anche in questo caso è risultato possibile, vista la disponibilità, confrontare il differente comportamento meccanico di IFP e SFP.

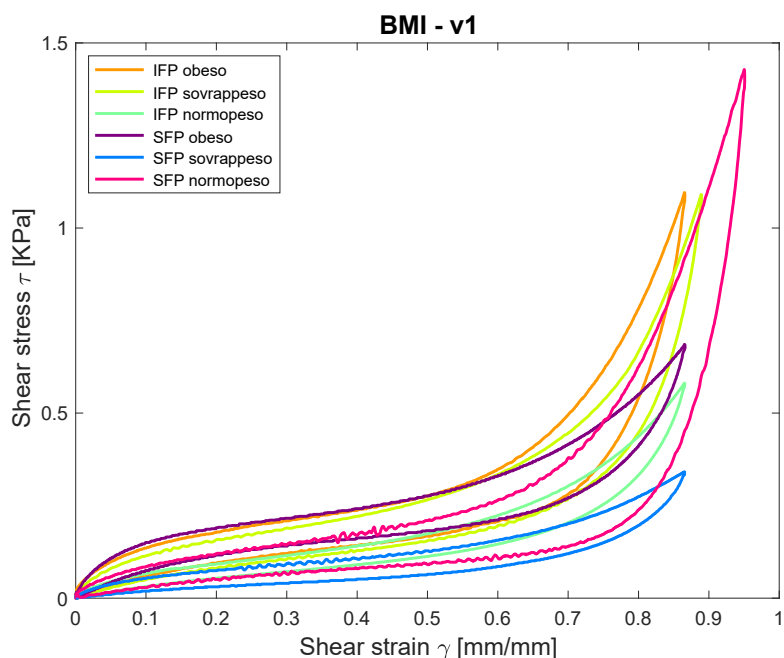
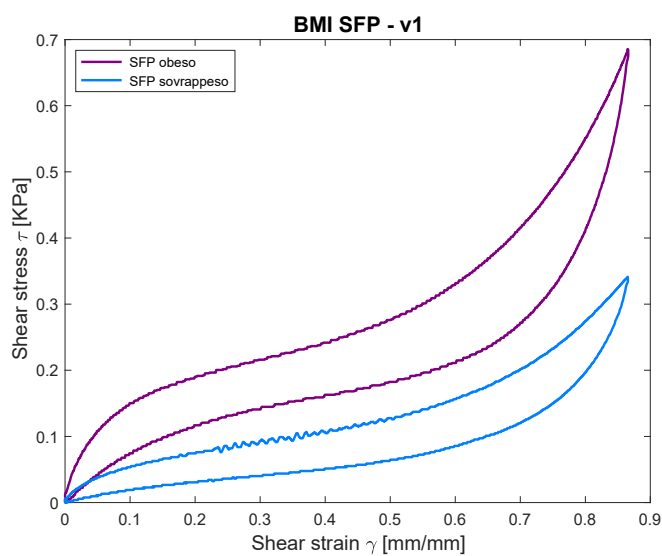
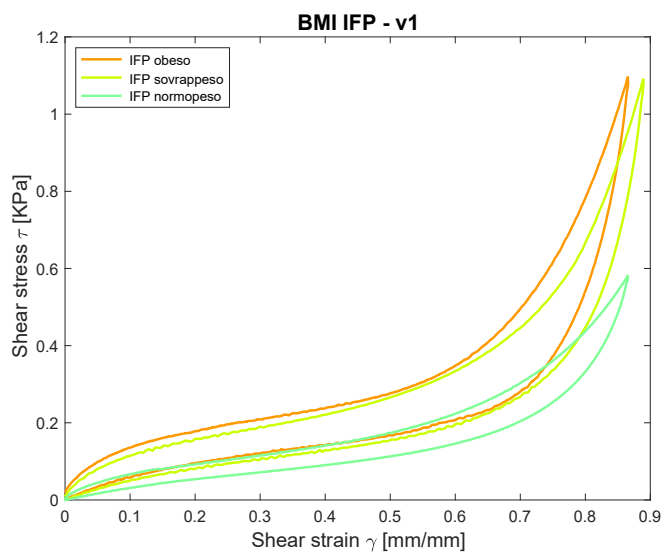


Figura 3.2.3.1. Andamento dello shear stress τ in funzione dello shear strain γ dei soggetti confrontati per BMI alla velocità di deformazione $v1$.

Risulta evidente in Figura 3.2.3.1. come i tessuti provenienti dagli individui sovrappeso raggiungano dei valori di tensione superiore rispetto a quelli dei normopeso. A loro volta i soggetti obesi sono caratterizzati da una rigidità superiore rispetto a quella degli individui sovrappeso. Fa eccezione l'SFP dei normopeso, che presenta un valore molto più elevato rispetto agli altri. Poiché si tratta di un campione proveniente solo dall'individuo PFA02071964, dal momento che di GLA15051952 non possediamo SFP, sul quale erano già state espresse delle perplessità in precedenza, ai fini dell'analisi, per i normopeso verrà preso in considerazione solo l'IFP. La curva sforzo deformazione può essere meglio apprezzata in Figura 3.2.3.2. (a) e (b).



(a)



(b)

Figura 3.2.3.2. Andamento dello shear stress τ in funzione dello shear strain γ dei soggetti raggruppati per BMI, SFP (a) e IFP (b).

La stessa tendenza si riscontra anche nelle grandezze riportate in Tabella 3.2.3.1. e rappresentate in Figura 3.2.3.3. in cui è evidente l'influenza del valore dell'aumento del BMI, sull'aumento di τ , a tutte le velocità di deformazione considerate.

Anche in questo caso vengono confermate le considerazioni fatte per i valori dello sforzo da picco a picco successivo e della dissipazione dell'energia di deformazione.

	NORMO - IFP	SOVRA - IFP	OBESO - IFP	SOVRA - SFP	OBESO - SFP
τ max v1 [KPa]	0,5811	1,0904	1,0959	0,3412	0,6856
τ max v2 [KPa]	0,7545	1,5410	1,9323	0,4194	1,2365
τ max v3 [KPa]	0,8108	1,2733	1,5729	0,4689	1,1657
G medio v1 [KPa]	1,4000	2,8847	2,9426	0,7592	1,6838
G medio v2 [KPa]	2,0320	4,2738	5,1004	0,9706	2,9492
G medio v3 [KPa]	3,1261	2,7240	5,8281	1,0488	2,8504
EDI v1 [mJ/mm³]	0,0866	0,2068	0,1942	0,0334	0,0493
EDI v2 [mJ/mm³]	0,1358	0,2861	0,2997	0,0423	0,1158
EDI v3 [mJ/mm³]	0,1839	0,0784	0,0188	0,0554	0,107
ptp v1 [KPa]	0,5766	1,0791	1,4196	0,3393	0,6748
ptp v2 [KPa]	0,7489	1,5247	1,8831	0,4156	1,2166
ptp v3 [KPa]	0,7492	1,2087	1,5058	0,448	1,1224

Tabella 3.2.3.1. Proprietà dei soggetti normopeso, sovrappeso e obesi, suddivisi per IFP e SFP.

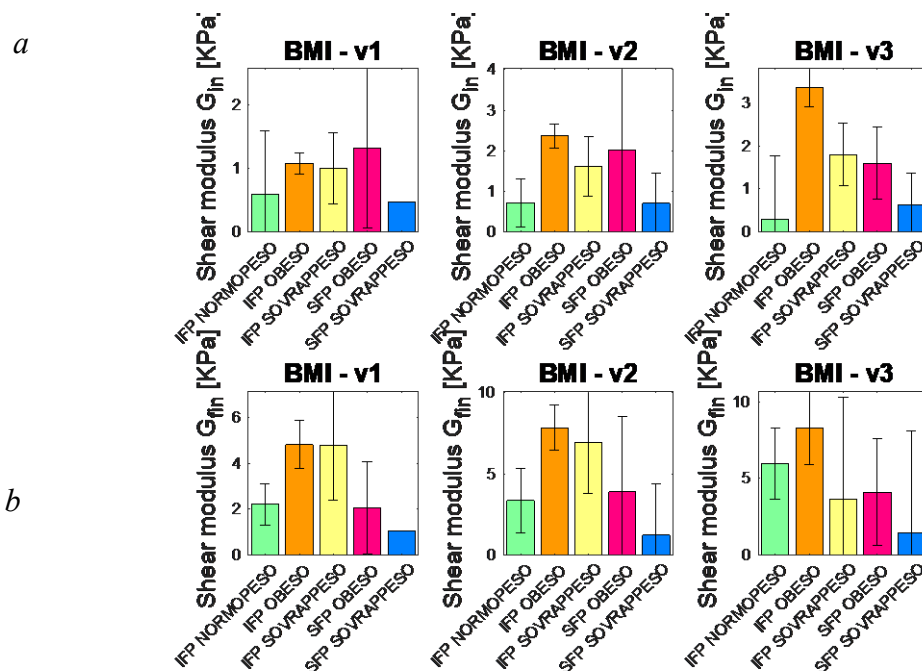


Figura 3.2.3.3 Istogramma dei valori di G_{in} (a) e G_{fm} (b) dei soggetti confrontati in base al loro BMI

3.2.4. Sesso

L'ultimo paragone è stato realizzato tra gli individui di sesso femminile e di sesso maschile. La nostra coorte è composta da cinque soggetti femminili (FAB06061936, PMCB02101939, AAB27111950, MCB20041943 e ELB28011968) e quattro soggetti maschili (GLA15051952, PFA02071964, SIA01031957 e MMA20121951).

I due gruppi sono stati confrontati sia per quanto riguarda le proprietà relative all'IFP, sia per quanto riguarda quelle relative a SFP.

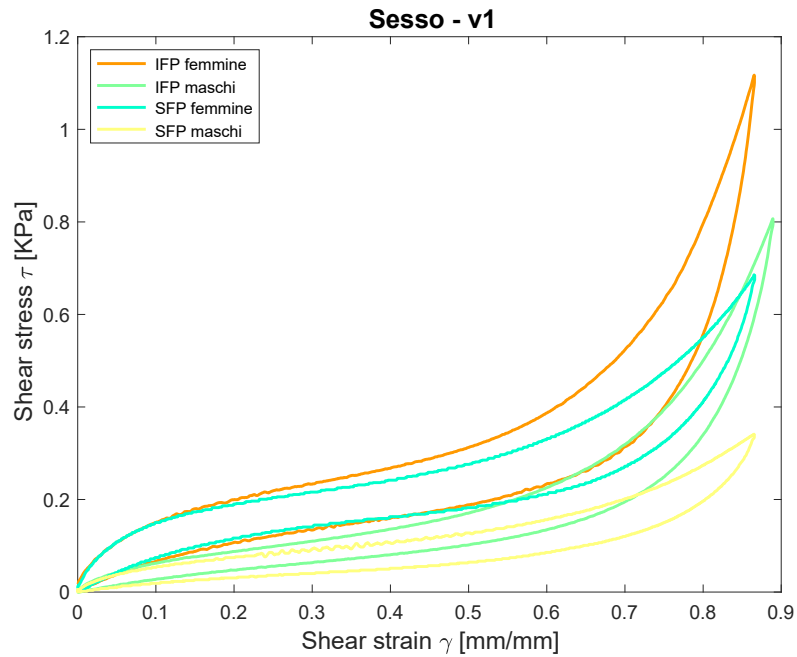


Figura 3.2.4.1. Curva sforzo-deformazione dei soggetti confrontati per sesso alla velocità di deformazione v1.

La Figura 3.2.4.1. evidenzia che, sia nel caso del tessuto adiposo infrapatellare che sovrapatellare, quello proveniente da individui di sesso femminile raggiunge, a parità di deformazione, un valore più elevato di sforzo. Inoltre, l'IFP si conferma più resistente di SFP. Anche in questo paragone sono state ritenute valide le considerazioni fatte precedentemente per quanto concerne il campione PFA02071964.

I valori riportati in Tabella 3.2.4.1. e il grafico in Figura 3.2.4.2. confermano la tendenza manifestata dalla rappresentazione grafica e le considerazioni riportate per gli altri gruppi sulle grandezze dissipazione dell'energia di deformazione e sforzo da picco a picco.

	F - IFP	M - IFP	F - SFP	M - SFP
τ max v1 [KPa]	1,1172	0,8068	0,6856	0,3412
τ max v2 [KPa]	1,8313	1,0759	1,2365	0,4194
τ max v3 [KPa]	1,5529	0,8318	1,1657	0,4689
G medio v1 [KPa]	3,0891	2,2756	1,6838	0,7592
G medio v2 [KPa]	4,5135	2,8408	2,9492	0,9706
G medio v3 [KPa]	3,9901	0,8045	2,8504	1,0488
EDI v1	0,1817	0,1677	0,0493	0,0334
EDI v2	0,2665	0,2428	0,1158	0,0423
EDI v3	0,0357	0,0766	0,107	0,0554
ptp v1 [KPa]	1,1001	0,8024	0,6748	0,3393

ptp v2 [KPa]	1,7934	1,0676	1,2166	0,4156
ptp v3 [KPa]	1,4426	0,7841	1,1224	0,448

Tabella 3.2.4.1. Proprietà dei soggetti confrontati sulla base del sesso, suddivisi per IFP e SFP.

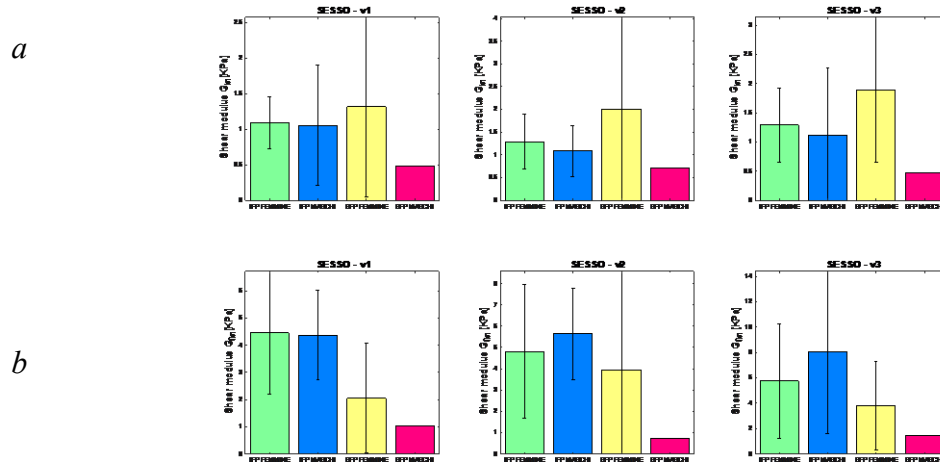


Figura 3.2.4.2. Istogramma dei valori di $G_m(a)$ e $G_{fin}(b)$ dei soggetti confrontati in base al sesso

Sarebbe di interesse operare dei confronti raggruppando i soggetti anche sulla base di altri fattori, come il fumo, il grado di osteoartrite e la patogenesi (trauma o altra causa). Per quanto concerne gli individui appartenenti alla nostra coorte le informazioni sono troppo scarse per consentire questo tipo di proseguimento dell'analisi.

Capitolo 4: Discussione

Il valore di shear stress τ medio dei campioni di IFP testati si attesta attorno ai $0,66 \pm 0,48$ KPa per la velocità di deformazione minore, $1,06 \pm 0,98$ KPa per quella intermedia e $1,07 \pm 0,86$ KPa per quella più elevata, raggiungendo, nei punti di picco, valori massimi compresi tra 1,6 e 2 KPa, a tutte e tre le velocità di deformazione. Per quanto concerne SFP, invece, i valori medi sono molto più bassi, rispettivamente $0,21 \pm 0,13$ KPa, $0,40 \pm 0,31$ KPa e $0,57 \pm 0,49$ KPa.

La deviazione standard molto elevata rispecchia la notevole variabilità riscontrata tra le caratteristiche dei soggetti e dei campioni valutati.

Le grandezze ottenute sono pressoché coerenti con quelle individuate in letteratura, relative a prove di scorrimento tangenziale triassiali. Infatti, osservando i risultati riguardanti la direzione θ_z , cioè quella tangenziale, si verifica come, al crescere della velocità di deformazione (rispettivamente 3/s, 13/s e 50/s, molto più elevate rispetto a quelle del protocollo qui adottato), cresca anche il valore massimo di sforzo di taglio raggiunto, ossia circa 2,8 KPa e 3 KPa, per la velocità minima e intermedia, per aumentare notevolmente fino a 4,9 KPa per la velocità maggiore [23]. I valori più elevati sono verosimilmente dovuti sia alle diverse velocità di deformazione impiegate, sia all'origine del tessuto adiposo utilizzato, ovvero tessuto adiposo subcutaneo, proveniente dalla zona del basso ventre.

Anche in questo caso si riscontra una variabilità importante tra i diversi campioni.

Altre prove di scorrimento tangenziale triassiali, realizzate in questo caso utilizzando tessuto adiposo addominale, confermano i valori ottenuti, presentando, lungo la direzione tangenziale, uno sforzo di taglio τ massimo di 0,6 KPa nei cicli finali del protocollo adottato. Inoltre, dai grafici riportati, vengono validate le proprietà viscoelastiche, le quali risultano evidenti dall'area di isteresi che diminuisce progressivamente all'aumentare della velocità [27].

Valori leggermente superiori, attorno ai $2 \pm 0,9$ KPa [22], emergono da una ricerca concernente prove di shear semplice ad una velocità di deformazione di 3/s, effettuate su tessuto adiposo subcutaneo, proveniente dalla regione addominale. Anche in questo caso l'elevata variabilità è strettamente correlata al valore della deviazione standard. Inoltre, è utile tenere presente che, nei test citati fino a questo momento, la massima deformazione di taglio γ raggiunta si attesta attorno agli 0,5 mm/mm, mentre in quelli riportati in questo elaborato si giunge a deformazioni fino a 0,9 mm/mm.

Infatti, nelle prove sperimentali di scorrimento tangenziale in cui si consegue la deformazione massima, il valore di shear stress massimo raggiunto, alle velocità di deformazione di 30, 60, 90 e 120/s è, rispettivamente, di $1,15 \pm 0,25$ KPa, $1,34 \pm 0,19$ KPa, $2,19 \pm 0,225$ KPa e $2,52 \pm$

0,27 KPa. Dunque, valori più vicini a quelli qui ottenuti, anche se, nel caso sopra riportato, relativi a campioni di tessuto cerebrale porcino [17].

Le stesse considerazioni possono essere fatte per lo shear modulus G , per il quale i risultati individuati in letteratura, (4,6 KPa [22]), sono leggermente superiori a quelli ricavati dalle prove sperimentali qui descritte. Infatti, il valore di G medio a v_1 $2,70 \pm 0,82$ KPa, (IFP) e $1,37 \pm 1,28$ KPa (SFP); a v_2 $3,19 \pm 1,23$ KPa (IFP) e $2,31 \pm 2,62$ KPa (SFP), infine, a v_3 $3,75 \pm 1,99$ KPa (IFP) e $2,29 \pm 1,94$ (SFP).

L'andamento non lineare della curva sforzo-deformazione, a forma di S, con un incremento iniziale concavo, seguito da un punto di flesso e concluso con un incremento non lineare convesso, visualizzato nei grafici, è conforme con quello riportato in altre pubblicazioni, anche se riguardanti la pelle plantare, su cui sono state effettuate prove di scorrimento tangenziale utilizzando un protocollo molto simile e lo stesso tipo di macchinario [18].

La tendenza dei campioni più sottili a deformarsi meno, a parità di stress, è confermata dalla risposta di MMA20121951 e MCB20041943 [18], anche se, sarebbero opportune delle analisi specifiche e più complete sull'influenza delle dimensioni e della superficie dei provini.

Per quanto concerne i valori di dissipazione dell'energia di deformazione, i risultati ottenuti dalla nostra elaborazione non hanno consentito di riconoscere andamenti particolari, anche se ci si sarebbe aspettati una diminuzione dell'area di isteresi legato ad una maggiore velocità di deformazione. Inoltre, sarebbe interessante approfondire la correlazione tra questa grandezza e il grado di avanzamento dell'osteoartrite nei pazienti considerati, come realizzato in altri studi, concernenti tessuto cartilagineo di pazienti affetti da osteoartrite [21]. Tuttavia, le informazioni possedute in merito sono troppo scarse per realizzare un'analisi significativa in questo senso. Inoltre, come è evidente, risulta molto più difficile reperire tessuti da pazienti ai primi stadi della malattia per studiarli ex vivo.

Considerazioni analoghe possono essere fatte anche per i valori di sforzo da picco a picco e di modulo di taglio effettivo.

Rammentando il ruolo svolto dalla microstruttura di IFP e SFP nella risposta meccanica, determinata principalmente dalla dimensione dei lobuli e dalla composizione dei setti interlobulari, i risultati ottenuti confermano un comportamento non lineare del tessuto. In generale, i lobuli di tessuto adiposo e i setti interlobulari contribuiscono in maniera diversa alle proprietà meccaniche del tessuto. In particolare, la deformazione del tessuto osservata nelle prove di taglio dipende principalmente dai setti connettivi, costituiti da collagene e fibre elastiche, con un andamento assimilabile a quello del tessuto connettivo [4].

Di conseguenza, l'aumento della rigidità dei setti interlobulari, nonché la comparsa di fibrosi e la maggiore vascolarizzazione dovuta alla presenza di osteoartrite, comportano una maggiore opposizione allo sforzo di taglio [6,10,28].

Inoltre, la comparsa di stimoli infiammatori, sempre correlati alla malattia, sembra essere responsabile di un'eccessiva sintesi di componenti della matrice extracellulare e della conseguente comparsa di materiale fibrotico, che incide sulla rigidità [13]. Questo comportamento è ben descritto dalle curve sforzo-deformazione ottenute durante le prove e plottate confrontando il soggetto non affetto da osteoartrite con i restanti. Infatti, è possibile apprezzare, anche visivamente, la maggior pendenza della curva e di conseguenza il valore più alto del modulo di elasticità tangenziale G , ossia 2,59 KPa contro 2,28 KPa alla velocità v_1 , 4,15 KPa rispetto a 2,33 KPa alla velocità v_2 e 2,24 KPa contro 1,73 alla velocità v_3 .

Per quanto concerne l'incidenza di fattori quali l'età, il BMI e il sesso, la scarsità di informazioni presenti in letteratura non ha permesso né di validare, né di confutare gli esiti delle elaborazioni realizzate.

Tuttavia, basandosi sul fatto che il tessuto adiposo, e di conseguenza la sua conformazione, sembra essere il più condizionato dall'avanzamento dell'età, rimodellandosi sia dal punto di vista delle dimensioni lobulari, che aumentano, sia, dal punto di vista dei setti, nei quali la quantità di collagene sembra diminuire, possiamo ritenere la maggiore rigidità rilevata nei soggetti più anziani, come conforme a quanto affermato [28]. Infatti, i valori riportati sono 2,72 KPa rispetto a 2,34 KPa alla velocità v_1 , 4,36 KPa contro 3,74 KPa alla velocità v_2 , tuttavia alla velocità v_3 , gli "over 70" presentano un G di 1,65 KPa rispetto a 3,53 KPa calcolato per gli "under 70".

Allo stesso modo un incremento del BMI, che comporta una variazione nell'omeostasi del tessuto adiposo infrapatellare, a causa di un alterato metabolismo dei lipidi [11-32], può giustificare il raggiungimento di valori di tensione τ più elevati in individui obesi e sovrappeso, rispetto a individui normopeso.

A causa del numero limitato di soggetti inclusi nello studio e del conseguente esiguo numero di campioni testati non è stato ritenuto opportuno procedere con la realizzazione di un'analisi statistica. Sono stati realizzati dei gruppi di confronto sulla base delle variabili caratterizzanti i pazienti che, si pensa, possono avere un'influenza sul comportamento meccanico del tessuto preso in esame. La possibilità futura di ampliare la coorte, inserendo i dati relativi ad ulteriori individui, potrà permettere la realizzazione di un'indagine più completa dal punto di vista statistico.

Dei 26 campioni di tessuto testati, in 6 sono state visualizzate delle sovrapposizioni nella curva forza-spostamento e, conseguentemente, in quella sforzo-deformazione alla velocità di deformazione massima v_3 , in 1 anche alla velocità intermedia v_2 .

L'intersezione del grafico è probabilmente dovuta all'elevata velocità di deformazione, corrispondente a 1000%/s, che ha determinato un accoppiamento non perfetto tra il provino e la superficie dell'indentatore nella fase di ritorno del campione. Si potrebbe risolvere riducendo la velocità della prova sperimentale o aumentando le dimensioni dei campioni.

Inoltre, in tutti i soggetti in cui è stata selezionata la prima rampa relativa alla velocità v_3 , la curva risultante termina, ma non inizia, nell'origine. Questo risultato è probabilmente dovuto a tensioni residue derivanti dalle fasi precedenti del protocollo.

Nonostante i dati ottenuti dallo studio siano in linea con quelli presenti in letteratura, il numero di studi relativi alle proprietà meccaniche di IFP e SFP, risulta ancora limitato [4-6-7-8-9-11-12-13-28-28-31-33]. In particolare, per quanto la ricerca condotta sui database scientifici è stata in grado di riportare, risultano assenti contributi sullo svolgimento di prove di scorrimento tangenziale, nonché sui confronti tra l'influenza delle diverse peculiarità dei soggetti, già affetti da osteoartrite, sulla risposta meccanica del tessuto. Un numero maggiore di campioni, in futuro, potrebbe portare l'analisi a conseguire indagini anche sulla relazione tra la risposta manifestata e lo stadio di osteoartrite a cui è giunto l'individuo, o comprendere in maniera più specifica l'incidenza dello spessore, dell'area dei campioni e della velocità a cui vengono testati.

Inoltre, attraverso il coinvolgimento di più individui si potrebbero condurre indagini significative anche dal punto di vista statistico.

Ulteriori considerazioni possono essere fatte anche su parametri presenti in maniera meno frequente nella documentazione scientifica, quali lo sforzo di taglio effettivo, la dissipazione dell'energia di deformazione e lo sforzo da picco a picco, per comprendere se seguano un andamento preciso e a quali fattori sia correlato.

Inoltre, possono essere fatte anche delle assunzioni riguardo il legame tra le grandezze analizzate e altre relative all'elasticità e alla risposta meccanica [31].

Conclusioni

L'osteoartrite è una malattia estremamente complessa e dolorosa; poiché si prevede che la sua incidenza sia destinata ad aumentare di pari passo con l'accrescimento dell'età media della popolazione mondiale, nonché con l'incremento della diffusione dell'obesità, comprendere quali siano i fattori che ne influenzano la comparsa e lo sviluppo, sembra essere sempre più di fondamentale importanza.

L'articolazione maggiormente colpita è quella del ginocchio. Ad oggi l'unico trattamento proposto negli stadi più gravi della patologia consiste nella sostituzione totale dell'articolazione, che viene messa in atto quando le cure palliative risultano non essere più sufficienti.

È ormai assodato il fatto che il tessuto infrapatellare (IFP) e il tessuto sovrapatellare (SFP) abbiano un ruolo centrale nella patogenesi dell'osteoartrite, correlato principalmente all'infiammazione e al rilascio di fattori come adipochine e citochine, che hanno delle conseguenze sulla microstruttura dei lobuli adiposi e dei setti che li costituiscono.

Pertanto, caratterizzare il comportamento biomeccanico di questo tipo di tessuto può rivelarsi utile ai fini della prevenzione e del trattamento della malattia.

Il presente elaborato si è posto come obiettivo la caratterizzazione biomeccanica di IFP e SFP attraverso prove di scorrimento tangenziale.

In accordo con quanto riportato nella ricerca bibliografica, i test performati hanno confermato una risposta alla deformazione di tipo non lineare.

Inoltre, l'analisi dei tessuti derivanti da individui affetti da osteoartrite, suddivisi in base alle proprie caratteristiche individuali, quali sesso, età e BMI, ha consentito di correlare, se pur limitatamente a questo studio, un BMI più elevato, l'anzianità e il sesso femminile, ad un incremento della rigidità della risposta.

Il numero esiguo di soggetti coinvolti nello studio ha comportato un limite sia dal punto di vista statistico, sia dal punto di vista delle informazioni note sui soggetti, riguardanti altri potenziali fattori di rischio, come il fumo o il grado di osteoartrite.

L'ampliamento della coorte può inoltre essere utile per definire se la conservazione e il trattamento dei campioni, o le dimensioni, o la velocità a cui vengono realizzate le prove presentino delle conseguenze importanti nelle proprietà meccaniche manifestate.

Ulteriori prove di taglio potranno essere realizzate anche in direzioni diverse, per valutare un'eventuale anisotropia del tessuto o in condizioni tali da stimare la tempo-dipendenza.

Può risultare interessante, inoltre, operare una distinzione anche tra l'osteoartrite derivante da trauma o da altra patogenesi, o tra quella sintomatica e asintomatica.

I risultati ottenuti possono essere considerati come un punto di partenza per sviluppare un modello costitutivo ancora più preciso e dettagliato di questo tipo di tessuto. A partire da esso si possono prevedere la comparsa e lo sviluppo dell'osteoartrite tramite la variazione del comportamento meccanico del tessuto.

Inoltre, possono essere interessanti anche a livello chirurgico ortopedico, per orientare la scelta di rimozione o mantenimento di IFP e SFP durante la procedura di sostituzione totale dell'articolazione, ad oggi a discrezione del chirurgo.

A livello bioingegneristico possono permettere di valutare un'eventuale interazione tra questi tessuti e la protesi, sia per comprendere quale materiale mostri le proprietà più adatte come sostituto, sia per sviluppare una protesi ottimale dell'articolazione del ginocchio.

L'analisi del comportamento meccanico, infatti, permette di ampliare le strategie diagnostiche e terapeutiche.

Sviluppi ulteriori possono riguardare la produzione di un modello agli elementi finiti, utile a realizzare delle simulazioni sulla degenerazione dell'osteoartrite, tarandole in base alle caratteristiche individuali dell'individuo, relative ai fattori di rischio considerati, tramite l'analisi della distribuzione dello stress e della deformazione.

In generale, i modelli in silico sono uno strumento ormai divenuto imprescindibile nello studio del comportamento meccanico dei tessuti, utile allo sviluppo di approcci di prevenzione, diagnosi e trattamento delle patologie o dei traumi che caratterizzano i tessuti presi in esame.

Bibliografia

- [1] Martini, Timmons, Tallitsch, *Anatomia Umana*, Quarta Edizione, EdiSES s.r.l., (2011)
- [2] Susan Standring, *Anatomia del Gray. Le basi anatomiche per la pratica clinica Vol.2*, Elsevier, Masson, 40° edizione (2009)
- [3] Fontanella, *Dispense e appunti delle lezioni di Meccanica dei Tessuti Biologici*, (2022)
- [4] Fontanella C.G., Carniel E.L., Frigo A., Macchi V., Porzionato A., Sara- sin G., Rossato M., De Caro R., Natali A. (2017) *Investigation of biomechanical response of Hoffa's fat pad and comparative characterization*, Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 67, 1-9
- [5] Gallagher J., Tierney P., Murray P., O'Brien M. (2005) *The infrapatellar fat pad: anatomy and clinical correlations*, Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy, 13, 268-272
- [6] Belluzzi E., Stocco E., Pozzuoli A., Granzotto M., Porzionato A., Vettor R., De Caro R., Ruggieri P., Ramonda R., Rossato M., Favero M., Macchi V. (2019) *Contribution of Infrapatellar Fat Pad and Synovial Membrane to Knee Osteoarthritis Pain*, BioMed Research International, 2019, 1-18
- [7] Macchi V., Picardi E.E.E., Fontanella C.G., Porzionato A., Stecco C., Tortorella C., Favero M., Natali A., De Caro R. (2019) *The characteristics of the lobular arrangement indicate the dynamic role played by the infrapatellar fat pad in knee kinematics*, Journal of Anatomy, 235, 80-87
- [8] Fontanella C.G., Belluzzi E., Pozzuoli A., Favero M., Ruggieri P., Macchi V., Carniel E.L. (2022) *Mechanical behavior of infrapatellar fat pad of patients affected by osteoarthritis*, Journal of Biomechanics, 131, 1-8
- [9] Fontanella C.G., Macchi V., Carniel E.L., Frigo A., Porzionato A., Picardi E.E.E., Favero M., Ruggieri P., De Caro R., Natali A. (2018) *Biomechanical behavior of Hoffa's fat pad in healthy and osteoarthritic conditions: histological and mechanical investigations*, Australasian Physical Engineering Sciences in Medi- cine, 41, 657-667
- [10] Macchi V., Stocco E., Stecco C., Belluzzi E., Favero M., Porzionato A., De Caro R. (2018) *The infrapatellar fat pad and the synovial membrane: an anatomo- functional unit*, Journal of Anatomy, 233, 146-154
- [11] Belluzzi E., El Hadi H., Granzotto M., Rossato M., Ramonda R., Macchi V., De Caro R., Vettor R., Favero M. (2017) *Systemic and Local Adipose Tissue in Knee Osteoarthritis*, Journal of Cellular Physiology, 232, 1971-1978
- [12] Wang J., Han W., Wang X., Pan F., Liu Z., Halliday A., Jin X., Antony B., Cicuttini F., Jones G., Ding C. (2014) *Mass effect and signal intensity alteration in the suprapatellar fat pad: associations with knee symptoms and structure*, Osteoarthritis and Cartilage, 22, 1619-1626
- [13] Fontanella C.G., Belluzzi E., Rossato M., Olivotto E., Trisolino G., Rug- gieri P., Rubini A., Porzionato A., Natali A., De Caro R., Vettor R., Ramonda R., Macchi V., Favero M. (2019)

- Quantitative MRI analysis of infrapatellar and suprapatellar fat pads in normal controls, moderate and end-stage osteoarthritis*, *Annals of Anatomy*, 221, 108-114
- [14] Favero M., El-Hadi H., Belluzzi E., Granzotto M., Porzionato A., Sarasin G., Rambaldo A., Iacobellis C., Cigolotti A., Fontanella C.G., Natali A., Ramonda R., Ruggieri P., De Caro R., Vettor R., Rossato M., Macchi V. (2017) *Infrapatellar fat pad features in osteoarthritis: a histopathological and molecular study*, *Rheumatology*, 56, 1784-1793
- [15] Biomomentum Mach-1 Mechanical Testing System, *Mach-1 User Manual*, Version 8.9 (Novembre 2020)
- [16] Burda B., Steidle-Kloc E., Dannhauer T., Wirth W., Ruhdorfer A., Eckstein F. (2017) *Variance in infra-patellar fat pad volume: Does the body mass index matter? — Data from osteoarthritis initiative participants without symptoms or signs of knee disease*, *Annals of Anatomy*, 213, 19-24
- [17] Rashid B, Destrade M, Gilchrist MD, (2013), *Mechanical characterization of brain tissue in simple shear at dynamic strain rates*, *J Mech Behav Biomed Mater*.
- [18] Lynda Brady, Shruti Pai, Joseph M. Iaquinto, Yak-Nam Wang, William R. Ledoux, (2021), *The compressive, shear, biochemical, and histological characteristics of diabetic and non-diabetic plantar skin are minimally different*, *Journal of Biomechanics*, Volume 129
- [19] Zhaonan Sun, Sang-Hyun Lee, Bronislaw D. Gepner, Joshua Rigby, Jason J. Hallman, Jason R. Kerrigan, (2021), *Comparison of porcine and human adipose tissue loading responses under dynamic compression and shear: A pilot study*, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, Volume 113
- [20] Bianco G., Levy A.M., Grytz R., Fazio M.A. (2021) *Effect of different preconditioning protocols on the viscoelastic inflation response of the posterior sclera*, *Acta Biomaterialia*, 128, 332-345
- [21] Maier F, Lewis CG, Pierce DM., (2019) *The evolving large-strain shear responses of progressively osteoarthritic human cartilage*. *Osteoarthritis Cartilage*.; Vol. 27(5), 810-822.
- [22] Zhaonan Sun, Sang-Hyun Lee, Bronislaw D. Gepner, Joshua Rigby, Jason J. Hallman, Jason R. Kerrigan, (2021), *Comparison of porcine and human adipose tissue loading responses under dynamic compression and shear: A pilot study*, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, Volume 113
- [23] Sommer G, Eder M, Kovacs L, Pathak H, Bonitz L, Mueller C, Regitnig P, Holzapfel GA., (2013), *Multiaxial mechanical properties and constitutive modeling of human adipose tissue: a basis for preoperative simulations in plastic and reconstructive surgery*. *Acta Biomater.*, Vol 9(11), 9036-48.
- [24] Santos S, Maier F, Pierce DM. (2017) *Anisotropy and inter-condyle heterogeneity of cartilage under large-strain shear*. *J Biomech*, Volume 52, 74-82
- [25] Biomomentum Mach-1 Mechanical Testing System, *Extraction of Mechanical Parameters Following Shear Testing on a Cartilage Disk or Osteochondral Core*, Version 8.9 (Novembre 2020);

[26]

<https://www.salute.gov.it/portale/nutrizione/dettaglioIMCNutrizione.jsp?lingua=italiano&id=5479&area=nutrizione&menu=vuoto>

[27] Shaonan Sun, Bronislaw D. Gepner, Sang-Hyun Lee, Joshua Rigby, Patrick S. Cottler, Jason J. Hallman, Jason R. Kerrigan, *Multidirectional mechanical properties and constitutive modeling of human adipose tissue under dynamic loading*, Acta Biomaterialia, Volume 129, 2021

[28] Stocco E., Belluzzi E., Contran M., Boscolo-Berto R., Picardi E., Guidolin D., Fontanella C.G., Olivotto E., Filardo G., Borile G., Romanato F., Ramon- da R., Ruggieri P., Favero M., Porzionato A., De Caro R., Macchi V. (2021) *Age-Dependent Remodeling in Infrapatellar Fat Pad Adipocytes and Extracellular Matrix: A Comparative Study*, Frontiers in Medicine, 8, 1-13

[29] Mace J., Bhatti W., Anand S. (2016) *Infrapatellar fat pad syndrome: a review of anatomy, function, treatment and dynamics*, Acta Orthopædica Belgica, 82, 94-101

[30] Ladenhauf H.N., Schlattau A., Burda B., Wirth W., Eckstein F., Metzger R., Ruhdorfer A. (2020) *Association of infrapatellar fat pad size with age and body weight in children and adolescents*, Annals of Anatomy, 232, 151533

[31] Wu, Huaiyu MD; Liang, Weiyu MD*; Jiao, Yang MD; Song, Hong MD; Peng, Quanzhou MD; Luo, Hui MD; Zhang, Yuanji MD; Xu, Jinfeng MD; Dong, Fajin MD*. *A Preliminary Comparative Study of Young's Modulus Versus Shear Modulus in the Diagnosis of Breast Cancer*. Ultrasound Quarterly 35(1):p 88-92, March 2019

[32] Ladenhauf H.N., Schlattau A., Burda B., Wirth W., Eckstein F., Metzger R., Ruhdorfer A. (2020) *Association of infrapatellar fat pad size with age and body weight in children and adolescents*, Annals of Anatomy, 232, 151533

[33] Clockaerts S., Bastiaansen-Jenniskens Y.M., Runhaar J., Van Osch G.J.V.M., Van Offel J.F., Verhaar J.A.N., De Clerck L.S., Somville J. (2010) *The infrapatellar fat pad should be considered as an active osteoarthritic joint tissue: a narrative review*, Osteoarthritis and Cartilage, 18, 876-882

