



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

CORSO DI LAUREA IN BIOINGEGNERIA

**“METODI SPERIMENTALI PER L'ANALISI DEL COMPORTAMENTO
ELASTICO ED INELASTICO DEL TESSUTO OSSEO CORTICALE”**

Relatore: Prof. Emanuele Luigi Carniel

Laureando: Fabio Dorigoni

Correlatori: Prof. Gianluca Mazzucco

Prof. Chiara Giulia Fontanella

ANNO ACCADEMICO 2021 – 2022

28 febbraio 2022

0.1 Introduzione

Le ossa hanno la funzione di sostenere e proteggere gli organi del nostro corpo, consentendoci il movimento attraverso un sistema di giunti articolari in combinazione con i muscoli, che prende il nome di sistema muscoloscheletrico.

Durante gli interventi chirurgici di riparazione ossea, il chirurgo ortopedico inserisce all'interno del segmento fratturato, talvolta mediante l'impiego di strumenti perforanti, una o più viti ossee, causando l'induzione di stati tensionali e deformativi permanenti nella zona di interesse. È fondamentale che tali deformazioni siano definite entro certi limiti, per evitare lo sviluppo di fenomeni di necrosi e riassorbimento del tessuto osseo. Risulta quindi importante valutare la relazione che sussiste tra deformazioni plastiche e deterioramento dello stesso tessuto.

Il mio lavoro di tesi si inserisce in un progetto universitario in cui si vuole proprio indagare la correlazione tra deformazioni plastiche accumulate entro il tessuto osseo corticale e variazioni nelle sue proprietà meccaniche, al fine di evidenziare eventuali processi di danneggiamento occorsi entro la microstruttura. Fondamentale quindi sarà l'analisi delle curve di trazione, costruite a partire da misure di tensione e deformazione rilevate per ciascun provino. Tramite prove di carico-scarico è infatti possibile calcolare e confrontare i moduli elastici relativi alle rispettive fasi elastiche di carico e scarico, identificando eventuali fenomeni avvenuti durante lo sviluppo della deformazione plastica.

La seguente sperimentazione è stata realizzata presso il laboratorio di ricerca dell'Università di Padova, dove ho potuto effettuare una serie di prove meccaniche a trazione su campioni ossei animali. I provini, estratti da femori di bovino adulto e opportunamente lavorati e sagomati, sono stati testati in campo elastico e plastico con il principale obiettivo di definire un protocollo di misura sperimentale. Punto di forza di questo lavoro è rappresentato dall'implementazione del sistema di correlazione digitale di immagini (DIC), accoppiato al sistema di acquisizione dati della macchina, per analizzare le deformazioni reali subite dai provini. Vedremo inoltre come tale tecnica ci consenta di ottenere le mappe deformative dei campioni testati, evidenziando eventuali zone critiche soggette a concentrazione di sollecitazioni.

Indice

0.1	Introduzione.....	i
1	Struttura del tessuto osseo	1
1.1	Morfologia	1
1.2	Composizione.....	3
1.3	Tessuto osseo corticale.....	7
1.4	Tessuto osseo trabecolare.....	8
2	Comportamento meccanico del tessuto osseo	11
2.1	Proprietà meccaniche del tessuto corticale.....	12
2.1.1	Orientamento del carico e posizione	13
2.1.2	Età del soggetto	15
2.1.3	Idratazione	15
2.1.4	Velocità e durata di applicazione del carico	16
2.2	Proprietà meccaniche del tessuto trabecolare.....	17
2.2.1	Densità	17
2.2.2	Meccanismi di danno	19
2.3	Cause del comportamento meccanico	20
2.4	Modellamento e rimodellamento osseo	23
2.4.1	Rimodellamento osseo	24
3	Materiali e metodi	29
3.1	Prova di trazione	29
3.1.1	Curva di trazione.....	31

3.1.2	Provini per i test meccanici	36
3.2	Misura delle deformazioni.....	37
3.2.1	Misura mediante tecnica di correlazione di immagini.....	39
3.3	Preparazione dei provini ossei.....	47
3.3.1	Estrazione dell'osso corticale	47
3.3.2	Sagomatura	48
3.3.3	Dimensioni e geometria dei provini.....	48
3.3.4	Fresatura.....	50
3.3.5	Conservazione ed idratazione.....	51
3.3.6	Scongelo e realizzazione del pattern DIC	51
3.4	Esecuzione delle prove	53
3.4.1	Posizionamento dei provini in macchina	56
3.4.2	Calibrazione del sistema DIC.....	61
3.4.3	Velocità di deformazione e temperatura	62
3.4.4	Prove di carico-scarico.....	63
4	Risultati	67
4.1	Prove preliminari	67
4.2	Analisi dei dati.....	69
4.2.1	Misure con correlazione digitale di immagini.....	69
4.2.2	Analisi delle curve di trazione	75
5	Conclusioni e sviluppi futuri	81
	Bibliografia	83

Capitolo 1

Struttura del tessuto osseo

Questo capitolo ha lo scopo di introdurre alcuni concetti fondamentali riguardanti le caratteristiche delle ossa, classificate su base morfologica (paragrafo 1.1) e successivamente analizzate a partire dalla composizione del tessuto di cui sono costituite (paragrafo 1.2). Nei paragrafi 1.3 e 1.4 viene poi descritta la struttura dei due tipi di tessuto osseo lamellare, ai fini di comprenderne il comportamento (Capitolo 2) in seguito ad eventuali sollecitazioni meccaniche.

1.1 Morfologia

Le ossa sono segmenti di varia forma, densità e dimensioni, costituite da tessuto osseo, un tessuto connettivo di sostegno, fortemente mineralizzato, caratterizzato da notevole durezza e considerevole resistenza meccanica. Possono essere classificate su base geometrica:

- ossa lunghe, in cui una dimensione prevale sulle altre due.

Queste sono il femore, la tibia e il perone per gli arti inferiori; l'omero, il radio e l'ulna per gli arti superiori.

La superficie delle ossa lunghe è ricoperta dal periostio, una membrana connettiva responsabile dei processi di crescita dell'osso e della formazione dei calli in caso di fratture. Al di sotto del periostio si trova uno strato di osso denso, l'osso compatto (o corticale). Al di sotto dell'osso compatto c'è l'osso spugno-

so (o trabecolare) che contiene il midollo osseo, responsabile della produzione delle cellule del sangue. Le ossa lunghe hanno una parte centrale, detta diafisi, e due estremità note con il nome di epifisi; queste ultime, rivestite di cartilagine, formano le superfici articolari. Le ossa lunghe si presentano più sottili al centro e il loro diametro cresce man mano che dalla diafisi ci si sposta verso le epifisi: quest'area compresa fra un estremo della diafisi e l'epifisi adiacente è nota con il nome di metafisi. Nei bambini e negli adolescenti tra la metafisi e l'epifisi si trova una cartilagine, detta "di coniugazione", che rappresenta l'area di accrescimento in lunghezza di questa tipologia di ossa. Negli adulti la metafisi risulta invece completamente ossificata.

- ossa piatte, per le quali due dimensioni prevalgono sulla terza.

Tra le ossa del corpo umano che rientrano nella categoria delle ossa piatte ci sono le ossa del cranio, quelle del bacino, le scapole e lo sterno. La funzione caratteristica delle ossa piatte è quella di rappresentare una protezione degli organi posti nelle loro vicinanze.

- ossa brevi, in cui le tre dimensioni sono tra loro confrontabili, come le ossa del carpo e tarso. Queste hanno la specifica funzione di conferire sostegno e forma alle parti del corpo di cui fanno parte, consentendone il movimento grazie alla interazione con muscoli e tendini, e fornire supporto e stabilità al corpo anche in assenza di movimento.
- ossa irregolari, le quali, non avendo un elemento morfologico dominante non possono essere considerate né tra le ossa lunghe né tra quelle brevi o quelle piatte. Rientrano in questa sezione le vertebre e l'osso iliaco.

Oltre alle pure funzioni meccaniche (supporto, locomozione, protezione), le ossa hanno funzioni metaboliche e cellulari, essendo esse sede del midollo osseo, tessuto fondamentale per i processi di ematopoiesi. Fungono inoltre da riserva e deposito di minerali come calcio, fosforo, sodio e magnesio, indispensabili per regolare molti meccanismi fisiologici.

1.2 Composizione

Il tessuto osseo è una forma specializzata di tessuto connettivo nel quale la matrice extracellulare risulta mineralizzata. È formato da cellule, gli osteociti, e da una matrice resa particolarmente dura dalle sostanze minerali in essa presenti.

La composizione del tessuto osseo viene riassunta in tabella 1.1.

Componenti	Quantità in peso (%)
Matrice inorganica	69
Matrice organica (di cui)	22 (di cui)
Collagene	90-96
Altro	4-10
Acqua	9

Tabella 1.1: composizione del tessuto osseo.

Tale matrice è dunque prevalentemente costituita da sostanza inorganica, sotto forma di cristalli di sali di calcio, la cui fase minerale preponderante risulta essere l'idrossiapatite:

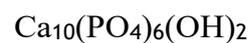


Tabella 1.2: formula chimica dell'idrossiapatite

I cristalli di apatite sono immersi in una matrice formata principalmente da fibre di collagene, ma che contiene anche una componente amorfa di proteoglicani e glicoproteine. L'accoppiamento di componente inorganica e organica permette al tessuto di essere particolarmente resistente, pur mantenendo una certa elasticità, fondamentale per limitarne la fragilità e, dunque, la formazione di fratture nel tessuto stesso.

Oltre al collagene la matrice organica è costituita da cellule immerse nella matrice extracellulare ossea. Le principali cellule che compongono l'osso sono:

- osteociti, che fanno dell'osso un tessuto vivente regolando l'equilibrio tra fase minerale e la fase organica;
- osteoclasti, responsabili della distruzione della matrice ossea;
- osteoblasti, il cui ruolo risulta fondamentale nel processo di calcificazione delle ossa. Sono i precursori degli osteociti.

Grazie a queste tre tipologie di cellule l'osso è in grado di rimodellarsi, cambiare le sue proprietà in un continuo meccanismo dinamico di deposizione e ablazione, guidato da stimoli sia ormonali che fisici.

Gli osteociti sono cellule tipiche dell'osso maturo, responsabili del suo mantenimento ed anche capaci di avviarne il rimodellamento. Sono cellule terminali, con autonomia di vita finita e regolata da sofisticati meccanismi endocrini. Si dispongono in piccole cavità della matrice minerale, dette lacune ossee, dalle quali si diramano in tutte le direzioni dei canalicoli ossei ramificati, che mettono in connessione le lacune vicine appartenenti sia alla stessa lamella che a lamelle contigue.

Lacune e canalicoli ossei costituiscono così un sistema continuo di cavità all'interno dell'osso con la funzione di permettere gli scambi metabolici e gassosi tra il sangue che scorre nei vasi contenuti nel tessuto e le cellule.

Le superfici esterna ed interna delle ossa sono ricoperte da due sottili strati di tessuto connettivo non mineralizzati, chiamati rispettivamente periostio ed endostio. Il periostio avvolge tutte le ossa del corpo umano, fatta eccezione per le superfici articolari (ricoperte di cartilagine) e i punti in cui si inseriscono tendini e legamenti muscolari. Permette l'accrescimento in larghezza delle ossa, le protegge da traumi provenienti dall'ambiente esterno ed invia all'osso sottostante numerosi piccoli vasi. Può essere suddiviso in due strati: uno interno, osteogenico, ed uno esterno, fibroso. Lo strato più interno del periostio, riccamente vascolarizzato, è popolato da numerosi osteoblasti e cellule osteoprogenitrici, deputate alla produzione di tessuto osseo. Con il suo strato più esterno, il periostio si ancora al tessuto osseo sottostante mediante spessi fasci fibrosi di collagene, detti fibre perforanti di Sharpey, e per mezzo di vasi sanguigni.

L'endostio, a differenza del primo, riveste nelle ossa lunghe la cavità midollare della diafisi. È composto da un unico strato di cellule osteoprogenitrici ed ha le caratteristiche del periostio, rispetto al quale è però più sottile.

L'osservazione al microscopio del tessuto osseo consente di distinguere un tessuto osseo di tipo fibroso o non lamellare ed un tessuto osseo di tipo lamellare.

Il tessuto osseo fibroso, o a fibre intrecciate, è osso immaturo che si trova principalmente nei neonati, in sede metafisaria e durante la guarigione delle fratture. Si presenta come una serie di fibre intrecciate nelle tre dimensioni dello spazio in maniera pressoché casuale. Una volta deposto, questo viene prontamente riassorbito e rimpiazzato con tessuto osseo di tipo lamellare. L'osso non lamellare è, nell'insieme, più elastico e meno consistente di quello lamellare, a causa della minore quantità di minerali e della mancanza di un orientamento preferenziale delle grosse fibre di collagene.

Il tessuto osseo lamellare, costituente la maggior parte del tessuto osseo nell'adulto, forma l'osso maturo che deriva dal rimodellamento del tessuto osseo fibroso o di osso preesistente. Rispetto al precedente, è un tessuto più organizzato, con un orientamento ordinato e parallelo delle fibre di collagene, disposte in strati sovrapposti detti lamelle ossee.

L'osso lamellare, a seconda dell'architettura microstrutturale, si divide a sua volta in tessuto osseo corticale (o compatto) e trabecolare (o spugnoso), come si può osservare in figura 1.1.

Il tessuto così organizzato consente alle ossa di possedere un'elevata resistenza meccanica, fornita principalmente dal tessuto corticale, pur mantenendo una notevole leggerezza, grazie alla porosità del tessuto trabecolare. Dunque, sappiamo che le ossa sono cave al loro interno sì per contenere il midollo osseo, ma soprattutto per risultare leggere, aumentando al tempo stesso la resistenza meccanica (a parità di quantità di tessuto osseo in sezione). Questo è dovuto al fatto che le strutture tubolari hanno un momento d'inerzia maggiore sia in flessione che in torsione rispetto alle strutture cilindriche dotate della stessa massa (vedi figura 1.2).

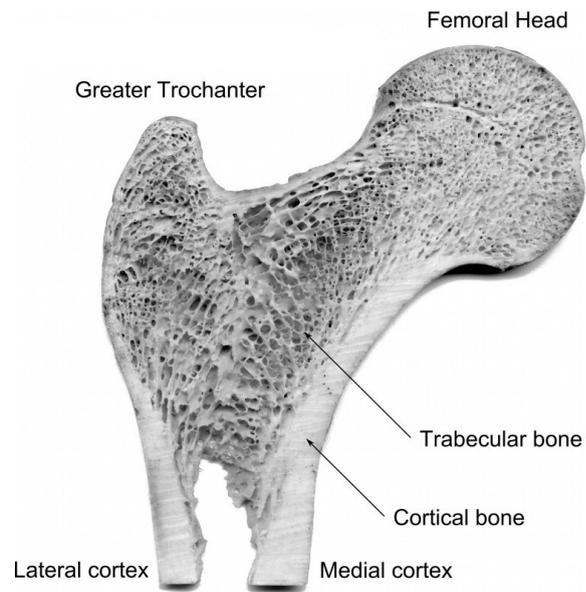


Figura 1.1: Tessuto osseo corticale (cortical bone) e trabecolare (trabecular bone)

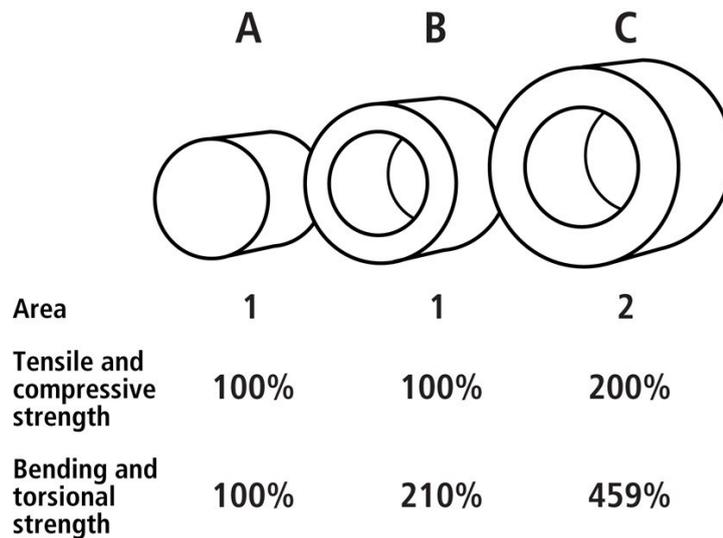


Figura 1.2: confronto resistenza di struttura cilindrica piena (A) e cava (B, C). A parità di quantità di tessuto in sezione, si nota come una struttura cilindrica cava possiede una resistenza a torsione e flessione più che doppia.

1.3 Tessuto osseo corticale

L'osso corticale forma la porzione esterna (più superficiale) delle ossa, costituisce inoltre le diafisi di queste ultime. Si tratta di un osso duro, solido, compatto, appunto, perché privo di cavità macroscopicamente evidenti, la cui funzione principale è quella di puro sostegno meccanico. Piccoli canali sono riservati ai vasi sanguigni, alle cellule ed ai loro processi, necessari per mantenerlo in vita. L'elevata densità del tessuto è dovuta all'organizzazione della microstruttura, ottenuta come ripetizione di lamelle incluse in una sostanza inorganica disposte in maniera circonferenziale che genera l'osteone.

Il tessuto corticale costituisce circa l'80% del peso totale del tessuto osseo corporeo.

L'osteone

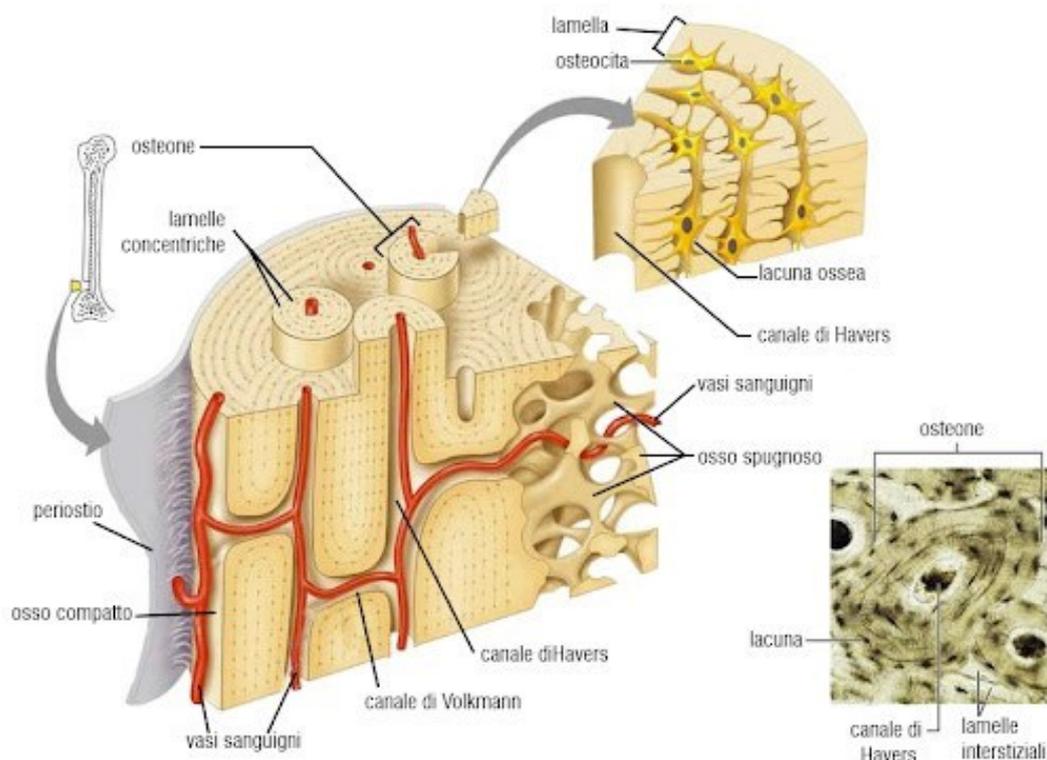


Figura 1.3: Struttura dell'osso corticale:l'osteone

Alla base della struttura gerarchica del tessuto osseo corticale vi è l'osteone, unità strutturale composta da lamelle concentriche, al cui centro scorre il canale

Haversiano contenente un vaso sanguigno. Gli osteoni, di diametro compreso tra 150 e 250 μm , sono disposti uno in fianco all'altro, immersi nel tessuto interstiziale. Sono inoltre collegati da strutture secondarie, dette canali di Volkmann, che attraversano l'osso obliquamente o perpendicolarmente al suo asse.

1.4 Tessuto osseo trabecolare

L'osso spugnoso si trova nella parte più interna delle ossa, a livello delle ossa brevi, delle ossa piatte e delle epifisi delle ossa lunghe. È costituito da una fitta rete di trabecole che, grazie alla sua morfologia alveolare (vedi figura 1.4), conferisce leggerezza alla struttura, permettendo ai muscoli di muovere le ossa più agevolmente. Oltre a contenere il midollo, ha la funzione di ripartire i carichi, recepiti alle epifisi, sul tessuto osseo corticale circostante. La conformazione spaziale dipende principalmente dal tipo di condizioni meccaniche applicate al tessuto, sulla base delle quali la struttura si ottimizza per ottenere le maggiori capacità di resistenza e di minor peso possibile. L'osso trabecolare è visibilmente poroso ed il suo comportamento meccanico dipende da tale porosità.

La trabecola

Le trabecole, orientate secondo le direzioni di trasmissione delle sollecitazioni cui l'osso è sottoposto, e intersecate tra loro, delimitano cavità, dette cavità midollari, che contengono midollo rosso (ematopoietico) e giallo. Il danno e la riparazione delle singole trabecole sono riconosciuti come un normale processo fisiologico, alla base del fenomeno di rimodellamento.

Nell'osso trabecolare gli osteociti sono distribuiti nelle lamelle in maniera disomogenea e con grandezza e forma variabile.

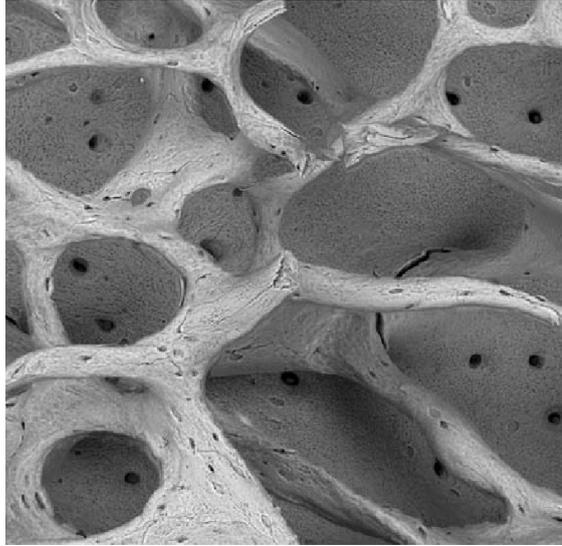


Figura 1.4: architettura trabecolare per femore di topo

Capitolo 2

Comportamento meccanico del tessuto osseo

Dopo aver introdotto la struttura che sta alla base del tessuto osseo, andremo ad analizzare come questa ne determina il comportamento meccanico. Nei paragrafi 2.1 e 2.2 si analizza il comportamento meccanico del tessuto osseo corticale e trabecolare, mentre nel paragrafo 2.3 si tratta delle cause di tale comportamento.

L'osso è strutturalmente complesso e organizzato in maniera gerarchica, con diversi strati di tessuto che cooperano per soddisfare a requisiti ben precisi. In particolare, le proprietà meccaniche del tessuto e le proprietà geometriche del segmento osseo determinano il comportamento, ovvero le prestazioni, dello scheletro. A causa della sua struttura anisotropa e viscoelastica, l'osso risponde univocamente al variare di entità, direzione e velocità della sollecitazione applicata.

Ai fini dell'analisi del comportamento meccanico di un segmento osseo andremo a considerare separatamente i tessuti corticale e trabecolare, note le loro differenze strutturali e microstrutturali sottostanti.

Si può infatti notare un differente comportamento tra l'osso compatto e quello trabecolare. Quest'ultimo, nonostante abbia il compito di trasferire e distribuire i carichi nell'osso corticale circostante, presenta una rigidità molto inferiore se comparato all'osso corticale. È infatti meno resistente alle sollecitazioni meccaniche e soggetto

a rottura anche per sforzi inferiori ed è proprio per questo che necessita sempre di uno strato di osso compatto più robusto. Vedi figura 2.1.

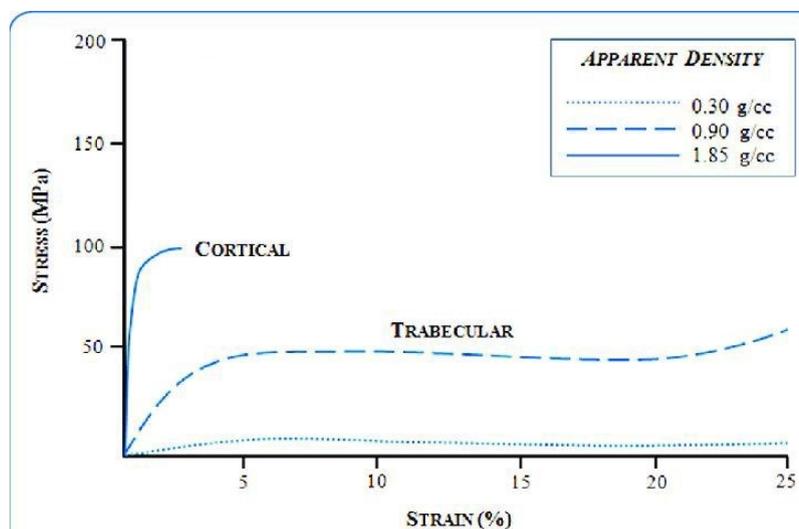


Figura 2.1: curva tensione-deformazione per osso corticale (linea piena) e trabecolare (linea tratteggiata).

Dal grafico risulta evidente come i due tessuti ossei rispondano in maniera significativamente diversa ad uno stimolo meccanico. Mentre per il corticale si osserva una notevole pendenza iniziale della curva (modulo elastico molto elevato), per il trabecolare si ha una caratteristica duttilità (elevata deformazione a rottura).

2.1 Proprietà meccaniche del tessuto corticale

Nell'analisi del comportamento meccanico del tessuto osseo porremo particolare attenzione al tessuto corticale, primo responsabile della resistenza meccanica dell'osso. Le proprietà di tale tessuto vengono principalmente influenzate da diversi fattori come orientamento del carico e posizione, età del soggetto, idratazione del segmento osseo, velocità e durata di applicazione del carico.

Il tessuto osseo corticale può essere pensato come un materiale composito, i cui componenti principali sono idrossiapatite e collagene. I cristalli di apatite hanno elevata resistenza e rigidità, con modulo elastico $E = 165\text{GPa}$, mentre il collagene

ha un modulo elastico che per gli stati deformativi usuali si può considerare pari a $E = 2GPa$. Il modulo elastico complessivo del corticale, ad esempio in direzione longitudinale, è di circa 18 GPa, valore intermedio tra i precedenti.

Il collagene aumenta la duttilità dell'osso, migliorandone il comportamento post-elastico; ciò si traduce in una migliore capacità di assorbimento di urti, dunque in un incremento della tenacità del materiale.

2.1.1 Orientamento del carico e posizione

A causa dell'organizzazione gerarchica microstrutturale del tessuto, costituito da un sistema di osteoni adiacenti disposti parallelamente all'asse del segmento osseo (nel caso di ossa con una direzione preferenziale), si ha una marcata anisotropia. L'osso risponde in maniera diversa se sottoposto a sforzi lungo l'asse principale rispetto ad altre direzioni (vedi figura 2.2). Inoltre, il sistema delle strutture Haversiane è fortemente orientato dal punto di vista spaziale in funzione della posizione nell'osso e del relativo stato meccanico locale. La direzione distale-proximale è quella di maggiore sviluppo di stati tensionali dovute alle differenti sollecitazioni che insistono tipicamente sulle ossa lunghe come femore e tibia.

L'osservazione della struttura in direzioni mutuamente ortogonali, appartenenti al piano trasverso alla direzione distale-proximale, consente di prevedere che il comportamento del tessuto in tale piano sia simile. A causa di questo comportamento, l'osso è noto come materiale "trasversalmente isotropo".

Possiamo inoltre desumere dal grafico che la regione post-elastica si rivela differente a seconda della direzione di carico, in particolare la duttilità risulta maggiore nella direzione longitudinale.

Prove di trazione condotte su campioni di tessuto corticale umano della tibia (Knets et al., 1981) confermano la marcata differenza tra direzione distale-proximale e le direzioni radiale e circonferenziale.

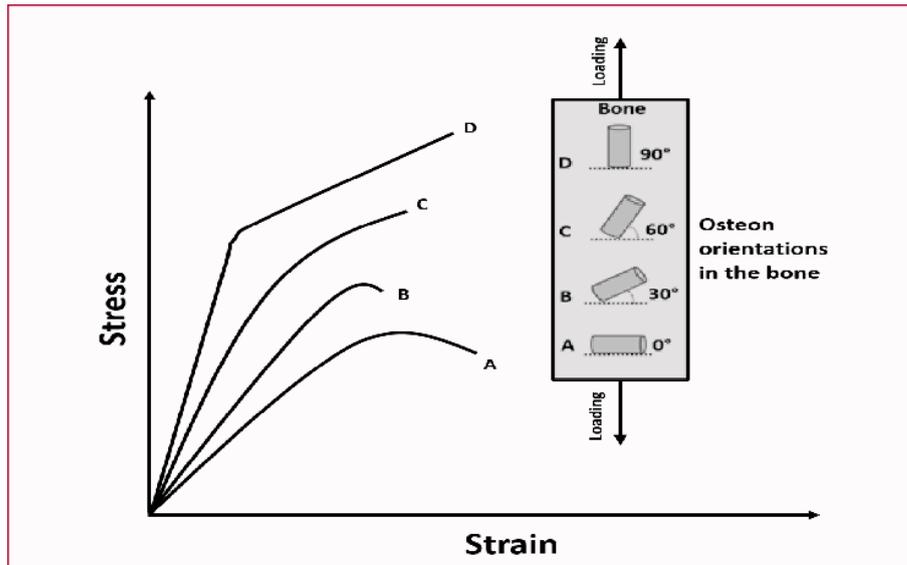


Figura 2.2: curva tensione-deformazione al variare dell'orientamento del carico applicato

modulo elastico di Young	Knets et al. (tibia)
E1	18.4 GPa
E2	6.91 GPa
E3	8.51 GPa

Tabella 2.1: prove di trazione condotte su campioni di tessuto corticale umano della tibia (Knets et al., 1981) .

Lo studio condotto da Knets et al. mette in risalto quantitativamente la differenza nel comportamento del tessuto osseo quando questo viene sollecitato in direzione longitudinale rispetto alle direzioni radiale e circonferenziale. Nel primo caso si misura un modulo elastico E1 pari a 18.4 GPa, molto superiore ai moduli elastici E2 pari a 6.91 GPa e E3 pari a 8.51 GPa, misurati rispettivamente in direzione radiale e circonferenziale, di valore confrontabile.

2.1.2 Età del soggetto

La resistenza meccanica delle ossa dipende, inoltre, dall'età del soggetto. Con l'invecchiamento, infatti, si osserva una diminuzione del modulo elastico osseo, dovuto al rallentamento dei processi fisiologici (mineralizzazione) e, dunque, una riduzione della capacità rigenerativa del tessuto (figura 2.3);

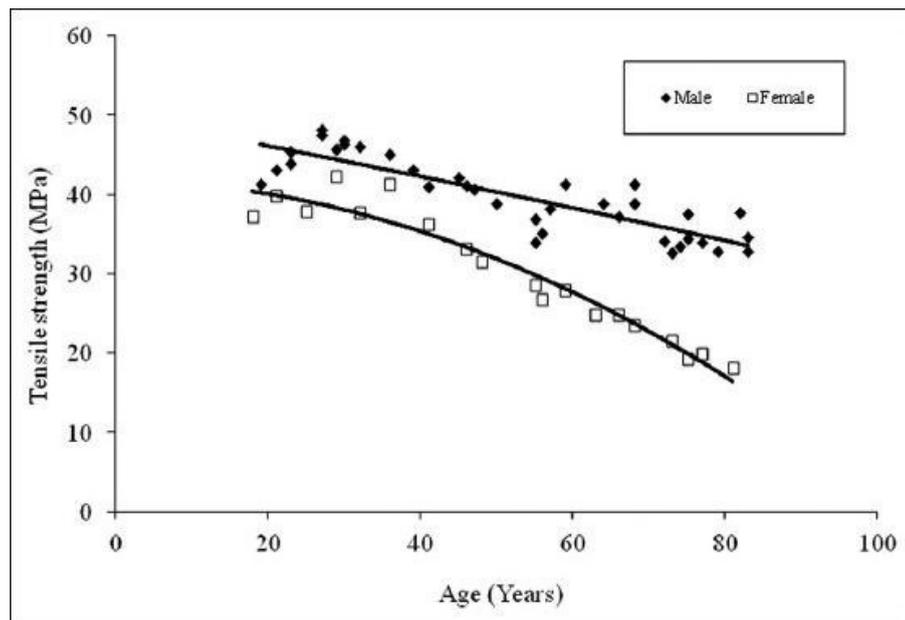


Figura 2.3: resistenza a trazione dell'osso corticale (femore) in funzione dell'età. Valori ottenuti per soggetti di sesso maschile (quadrati pieni) e femminile (quadrati vuoti).

In entrambi i casi osserviamo come i valori ottenuti si dispongono formando due curve decrescenti. Questo conferma che una minore fase minerale nel tessuto osseo determina una riduzione della resistenza meccanica, osservata in soggetti più anziani.

2.1.3 Idratazione

Ulteriore fattore che influenza la risposta meccanica del tessuto osseo è l'idratazione. Al diminuire della frazione liquida si ha un incremento della fragilità del materiale.

Un campione secco segue un andamento elasto-fragile, mentre uno fisiologicamente idratato presenta una estesa zona di plasticità, tipica di un materiale duttile;

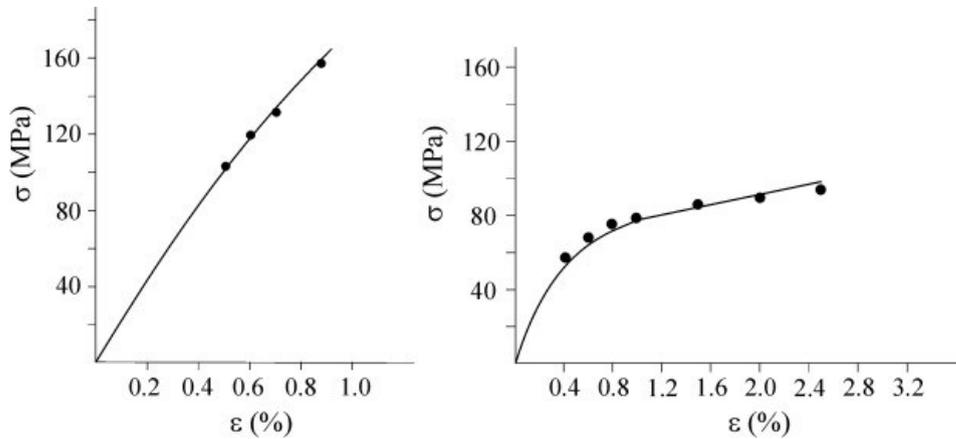


Figura 2.4: curva tensione-deformazione per provino di osso secco (sx) e fisiologicamente idratato (dx).

Si noti come, a parità di deformazione, il provino secco richiede una tensione notevolmente maggiore. Ciò implica che, in una prova di trazione a controllo di deformazione, tale provino raggiungerà il carico di rottura molto prima rispetto ad un provino idratato.

2.1.4 Velocità e durata di applicazione del carico

Note le proprietà viscoelastiche del tessuto osseo, velocità e durata di applicazione del carico influenzano il comportamento meccanico dell'osso. In particolare, con l'aumentare della velocità di deformazione si verifica un aumento della rigidità del tessuto (figura 2.5), mentre l'effetto della durata di applicazione del carico si può valutare con prove di creep ottenute mediante funzioni di carico a gradino.

Le curve tensione-deformazione illustrano la dipendenza della risposta meccanica dalla velocità di deformazione: incrementando la velocità di applicazione della sollecitazione si ottengono curve il cui coefficiente angolare (modulo elastico) risulta maggiore.

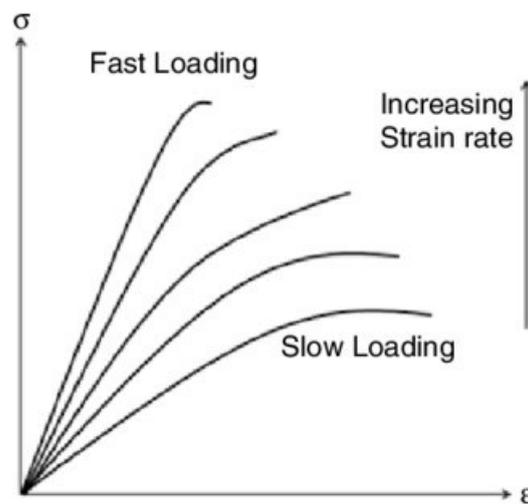


Figura 2.5: curva tensione-deformazione al variare della velocità di applicazione del carico.

2.2 Proprietà meccaniche del tessuto trabecolare

Come accennato in precedenza, il tessuto trabecolare è un particolare tipo di tessuto osseo lamellare, in cui le lamelle ossee sono disposte a formare una sorta di struttura reticolare spaziale. Tale struttura, in continuo rimodellamento, ha il compito di ripartire i carichi caratteristici delle epifisi sul tessuto corticale circostante.

2.2.1 Densità

La densità dell'osso trabecolare risulta essere un importante fattore determinante la resistenza dell'osso stesso. È chiaro come un tessuto poroso sia ricco di spazi "vuoti", fornendo meno sostegno alla struttura nel contrastare le sollecitazioni meccaniche. Si può definire la densità strutturale come la quantità di tessuto osseo contenuta in un dato volume, ottenuta come sottrazione ad un volume di un campione di osso trabecolare il volume dei pori. Tramite prove sperimentali meccaniche, si è infatti osservato come il modulo elastico del tessuto sia funzione lineare di tale densità (Vedi figura 2.6). I valori tipici per la porosità vanno dal 5-10% per l'osso corticale al 50-95% per l'osso trabecolare

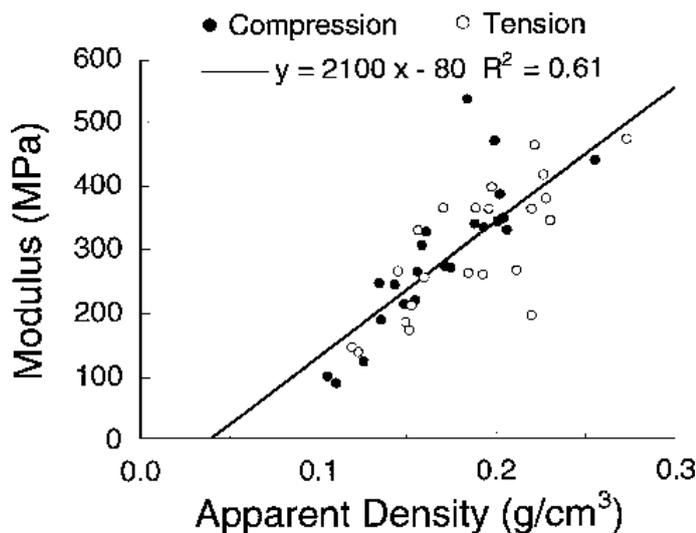


Figura 2.6: Valori dei moduli elastici, ricavati in compressione e trazione, al variare della densità dell'osso trabecolare

Nello specifico, il grafico riporta i moduli elastici combinati di compressione e trazione per campioni vertebrali umani, al variare della densità trabecolare, ottenuti mediante test meccanici in direzione superiore-inferiore. Si osserva come i risultati sperimentali si allineino, con una certa dispersione, lungo una retta.

Osteoporosi

In tutte le fasi della vita, l'osso subisce un fisiologico processo di rimodellamento in cui il tessuto scheletrico vecchio e danneggiato viene rimosso dagli osteoclasti e il nuovo osso viene riformato dagli osteoblasti. Con l'avanzare dell'età, l'attività degli osteoclasti tende ad essere maggiore di quella degli osteoblasti ed infatti l'invecchiamento fisiologico si accompagna ad una certa perdita di massa ossea. L'osteoporosi si sviluppa quando questa perdita diventa eccessiva e patologica a causa di un'attività di riassorbimento osseo persistente e dominante rispetto a quella di neoformazione. La patologia determina, quindi, sia una minore quantità di minerali nelle ossa, sia una aumentata porosità del tessuto (la parola "osteoporosi" significa, letteralmente, "osso poroso"). Ne consegue una netta diminuzione del modulo elastico dell'osso ed un'elevata comparsa di micro-fratture, con la possibilità di estensione in fratture ossee.

In figura 2.7 la differenza, a livello microstrutturale, di campione sano e affetto da osteoporosi.

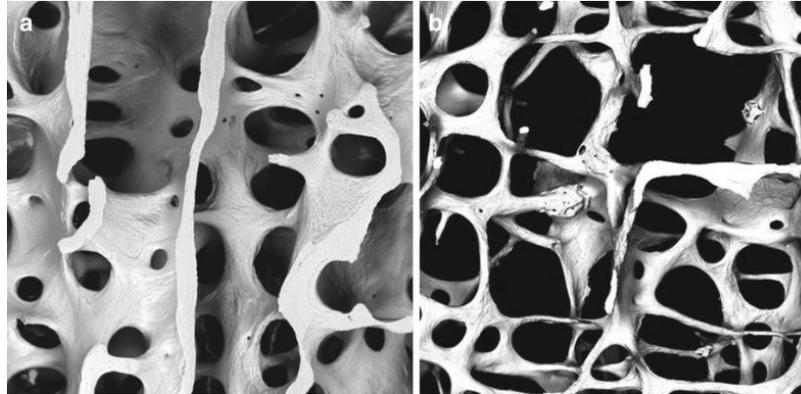


Figura 2.7: microstruttura di tessuto trabecolare sano (sx) e patologico da osteoporosi (dx)

Come appare evidente, le trabecole del tessuto sano risultano essere più grosse e ben definite rispetto al tessuto patologico, la cui struttura è notevolmente più porosa e fragile.

2.2.2 Meccanismi di danno

Il danno e la riparazione delle singole trabecole rappresentano la normalità di un processo fisiologico che sta alla base del rimodellamento osseo. È proprio grazie a questo meccanismo che il tessuto osseo è in continua ottimizzazione in termini di peso e resistenza, con la formazione di nuove trabecole nella direzione delle tensioni principali.

È possibile individuare quattro tipologie di danno delle trabecole, ciascuna in corrispondenza della tipologia di carico applicato:

- frattura trasversale;
- banda di taglio;
- frattura parallela;

- rottura completa

La rottura delle singole trabecole tende ad aumentare con l'età del soggetto e può attribuirsi a fenomeni di fatica (accumulo di danno per carichi ciclici), causando l'aumento del fattore di rischio di fratture per soggetti anziani o affetti da osteoporosi.

Prelievi di tessuto osseo trabecolare in soggetti di età differente mostrano come vi sia una relazione esponenziale tra età del soggetto e densità di micro-fratture, dove tale densità è misurata come il numero di fratture visibili per unità di area della sezione apparente.

2.3 Cause del comportamento meccanico

I carichi fisiologici sono tipicamente caratterizzati da una combinazione di sollecitazioni esterne tra le quali tensione, compressione, torsione e/o flessione. Le ossa rispondono a queste forze deformandosi rispettivamente attraverso processi come allungamento, accorciamento e flessione. Finché le sollecitazioni esterne rimangono sufficientemente basse, sussiste una relazione lineare tra carico e deformazione. In queste condizioni di "elasticità", l'osso si comporta come una molla, tornando alla sua forma originale una volta scaricato. La resistenza strutturale dell'osso può essere misurata attraverso il rapporto tra il carico applicato e la deformazione risultante. Una volta che lo sforzo supera una certa soglia (punto di snervamento), si verifica un danno permanente e la relazione carico-deformazione diventa non lineare. Il significato fisico del carico di snervamento può essere inteso come il punto in cui iniziano, all'interno del tessuto, le deformazioni permanenti o plastiche. Nonostante questo danno si accumuli, l'osso continua a sopportare un carico crescente fino alla sua resistenza massima, momento in cui si verifica un cedimento catastrofico della struttura (frattura ossea). Vedi figura 2.8.

Alla luce di ciò che è stato introdotto, andremo ora ad analizzare le cause del comportamento meccanico del tessuto osseo corticale, partendo dalla microstruttu-

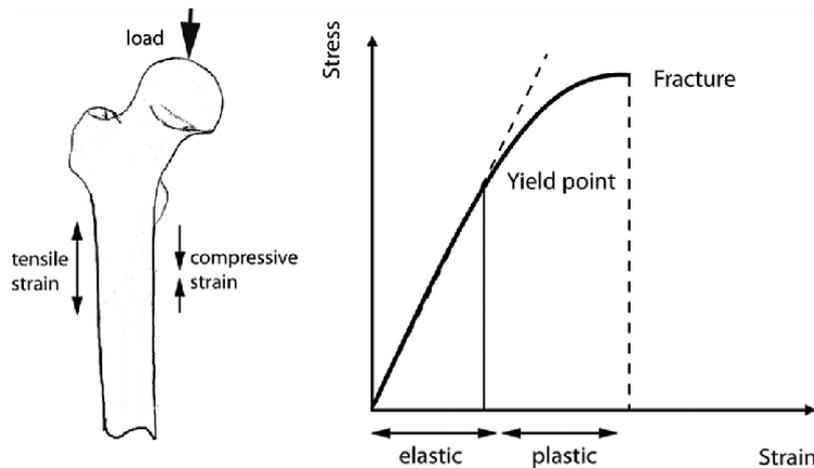


Figura 2.8: curva tipica sforzo-deformazione, con distinzione tra regione elastica e plastica. La pendenza della curva rappresenta il modulo elastico dell'osso.

ra, in particolare dalle proprietà meccaniche dei materiali costituenti l'osso e dalla loro architettura. Ipotizzando di svolgere una prova di trazione su un provino osseo, correliamo la risposta meccanica misurata con l'evoluzione di tale microstruttura. Nel momento in cui si misura una effettiva deformazione del tessuto, si può affermare che le fibre di collagene, costituenti le lamelle del tessuto osseo corticale e trabecolare, subiscono un allungamento per trazione. Queste, composte da cristalli di idrossiapatite, sviluppano una grande resistenza meccanica, determinando l'elevata pendenza iniziale della curva sforzo-deformazione, ancora in campo elastico. Nota la composizione del tessuto osseo (Capitolo 1), è importante, ai fini dell'analisi del comportamento meccanico, considerare le proprietà del collagene I, brevemente riassunte in tabella 2.2, e successivamente illustrate per mezzo del grafico in figura 2.9.

Proprietà fibre di collagene	
Modulo elastico (MPa)	1000-1500
Sforzo a rottura (MPa)	50-100
Allungamento a rottura (%)	10
Limite elastico (%)	1-2

Tabella 2.2: tabella riassuntiva delle proprietà del collagene I.

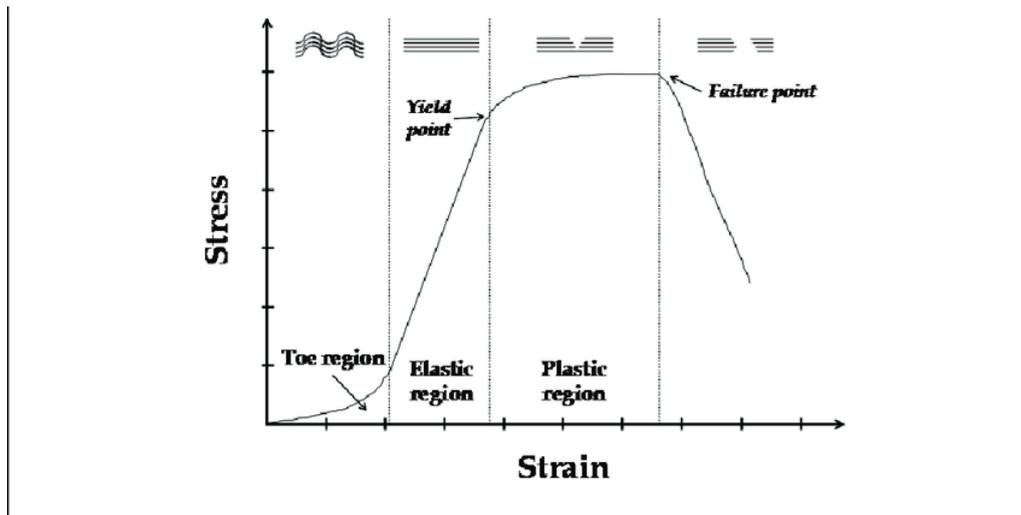


Figura 2.9: curva indicativa sforzo-deformazione per il collagene, con suddivisione in regione non lineare, elastica e plastica e relativa illustrazione schematica delle fibre. Nella prima fase dell'allungamento le fibre hanno modesta capacità di resistere ai carichi. Una volta distese, le catene presentano migliori proprietà meccaniche. Vengono inoltre indicati i punti di snervamento e rottura.

Sapendo che il tessuto osseo (corticale) ha un modulo elastico medio, se misurato per le ossa lunghe in direzione longitudinale, pari a circa 18 GPa, notiamo come questo sia di gran lunga superiore a quello misurato per il collagene (1-1,5 GPa). Questa differenza è dovuta al fatto che nel tessuto osseo le fibre di collagene sono attorniate da cristalli di idrossiapatite. Per questo motivo spesso si parla di analogia con materiali compositi, in cui si riconoscono una matrice ed elementi strutturali con direzione preferenziale (fibre).

È noto, inoltre, come sia il modulo elastico sia la resistenza alle fratture aumentino con la quantità di fase minerale deposta nel tessuto.

Proseguendo con la prova meccanica ed imponendo una deformazione maggiore sul campione, le lamelle, assieme agli osteoni, sono forzate a scorrere tra di loro, fenomeno responsabile di deformazione plastica. Inoltre, mentre la deformazione procede, avviene una riorganizzazione delle componenti liquide dell'osso, causa di risposte meccaniche differenti a seconda della velocità di applicazione del carico, meccanismo alla base di fenomeni viscoelastici.

Dunque, i fenomeni che avvengono all'interno del tessuto, su scala dimensionale decrescente, responsabili di tale risposta meccanica sono:

- movimento delle componenti liquide;
- scorrimenti tra osteoni;
- scorrimenti tra lamelle;
- allungamento delle fibre di collagene;

2.4 Modellamento e rimodellamento osseo

Nel capitolo 1 si è descritto come l'osso, un tessuto apparentemente inerte, sia costituito oltre che da un'abbondante matrice inorganica, anche da una componente organica. Questa, seppur in minoranza, è alla base di importanti processi chimici e fisici che consentono il "rimodellamento osseo", definito come il processo continuo di adattamento strutturale dell'osso alle sollecitazioni provenienti dall'esterno, per avere sempre una struttura adatta alle reali necessità biomeccaniche di quello specifico soggetto. Si tratta dunque di un meccanismo di adattamento meccanico-funzionale, stimolato dalla variazione di condizioni ambientali, tra cui identifichiamo principalmente sollecitazioni meccaniche, fattori ormonali, fattori genetici, fattori nutrizionali.

A questo proposito cito la legge di Julius Wolff, che recita:

"Ogni cambiamento nello stato funzionale del tessuto osseo ne determina variazioni nell'architettura interna e nella conformazione esterna, in accordo con quelle che possono essere leggi matematiche".

Alla base di tale legge vi sono tre concetti chiave:

- rigidità e resistenza sono ottimizzate rispetto al peso;
- le trabecole sono orientate spazialmente secondo le linee delle direzioni principali di tensione;
- l'adattamento funzionale dell'osso è dovuto ad un processo biologico;

Modellamento

Il modellamento è quel processo che avviene durante la crescita di un individuo (si può pensare che comincia alla nascita e termina circa a 18 anni di età) e in seguito ad una frattura ossea. Influenza le dimensioni e la forma di ciascun segmento osseo, interrompendosi alla fine della crescita della struttura scheletrica. Questo processo permette all'osso di crescere e spostarsi nello spazio in modo che lo scheletro possa adattarsi sulla via dell'età adulta. La modellazione è cruciale per le ossa perché, negli anni della modellazione, si sviluppa il picco della massa ossea, indicatore significativo del rischio di fratture in età avanzata.

Rimodellamento

A differenza del modellamento, il rimodellamento avviene in continuo durante tutta la vita di un individuo. Determina densità, mineralizzazione e organizzazione strutturale dell'osso e rappresenta la combinazione bilanciata dei processi di deposizione di nuovo osso e riassorbimento.

2.4.1 Rimodellamento osseo

Il rimodellamento rappresenta la risposta dell'organismo vivente ad una variazione dello stato funzionale del tessuto, innescando processi agenti su scala cellulare, che determinano:

- la riorganizzazione dell'architettura micro-strutturale e macro-strutturale degli elementi scheletrici;
- l'ottimizzazione della configurazione tessutale nei confronti delle richieste dettate dalla funzione da espletare;

Essendo che variazioni dello stato funzionale possono essere determinate da variazioni nell'applicazione dei carichi, e variazione del carico significa variazione nel campo delle tensioni e delle deformazioni, si può pensare che la variazione nello stato deformativo sia parametro valido per valutare l'effettivo stimolo per i processi di

rimodellamento.

Ad una intensificazione dello stato deformativo corrisponde quindi la deposizione di nuovo tessuto osseo, con conseguenze sia su scala microscopica (incremento della densità del tessuto) sia su scala macroscopica (incremento della configurazione geometrica). Al contrario, la dis-intensificazione dello stato deformativo determina il riassorbimento di tessuto osseo, con conseguente diminuzione della densità del tessuto e riduzione della configurazione geometrica. È quindi possibile identificare due tipologie di rimodellamento: rimodellamento interno ed esterno. Mentre il primo è proprio della microstruttura, determinando variazioni nella densità del tessuto e nella disposizione degli elementi costitutivi, il secondo, che agisce su dimensioni e geometria dei singoli elementi, è alla base della riorganizzazione macro-strutturale. Affinché vengano attivati i meccanismi di deposizione e riassorbimento osseo, è necessario che gli stimoli meccanici vengano convertiti in stimoli biologici. Questo è possibile per la presenza degli osteociti, le cellule mature del tessuto osseo, che fungono da veri e propri trasduttori nella catena di meccano-trasduzione del tessuto osseo. Tali cellule sono in grado di percepire variazioni dello stato deformativo, attivando a loro volta, a seconda dello stimolo, osteoblasti e osteoclasti. In particolare, la dis-intensificazione dello stato deformativo comporta l'attivazione degli osteoclasti, i quali attaccano la matrice ossea mineralizzata che viene metabolizzata e immessa nel sistema circolatorio (riassorbimento). Viceversa, l'intensificazione dello stato deformativo determina, da parte degli osteociti, l'attivazione degli osteoblasti che vengono richiamati in superficie per depositare collagene, cui segue la fase di mineralizzazione (deposizione).

È possibile definire una condizione di equilibrio di rimodellamento, in cui non sussiste effettiva differenza tra deposizione e riassorbimento. Si parla in questo caso di "equilibrio dinamico". Non appena si ha una alterazione di tale equilibrio prevale l'azione di uno dei due fra osteoclasti e osteoblasti, determinando l'effettivo riassorbimento o deposizione. Il processo di riassorbimento/deposizione si arresta quando vengono nuovamente raggiunte le condizioni di equilibrio di rimodellamento.

Stimolo meccanico

Nel considerare il processo di rimodellamento, inteso come la risposta adattiva del tessuto osseo ad una variazione del proprio stato funzionale, è importante evidenziare che non è lo stato deformativo istantaneo a costituirne lo stimolo meccanico, bensì la storia dello stato deformativo. È inoltre lecito supporre che solo la parte più recente di tale storia influenzi il rimodellamento in corso.

Diversi elementi scheletrici sono adibiti allo svolgimento di compiti di natura strutturale diversa, ne consegue che l'equilibrio di rimodellamento è caratteristico dello specifico elemento scheletrico. Non solo, poiché ciascun elemento scheletrico, sotto deformazione, presenta un campo deformativo non uniforme. Si può quindi affermare che l'equilibrio di rimodellamento risulta essere caratteristico sia dello specifico elemento, sia della specifica posizione entro l'elemento scheletrico.

Oltre allo stimolo meccanico esistono altri fattori in grado di influenzare il processo di rimodellamento, come fattori genetici, fattori ormonali, fattori metabolici, età.

In seguito, in figura 2.10, presento la legge di Davy e Hart (1980) sull'adattamento funzionale del tessuto osseo nel processo di rimodellamento.

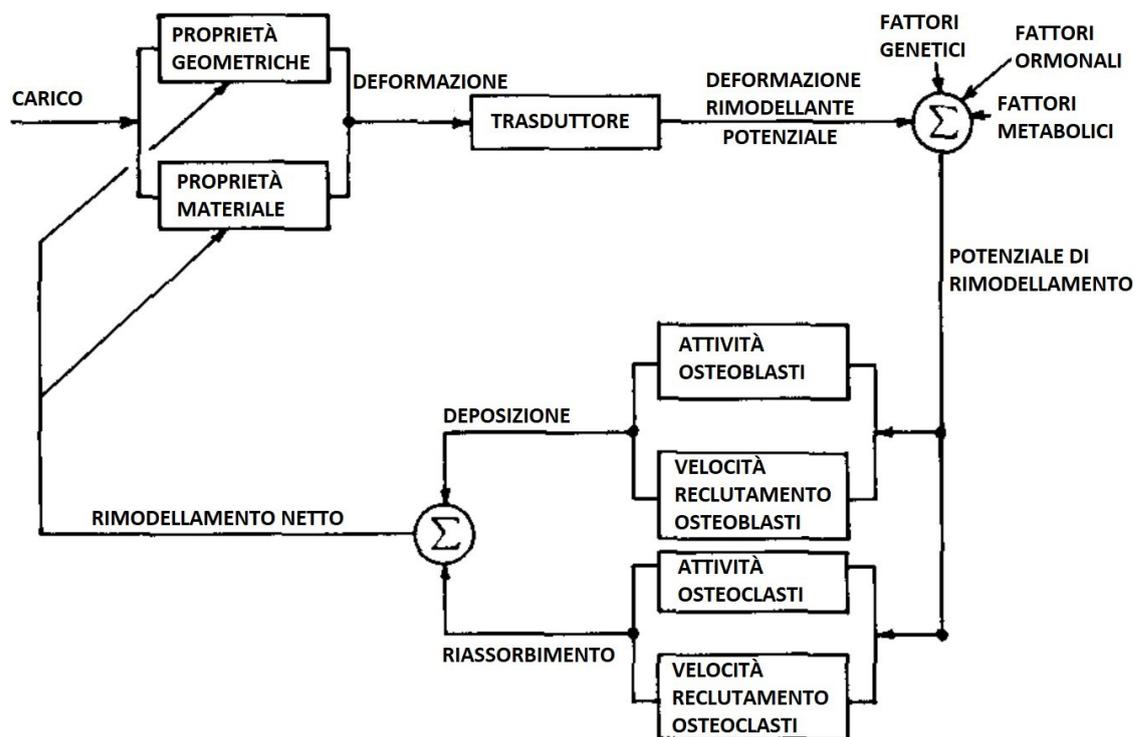


Figura 2.10: Legge di Davi e Hart

Capitolo 3

Materiali e metodi

Ai fini dello studio del comportamento del tessuto osseo è stata svolta una serie di prove sperimentali su provini ottenuti da osso corticale animale. Il capitolo si occupa di presentare la tipologia di prova meccanica implementata in questo lavoro scientifico (paragrafo 3.1) e la tecnica utilizzata per l'analisi delle deformazioni (paragrafo 3.2). Nel paragrafo 3.3 viene poi illustrata la procedura seguita per l'estrazione e la preparazione dei provini ossei, infine viene descritto il protocollo utilizzato per l'esecuzione delle prove sperimentali (paragrafo 3.4).

3.1 Prova di trazione

La prova di trazione è una prova di caratterizzazione meccanica molto importante, poiché consente di misurare la resistenza a rottura di materiali sottoposti ad un processo di allungamento. In una prova di questo tipo un campione viene tipicamente tirato fino al punto di rottura per determinare la resistenza a trazione massima del materiale. Durante tutta la prova vengono costantemente misurati l'intensità della forza applicata al campione (F) e l'allungamento (ΔL) del campione.

La prova di trazione serve a determinare diverse caratteristiche del materiale in esame, tra cui la resistenza meccanica (R_m), il modulo di Young o modulo di elasticità (E), il modulo di Poisson (ν), il carico unitario di snervamento (Y_s , "yield strength"), l'allungamento percentuale.

Le proprietà dei materiali sono spesso espresse in termini di tensione nominale (forza per unità di area iniziale, σ_0) e deformazione (variazione percentuale della lunghezza, E). Per ottenere la tensione nominale, si divide la forza misurata dalla cella di carico della macchina per l'area della sezione trasversale del campione. I valori di deformazione si ottengono invece dividendo la variazione di lunghezza per la lunghezza iniziale del campione. Questi vengono quindi presentati in un grafico detto curva sforzo-deformazione. Per ottenere il vero valore della tensione meccanica, bisogna tenere conto della variazione della sezione effettiva, che si riduce per effetto del carico di trazione.

$$\sigma_0 = \frac{F}{A_0} \quad \text{tensione nominale}$$

$$E = \frac{\Delta L}{L_0} \quad \text{deformazione}$$

In figura 3.1 viene illustrata una tipica macchina utilizzata per effettuare prove di trazione. È possibile distinguere il telaio, le due traverse (quella fissa alla base, quella mobile al centro), la cella di carico, gli afferraggi, il provino e un sistema di acquisizione dati.

Mentre l'allungamento del provino si può pensare essere dedotto dalla posizione della traversa mobile, la tensione viene calcolata da misure di forza ottenute per mezzo della cella di carico. La cella di carico è un componente che misura forze applicate in specifiche direzioni, differenziandosi a seconda della capacità di carico. La scelta di una cella con una capacità inferiore al carico di rottura del materiale testato comporterà il danneggiamento del sensore stesso prima della rottura del campione. Al contrario, una cella con una capacità troppo elevata porterà a risultati di test che potrebbero non avere la precisione desiderata. Le forze misurabili solitamente sono comprese in un range che va da 10^{-2} N a 100 kN. La cella è un sistema composto da un elemento elastico (acciaio o alluminio), sul quale sono posizionati degli estensimetri, che determinano quindi la misura finale in termini di deformazione.

MACCHINA UNIVERSALE PER PROVA DI TRAZIONE

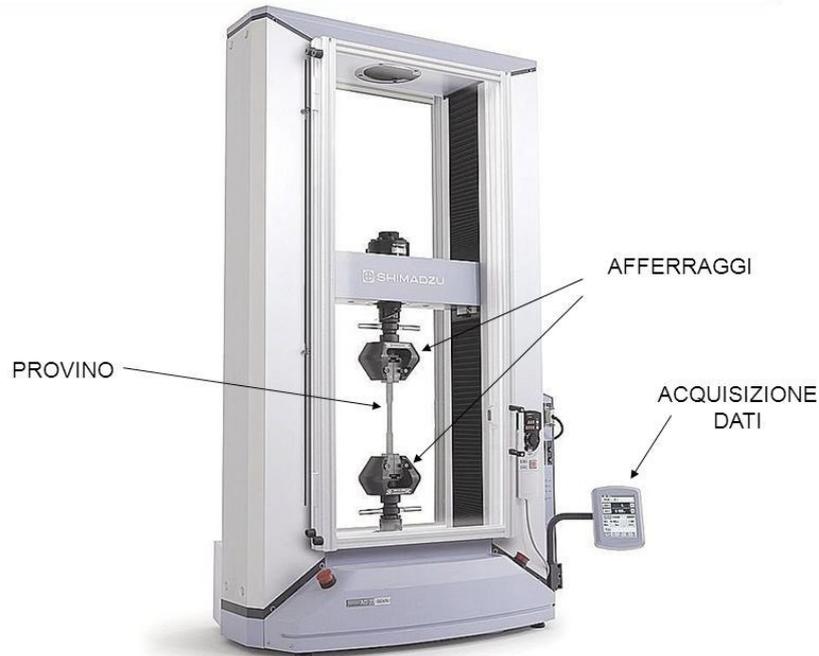


Figura 3.1: Macchina universale per prova meccanica di trazione.

3.1.1 Curva di trazione

Durante questa tipologia di prova meccanica, viene imposto al provino un carico mono-assiale sempre più elevato, innescando un processo di deformazione che si sviluppa attraverso le seguenti fasi:

- comportamento elastico:

Inizialmente, quando il carico ha un valore basso, il materiale si allunga elasticamente ovvero può riprendere la sua lunghezza originaria se il carico torna a zero. La curva segue, infatti, un andamento lineare rappresentato dalla legge di Hooke, in cui la costante di proporzionalità E è il modulo elastico (modulo di Young).

$$\sigma_0 = E \cdot \epsilon \quad \text{legge di Hooke}$$

$$E = \frac{\sigma_0}{\epsilon} \quad \text{modulo di Young}$$

- snervamento:

Nella seconda fase, il comportamento del materiale non è più lineare. Aumen-

tando il valore di carico, si registra la formazione di “microcricche” che portano ad una caduta della resistenza del materiale. Spesso il limite di snervamento non è facilmente identificabile dalla curva sforzo-deformazione. In tal caso, la sollecitazione che comporta transizione da comportamento elastico a comportamento plastico si definisce convenzionalmente sulla base della deformazione plastica fissata ad un certo valore (tipicamente $E = 0.2\%$)

- comportamento plastico:

In questa terza fase, la deformazione entra in campo plastico, per cui anche azzerando il carico, il provino manterrà una lunghezza maggiore rispetto a quella originale, recuperando solo una frazione della deformazione totale (la deformazione elastica). Qualora il carico venisse nuovamente applicato, la curva di carico coinciderà perfettamente con la curva di scarico e le condizioni di snervamento ricominceranno in corrispondenza del punto in cui era iniziato lo scarico.

Inizialmente tale deformazione risulta uniforme, ossia l’allungamento interessa tutta la lunghezza del provino e contemporaneamente si ha una diminuzione uniforme della sezione (incrudimento) fino al raggiungimento di un valore massimo, detto "Resistenza ultima alla trazione". Nel caso in cui il materiale sia caratterizzato da un tratto marcato di scorrimento perfettamente plastico, il comportamento può essere schematizzato da due tratti lineari. Si trascurano le differenze tra snervamento superiore ed inferiore e l’eventuale limitato effetto di incrudimento.

- strizione:

Nella quarta e penultima fase, una piccola parte del provino si allunga, diminuendo velocemente la sezione trasversale (“necking”).

É possibile determinare il coefficiente di strizione, misurato dal rapporto, espresso in percentuale, tra la differenza delle aree della sezione utile iniziale S_0 e della sezione minima S_u dopo rottura, e la sezione utile iniziale S_0 :

$$Z = 100 \cdot \frac{S_0 - S_u}{S_0} [\%]$$

Il valore del coefficiente di strizione é un indice della duttilità del materiale: tanto più piccolo é il valore di S_u , tanto più elevato é il valore del coefficiente di strizione Z , tanto più duttile é il materiale.

- rottura:

Dopo il fenomeno di strizione si produrrà una cricca che, propagandosi velocemente, porterà il provino alla rottura in corrispondenza al raggiungimento dello stress di rottura.

Osservando una curva di trazione (vedi figura 3.2) si nota una diminuzione dello stress dopo la strizione fino alla rottura. Questo avviene per il fatto che, a seguito della riduzione della sezione, è richiesta una forza inferiore per mantenere una certa velocità di deformazione. Lo stress viene infatti calcolato in base al valore costante dell'area A_0 del provino indeformato, non tenendo quindi in considerazione che questa sta diminuendo rapidamente (in realtà la tensione percepita dal materiale continua ad aumentare). Dunque è possibile spiegare come mai apparentemente il provino si rompe sotto uno sforzo di rottura inferiore a quello per cui si verifica la strizione.

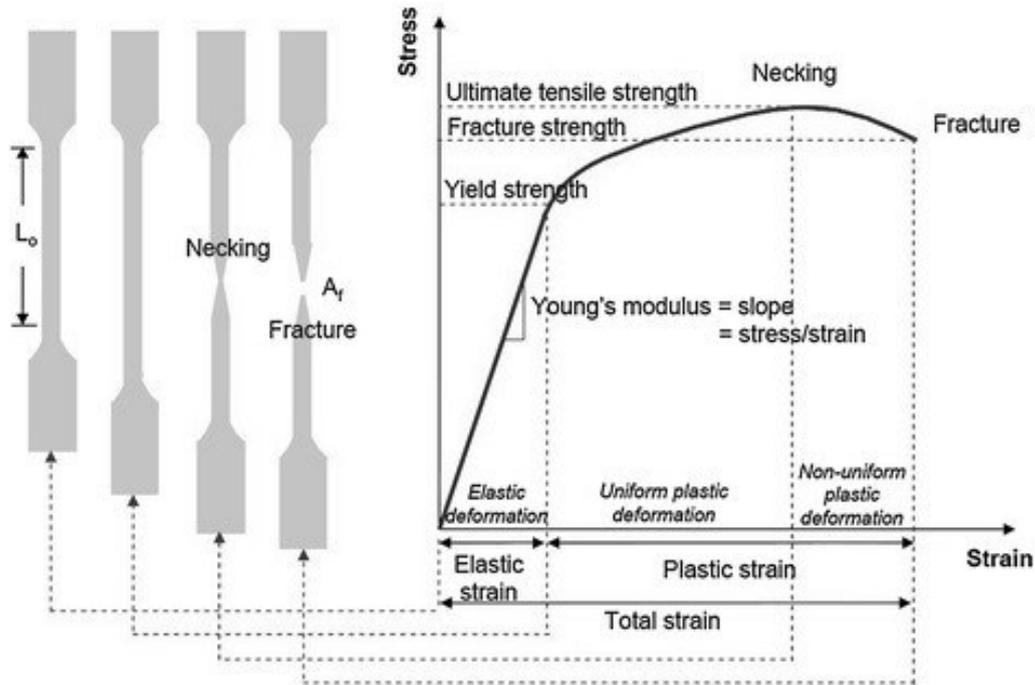


Figura 3.2: curva di trazione, con evidenziati in particolare la deformazione elastica, il punto di snervamento, la deformazione plastica, la strizione e la rottura. Si può inoltre verificare come per ogni porzione della curva corrisponda uno stato ben preciso del provino (a sinistra), il quale si allunga ed è soggetto alla strizione, fino a rottura.

Grazie, pertanto, alla prova di trazione, è possibile una registrazione completa (diagramma sforzo-deformazione) di come il componente reagisce alla forza di carico applicata, passando da un valore nullo fino ad un valore massimo ("Ultimate Tensile Strength"). Nella curva sforzo-deformazione l'UTS è il punto più alto ed indica lo sforzo massimo che un materiale può sopportare prima di rompersi.

Data $s(e)$, curva sforzo-deformazione per una prova di trazione, definiamo:

Resilienza: $w_u = \int_0^{e_y} s(e) de$

Tenacità: $w_t = \int_0^{e_u} s(e) de$

dove e_y e e_u rappresentano, rispettivamente, la deformazione elastica e la deformazione a rottura del provino nella prova di trazione.

Mentre la resilienza è la capacità del materiale di assorbire energia nel campo elastico, la tenacità è una misura dell'energia associata al lavoro meccanico che si deve

compiere per arrivare alla rottura del materiale.

Classificazione delle prove meccaniche a trazione

Le prove di trazione possono essere classificate in base alle sollecitazioni imposte, alla deformazione risultante e agli effetti indotti sul materiale o dispositivo:

In base alle sollecitazioni	
Prova statica/quasi statica	
Prova dinamica	
Prova ciclica	
Prova a fatica	

In base alle deformazioni	In base agli effetti
Prova elastica	Prova distruttiva
Prova plastica	Prova non distruttiva

Il test meccanico, inoltre, può essere condotto in tre modalità differenti. Viene definita prova a controllo di spostamento quando si misura il carico facendo variare la posizione della traversa mobile. Differenti sono invece le prove a controllo di deformazione e a controllo di forza, le quali considerano come variabile indipendente, rispettivamente, la deformazione misurata nella porzione centrale del provino e la forza misurata dalla cella di carico. In tutti e tre i casi vengono registrati i valori di spostamento, deformazione e forza per ogni istante campionato.

A livello Europeo, le modalità di esecuzione delle prove di trazione sono fissate dalle normative UNI EN 10002. La norma UNI EN 10002/1 afferma che la prova di trazione statica, effettuata a temperatura costante, consiste nel sottoporre una provetta ad un carico di trazione applicato con una certa velocità d'incremento fino a provocare la rottura, allo scopo di determinare le caratteristiche di resistenza, elasticità, deformabilità.

3.1.2 Provini per i test meccanici

Le prove meccaniche forniscono indicazioni riguardo l'attitudine di un materiale a resistere a sollecitazioni esterne che tendono a deformato. Per la realizzazione di tali prove, in genere, si utilizzano provini con una forma specifica, detta ad "osso di cane". Questa presenta due estremità, più estese, sulle quali agiscono gli afferraggi della macchina, e una zona centrale. È molto importante implementare questa tipologia di provino in una prova a trazione, in quanto distribuisce omogeneamente le forze nella zona di misura centrale, evitando la rottura del provino in corrispondenza delle estremità, su cui agiscono tensioni maggiori.

Le caratteristiche meccaniche sono dedotte mediante prove standardizzate. Gli standard, la cui applicazione garantisce la ripetibilità della prova, mirano a definire delle specifiche relative a diversi aspetti: geometria dei provini, modalità di applicazione del carico e condizioni fisiche e chimiche. Riconosciamo normative nazionali (UNI), normative europee (EN) e normative internazionali (ISO). Sebbene il rispetto di linee guida risulti importante ai fini della sperimentazione, bisogna essere consapevoli che per i tessuti biologici, caratterizzati da una variabilità intrinseca della morfologia e della struttura, è possibile ottenere risultati legati alla morfologia di ciascun campione.

In generale, si hanno:

- provini proporzionali;
- provini non proporzionali;

Tali provini possono avere sezione circolare (vedi figura 3.3) o rettangolare (vedi figura 3.4). In essi si possono distinguere un tratto a sezione costante L_c , all'interno del quale si individua il tratto utile L_0 , e due teste (afferraggi), opportunamente raccordati per evitare l'insorgere di sovrasollecitazioni.

Le norme UNI prescrivono l'impiego "normale" di provette proporzionali, che soddisfano un rapporto costante fra l'area della sezione iniziale S_0 e la lunghezza L_0 del tratto utile fra i riferimenti. Si ha quindi la seguente relazione:

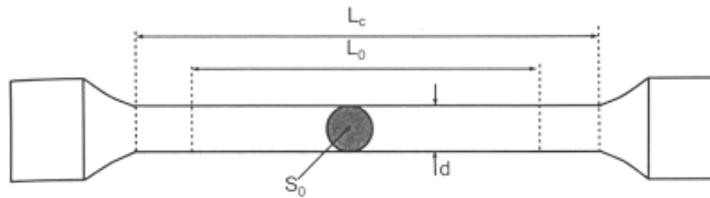


Figura 3.3: Provino a sezione circolare.

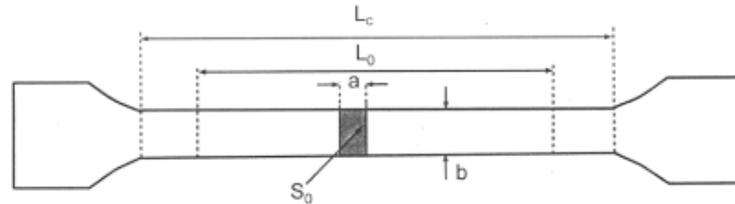


Figura 3.4: Provino a sezione rettangolare.

$$L_0 = K \sqrt{S_0}$$

Per $K = 5.65$ si parla di "provini corti"; Per $K = 11.3$ si parla di "provini lunghi". Vale inoltre la seguente relazione, che pone un limite inferiore alla lunghezza del tratto a sezione costante L_c :

$$L_c \geq L_0 + \frac{d}{2} \quad (\text{provini a sezione circolare})$$

$$L_c \geq L_0 + 1.5 \sqrt{S_0} \quad (\text{provini a sezione rettangolare})$$

3.2 Misura delle deformazioni

La deformazione è l'azione o il processo di deformazione o distorsione. Quando una forza viene applicata a un oggetto, l'oggetto si comprime o si allunga come risposta alla forza. In meccanica, la forza applicata a un'area unitaria è chiamata tensione o stress. L'estensione dello stretching o della compressione (come risposta allo stress) è detta deformazione o strain. Ogni materiale risponde in modo diverso allo stress, a causa del tipo di legame chimico della sostanza. Le deformazioni possono essere elastiche o plastiche in base alle conseguenze che avvengono nella microstruttura del tessuto. La deformazione elastica, legata allo stato di sollecitazione dalla legge di Hooke $\sigma = E \cdot \epsilon$, scompare dopo la rimozione delle forze esterne che causano

l'alterazione e lo stress ad esso associato. La deformazione plastica è una deformazione permanente o un cambiamento di forma di un corpo solido senza frattura sotto l'azione di una forza sostenuta. La principale differenza tra le due si ha nella reversibilità della deformazione elastica, contrariamente a quella plastica. La causa di tale differenza risiede nella struttura del materiale a livello atomico dopo l'applicazione della sollecitazione: mentre la prima determina solo stretching e flessione dei legami chimici, la seconda comporta anche la rottura di alcuni di essi.

Come già anticipato, l'analisi della curva di trazione (vedi figura 3.5), costruita a partire da misure di forza e deformazione, fornisce importanti informazioni riguardo l'evoluzione della prova meccanica.

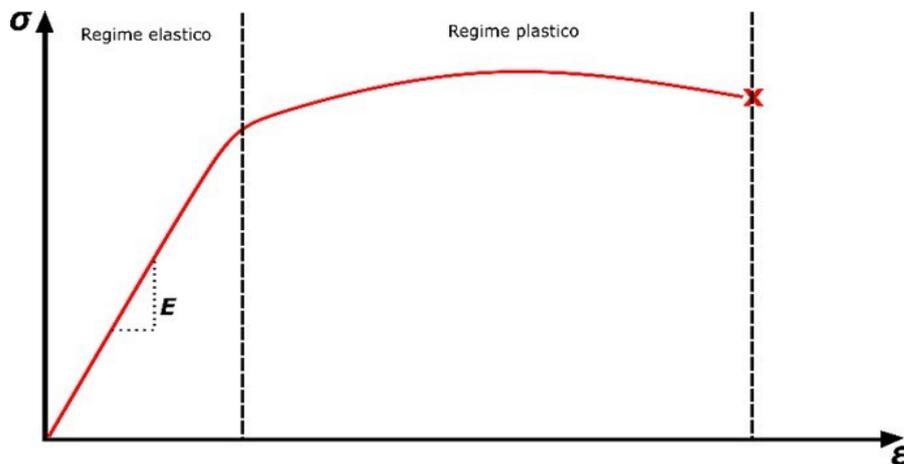


Figura 3.5: Illustrazione di modello di curva di trazione, suddivisa in regime elastico e plastico.

Le misure di forza, trasformate poi in tensione, vengono determinate dal sensore contenuto nella cella di carico, mentre le misure di deformazione solitamente si calcolano tramite l'implementazione di tecniche ottiche o estensimetriche. Come già visto, la deformazione viene espressa in termini di variazione di lunghezza per unità di lunghezza, ovvero:

$$E = \frac{\Delta L}{L_0} \quad \text{deformazione nominale (ingegneristica)}$$

È però possibile definire un'ulteriore misura di deformazione, detta logaritmica:

$$E_l = \ln \frac{L}{L_0} = \ln(1 + e) \quad \text{deformazione logaritmica (naturale)}$$

dove L_0 è la lunghezza indeformata, L è la lunghezza corrente (deformata) e ΔL è l'allungamento. Trattandosi di un rapporto tra grandezze omogenee, in entrambi i casi non si ha unità di misura.

È evidente come l'analisi della posizione della traversa mobile della macchina possa fornire misure di spostamento (e , di conseguenza, deformazione) solamente nella direzione di moto della traversa stessa, includendo inoltre errori di misura causati dai giochi meccanici presenti nelle giunzioni dei membri costituenti la macchina (ad esempio il gioco tra i filetti degli afferraggi ancorati alle traverse) e dalla leggera flessione delle traverse stesse. Proprio per questi motivi, ai fini di misurare le deformazioni che si sviluppano all'interno dei provini utilizzati per questo lavoro di tesi, si utilizzano tecniche più accurate. La scelta del metodo più idoneo dipende dalle caratteristiche dei materiali investigati (ci sono metodi per materiali rigidi e metodi per materiali altamente deformabili).

La misura delle deformazioni è un'attività sperimentale che, nella maggior parte dei casi, viene effettuata tramite estensimetri, i quali, pur fornendo una misura molto accurata, consentono di ottenere valori di deformazione puntuali, localizzati nella zona dove è stato installato il sensore. Per avere una misura estensiva delle deformazioni di un componente occorre quindi utilizzare altre tecniche come, ad esempio, la correlazione digitale di immagini. La grossa potenzialità, compatibilmente con i requisiti di tale tecnica, è quella di fornire, oltre alla ricca informazione contenuta nella mappa di spostamento (e quindi deformazione), un punto di vista globale nell'analisi della modalità di cedimento del tessuto, avendo la possibilità di seguire la struttura con una buona accuratezza.

3.2.1 Misura mediante tecnica di correlazione di immagini

La "*Digital Image Correlation*" - DIC è una tecnica ottica di misura degli spostamenti e delle deformazioni superficiali, ampiamente adottata negli ultimi anni nel campo della meccanica sperimentale, specialmente nel campo della misura di grandi deformazioni. La DIC si basa sul confronto di una serie di immagini che ripren-

dono l'evoluzione della deformazione dell'oggetto durante la prova meccanica, in particolare il processo di correlazione si basa sulle seguenti tre fasi (vedi figura 3.6):

- (1) la superficie del provino deve essere opportunamente preparata, ovvero rivestita con una serie di punti ad elevato contrasto (pattern) di distribuzione stocastica, i quali rendono possibile l'identificazione di ogni zona della superficie in maniera univoca;
- (2) il sistema ottico acquisisce una serie di immagini del provino durante l'evoluzione della prova meccanica, in diverse condizioni di deformazione;
- (3) si calcola il campo degli spostamenti della superficie osservata dalla telecamera, ottenendo per derivazione quello delle deformazioni;

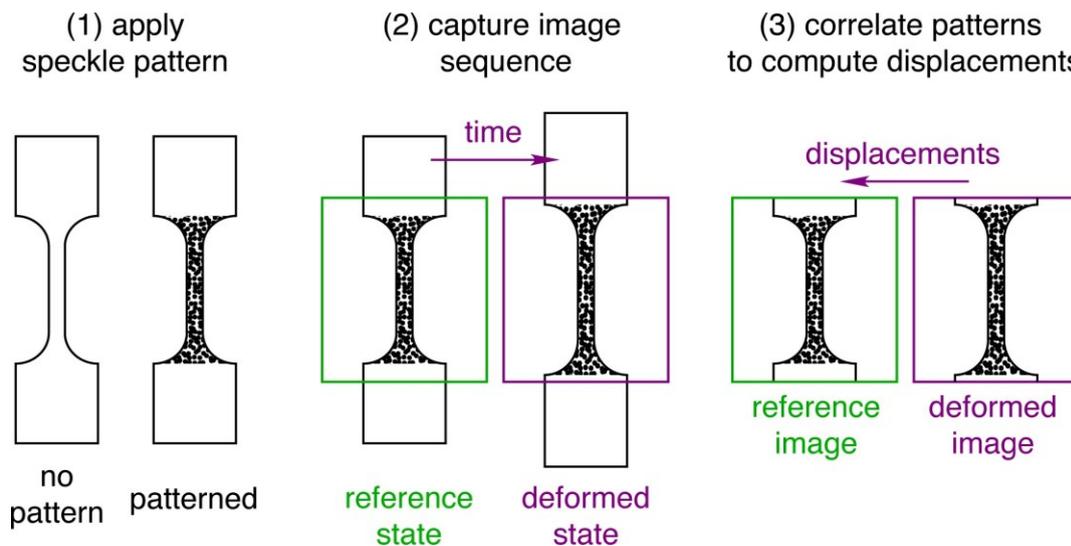


Figura 3.6: Processo di correlazione delle immagini nelle sue tre fasi.

Il software permette di gestire tutte le fasi di misura, dalla calibrazione all'acquisizione della sequenza di immagini del provino sollecitato ed infine all'elaborazione, in fase di post-processing, dei dati raccolti. E' altresì possibile creare documentazione relativa al progetto o esportare i dati per elaborarli con algoritmi esterni al programma.

Principio di funzionamento della DIC

Il principio alla base della DIC consiste nel confrontare una serie di immagini acquisite durante la deformazione (deformed state) con un'immagine di riferimento (reference state) raccolta quando sul corpo non agisce nessuna forza: in particolare, si traccia il movimento di ciascun punto dell'immagine di riferimento, andando a cercare nelle immagini successive il punto che massimizza una certa funzione di somiglianza. Si ottiene in questo modo una mappa deformativa della superficie del provino (figura 3.7).

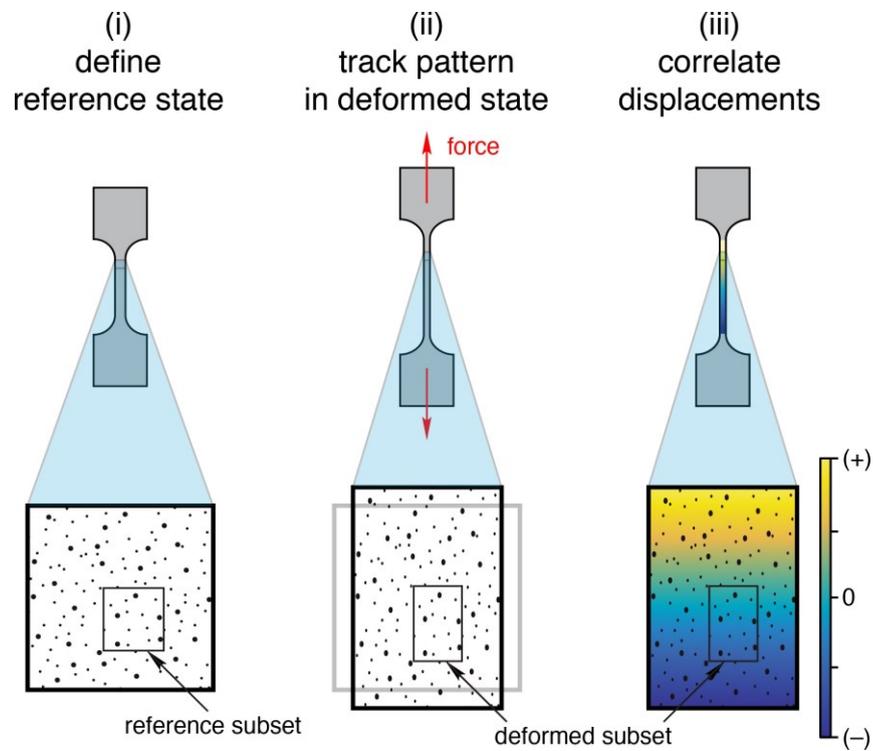


Figura 3.7: Determinazione della mappa deformativa.

Come già detto, per fare ciò è necessario rivestire il provino di un pattern ad elevato contrasto, la cui funzione è permettere l'identificazione di ciascuna zona di materiale dalla telecamera per ogni frame acquisito. Idealmente si vorrebbe avere macchie circoscrivibili all'interno di un singolo pixel, così da avere informazioni univoche per ogni pixel. In generale, però, si deve osservare che non è possibile

trovare corrispondenza tra singoli pixel in immagini successive, ovvero non esiste una soluzione univoca al problema: infatti, il livello di grigio di un singolo pixel può essere ritrovato in migliaia di altri pixel in un'immagine successiva. Pertanto, le deformazioni vengono determinate considerando il movimento di piccoli gruppi di pixel, definiti "*subset*" o "*facet*", solitamente quadrati e di dimensione $N \times N$, dove N è la "*facet size*". In linea di principio, ciascun subset dovrebbe contenere almeno tre macchie, di dimensione compresa tra tre e cinque pixel: le macchie, infatti, devono essere sufficientemente grandi da permettere di tracciarne il movimento (e limitare così il rumore di fondo), ma allo stesso tempo non devono essere troppo grandi, in modo da avere una buona risoluzione spaziale. I punti utilizzati per la correlazione sono definiti a intervalli regolari, detti "*step*", in modo che subset vicini possano o meno sovrapporsi. La sovrapposizione che ne risulta determina anche la risoluzione con cui la mappa di spostamento viene calcolata. Infatti, ogni facet rappresenta un punto di calcolo per gli spostamenti. L'elaborazione del set di immagini che le contengono permette di calcolare un valore di spostamento assegnato proprio alla coordinata del centro geometrico della facet relativa. Quindi maggiore è la loro sovrapposizione e maggiore è la risoluzione della mappa di spostamento. Aumentando il numero di facets cresce anche il peso computazionale del calcolo ed il tempo necessario alla sua esecuzione. Alla fine dell'elaborazione dei dati si ha quindi a disposizione, per ogni frame acquisito, un reticolo di punti le cui coordinate sono note (centro della facet) ed ai quali è associato uno spostamento misurato/calcolato.

È possibile realizzare prove 2D-DIC oppure 3D-DIC, a seconda della geometria e del tipo di deformazione sperimentata. La 2D-DIC utilizza le immagini ottenute da una singola fotocamera, con alcune limitazioni legate alla geometria e al tipo di spostamento. Nello specifico, il provino deve essere piatto e può muoversi solo in un piano parallelo al sensore ottico della fotocamera. Il movimento fuori dal piano, infatti, non può essere correttamente rilevato mediante una sola telecamera (viene interpretato come una deformazione) e questo produce un errore nei dati raccolti. La 3D-DIC utilizza due fotocamere sincronizzate che inquadrano il corpo da due angolazioni differenti e può essere utilizzata per oggetti di qualunque forma e per

ogni tipo di deformazione.

Per l'analisi delle deformazioni subite dai provini durante le prove meccaniche in questo lavoro sperimentale, si è deciso di implementare la tecnica di correlazione di immagini in tre dimensioni (3D-DIC).

Pattern DIC

Per correlare le immagini ottenute per lo stato deformato alla immagine di riferimento nello stato indeformato, la DIC traccia punti caratteristici sull'oggetto, il cui insieme forma il pattern superficiale. Probabilisticamente il provino possiede già in se alcuni punti caratteristici teoricamente sfruttabili ai fini dell'implementazione della tecnica, ma per ottenere un maggior numero di informazioni ed in maniera assai più precisa, è necessario rivestire tale superficie con un motivo a puntini o macchie, che dovrà rispettare le seguenti condizioni:

- Il pattern deve coprire la superficie d'interesse;
- I puntini devono essere distribuiti casualmente sulla superficie, con una dimensione uniforme;
- Il pattern deve muoversi e deformarsi assieme al provino, senza esercitare alcuno sforzo sul provino. In altre parole deve essere perfettamente aderente in superficie e facilmente deformabile;
- La dimensione delle macchie deve essere di almeno 3x3 pixel per evitare l'aliasing, ma non più di 7x7 pixel, per mantenere un'elevata densità del pattern;
- Il pattern deve presentare un elevato contrasto, ai fini di ridurre l'errore di misura;
- Il pattern deve essere compatibile e stabile per l'ambiente di misura (esempio: resistenza alle alte temperature se l'ambiente di misura lo richiede);
- La densità del pattern deve essere circa del 50%;

Nella maggior parte dei casi la superficie naturale, come già detto, risulta inadeguata per implementare la correlazione di immagini, provvedendo dunque ad un trattamento superficiale ad hoc. I metodi più utilizzati a questo scopo sono: verniciatura mediante aerografo, trattamento con inchiostro e coloranti, l'utilizzo di particelle di polvere e nanoparticelle, incisione laser.

Calibrazione della DIC

Nell'esecuzione dell'algoritmo di correlazione, il mondo analogico (nel nostro caso il provino sottoposto al carico) deve essere interpretato, fotografato e rilevato, ed essere trasformato in un segnale digitale (immagine rappresentabile in scala di grigi). Ciò può avvenire grazie al processo di calibrazione, che consiste nel determinare i parametri estrinseci ed intrinseci del sistema ottico.

La calibrazione è un'operazione solitamente eseguita offline e fa uso di una serie di oggetti contenenti un pattern con caratteristiche geometriche predefinite. Registrando la posizione di questi punti noti ed operando la trasformazione inversa tra sistemi di coordinate è possibile stimare i parametri del sistema di acquisizione. Il processo di calibrazione va ripetuto ogni volta che il sistema viene spostato, quando vengono cambiate le ottiche del sensore oppure quando le immagini raccolte presentano ampie zone scorrelate.

Per effettuare la calibrazione, vengono utilizzati una serie di pannelli, detti "primari di calibrazione" (Figura 3.8), di dimensioni differenti e scelti in funzione della finestra di misura che si intende utilizzare. Questi presentano in superficie un motivo regolare ed alcuni dettagli irregolari, noti con una precisione assai elevata.

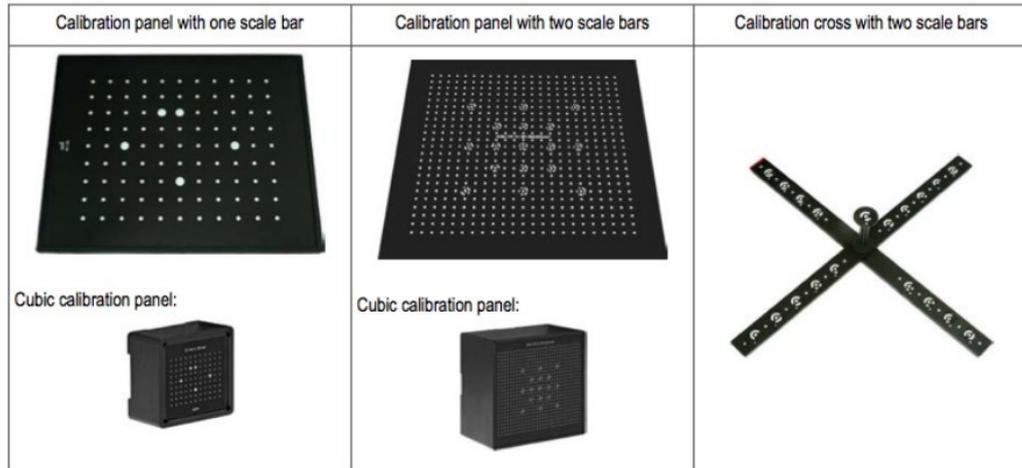


Figura 3.8: esempi di primari di calibrazione [User Manual, GOM, 2009]

Tramite una serie di fotogrammi, in alcuni casi guidati [User Manual, GOM, 2009](figura 3.9), in altri casi liberi, il software esegue sia la trasformazione prospettica tra il sistema esterno dello spazio reale e il sistema di riferimento della fotocamera, sia la trasformazione nel sistema di coordinate immagini. Inoltre, questa procedura permette di correggere le distorsioni introdotte dal sistema ottico (in particolare con l'utilizzo di lenti grandangolari) e dovute alla temperatura [User Manual, GOM, 2009; Matocchia et al, 2008; Siebert et al, 2007]. Per questo motivo è importante concedere il giusto tempo affinché tutto il sistema raggiunga la stabilità termica, eseguire la calibrazione e immediatamente dopo le misurazioni.



Figura 3.9: esempio di procedura guidata di calibrazione [User Manual, GOM, 2009]

3.3 Preparazione dei provini ossei

Il protocollo sperimentale richiede un certo numero di lavorazioni da effettuare sul campione di tessuto osseo prima di poterlo testare. Nei seguenti sotto-paragrafi si darà appunto una descrizione di tutta la procedura seguita per ottenere i provini utilizzati nelle prove. Ciascuna operazione inoltre deve essere eseguita il più rapidamente possibile per evitare lo scongelamento del campione o quantomeno di ridurne il tempo di permanenza scongelato.

3.3.1 Estrazione dell'osso corticale



Figura 3.10: Illustrazione della zona di prelievo dei campioni ossei su femore di bovino.

Ai fini della realizzazione delle prove meccaniche sono stati utilizzati provini ottenuti da femori di bovino adulto. Le ossa, dopo essere state prelevate dal donatore, sono state accuratamente pulite rimuovendo i tessuti molli circostanti e tagliate grossolanamente in pezzi più piccoli, mediante una sega circolare. Per questa sperimentazione sono stati utilizzati campioni di tessuto osseo corticale, provenienti dalla

diafisi del femore, come rappresentato nella figura soprastante (figura 3.10). In questa fase, inoltre, è stato possibile rimuovere la componente trabecolare dell'osso e il midollo osseo interno, ottenendo delle listarelle di tessuto osseo corticale.

3.3.2 Sagomatura

Una volta ottenuti i campioni grezzi di tessuto corticale si è proceduto alla loro sagomatura, ai fini di ottenere la forma ad "osso di cane", utilizzata per i provini nei test meccanici di trazione, come già discusso in precedenza. Per realizzare questo step si è deciso di utilizzare una particolare tecnica di taglio, il taglio ad acqua, noti i vantaggi che offre. Successivamente, avendo ottenuto dei campioni ossei di forma desiderata ma spessore irregolare, si è proceduto ad un'operazione di fresatura sull'intera superficie dei campioni stessi.

Taglio ad acqua

Il taglio ad acqua è una tecnica che consente di tagliare un grande numero di materiali diversi, sfruttando l'energia perforante di un getto d'acqua, talvolta miscelato con granulato abrasivo finissimo per il trattamento di materiali particolarmente duri. Il getto d'acqua viene pressurizzato ad un valore massimo di 4000 atmosfere, ed espulso contro il campione tramite uno o più ugelli ad una velocità incredibilmente elevata, ottenendo una fessura fina e precisa, di difficile realizzazione soprattutto per materiali di spessore non uniforme e stratificati. La tecnica offre inoltre l'importante vantaggio di non surriscaldare il campione, molto importante per un tessuto biologico come quello osseo, evitando alterazioni chimiche e fisiche.

3.3.3 Dimensioni e geometria dei provini

Come evidenziato in precedenza, lo studio utilizza provini di tessuto osseo corticale, prelevato da femore di bovino adulto e sagomati mediante tecnica di taglio ad acqua ai fini di ottenere la forma ad "osso di cane".

Uno studio ha trovato, a partire da dati computazionali (tramite un'analisi agli

elementi finiti) e dati sperimentali (mediante prove di trazione su osso suino) una correlazione tra i fattori di concentrazione dello stress all'interno del provino e la resistenza a trazione misurata sul tessuto: più alti sono i fattori di concentrazione delle sollecitazioni, minore è la resistenza a trazione (Liang Feng, Iwona Jasiuk, 2010. Effect of specimen geometry on tensile strength of cortical bone).

In tale studio è stato quindi dimostrato come la geometria del provino di tessuto osseo possa determinare risultati differenti in una prova di trazione. In particolare sono state studiate tre geometrie: rettangolare, ad osso di cane con spigoli marcati e ad osso di cane con spigoli arrotondati, ottenendo che questi ultimi sono i più indicati per i test meccanici poiché determinano minori concentrazioni di stress.

Per la realizzazione di questa sperimentazione sono stati realizzati 20 provini non proporzionali, a forma di osso di cane con spigoli arrotondati, di lunghezza del tratto a sezione costante 35 mm, larghezza dello stesso 5 mm e profondità variabile (8 mm - 11 mm).

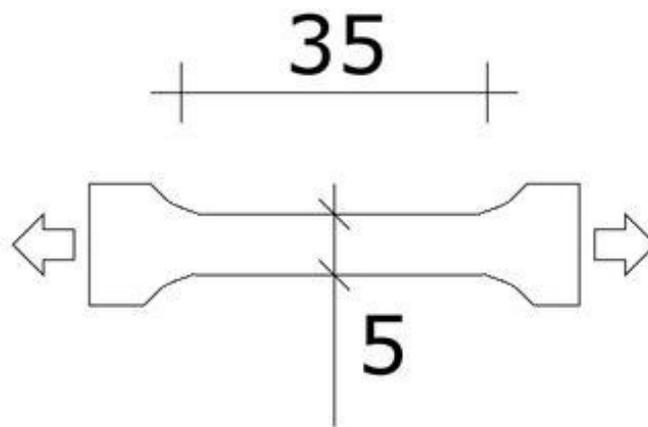


Figura 3.11: Schema delle dimensioni medie dei provini utilizzati per le prove meccaniche. In particolare, viene rappresentata la sezione longitudinale, che permette di osservare la forma del provino lungo la direzione di sollecitazione.

3.3.4 Fresatura

Terminate le lavorazioni precedenti il provino è completo a meno dello spessore irregolare che ne caratterizza la profondità. Per uniformare i campioni e lucidare le superfici ho fresato entrambi i lati di ciascun provino in modo da eliminare eventuali imperfezioni superficiali derivate dai tagli precedenti. Questa fase permette inoltre di eliminare le disomogeneità, caratteristiche della geometria ossea, in modo da creare una battuta stabile sull'esterno, oltre ad eliminare residui di tessuto osseo trabecolare eventualmente presenti in posizione interna. Infine, dopo un processo di rifinitura finale mediante carta abrasiva, è stato possibile ottenere i provini sagomati in maniera omogenea, con rugosità superficiale regolare, privi di evidenti difetti di lavorazione (vedi figura 3.12).



Figura 3.12: Foto di una parte dei provini ossei realizzati per questo studio, sagomati mediante taglio ad acqua e soggetti a fresatura finale.

Come vedremo in seguito, questa procedura di lavorazione superficiale ha inoltre consentito di realizzare un pattern DIC omogeneo, riconoscibile senza grossi problemi dal sistema di visione tridimensionale. Le facce lisce del tessuto osseo, prive di imperfezioni, mi hanno permesso infatti di tracciare il motivo a puntini senza sbavature o irregolarità evidenti nella deposizione dell'inchiostro.

3.3.5 Conservazione ed idratazione

Due generali metodologie adatte alla conservazione del tessuto osseo dopo la morte del donatore sono il congelamento e la fissazione chimica (in etanolo o formalina). Essendo il primo metodo il più semplice e diffuso, esistono in letteratura molteplici studi che hanno indagato l'effetto di questo sulle proprietà meccaniche dell'osso (Goh et al., 1989; Hamer et al., 1996; Linde and Sorensen, 1993; Sedlin and Hirsch, 1966; Weaver, 1966; Yosibash et al., 2010). Eccetto uno di questi studi, (Yosibash et al., 2010), tutti confermano che un congelamento a temperature pari o inferiori a -20°C non altera significativamente le caratteristiche meccaniche del tessuto osseo corticale e trabecolare (Goh et al., 1989; Hamer et al., 1996; Linde and Sorensen, 1993; Sedlin and Hirsch, 1966; Weaver, 1966). Per questo studio si è scelto di utilizzare provini conservati mediante congelamento, avvenuto entro poche ore dal decesso del donatore.

Come osservato nel Capitolo 2, capitolo inerente il comportamento meccanico del tessuto osseo, l'idratazione del campione ha un effetto sulla risposta meccanica di un provino osseo. In particolare, campioni disidratati presentano un modulo elastico maggiore ed una tenacità inferiore (Evans, 1973; Dempster and Liddicoat, 1952). Di conseguenza, per ottenere misure realistiche e accurate, è necessario idratare il provino nel momento del test meccanico, tramite semplice immersione in soluzione fisiologica o spruzzandolo ripetutamente, sempre con soluzione fisiologica, durante tutta la procedura di prova.

3.3.6 Scongelo e realizzazione del pattern DIC

Come anticipato precedentemente, la tecnica a correlazione di immagini presenta la potenzialità di fornire una grande mole di informazioni a tutto campo. Disporre di mappe delle deformazioni significa surclassare misure quali, ad esempio, ad estensimetro. Uno svantaggio però, riguarda la realizzazione del pattern, che richiede massima attenzione. Infatti, seppur il sistema abbia rivelato un certo grado di flessibilità, per un provino non è stato possibile effettuare l'elaborazione mediante il software DIC perché la distribuzione dei punti marcatori non era corretta. Affinché

il pattern venga accettato dal software di correlazione di immagini, è necessario che il provino presenti in superficie un motivo di punti ad elevato contrasto, distribuiti in modo stocastico.

Essendo il tessuto osseo molto chiaro e avendo lavorato i provini affinché non presentassero difetti superficiali significativi, si è provato a realizzare il pattern DIC manualmente mediante pennarello nero indelebile con punta sottile (vedi figura 3.13). È stato osservato che, procedendo nella colorazione in maniera casuale evitando di allineare i punti, il sistema di elaborazione di immagini accetta il provino.



Figura 3.13: Foto illustrativa del pattern realizzato manualmente con pennarello su uno dei provini ossei.

La procedura di rivestimento della superficie con il pattern di puntini neri è stata eseguita come ultimo step in seguito allo scongelamento del provino, affinché l'inchiostro potesse aderire correttamente e non creare diffusione di sbavature al momento del contatto tra osso e punta del pennarello. La transizione di temperatura del provino, dai -20°C impostati per il congelatore ai circa 20°C caratteristici dell'ambiente di lavoro è avvenuta lentamente, a partire da 12 ore antecedenti la prova meccanica. In particolare, ciascun campione è stato posizionato in ambiente

a 5°C per le prime 6 ore, successivamente il raggiungimento dell'equilibrio termico è avvenuto tramite l'esposizione alla temperatura ambiente.

3.4 Esecuzione delle prove

Terminate le operazioni di preparazione dei provini (estrazione dei campioni, sagomatura, perfezionamento superficiale, realizzazione del pattern DIC), è arrivato il momento di dare il via alla campagna di prove sperimentali. Prima di cominciare con la serie di prove, cuore di questa sperimentazione, sono stati realizzati dei test meccanici preliminari per assicurarsi la corretta implementazione della strumentazione utilizzata.

La sperimentazione avviene per mezzo di una macchina di trazione universale ad azione elettromeccanica (Galdabini Sun 2500, vedi figura 3.14), dotata di:

- cella di carico di tipologia C2, da 25KN;
- ganasce ad azione auto serrante;
- sistema di azionamento e controllo, che permette di stabilire la tipologia di prova (nel nostro caso a controllo di spostamento) e la velocità con la quale la traversa mobile impone la sollecitazione sul provino;
- sistema di acquisizione dati, che fornisce in output i valori di tempo, spostamento della traversa mobile, carico e tensione, con un periodo di campionamento di 15ms;

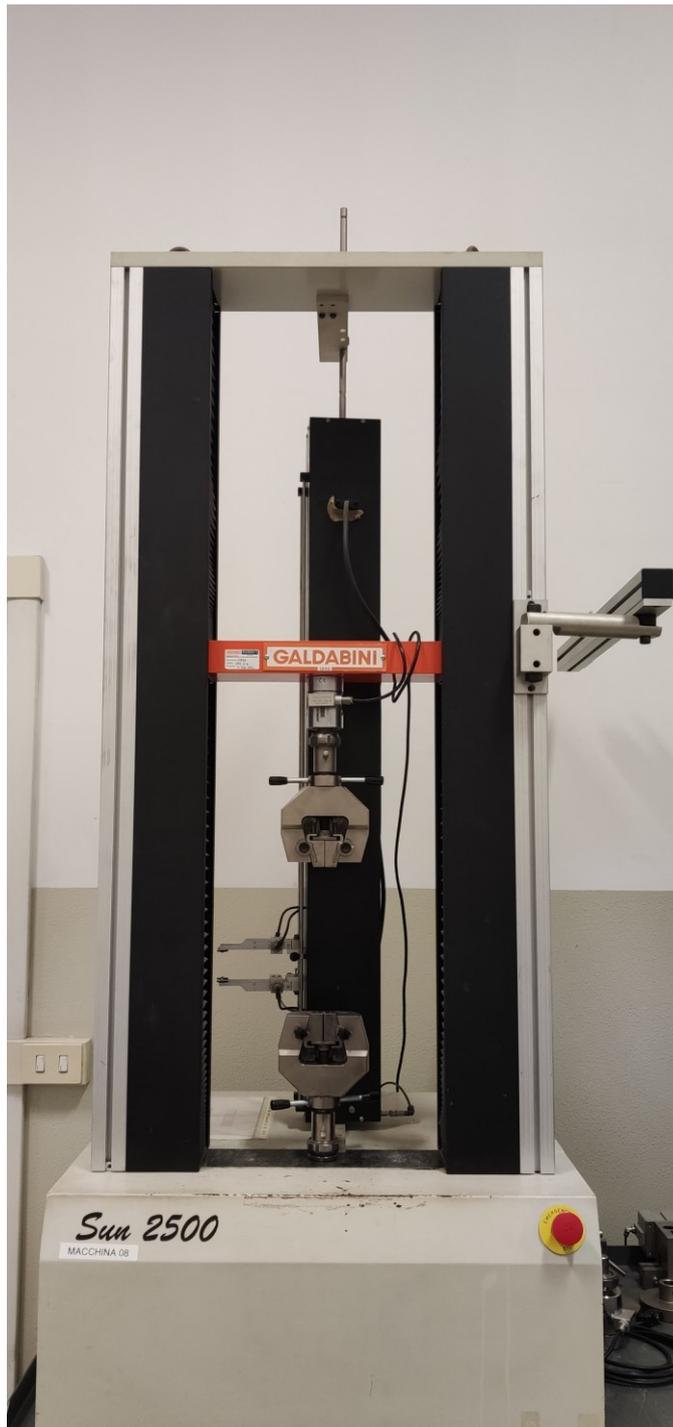


Figura 3.14: Foto della macchina di trazione universale Galdabini Sun 2500.

Tale macchina di trazione viene accoppiata ad un sistema di correlazione di immagini 3D composto da:

- due telecamere (Point Grey, GS3-U3-51S5M-C, vedi figura 3.15) sincronizzate,

che acquisiscono immagini in bianco e nero con risoluzione di 2448x20480 pixel, ovvero 5 Mpixel, ad un massimo di 75 Fps e con tempi di esposizione variabili tra 0.006 ms a 4 s;

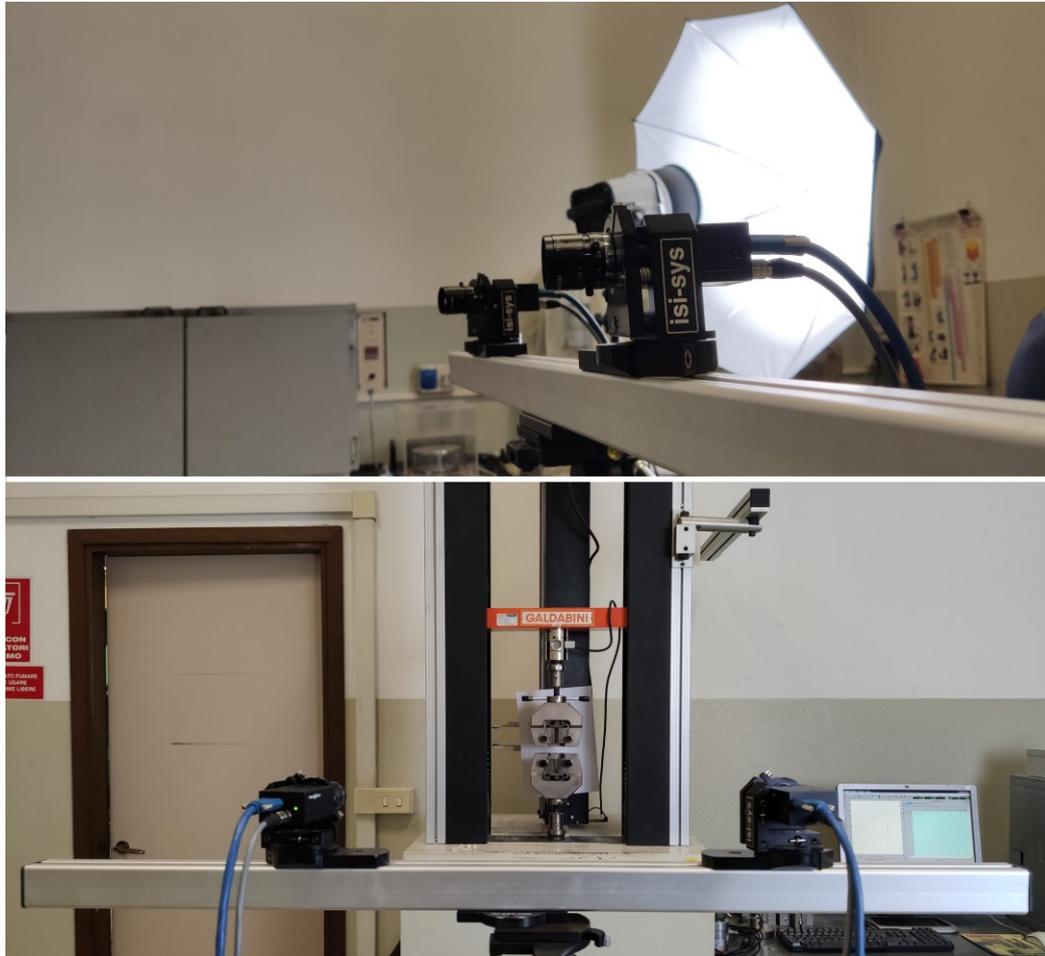


Figura 3.15: Foto delle telecamere utilizzate in questo studio per la realizzazione della DIC. Sopra, la vista laterale delle due telecamere, ancorate e ruotate di un determinato angolo rispetto alla sbarra di supporto. Sotto, vista posteriore del sistema Dic-macchina di trazione.

- un sistema di acquisizione dati (DAQ, "Data Acquisition system") che consente, oltre a collezionare e inviare al software di post-processing i fotogrammi ottenuti dalle telecamere, di combinare con tali fotogrammi il segnale analo-

gico (ricevuto in input tramite un cavo) relativo al carico misurato dalla cella di carico della macchina;

- un software per elaborare e processare i dati ottenuti (Vic-3D), ai fini dell'ottenimento di informazioni quali le mappe deformative del provino in esame al progredire del test meccanico e la curva tensione-deformazione;
- un sistema di illuminazione, che facilita riconoscimento e monitoraggio del pattern DIC durante lo svolgimento della prova meccanica;;

A questo punto, ottenuti i provini di tessuto osseo e individuata la strumentazione corretta, prima di poter eseguire le prove meccaniche sono necessarie una serie di operazioni preliminari, volte a preparare l'esecuzione della sperimentazione.

3.4.1 Posizionamento dei provini in macchina

Per prima cosa il provino viene misurato ripetutamente nella parte compresa tra gli afferraggi, di sezione rettangolare, mediante un calibro. Si ottengono quindi svariate misure di larghezza e spessore, le quali contribuiscono a fornire un unico valore nelle due dimensioni, ai fini di calcolare la sezione media del corpo centrale. Conoscendo l'area media della sezione è quindi possibile ricavare le misure di tensione, a partire dalle misure di forza fornite dalla cella di carico.

Una volta determinata la sezione media, i provini possono essere testati. Viene quindi inizialmente individuata e montata sulla macchina la cella di carico corretta per le misurazioni (è importante selezionare una cella con carico massimo ammissibile ben superiore al carico di rottura che si presume verrà raggiunto con il provino, senza eccedere per non perdere in risoluzione) e in seguito fissate le ganasce per afferrare i provini.

A questo punto ciascun campione viene posizionato nella macchina per la prova (vedi figura 3.16), a partire dalla ganascia inferiore, ancorata alla traversa fissa. Le estremità del provino vengono inizialmente strette alla giusta coppia per mezzo di un meccanismo di serraggio a cuneo, azionato da un sistema a vite, affinché

il tessuto osseo sia correttamente afferrato da entrambi i lati, evitando il fenomeno di scivolamento durante l'esecuzione del test. Le ganasce vengono definite auto serranti perché, grazie alla loro struttura, determinano un incremento della forza stringente sulle estremità del provino con il progredire dello spostamento della traversa. Successivamente la traversa mobile viene regolata in altezza in modo che l'altra estremità del provino venga correttamente afferrata dalla morsa superiore, ancorata a tale traversa per mezzo della cella di carico. In questa fase, inoltre, è molto importante assicurarsi che il campione sia correttamente allineato con la direzione di applicazione del carico.

Come si può osservare nell'immagine seguente siamo stati costretti a ruotare il provino di 90° all'interno delle ganasce, afferrandolo sulle facce laterali, affinché il pattern DIC potesse essere visto per intero e monitorato dalla rispettiva strumentazione.

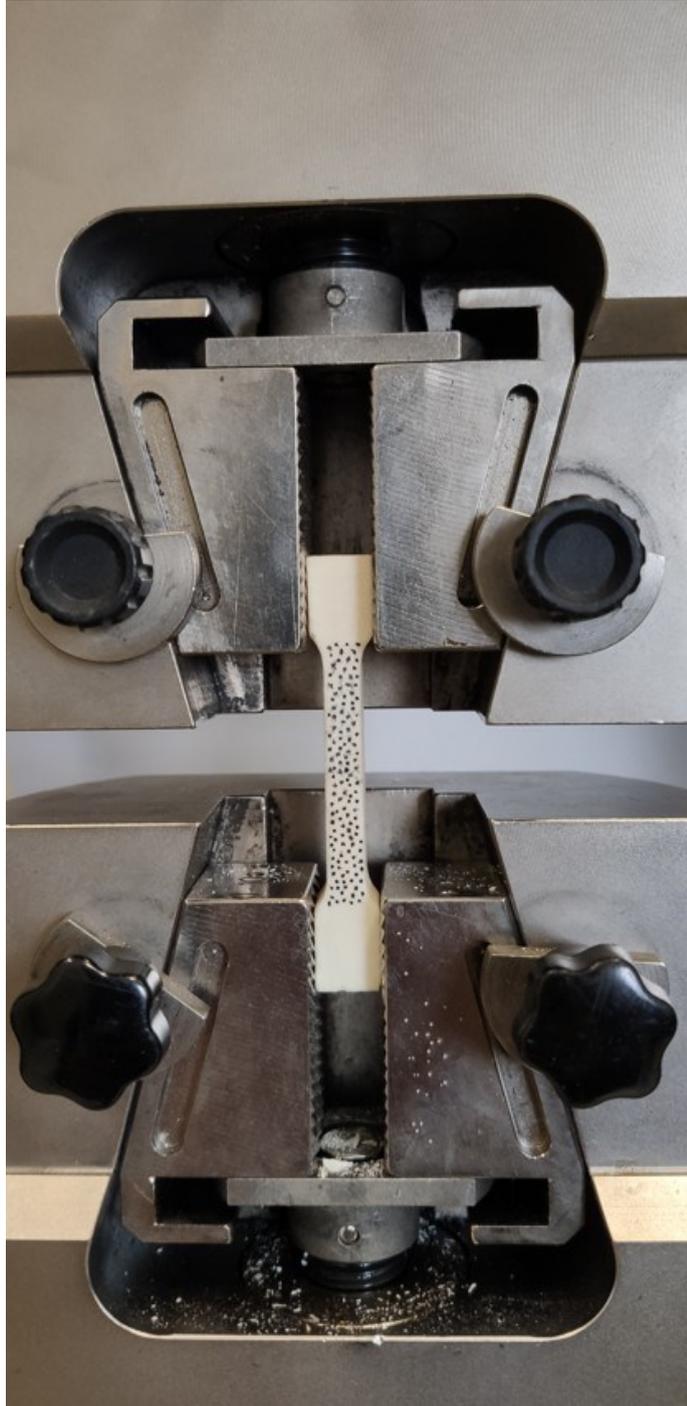


Figura 3.16: Foto di un provino posizionato ruotato di un angolo pari a 90° e serrato nelle ganasce prima della prova di trazione.

Questa scelta è stata dettata da:

- impossibilità di realizzare un pattern di qualità sulle facce "laterali" del provi-

no, originate dalla sagomatura mediante taglio ad acqua del campione grezzo. Queste, a differenza delle altre due superfici, non sono state fresate a causa della geometria dei profili laterali, che hanno determinato l'impossibilità di tale lavorazione. Per garantire una buona realizzazione del motivo a puntini ho deciso di dedicarmi ad una delle due facce sottoposte in precedenza al trattamento di fresatura e lucidatura, evitando il rischio di creare punti irricognoscibili per il sistema ottico DIC.

- impossibilità di ruotare di 90° le ganasce della macchina (o analogamente, la strumentazione ottica per la correlazione di immagini), permettendo allo stesso tempo alle telecamere di osservare tutto il pattern DIC. A causa della struttura delle ganasce, la visuale laterale viene infatti ridotta alla porzione centrale del provino (vedi figura 3.17);

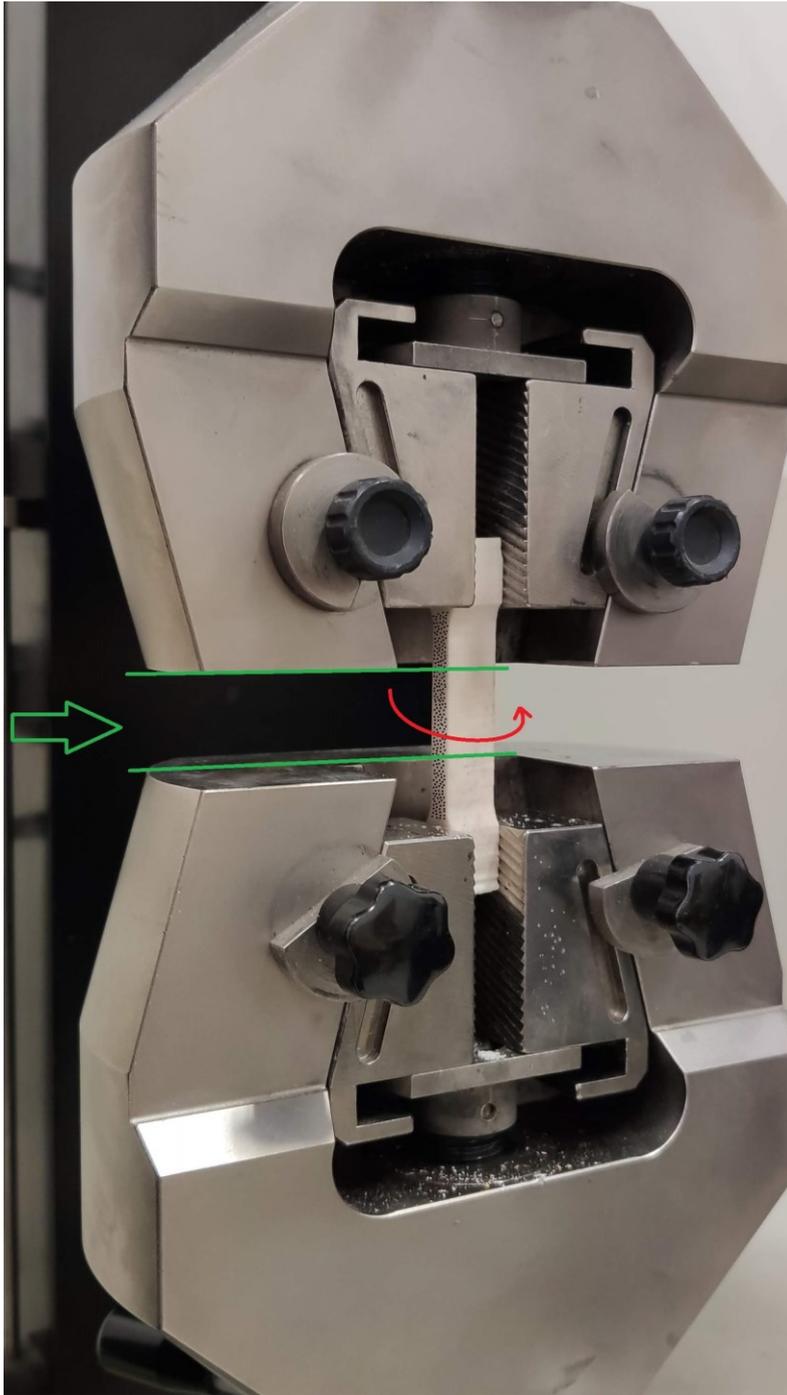


Figura 3.17: Foto di un provino posizionato e serrato nelle ganasce con limitata visuale del pattern DIC.

Per terminare il paragrafo riguardante il posizionamento in macchina, possiamo osservare in figura 3.18 come il provino e le ganasce della macchina siano visti da due prospettive diverse, proprie delle telecamere DIC, ai fini della ricostruzione

tridimensionale dello stato meccanico.

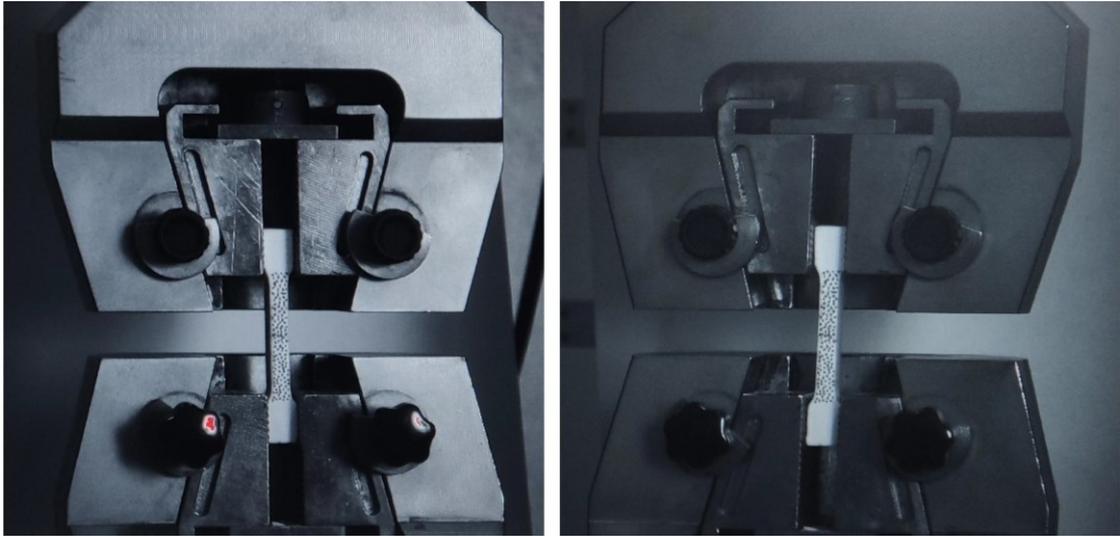


Figura 3.18: Visione del provino tramite il software Vic-3D dopo la procedura di calibrazione.

3.4.2 Calibrazione del sistema DIC

Come descritto nella sezione relativa alla misura delle deformazioni (sezione 3.2), prima di procedere con la prova meccanica e poter sfruttare la tecnica di correlazione di immagini, è necessario eseguire la procedura di calibrazione, tramite l'acquisizione di circa 20-25 coppie di fotografie. Nel mio caso dovendo analizzare una superficie piana di dimensioni approssimative pari a 40x5 mm ho utilizzato il primario di calibrazione di dimensioni 15x20 cm come indicato dal produttore. Quindi, dopo essere entrati nella modalità di calibrazione dal programma di controllo di gestione, occorre disporre il primario in diverse posizioni e angolature ed acquisire ogni volta le coppie di immagini. Queste vengono scattate da entrambe le telecamere negli stessi istanti, permettendo al sistema di ricavarne i parametri interni ed esterni grazie all'elaborazione software. Se il pattern viene accettato, al termine della procedura il programma comunica l'esito dell'elaborazione, mostrando il coefficiente di deviazione. Questo esprime l'incertezza sulla posizione di un pixel nell'immagine acquisita e viene calcolato come la deviazione media delle coordinate di tutti i punti ottenute durante la calibrazione. Il produttore informa che tale coefficiente deve

essere compreso fra 0.01 e 0.04 pixel. Affinché l'intera procedura non debba essere ripetuta all'interno della stessa sessione sperimentale, è importante non spostare le telecamere o variare l'illuminazione.

3.4.3 Velocità di deformazione e temperatura

Per provini di tessuto osseo i risultati ottenuti dalle sperimentazioni meccaniche a trazione dipendono da molti fattori, tra i quali la velocità di applicazione del carico. Ciò accade a causa dei fenomeni viscoelastici che si sviluppano durante la prova: velocità basse consentono a questi di potersi sviluppare, viceversa deformazioni più rapide o impulsive non permettono alle componenti liquide di riorganizzarsi, determinando la misura di un modulo elastico maggiore. La velocità di deformazione a cui avviene la prova di trazione sarà quindi legata all'interesse del coinvolgimento dei fenomeni viscoelastici all'interno della prova stessa. Sebbene per simulare le condizioni fisiologiche la velocità di deformazione dovrebbe essere compresa tra $0.01s^{-1}$, tipica della camminata, e $0.1s^{-1}$, tipica della corsa, i campioni testati nel presente lavoro sono stati sollecitati ad una velocità pari a 0.3 mm/min (ovvero 0.005 mm/s), equivalente a circa 0.00017 s^{-1} . È evidente come tale velocità di sollecitazione sia notevolmente inferiore alle velocità deformative che il tessuto subisce in vivo, consentendoci di ottenere risultati caratteristici e propri del tessuto. In questa situazione, infatti, consentiamo ai fenomeni viscoelastici, che si sviluppano all'interno della microstruttura ossea, di esaurirsi completamente.

Ulteriore variabile che influenza una prova meccanica è la temperatura dell'ambiente (e del provino). Per una misura che rispecchi la risposta del tessuto in ambiente fisiologico, i provini di tessuto dovrebbero essere testati alla temperatura di 37°C , approssimazione della temperatura corporea. Non essendo ciò sempre possibile, è stato indagato l'effetto di tale temperatura sulla risposta meccanica misurata. È stato dimostrato che una temperatura ambiente di circa 23°C comporta un incremento del modulo elastico di circa 2 – 4%, se confrontato con quello ottenuto a 37°C (Ashman, 1982; Bonfield and Li, 1968; Bonfield and Tully, 1982). Alla luce di questo, i provini in esame sono stati testati a temperatura ambiente ($22\text{-}24^{\circ}\text{C}$) commettendo

un errore stimabile, sulla misura del modulo elastico, trascurabile. Una temperatura inferiore a 37°C facilita, d'altra parte, il mantenimento dell'idratazione del campione.

3.4.4 Prove di carico-scarico

Ai fini del raggiungimento dell'obiettivo di questo studio, si è deciso di svolgere anche una serie di prove di carico-scarico. I provini, tutti con stessa lunghezza della sezione centrale utile, sono stati deformati in modo tale da assicurarsi l'avvenuta transizione della deformazione da regime elastico a regime plastico. Raggiunto e superato quindi il punto di snervamento, si lascia progredire la prova meccanica, affinché il provino accumuli entro il tessuto evidenti processi di danneggiamento microstrutturale. Segue poi la fase di scarico durante la quale la traversa mobile viene riportata, sempre alla stessa velocità, verso la configurazione iniziale, continuando la misura della forza di resistenza esercitata dal provino in esame. La prova termina con il raggiungimento dello stato di equilibrio, ovvero quando la cella di carico, al retrocedere della traversa, misura un valore di tensione nullo.

Segue, in figura 3.19, l'illustrazione di una curva sforzo-deformazione riguardante un processo di carico-scarico. Si noti come lo scarico avviene lungo una retta apparentemente simile a quella di carico, dopo aver imposto la plasticità della deformazione, che avviene dopo aver superato il punto di snervamento (tensione di snervamento σ_{y0}).

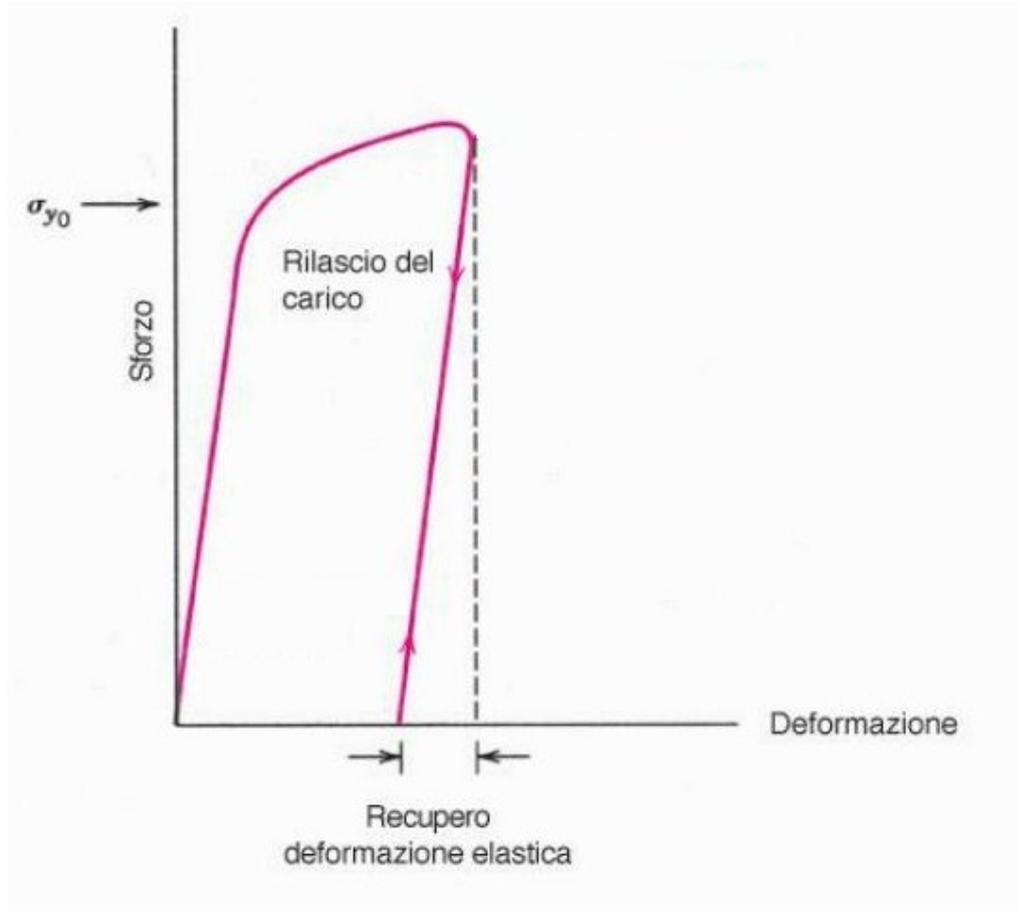


Figura 3.19: esempio di curva di trazione per un provino soggetto ad una prova di carico-scarico.

Inizialmente sono state condotte una serie di prove di trazione preliminari, con diversi obiettivi e a diversi stadi dello sviluppo del protocollo. In particolare, è stato necessario svolgere svariate prove a rottura per identificare eventuali inadeguatezze sia dei provini sia della macchina adoperata. Nota la durata della prova, pari a circa 8 minuti come osservato in media, conseguente alla velocità di deformazione stabilita, si è scelto di fare acquisire al sistema di correlazione di immagini una coppia di fotogrammi al secondo (un fotogramma per ciascuna telecamera, allo stesso istante). In questo modo si ottengono circa 500 coppie di fotogrammi sui quali effettuare l'analisi delle deformazioni per l'intera prova, ottenendo una buona quantità di informazioni.

In seguito, stabilito il protocollo sperimentale, in termini di trattamento e la-

vorazione dei campioni ossei nell'ottenimento dei provini ad osso di cane, modalità di esecuzione della prova di trazione e valori di velocità di deformazione, è stato possibile eseguire le prove meccaniche ed ottenere i risultati di interesse per questo studio, i quali verranno presentati ed analizzati nel capitolo seguente.

Capitolo 4

Risultati

Questo capitolo mostra i risultati ottenuti a seguito della sperimentazione, tramite l'illustrazione di appositi grafici e mappe deformative.

Fondamentale è stata la realizzazione delle prove preliminari, le quali ci hanno consentito di procedere con i test meccanici nel modo più adatto alle nostre esigenze, ottenendo una serie di informazioni presentate nel primo paragrafo. Tutti i provini sono stati testati a trazione senza problemi operativi, permettendo un'analisi accurata dei dati ricavati (paragrafo 4.2). In generale non si sono riscontrati problemi nell'acquisizione delle immagini della superficie del provino. Il sistema DIC si è rivelato un potente strumento ed ha fornito valori di deformazione coerenti con la letteratura scientifica.

4.1 Prove preliminari

Prima di effettuare le prove meccaniche finali sui provini, è stata svolta una serie di test preliminari a rottura su una parte dei campioni ossei. Queste prove, fondamentali per poter procedere con la sperimentazione, ci hanno consentito di:

- verificare il comportamento del tessuto osseo in una prova di trazione a rottura, osservando le differenze che sussistono tra campioni secchi ed idratati;

- identificare la macchina più adatta alle esigenze di questo studio, ovvero una macchina specifica per prove di trazione, dotata di una cella di carico compatibile con i valori di forza ottenuti durante i test;
- verificare l'adeguatezza dei provini ossei, con particolare riferimento alla tipologia di tecnica di lavorazione e conseguente presenza di difetti strutturali;
- testare l'efficacia delle ganasce auto-stringenti sul tessuto osseo, in modo da evitare eventuali fenomeni di slittamento o rottura in corrispondenza delle estremità dei provini;
- testare il funzionamento del sistema di correlazione di immagini DIC, implementato come descritto in precedenza. In particolare, è stato possibile verificare la compatibilità con il sistema di rilevazione ottica del pattern realizzato manualmente sui provini, imparare ad usare il software di post-processing Vic-3D al fine di ottenere le mappe deformative del provino in esame, trovare la corretta illuminazione del provino affinché il pattern presentasse un elevato contrasto, evitando di saturare l'immagine ottenuta dalle telecamere;
- individuare la velocità di deformazione di interesse per questo studio;
- calcolare la durata media di ciascuna prova, in modo da scegliere la frequenza più adatta di acquisizione dei fotogrammi da parte del sistema DIC;

Ai fini della preparazione della sperimentazione vera e propria, sono stati utilizzati circa una decina di provini, di cui la metà solo per verificare la funzionalità del sistema DIC. Tali prove preliminari hanno consentito quindi di perfezionare le procedure di realizzazione dei provini ed esecuzione delle prove, al fine di ottenere un vero e proprio protocollo sperimentale da seguire per la realizzazione delle prove finali. In questo modo ho cercato di ridurre al minimo la normale variabilità che sussiste nella sperimentazione, ottenendo risultati statisticamente significativi.



Figura 4.1: Insieme di provini testati in un'unica seduta di prove meccaniche.

4.2 Analisi dei dati

In questo paragrafo presento le analisi e i calcoli che ho eseguito sui dati rilevati durante le prove di trazione per la caratterizzazione meccanica del tessuto osseo corticale.

4.2.1 Misure con correlazione digitale di immagini

Ho utilizzato il sistema di misura ottico sia per ottenere informazioni precise e complete riguardo lo stato deformativo di ciascun provino, sia per verificare il corretto svolgimento dei test. I dati ottenuti con il sistema di correlazione di immagini, accoppiati alle informazioni fornite dalla cella di carico, sono stati infatti elaborati per ottenere le mappe di spostamento e deformazione mediante il software dedicato (Vic-3D - Correlated Solutions). Da tali mappe ho potuto verificare la distribuzione interna delle tensioni tramite l'analisi del campo delle deformazioni, oltre al corretto posizionamento del provino. Questo deve essere sollecitato a trazione pura, evitando l'insorgere di qualsiasi componente flessionale causata da eventuali disallineamenti

tra gli afferraggi nella fase di bloccaggio.

Attraverso lo stesso software sono state eseguite altre operazioni, durante la procedura di post-processing, come la collocazione di estensometri virtuali.

Tramite il software DIC è possibile estrapolare una grande quantità di informazioni riguardanti le misurazioni effettuate dal sistema di telecamere. Tra le quali, riconosco come più significative ed importanti per questo studio la definizione delle mappe degli spostamenti (vedi figura 4.2)

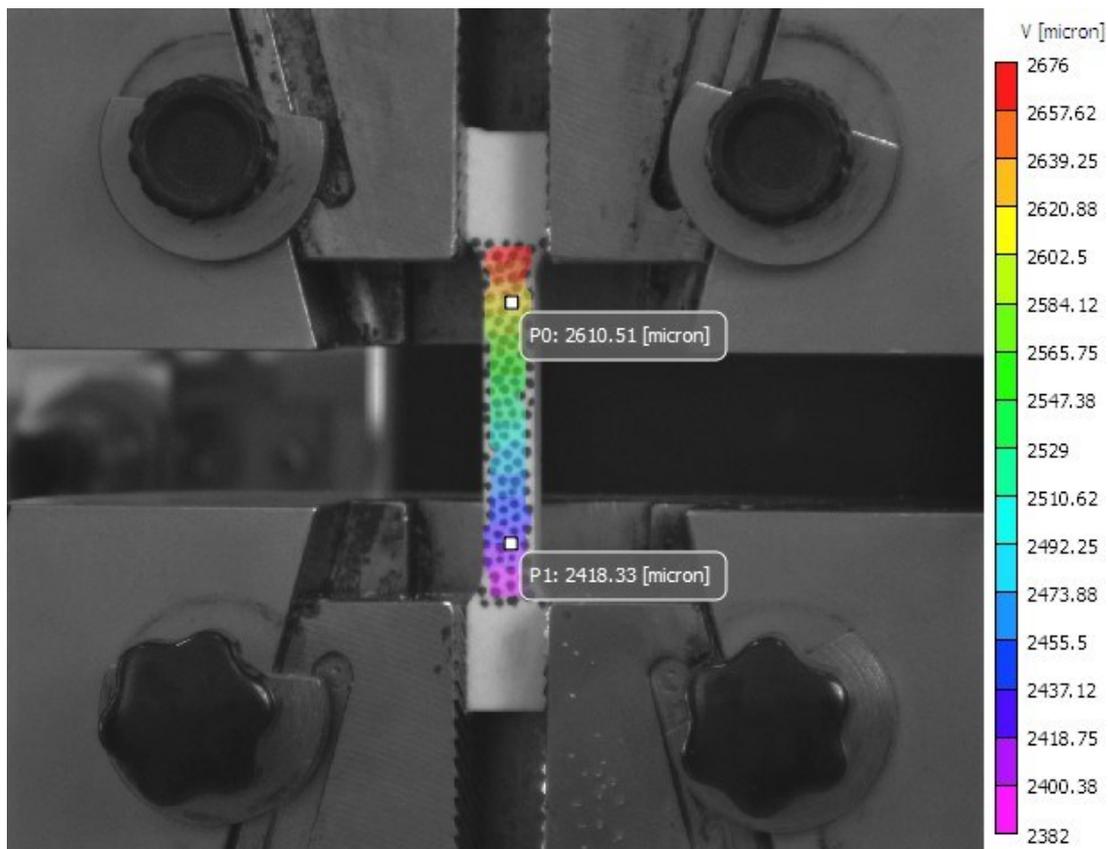


Figura 4.2: Mappa degli spostamenti relativa ad un unico frame per il provino in esame, ottenuta dal software Vic-3D al termine della prova meccanica.

Tale mappa viene calcolata e definita per ciascun frame di acquisizione durante la prova (frequenza di acquisizione delle telecamere del sistema DIC stabilita pari a 1 Hz, equivalente ad un'immagine al secondo), tramite il monitoraggio continuo del pattern superficiale.

All'interno della mappa inoltre ho individuato due punti, P0 e P1 alle estremità

del tratto utile del provino, evidenziandone le rispettive misure di spostamento (in micron). Questo valore indica il valore dello spostamento subito da tali punti nel momento dell'acquisizione della fotografia rispetto allo stato iniziale indeformato del campione. Notiamo come il punto P0, posto nelle vicinanze dell'estremità superiore, è soggetto ad uno spostamento di circa 2.6 millimetri, mentre per P1 viene calcolato un valore pari a circa 2.4 millimetri, coerentemente con quanto evidenziato dai colori della mappa. La figura inoltre mostra come la superficie sia correttamente identificata, essendo rivestita dalla mappa quasi per intero. Il sistema DIC ha confermato la corretta condizione di carico a trazione pura dei provini. In particolare, dalla mappa degli spostamenti elaborata dal software si nota come il provino subisca spostamenti uniformi fino a rottura, disposti secondo strati di intensità crescente ed ortogonali alla direzione di sollecitazione.

A partire dalle misure di spostamento è ora possibile ricavare le misure di deformazione. Il software costruisce le mappe deformative del provino calcolando il tensore deformativo di Lagrange. La formulazione della deformazione misurata lungo l'asse y , parallelo alla sollecitazione, è quindi la seguente:

$$e_{yy} = \frac{\partial v}{\partial y} + \frac{\left(\frac{\partial u}{\partial y}\right)^2 + \left(\frac{\partial v}{\partial y}\right)^2}{2}$$

Tramite l'implementazione di tale formula, il software DIC calcola per ciascun fotogramma acquisito una mappa rappresentativa delle deformazioni per tutta la superficie del provino.

Naturalmente possiamo osservare come ad un provino in stato indeformato, fotografato dalle telecamere prima dell'inizio della prova meccanica, corrisponda una mappa deformativa nulla (figura 4.3). È evidente come il sistema ottico non abbia rilevato alcuno spostamento di ciascun elemento del pattern e, quindi, alcuna deformazione (e_{yy} -Lagrange assume valore pari a zero per tutta la superficie del provino), producendo una mappa unicamente di colore verde.

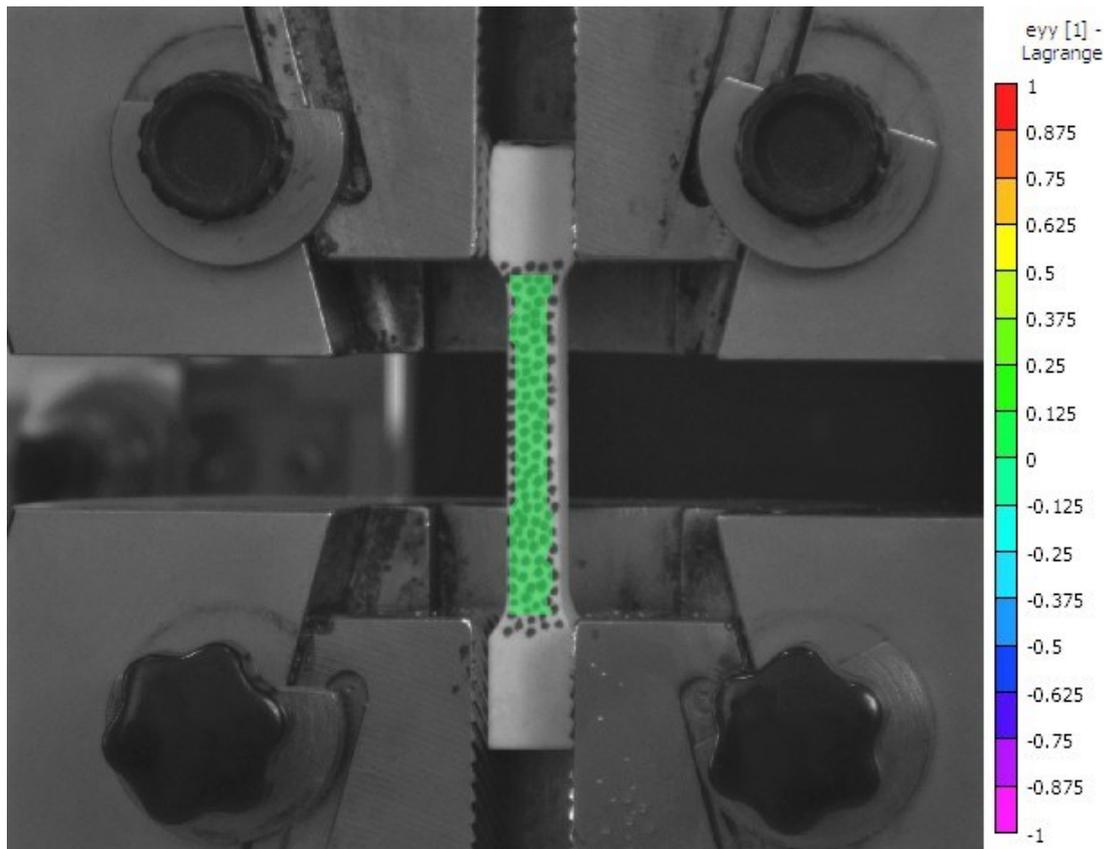


Figura 4.3: Mappa deformativa per il provino in esame, prima dell'inizio della prova meccanica.

Al progredire della prova meccanica si ha la corrispondente intensificazione dello stato deformativo, che si distribuisce in maniera teoricamente uniforme all'interno del volume del campione sotto sforzo. Questo fenomeno comincia con l'applicazione del carico di trazione all'estremità superiore, ove il provino è ammorsato e vincolato alla traversa mobile, e termina con la rottura del provino stesso.

Come anticipato, è possibile ispezionare lo stato meccanico di qualsiasi punto appartenente alla superficie del provino, nonché introdurre strumenti utili nel fornire informazioni più complete. A questo scopo ho deciso di inserire un estensimetro virtuale ("L0" in figura 4.4) il quale, accoppiato ad una mappa deformativa del provino, mi ha consentito di ottenere informazioni riguardo la distribuzione delle deformazioni all'interno dello stesso. In questo modo è possibile ispezionare e tracciare un grafico dell'intensità dello stato deformativo al variare della coordinata y . Notiamo

ad esempio, nell'immagine seguente, come ai capi di tale estensimetro venga misurata una deformazione locale differente, rappresentata mediante colori diversi secondo la scala graduata sul margine destro.

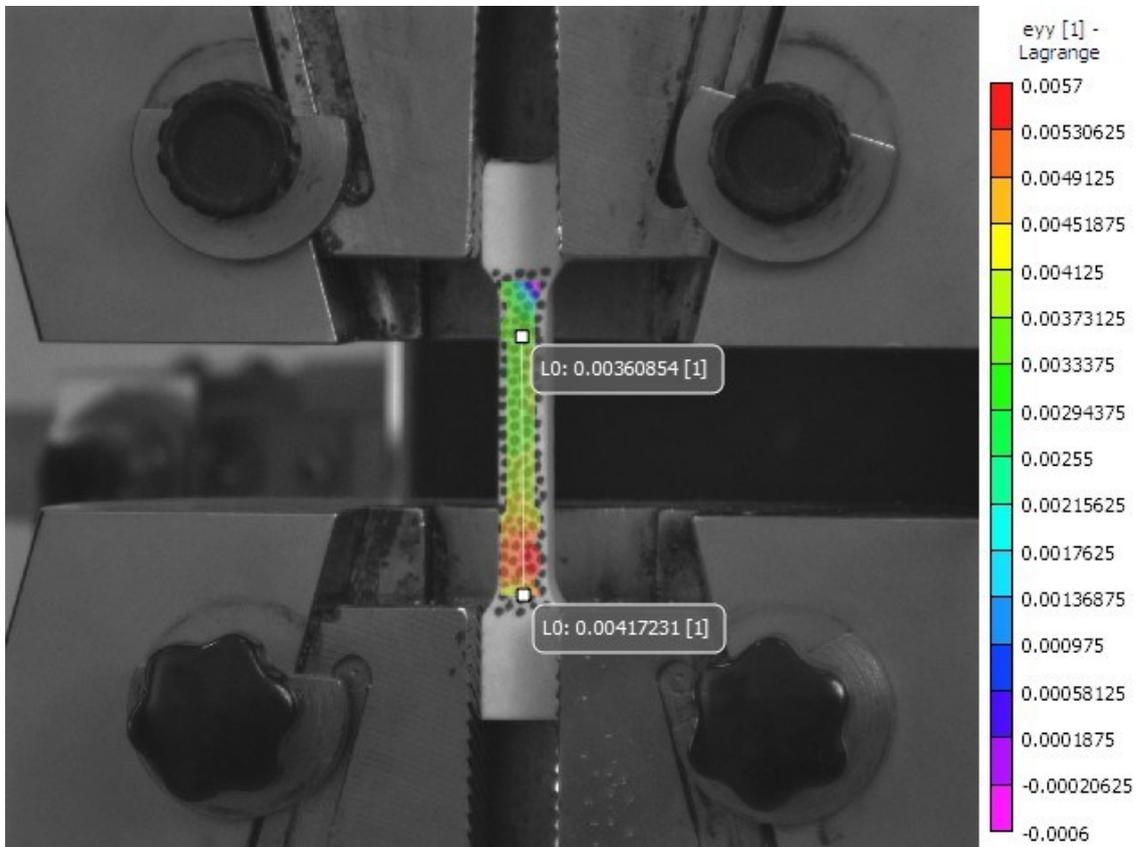


Figura 4.4: Mappa deformativa con individuazione di un estensimetro virtuale.

Nella figura seguente (figura 4.5) è possibile osservare la mappa delle deformazioni che si sviluppano all'interno del provino, un istante prima che questo si rompa. Per effettuare ciò ho selezionato l'ultimo fotogramma scattato prima della rottura, sfogliando la serie di fotografie acquisite durante tutta la prova, ed elaborando tale immagine ai fini dell'ottenimento della mappa. Si nota come il sistema ottico abbia rilevato una concentrazione dello stress, e quindi dello stato deformativo, in una zona ben precisa del campione. In realtà quindi scopriamo come le tensioni non vengano distribuite omogeneamente all'interno del volume, bensì vi sono una serie di fattori che inevitabilmente causano un comportamento che si scosta da quello ideale. Qualità di lavorazione dei provini, geometria ma anche omogeneità della microstruttura

interna (l'osso è un tessuto biologico e dunque può presentare una certa variabilità strutturale) sono i principali indiziati alla base di tale fenomeno.

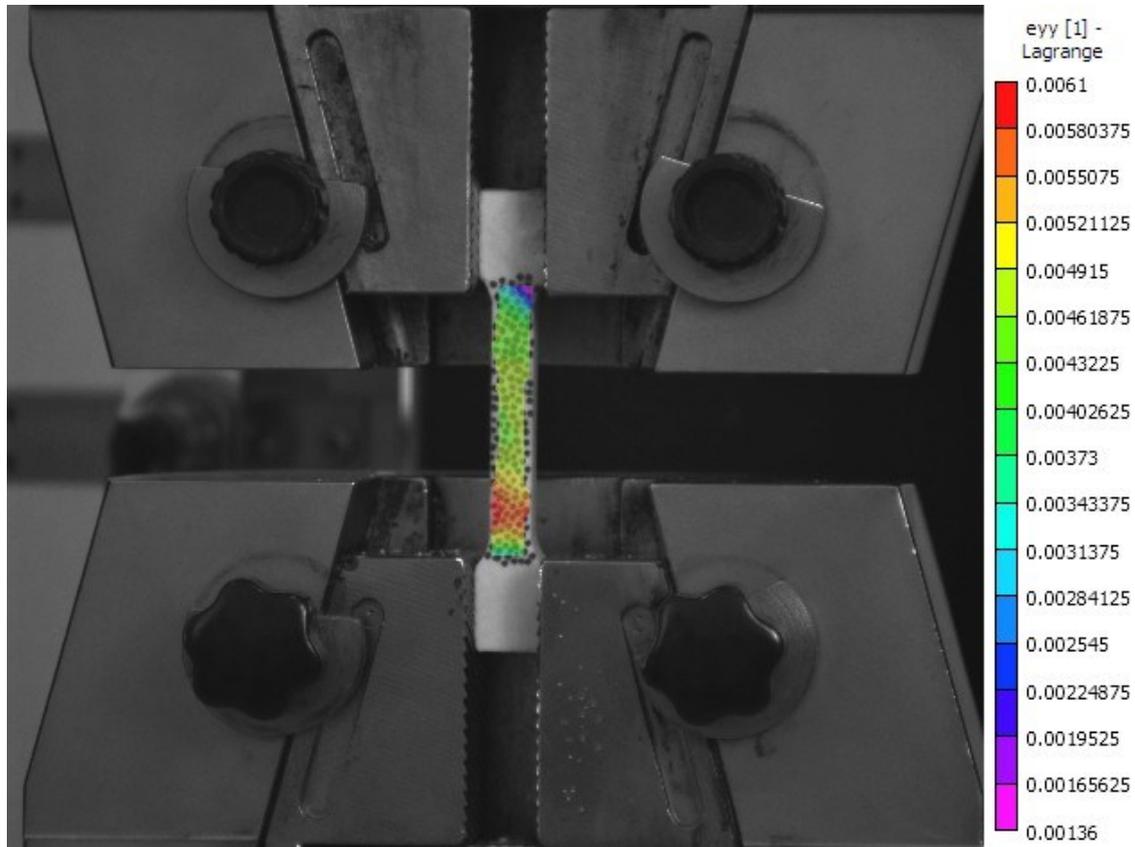


Figura 4.5: Mappa deformativa ottenuta dal software Vic-3D

Questa immagine rappresenta quindi il livello deformativo massimo raggiunto durante la prova per il provino in esame, cui segue nella seguente il cedimento (figura 4.6).

Si nota come la frattura è avvenuta in corrispondenza dell'unica zona caratterizzata da un'intensa colorazione rossa nella mappa precedente, confermando le analisi effettuate dalla DIC. Considero questo un buon risultato, che mi ha permesso di verificare la corretta implementazione del sistema di correlazione di immagini e la sua precisione nella distinzione della concentrazione degli stati deformativi all'interno di piccoli volumi.

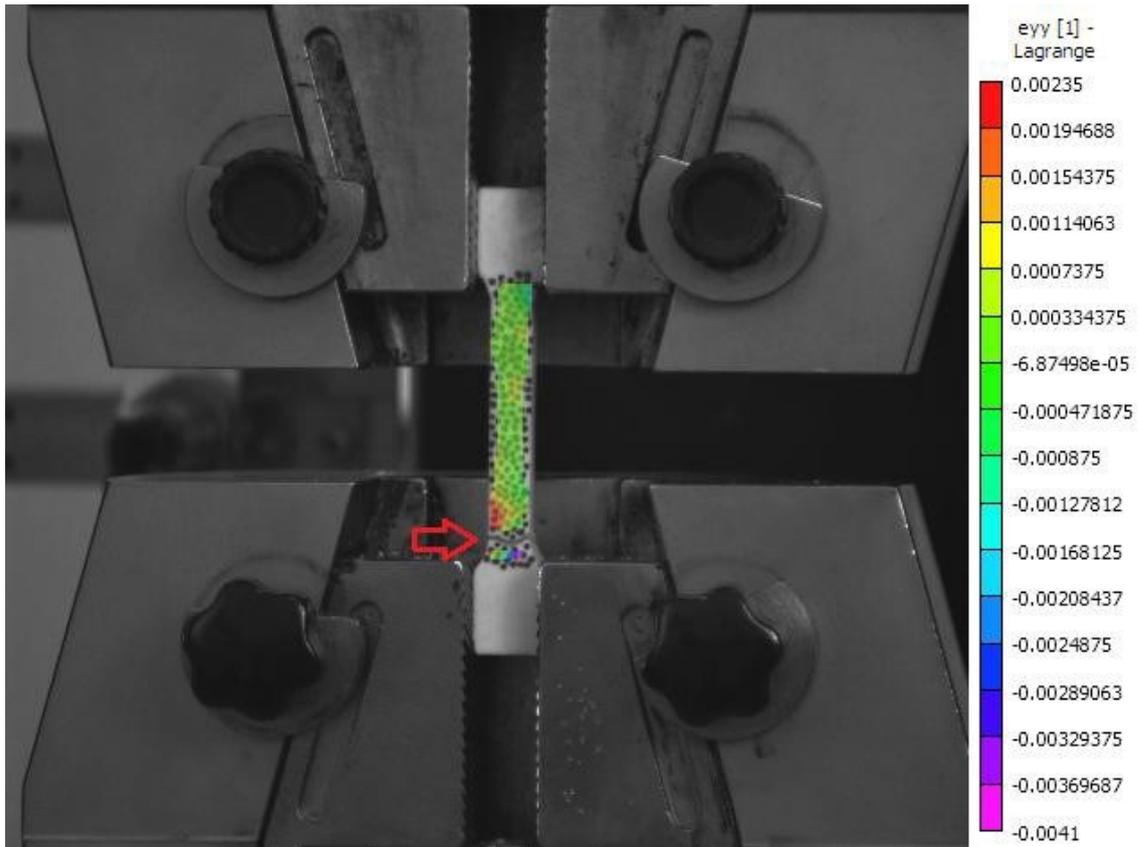


Figura 4.6: Mappa deformativa ottenuta dal software Vic-3D

Si può osservare come la rottura sia generata dalla nascita di una netta frattura che si estende ortogonalmente alla direzione di trazione, attraversando l'intero provino. Questo fenomeno viene innescato dalla propagazione di una cricca, la cui dilatazione comporta il cedimento dell'intera microstruttura.

4.2.2 Analisi delle curve di trazione

Sebbene le mappe degli spostamenti e delle deformazioni forniscano molte informazioni relative allo stato meccanico del provino sotto sforzo, è bene ricordare che tutto ciò che viene mostrato si riferisce ad un momento particolare della prova meccanica, istante in cui viene scattata la fotografia. Dunque, per comprendere appieno il comportamento del tessuto osseo a trazione sarebbe necessario analizzare decine di immagini. Per meglio visualizzare tale comportamento al progredire della prova meccanica, e quindi, della deformazione risultante (la sperimentazione è definita a

controllo di spostamento), ho deciso di riportare ed analizzare anche le curve di trazione prodotte dal software della macchina. Questi grafici esprimono l'andamento della tensione misurata dalla cella di carico al variare della corsa della traversa mobile.

L'immagine seguente (figura 4.7) riporta la curva ottenuta per il provino di cui ho precedentemente illustrato le mappe degli spostamenti e delle deformazioni.

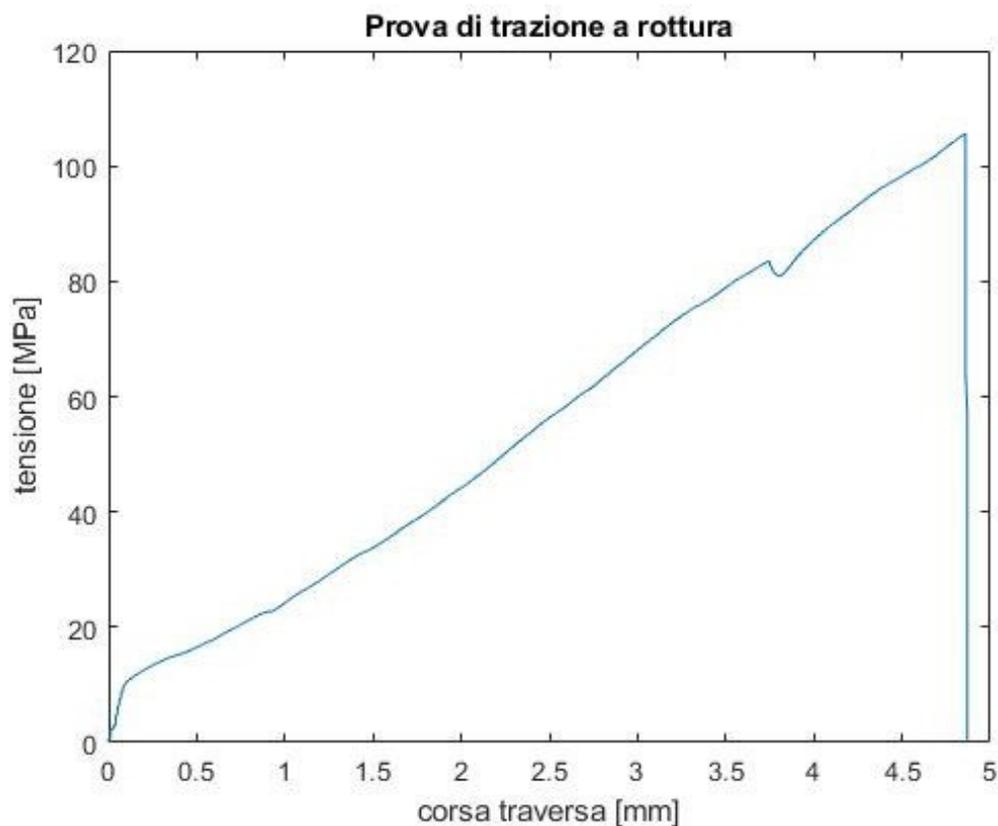


Figura 4.7: Curva di trazione relativa ad un provino di tessuto osseo corticale, ottenuta in output dal sistema di acquisizione dati della macchina.

Analizzando il grafico notiamo come questo possa essere suddiviso in due regioni. Il primo tratto, di breve entità, esprime la deformazione elastica registrata entro il provino, in cui si ha una vera e propria relazione lineare tra tensione e deformazione. Raggiunta poi una particolare intensità di sollecitazione (snervamento), osserviamo come un ulteriore aumento della stessa comporti una variata risposta meccanica, in cui piccoli carichi aggiuntivi producono un maggiore allungamento del provino, a

causa dell'accumulo di danni (microcricche) nel materiale e conseguente diminuzione della sua rigidità. La transizione in regione plastica inoltre mostra un comportamento di tipo incoerente, espresso mediante l'incremento dello stress al progredire della deformazione. Questo risulta particolarmente evidente nel momento in cui il tessuto comincia a cedere: si verificano fluttuazioni nell'andamento della curva, seguite da un aumento complessivo della resistenza a rottura. Questa avviene in un istante ben preciso della sperimentazione a causa del cedimento dell'intera struttura ossea, comportando la separazione del tessuto ancorato alle due traverse e il conseguente crollo verticale della tensione nel grafico. Possiamo inoltre osservare come tale comportamento sia fedelmente riprodotto in fase di sperimentazione di altri provini, le cui curve possiedono lo stesso andamento (vedi figura 4.8).

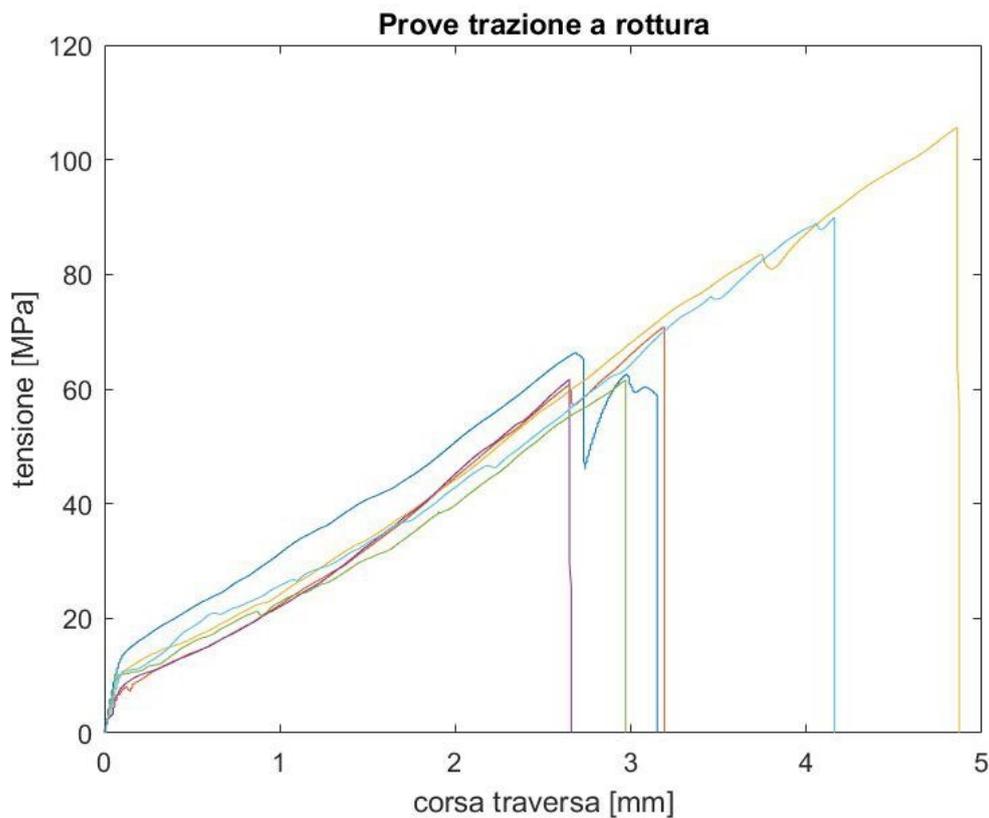


Figura 4.8: Curve di trazione relative a 6 provini, eseguite in un'unica sessione di prove sperimentali.

Nell'immagine si nota come, per diversi provini testati, le curve ottenute presen-

tino notevoli caratteristiche simili:

- la fase elastica iniziale è risultata sovrapposta nella maggior parte dei casi;
- i provini hanno subito lo snervamento in corrispondenza di deformazioni molto simili;
- l'evoluzione dei grafici in fase plastica risulta essere la medesima, con una inclinazione della curva pressoché identica, indice della stessa rigidità del tessuto dopo lo snervamento;

La proprietà del tessuto che assume maggiore variabilità è la resistenza a rottura. Ricordo che la microstruttura del tessuto osseo è particolarmente influenzata dallo stato meccanico tensionale locale che si sviluppa in vivo. Dunque, una differenza nella precisa zona di estrazione dei campioni ossei può generare provini con proprietà meccaniche leggermente diverse.

Per assicurarmi di aver avuto una transizione da fase elastica a fase plastica della deformazione, ho deciso di effettuare diverse prove di carico-scarico su una parte dei provini. Ad esempio, nell'immagine che segue, figura 4.9, ho riportato il grafico che esprime la tensione misurata dalla cella di carico al variare della posizione della traversa in una prova di carico e successivo scarico, senza quindi raggiungere la rottura del campione. Al termine della prova, quando il sistema ha quindi raggiunto l'equilibrio misurando un valore di tensione nullo, ho subito verificato la presenza di una deformazione residua, indice della plasticizzazione del tessuto durante l'esperimento.

Ulteriore informazione estratta tramite l'analisi di questa tipologia di grafico risulta essere la variazione del coefficiente angolare nel tratto rettilineo di recupero elastico rispetto a quello di carico. Si nota infatti nella seguente immagine come, nella fase di recupero della deformazione, sotto ad una determinata soglia di tensione, la curva assuma nuovamente un andamento lineare, caratterizzato però da una pendenza inferiore rispetto al tratto iniziale di carico.

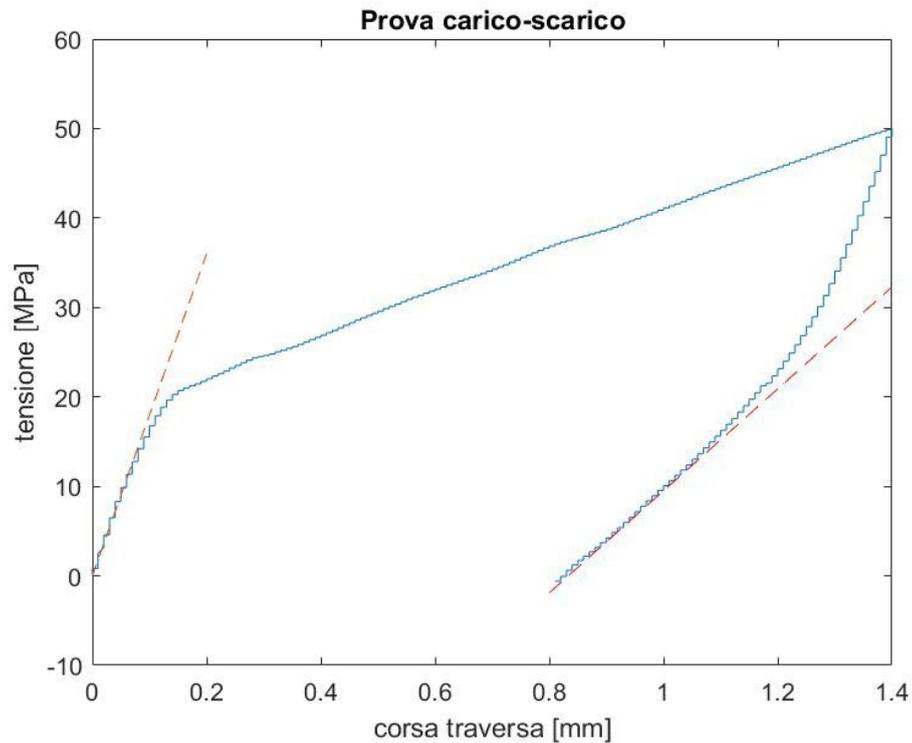


Figura 4.9: Curva relativa a test di carico-scarico

La riduzione nella pendenza della curva nella fase di recupero elastico implica una variazione del modulo elastico del tessuto. È quindi possibile affermare che l'accumulo di deformazione plastica entro il tessuto osseo corticale ne comporta una variazione delle proprietà meccaniche.

Ripetendo la prova su ulteriori provini si conferma ciò che mostra il grafico precedente: fase iniziale elastica, snervamento, evoluzione plastica e ritorno elastico che si affianca ad una retta di pendenza inferiore (figura 4.10).

Due di questi campioni sono inoltre stati testati a rottura, dunque caricati nuovamente dopo lo scarico. In questi casi l'evoluzione del grafico ha mostrato un'ulteriore caratteristica del tessuto: l'instaurazione di un nuovo stato tensionale-deformativo ne comporta un lieve recupero di rigidità, osservabile dalle isteresi presenti nei grafici di colore rosso e verde.

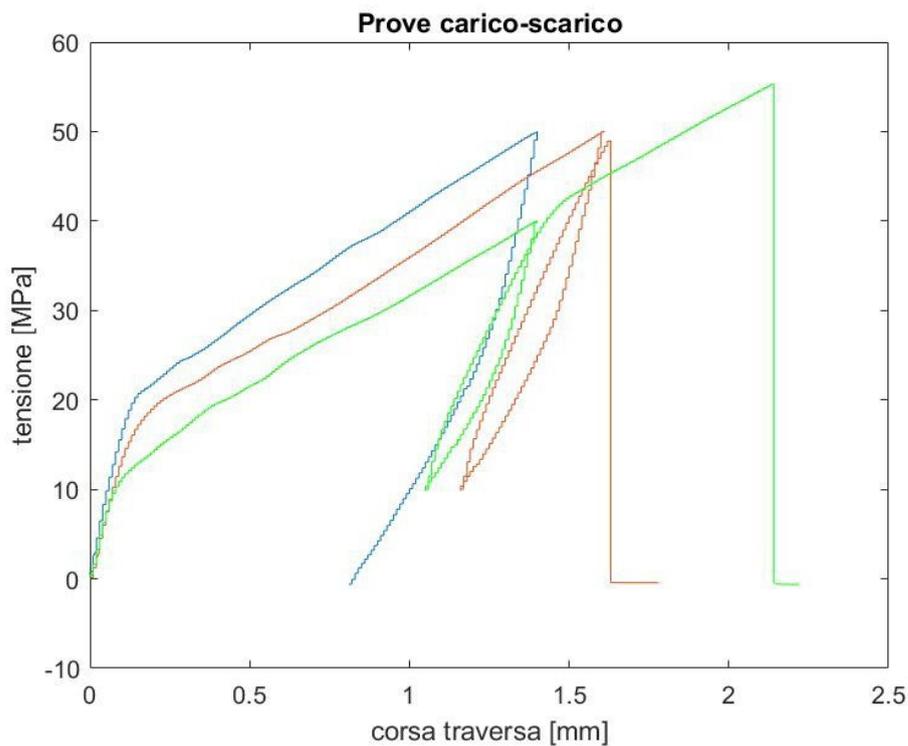


Figura 4.10: Curve carico-scarico.

É importante tenere presente che i grafici costruiti dalla macchina di trazione al termine della prova meccanica presentano valori di allungamento in ascissa che si scostano dalla reale condizione deformativa impressa sui provini. Dunque, in questa fase, l'analisi del grafico viene effettuata sull'andamento della curva (linearità, transizione plastica, incrudimento, cedimento e rottura) e relativi valori di tensione calcolati.

Dopo aver analizzato le mappe DIC e le curve di trazione relative a ciascun provino, ho infatti potuto constatare che lo spostamento della traversa include ulteriori fattori che entrano in gioco specialmente a tensioni elevate, andando a "sporcare" i dati. Valori più accurati dello stato deformativo li offre, dunque, la tecnica di correlazione di immagini, implementata in questo studio proprio a questo scopo.

Capitolo 5

Conclusioni e sviluppi futuri

In questo elaborato sono state descritte le attività svolte principalmente presso il laboratorio dell'università di Padova, allo scopo di preparare la mia tesi di laurea magistrale in bioingegneria. Ulteriori stadi della sperimentazione, con particolare riferimento alla preparazione dei campioni di tessuto osseo, sono avvenuti fuori dall'ambiente universitario, presso l'azienda Rivit in provincia di Vicenza, dotata di macchinari per il taglio ad acqua e la fresatura, sfruttati per la sagomatura dei provini. Nel laboratorio di Padova è infatti in corso un'attività di ricerca mirata a studiare le caratteristiche del tessuto osseo corticale con particolare attenzione alla correlazione della risposta meccanica con l'accumulo di deformazione plastica entro il tessuto stesso, di cui ho semplicemente accennato nel mio elaborato, e alla definizione di un modello matematico che interpreti tale risposta. All'interno di questo progetto si è inserito il mio operato, allo scopo di stabilire un protocollo atto alla definizione di linee guida per lo studio del tessuto osseo corticale tramite test meccanici. Dopo aver definito la procedura sperimentale necessaria per estrazione, sagomatura e lavorazione dei provini, segue l'implementazione del sistema DIC: un sistema ottico basato sulla correlazione digitale di immagini. Questo si è rivelato uno strumento potente nell'analisi del comportamento meccanico e sicuramente fornirà una notevole quantità di informazioni utili ai fini dell'analisi approfondita del comportamento meccanico dell'osso corticale.

Dai risultati ottenuti innanzitutto è stato verificato il corretto svolgimento delle pro-

ve meccaniche. La strumentazione individuata e adottata dal personale tecnico si è rivelata adatta alle esigenze della sperimentazione, sia dal punto di vista hardware (macchina di trazione Galdabini, sistema DIC) che software (programmi per acquisizione dei dati e post-elaborazione). Inoltre, grazie ai test preliminari è emerso che la realizzazione manuale del pattern DIC consente una buona identificazione della superficie del provino, garantendo per ogni frame lo sviluppo di una mappa degli spostamenti e delle deformazioni. L'ulteriore analisi delle curve di trazione ha confermato la validità del protocollo sperimentale proposto, permettendo di ottenere grafici confrontabili. Il fattore che si è rivelato più variabile è la resistenza a rottura dei provini che, come già affermato, si è ipotizzato essere correlato alla precisa zona di estrazione dei campioni ossei. Tale aspetto potrebbe trovare un riscontro nelle ulteriori indagini che verranno condotte nel progetto tutt'ora in corso. Per concludere posso affermare che il lavoro presentato in questa tesi sperimentale sarà utilizzato come base su cui procedere per il progetto di ricerca in corso, essendo quindi possibile concentrarsi esclusivamente sul comportamento meccanico del tessuto in esame, con particolare attenzione agli effetti indotti sulle sue proprietà in seguito all'accumulo entro la microstruttura di una deformazione plastica.

Bibliografia

Gong, J. K., J. S. Arnold, and S. H. Cohn. "Composition of trabecular and cortical bone." *The Anatomical Record* 149.3 (1964): 325-331.

Rey, Christian, et al. "Bone mineral: update on chemical composition and structure." *Osteoporosis international* 20.6 (2009): 1013-1021.

Gong, J. K., J. S. Arnold, and S. H. Cohn. "Composition of trabecular and cortical bone." *The Anatomical Record* 149.3 (1964): 325-331.

Ott, Susan M. "Cortical or trabecular bone: what's the difference?." *American journal of nephrology* 47.6 (2018): 373-376.

Chang, Bei, and Xiaohua Liu. "Osteon: Structure, Turnover, and Regeneration." *Tissue Engineering Part B: Reviews* (2021).

Weiner, Steve, Wolfie Traub, and H. Daniel Wagner. "Lamellar bone: structure–function relations." *Journal of structural biology* 126.3 (1999): 241-255.

Keaveny, Tony M., et al. "Biomechanics of trabecular bone." *Annual review of biomedical engineering* 3.1 (2001): 307-333.

Libonati, Flavia, and Laura Maria Vergani. "Studio del comportamento meccanico dell'osso corticale." *AIAS 2014. ITA*, 2014.

Wagner, H. Daniel, and Steve Weiner. "On the relationship between the microstructure of bone and its mechanical stiffness." *Journal of Biomechanics* 25.11 (1992): 1311-1320.

Zioupos, P., and J. D. Currey. "Changes in the stiffness, strength, and toughness of human cortical bone with age." *Bone* 22.1 (1998): 57-66.

Parra, C. Garcia, et al. "Le fratture da fragilità ossea: l'incompetenza meccanica del tessuto scheletrico." *Osteoporosi: le nuove prospettive in ortopedia e traumatologia*. Springer, Milano, 2006. 35-46.

Verdoia, Cesare, Costantino Corradini, and Luca Pietrogrande. "Osteoporosi e fratture da fragilità." *Ortopedia* (2013): 57.

Van Oostwaard M. (2018) Osteoporosis and the Nature of Fragility Fracture: An Overview. In: Hertz K., Santy-Tomlinson J. (eds) *Fragility Fracture Nursing. Perspectives in Nursing Management and Care for Older Adults*. Springer, Cham.

Fratzl, Peter. "Collagen: structure and mechanics, an introduction." *Collagen*. Springer, Boston, MA, 2008. 1-13.

Casolo, Federico. "Influenza di fattori meccanici sul rimodellamento osseo." (1990): 1-38.

Toni, Roberto. "Il rimodellamento osseo e l'osteoporosi." *L'Endocrinologo* 16.5 (2015): 224-227.

Hart, Richard T., D. T. Davy, and K. G. Heiple. "Mathematical modeling and numerical solutions for functionally dependent bone remodeling." *Calcified tissue*

international 36.1 (1984): S104-S109.

Katz, J. Lawrence, and Alain Meunier. "The elastic anisotropy of bone." *Journal of biomechanics* 20.11-12 (1987): 1063-1070.

Yamashita, Junro, et al. "Collagen and bone viscoelasticity: a dynamic mechanical analysis." *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials* 63.1 (2002): 31-36.

Reilly, Donald T., Albert H. Burstein, and Victor H. Frankel. "The elastic modulus for bone." *Journal of biomechanics* 7.3 (1974): 271-275.

Chu, T. C., W. F. Ranson, and Michael A. Sutton. "Applications of digital-image-correlation techniques to experimental mechanics." *Experimental mechanics* 25.3 (1985): 232-244.

Pan, Bing, et al. "Two-dimensional digital image correlation for in-plane displacement and strain measurement: a review." *Measurement science and technology* 20.6 (2009): 062001.

Sebastian, C., and E. A. Patterson. "Calibration of a digital image correlation system." *Experimental Techniques* 39.1 (2015): 21-29.

Lecompte, David, et al. "Quality assessment of speckle patterns for digital image correlation." *Optics and lasers in Engineering* 44.11 (2006): 1132-1145.

Pan, Bing, et al. "Study on subset size selection in digital image correlation for speckle patterns." *Optics express* 16.10 (2008): 7037-7048.

Dong, Y. L., and Bing Pan. "A review of speckle pattern fabrication and assessment for digital image correlation." *Experimental Mechanics* 57.8 (2017): 1161-1181.

Kaye, Bryan, et al. "The effects of freezing on the mechanical properties of bone." *The Open Bone Journal* 4.1 (2012).

Bembey, A. K., et al. "Hydration effects on the micro-mechanical properties of bone." *Journal of Materials Research* 21.8 (2006): 1962-1968.