



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Ingegneria dell'Informazione

Dipartimento di Ingegneria Industriale

Corso di Laurea Magistrale in Bioingegneria

**DISPOSITIVI BIORIASSORBIBILI PER
APPLICAZIONI ORTOPEDICHE:
CARATTERIZZAZIONE CHIMICO-FISICA
E MECCANICA
DOPO STERILIZZAZIONE E
DEGRADAZIONE IN VITRO**

Relatore: Ch.mo Prof Andrea Bagno

Correlatore: Dott. Francesco Segatti

Laureanda: Fabiana Pavan

Anno Accademico 2012/2013

Ringraziamenti

Desidero ringraziare il Professor Andrea Bagno per la disponibilità e professionalità dimostratami durante il percorso di Studi e la stesura degli elaborati finali. Particolarmente sentita, poi, è la gratitudine nei confronti del Dottor Francesco Segatti, Research Project Manager presso LimaCorporate, che in qualità di tutor aziendale mi ha supportata (e sopportata) durante tutto lo svolgimento degli stage ed è stato sempre disponibile ad aiutarmi e rispondere alle mie domande. Stimolandomi a migliorare e superare i miei limiti, ha, infatti, dato un contributo importante alla mia crescita sia professionale che personale. Un ringraziamento doveroso va all'azienda LimaCorporate, per avermi offerto nuovamente la possibilità di essere inserita in una realtà formativa e stimolante, e a tutto lo Staff che mi ha fornito supporto e collaborazione nella stesura di questo elaborato. Un ringraziamento speciale ai miei genitori e mia sorella, perché è grazie ai loro sacrifici se ho avuto la possibilità di raggiungere questo traguardo. Un grazie ad Alberto per essersi dimostrato molto paziente e comprensivo, soprattutto nell'ultimo periodo. Ringrazio anche Silvia, per avermi accolto senza esitazioni come coinquilina, aver reso la convivenza una bellissima esperienza e, insieme alle Vici Emanuela ed Elena, avermi fatto sentire come a casa.

Infine ringrazio tutti coloro che mi hanno sostenuta e incoraggiata nel lungo percorso che mi ha portato a raggiungere questo obiettivo.

Indice

1. Introduzione	1
2. Materiali biorisorbibili per applicazioni biomediche	3
2.1 Materiali Polimerici	5
2.2 Poliesteri dell'acido lattico	9
2.3 P(L/DL)LA	12
3. Dispositivi per applicazioni ortopediche	17
4. Degradazione	23
5. Parte sperimentale	29
5.1 Test di degradazione in vitro	29
5.1.1 Spettrofotometria UV-Vis	38
5.1.2 Spettrometria FT-IR	40
5.1.3 Calorimetria a Scansione Differenziale (DSC)	43
5.1.4 Viscosità inerente	45
5.1.5 Test meccanici	49
5.2 Sterilizzazione	60
5.2.1 Cenni di sterilizzazione dei dispositivi biomedici	60
5.2.2 Caratterizzazione dei dispositivi sterilizzati	64
6. Risultati	69
6.1 Risultati test di degradazione in vitro	69
6.1.1 Analisi dimensionali e gravimetriche	69
6.1.2 Analisi spettrofotometrica UV-Vis	72
6.1.3 Analisi spettrometrica FT-IR	75
6.1.4 Analisi calorimetrica a scansione differenziale	79
6.1.5 Analisi di viscosità inerente	86
6.1.6 Test meccanici	87
6.2 Risultati sterilizzazione	93
6.2.1 Analisi di viscosità inerente	93
6.2.2 Analisi spettrometrica FT-IR	98

6.2.3	Analisi calorimetrica a scansione differenziale	103
6.2.4	Test meccanici	112
7.	Conclusioni	115
	Appendice	119
	Bibliografia	123

CAPITOLO 1

Introduzione

In ambito ortopedico, lo sviluppo di avanzate tecniche d'intervento chirurgico viene supportato e favorito dal progresso della ricerca nel campo dei biomateriali. Dispositivi impiantabili innovativi per geometrie e materiali vedono una sempre più ampia diffusione, rispondendo alle esigenze di miglioramento delle prestazioni e di minore invasività. L'utilizzo tradizionale di materiali metallici per la realizzazione di impianti per la cura e il trattamento di tessuti e organi, ha lasciato spazio, gradualmente e soprattutto in tempi recenti, all'applicazione dei polimeri biorassorbibili. Trattandosi di materiali che, dopo un periodo programmato, una volta espletata la loro funzione, vengono assorbiti dall'organismo, presentano il notevole vantaggio, a differenza degli impianti metallici, di non richiedere un intervento chirurgico di rimozione, a favore del recupero funzionale e della salute del paziente. Nonostante trovino già largo utilizzo in traumatologia, nella rigenerazione tissutale e nel rilascio controllato di farmaci, i polimeri biorassorbibili continuano ad essere oggetto di studio, con l'obiettivo di comprenderne al meglio il comportamento e realizzare dispositivi sempre più efficienti ed efficaci.

È in questo ambito di ricerca che si inserisce l'attività di tirocinio, i cui risultati sono presentati in questo elaborato, svolta presso lo stabilimento Limacorporate di Villanova di San Daniele del Friuli: si tratta di un'azienda che opera da oltre 60 anni nel settore medicale, nella ricerca, progettazione, produzione e distribuzione di protesi ortopediche e relativi strumentari chirurgici, sistemi e accessori per trauma e biomateriali. In particolare lo stabilimento di San Marino è dedicato alla produzione di sistemi per osteosintesi come placche, viti e chiodi, realizzati tramite stampaggio a iniezione di materiali polimerici termoplastici.

L'attività sperimentale svolta, si è articolata in due ambiti di studio, entrambi orientati alla valutazione dell'impatto di particolari condizioni degradative su alcuni specifici dispositivi riassorbibili per traumatologia. In particolare sono stati presi in considerazione:

- un test di degradazione in vitro che mima condizioni fisiologiche di impianto, per determinare, mediante una serie di analisi pianificate ad hoc, le variazioni che il dispositivo può subire durante la vita funzionale;
- l'influsso di sterilizzazioni eseguite tramite diverse dosi radianti Gamma e Beta sulle proprietà fisico meccaniche dei dispositivi.

Il presente elaborato riporta, nei capitoli seguenti, una panoramica descrittiva dei materiali polimerici biorassorbibili utilizzati per le applicazioni ortopediche, con particolare attenzione ad alcuni poliesteri derivati dall'acido lattico (Capitolo 2), a cui segue una breve presentazione dei dispositivi testati (Capitolo 3). Il Capitolo 4 riporta un approfondimento relativo ai meccanismi di degradazione dei polimeri, mentre i restanti capitoli 5 e 6 sono interamente dedicati alla parte sperimentale, la descrizione della pianificazione e realizzazione dei test e i risultati da essi ottenuti.

CAPITOLO 2

Materiali bioriassorbibili per applicazioni ortopediche

Lo sviluppo di biomateriali per l'applicazione in medicina è una delle più grandi sfide di ricerca nella scienza dei materiali. I biomateriali hanno origine naturale o sintetica e possono interagire con i sistemi biologici in modo temporaneo o permanente, costituendo una possibile alternativa al trattamento, riparazione e sostituzione di tessuti o organi. Le classi di materiali utilizzati per la realizzazione di dispositivi impiantabili annoverano metalli, ceramici e, più recentemente, polimeri.

Negli ultimi decenni, nel campo delle applicazioni ortopediche, si è visto accrescere l'interesse nei confronti dei polimeri bioriassorbibili, materiali che, una volta impiantati in vivo, degradano nel tempo, liberando sottoprodotti che vengono poi escreti e metabolizzati in modo innocuo per l'organismo.

Utilizzati a partire dagli anni sessanta come materiali per sutura (Dexon, Vicryl, Maxon, Monocryl, PDS, Polysorb, Biosyn), i polimeri bioriassorbibili hanno trovato, recentemente, largo impiego anche nella traumatologia, nella rigenerazione tessutale e nel rilascio controllato di farmaci (Tabella 2.1) [1-9].

In chirurgia ortopedica esempi di dispositivi bioriassorbibili utilizzati per la fissazione temporanea di tessuti sono [10-12]:

- Suture, ancore/chiodi per la fissazione di tessuti molli all'osso;
- Viti per la riparazione di legamenti;
- Pin/placche/viti per la fissazione di fratture.

Application	Trade Name	Composition	Manufacturer
Sutures	Dexon	PGA	Davis & Geck
	Maxon	PGA-TMC	Davis & Geck
	PGA Suture	PGA	Lukens
	Polysorb	PGA-PLLA	U.S. Surgical
	Vicryl	PGA-PLLA	Johnson & Johnson
Screws	Biologically Quiet	PGA-PDLLA	Instrument Makar
	Bioscrew	PLLA	Arthrex
	LactoSorb	PGA-PLLA	Biomet
	SmartScrew	PLLA	Bionx Implants
	Surgi-Wrap MAST	PLLA-PDLLA	MacroPore
Suture Anchor	Bio-Statak	PLLA	Zimmer
	Suretac	PGA-TMC	Acufex
Meniscus Staple	Meniscus Staple	PGLA	Arthrotek
Pins & Rods	Biofix	PGLA	Bioscience
	Orthosorb	poly-p-dioxanone	Johnson & Johnson
	Resor-Pin	PLLA-PDLLA	Lorenz
Plates, Mesh	SoniPin	PLA	Wood Welding SA
	HYDROSORB	PLLA-PDLLA	MacroPore
	LactoSorb	PGA-PLLA	Biomet
	Optima	PLLA-PDLLA	Inion
Spinal Cages	Surgi-Wrap MAST	PLLA-PDLLA	MacroPore
	HYDROSORB	PLLA-PDLLA	MacroPore

Tabella 2.1: esempi di dispositivi commerciali biorassorbibili.

In queste applicazioni, tradizionalmente venivano utilizzati impianti in lega di metallo e principalmente titanio; si tratta di dispositivi con una lunga storia clinica, ragionevolmente economici, semplici da produrre e formare, ma che presentano alcuni svantaggi [13-18]:

- Proprietà meccaniche superiori al tessuto ospitante e conseguente rischio di *stress shielding*: si tratta della condizione in cui, a causa della maggiore rigidità dell'impianto rispetto al tessuto circostante, si ha una iposollecitazione del tessuto osseo, che mancando del normale carico

fisiologico e delle sollecitazioni meccaniche che dovrebbero stimolarne il rimodellamento, va incontro ad atrofia e indebolimento;

- Riduzione dell'apporto di sangue al sito di impianto;
- Possibile corrosione, usura e formazione di detriti una volta cessata la vita funzionale;
- Intervento di rimozione dell'impianto.

Al fine di ovviare a tali problematiche, è risultato particolarmente adatto l'utilizzo di dispositivi biorassorbibili i quali presentano diversi vantaggi [19-21]:

- Vengono eliminati dal corpo e rimpiazzati da tessuto ospite;
- Non necessitano di una seconda procedura chirurgica per l'espanto;
- Consentono un parziale trasferimento dei carichi all'osso in guarigione e ai tessuti molli, limitando il rischio di *stress shielding*;
- Evitano le complicazioni che possono verificarsi con gli impianti metallici, quali corrosione, rilascio di ioni metallici;
- Sono compatibili con l'imaging a risonanza magnetica (MRI);
- Possono essere utilizzati per la veicolazione di agenti bioattivi come antibiotici.

I benefici per pazienti e chirurghi, uniti ai vantaggi economici per l'eliminazione di costosi interventi di rimozione, consentono, ad oggi, ai dispositivi biorassorbibili di vantare più di vent'anni di storia clinica con applicazioni di successo.

2.1 Materiali polimerici

I materiali polimerici sono composti che traggono origine dalla concatenazione di piccole unità strutturali, di varia complessità, dette *monomeri*, legate tra loro a formare lunghissime catene, che possono essere lineari, se il loro

sviluppo avviene in un'unica direzione, ramificate o reticolate se risultano strutturalmente tridimensionali.

Quando la macromolecola deriva dalla riproduzione di una singola unità ripetitiva, prende il nome di *omopolimero*, se invece deriva da un processo di polimerizzazione in sistemi contenenti miscele di due o più tipi diversi di monomeri si tratta di un *copolimero*. La copolimerizzazione è una delle tecniche più usate per sintetizzare materiali che assommino in sé le caratteristiche positive di due polimeri diversi, altrimenti difficilmente amalgamabili.

Le caratteristiche fisiche del materiale ottenuto da una reazione di polimerizzazione sono strettamente correlate al tipo di interazione chimica che si instaura tra le singole macromolecole (forze di Van der Waals, dipolo-dipolo, ioniche, legami a idrogeno, ecc.). Questa dipende, oltre che dalla specifica natura dell'interazione, dal grado di regolarità configurazionale e conformazionale delle catene polimeriche. Ciò in quanto soltanto una elevata regolarità di struttura consente l'impaccamento compatto delle catene polimeriche interagenti con la possibilità d'instaurare forti interazioni. Sono rari i casi in cui il polimero assume le conformazioni limite corrispondenti al perfetto stato cristallino o completamente amorfo. Generalmente la tipica struttura che viene adottata è quella semicristallina: essa è caratterizzata dalla presenza di zone cristalline, dette *cristalliti*, che presentano una distribuzione geometrica regolare delle molecole nelle celle del reticolo, inserite in una massa amorfa.

Il grado di cristallinità di un polimero è definito come la percentuale in peso di sostanza allo stato cristallino rispetto al peso totale. Esso dipende dalla struttura delle molecole componenti e dalla storia meccanica e termica della sostanza: alcune lavorazioni, infatti, come laminazione ed estrusione eseguite ad alte temperature, tendono ad orientare le catene, favorendo la formazione di regioni cristalline.

Generalmente nei polimeri a struttura lineare non ramificata si ha un elevato grado di cristallinità, e quindi maggiore impaccamento delle catene e conseguente aumento della densità, rigidità, durezza, resistenza all'attrito, all'usura, alla

corrosione e alla deformazione. Il grado di cristallinità è invece molto più basso per i composti fortemente asimmetrici, molto ramificati o reticolati.

Il modello generalmente assunto per i polimeri semicristallini è quello micellare, in cui l'arrangiamento delle catene nelle regioni cristalline è visto come una combinazione di catene estese e di catene ripiegate, mentre nel modello classico le zone cristalline sono rappresentate esclusivamente da catene estese (Figura 2.1).

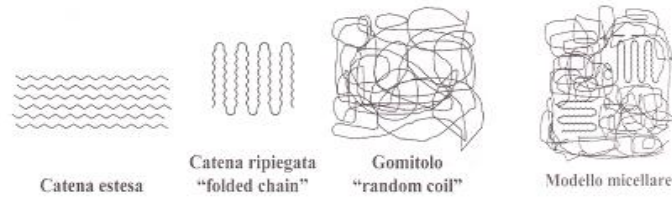


Figura 2.1: esempi di strutture polimeriche.

Le proprietà fisiche dei polimeri dipendono da svariati fattori, tra cui il grado di polimerizzazione, il peso molecolare, la temperatura, l'arrangiamento delle catene e la composizione chimica.

Il grado di polimerizzazione (DP) è definito come il numero di unità monomeriche per catena lineare di polimero e il suo valore, moltiplicato per il peso molecolare del monomero, fornisce il peso molecolare del polimero.

Per bassi valori di peso molecolare, un polimero possiede resistenza meccanica quasi nulla, ossia si lascia deformare senza opporre resistenza, mentre, al crescere del peso molecolare, si assiste ad un aumento della resistenza e della viscosità e, quindi, ad una minore deformabilità, in risposta all'applicazione di un carico (Figura 2.2).

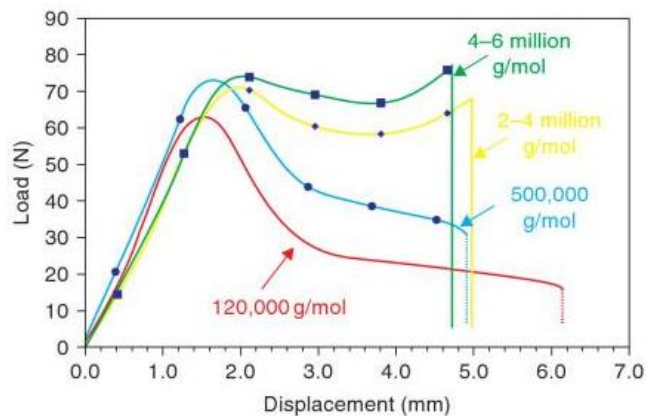


Figura 2.2: esempio di correlazione tra peso molecolare e proprietà meccaniche: andamento della risposta meccanica di polietilene a diverso peso molecolare sottoposto a punch test.

Uno dei fattori determinanti nell'influenzare lo stato fisico e le proprietà meccaniche dei materiali, è la dipendenza dalla temperatura che, per i polimeri, è strettamente correlata alla struttura degli stessi; ad esempio, mentre i materiali cristallini alla temperatura di fusione passano direttamente dallo stato solido allo stato liquido, nel caso di materiali amorfi o scarsamente cristallini il passaggio risulta più complicato, a causa della ridotta mobilità delle molecole costituenti.

I materiali polimerici amorfi, all'aumentare della temperatura presentano due transizioni, in corrispondenza di due temperature, dette rispettivamente *transizione vetrosa* (T_g) e *di rammollimento* (T_r). La transizione vetrosa T_g costituisce il passaggio da una situazione in cui il polimero è relativamente rigido (stato vetroso), ad una situazione di notevole malleabilità (stato gommoso). La *temperatura di rammollimento* T_r , invece, rappresenta la transizione dallo stato gommoso a quello liquido (Figura 2.3). Per i polimeri parzialmente cristallini si ha soltanto una leggera variazione delle proprietà meccaniche alla transizione vetrosa, mentre queste peggiorano decisamente quando il polimero, raggiunta la *temperatura di fusione* T_m , fonde.

Nel caso dei polimeri reticolati, invece, non è possibile identificare le transizioni vetrosa e di rammollimento e non ci sono sensibili variazioni meccaniche all'aumentare della temperatura (fino al limite della stabilità chimica).

Per ogni polimero esiste una *temperatura limite di stabilità chimica* (T_L), oltre la quale il polimero subisce trasformazioni irreversibili e degradazioni.

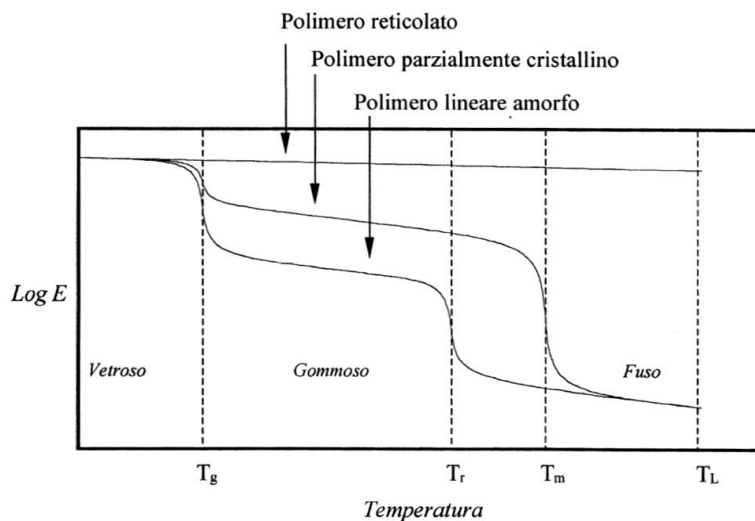


Figura 2.3: stato fisico dei materiali polimerici in funzione della temperatura: le transizioni di stato

In base alle proprietà termiche, quindi, i polimeri vengono classificati in:

- *polimeri termoplastici*: costituiti da catene lineari o ramificati, hanno T_g e T_r ben definite e sono facilmente modellabili plasticamente nell'intervallo tra le due temperature;
- *polimeri termoindurenti*: formati da catene reticolate, dopo il processo di produzione non sono più modellabili e un innalzamento di temperatura comporta un loro ulteriore indurimento (in quanto aumenta la reticolazione delle catene).

La conoscenza delle temperature di transizione vetrosa e di rammollimento è di notevole interesse tecnologico ed applicativo: esse devono essere note per la realizzazione dei processi di produzione e lavorazione nonché per l'uso al quale i materiali sono destinati.

2.2 Poliesteri dell'acido lattico

Come tutti i materiali destinati a costituire dispositivi impiantabili, anche i polimeri biorassorbibili devono rispondere a requisiti biologici e tecnici, per poter essere considerati idonei e approvati: non devono indurre risposte infiammatorie avverse o reazioni da corpo estraneo, non devono essere carcinogenici, mutagenici o teratogenici, non devono causare allergie, ipersensibilità o risposte tossiche o attivare il sistema del complemento [22]. Oltre al requisito di biocompatibilità del materiale, agli impianti che si ottengono dalla lavorazione dei polimeri, è richiesto di mantenere proprietà meccaniche adeguate in vivo per il tempo richiesto al consolidamento della frattura ossea e di degradare ad una velocità che consenta l'efficace metabolizzazione dei prodotti di degradazione [23].

Tra i polimeri sintetici biodegradabili che soddisfano questi requisiti, quelli di maggior interesse e già utilizzati in ambito clinico appartengono alla famiglia dei poliesteri: si tratta in particolare di acido poli-lattico (PLA), acido poliglicolico (PGA) e i loro copolimeri. Tra gli altri vi sono poi il policaprolattone (PCL), polidiossano (PDS) e poli-trimetilene carbonato (TMC) [24-25]. Questi materiali

trovano applicazione in ambito clinico nelle suture riassorbibili, sistemi per il rilascio controllato di farmaci, nei dispositivi ortopedici di fissaggio, come pin, viti, placche e, più recentemente, nel *tissue engineering* (Figura 2.4) [26 -28]. L'interesse nei loro confronti è dato dalla loro semplicità di degradazione, tramite idrolisi dei legami esterei, il metabolismo dei prodotti di degradazione e la possibilità di modificarne la struttura, per alterare la velocità di degradazione.

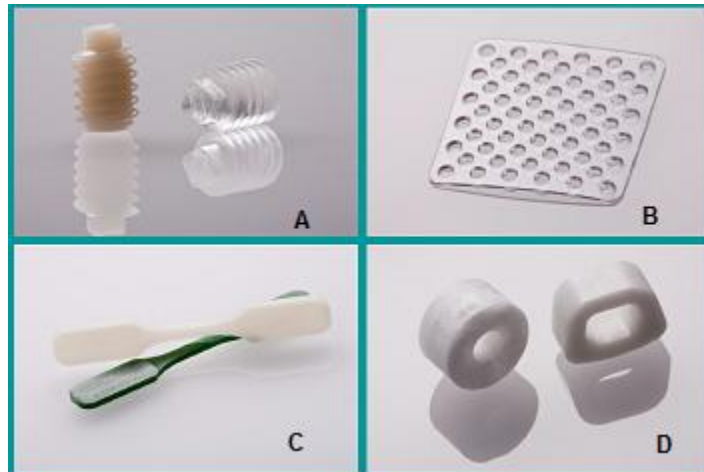


Figura 2.4: esempi di dispositivi realizzati con poliesteri: viti ad interferenza (A), placca di sutura (B), provini per test meccanici (C), gabbie intersomatiche (D)

L'acido poliglicolico (PGA) è il poliesteri alifatico più semplice; può essere sintetizzato tramite condensazione o polimerizzazione ad apertura dell'anello del glicolide, il diestere ciclico dell'acido glicolico (Figura 2.5). Il PGA è un polimero altamente cristallino, scarsamente solubile in solventi organici, completamente riassorbibile dal metabolismo umano. Nel corpo, infatti, viene degradato da parte di un'esterasi, che idrolizza i legami esterei, a formare unità monomeriche di acido glicolico, il quale viene in parte eliminato per via renale e in parte trasformato, mediante specifiche reazioni biosintetiche, in acido piruvico, per entrare infine nel ciclo di Krebs. Utilizzato inizialmente nel campo delle suture biodegradabili, oggi trova impiego anche nel settore dell'ingegneria dei tessuti e nel rilascio controllato di farmaci [29].

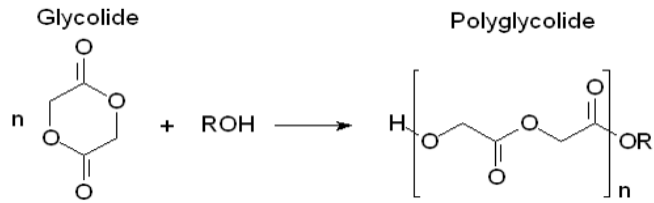


Figura 2.5: polimerizzazione del glicolide.

L'acido polilattico (PLA) viene ottenuto per polimerizzazione dell'acido lattico, ottenuto per fermentazione di zuccheri (destrosio, glucosio e saccarosio) estratti da farina di granturco, barbabietole da zucchero o amido di frumento (Figura 2.6). A seconda degli isomeri di acido lattico utilizzati si possono ottenere diversi polimeri con caratteristiche e proprietà meccaniche differenti, che trovano applicazione nei dispositivi ortopedici. Degradato in acido lattico, anch'esso entra nel ciclo di Krebs e viene successivamente escreto sotto forma di CO₂ e acqua (Figura 2.7) [29-30].

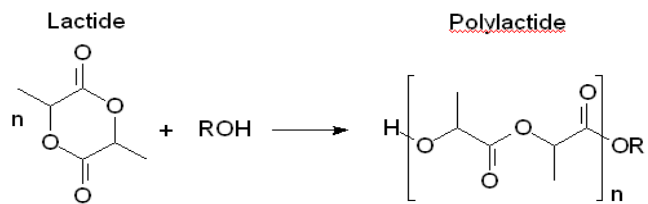


Figura 2.6: polimerizzazione del lattide.

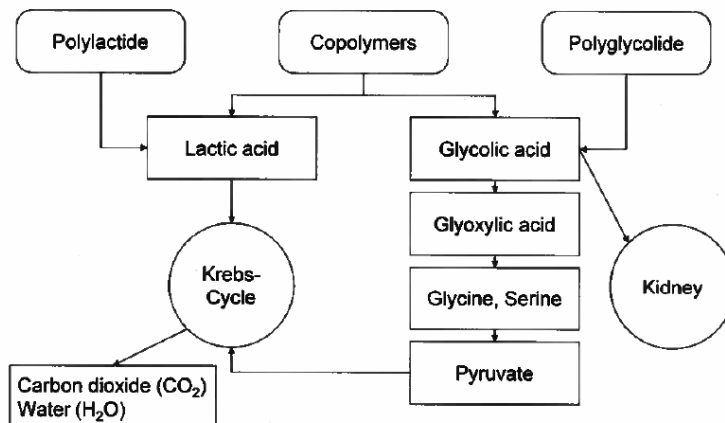


Figura 2.7: degradazione biochimica di polilattide e poliglicolide.

2.3 P(L/DL)LA

L'acido lattico è una piccola molecola idrofobica a tre atomi di carbonio, che, a causa della sua asimmetria, esiste in tre forme differenti (isomeri): la configurazione destrogiro (D), la configurazione levogiro (L) e il meso-lattide, configurazioni che si distinguono per la disposizione nello spazio degli atomi (Figura 2.8).

Gli isomeri D e L, che costituiscono una coppia di enantiomeri (coppia di entità molecolari che sono immagini speculari l'una dell'altra e non sovrapponibili) hanno la capacità di ruotare la luce polarizzata rispettivamente a destra e a sinistra.



Figura 2.8: isomeri della molecola di lattide.

A partire dal monomero lattide è possibile ottenere, mediante polimerizzazione, il corrispondente poliesteri ad alto peso molecolare, che prende il nome di *acido polilattico* (PLA). A partire dall'acido L-lattico si ottiene il *poli-L-acido lattico* (PLLA), polimero che presenta un'ampia frazione cristallina, alta resistenza meccanica e lenta velocità di degradazione, che lo rende adatto ad applicazioni ortopediche. Il polimero ottenuto dall'acido DL-lattico invece, chiamato *poli-DL-lattico* (PDLLA), si presenta come un polimero amorfo, dalle proprietà meccaniche significativamente inferiori al PLLA e con tempi di assorbimento ridotti [31]. Nonostante la composizione delle molecole sia la stessa, è evidente come la disposizione nello spazio influisca notevolmente sulle proprietà chimico-fisiche dei polimeri.

Uno dei fattori rilevanti che ha consentito il diffuso sviluppo di questi materiali, deriva dal fatto che, variando i rapporti tra le percentuali di isomero L e D e alcune proprietà chimico-fisiche del PLA, è possibile creare materiali con

diversi gradi di resistenza meccanica e tempi di riassorbimento modulabili a seconda dell'applicazione prevista [32]. Un copolimero particolarmente interessante e diffuso nelle applicazioni biomediche, chiamato P(L/DL)LA, vede la combinazione di L-lattide e DL-lattide in percentuali differenti e modulabili, al fine di ottenere valori di cristallinità, resistenza meccanica e tempi di riassorbimento adatti all'applicazione desiderata.

Una formulazione di P(L/DL)LA, che trova largo impiego in dispositivi per la risoluzione di fratture ossee, prevede un rapporto 70:30, ossia è composto per il 70% di L-lattide e per il 30% di DL-lattide; questa seconda frazione consente di evitare la completa cristallizzazione dell'L-lattide, mantenendo una resistenza meccanica durante il periodo di riassorbimento (2-3 anni), che risulta appropriato per la guarigione ossea [33].

I materiali destinati all'utilizzo in ambito biomedico devono soddisfare dei requisiti fondamentali, imposti da normative internazionali, che garantiscano l'allineamento del prodotto ad uno standard comune e ne assicurino efficacia, sicurezza e riproducibilità. Essendo utilizzati per dispositivi biomedicali, anche i polimeri biorassorbibili devono rispettare queste condizioni e, a tal fine, vi sono realtà aziendali specializzate nella produzione e distribuzione di un'ampia gamma di omopolimeri e copolimeri biorassorbibili, che vengono forniti con relative dichiarazioni di conformità ai requisiti normativi di riferimento.

Per i polimeri derivati dall'acido lattico l'unico standard di riferimento disponibile è indicato dalla norma ASTM F1925 "*Standard Specification for Virgin Poly(L-Lactic)Acid Resin for Surgical Implants*" che fornisce le specifiche richieste al polimero vergine di PLLA utilizzato per impianti chirurgici; essa, tuttavia, non copre le composizioni stereoisomeriche, né è applicabile ai dispositivi confezionati e sterilizzati, fabbricati con questo materiale. Le indicazioni in essa presenti sono le seguenti:

- Il polimero vergine deve essere un omopolimero di L-lattide con densità tra 1.20 e 1.28 g/cm³;

- La sua massa molecolare deve essere indicata dalla viscosità relativa della soluzione, mentre per la distribuzione della massa molecolare è richiesta la determinazione mediante Cromatografia a Permeazione di Gel (GPC);
- Il polimero vergine deve essere identificato come polilattide mediante spettroscopia infrarossa o H-NMR (Risonanza Magnetica Nucleare); a tal fine la norma riporta gli spettri di riferimento per consentire il riconoscimento dei picchi di assorbimento significativi (Figura 2.9).

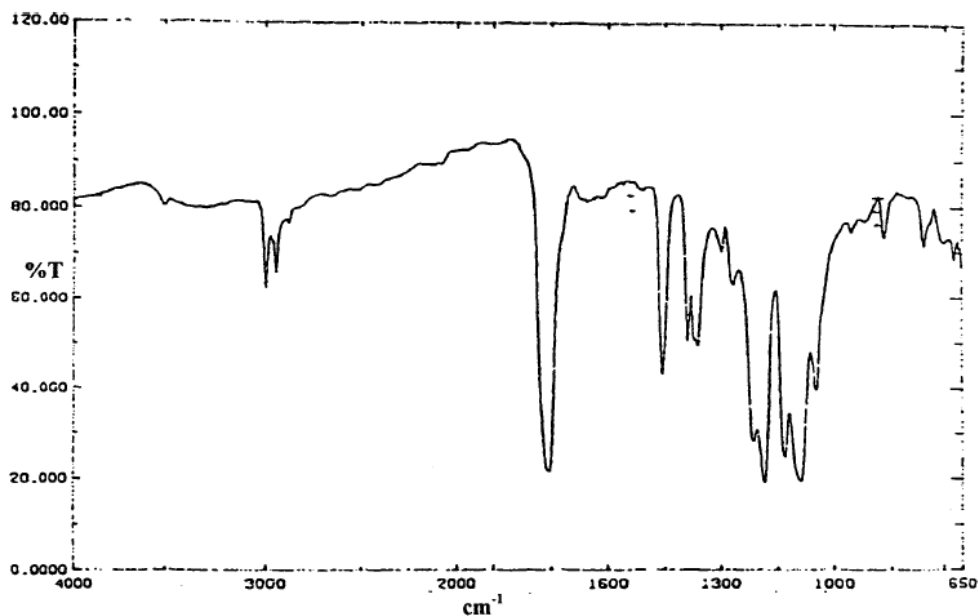
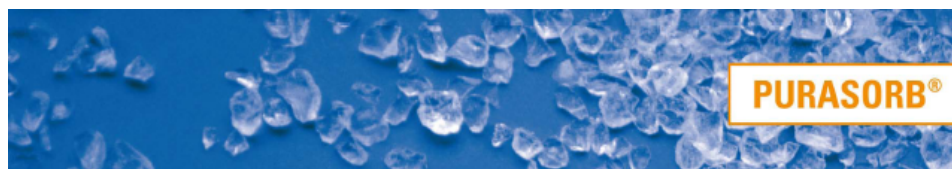


Figura 2.9: spettro Infrarosso del PLLA.

- Il polimero deve avere rotazione ottica specifica compresa tra -155° e -160° ;
- Il contenuto di monomero residuo deve essere inferiore al 2%, ma superiore allo 0.1% nel caso di polimeri con viscosità inerente superiore a 2 dl/g e destinati allo stampaggio a iniezione;
- Altre proprietà chimico-fisiche richieste sono: percentuale di solventi residui inferiore allo 0.01%, acqua residua inferiore a 0.5%, stagno residuo inferiore a 200 ppm, metalli pesanti inferiori a 300 ppm, impurità di solfato inferiori allo 0.1%;
- Per i requisiti di biocompatibilità si rimanda alle normative relative alle specifiche applicazioni.

Il polimero P(L/DL)LA 70:30, costituente i dispositivi testati nel presente lavoro di tesi, è prodotto dall'azienda Purac Biomaterials e viene commercializzato con il nome PLDL 7060 (Figure 2.10 e 2.11).



Rev. No. 3 / May 20, 2008

Product data

PURASORB® PLDL 7060

Description PURASORB PLDL 7060 is a GMP grade copolymer of L-lactide and DL-lactide in a 70/30 molar ratio and with an inherent viscosity midpoint of 6.0 dl/g. It is supplied in the form of white to light tan granules. PURASORB PLDL 7060 is primarily used for medical device applications and is suitable for all commonly used polymer processing techniques.

Specification	Attribute	Method	Specification
	Appearance	visual	white to light tan granules
	Identification	FTIR	FTIR conform reference
	L-lactide content	optical rotation	67 – 73 mol. %
	DL-lactide content	optical rotation	33 – 27 mol. %
	Inherent viscosity	CHCl ₃ , 25°C, 0.1 g/dl	5.5 – 6.5 dl/g
	Residual monomer	GC	max. 0.5 wt. %

For each batch a certificate of analysis is provided, showing the analytical data determined in our quality control laboratory. Additional analytical data can be made available upon request.

Physical-chemical properties	Molecular formula	(C ₆ H ₈ O ₄ *C ₆ H ₈ O ₄) _n
	Chemical name	(3S-cis)-3,6-dimethyl-1,4-dioxane-2,5-dione, polymer with 3,6-dimethyl-1,4-dioxane-2,5-dione
	CAS Registry number	52305-30-3

Packaging PURASORB PLDL 7060 can be supplied in 1 or 5 kg packages. Normal packaging consists of an inner bag of clean room grade PE and an outer bag of aluminum coated polyester-PE laminate. The packed product is shipped in an additional bag of PE and in PE containers for added protection.

Storage & Handling When stored in the original packaging at low temperatures (-15°C), PURASORB PLDL 7060 keeps its initial properties for at least three years.

Current stability studies indicate that when stored in the original packaging at room temperature PURASORB PLDL 7060 keeps its initial properties for at least one year.

Allow the material to reach room temperature before opening the packaging. After opening the original packaging PURASORB PLDL 7060 is best stored in an inert atmosphere and at low temperatures (-15°C).

Figura 2.10: data-sheet del PLDL 7060.

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Brand name : PURASORB PLDL 7060
Product name : 70/30 L-lactide/DL-lactide copolymer
Batch number : **0803000961**

Appearance : white to light tan granules
Identity (by FTIR) : conform to reference
Inherent viscosity : 6.51 dl/g
(chloroform, 25°C, c = 0.1 g/dl)
Specific rotation (chloroform, 20°C) : -110.7 °
Melting range (DSC, 10°C/min) : 112.6 - 115.7 °C
Heat of fusion (DSC, 10°C/min) : 9.4 J/g
Residual solvent : < 0.1 %
Residual monomer (by GC) : < 0.5 %

PURAC biochem bv
Marc-Anton Krufft, Ph.D M.Sc
Manager Quality/R&D biomaterials

Figura 2.11: dichiarazione di conformità del PLDL 7060.

CAPITOLO 3

Dispositivi per applicazioni ortopediche

L'attività di tirocinio è consistita in una serie di analisi per la caratterizzazione chimico-fisica e meccanica di diversi dispositivi biorassorbibili, per applicazioni ortopediche, realizzati in copolimeri di acido lattico.

Nel caso di dispositivi biorassorbibili utilizzati per l'impianto nel corpo umano è necessario conoscere le proprietà meccaniche dei polimeri utilizzati e prevedere come esse varino in funzione di peso molecolare, massa, temperatura, carico applicato e sito d'impianto. In generale durante la degradazione i polimeri mostrano una perdita di peso molecolare e massa e conseguentemente anche della resistenza meccanica; perciò l'aumento inizialmente del peso molecolare, dell'orientazione delle catene, della cristallinità e della purezza del materiale consente di ottenere proprietà meccaniche migliori. Tuttavia l'aumento delle proprietà fisiche comporta a sua volta un aumento del tempo necessario al completo riassorbimento dell'impianto. È necessario, quindi, che si trovi un corretto equilibrio tra i vari fattori al fine di ottenere un dispositivo la cui velocità di degradazione permetta di trasferire gradualmente il carico al tessuto circostante l'impianto ma non sia più rapida della risposta di guarigione. Tali proprietà sono da tenere in considerazione anche in fase di produzione del dispositivo, in quanto la sintesi del polimero e la successiva lavorazione incidono fortemente sul peso molecolare, l'orientazione delle catene, la cristallinità e la purezza dell'impianto.

I dispositivi oggetto dello studio, più sotto elencati, sono stati prodotti presso lo stabilimento LimaCorporate di San Marino, mediante *stampaggio a iniezione*: si tratta di una tecnologia di formatura molto diffusa, che consente la produzione di

manufatti con geometrie e dimensioni differenti, garantendo, grazie all'automazione, elevata produttività e bassi costi. Durante questo processo il materiale polimerico viene aspirato, tramite un sistema di alimentazione, all'interno del cilindro di plastificazione dove è situata una vite che, ruotando e traslando per mezzo di pistoni idraulici, crea un attrito che, combinato al contributo termico di alcune resistenze elettriche, porta il materiale alla temperatura di fusione. Raggiunta la viscosità necessaria, il materiale viene iniettato all'interno dello stampo (fase di iniezione) passando attraverso opportuni canali e riempiendo la cavità, che rappresenta in negativo il pezzo. Riempita la cavità, inizia la fase di mantenimento, durante la quale il polimero viene tenuto sotto pressione, allo scopo di compensare, con altro materiale, l'aumento della densità, connesso alla diminuzione di temperatura e la solidificazione, che avvengono durante il raffreddamento del pezzo. Terminata la fase di raffreddamento, la cui durata dipende dal tipo di polimero e dalla geometria del manufatto, tramite pressa, il pezzo stampato viene estratto e inizia il ciclo successivo (Figura 3.1).

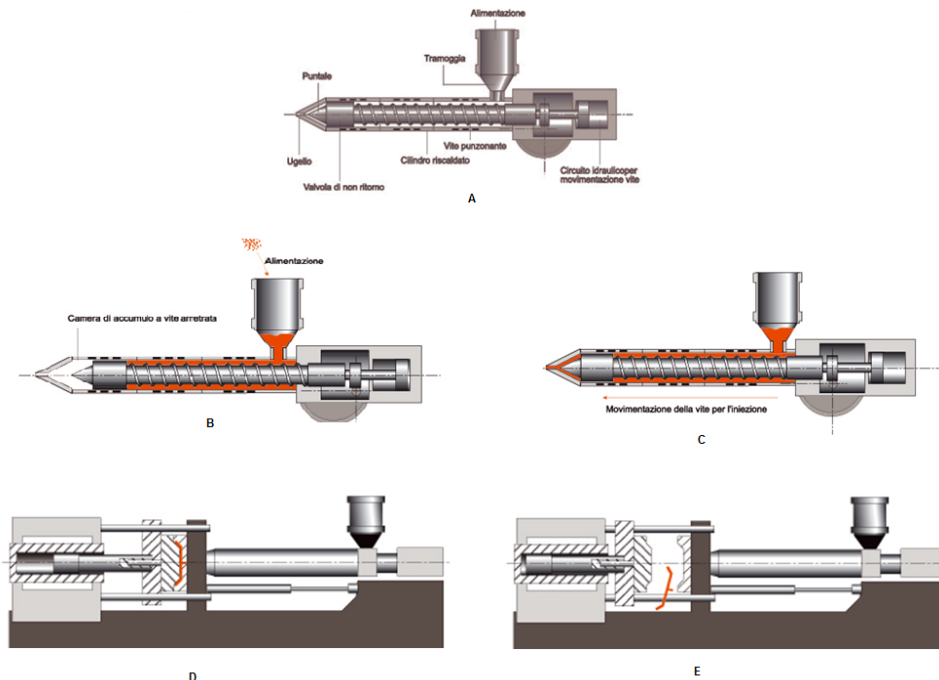


Figura 3.1: schema di funzionamento dello stampaggio a iniezione (A): fasi di caricamento e fusione (B), iniezione (C), raffreddamento (D), estrazione del pezzo (E)

I dispositivi biorisorbibili testati, realizzati in P(L/DL)LA e PLLA, trovano principale applicazione in ortopedia nella risoluzione di fratture ossee e per il trattamento di particolari patologie.

- Vite RSB a doppia filettatura:

è una vite con doppia filettatura tipo Herbert, realizzata in P(L/DL)LA 70/30, progettata per la correzione della deformità dovuta alla patologia dell'alluce valgo. Disponibile in diverse lunghezze (quelle testate sono state 18 e 22 mm), presenta due filetti con diverso *pitch* e diametro: un filetto, con diametro e passo maggiori, che costituisce la testa della vite, in modo da poter essere completamente inserita nell'osso, e un filetto più piccolo con passo inferiore, alla base della vite (Figura 3.2). La differenza di passo tra segmento distale e prossimale determina, una volta inserita la vite dopo aver maschiato la sede d'impianto, la produzione di forze compressive che stabilizzano la sintesi.

Questo dispositivo può essere utilizzato per diverse osteotomie correttive e consente una rapida riabilitazione; in particolare il suo uso è indicato per osteotomie dell'avampiede in seguito a fratture o per osteotomie correttive e in caso di patologie degenerative quali alluce valgo e alluce rigido.



Figura 3.2: vite riassorbibile a doppia filettatura (RSB 460-22).

- Cambra RSB

dispositivo realizzato in P(L/DL)LA 70/30, è composto da un singolo pezzo, con una struttura a ponte che collega i due rebbi di sezione circolare; il ponte è orientato perpendicolarmente rispetto ai braccetti, posti

parallelamente tra loro, la cui funzione è impedire alle due parti dell'osteotomia di staccarsi, una volta inseriti nei fori (Figura 3.3).

Trova applicazione in interventi di traumatologia, quali fratture di scafoide carpale, o elettive come correzioni delle deformità dell'avampiede, con vari tipi di osteotomie.

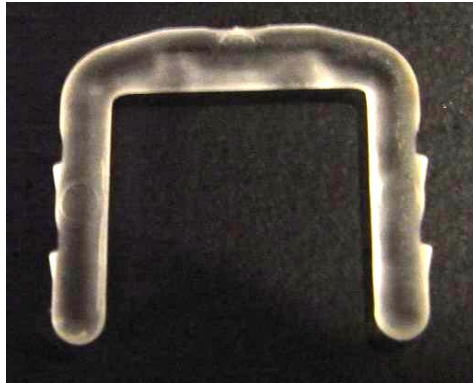


Figura 3.3: *cambrà riassorbibile (RSB 200-12).*

- Pin RSB

realizzato in P(L/DL)LA 70/30 viene prodotto con diversi diametri e lunghezza sovradimensionata rispetto a quanto generalmente necessario, per consentire al chirurgo di adattarlo al singolo paziente; è stato progettato con un profilo elicoidale per permettere un migliore press-fit all'interno dell'osso aumentando così la stabilità dell'impianto (Figura 3.4). Questo dispositivo viene generalmente utilizzato in osteotomie e artrodesi nella chirurgia del piede.



Figura 3.4: *pin riassorbibile.*

- Vite RSB CALCANEEO-STOP

realizzata in PLLA viene utilizzata in ambito ortopedico per correggere la patologia di piede piatto, in particolare in pazienti pediatrici. La geometria è stata progettata in modo tale da non provocare dolore ed evitare la rottura del dispositivo, garantendo un'omogenea dispersione del carico applicato: la testa, di forma sferica, non è filettata e la sua funzione è di creare un'interferenza nel *sinus tarsi*, in modo da alzare la volta plantare e correggere il difetto; essa presenta un alloggiamento quadrato per la trasmissione del momento torcente in fase di avvitamento con cacciavite, che deve consentire di stabilizzare saldamente la vite nell'osso (Figura 3.5).



Figura 3.5: vite riassorbibile calcaneo-stop (RSB 723).

CAPITOLO 4

Degradazione

L'utilizzo di polimeri degradabili in ambito biomedicale sta aumentando notevolmente negli ultimi anni; ciononostante vi è una conoscenza limitata dei processi che coinvolgono la cinetica di degradazione ed erosione.

Il termine "*degradazione*" descrive il processo di scissione della catena, durante il quale le catene polimeriche vengono "tagliate" a formare oligomeri e infine monomeri.

L'*erosione*, invece, indica la perdita di materiale dovuta a monomeri e oligomeri che si allontanano dal polimero.

Tra le diverse tipologie di degradazione polimerica si annoverano la fotodegradazione: infatti tutti i polimeri risentono significativamente dell'irraggiamento della luce UV o della radiazione gamma; la degradazione termica, che riveste un ruolo notevole per i polimeri non degradabili, ossia quelli che richiedono un tempo di degradazione sostanzialmente maggiore rispetto alla durata della loro applicazione. La degradazione meccanica interessa quei polimeri biodegradabili che sono soggetti a stress meccanici, come quelli utilizzati per sistemi di fissaggio di sutura. Tutti i polimeri biodegradabili contengono legami idrolizzabili e il loro più importante meccanismo di degradazione è la degradazione idrolitica, che può essere semplice o catalizzata da enzimi: quest'ultimo processo è detto *biodegradazione*, in quanto mediato, almeno parzialmente, da sistemi biologici [34].

Nel processo di idrolisi, la catena polimerica viene scissa in catene più corte, ad opera di una o più molecole d'acqua (Figura 4.1). La velocità di questa

reazione è influenzata da numerosi fattori, tra cui i più importanti sono la composizione del copolimero, il tipo di legami chimici, il pH, la temperatura e l'assorbimento d'acqua.

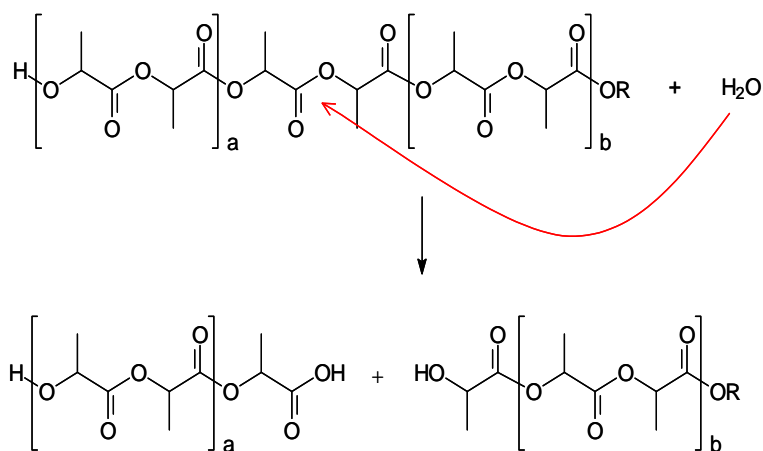


Figura 4.1: meccanismo di idrolisi.

Durante la degradazione, per i polimeri biodegradabili si assiste a modificazioni chimiche e fisiche, come la cristallizzazione dei monomeri, o cambiamenti di pH; anche altri fattori, come la perdita di peso molecolare, di resistenza meccanica o il rilascio di monomeri, vengono considerati come parametri per il monitoraggio della degradazione. In generale, l'aumento del peso molecolare del dispositivo polimerico, della cristallinità, della massa e della solidità e regolarità delle catene fa decrescere la velocità di degradazione [35].

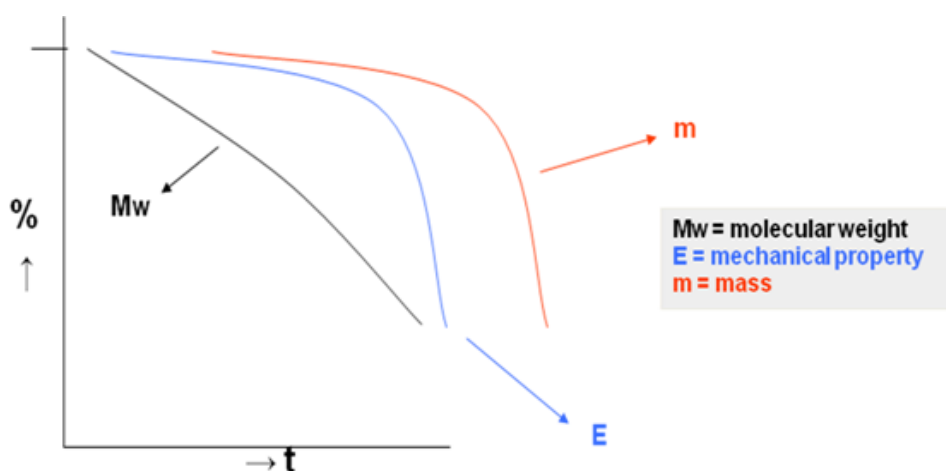


Figura 4.2: andamento percentuale di peso molecolare, delle proprietà meccaniche e della massa del polimero in funzione del tempo.

L'erosione di un polimero è molto più complessa della degradazione, in quanto dipende da altri processi, quali la degradazione, il rigonfiamento, la dissoluzione e la diffusione di oligomeri e monomeri e cambiamenti morfologici. Idealmente è possibile distinguere due tipologie di erosione dei polimeri [34,36]:

- *Erosione superficiale*: il polimero perde materiale solo dalla superficie, diminuisce di dimensione, ma mantiene la forma geometrica originale (Figura 4.3); nel tempo, mentre la massa del polimero diminuisce, il suo peso molecolare resta costante (Figura 4.4).

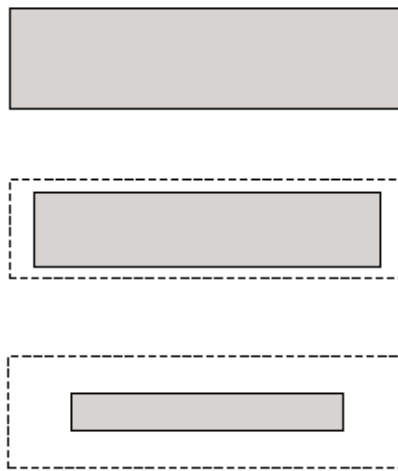


Figura 4.3: schematizzazione della erosione superficiale.

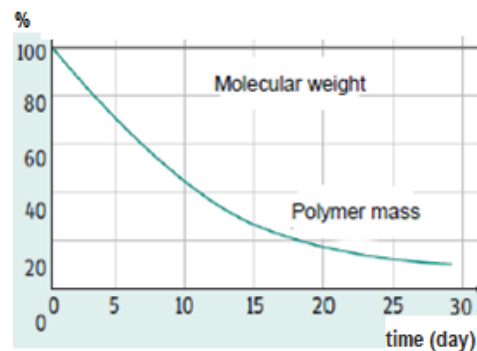


Figura 4.4: andamento percentuale, in funzione del tempo, di peso molecolare e massa del polimero.

- *Erosione bulk*: la degradazione avviene allo stesso tempo sia per la superficie che per l'interno del materiale, la cui dimensione resta costante per una considerevole porzione di tempo durante l'applicazione del dispositivo (Figure 4.5 e 4.6)

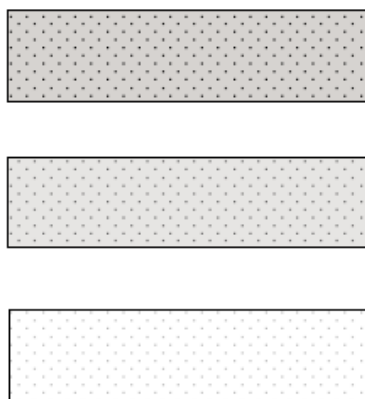


Figura 4.5: schematizzazione della erosione bulk.

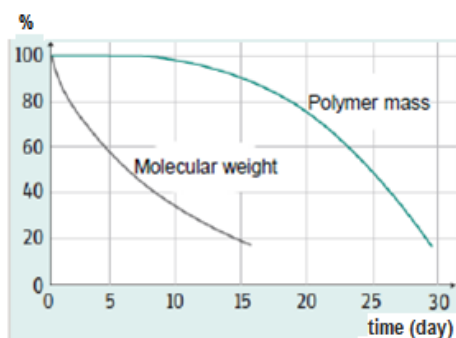


Figura 4.6: andamento percentuale, in funzione del tempo, di peso molecolare e massa del polimero.

La conoscenza del meccanismo di erosione è molto importante per applicazioni di successo di un polimero degradabile. Ad esempio nell'ingegneria tissutale le proprietà di superficie o la porosità determinano le prestazioni degli scaffold impiantabili [37]; così come nel rilascio controllato di farmaci, rigonfiamento e porosità sono parametri critici per il comportamento di rilascio [38].

I processi coinvolti nell'erosione di un polimero biodegradabile sono molto complicati. Inizialmente l'acqua entra nel *bulk* del polimero, che quindi può

mostrare rigonfiamento, e innesca la degradazione chimica, portando alla formazione di oligomeri e monomeri. La degradazione progressiva porta a dei cambiamenti nella microstruttura del *bulk*, con la formazione di pori, al cui interno il pH inizia ad essere modificato dall'acidità dei prodotti di degradazione. I pori sono anche la via attraverso la quale si ha, successivamente, il rilascio di monomeri e oligomeri, con la conseguente perdita di peso del dispositivo polimerico.

Per i dispositivi polimerici impiantati in vivo, l'ultima fase della degradazione vede la dissoluzione di frazioni a basso peso molecolare, fagocitosi, lisi e un ruolo determinante dell'attività enzimatica [35]: siti fortemente vascolarizzati, ambienti aggressivi e soggetti a forti carichi e la presenza di additivi accelerano il processo di degradazione.

La degradazione del PLA dipende da diversi fattori, tra cui peso molecolare, cristallinità, purezza, temperatura, pH, presenza di gruppi terminali carbossilici o idrossilici, permeabilità all'acqua e presenza di agenti catalitici come enzimi, batteri o riempitivi inorganici [31].

In letteratura diversi studi riportano considerazioni sulla degradazione del PLA [39, 40, 41, 42, 43] che in generale risulta un processo eterogeneo, più rapido all'interno del materiale, piuttosto che sulla sua superficie. Posto a contatto di un mezzo acquoso, un campione omogeneo va incontro inizialmente a idrolisi, con conseguente rottura dei legami esterei, confermata dalla perdita di massa del dispositivo. A causa dell'assorbimento di acqua, è probabile che, inizialmente, la degradazione avvenga principalmente sulla superficie, ma all'aumentare della concentrazione dei gruppi carbonilici all'interno del campione, questi agiscono da catalizzatori del processo, inducendo un'auto-catalisi [39]. Questo fenomeno è confermato dalla più rapida degradazione di membrane non-porose, rispetto a quelle porose: queste ultime, infatti, facilitando la dissoluzione e la diffusione dei prodotti di degradazione attraverso il mezzo acquoso, limitano l'auto-catalisi [44]. Le regioni cristalline sembrano essere più resistenti alla degradazione rispetto a quelle amorfe e questo, unito al riarrangiamento delle catene più corte, generate dall'idrolisi, a formare nuovi cristalli, comporta, all'aumentare del tempo di

degradazione, un aumento del grado di cristallinità e diminuzione della temperatura di cristallizzazione e di fusione.

Per quanto concerne le proprietà meccaniche, il PLA si comporta come un materiale duro e duttile: se sottoposto a tensione costante risponde con una deformazione iniziale, seguita da elongazione fino a rottura; in seguito a degradazione, invece, arriva a rottura senza subire elongazione, mostrando la fragilità tipica dei materiali cristallini [41]. La stabilità meccanica di questo materiale lo rende adatto a promuovere l'osteosintesi di piccole fratture, in quanto la vita funzionale del dispositivo è sufficiente a consentire il recupero del tessuto osseo: mentre il materiale perde le sue proprietà meccaniche, l'osso rigenerato è in grado di recuperare la sua funzionalità (Figura 4.7).

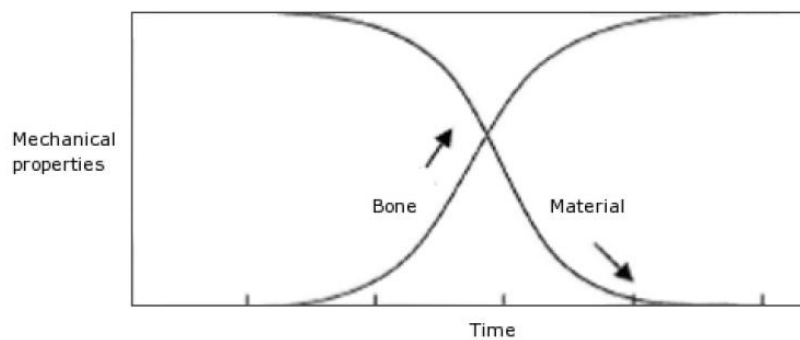


Figura 4.7: andamento delle proprietà meccaniche del materiale in fase di degradazione.

CAPITOLO 5

Parte Sperimentale

L'intero percorso di tirocinio è stato orientato alla caratterizzazione chimico-fisica e meccanica di alcuni dispositivi biorassorbibili, prodotti dall'azienda, destinati ad applicazioni ortopediche. In particolare sono stati seguiti due ambiti di studio:

- un test di degradazione in vitro di viti a doppia filettatura, al fine di analizzare le variazioni che il dispositivo può subire, durante la vita funzionale, in un modello che simuli le condizioni fisiologiche;
- una serie di analisi chimico-fisiche e meccaniche di diversi dispositivi, sottoposti a processi di sterilizzazione differenti, per valutare come questo trattamento influisca sul materiale e identificando quello che può essere considerato il più adatto.

5.1 Test degradazione in vitro

La combinazione dei due isomeri L-lactide e D-lactide, a formare un unico copolimero, è intesa ad ottenere un materiale che presenti una resistenza meccanica piuttosto alta e un grado di degradazione e riassorbimento adatti alla maggior parte delle applicazioni muscolo-scheletriche. Il rapporto tra i due componenti scelto (70:30), consente di ottenere un dispositivo che garantisce la resistenza agli stress meccanici per un periodo compatibile con la sua vita funzionale, pari a circa 5 settimane; successivamente, inizia il processo di

metabolizzazione dei frammenti nell'organismo, sino al completo riassorbimento, che si ha tra i 2 e i 4 anni.

Si è deciso di condurre uno studio per verificare la degradazione di dispositivi realizzati in P(L/DL)LA 70:30, conservati in soluzione, in vitro a temperatura fisiologica, prelevati e analizzati a intervalli successivi, per monitorarne la perdita di peso, di viscosità e di performance meccaniche.

Per esigenze aziendali, oggetto di questo studio è stata la vite RSB a doppia filettatura di tipo Herbert (Figura 5.1), con testa e base filettate, adatta ad osteotomie correttive. La lunghezza, per il modello scelto, è di 22 mm, il corpo centrale ha diametro 2.5 mm, il filetto piccolo, alla base della vite, ha diametro 3.3 mm, mentre quello grande 4.3 mm. Oltre alla differenza di diametro, tra i due filetti vi è anche una differenza di passo: la regione distale ha *pitch* pari a 1.7 mm, mentre quella prossimale 1.3 mm. Questo consente di esercitare, durante l'impianto, un moto assiale e una forza di compressione che stabilizza la sintesi.



Figura 5.1: immagine tridimensionale vite RSB 460-22.

Un'altra particolarità di questa vite, è rappresentata dall'assenza di una testa esposta: essa, infatti, è completamente integrata nella parte superiore della filettatura, permettendo così al chirurgo di inserirla completamente nell'osso senza lasciare sporgenze (Figura 5.2).



Figura 5.2: particolare della cava triangolare della vite.

Il test di degradazione in vitro è stato condotto seguendo le indicazioni della norma ASTM F 1635 “*Standard Test Method for in vitro Degradation Testing of Hydrolytically Degradable Polymer Resins and Fabricated Forms for Surgical Implants*”. Tale norma fornisce delle linee guida per condurre uno studio, finalizzato alla valutazione della degradazione di dispositivi utilizzati per impianti chirurgici. In particolare, è rivolta a dispositivi costituiti da polimeri degradabili per idrolisi, come omopolimeri e copolimeri di *L*-lattide, *D*-lattide, *D,L*-lattide, glicolide, caprolattone, e *p*-diossanone ed è mirata all’analisi della velocità di degradazione, mediante l’osservazione di cambiamenti nel materiale o nelle proprietà strutturali del campione.

Gli step fondamentali riportati dalla norma sono i seguenti:

- Conservazione dei campioni, in contenitori sigillati, immersi in una soluzione salina acquosa contenente un tampone fosfato (PBS - *Phosphate Buffered Saline*), il cui pH deve essere mantenuto per l’intera durata della prova all’interno dell’intervallo 7.4 ± 0.2 ; scostamenti oltre tale valore obbligano alla sostituzione della soluzione o all’interruzione dello studio. La quantità di soluzione utilizzata deve essere tale da garantire un rapporto massa soluzione – massa polimero di almeno 20:1.
- Mantenimento dei campioni in ambiente a temperatura fisiologica $37 \pm 2^\circ\text{C}$, costante per tutta la durata dello studio.
- Prelievo dei campioni a intervalli di tempo predefiniti, risciacquo ed essiccazione per l’eliminazione dell’acqua assorbita.

- Analisi, da condurre all'inizio dello studio e successivamente ad ogni tempo di campionamento:
 - misura della variazione di peso (su un minimo di 3 campioni);
 - misura della variazione di peso molecolare (su un minimo di 3 campioni) mediante analisi di viscosità inerente;
 - test meccanici (su un minimo di 6 campioni).
- Conclusione dello studio per compromissione dell'integrità del campione, condizioni di conservazione al di fuori dei limiti concessi oppure raggiungimento di un end point predeterminato.

Al di là di alcune indicazioni precise, come i range di temperatura e pH, e dei requisiti minimi, ad esempio per le specifiche della strumentazione da utilizzare o per la numerosità dei campioni, la norma fornisce solamente suggerimenti per lo svolgimento dello studio, lasciando libertà di decisione per tutti gli altri aspetti.

Per questo motivo, quindi, la realizzazione dello studio di degradazione è stata preceduta da una precisa pianificazione, sia per quanto concerne le tempistiche, che per le varie procedure e analisi da effettuare.

Lo studio consiste nella conservazione dei campioni all'interno di una soluzione salina tampone-fosfato (PBS) a pH e temperatura costanti e il loro prelievo a intervalli di tempo prefissati, per la caratterizzazione chimico-fisica e meccanica. Essendo la vita funzionale del dispositivo pari a circa 5 settimane, si è deciso di fissare 4 "timepoints" definiti come segue:

- T0: i campioni sono stati testati al loro arrivo, senza essere immersi in soluzione. I dati ricavati sono stati considerati come riferimento per tutti i risultati successivi;
- T1: i campioni sono stati prelevati e testati dopo 30 giorni di immersione in soluzione;
- T2: i campioni sono stati prelevati e testati dopo 60 giorni di immersione in soluzione;

- T3: i campioni verranno prelevati e testati dopo 90 giorni di immersione in soluzione; al momento della stesura di questo elaborato, infatti, lo studio è ancora in esecuzione.

Al fine di ottenere risultati significativi, per la valutazione della degradazione dei dispositivi, i test condotti sui campioni sono stati:

- Analisi dimensionale e gravimetrica: misurazione di lunghezza, diametro e peso del campione;
- Analisi spettrometrica FT-IR;
- Analisi spettrofotometrica UV-Vis;
- Analisi calorimetrica a scansione differenziale (DSC);
- Analisi della viscosità inerente del polimero;
- Test meccanici.

La numerosità dei campioni è stata definita in modo tale da rispettare i requisiti minimi richiesti dalla norma: per ogni intervallo temporale (T0, T1, T2 e T3) sono stati testati 9 campioni, 3 dei quali sottoposti a caratterizzazione FT-IR, UV-Vis, DSC e viscosità e i restanti 6 destinati alle prove meccaniche; tutti i campioni sono stati misurati e pesati sia all'inizio dello studio sia successivamente al prelievo.

La Tabella 5.1 riporta la pianificazione dello studio associando ai campioni codificati, le corrispondenti analisi cui sono stati sottoposti.

Campioni			Analisi												
T0	460-22_T0_1	1	peso	lunghezza	diam	condizione iniziale				UV-Vis	FT-IR	DSC	visc		
	460-22_T0_2	2	peso	lunghezza	diam		UV-Vis	FT-IR	DSC	visc					
	460-22_T0_3	3	peso	lunghezza	diam		UV-Vis	FT-IR	DSC	visc					
	460-22_T0_4	4	peso	lunghezza	diam										mecc
	460-22_T0_5	5	peso	lunghezza	diam										mecc
	460-22_T0_6	6	peso	lunghezza	diam										mecc
	460-22_T0_7	7	peso	lunghezza	diam										mecc
	460-22_T0_8	8	peso	lunghezza	diam										mecc
	460-22_T0_9	9	peso	lunghezza	diam										mecc
T1	460-22_T1_10	10	peso	lunghezza	diam	Immersione 30 gg	peso	lunghezza	diam	UV-Vis	FT-IR	DSC	visc		
	460-22_T1_11	11	peso	lunghezza	diam		peso	lunghezza	diam	UV-Vis	FT-IR	DSC	visc		
	460-22_T1_12	12	peso	lunghezza	diam		peso	lunghezza	diam	UV-Vis	FT-IR	DSC	visc		
	460-22_T1_13	13	peso	lunghezza	diam		peso	lunghezza	diam					mecc	
	460-22_T1_14	14	peso	lunghezza	diam		peso	lunghezza	diam					mecc	
	460-22_T1_15	15	peso	lunghezza	diam		peso	lunghezza	diam					mecc	
	460-22_T1_16	16	peso	lunghezza	diam		peso	lunghezza	diam					mecc	
	460-22_T1_17	17	peso	lunghezza	diam		peso	lunghezza	diam					mecc	
460-22_T1_18	18	peso	lunghezza	diam	peso	lunghezza	diam					mecc			
T2	460-22_T2_19	19	peso	lunghezza	diam	Immersione 60 gg	peso	lunghezza	diam	UV-Vis	FT-IR	DSC	visc		
	460-22_T2_20	20	peso	lunghezza	diam		peso	lunghezza	diam	UV-Vis	FT-IR	DSC	visc		
	460-22_T2_21	21	peso	lunghezza	diam		peso	lunghezza	diam	UV-Vis	FT-IR	DSC	visc		
	460-22_T2_22	22	peso	lunghezza	diam		peso	lunghezza	diam					mecc	
	460-22_T2_23	23	peso	lunghezza	diam		peso	lunghezza	diam					mecc	
	460-22_T2_24	24	peso	lunghezza	diam		peso	lunghezza	diam					mecc	
	460-22_T2_25	25	peso	lunghezza	diam		peso	lunghezza	diam					mecc	
460-22_T2_26	26	peso	lunghezza	diam	peso	lunghezza	diam					mecc			
460-22_T2_27	27	peso	lunghezza	diam	peso	lunghezza	diam					mecc			
T3	460-22_T3_28	28	peso	lunghezza	diam	Immersione 90 gg	peso	lunghezza	diam	UV-Vis	FT-IR	DSC	visc		
	460-22_T3_29	29	peso	lunghezza	diam		peso	lunghezza	diam	UV-Vis	FT-IR	DSC	visc		
	460-22_T3_30	30	peso	lunghezza	diam		peso	lunghezza	diam	UV-Vis	FT-IR	DSC	visc		
	460-22_T3_31	31	peso	lunghezza	diam		peso	lunghezza	diam					mecc	
	460-22_T3_32	32	peso	lunghezza	diam		peso	lunghezza	diam					mecc	
	460-22_T3_33	33	peso	lunghezza	diam		peso	lunghezza	diam					mecc	
	460-22_T3_34	34	peso	lunghezza	diam		peso	lunghezza	diam					mecc	
	460-22_T3_35	35	peso	lunghezza	diam		peso	lunghezza	diam					mecc	
460-22_T3_36	36	peso	lunghezza	diam	peso	lunghezza	diam					mecc			

Tabella 5.1: pianificazione test di degradazione: campioni e analisi.

I campioni, stampati presso lo stabilimento LimaCorporate di San Marino, sono stati spediti allo stabilimento di Villanova in buste sigillate per preservarli dall'assorbimento di umidità, dato il carattere igroscopico del materiale (Figura 5.3)



Figura 5.3: vite sigillata in tripla busta: doppia busta tyvek all'interno di una busta in alluminio

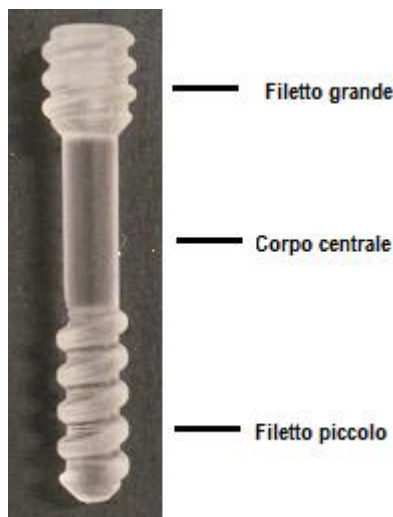
Essi sono stati per prima cosa codificati, attribuendo loro un numero progressivo, associato, nella dicitura estesa, al gruppo al quale sono stati assegnati; in seguito si è proceduto, per ciascuno di essi, all'analisi dimensionale e gravimetrica.

Misurati mediante l'utilizzo di calibro digitale Mitutoyo, per ogni campione sono stati ricavati 4 valori:

- Lunghezza



- Diametro filetto grande
- Diametro corpo centrale
- Diametro filetto piccolo



Uno dei parametri più significativi, che indicano l'avanzare della degradazione, è la perdita di peso del dispositivo, pertanto, tutti i campioni sono stati pesati all'inizio dello studio e successivamente al prelievo, dopo il periodo di immersione previsto, in modo tale da poter determinare l'effettiva variazione di peso per ciascuno di essi (Figura 5.4). Dopo il prelievo, prima di procedere alla pesata, i vari campioni sono stati lasciati all'interno di essiccatori per eliminare l'acqua assorbita (Figura 5.5).



Figura 5.4: bilancia Sartorius utilizzata per pesare i campioni.



Figura 5.5: essiccatore in vetro per sostanze umide

Come visto in precedenza, polimeri biorisorbibili come il P(L/DL)LA vanno incontro a degradazione idrolitica: è necessario quindi, per la valutazione del processo degradativo, che i dispositivi siano immersi in una soluzione acquosa. Come indicato dalla normativa si è utilizzata una soluzione di PBS con la seguente composizione:

- 137 mM NaCl
- 2.7 mM KCl
- 10 mM tampone fosfato
- acqua.

Ogni dispositivo è stato inserito, singolarmente, in una provetta (Figura 5.6) al fine di evitare contaminazioni tra campioni e facilitare i prelievi successivi; la quantità di soluzione, per ogni contenitore, è stata definita prendendo in considerazione il peso del campione e il conseguente rapporto massa soluzione-massa polimero. Tenuto conto che i prodotti di degradazione dei campioni avrebbero, dato il loro carattere acido, gradualmente abbassato il pH, si è utilizzata una quantità di soluzione maggiore rispetto al minimo indicato, per aumentarne la capacità tamponante, al fine di contenere il pH entro il *range* richiesto. Pertanto, dato che i campioni presentavano un peso medio di 0.18717 g, ciascuna provetta è stata

riempita con 20 ml di PBS, ottenendo così un rapporto soluzione-campione superiore a 100:1.



Figura 5.6: provette contenenti i campioni, ciascuna codificata per l'identificazione.

Il set di provette relative ai gruppi T1, T2 e T3 è stato inserito in stufa (NSV9000), la cui temperatura è stata impostata in modo tale da mantenere, come richiesto, i campioni alla temperatura fisiologica di $37 \pm 2^\circ\text{C}$. Tale temperatura, unitamente al pH, è stata monitorata durante tutto lo svolgimento dello studio, a intervalli regolari, al fine di garantire la stabilità delle condizioni.

Sui vari campioni, secondo quanto pianificato e riportato in Tabella 5.1, sono state condotte le varie analisi per la caratterizzazione.

5.1.1 Spettrofotometria Uv-Vis

La spettrofotometria UV-Visibile si basa sull'assorbimento selettivo, da parte di molecole, delle radiazioni con $\lambda=10\div780$ nm, che danno luogo a variazioni di energia elettronica. L'utilizzo di raggi monocromatici, infatti, consente un'analisi di tipo quantitativo, in quanto l'assorbimento di una radiazione che attraversa una soluzione dipende dalla concentrazione della soluzione stessa: la misura dell'assorbimento permette la determinazione della concentrazione.

Se si fa passare attraverso una soluzione a concentrazione incognita una radiazione monocromatica (cioè di una determinata λ) di intensità I_0 , al di là della soluzione si trova una radiazione di intensità I , uguale o minore ad I_0 , dipendentemente dall'assorbimento verificatosi. La frazione di luce trasmessa, rispetto a quella incidente, viene definita Trasmittanza (T), data da:

$$T = \frac{I}{I_0}$$

La trasmittanza esprime la frazione della luce incidente che ha attraversato il campione senza essere assorbita: tuttavia più comunemente si fa riferimento all'entità della radiazione assorbita, detta Assorbanza (A), pari al logaritmo del reciproco della trasmittanza:

$$A = \log \frac{1}{T}$$

L'assorbanza risulta proporzionale alla concentrazione del campione secondo la legge di Lambert-Beer:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot d$$

dove:

A = assorbanza del campione

ε = coefficiente di estinzione molare, specifico per ogni sostanza

c = concentrazione (mol/l)

d = cammino ottico (cm)



Figura 5.7: spettrofotometro Cary 50, Varian.

Procedura

Per l'acquisizione di uno spettro UV-Vis, circa 2 ml della soluzione da analizzare vengono versati all'interno di una cuvetta in quarzo, successivamente posizionata all'interno dello strumento (Figura 5.7), esattamente lungo la direzione del fascio. Prima di analizzare il campione, viene acquisito lo spettro di uno standard, rispetto al quale, per sottrazione, l'elaboratore restituisce lo spettro di assorbimento del campione. Inizialmente è stato acquisito lo spettro della soluzione di PBS prima dell'immersione delle viti; esso è stato poi utilizzato come *baseline* per le analisi della soluzione successive ai vari prelievi. In tal modo, gli spettri acquisiti dall'elaboratore hanno evidenziato i picchi di assorbimento attribuibili a materiale diverso dalla soluzione di PBS, verosimilmente ai prodotti di degradazione delle viti.

5.1.2 Spettrometria FT-IR

La spettroscopia infrarossa permette di caratterizzare chimicamente i gruppi e la struttura di un composto chimico. La radiazione elettromagnetica infrarossa, che si estende da 12900 cm^{-1} (700 nm) a 10 cm^{-1} (1000 nm), viene assorbita e convertita da una molecola organica in energia di vibrazione molecolare. La frequenza, o lunghezza d'onda, di assorbimento dipende dalle masse relative degli atomi, dalle costanti di forza dei legami, e dalla disposizione geometrica degli atomi di una molecola. Le energie associate a radiazioni IR, interagendo con le energie di legame, possono generare due tipi di vibrazione: lo *stretching* (stiramento), che porta all'allungamento e all'accorciamento della distanza tra due atomi lungo l'asse dei legami, e il *bending* (piegamento) che comporta una variazione degli angoli di legame (Figura 5.8).

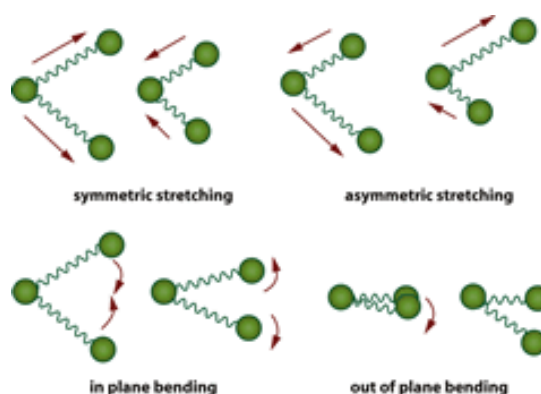


Figura 5.8: esemplificazione delle vibrazioni atomiche generate dall'assorbimento di radiazioni: stretching (stiramento) simmetrico e asimmetrico, ossia variazione della distanza tra gli atomi lungo l'asse di legame (in alto); bending (piegamento) sul piano e fuori dal piano, ossia variazione degli angoli di legame (in basso).

La relazione tra frequenza di oscillazione, masse atomiche e costante di forza dei legami è stabilita dalla seguente equazione che deriva dalla Legge di Hooke, secondo la quale due atomi legati fra loro possono essere considerati come un semplice oscillatore armonico, rappresentato da due masse legate da una molla.

$$\bar{\nu} = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{f}{(M_x M_y)/(M_x + M_y)}}$$

dove

$\bar{\nu}$ = frequenza vibrazionale (cm^{-1})

c = velocità della luce (cm/s)

f = costante di forza del legame (dyne/cm)

M_x e M_y = massa (g) dell'atomo x e dell'atomo y rispettivamente

Dalla relazione precedente si evince che le vibrazioni in cui sono coinvolti atomi più pesanti assorbono a frequenze più basse, mentre quelle che coinvolgono i legami più forti assorbono a frequenze più alte; individuando le frequenze a cui cadono determinate bande di assorbimento è quindi possibile identificare il gruppo funzionale associato a ciascuna banda per confronto con valori tabulati. Con questa tecnica vengono raccolte informazioni anche sul tipo di legami intramolecolari e sulle interazioni tra gruppi funzionali del composto.

L'acquisizione degli spettri IR avviene tramite una strumentazione munita dell'interferometro di Michelson, dispositivo ottico multiplo che permette l'analisi contemporanea e in continuo di tutte le energie trasmesse, riducendo notevolmente il tempo di registrazione. L'interferometro trasforma la radiazione IR policromatica emessa dalla sorgente (istante per istante con la medesima intensità) in un interferogramma, dove l'assorbimento non è più funzione della frequenza ma del tempo. Mediante Trasformata di Fourier, poi, l'interferogramma viene trasformato dal calcolatore in uno spettro che rappresenta la variazione dell'intensità del segnale in funzione della lunghezza d'onda della radiazione.

Procedura

La procedura di acquisizione di uno spettro in Riflettanza Totale Attenuata (ATR), consiste nel posizionamento di un frammento del campione da analizzare sulla superficie del cristallo, attraverso il quale esso viene colpito dalla radiazione; mediante un'elaborazione automatica della strumentazione, lo spettro del campione viene direttamente visualizzato sul monitor, come risultato della media di 8 acquisizioni successive. Con questa procedura sono stati registrati, mediante spettrometro IR PerkinElmer Spectrum 400 (Figura 5.9), gli spettri IR dei campioni prima e dopo il periodo in immersione e confrontati tra loro, con l'obiettivo di verificare eventuali alterazioni della composizione molecolare del materiale dovute alla degradazione dello stesso.



Figura 5.9: spettrometro IR PerkinElmer Spectrum 400.

5.1.3 Calorimetria a scansione differenziale (DSC)

La calorimetria differenziale a scansione o DSC (Differential Scanning Calorimetry) è una delle tecniche di analisi termica più utilizzate per i materiali polimerici.

Il principio di base di questa tecnica consiste nel ricavare informazioni sul materiale in esame, mentre viene sottoposto a cicli di riscaldamento e/o raffreddamento controllati. In particolare, si va a monitorare la differenza di flusso termico tra il campione in esame ed uno di riferimento, che rimane inerte al variare della temperatura, mentre entrambi sono vincolati al medesimo trattamento termico. La misura differenziale del sistema consente di studiare il comportamento proprio del materiale, indipendentemente dagli effetti termici esterni al sistema, ossia dalle condizioni di prova.

Lo strumento viene predisposto posizionando sugli alloggiamenti due crogioli identici, scelti in modo da resistere alle temperature di prova, senza interagire con il campione in esame (Figura 5.10). Uno dei due crogioli rimane vuoto, in quanto serve come riferimento per la misura differenziale.



Figura 5.10: particolare dei crogioli sugli alloggiamenti della strumentazione.

Una volta definito il programma termico (solitamente una o più rampe lineari di temperatura), all'interno della fornace, contenente il materiale da analizzare, viene creata un'atmosfera inerte, con un flusso continuo ed uniforme di N_2 . Iniziata la prova, il calore ceduto dalla fornace riscalda sia il campione sia il provino di riferimento in egual modo. Ogni variazione di temperatura tra i due è dovuta a

fenomeni che insorgono nel materiale da analizzare: una reazione esotermica innalza la temperatura del campione, mentre una endotermica produce l'effetto opposto.

Durante l'esperimento, un sistema di termocoppie raccoglie i dati di temperatura e li invia ad un elaboratore che, mediante un apposito software, li elabora per generare l'output (termogramma).

Questo tipo di analisi permette di ricavare i valori di:

- Temperatura di transizione vetrosa del polimero (T_g)
- Temperatura di fusione (T_m)
- Temperatura di cristallizzazione (T_c)
- Entalpia di cristallizzazione (ΔH_c) e di fusione (ΔH_m), proporzionali all'area sottesa dai picchi
- Determinazione del grado di cristallinità di polimeri semicristallini, proporzionale all'entalpia di cristallizzazione

Procedura

Per l'analisi mediante DSC dei vari campioni, condotta al fine di valutare un'eventuale alterazione della storia termica dei dispositivi, analizzati a diversi stadi del processo di degradazione, si è utilizzato come protocollo, seguendo le indicazioni fornite dal produttore del materiale, il seguente ciclo termico:

- Prima rampa di riscaldamento da 10°C a 250°C con pendenza 10°C/min
- Rampa di raffreddamento da 250°C a 10°C con pendenza 10°C/min
- Isoterma per 5 min
- Seconda rampa di riscaldamento da 10°C a 250°C con pendenza 10°C/min

Per la preparazione di ciascun campione, un frammento del dispositivo da testare, dal peso compreso tra 3 e 7 mg, è stato inserito all'interno di un *pan* (Figura 5.11),

chiuso, poi, ermeticamente (Figura 5.12) e inserito all'interno della camera dello strumento, adagiandolo sopra la corrispondente termocoppia.



Figura 5.11: frammento all'interno del pan.



Figura 5.12: pan chiuso ermeticamente.

5.1.4 Viscosità inerente

La misura della viscosità di soluzioni polimeriche è una tecnica di indagine molto comune in chimica macromolecolare, in quanto è rapida e poco costosa, ma allo stesso tempo fornisce utili informazioni circa il peso molecolare, le dimensioni medie dei gomitoli statistici e le caratteristiche termodinamiche della soluzione.

In generale, per una soluzione polimerica, la viscosità, ossia la resistenza allo scorrimento, aumenta, rispetto al solvente puro, quanto maggiore è il volume occupato da ogni singola catena polimerica di soluto.

Pertanto un esperimento di viscosimetria su soluzioni polimeriche diluite, condotto a temperatura costante, consente di correlare l'aumento di viscosità, con le effettive dimensioni della catena polimerica, le quali dipendono, oltre che dalla massa molecolare, dalla struttura che il polimero assume in soluzione (macromolecola più o meno raggomitolata) e dalle interazioni di solvatazione (cioè tipo di solvente e temperatura).

La misura dell'incremento relativo della viscosità del solvente, dovuto alla presenza delle macromolecole disciolte, è basato sulla misura del rapporto tra il tempo di scorrimento della soluzione t e quello del solvente puro t_0 , attraverso un capillare a sezione definita.

La viscosità specifica della soluzione, infatti, viene definita come :

$$\eta_{sp} = \eta_{rel} - 1 = \left(\frac{t}{t_0} \right) - 1$$

dove la viscosità relativa η_{rel} , in soluzione diluita, è definita come rapporto dei tempi di scorrimento della soluzione (t) rispetto a quello del solvente (t_0), considerando sostanzialmente uguali le densità della soluzione diluita e del solvente.

La viscosità intrinseca esprime la misura dell'aumento relativo della viscosità, normalizzato per la concentrazione. Tale incremento deriva dal valore del volume idrodinamico della macromolecola, cioè dall'ingombro da questa offerto al libero scorrimento del solvente; esso è funzione, in primo luogo, del peso molecolare del polimero e dipende anche dal grado di rigonfiamento della catena, rispetto alle dimensioni non perturbate. Questo è conseguenza, a sua volta, delle interazioni tra segmenti lontani nella sequenza della macromolecola e tra il singolo segmento e le molecole del solvente, che possono penetrare più o meno facilmente all'interno del gomitolo, a seconda della capacità di solvatazione del solvente stesso.

La viscosità intrinseca è definita come

$$\eta_{intr} = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{c}$$

e operativamente viene calcolata con l'equazione

$$\eta_{intr} = \frac{\sqrt{(2\eta_{sp} - 2 \ln \eta_{rel})}}{c}$$

Si definisce anche la viscosità inerente come:

$$\eta_{inh} = \frac{\ln \eta_{rel}}{c}$$

A partire dalla viscosità intrinseca, è possibile calcolare il peso molecolare medio del polimero, mediante l'equazione empirica di Mark-Houwink, secondo cui la viscosità è funzione di una potenza "a" della massa molecolare:

$$\eta_{intr} = KM_v^a$$

K e a sono costanti tipiche del sistema polimero-solvente-temperatura.

La misura della viscosità della soluzione polimerica viene effettuata mediante viscosimetri a capillare del tipo Ubbelohde, con i quali si misura il tempo di scorrimento, attraverso un capillare a sezione definita, di un volume costante di soluzione; in particolare il tempo di scorrimento è determinato dal passaggio del menisco di liquido tra due livelli (Figura 5.13) che viene valutato mediante osservazione diretta e registrato con un cronometro.



Figura 5.13: viscosimetro capillare: particolare del bulbo e delle tacche di riferimento.

Procedura

Per la realizzazione dell'analisi viscosimetrica dei campioni di P(L/DL)LA 70/30, si è proceduto all'utilizzo di un viscosimetro Ubbelohde tipologia 0C, ossia con capillare a diametro adatto alla viscosità del materiale da analizzare, e con costante $K=0.003726$. Per ogni dispositivo, la soluzione polimerica è stata preparata facendo dissolvere 0.05 g del campione in 50 ml di cloroformio; la scelta del quantitativo è stata dettata dalla necessità di garantire una netta differenza di viscosità tra il cloroformio standard e la soluzione. La Tabella 5.2, infatti, indica che la concentrazione più adatta per il P(L/DL)LA è 0.1 g/dl, essendo la viscosità inerente del polimero, dichiarata nel data sheet, compresa tra 5.5 e 6.5 dl/g.

Viscosità inerente (dl/g)	Concentrazione (g/dl)
$0,1 \leq \eta_{inh} < 0,3$	$1,000 \pm 0,004$
$0,3 \leq \eta_{inh} < 1,0$	$0,500 \pm 0,002$
$\eta_{inh} \geq 1,0$	$0,1000 \pm 0,0004$

Tabella 5.2: valori di concentrazione di soluto in funzione della viscosità.

Ciascun campione è stato tagliato, al fine di prelevare la quantità necessaria per l'analisi (Figura 5.14); i frammenti ottenuti sono stati inseriti in un matraccio, al cui interno sono stati versati dapprima 25 ml di cloroformio, seguiti da altri 25 ml di cloroformio, una volta completamente disciolto il materiale (Figura 5.15).



Figura 5.14: campione tagliato e pesato per la prova di viscosità.

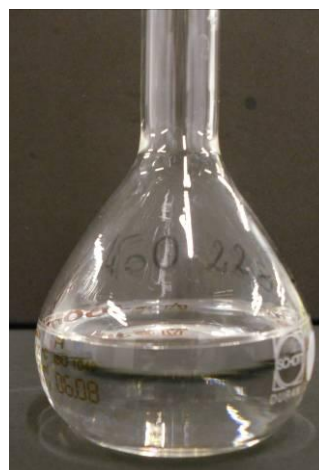


Figura 5.15: campione disciolto in cloroformio.

Dopo alcuni risciacqui del viscosimetro con il cloroformio, si è proceduto alla misurazione del tempo di efflusso del solvente e, successivamente, delle soluzioni polimeriche dei vari campioni. Per ciascun campione sono state acquisite 5 misure, al fine di limitare la variabilità, dovuta all'imprecisione della lettura da parte dell'operatore. Per l'elaborazione dei dati tutti i tempi di efflusso sono stati corretti mediante la "correzione di Hagenbach":

$$t_{corrected} = t_{uncorrected} - (t_{uncorrected}^d \cdot b)$$

dove: $b = 69070.91$ e $d = - 1.99576$

Dai tempi corretti si sono calcolate viscosità relativa e viscosità inerente; poiché il decremento della viscosità inerente indica una diminuzione del peso molecolare del polimero, questo parametro è stato considerato indice della degradazione dei dispositivi.

5.1.5 Test meccanici

Tra le norme ASTM relative a viti riassorbibili, l'unico test meccanico che viene proposto è la prova a torsione (ASTM F2502), che è volta a valutare la resistenza a torsione della vite in fase di inserimento. Tale tipologia di prova risulta utile e significativa per la caratterizzazione del materiale, indipendentemente dalla sua degradazione, in quanto questa avviene successivamente all'inserimento del dispositivo. Si è valutato, quindi, che la prova di resistenza a torsione non fosse adatta a valutare le performance delle viti durante la fase di degradazione.

Al fine di individuare un test che potesse essere significativo per la caratterizzazione meccanica dei campioni, evidenziandone le variazioni di performance imputabili alla degradazione, si è deciso di prendere in considerazione l'applicazione clinica delle viti riassorbibili e individuare gli stress meccanici cui sono sottoposte durante la loro vita funzionale.

Una delle più diffuse applicazioni in ambito clinico delle viti biorassorbibili è il trattamento dell'alluce valgo. Si tratta di una patologia degenerativa che affligge le ossa e le articolazioni associate all'alluce e comporta una deformità dell'avampiede; in genere si sviluppa lentamente ed è il risultato del graduale mal posizionamento dell'articolazione, solitamente dovuto ad una camminata instabile da parte del paziente. Il posizionamento della prima metatarsale verso la linea centrale del corpo e il simultaneo posizionamento dell'alluce lontano dalla linea centrale (indirizzato verso il secondo dito), è la causa di una prominente ossea verso la zona mediale, condizione detta *callo* o *prominenza*. Col progredire della patologia l'alluce scivola verso l'esterno e, nei casi più gravi, può arrivare addirittura a sovrapporsi al secondo dito (Figura 5.16).

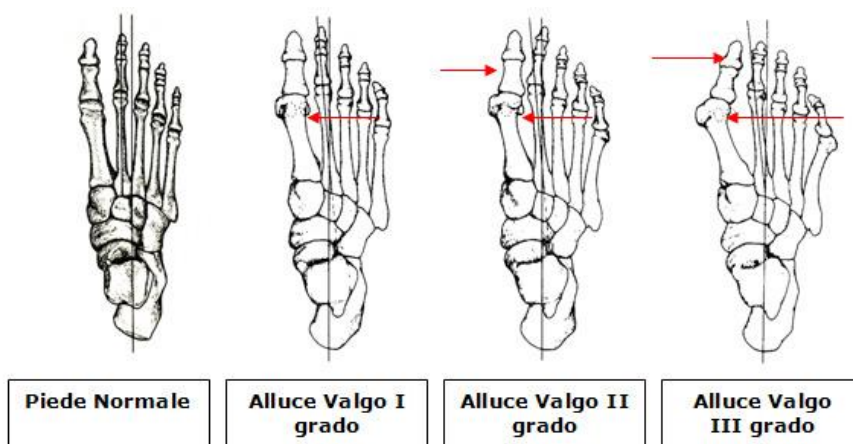


Figura 5.16: stadi patologici dell'alluce valgo.

Quando il grado della patologia è tale da provocare dolore e creare difficoltà nell'indossare le calzature, si può ricorrere ad un intervento chirurgico per correggere la deformità. Diverse sono le metodiche d'intervento per il trattamento di questa patologia [45, 46].

La tecnica di Keller è stata ideata nei primi anni del '900, ed è stata molto diffusa in passato, mentre oggi è poco praticata e le si preferiscono le osteotomie. Consiste nella resezione dell'esostosi mediale del 1° metatarsale e della base della 1° falange, affidando poi il mantenimento della correzione alla sutura mediale della capsula articolare. In pratica viene asportata chirurgicamente la base della prima falange, accorciando il dito di un centimetro circa e, tuttavia, privandolo di un elemento necessario per garantire la flessione e la spinta dell'alluce (Figura 5.17). Per questi motivi, questa tecnica è sempre meno praticata e applicata solo in casi particolari, come quelli di soggetti anziani, o con molta artrosi o dopo insoddisfacenti tentativi chirurgici effettuati con altre metodiche.

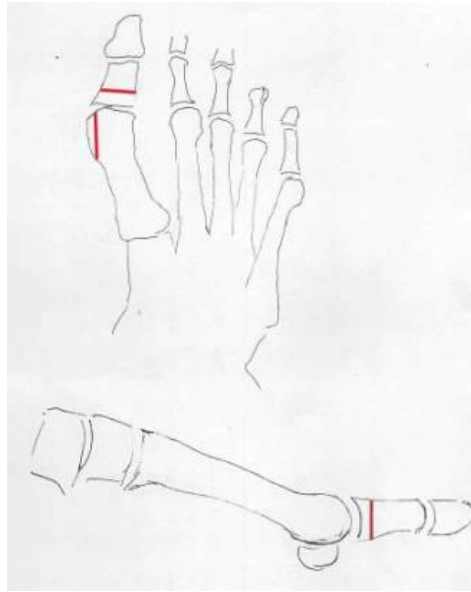


Figura 5.17: tecnica di Keller.

A questa metodica, negli ultimi anni, si preferiscono le osteotomie: tali tecniche consentono, in primo luogo, il rispetto dell'articolazione che non viene più sacrificata; inoltre, vi è una riduzione del dolore post-operatorio, perché non viene più eseguito lo scollamento delle inserzioni tendinee della base della prima falange. Essendo, infine, una correzione "ossea" diminuisce il rischio di recidive di valgismo.

L'osteotomia di SCARF viene eseguita tracciando uno specifico disegno operatorio a Z e utilizzando poi un'appropriata sega oscillante, a livello del 1° metatarsale (Figura 5.18). Tale osteotomia consente una correzione nei tre piani dello spazio della testa metatarsale e spesso è un'operazione definitiva. La tecnica SCARF corregge l'angolo intermetatarsale, dislocando lateralmente la testa e rettifica l'angolo articolare ruotando opportunamente la superficie articolare. Laddove fosse necessario, è anche possibile accorciare o allungare il metatarso e spostare la testa metatarsale verso il dorso o verso la pianta del piede.

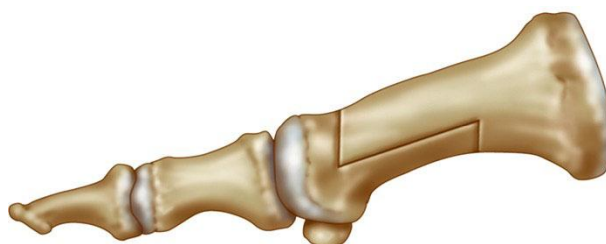


Figura 5.18: osteotomia di SCARF.

L'osteotomia di Austin viene eseguita con appropriata sega oscillante, a livello del collo del primo metatarsale, con disegno a V ad apice distale, tale da conferire, già di per sé, una certa stabilità (Figura 5.19). Il frammento osseo cefalico viene spostato in senso laterale e spesso anche plantare, per correggere la deformità del primo metatarsale, che è alla base dell'alluce valgo. La fissazione dell'osteotomia è affidata a un filo d'acciaio o una piccola vite.

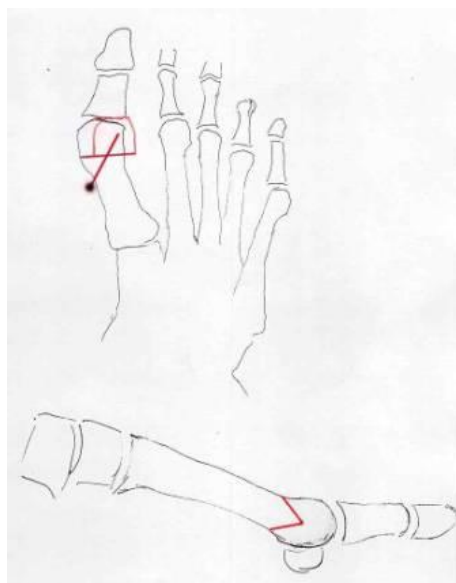


Figura 5.19: osteotomia di Austin.

Come nel caso della tecnica di Austin, l'osteotomia di Reverdin-Green si usa per correggere la deviazione del primo metatarsale: in questo caso, però, si interviene con un disegno operatorio leggermente diverso e si rimuove un cuneo osseo alla base mediale del 1° metatarso, orientando in modo più corretto anche la cartilagine

articolare dell'alluce. Anche per la tecnica di Reverdin-Green, il metatarso inciso viene spostato lateralmente, riallineato e fissato con viti operatorie (Figura 5.20).

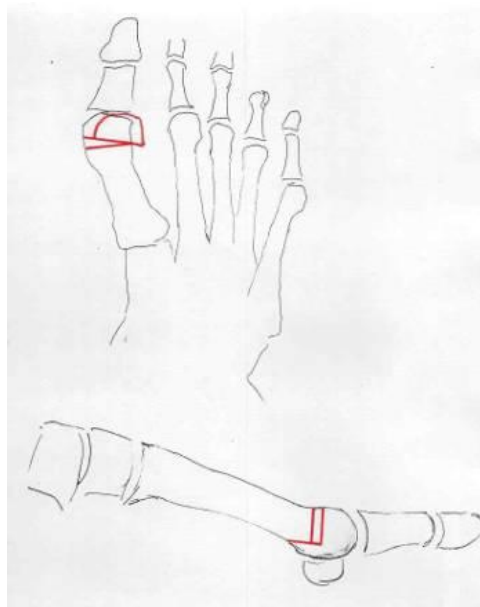


Figura 5.20: osteotomia di Reverdin-Green.

L'osteotomia secondo Akin della falange prossimale consiste nel rimuovere un pezzo d'osso dalla falange vicina al metatarso dell'alluce, in maniera da raddrizzare l'alluce.

L'osteotomia della base è una tecnica usata per i casi molto gravi di alluce valgo: il chirurgo incide verticalmente il primo metatarso, deviato quasi completamente, lasciandone solo una piccola parte non incisa e rimuovendo uno "spicchio" dal primo metatarso, in modo da poter ruotare e riallineare l'alluce deviato.

Il decorso post-operatorio prevede la deambulazione immediata mediante un'apposita calzatura tipo "talus" che consente lo scarico dell'avampiede (Figura 5.21).



Figura 5.21: calzatura tipo "talus".

Poiché l'utilizzo di questa calzatura consente di scaricare le tensioni dell'avampiede, la testa metatarsale nella fase di appoggio è soggetta solamente a deboli forze di natura compressiva generate dalle componenti muscolari e legamentose [47].

In letteratura sono disponibili diverse modellazioni numeriche per l'analisi biomeccanica del piede, che descrivono, in direzione ed entità, le forze muscolari che agiscono durante le varie fasi del ciclo del passo [47-51]. Nella fase di contatto iniziale sono stimate elevate tensioni in corrispondenza del calcagno, dovute all'impatto del tallone con il suolo; si hanno stress notevoli anche sulla superficie dorsale del talo che sostiene e trasferisce i carichi dinamici del corpo al piede (Figura 5.22). La superficie dorsale dell'osso cuboide e delle ossa cuneiformi presentano stress marcati per via della contrazione dei muscoli tibiale anteriore, estensore lungo delle dita ed estensore lungo dell'alluce che, assieme ad altre strutture, contribuiscono all'assorbimento dell'energia prodotta dal contatto del tallone con il suolo (Figura 5.23).

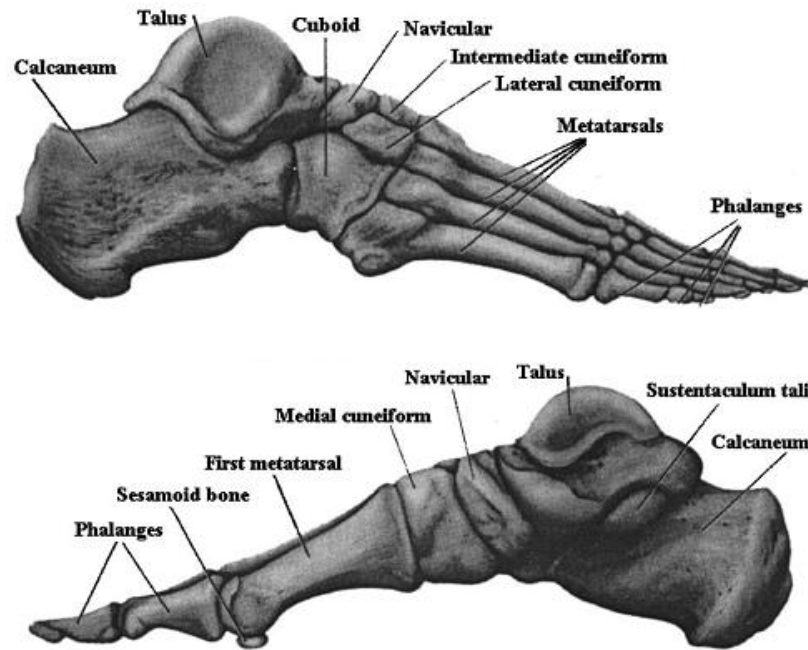


Figura 5.22: visione laterale e mediale del piede con indicazione delle componenti ossee.



Figura 5.23: principali componenti muscolari e tendinee del piede.

Durante la fase di medio carico, gli stress maggiori sono stimati nell'articolazione talo-calcaneare e sulla parte dorsale del piede per l'appiattimento della struttura scheletrica, mentre, per quanto riguarda la porzione plantare, sono causati dallo stiramento dei legamenti e della fascia plantare. Il contributo allo stress totale da

parte dei muscoli è trascurabile se confrontato alle altre strutture. Nelle fasi in cui il contatto con il suolo avviene con l'avampiede, infine, le regioni di stress maggiore sono le superfici dorsali delle prime quattro ossa metatarsali e falangi che, durante queste fasi, portano l'intero peso che grava sul piede. Le tensioni alle quali sono sottoposte le ossa metatarsali, sono dovute a compressione e piegamento, che è il movimento eseguito dal piede per trasferire il peso in avanti e poter completare il passo. Anche la superficie posteriore del calcagno, risulta essere un sito di stress addizionale, per la contrazione del tricipite della sura, che controlla il grado di flessione del piede (Figura 5.24).

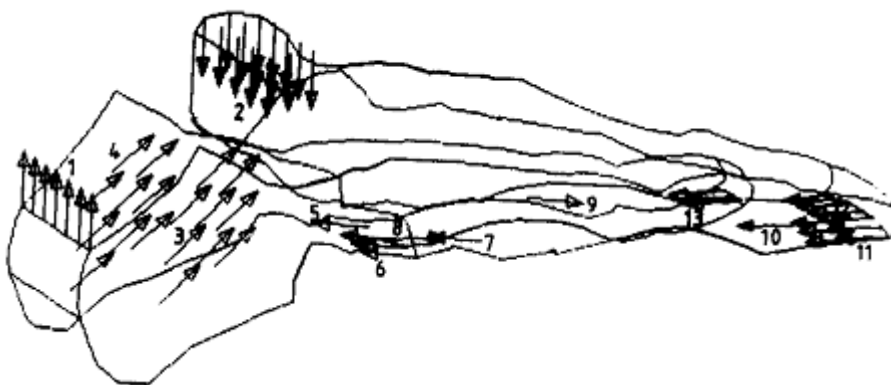


Figura 5.24: forze agenti nella fase di pieno appoggio. 1: forze del Triceps Surae (TS); 2: forza sulla caviglia; 3: forze di reazione mediali dovute a Flexor Hallucis Longus (FHL), Flexor Digitorum Longus (FDL), Tibialis Posterior (TP); 4: forze laterali dovute a Peroneus Brevis (PB), Peroneus Longus (PL); 5: forza muscolare PB; 6: forza muscolare TP; 7: forza muscolare PL; 8: forza muscolare adduttore alluce sull'arco mediale; 9: forza adduttore alluce sull'arco laterale; 10: forza adduttore alluce sulle dita; 11: forza muscolare dovuta a FHL; 12: forza muscolare FDL sull'arco mediale e 13: sull'arco frontale.

Nonostante l'utilizzo della calzatura consenta di ridurre al minimo il carico che altrimenti si avrebbe sul sito di impianto, si è ritenuto opportuno prendere in considerazione l'eventualità che il paziente, in un momento in cui non indossa la scarpa, sottoponga involontariamente l'avampiede ad un carico eccessivo. La stessa situazione può verificarsi anche una volta terminato il periodo di deambulazione mediante calzatura, quando il paziente riprende gradualmente a sottoporre il piede a sollecitazioni. Per queste circostanze, quindi, risulta sensato analizzare il comportamento meccanico degli impianti anche in fase di degradazione.

Si è cercato, quindi, di mettere a punto un sistema per testare la resistenza meccanica delle viti, simulando la condizione d'impianto. Al fine di riprodurre l'applicazione chirurgica della vite un blocchetto in schiuma poliuretanic (sawbones 40 pcf - 0.64 g/cc) è stato appositamente sagomato per consentire la simulazione dell'osteotomia e dell'inserzione della vite come nel modello riportato in Figura 5.25.

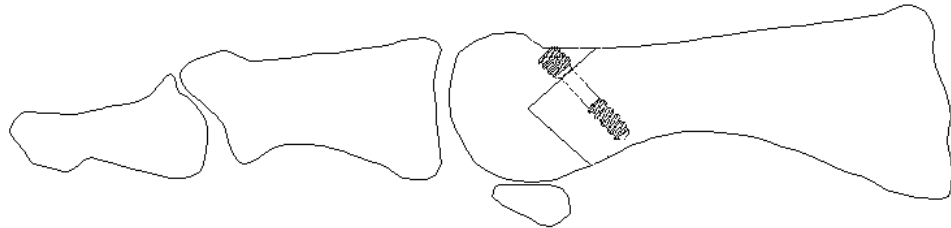


Figura 5.25: modello schematico di osteotomia con impianto di vite biorassorbibile.

La Figura 5.26 riporta la configurazione finale del supporto, che risponde, da un lato, al tentativo di riproduzione della situazione reale, dall'altro alle esigenze tecniche di realizzazione della prova, come la possibilità di fissaggio del campione, l'inserimento della vite e l'applicazione del carico.

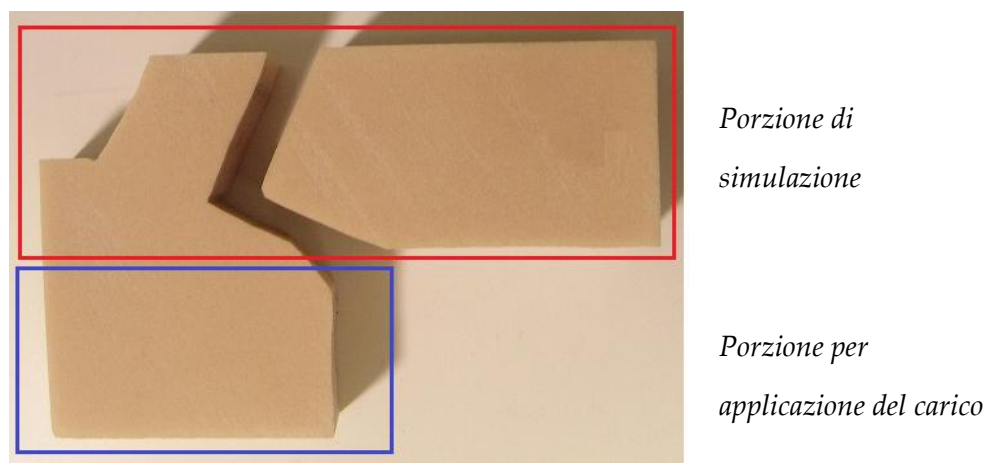


Figura 5.26: supporto per la realizzazione del test meccanico.

La tecnica chirurgica di inserimento della vite, che si è cercato di riprodurre, prevede inizialmente la realizzazione, mediante un'apposita fresa, del foro, in direzione perpendicolare ad uno dei due lati dell'osteotomia (Figura 5.27a). Non essendo la vite biorassorbibile autofilettante, il foro viene successivamente maschiato: per questa procedura si fa uso di due diversi maschiatori essendo differenti il diametro del corpo (Figura 5.27b) e della testa della vite (Figura 5.27c). L'inserimento della vite avviene infine mediante l'utilizzo di un apposito cacciavite a testa triangolare (Figura 5.27d).

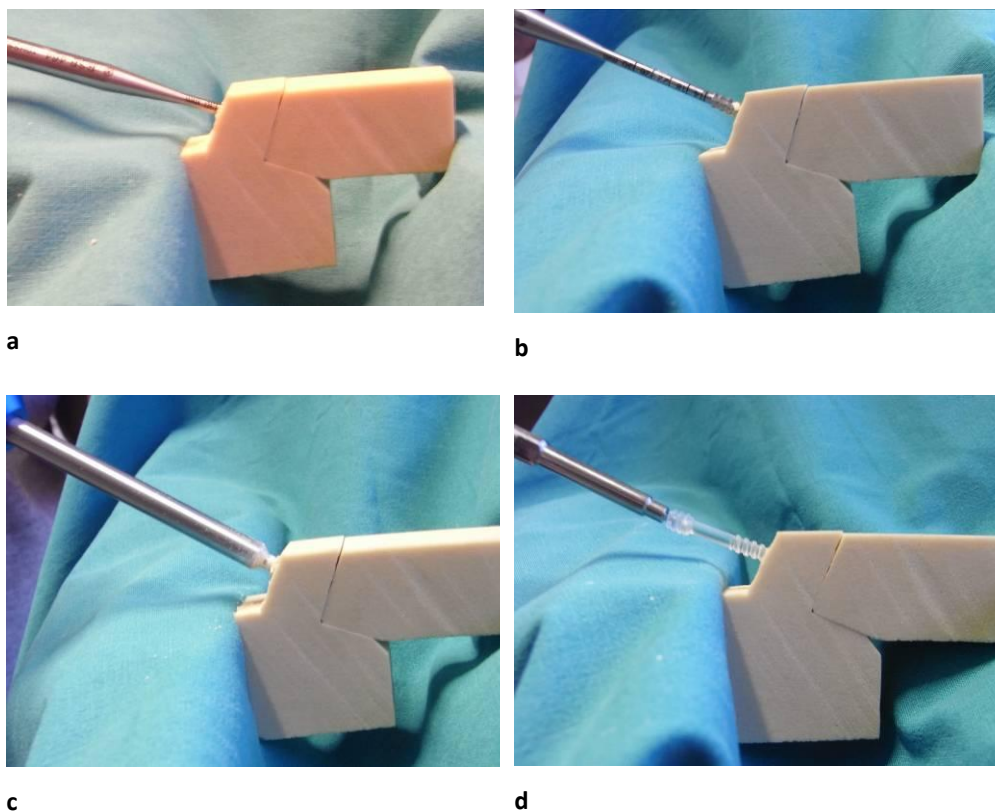


Figura 5.27: simulazione della tecnica chirurgica di inserimento della vite biorassorbibile. Preparazione del foro con apposita fresa (a); maschiatura a diametro inferiore (b); maschiatura a diametro maggiore per l'alloggiamento della testa della vite (c); inserimento vite con apposito cacciavite (d).

Si è potuto osservare come la geometria della vite a doppio filetto con passo differente conferisca notevole stabilità al sistema fissando tra loro le due parti del supporto in schiuma poliuretanic. Tale stabilità del sistema rende inattuabile un test meccanico a compressione con applicazione della forza entro la lunghezza

della vite in quanto la tensione viene scaricata sul poliuretano e non permette di analizzare la risposta del dispositivo impiantato.

Alla luce di quanto considerato si è deciso di condurre il test meccanico sottoponendo le viti a un carico di compressione parallelo all'ipotetico piano d'appoggio del piede ma con punto di applicazione esterno all'asse della vite in modo tale da creare un momento che porta la vite a flettere sino a rottura (Figura 5.28). Obiettivo di questa prova è valutare se vi siano differenze apprezzabili sul massimo carico sopportabile dalle viti, prima di arrivare a rottura, in funzione dello stato di degradazione dei dispositivi.

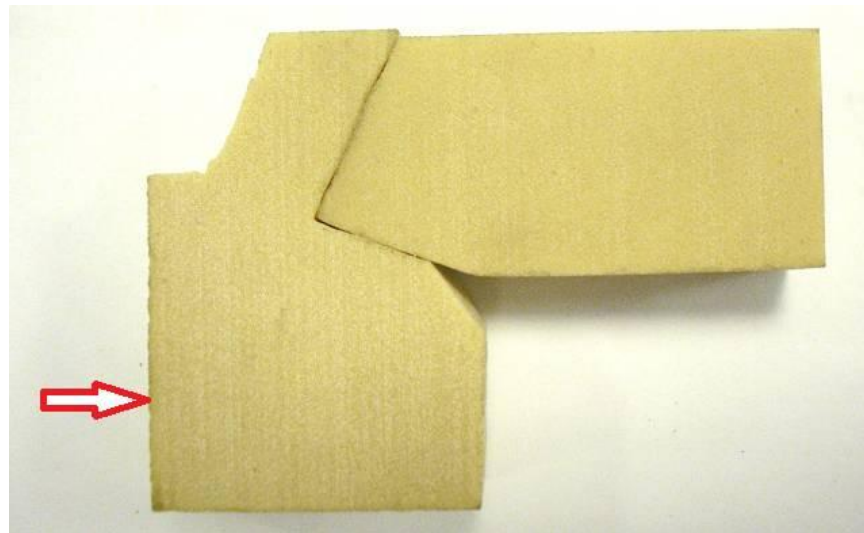


Figura 5.28: supporto dopo inserzione della vite. La freccia indica il punto di applicazione del carico.

Procedura

Per ogni intervallo di campionamento sono state testate 6 viti: ciascuna di esse è stata inserita, mediante la procedura descritta in precedenza, in un blocchetto di schiuma poliuretana, appositamente predisposto. L'intero supporto è stato poi fissato sulla MTS 858 Mini Bionix II, macchina servo idraulica per test dinamici, come riportato in Figura 5.29.

Ogni campione è stato sottoposto ad un carico crescente a una velocità di 5 mm/min fino alla rottura della vite, ricavando il valore del massimo carico sopportato dal dispositivo.

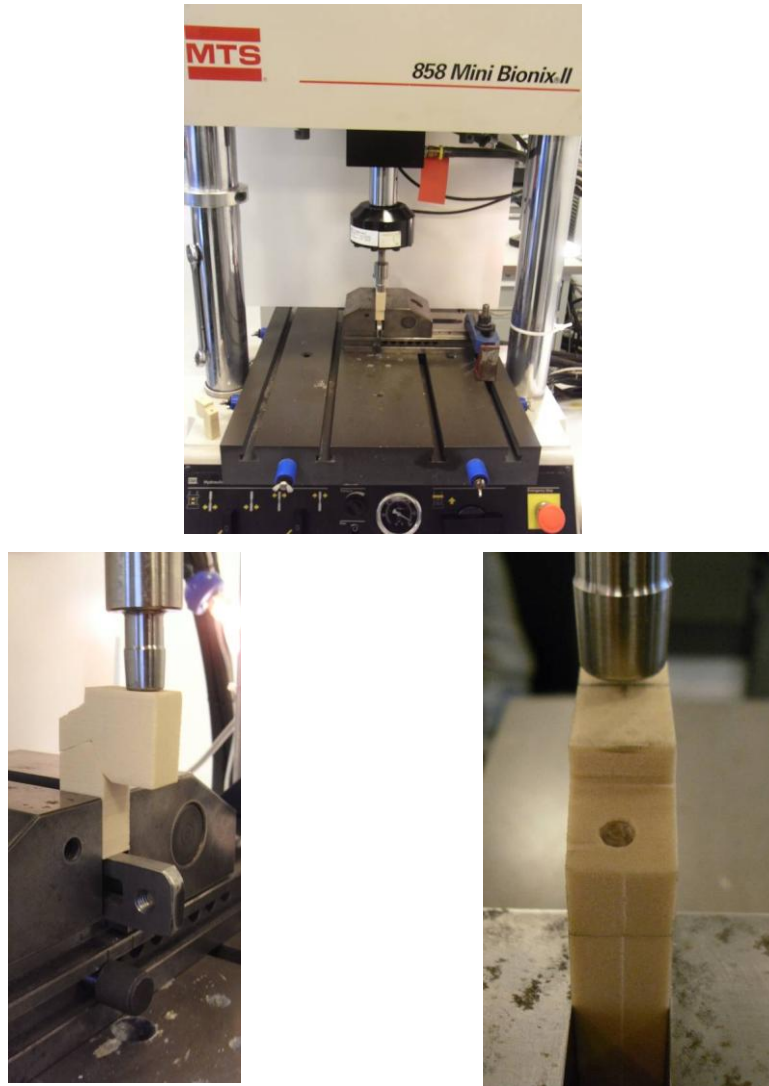


Figura 5.29: allestimento del test meccanico.

5.2 Sterilizzazione

5.2.1 Cenni di Sterilizzazione dei dispositivi biomedicali

Con il termine “sterilizzazione” si definisce qualsiasi processo capace di inattivare efficacemente i contaminanti microbiologici viventi (funghi, batteri e virus) dal materiale in oggetto, per mezzo di un agente chimico o fisico.

Nel campo dei dispositivi medici impiantabili, la sterilità è un requisito fondamentale, in quanto popolazioni batteriche vitali, una volta introdotte

nell'organismo tramite dispositivi contaminati, porterebbero ad infezioni e complicazioni ad esse associate.

Per quanto un processo di sterilizzazione possa essere efficace, infatti, poiché la curva di inattivazione batterica è di tipo logaritmico (Figura 5.30), esiste sempre la probabilità che un microorganismo possa sopravvivere al trattamento, che è determinata dal numero e dalla resistenza dell'agente contaminante e dalle condizioni ambientali cui viene sottoposto durante il processo.

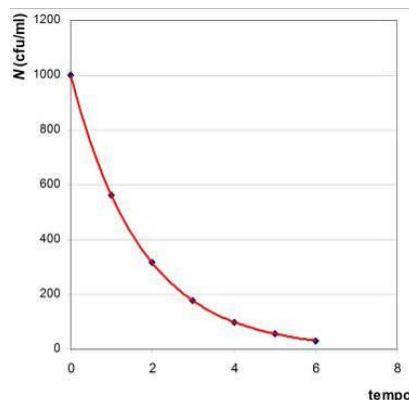


Figura 5.30: cinetica di inattivazione microbica secondo la relazione $\log(N_0/N_t)=Kt$ dove N_0 e N_t rappresentano il numero di organismi vitali rispettivamente a inizio trattamento e al tempo t e il loro rapporto N_0/N_t definisce il grado di inattivazione.

A tal proposito l'indicazione della sterilità non è mai da interpretarsi in senso assoluto, ma viene sempre riferito come Livello di Sicurezza di Sterilità (SAL – Sterility Assurance Level) il valore 1×10^{-6} : ciò significa che un dispositivo medico viene considerato sterile quando la probabilità di trovare in un lotto un campione con un microorganismo vitale è uguale o minore a uno su un milione.

La norma tecnica UNI EN 556-1 del 2002 (*“Sterilizzazione di dispositivi medici. Requisiti per i dispositivi medici che recano l'indicazione ‘STERILE’*) specifica i requisiti per indicare sterile un dispositivo medico sottoposto a sterilizzazione terminale.

I dispositivi medici contemplati in questo lavoro, infatti, sono definiti “sterilizzati terminalmente”, ossia sono stati esposti ad un processo di sterilizzazione in una forma confezionata o assemblata che mantiene la sterilità del dispositivo o di una sua parte, e si distinguono da quelli non sterilizzati terminalmente, che in genere annoverano strumentari chirurgici e dispositivi di fissazione come placche e viti usate in traumatologia.

Gli specifici effetti, positivi o negativi, che un processo di sterilizzazione può avere su un dispositivo dipendono da diversi fattori tra cui la tecnica applicata, i parametri di processo, la tipologia e le proprietà del materiale trattato.

Per i dispositivi riassorbibili in questione, in fase preliminare, si è reso necessario valutare e correlare attentamente materiali, dispositivi, tipo di confezionamento e metodica di sterilizzazione, al fine di identificare i trattamenti che garantiscano la sterilità del campione, senza inficiarne le proprietà fisico-chimiche.

Vengono di seguito indicati i processi di sterilizzazione industriale di norma utilizzati per i dispositivi medici, che sono stati presi in rassegna:

La sterilizzazione mediante calore, umido o secco, è un processo che richiede temperature di esercizio pari o superiori a 120°C per inattivare efficacemente le spore batteriche. La suscettibilità dei dispositivi realizzati in PLA all'idrolisi e alle alte temperature preclude l'utilizzo di questa tecnica di sterilizzazione. Dispositivi realizzati in P(L/DL)LA sottoposti a questo trattamento, infatti, sono risultati significativamente e irrimediabilmente danneggiati a causa delle elevate temperature (Figura 5.31).

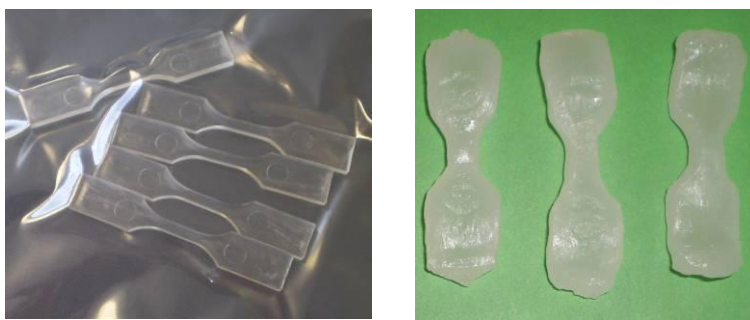


Figura 5.31: provini in P(L/DL)LA prima (sinistra) e dopo (destra) trattamento di sterilizzazione mediante calore

La sterilizzazione mediante Ossido di Etilene (EtO), un gas molto reattivo, è una tecnica di sterilizzazione chimica spesso usata per polimeri sensibili al calore e l'umidità. Anche questa tecnica, però, non risulta adatta ai dispositivi in P(L/DL)LA in quanto l'EtO agisce come plasticizzante per il polimero, e questo, unitamente a temperature di esercizio superiori ai 60°C, provoca deformazioni critiche dei campioni; inoltre l'eliminazione dei residui di gas, che sono

potenzialmente tossici, richiede procedure di degasaggio che allungano notevolmente la durata totale del processo, incidendo sulle tempistiche di produzione industriale.

La sterilizzazione mediante radiazioni è dovuta al danno che le radiazioni causano al DNA cellulare, impedendo così la crescita dei microrganismi; si possono utilizzare due diversi tipi di radiazione: gamma e beta.

- *sterilizzazione mediante radiazione gamma*: sorgente dei raggi gamma è il Cobalto-60 (Co^{60}), un isotopo radioattivo e instabile del Cobalto, che decadendo emette radiazioni ionizzanti con un alto potere penetrante. Questo metodo non richiede alte temperature, non lascia residui tossici ed ha un'alta efficacia.
- *sterilizzazione mediante radiazione beta*: è basata sull'utilizzo di fasci elettronici ad alta energia (radiazioni beta) ottenuti con acceleratori lineari. Questa tecnica non necessita di temperature elevate, non lascia residui tossici e, grazie all'alta energia degli elettroni, richiede brevi tempi di esposizione ed è molto efficace. Rispetto alle radiazioni gamma, le radiazioni beta hanno un potere penetrante inferiore, il che riduce il rischio di degradazione del polimero, anche se è poco adatto per dispositivi di notevole spessore, e hanno un dosaggio maggiormente controllabile.

<i>Caratteristiche sterilizzazione con radiazione Beta</i>	
Energia del fascio	10 MeV
Potenza del fascio	20 kW (max)
Corrente media del fascio	270 mA
Frequenza di riferimento della potenza	500 kHz (max)
Finestra di scansione regolabile	da 40 a 80 cm
Omogeneità della scansione	± 5 %

Tabella 5.3: specifiche del ciclo di sterilizzazione mediante radiazione beta

La sterilizzazione mediante plasma di perossido di idrogeno utilizza una miscela reattiva di ioni, elettroni ed atomi altamente energetici non legati tra loro, ricavati dalla

vaporizzazione di H₂O₂ mediante una fonte di radiofrequenze. Gli ioni e radicali del plasma sterilizzano il materiale senza produrre residui tossici o emissioni. Si tratta, tuttavia, di un metodo di sterilizzazione superficiale, quindi non applicabile ai dispositivi biorassorbibili che necessitano di essere interamente sterili per evitare il rischio di infezioni nel paziente durante la loro degradazione. Inoltre, nel caso del P(L/DL)LA, le specie ossidanti provocano delle alterazioni chimico-fisiche del materiale che inficiano la vita funzionale dei dispositivi.

La tecnica di sterilizzazione mediante radiazioni è quella che è stata presa in considerazione come compatibile con i dispositivi biorassorbibili considerati in questo studio; ciò deriva non solo dalla sua efficacia e velocità di trattamento, ma anche dalla possibilità di confezionare un processo ad hoc sulla base del prodotto da trattare.

5.2.2 Caratterizzazione dei dispositivi sterilizzati

Una parte del tirocinio è stata dedicata alla valutazione dell'influenza della sterilizzazione a radiazioni Gamma e Beta sui dispositivi biorassorbibili descritti nel Capitolo 3, diversi tra loro per forma, geometria e materiale, mediante caratterizzazione chimico-fisica e meccanica di tali dispositivi, sottoposti a trattamenti differenti.

Si sono prese in considerazione e confrontate tra loro tre diverse dosi d'irraggiamento per ciascuna tipologia di sterilizzazione, come indicato in tabella 5.4:

Sterilizzazione Gamma	25 kGy
	20 kGy
	16.5 kGy
Sterilizzazione Beta	25 kGy
	18 kGy
	16 kGy

Tabella 5.4: elenco dosaggi dei trattamenti di sterilizzazione Gamma e Beta considerati

I dispositivi testati sono i seguenti:

- Cambra RSB 200-12
- Vite RSB 460-22
- Vite RSB 460-18 (di lunghezza inferiore rispetto alla precedente)
- Pin RSB 025-60
- Pin RSB 018-60 (di diametro inferiore rispetto al precedente)
- Vite Calcaneo-Stop RSB 723

Di ogni dispositivo si avevano a disposizione, come indicato in Tabella 5.5, un campione non sterile e due campioni sterili per ciascuna delle 6 tipologie di sterilizzazione sopra riportate. Nel caso delle viti 460-22 e 460-18, sono stati utilizzati due differenti lotti di produzione, sottoponendone uno a trattamento a raggi gamma e l'altro a raggi beta, e i risultati ottenuti sono stati confrontati con il corrispondente riferimento non sterile.

Dispositivi	Campioni Non sterili	Campioni sterili					
		Gamma 25 kGy	Gamma 16,5 kGy	Gamma 20 kGy	Beta 25 kGy	Beta 16 kGy	Beta 18 kGy
Cambra RSB 200-12 – P(L/DL)LA	RSB200-12_07_NS	RSB200-12_G25A	RSB200-12_G16A	RSB200-12_G20A	RSB200-12_B25A	RSB200-12_B16A	RSB200-12_B18A
		RSB200-12_G25B	RSB200-12_G16B	RSB200-12_G20B	RSB200-12_B25B	RSB200-12_B16B	RSB200-12_B18B
Vite RSB 460-22 – P(L/DL)LA	RSB460-22_r2_NS	RSB460-22_G25A	RSB460-22_G16A	RSB460-22_G20A	RSB460-22_B25A	RSB460-22_B16A	RSB460-22_B18A
	RSB460-22_r3_NS	RSB460-22_G25B	RSB460-22_G16B	RSB460-22_G20B	RSB460-22_B25B	RSB460-22_B16B	RSB460-22_B18B
Vite RSB 460-18 – P(L/DL)LA	RSB460-18_r2_NS	RSB460-18_G25A	RSB460-18_G16A	RSB460-18_G20A	RSB460-18_B25A	RSB460-18_B16A	RSB460-18_B18A
	RSB460-18_r1_NS	RSB460-18_G25B	RSB460-18_G16B	RSB460-18_G20B	RSB460-18_B25B	RSB460-18_B16B	RSB460-18_B18B
PIN RSB 025-60 – P(L/DL)LA	RSB025-60_NS	RSB025-60_G25A	RSB025-60_G16A	RSB025-60_G20A	RSB025-60_B25A	RSB025-60_B16A	RSB025-60_B18A
		RSB025-60_G25B	RSB025-60_G16B	RSB025-60_G20B	RSB025-60_B25B	RSB025-60_B16B	RSB025-60_B18B
PIN RSB 018-60 – P(L/DL)LA	RSB018-60_NS	RSB018-60_G25A	RSB018-60_G16A	RSB018-60_G20A	RSB018-60_B25A	RSB018-60_B16A	RSB018-60_B18A
		RSB018-60_G25B	RSB018-60_G16B	RSB018-60_G20B	RSB018-60_B25B	RSB018-60_B16B	RSB018-60_B18B
Vite Calc. RSB 723 – PLLA	RSB723_NS	RSB723_G25A	RSB723_G16A	RSB723_G20A	RSB723_B25A	RSB723_B16A	RSB723_B18A
		RSB723_G25B	RSB723_G16B	RSB723_G20B	RSB723_B25B	RSB723_B16B	RSB723_B18B

Tabella 5.5: prospetto dei campioni testati nello studio di sterilizzazione

La prima analisi cui sono stati sottoposti tutti i dispositivi è stata la misura della viscosità inerente: la diminuzione di viscosità, corrispondente alla perdita di peso molecolare, infatti, è chiaro indice di degradazione del materiale. Questa analisi, quindi, ha consentito un'immediata valutazione dell'influenza dei diversi tipi di sterilizzazione sul materiale.

Ad essa hanno seguito l'analisi spettrometrica FT-IR e l'analisi calorimetrica a scansione differenziale (DSC) per l'individuazione, rispettivamente, di eventuali alterazioni della composizione molecolare e della storia termica.

Tali analisi sono state condotte seguendo le procedure già descritte nel Paragrafo 5.1

Per la caratterizzazione meccanica i dispositivi analizzati sono stati soltanto i pin riassorbibili in quanto solo per questi vi è una normativa di riferimento che descrive un test standard per l'analisi delle proprietà meccaniche. La norma seguita è la ASTM F2502 "Standard Specification and Test Methods for Bioabsorbable Plates and Screws for Internal Fixation Implants", la quale riporta una prova a flessione su 3 punti, indicando il posizionamento sull'apposito supporto del dispositivo da testare (Figura 5.32), che viene sottoposto a carico crescente nel punto centrale.

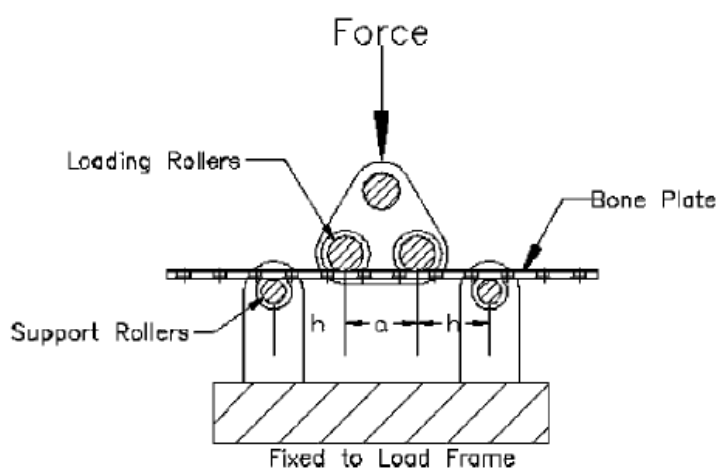


Figura 5.32: schema disposizione strumentazione e campione per prova a flessione

Questo test consente di ricavare una curva sforzo-spostamento, da cui è possibile calcolare la rigidità flessionale e la resistenza a flessione del campione.

Essendo le prove di caratterizzazione chimico-fisica distruttive, per le prove di caratterizzazione meccanica si sono utilizzati altri campioni, appartenenti agli stessi lotti dei precedenti e sottoposti agli stessi processi di sterilizzazione, in modo tale da avere 3 campioni per ciascuna tipologia di processo.

Per lo svolgimento della prova ogni pin è stato disposto sul supporto come in Figura 5.33 e sottoposto ad un carico crescente ad una velocità di 5 mm/min ricavando il diagramma dello sforzo in funzione dello spostamento dell'attuatore.

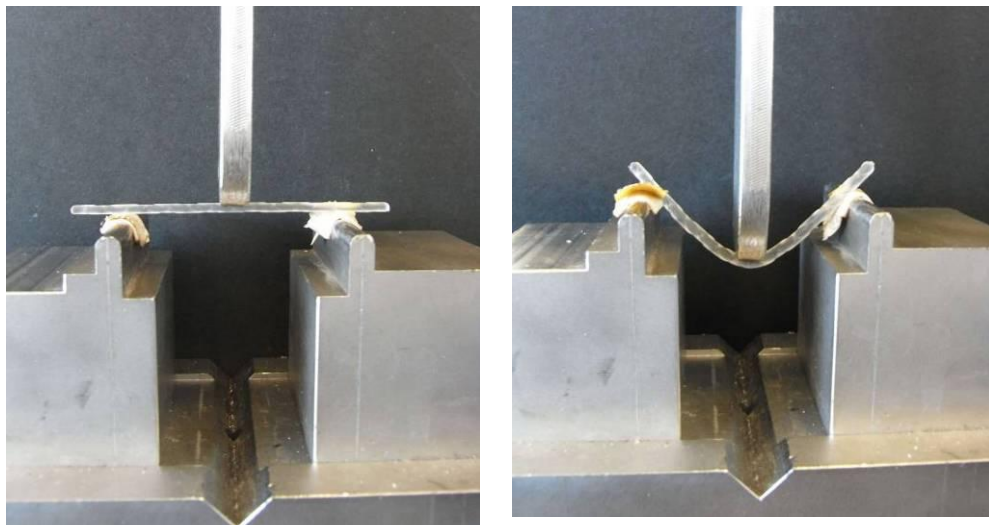


Figura 5.33: pin sottoposto al test a flessione; disposizione del campione (sinistra) e svolgimento della prova (destra)

La valutazione dell'influenza della sterilizzazione sui dispositivi è stata condotta confrontando i valori di carico massimo sopportato dai campioni, dato che la degradazione del materiale incide sulla resistenza a flessione dello stesso.

CAPITOLO 6

Risultati

6.1 Risultati test di degradazione in vitro

In questa sezione saranno trattati i risultati ottenuti dalle indagini descritte al Capitolo 5. Al fine di rendere più comprensibile l'interpretazione dei risultati e la correlazione dei dati con i dispositivi testati si riporta in Tabella 6.1 l'elenco dei dispositivi testati con il corrispondente codice.

DISPOSITIVO RSB	CODICE
Cambrà	200-12
Vite a doppia filettatura lunghezza 22 mm	460-22
Vite a doppia filettatura lunghezza 18 mm	460-18
Pin diametro 2.5 mm	025-60
Pin diametro 1.8 mm	018-60
Vite calcaneo-stop	723

Tabella 6.1: elenco dei dispositivi riassorbibili testati con codice d'identificazione

6.1.1 Analisi dimensionali e gravimetriche

Lunghezza

Ogni campione è stato misurato prima dell'inizio della prova e in seguito al suo prelievo, al fine di avere una precisa indicazione delle variazioni dovute all'immersione. Per una più rapida interpretazione dei risultati, si è proceduto a

determinare e confrontare i valori medi dei 6 campioni appartenenti a ciascun gruppo, T0, T1 e T2.

La Figura 6.1 riporta i valori medi della lunghezza delle viti calcolati per ciascun *timepoint*: la rappresentazione grafica rende immediata l'osservazione di una diminuzione progressiva della lunghezza all'aumentare del periodo di immersione. Nello specifico si passa da 22.09 ± 0.01 mm per il T0 a 21.41 ± 0.10 mm per il T1 fino a 21.19 ± 0.12 mm per il T2.

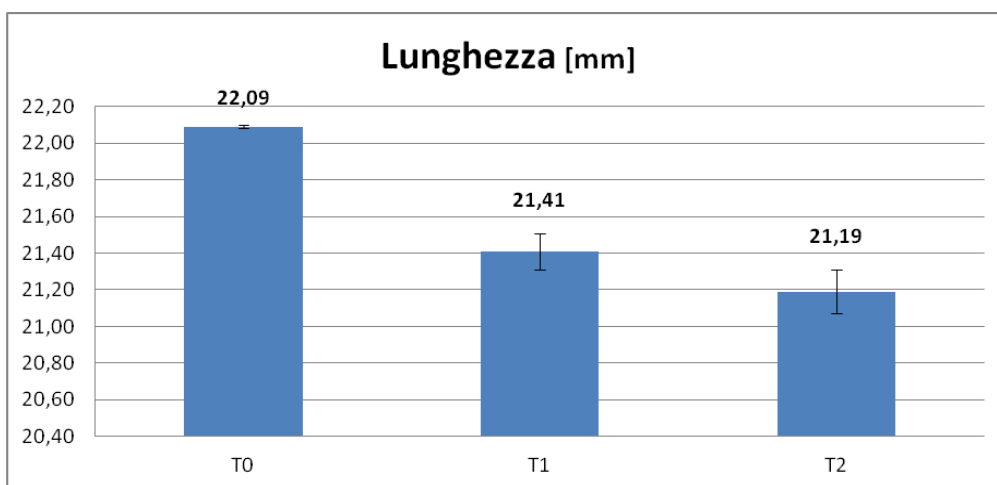


Figura 6.1: confronto tra i valori medi della lunghezza delle viti per ciascun *timepoint*

Si nota un calo più accentuato della lunghezza dopo i primi 30 giorni, con una perdita percentuale del 3.08%, seguito da una diminuzione più contenuta nel secondo intervallo pari al 1.03%.

Diametro

Di ogni campione è stato misurato il diametro del corpo centrale, del filetto piccolo e del filetto grande precedentemente l'immersione e in seguito al prelievo. La Tabella 6.2 e la Figura 6.2 riportano i valori medi ottenuti per ciascun *timepoint*.

	Diametro (mm)		
	T0	T1	T1
Diametro medio	3,39	3,43	3,41
Corpo centrale	2,53	2,62	2,59
Filetto piccolo	3,32	3,35	3,32
Filetto grande	4,34	4,33	4,31

Tabella 6.2: valori medi del diametro di corpo centrale, filetto piccolo e filetto grande della vite, e della loro media, per ciascun timepoint

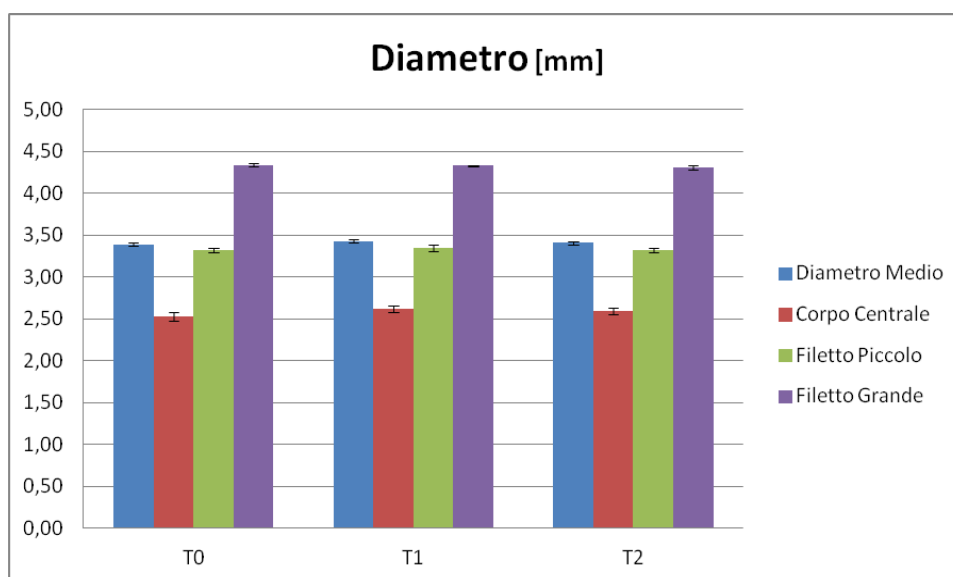


Figura 6.2: confronto tra i valori medi di corpo centrale, filetto piccolo, filetto grande e media di questi per ciascun timepoint

A differenza della lunghezza, le variazioni dei diametri osservate non sembrano avere un trend riconducibile in modo significativo ad un processo di degradazione (Tabella 6.2 e Figura 6.2).

Peso

Ogni vite è stata pesata all'inizio dello studio e successivamente al suo prelievo: il confronto tra i valori medi ottenuti per ciascun timepoint mostra una diminuzione di peso all'aumentare del periodo di immersione. Il grafico di Figura 6.3 riporta

l'andamento percentuale del peso, che mostra una perdita pari allo 0.12% dopo 30 giorni di immersione e 0.11% dopo 60 giorni.

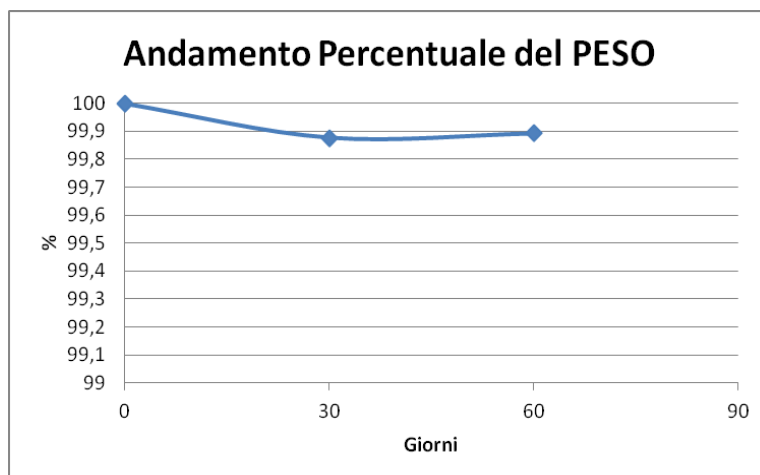


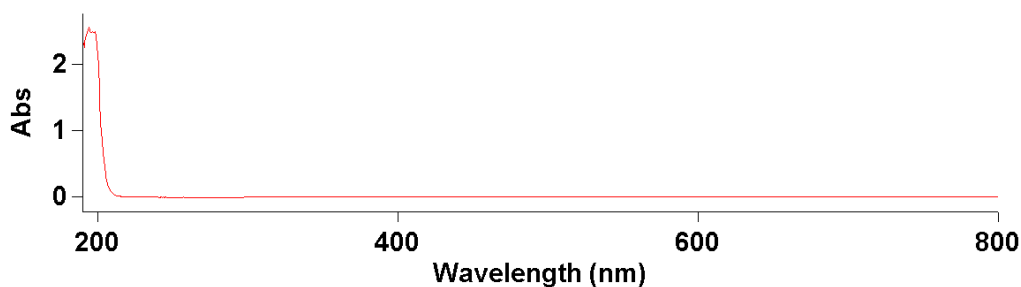
Figura 6.3: andamento percentuale del peso dei campioni in funzione dei giorni di immersione in soluzione

Si evidenzia una correlazione tra i dati ottenuti relativi all'andamento della lunghezza e del peso: entrambi mostrano, infatti, un significativo calo iniziale e la successiva stabilizzazione nel periodo intermedio

6.1.2 Analisi spettrofotometrica UV-Vis

Al termine di ogni *timepoint*, la soluzione di immersione è stata sottoposta ad analisi spettrometrica UV-Vis al fine di individuare l'eventuale presenza di prodotti di degradazione dei dispositivi.

L'acquisizione dello spettro UV-Vis relativo alla soluzione di PBS analizzata inizialmente, evidenzia dei picchi di assorbimento a lunghezze d'onda pari a circa 194 e 198 nm (Figura 6.4).



Scan Analysis Report	
<u>Sample Name: "PBS Solution"</u>	
Peak Table	
Peak Style	Peaks
Peak Threshold	0.0100
Range	800.0nm to 190.0nm
Wavelength (nm)	Abs
198.4	2.493
194.0	2.551

Figura 6.4: Spettro di assorbimento UV-Vis della soluzione di PBS iniziale

Per lunghezze d'onda comprese tra 215 e 800 nm, invece, la soluzione di PBS non presenta picchi di assorbimento, come evidenziato in Figura 6.5.

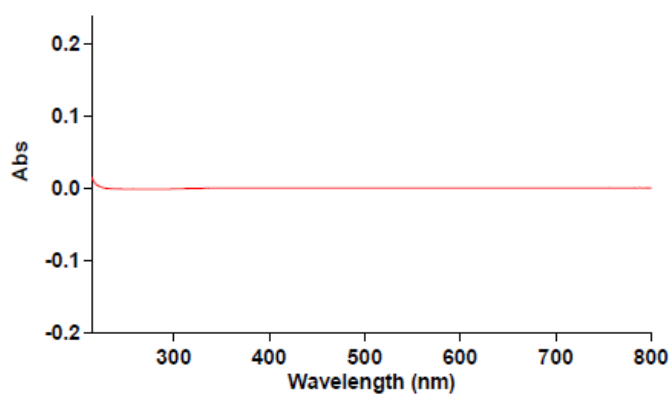
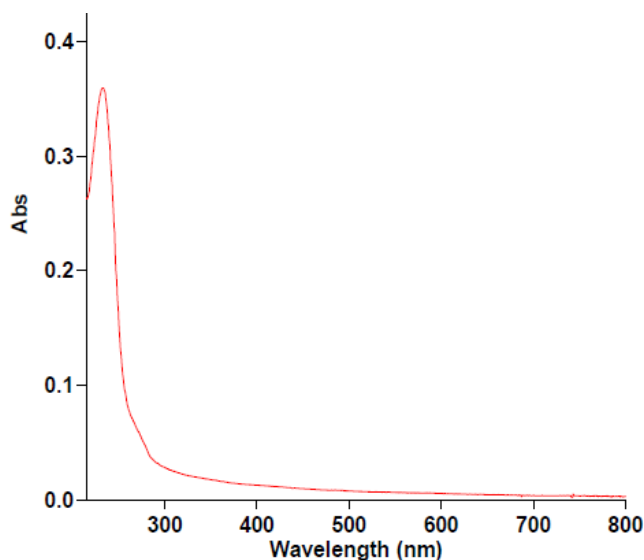


Figura 6.5: Spettro di assorbimento UV-Vis della soluzione di PBS iniziale ristretto all'intervallo tra 215 e 800 nm

Tramite spettroscopia UV-Vis si intende verificare se il meccanismo di degradazione genera specie chimiche in grado di produrre segnali tra 215 e 800 nm in modo da non essere mascherati o alterati dall'assorbimento del PBS.

Le soluzioni di immersione, dunque, saranno esaminate nel range di lunghezze d'onda sopra menzionato.

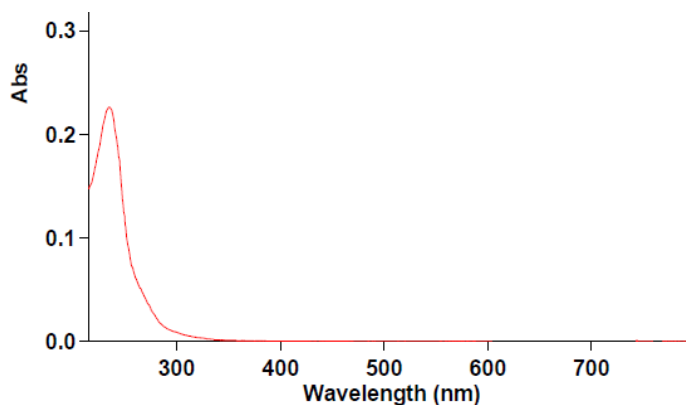
La figura 6.6 riporta lo spettro medio delle soluzioni di 3 viti analizzate dopo 30 giorni di immersione dei campioni (T1), esso evidenzia la presenza di un picco di assorbimento a 233 nm.



Scan Analysis Report	
<u>Sample Name: "Mean T1"</u>	
Peak Table	Peaks
Peak Style	0.0100
Peak Threshold	800.0nm to 215.0nm
Range	
Wavelength (nm)	Abs
233.0	0.302

Figura 6.6: spettro medio di assorbimento UV-Vis della soluzione di PBS dopo 30 giorni di immersione delle viti

Analogamente per il timepoint T2, lo spettro acquisito, riportato in Figura 6.7, presenta un picco di assorbimento a 234.6 nm.



Scan Analysis Report	
<u>Sample Name: "Mean T2"</u>	
Peak Table	
Peak Style	Peaks
Peak Threshold	0.0100
Range	799.9nm to 215.0nm
Wavelength (nm)	Abs
234.6	0.249

Figura 6.7: spettro medio di assorbimento UV-Vis della soluzione di PBS dopo 60 giorni di immersione delle viti

Essendo le viti conservate in contenitori sigillati, si esclude la presenza di agenti contaminanti all'interno della soluzione: pertanto si desume che il picco di assorbimento, evidenziato in entrambi i timepoint alla stessa lunghezza d'onda, sia attribuibile a materiale derivante dalla degradazione idrolitica dei dispositivi. Poiché il monomero di acido lattico presenta assorbimento UV-Vis alla lunghezza d'onda di circa 290 nm, il picco di assorbimento riscontrato nell'analisi (a 233 -234 nm) potrebbe essere correlato a frazioni polimeriche a basso peso molecolare disperse nella soluzione.

6.1.3 Analisi spettrometrica FT-IR

L'acquisizione degli spettri FT-IR è stata condotta inizialmente sui 3 campioni appartenenti al gruppo T0, quindi non soggetti a degradazione idrolitica. La Figura 6.8 riporta i 3 spettri acquisiti sovrapposti tra loro.

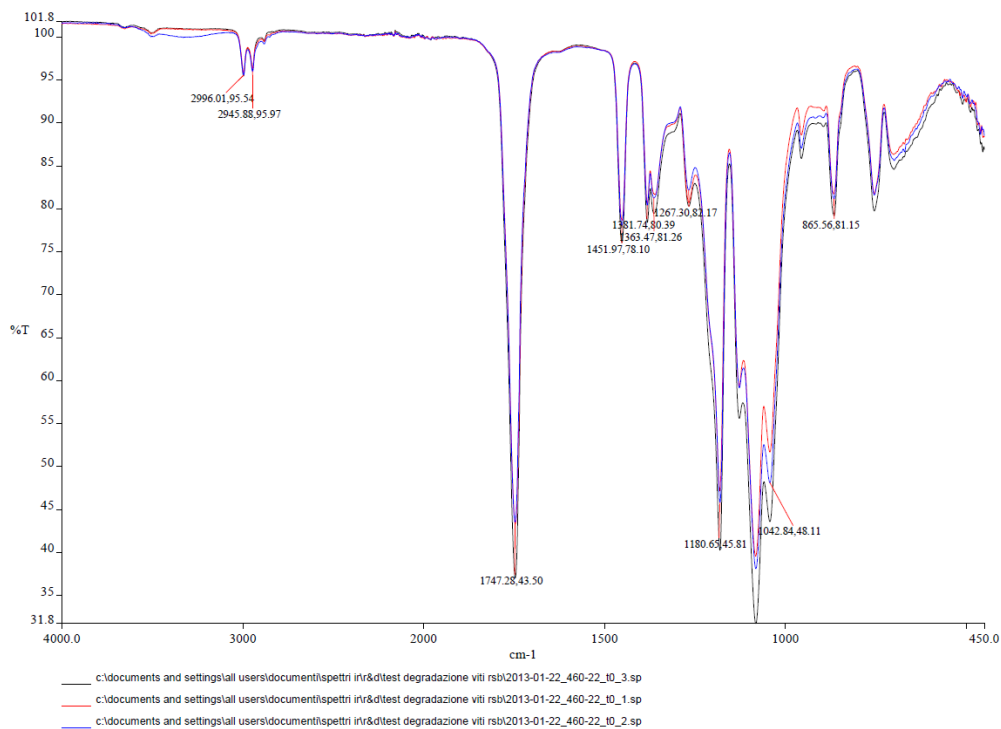


Figura 6.8: sovrapposizione spettri FT-IR di tre campioni non soggetti a degradazione; in evidenza i picchi significativi

L'osservazione dei picchi significativi, interpretabili come indicato in Tabella 6.3 evidenzia la corrispondenza tra gli spettri ottenuti e quello del polilattide di riferimento riportato nella norma ASTM F1925 (Figura 2.9).

Lunghezza d'onda (cm ⁻¹)	Legami chimici del polimero
2996	<i>Stretching</i> –CH ₃ asimmetrico
2946	<i>Stretching</i> –CH ₃ simmetrico
1747	<i>Stretching</i> C=O nel legame estereo
1452	<i>Bending</i> –CH ₃ asimmetrico
1382	<i>Bending</i> –CH ₃ simmetrico
1363	<i>Bending</i> -CH
1267	<i>Stretching</i> C-O nel gruppo terminale carbossilico
1181, 1043	<i>Stretching</i> -C-O nel legame estereo
865	<i>Stretching</i> H-O-C-C

Tabella 6.3: Legami chimici del P(L/DL)LA evidenziati dallo spettro FT-IR

Gli spettri relativi ai 3 dispositivi prelevati al tempo T1, dopo 30 giorni di immersione in soluzione, unitamente alla loro media, sono riportati in Figura 6.9.

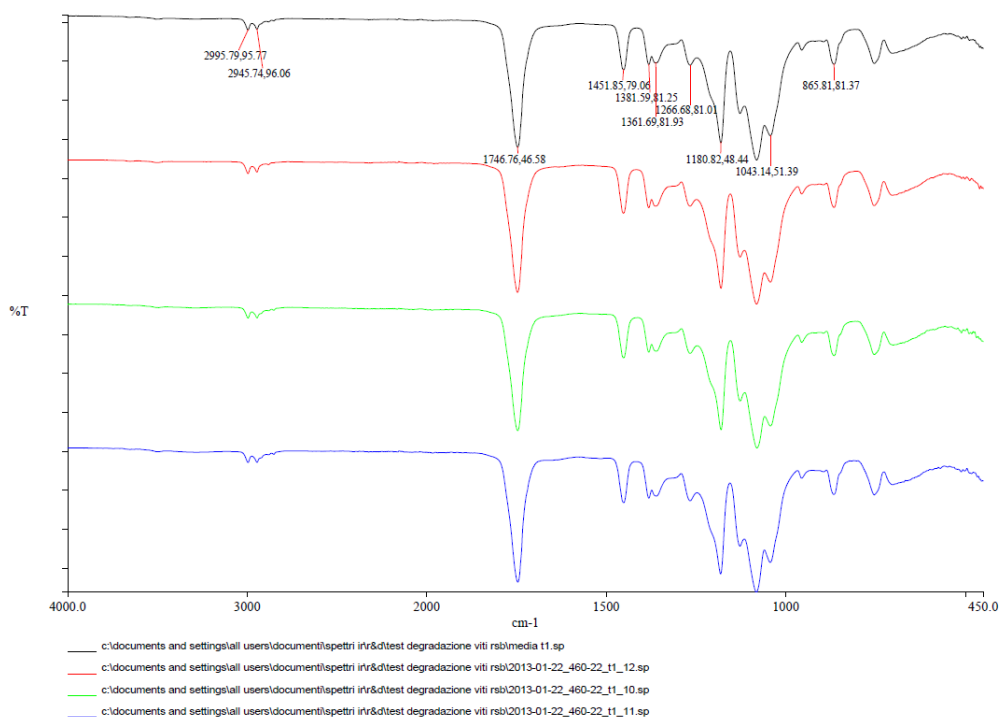


Figura 6.9: spettri FT-IR di tre campioni prelevati dopo 30 giorni di immersione (blu, verde e rosso); in nero lo spettro medio dei tre con in evidenza i picchi significativi

Analogamente, per il tempo T2, gli spettri dei campioni rimasti in immersione per 60 giorni e il corrispondente spettro medio sono indicati in Figura 6.10.

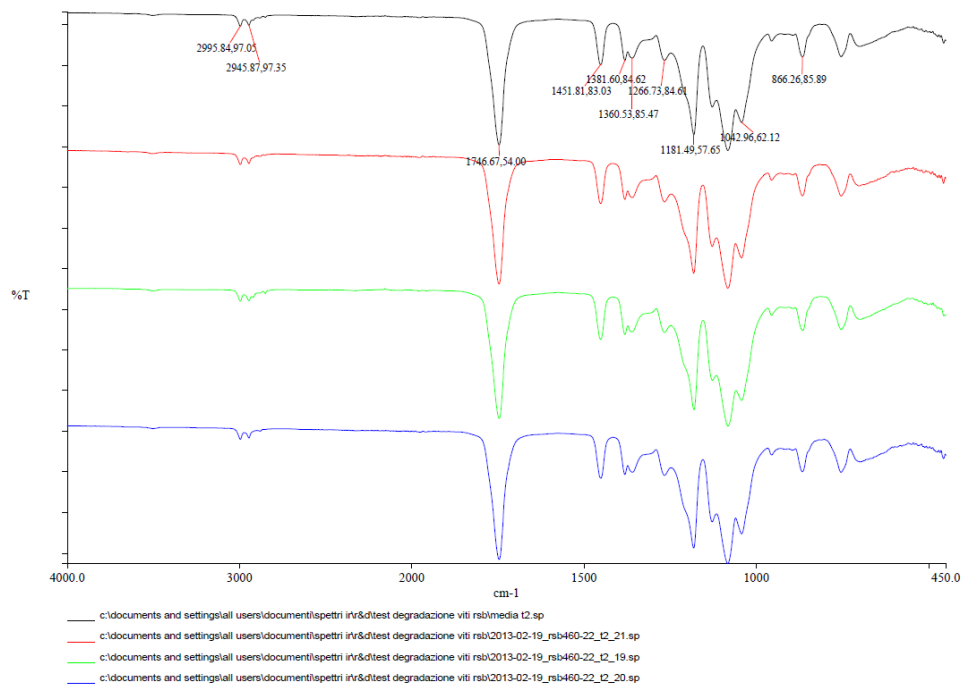


Figura 6.10: spettri FT-IR di tre campioni prelevati dopo 60 giorni di immersione (blu, verde e rosso); in nero lo spettro medio dei tre con in evidenza i picchi significativi

La sovrapposizione degli spettri medi relativi ai tre gruppi T0, T1 e T2 (Figura 6.11) evidenzia la completa corrispondenza dei picchi di assorbimento, confermata dal calcolo degli indici di correlazione (Tabella 6.4).

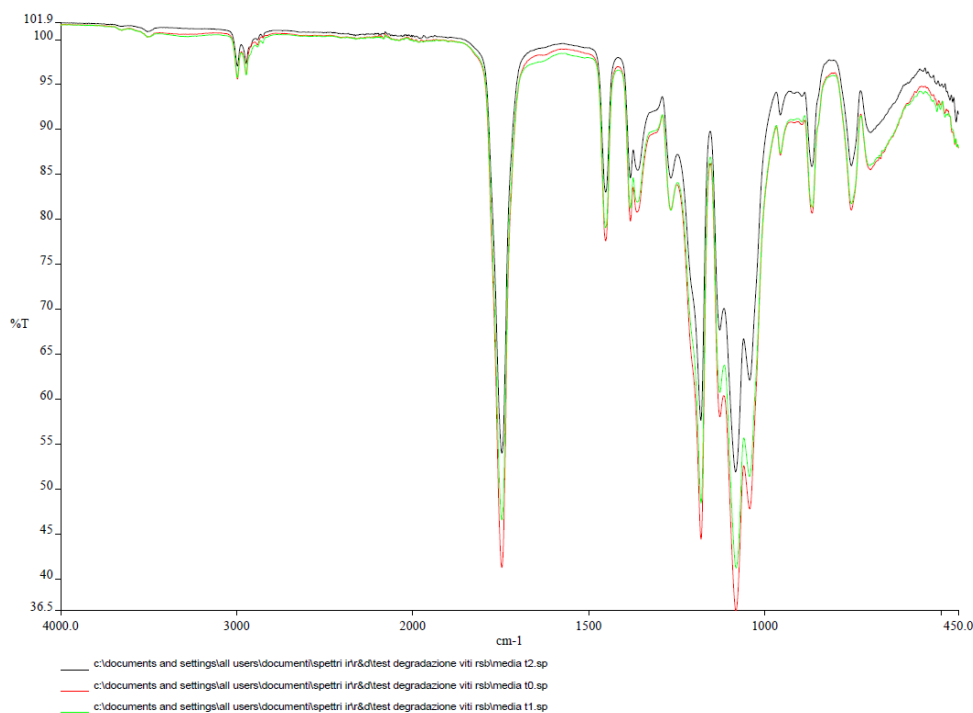


Figura 6.11: sovrapposizione degli spettri IR medi relativi ai tre timepoint: T0 (rosso), T1 (verde) e T2 (nero)

	Correlazione	Grado di accettabilità
T1-T0	0.9988	>0.9500
T2-T0	0.9972	>0.9500

Tabella 6.4: indice di correlazione tra gli spettri medi dei campioni prelevati al tempo T1 e T2 rispetto allo spettro medio dei campioni non degradati (T0)

I risultati ottenuti da questa analisi indicano che la degradazione dei dispositivi avviene tramite scissione del polimero in segmenti a peso molecolare inferiore senza alterazione della chimica del materiale.

6.1.4 Analisi calorimetrica a scansione differenziale

Dall'analisi mediante calorimetria a scansione differenziale si ottiene un termogramma del campione, come riportato in Figura 6.12, che riporta il flusso termico in funzione della temperatura. In esso sono evidenti le tre curve corrispondenti al primo riscaldamento, al raffreddamento e al secondo riscaldamento.

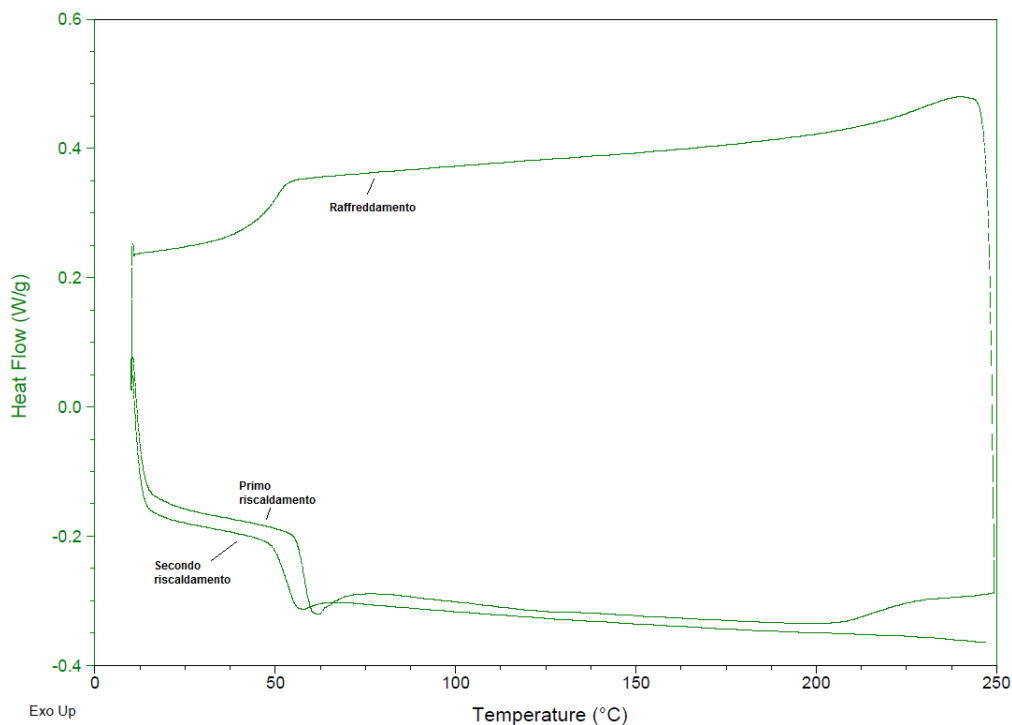


Figura 6.12: grafico ottenuto dall'analisi mediante DSC di un campione: la curva indica la variazione di flusso termico in funzione della temperatura

In generale un innalzamento del grafico rappresenta reazioni esotermiche, al contrario l'abbassamento indica reazioni endotermiche, essendo l'area sottesa dalla curva in un generico tratto interpretabile come energia assorbita o ceduta durante la trasformazione.

La variazione di flusso di calore a temperature relativamente basse, indica la variazione di calore specifico del campione, che avviene in corrispondenza della temperatura di transizione vetrosa (T_g). Se il polimero tende a formare delle strutture ordinate (cristalliti) si ha cessione di calore (entalpia di cristallizzazione ΔH_c) da parte del materiale, evidenziata da diminuzione del flusso di calore con picco corrispondente alla temperatura di cristallizzazione (T_c). Oltre una più elevata temperatura, l'agitazione molecolare è tale da vincere le forze di coesione nei cristalliti, i quali, quindi, fondono (temperatura di fusione T_m) assorbendo calore (entalpia di fusione ΔH_m) (Figura 6.13).

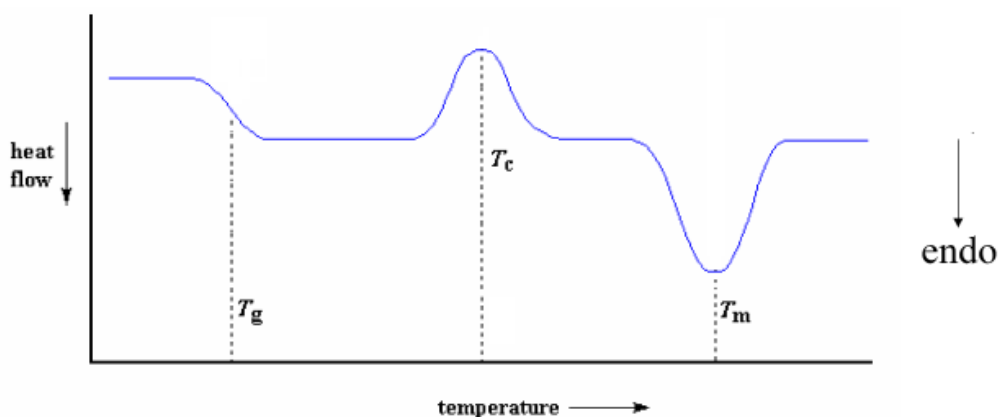


Figura 6.13: esempio schematico di termogramma; in evidenza la temperatura di transizione vetrosa (T_g), del picco di cristallizzazione esotermica (T_c) e del picco di fusione (T_m)

Con i valori ricavati dal termogramma è anche possibile calcolare il grado percentuale di cristallinità del polimero, come rapporto tra l'entalpia di fusione del campione e l'entalpia di fusione dello stesso polimero cristallino al 100% secondo la formula:

$$\chi = \frac{(\Delta H_m - \Delta H_c)}{\Delta H_{m100\%}} \cdot 100$$

Nel caso del P(L/DL)LA, essendo l'eventuale frazione cristallina da attribuirsi alla componente dell' L-lattide, come valore di riferimento per il calcolo del grado di cristallinità, si utilizza il calore di fusione del polimero PLLA cristallino al 100% dichiarato in letteratura pari a 93.7 J/g [52].

La Figura 6.14 rappresenta la prima curva di riscaldamento dei 3 campioni analizzati al tempo T0. Risulta evidente la presenza di un'unica transizione di fase, corrispondente alla transizione vetrosa, che avviene a circa 60°C (T_g), la quale non è seguita da alcun picco né esotermico né endotermico: questo consente di stabilire che il dispositivo in esame, a seguito della fase di stampaggio, risulta costituito da un polimero completamente amorfo.

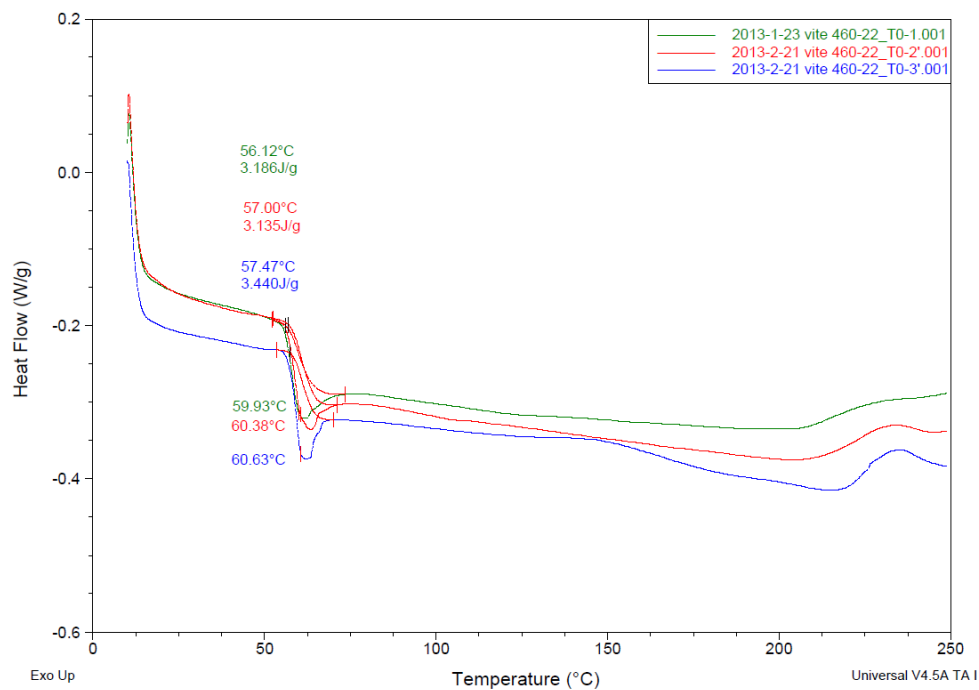


Figura 6.14: curve di primo riscaldamento di tre campioni del gruppo T0, si evidenzia per ciascuno di essi il picco di transizione vetrosa

La precedente affermazione è confermata dall'osservazione della curva di secondo riscaldamento che presenta analogo andamento, con la sola evidenza della transizione vetrosa e la mancanza di picchi di cristallizzazione e fusione (Figura 6.15).

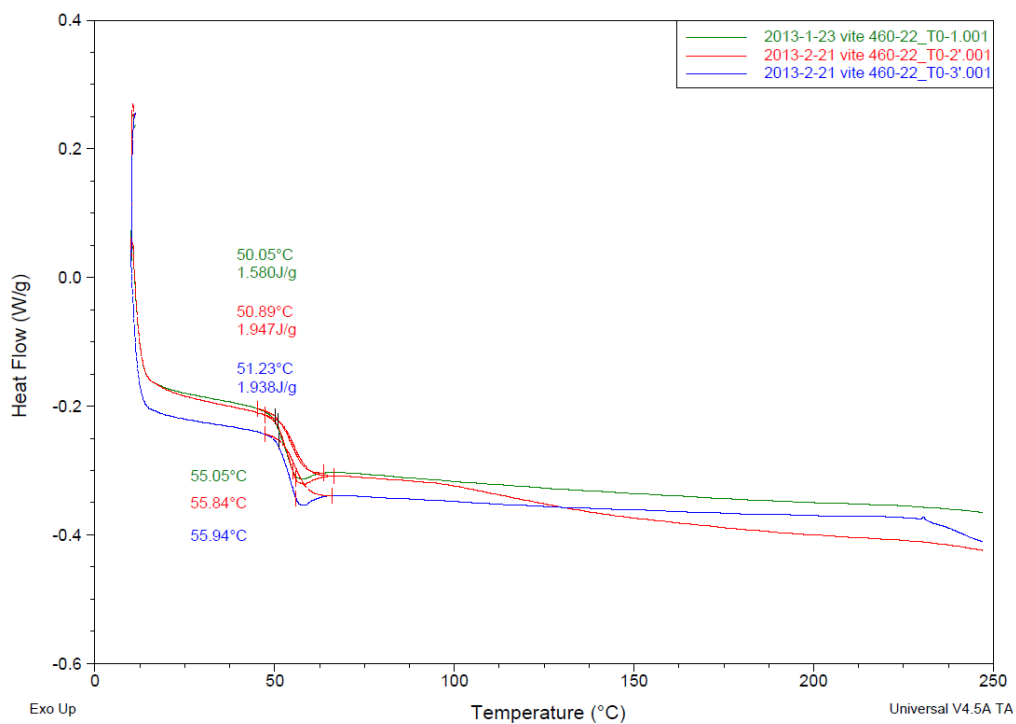


Figura 6.15: curve di secondo riscaldamento dei campioni del gruppo T0: si evidenzia per ciascuno di essi il picco di transizione vetrosa

Le analisi condotte sui campioni prelevati dopo 30 giorni di immersione (Figure 6.16 e 6.17) e dopo 60 giorni (Figure 6.18 e 6.19) evidenziano andamenti pressoché sovrapponibili.

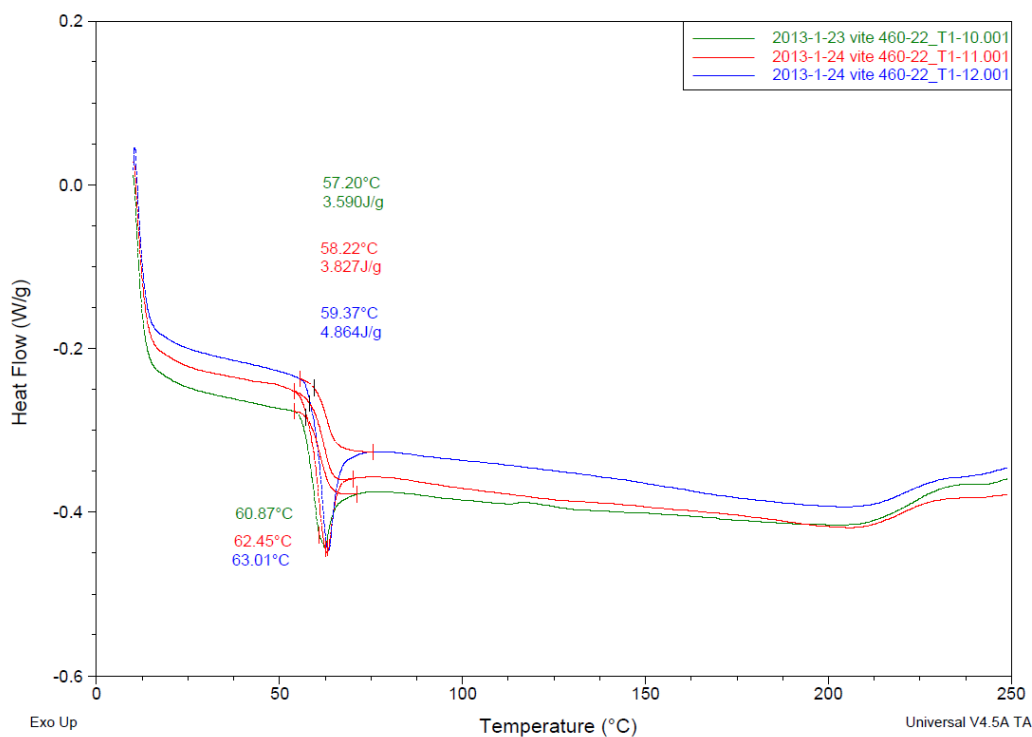


Figura 6.16: curve di primo riscaldamento di tre campioni del gruppo T1, si evidenzia per ciascuno di essi il picco di transizione vetrosa

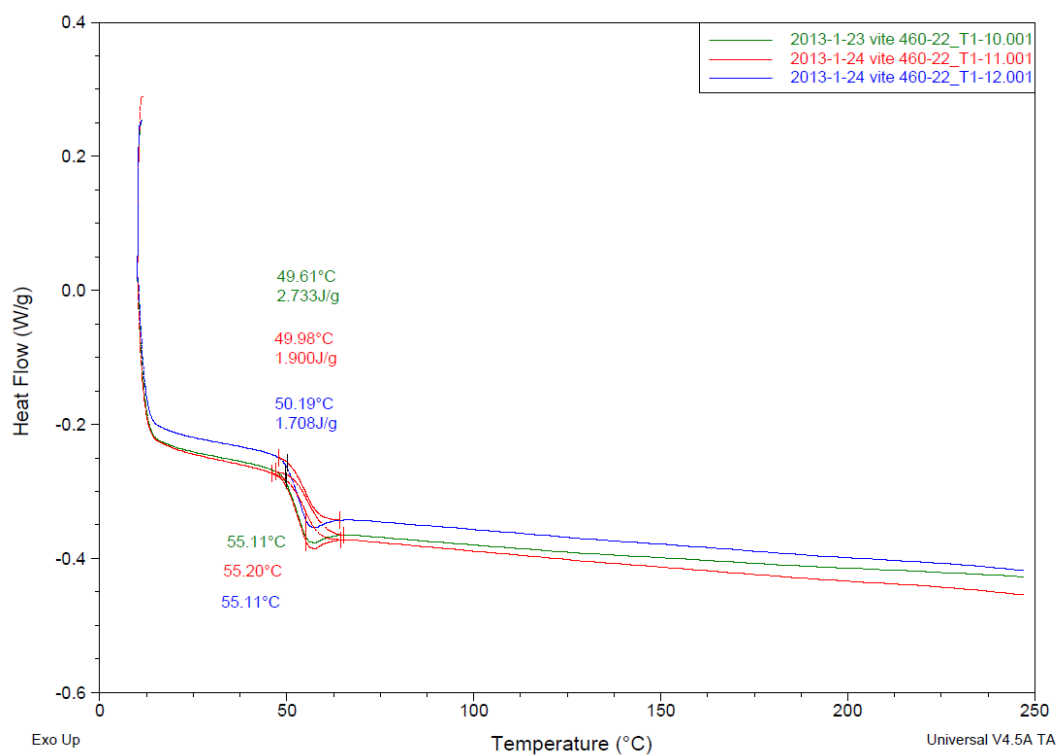


Figura 6.17: curve di secondo riscaldamento dei campioni del gruppo T1: si evidenzia per ciascuno di essi il picco di transizione vetrosa

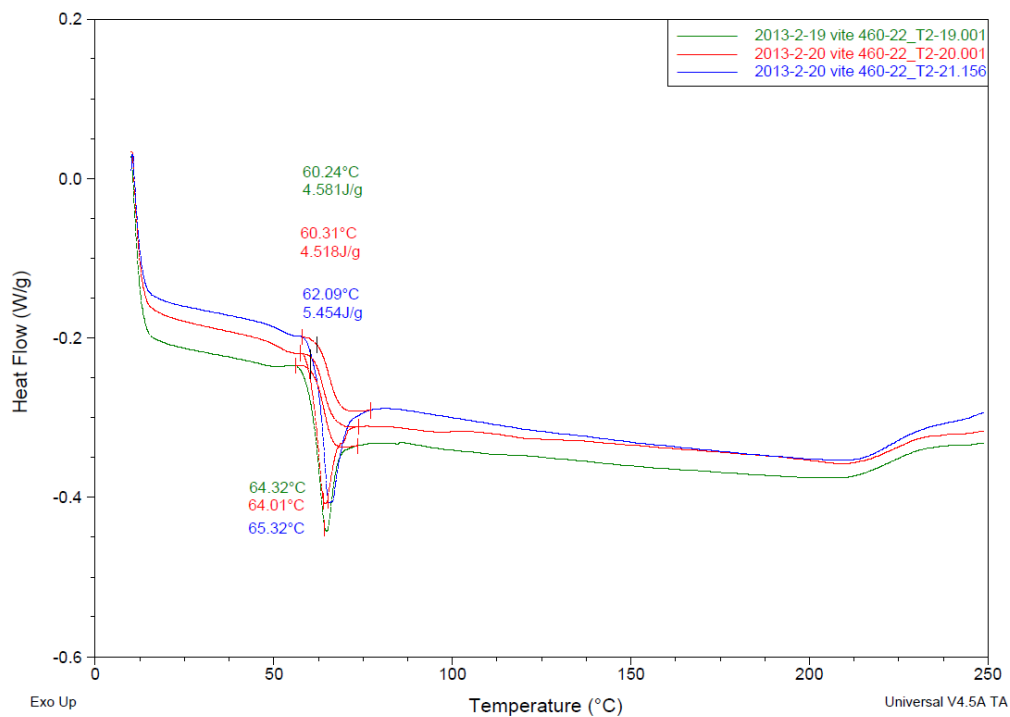


Figura 6.18: curve di primo riscaldamento dei campioni del gruppo T2: si evidenzia per ciascuno di essi il picco di transizione vetrosa

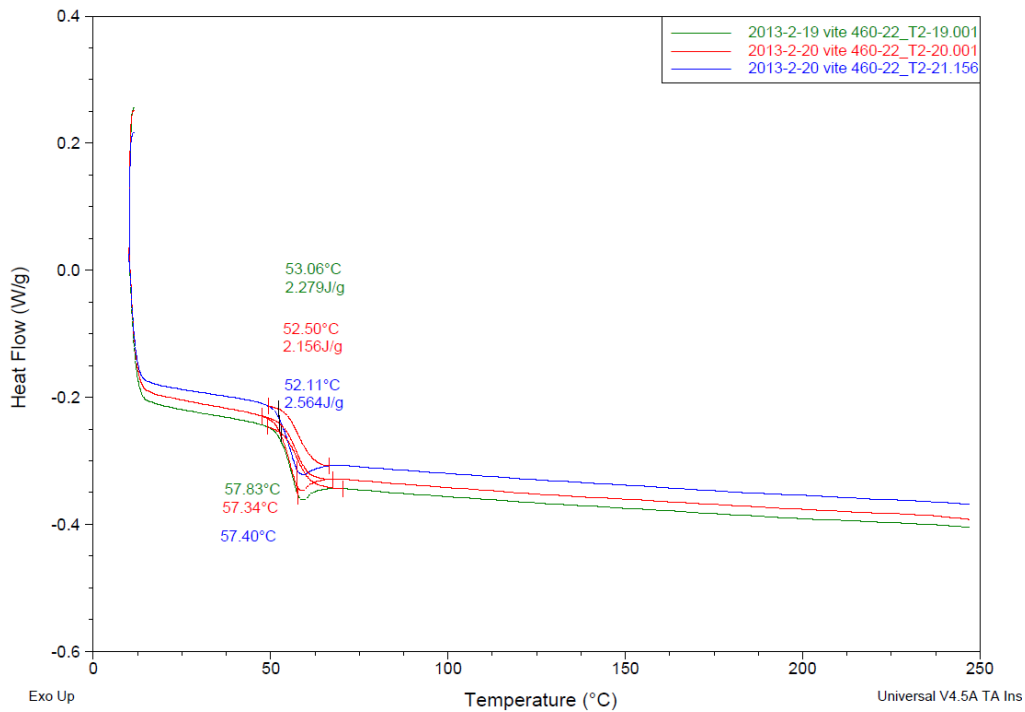


Figura 6.19: curve di secondo riscaldamento dei campioni del gruppo T2: si evidenzia per ciascuno di essi il picco di transizione vetrosa

I risultati dell'analisi termica mediante DSC, che mostrano un ciclo termico pressoché invariato per tutti i campioni, inducono ad affermare che l'immersione in soluzione dei dispositivi e il processo d'idrolisi cui sono sottoposti, non comporta, almeno entro i primi 60 giorni, una degradazione tale da portare alla formazione di unità polimeriche differenti.

6.1.5 Analisi di viscosità inerente

Uno dei principali indici di degradazione di un polimero è la perdita di peso molecolare, la quale è osservabile come diminuzione della viscosità inerente. Tre campioni per ogni gruppo sono stati sottoposti a misura della viscosità inerente: i risultati sono riportati in Tabella 6.5, unitamente al calcolo del valore medio per ciascun *timepoint*, riportato poi in Figura 6.20.

Campione	Viscosità inerente (dl/g)		
	T0	T1	T2
1°	4.14	3.50	3.33
2°	4.09	3.55	3.12
3°	3.96	3.61	2.92
<i>Media</i>	4.06	3.55	3.12
<i>Deviazione standard</i>	0.09	0.05	0.20

Tabella 6.5: valori di viscosità inerente dei tre campioni testati per ciascun *timepoint* e calcolo del valore medio per ogni gruppo

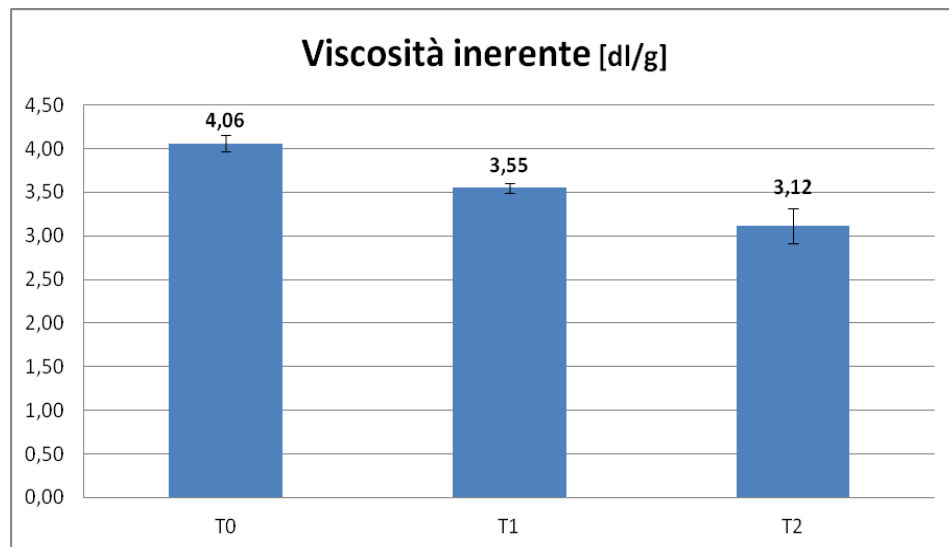


Figura 6.20: confronto tra i valori medi di viscosità inerente dei campioni non degradati (T0) e a 30 (T1) e 60 (T2) giorni di immersione in soluzione

Il confronto evidenzia una diminuzione a velocità costante della viscosità inerente dei campioni all'aumentare del tempo di immersione, che risulta pari al 12.57% nei primi 30 giorni, e arriva al 23.12% dopo 60 giorni.

6.1.6 Test meccanici

Secondo il modello di simulazione di impianto messo a punto e descritto al paragrafo 5.1.5, 6 viti per ciascun *timepoint* sono state sottoposte a prove di carico al fine di analizzarne il comportamento meccanico.

Ci si aspetta che i dispositivi che hanno subito una parziale degradazione presentino resistenza a flessione inferiore rispetto al campione iniziale, e quindi arrivino a rottura per carichi minori. Poiché non si conosce esattamente la distribuzione del carico tra viti e supporto, al fine di ricavare dei valori numerici che consentano il confronto tra i risultati, si considera il carico massimo in corrispondenza del quale si ha la rottura della vite (*peak load*) (Figura 6.21).



Figura 6.21: vite giunta a rottura in seguito all'applicazione del carico

La Tabella 6.6 riporta i valori relativi alle prove meccaniche dei campioni appartenenti al gruppo T0.

Campione	Codice	Peak Load N
1	460-22_T0_04	1735.48749
2	460-22_T0_05	1989.74344
3	460-22_T0_06	1288.23313
4	460-22_T0_07	1827.90594
5	460-22_T0_08	1400.90913
6	460-22_T0_09	1823.93444
Media		1677.70226
<i>Deviazione Standard</i>		273.11334

Tabella 6.6: valori del carico di rottura registrati per i dispositivi appartenenti al gruppo T0

Per questi campioni le curve del diagramma sforzo/spostamento sono riportate nel grafico di Figura 6.22.

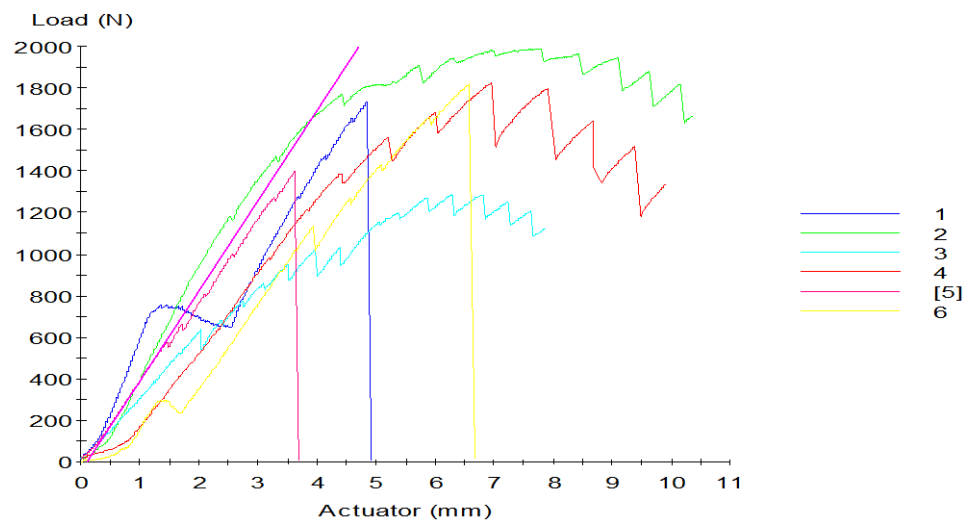


Figura 6.22: diagramma sforzo/spostamento dei dispositivi del gruppo T0

La Tabella 6.7 e la Figura 6.23 riportano i risultati relativi ai campioni del gruppo T1, che mostrano comportamento molto simile tra loro.

Campioni	Codice	Peak Load N
1	460-22_T1_13	1561.16040
2	460-22_T1_14	1582.04969
3	460-22_T1_15	1682.27382
4	460-22_T1_16	1401.51800
5	460-22_T1_17	1120.51031
6	460-22_T1_18	1462.22776
Media		1468.29000
<i>Deviazione Standard</i>		196.36762

Tabella 6.7: valori del carico di rottura registrati per i dispositivi appartenenti al gruppo T1

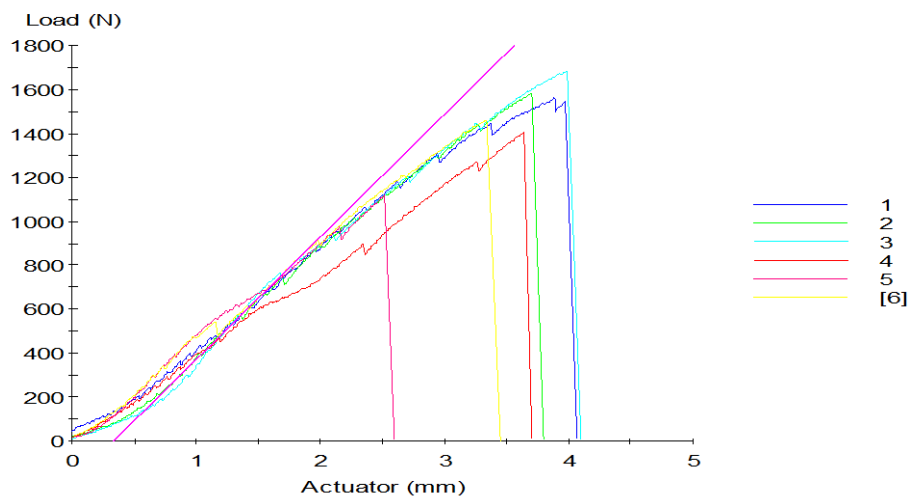


Figura 6.23: diagramma sforzo/spostamento dei dispositivi del gruppo T0

La Tabella 6.8 e il grafico di Figura 6.24 riportano i risultati relativi ai dispositivi del gruppo T2.

Campione	Codice	Peak Load N	Commento
1	460-22_T2_22	1460.94831	
2	460-22_T2_23	1024.33791	
3	460-22_T2_24	1072.85497	Rotto il supporto
4	460-22_T2_25	1540.49309	
5	460-22_T2_26	1063.90147	Rotto il supporto
6	460-22_T2_27	1319.71685	
Media		1336.37404	
Deviazione Standard		227.17639	

Tabella 6.8: valori del carico di rottura registrati per i dispositivi appartenenti al gruppo T2

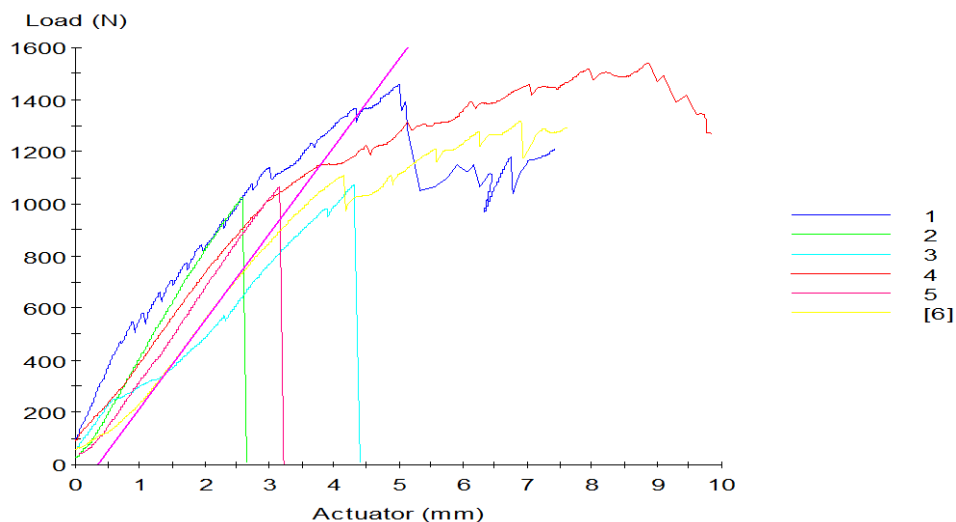
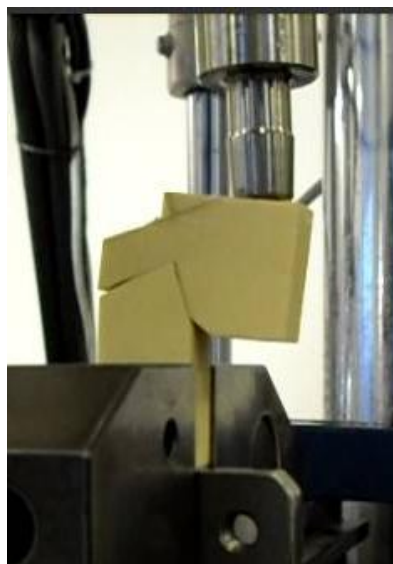


Figura 6.24: diagramma sforzo/spostamento dei dispositivi del gruppo T2

Per due dei sei dispositivi testati del gruppo T2 (campioni 460-22_T2_24 e 460-22_T2_26), non si è giunti a completamento della prova in quanto si è assistito alla rottura del supporto (Figura 6.25); nonostante essi siano riportati nella Tabella 6.8 e nella Figura 6.24, non sono stati presi in considerazione nel calcolo del *peak load* medio.



A



B

Figura 6.25: campione sottoposto a carico (A) e rottura del supporto (B)

Tale problematica è, probabilmente, da imputarsi da un lato alle difficoltà di impianto di un materiale già degradato e dall'altro ad una leggera variabilità nel posizionamento del dispositivo che influenza notevolmente la distribuzione del carico sul sistema vite-supporto.

Il grafico di Figura 6.26 rappresenta il confronto tra i valori medi di *peak load* relativi ai gruppi T0, T1 e T2.

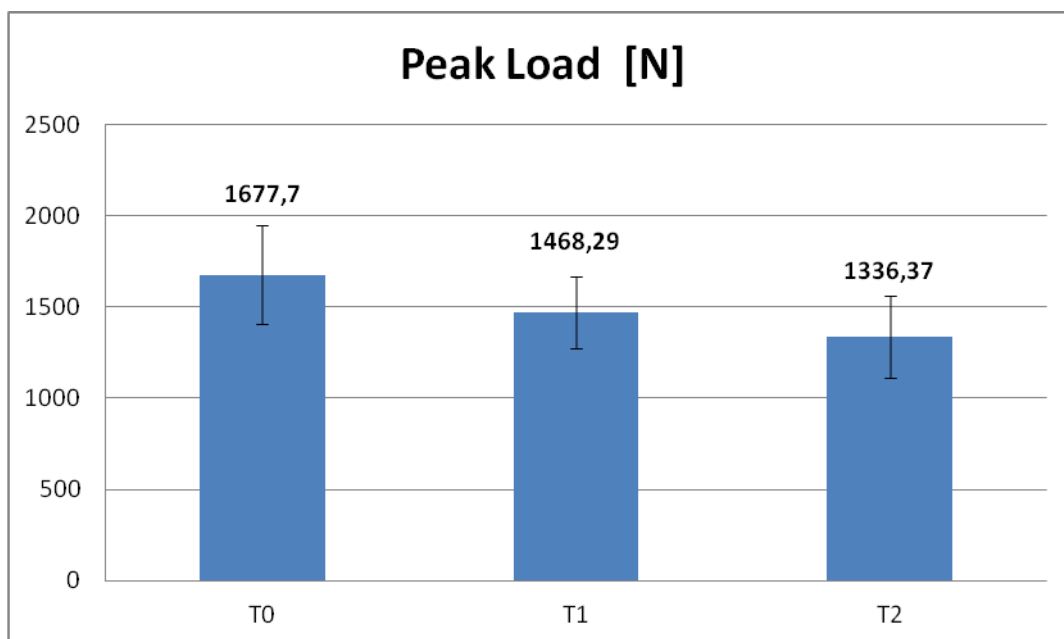


Figura 6.26: confronto tra i valori medi di *peak load* relativi ai gruppi T0, T1 e T2.

Nonostante i limiti di validità del modello applicato, che necessita di ulteriori messe a punto per migliorare la riproducibilità delle prove, si assiste ad una diminuzione della resistenza a flessione dei dispositivi all'aumentare del tempo trascorso in immersione, secondo un trend correlato a quanto visto nelle analisi precedenti.

Dallo studio si evince, quindi, che le viti testate subiscono una parziale degradazione idrolitica, evidenziata dal decremento delle proprietà fisico-chimiche e meccaniche, esse, tuttavia, mantengono caratteristiche sufficienti allo svolgimento della loro funzione, almeno entro i primi 60 giorni.

6.2 Risultati sterilizzazione

Nella parte di studio relativa alla sterilizzazione, sono stati presi in considerazione più dispositivi, come indicato nel Paragrafo 5.2, al fine di valutare come i diversi trattamenti possano influire su campioni differenti per forma, geometria e per materiale. In questa sezione sarà, quindi, riportata una valutazione del degrado apportato da diversi processi di sterilizzazione su una selezione di dispositivi riassorbibili.

Dovendo combinare un consistente numero di dispositivi con 6 trattamenti di sterilizzazione ed una ampia varietà di analisi chimico fisiche, data la complessità risultante dalla matrice di prove previste, si è deciso di semplificare il modello sperimentale, dapprima tramite uno screening preliminare eseguito tramite misura della viscosità inerente ed in seguito tramite una serie di assunti e valutazioni tecniche.

6.2.1 Analisi di viscosità inerente

La prima analisi condotta, è stata il calcolo della viscosità inerente, al fine di ottenere un parametro numerico che potesse consentire un confronto immediato tra le tecniche di sterilizzazione considerate.

Come indicato nel Paragrafo 5.2, sono stati testati due campioni per ciascun dispositivo, per ogni metodo di sterilizzazione, e un campione non sterile come riferimento: in Appendice sono riportati i dati completi, qui di seguito si considera, invece, il valore medio per ciascuna coppia di campioni, al fine di rendere più semplice e immediata la comparazione dei risultati.

In Tabella 6.9 e Figura 6.27 sono presentati i valori di viscosità inerente dei campioni sottoposti a sterilizzazione con radiazioni Gamma e i rispettivi riferimenti non sterili.

Campione	Viscosità inerente (dl/g)			
	Non sterile	Gamma 25 kGy	Gamma 20 kGy	Gamma 16.5 kGy
200-12	4.86	1.47	1.70	1.92
460-22	4.19	1.40	1.72	1.82
460-18	4.02	1.43	1.78	1.77
025-60	2.13	1.25	1.46	1.51
018-60	2.81	1.40	1.58	1.58
723	2.48	1.43	1.94	1.73

Tabella 6.9: Valori di viscosità inerente dei campioni non sterili e sottoposti ai vari dosaggi di sterilizzazione a radiazione Gamma

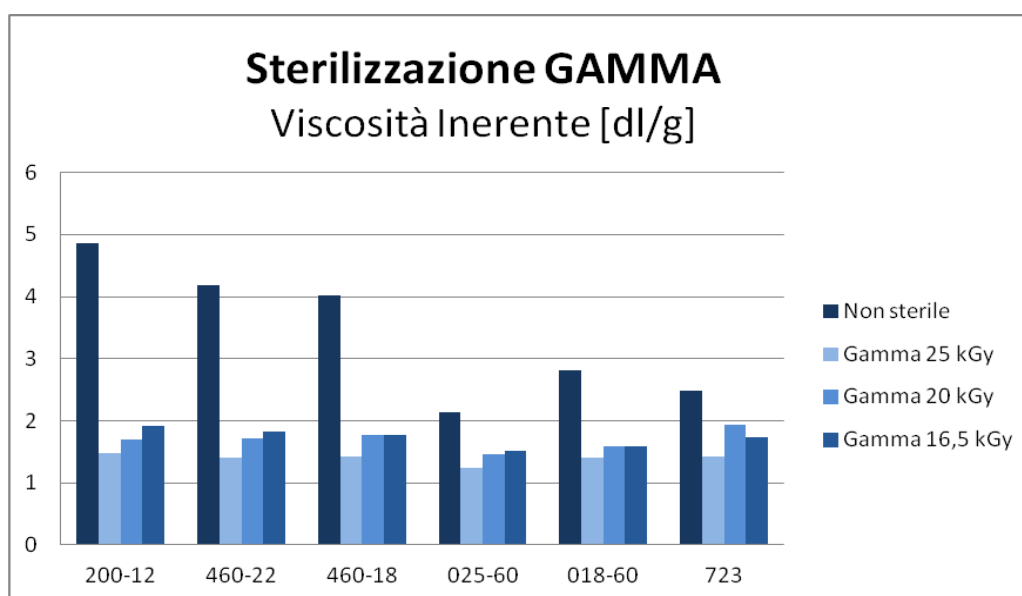


Figura 6.27: confronto dei valori di viscosità inerente dei dispositivi sottoposti a sterilizzazione a radiazione Gamma rispetto ai campioni non sterili

Dalla rappresentazione grafica dei dati è evidente un netto calo della viscosità inerente, soprattutto per la cambra (200-12) e le viti a doppia filettatura (460-22 e 460-18), mentre i dispositivi che sembrano risentire in maniera meno incisiva della sterilizzazione a raggi Gamma risultano il pin a diametro maggiore (025-60) e la vite calcaneo-stop (723). Confrontando poi tra loro gli effetti dei tre diversi dosaggi, si osserva che il dosaggio più alto, pari a 25 kGy, risulta il più aggressivo abbattendo maggiormente la viscosità, e quindi il peso molecolare, mentre le sterilizzazioni a 20 kGy e 16.5 kGy hanno influenza simile tra loro e più lieve rispetto alla precedente.

La Tabella 6.10 riporta i risultati di viscosità per i campioni sterilizzati mediante radiazione Beta. Relativamente ai campioni non sterili si sottolinea che i valori delle viti a doppia filettatura risultano differenti dagli analoghi considerati per la sterilizzazione gamma in quanto, per tali dispositivi, si sono sottoposti ai due diversi trattamenti lotti di produzione distinti.

Campione	Viscosità inerente (dl/g)			
	Non sterile	Beta 25 kGy	Beta 18 kGy	Beta 16 kGy
200-12	4.86	1.58	2.04	1.88
460-22	3.41	1.57	1.74	1.93
460-18	3.31	1.55	1.80	1.84
025-60	2.13	1.44	1.85	1.93
018-60	2.81	1.31	1.82	2.18
723	2.48	1.59	1.88	1.84

Tabella 6.10: Valori di viscosità inerente dei campioni non sterili e sottoposti ai vari dosaggi di sterilizzazione a radiazione Beta

La Figura 6.28 riporta in un grafico a barre i valori presentati nella Tabella 6.10.

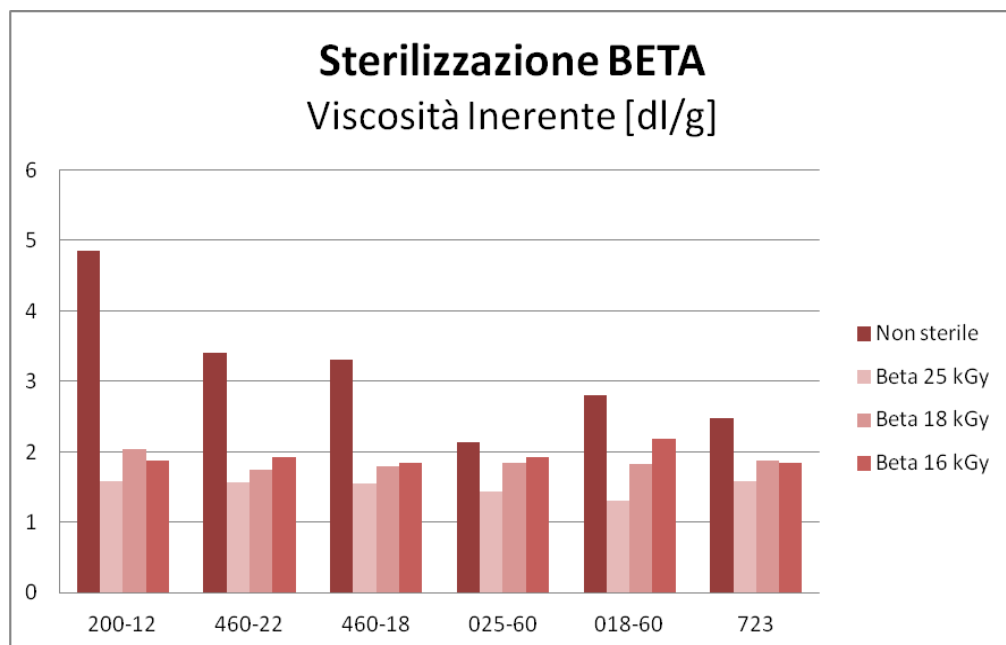


Figura 6.28: confronto dei valori di viscosità inerente dei dispositivi sottoposti a sterilizzazione a radiazione Beta rispetto ai campioni non sterili

Nonostante si possa apprezzare, anche per la sterilizzazione a raggi beta, un calo della viscosità inerente per tutti i dispositivi, esso risulta di entità inferiore rispetto

alla sterilizzazione gamma. Anche in questo caso i dispositivi che meno risentono del processo, per quanto concerne il peso molecolare, risultano essere il pin a diametro maggiore e la vite calcaneo-stop; tra i più inficiati vi sono la cambra e le viti a doppia filettatura. Tra tutti i dosaggi considerati, la sterilizzazione a 25 kGy è quella che abbassa in misura maggiore la viscosità dei campioni.

La Tabella 6.11 riporta i valori di perdita percentuale di viscosità inerente, evidenziando le osservazioni precedentemente riportate.

Campione	Perdita di viscosità inerente (%)					
	Gamma 25 kGy	Gamma 20 kGy	Gamma 16.5 kGy	Beta 25 kGy	Beta 18 kGy	Beta 16 kGy
200-12	69,75	65,02	60,49	67,49	58,02	61,32
460-22	66,59	58,95	56,56	53,96	48,97	43,40
460-18	64,43	55,72	55,97	53,17	45,62	44,41
025-60	41,31	31,46	29,11	32,39	13,15	9,39
018-60	50,18	43,77	43,77	53,38	35,23	22,42
723	42,34	21,77	30,24	35,89	24,19	25,81
Media	55,77	46,12	46,02	49,38	37,53	34,46

Tabella 6.11: perdita percentuale di viscosità inerente dei campioni sottoposti ai vari processi di sterilizzazione rispetto al riferimento non sterile

In Figura 6.29 è riportata, per ciascun dosaggio di sterilizzazione, la perdita percentuale della viscosità inerente mediata tra tutti i dispositivi testati.

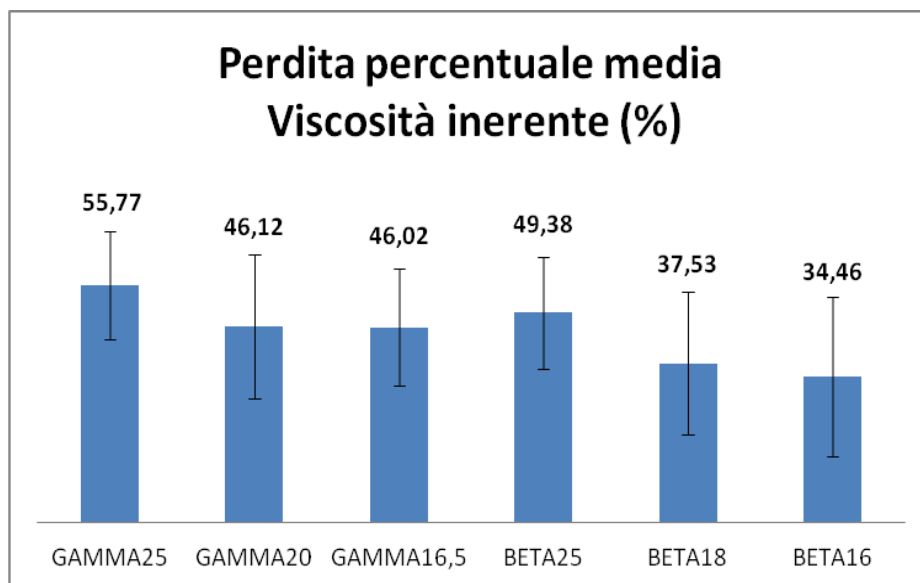


Figura 6.29: valori medi della perdita percentuale di viscosità inerente dei dispositivi relativi a ciascun dosaggio di sterilizzazione

Alla luce dei risultati ottenuti dall'analisi della viscosità inerente, e quindi dell'influenza della sterilizzazione sul peso molecolare dei dispositivi, si è condotta una selezione dei campioni da sottoporre alle successive caratterizzazioni. Il criterio di scelta è stato guidato da un ragionamento imperniato sulle seguenti considerazioni:

- essendo la vite riassorbibile calcaneo-stop l'unico dispositivo realizzato in PLLA, si è proceduto alla sua caratterizzazione, al fine di valutare l'influenza dei diversi trattamenti ed individuare eventuali differenze rispetto al P(L/DL)LA;
- tra i dispositivi in P(L/DL)LA, la cambra è risultata la più inficiata dalla sterilizzazione per quanto concerne la viscosità inerente, pertanto, identificandola come *worst case*, anch'essa è stata selezionata per le analisi successive;
- con l'obiettivo di valutare l'influenza della sterilizzazione sulle proprietà meccaniche, sono stati selezionati anche i pin, essendo per essi realizzabile una prova a flessione secondo norma ASTM F2502. Tra i due diversi

modelli disponibili, si è deciso di considerare soltanto il pin a diametro inferiore (RSB 018-60), in quanto, mostrando una perdita percentuale di viscosità più elevata, esso risulta risentire maggiormente della sterilizzazione e può essere identificato come *worst case*;

- anche la vite a doppia filettatura mostra un notevole calo di viscosità se sottoposta a sterilizzazione, pertanto si è proceduto alla sua successiva caratterizzazione. I due modelli a disposizione (differenti per lunghezza) hanno mostrato nell'analisi di viscosità inerente comportamento simile, pertanto nella selezione non si è fatto riferimento ad un *worst case*, ma si è deciso di analizzare la vite RSB 460-22 al fine di correlare i risultati ottenuti, per lo stesso dispositivo, nello studio di degradazione in vitro;
- per quanto concerne la selezione tra i sei dosaggi di sterilizzazione a disposizione, Gamma 20 kGy e Beta 18 kGy sembrano avere influenza intermedia sulla caduta di viscosità rispetto agli altri, pertanto si è deciso di tralasciarli e soffermarsi sui due dosaggi estremi, 25 kGy come *worst case*, e Gamma 16.5 kGy e Beta 16 kGy come *best case*.

Alla luce delle considerazioni sopra esposte i dispositivi identificati per i successivi step di caratterizzazione sono :

- camera RSB 200-12
- vite a doppia filettatura RSB 460-22
- pin RSB 018-60
- vite calcaneo-stop RSB 723

6.2.2 Analisi spettrometrica FT-IR

Sui campioni selezionati è stata condotta l'analisi FT-IR al fine di verificare che non avessero subito alterazione della catena polimerica ad opera dei processi di sterilizzazione.

I segnali caratteristici degli spettri FT-IR, trattandosi dello stesso materiale, ricalcano quelli acquisiti nello studio di degradazione per le viti riassorbibili, pertanto per una completa interpretazione delle bande si rimanda alla Tabella 6.3.

La Figura 6.30 riporta a confronto, in ordine dall'alto in basso, lo spettro della cambra (Rsb 200-12) non sterile e sottoposta a sterilizzazione Beta 16 kGy, Beta 25 kGy, Gamma 16.5 kGy e Gamma 25 kGy.

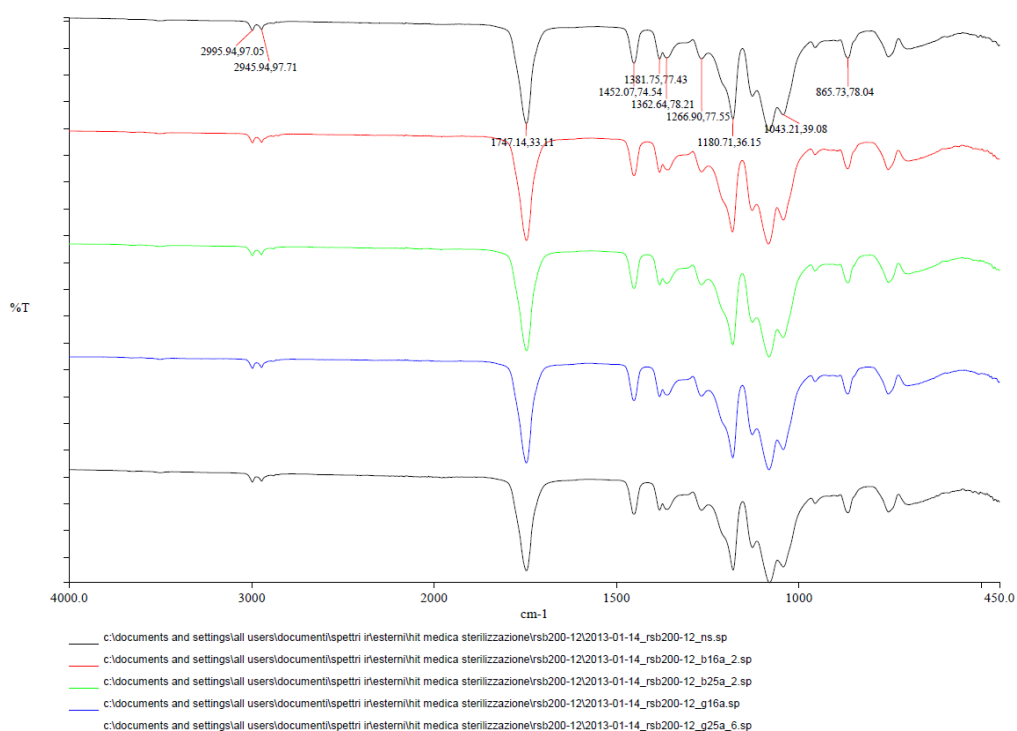


Figura 6.30: spettro IR della cambra non sterile (nero), e sottoposta a sterilizzazione Beta 16 kGy (rosso), Beta 25 kGy (verde), Gamma 16.5 kGy (blu), Gamma 25 kGy (grigio)

La Tabella 6.12 riporta gli indici di correlazione degli spettri dei dispositivi sterilizzati rispetto al riferimento non sterile.

RSB 200-12	Correlazione	Grado di accettabilità
Beta 16 kGy – Non Sterile	0.9942	>0.9500
Beta 25 kGy – Non Sterile	0.9976	>0.9500
Gamma 16.5 kGy – Non sterile	0.9992	>0.9500
Gamma 25 kGy – Non sterile	0.9904	>0.9500

Tabella 6.12: Indici di correlazione tra gli spettri della cambra (200-12) sottoposta a sterilizzazione e non sterile

La Figura 6.31 riporta a confronto in ordine dall'alto in basso, lo spettro della vite a doppia filettatura (Rsb 460-22) non sterile e sottoposta a sterilizzazione Beta 16 kGy, Beta 25 kGy, Gamma 16.5 kGy e Gamma 25 kGy.

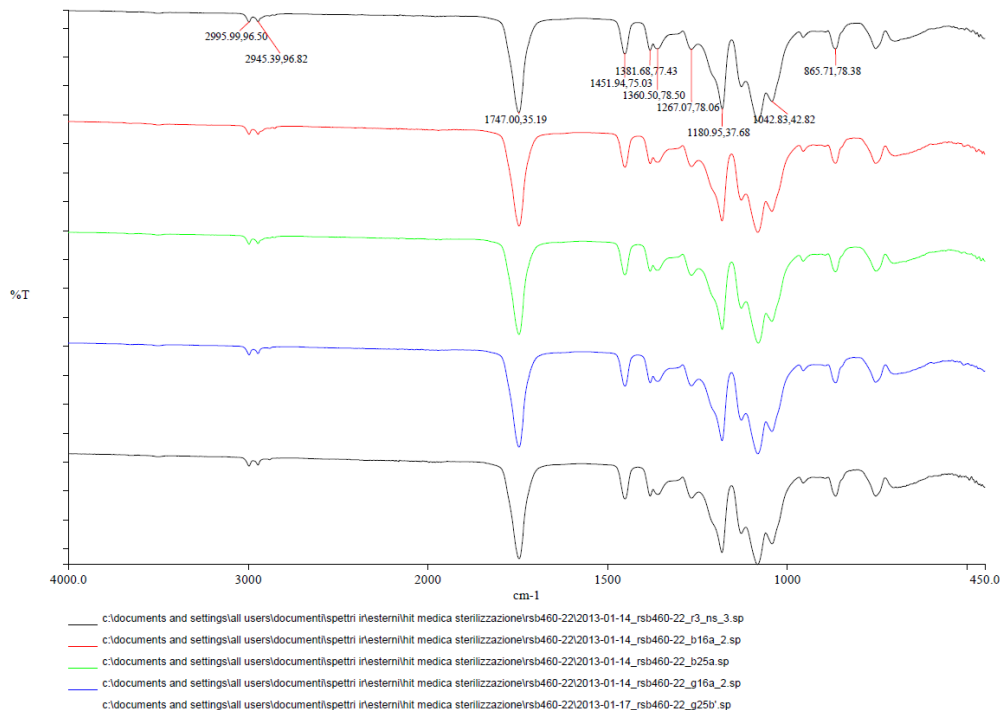


Figura 6.31: spettro IR della vite a doppia filettatura non sterile (nero), e sottoposta a sterilizzazione Beta 16 kGy (rosso), Beta 25 kGy (verde), Gamma 16.5 kGy (blu), Gamma 25 kGy (grigio)

La Tabella 6.13 riporta gli indici di correlazione degli spettri dei dispositivi sterilizzati rispetto al riferimento non sterile.

RSB 460-22	Correlazione	Grado di accettabilità
Beta 16 kGy – Non Sterile	0.9917	>0.9500
Beta 25 kGy – Non Sterile	0.9980	>0.9500
Gamma 16.5 kGy – Non sterile	0.9960	>0.9500
Gamma 25 kGy – Non sterile	0.9800	>0.9500

Tabella 6.13: Indici di correlazione tra gli spettri della vite a doppia filettatura (460-22) sottoposta a sterilizzazione e non sterile

La Figura 6.32 riporta a confronto in ordine dall'alto in basso, lo spettro del pin (Rsb 018-60) non sterile e sottoposto a sterilizzazione Gamma 25 kGy, Beta 16 kGy, Beta 25 kGy e Gamma 16.5 kGy.

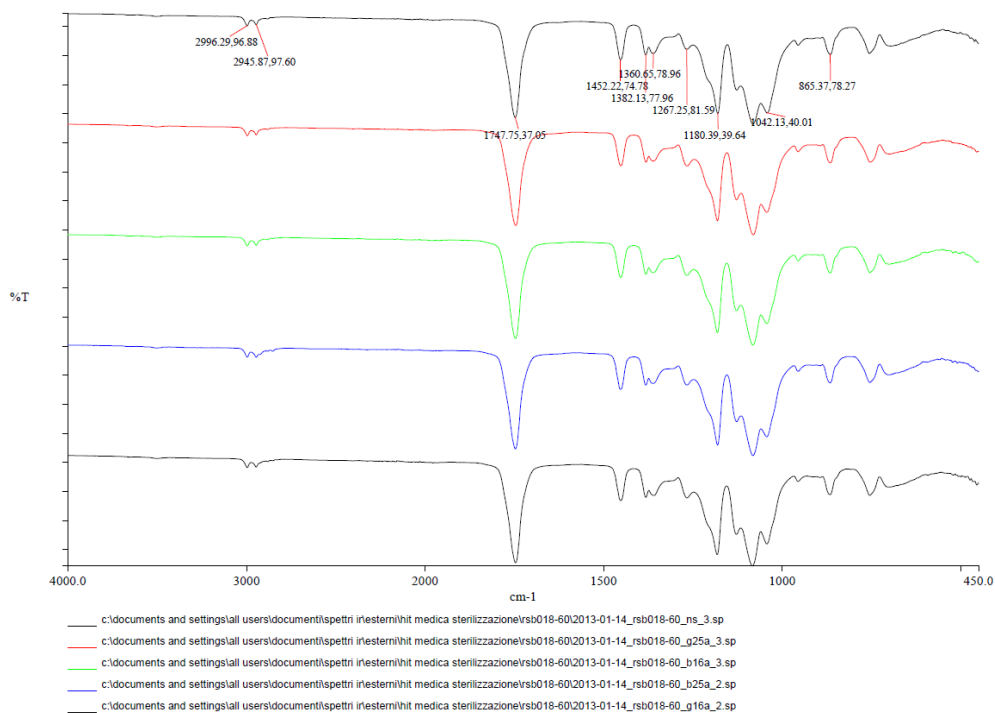


Figura 6.32: spettro IR del pin non sterile (nero), e sottoposto a sterilizzazione Gamma 25 kGy (rosso) Beta 16 kGy (verde), Beta 25 kGy (blu), Gamma 16.5 kGy (grigio)

La Tabella 6.14 riporta gli indici di correlazione degli spettri dei dispositivi sterilizzati rispetto al riferimento non sterile.

RSB 018-60	Correlazione	Grado di accettabilità
Beta 16 kGy – Non Sterile	0.9929	>0.9500
Beta 25 kGy – Non Sterile	0.9952	>0.9500
Gamma 16.5 kGy – Non sterile	0.9887	>0.9500
Gamma 25 kGy – Non sterile	0.9885	>0.9500

Tabella 6.14: indici di correlazione tra gli spettri del pin (018-60) sottoposto a sterilizzazione e non sterile

Infine, la Figura 6.33 riporta a confronto in ordine dall'alto in basso, lo spettro della vite calcaneo-stop (Rsb 723) non sterile e sottoposto a sterilizzazione Beta 16 kGy, Beta 25 kGy, Gamma 16.5 kGy e Gamma 25 kGy.

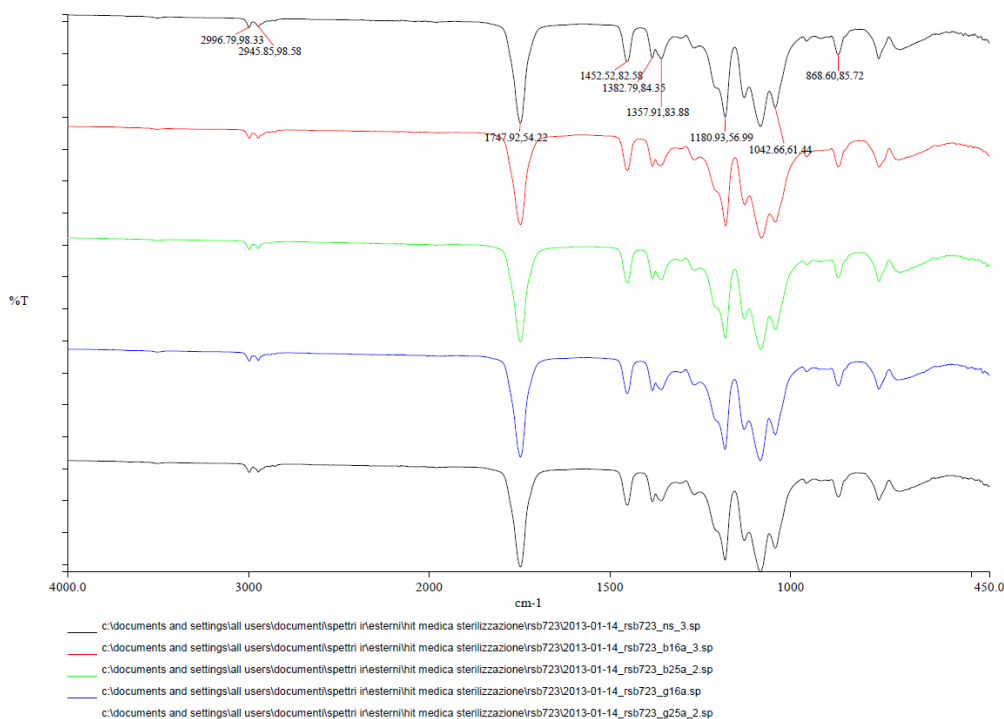


Figura 6.33 : spettro IR della vite calcaneo-stop non sterile (nero), e sottoposta a sterilizzazione Beta 16 kGy (rosso), Beta 25 kGy (verde), Gamma 16.5 kGy (blu), Gamma 25 kGy (grigio)

La Tabella 6.15 riporta gli indici di correlazione degli spettri dei dispositivi sterilizzati rispetto al riferimento non sterile.

RSB 723	Correlazione	Grado di accettabilità
Beta 16 kGy – Non Sterile	0.9909	>0.9500
Beta 25 kGy – Non Sterile	0.9986	>0.9500
Gamma 16.5 kGy – Non sterile	0.9915	>0.9500
Gamma 25 kGy – Non sterile	0.9974	>0.9500

Tabella 6.15: Indici di correlazione tra gli spettri della vite calcaneo-stop (723) sottoposto a sterilizzazione e non sterile

La sovrapposibilità degli spettri dei campioni sterilizzati e non, è confermata dagli indici di correlazione tra gli spettri dei campioni sterili, rispetto al corrispondente riferimento non sterile, che risultano, per tutti i dispositivi, superiori a 0.9500, limite inferiore di accettabilità imposto; questo conferma che il processo di sterilizzazione, in nessuno dei casi considerati, inficia la composizione polimerica del dispositivo.

6.2.3 Analisi calorimetrica a scansione differenziale

L'analisi termica mediante DSC è stata effettuata al fine di determinare eventuali alterazioni della storia termica dei dispositivi; tuttavia, dato che le tecniche di sterilizzazione considerate non sottopongono il materiale a temperature superiori a quella di transizione vetrosa, ci si attende di non riscontrare variazioni della risposta termica dei campioni sterili rispetto al riferimento non sterile.

La Figura 6.34 riporta la curva di primo riscaldamento del termogramma della cambra non sterile cui è sovrapposta la risposta dei campioni sterilizzati.

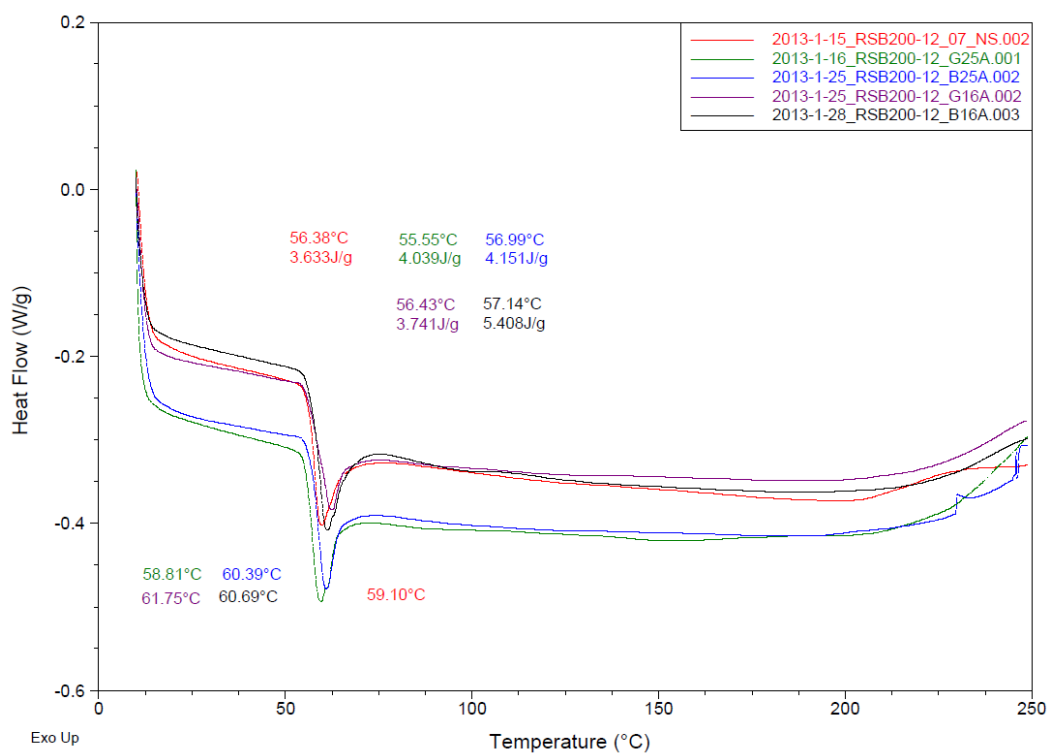


Figura 6.34: curva di primo riscaldamento del termogramma della cambra non sterile (rosso), sterilizzata Gamma 25 kGy (verde), Beta 25 kGy (blu), Gamma 16.5 kGy (viola), Beta 16 kGy (nero). Sono evidenziati i valori della temperatura di transizione vetrosa per ciascun campione

Analogamente in Figura 6.35 è riportato il confronto relativo alla vite a doppia filettatura. Si può notare come il termogramma riproduca lo stesso comportamento già analizzato nel paragrafo 6.1.4 per i campioni sottoposti al test di degradazione.

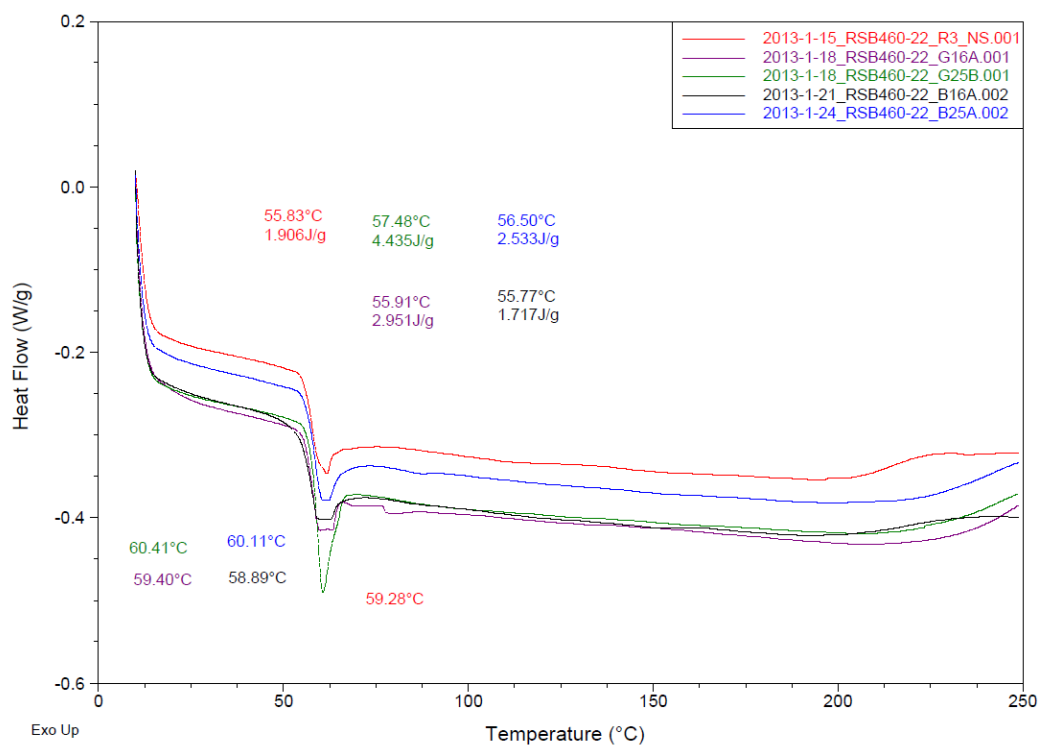


Figura 6.35: curva di primo riscaldamento del termogramma della vite a doppia filettatura non sterile (rosso), sterilizzata Gamma 25 kGy (verde), Beta 25 kGy (blu), Gamma 16.5 kGy (viola), Beta 16 kGy (nero). Sono evidenziati i valori della temperatura di transizione vetrosa per ciascun campione

Anche il pin riassorbibile 018-60 mostra lo stesso comportamento dei precedenti (Figura 6.36).

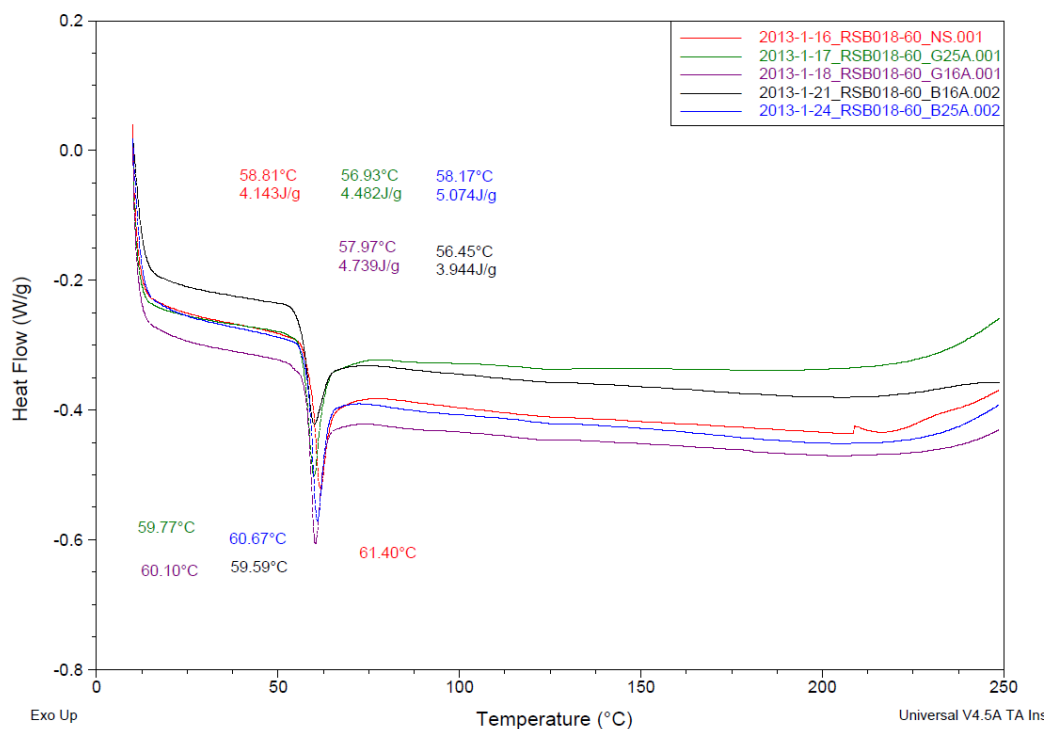


Figura 6.36: curva di primo riscaldamento del termogramma del pin non sterile (rosso), sterilizzato Gamma 25 kGy (verde), Beta 25 kGy (blu), Gamma 16.5 kGy (viola), Beta 16 kGy (nero). Sono evidenziati i valori della temperatura di transizione vetrosa per ciascun campione

In Appendice si riportano analoghi confronti relativi alla seconda curva di riscaldamento, i quali confermano la corrispondenza tra le risposte termiche dei dispositivi sterilizzati e i relativi riferimenti non sterili.

Per tutti i campioni in P(L/DL)LA 70/30 il termogramma evidenzia il solo picco in corrispondenza della temperatura di transizione vetrosa, nell'intervallo tra 58 e 61°C, confermando il carattere amorfo del polimero.

La vite calcaneo-stop, invece, realizzata in PLLA, mostra un termogramma differente, come indicato in Figura 6.37.

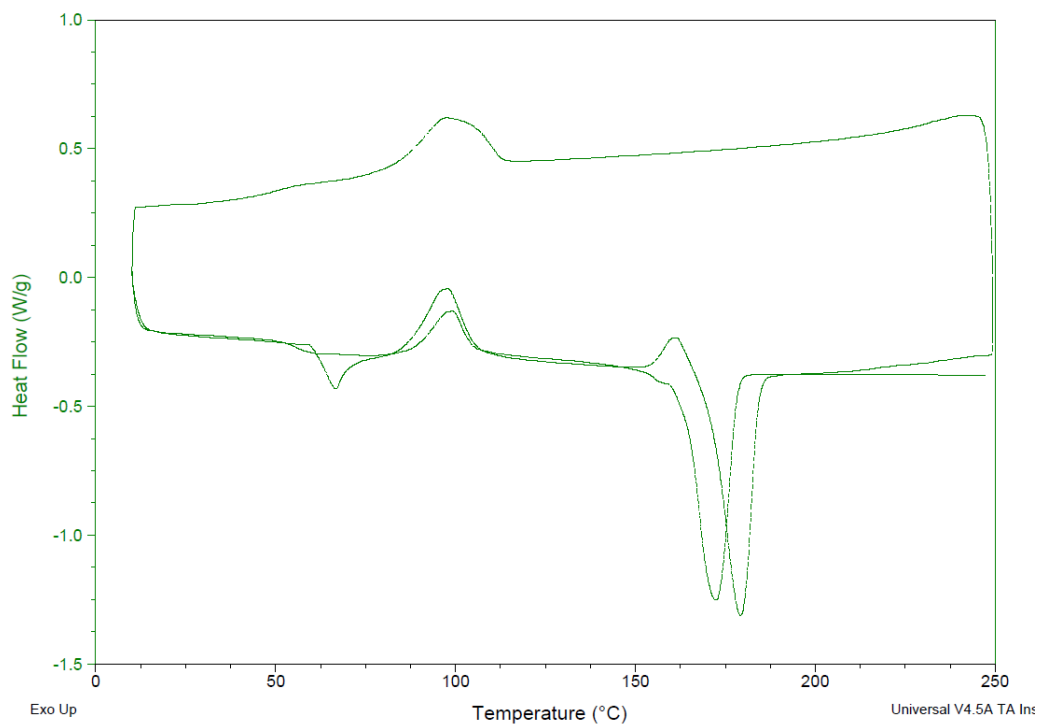


Figura 6.37: termogramma della vite calcaneo-stop realizzata in PLLA

L'analisi della curva di primo riscaldamento (Figura 6.38) consente di individuare un primo picco relativo alla transizione vetrosa ($T_g=66.17^\circ\text{C}$), seguito, alla temperatura di 98.01°C (T_c), da un picco esotermico indice di una cristallizzazione (entalpia $\Delta H_c=12.58$ J/g). Proseguendo nella fase di riscaldamento, infatti, a 179.01°C (T_m), si assiste alla fusione del polimero (entalpia di fusione $\Delta H_m=54.59$ J/g).

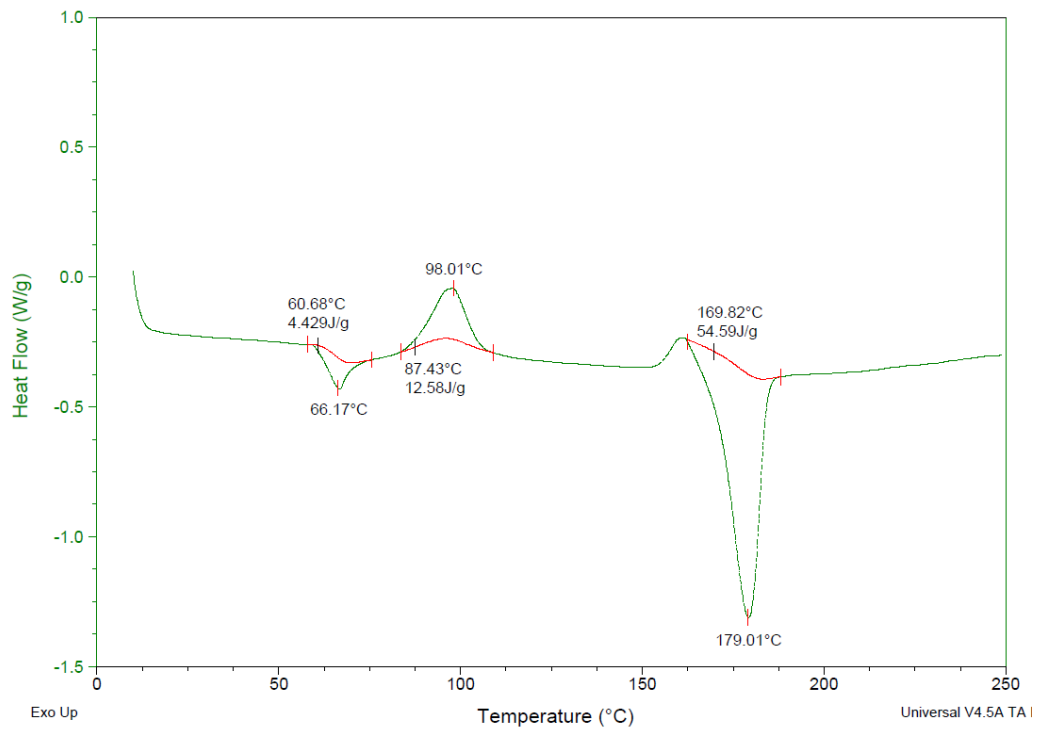


Figura 6.38: curva di primo riscaldamento della vite calcaneo stop

Si nota la presenza di un piccolo picco esotermico immediatamente precedente alla fusione: poiché non risulta presente nel termogramma della materia prima vergine (Figura 6.39) si ipotizza che sia dovuto alla presenza di un dominio fortemente organizzato, probabilmente catalizzato dalle forze meccaniche che intervengono in fase di stampaggio.

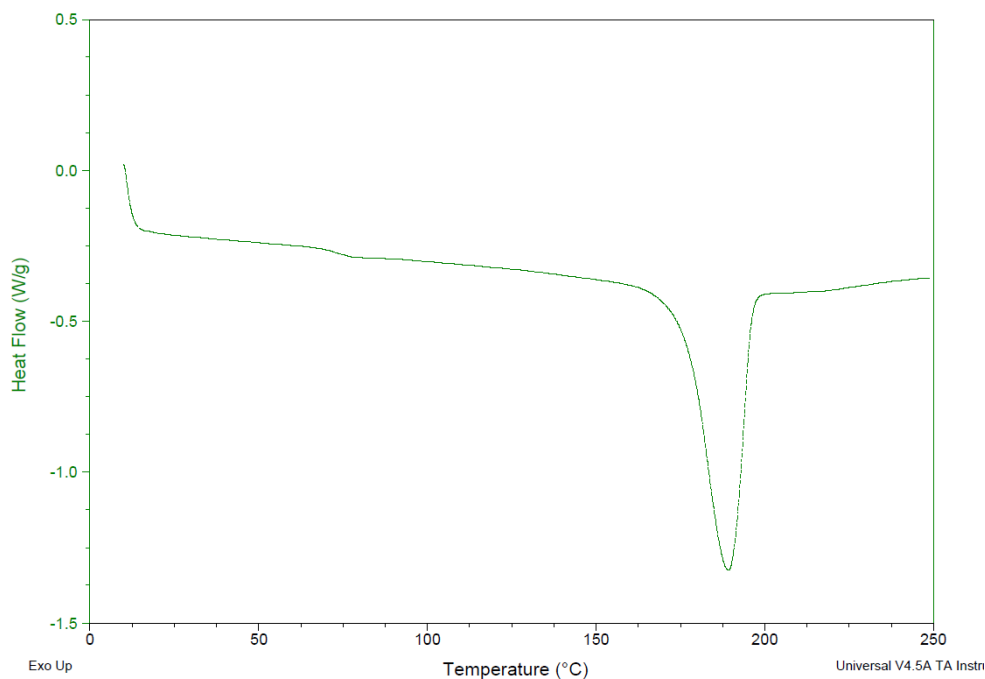


Figura 6.39: curva di primo riscaldamento del polimero PLLA vergine non stampato

A differenza del polimero P(L/DL)LA che risulta essere amorfo, l'analisi mediante DSC conferma il carattere semicristallino del PLLA [53, 54]. Secondo la formula indicata nel paragrafo 6.1.4 il grado percentuale di cristallinità del polimero testato risulta essere pari a :

$$\chi = \frac{(54.59 - 12.58)}{93.7} \cdot 100 = 44.83\%$$

La Figura 6.40 riporta le curve di raffreddamento e di secondo riscaldamento: il carattere semicristallino del polimero è confermato dalla presenza di una cristallizzazione in fase di raffreddamento, un'ulteriore cristallizzazione esotermica (a 99.46°C) e la fusione della componente cristallina così formata (a 172.64°C).

Il riscaldamento sino alla fusione annulla la storia termica del campione, pertanto l'assenza nel secondo ciclo di riscaldamento del picco immediatamente precedente la fusione conferma l'ipotesi che quest'ultimo fosse da imputarsi al processo di stampaggio del dispositivo.

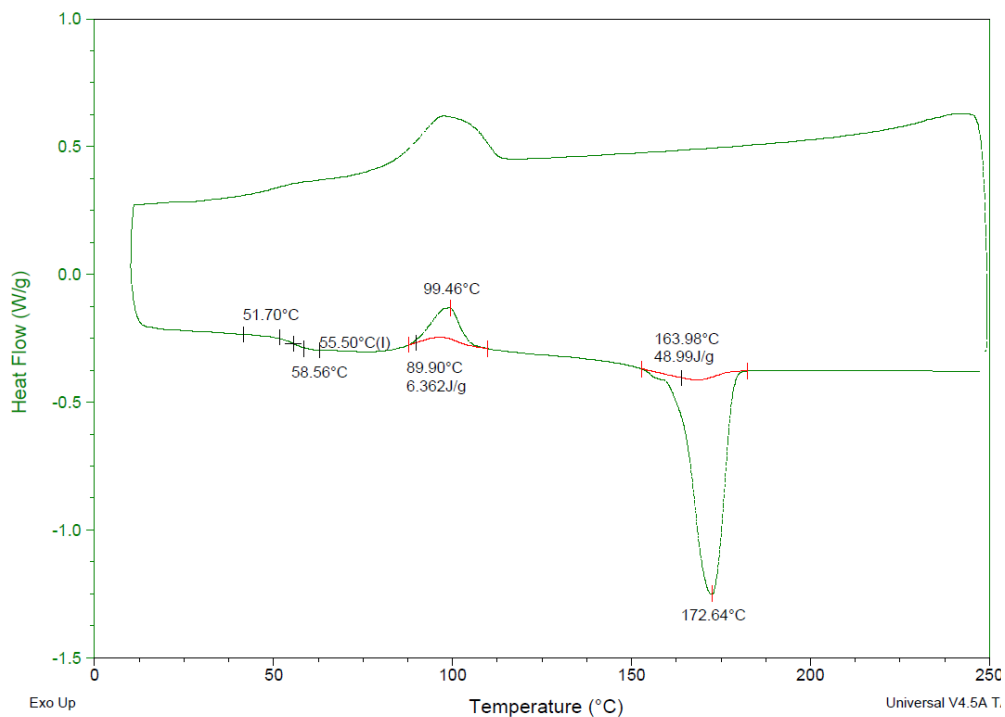


Figura 6.40: curva di raffreddamento e secondo riscaldamento della vite calcaneo-stop.

La Figura 6.41 riporta il primo ciclo di riscaldamento per il campione RSB 723 non sterile e gli stessi dispositivi sottoposti alle diverse sterilizzazioni; i parametri calcolati sono riportati in Tabella 6.16, dove, in ultima colonna, è riportato il calcolo del grado percentuale di cristallinità di ciascun campione.

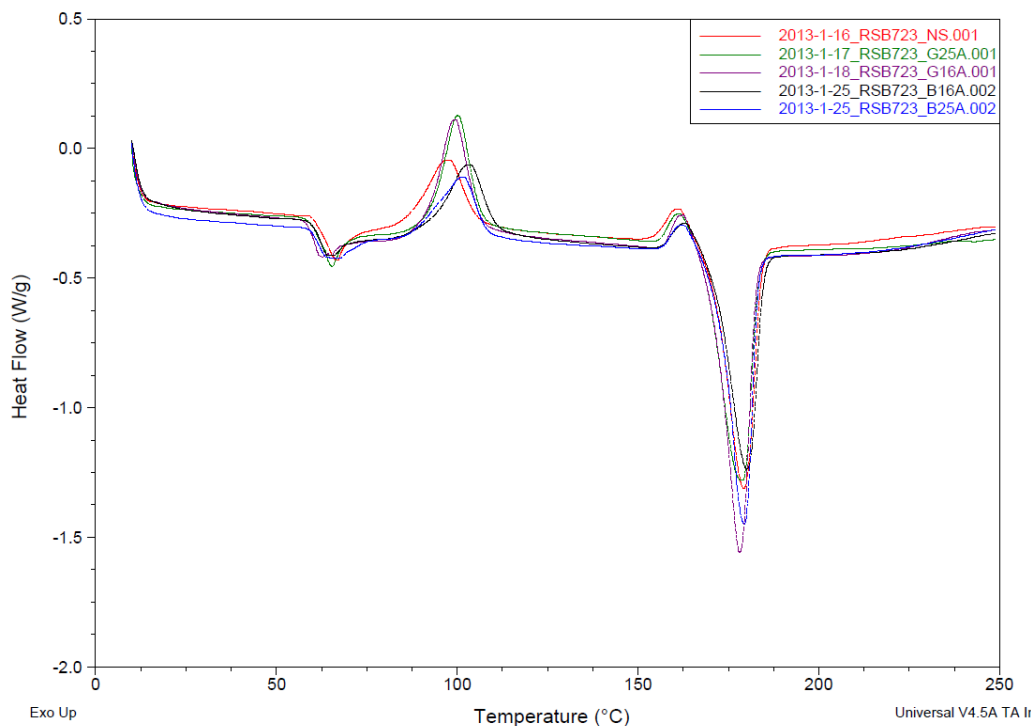


Figura 6.41: curva di primo riscaldamento del termogramma della vite calcaneo-stop non sterile (rosso), sterilizzata Gamma 25 kGy (verde), Beta 25 kGy (blu), Gamma 16.5 kGy (viola), Beta 16 kGy (nero).

	Tg °C	Tm °C	ΔHm J/g	Tc °C	ΔHc J/g	χ %
Non sterile	66.17	179.01	54.59	98.01	12.58	44.83
Gamma 25 kGy	65.08	177.68	64.05	100.21	19.01	48.07
Gamma 16,5 kGy	61.73	178.01	61.83	99.29	20.47	44.14
Beta 25 kGy	63.54	179.25	52.64	102.03	13.01	42.29
Beta 16 kGy	63.73	179.9	49.1	103.85	12.2	39.38

Tabella 6.16: valori di temperatura di transizione vetrosa (T_g), temperatura di fusione (T_m), entalpia di fusione (ΔH_m), temperatura di cristallizzazione (T_c), entalpia di cristallizzazione (ΔH_c) e grado di cristallinità relativi alla curva di primo riscaldamento della vite calcaneo-stop non sterile e sottoposta alle diverse sterilizzazioni

Osservando i risultati non si notano differenze significative tra i campioni a prescindere dal trattamento eseguito. Si può notare tuttavia una leggera diminuzione della temperatura di transizione vetrosa a seguito della

sterilizzazione, interpretabile, come indicato da Loo *et al.* [55] come una maggiore mobilità delle catene delle regioni amorse del polimero, che vanno incontro a scissione durante l'irraggiamento. Tuttavia l'entità dei dosaggi considerati, seppur tale da abbassare il peso molecolare, come evidenziato dal calo della viscosità inerente, non è così influente da consentire una riorganizzazione delle catene e l'aumento della cristallinità del polimero, come è stato osservato in alcuni studi riportati in letteratura, per dosaggi superiori a 80 kGy [53, 55, 56].

La Figura 6.42 e la Tabella 6.17 riportano l'analisi sugli stessi campioni relativa al secondo ciclo di raffreddamento/riscaldamento.

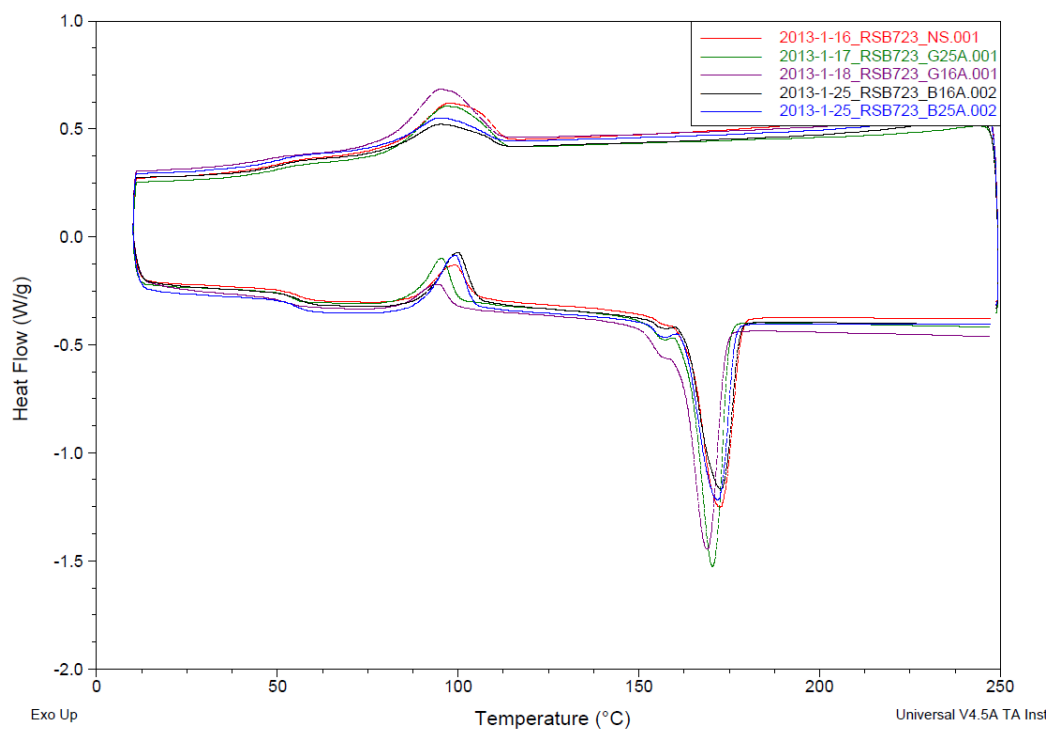


Figura 6.42: curva di secondo riscaldamento del termogramma della vite calcaneo-stop non sterile (rosso), sterilizzata Gamma 25 kGy (verde), Beta 25 kGy (blu), Gamma 16.5 kGy (viola), Beta 16 kGy (nero).

	Tg °C	Tm °C	ΔHm J/g	Tc °C	ΔHc J/g	χ %
Non sterile	55.5	172.64	48.99	99.46	6.36	45.49
Gamma 25 kGy	54.56	170.44	46.58	95.81	6.78	42.47
Gamma 16.5 kGy	52.75	169.31	34.69	94.78	3.87	32.89
Beta 25 kGy	54.73	172.03	39.92	99.48	10.85	31.02
Beta 16 kGy	55.32	172.7	43.16	100.29	10.22	35.15

Tabella 6.17: valori di temperatura di transizione vetrosa (Tg), temperatura di fusione (Tm), entalpia di fusione (ΔHm), temperatura di cristallizzazione (Tc), entalpia di cristallizzazione (ΔHc) e grado di cristallinità relativi alla curva di secondo riscaldamento della vite calcaneo-stop non sterile e sottoposta alle diverse sterilizzazioni

Anche in questo caso non vi sono variazioni apprezzabili tra i campioni che hanno subito i diversi trattamenti.

6.2.4 Test meccanici

Come ultima analisi si è proceduto alla caratterizzazione meccanica dei pin riassorbibili, mediante test a flessione su 3 punti, per analizzare l'influenza della sterilizzazione sulle proprietà meccaniche dei dispositivi. La Tabella 6.18 e la Figura 6.43 riportano i risultati relativi alle prove di trazione effettuate sui tre campioni RSB 018-60 non sterili: questi mostrano valore medio di carico massimo a rottura pari a 6.63 ± 0.33 N.

Campione	Descrizione	Peak Load N
1	RSB 018-60 Non Sterile	6.28375
2	RSB 018-60 Non Sterile	6.67595
3	RSB 018-60 Non Sterile	6.93664
Media		6.63211
Dev. St.		0.32865

Tabella 6.18: valori del carico a rottura registrati per i pin riassorbibili non sterili

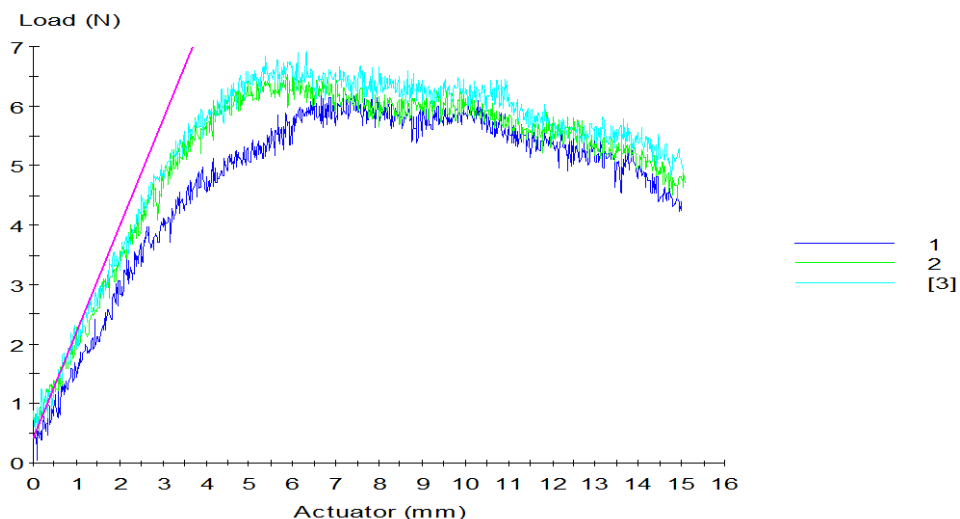


Figura 6.43: diagramma sforzo/spostamento dei pin non sterili sottoposti a flessione

Per ciascuna tipologia di sterilizzazione il test è stato condotto su un gruppo di 3 dispositivi, in Appendice si riportano i dati completi, mentre i risultati proposti in Tabella 6.19 e Figura 6.44 rappresentano i valori medi di ciascun gruppo.

Campione	Descrizione	Peak Load N
1	RSB 018-60 Beta 16 KGy	2.86104
2	RSB 018-60 Gamma 16.5 KGy	2.85279
3	RSB 018-60 Beta 18 KGy	2.64290
4	RSB 018-60 Gamma 20 KGy	3.03715
5	RSB 018-60 Beta 25 KGy	2.77478
6	RSB 018-60 Gamma 25 KGy	2.90743
Media		2.84602
<i>Dev. St.</i>		<i>0.13184</i>

Tabella 6.39: valori medi per ciascun trattamento di sterilizzazione del carico a rottura dei pin

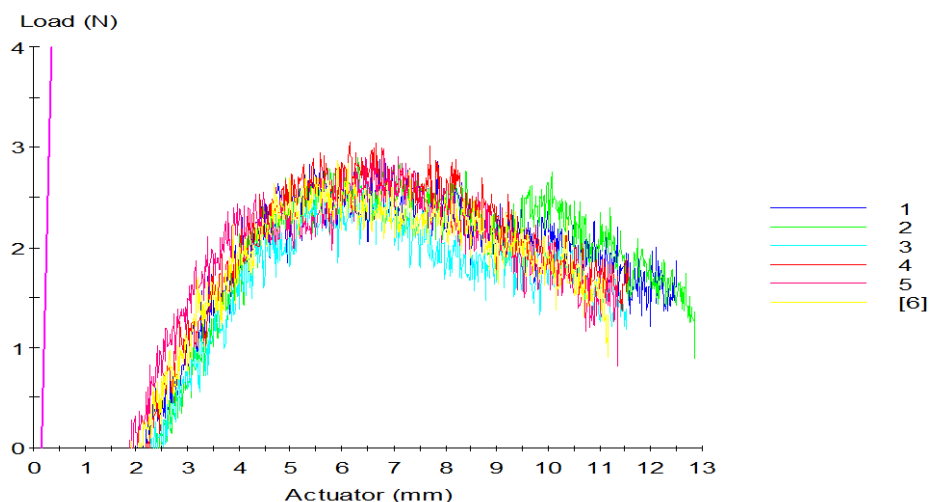


Figura 6.44: diagramma sforzo/spostamento dei pin sterilizzati sottoposti a flessione

La prova condotta sui dispositivi sterilizzati evidenzia, per tutti i campioni, valori di carico a rottura inferiori rispetto ai non sterili (il valore medio è pari a 2.84 ± 0.13 N) ma non si osservano differenze significative tra le varie tipologie di sterilizzazione.

Alla luce dei risultati ottenuti nelle varie caratterizzazioni si può concludere che i processi di sterilizzazione con radiazione Gamma e Beta, almeno fino ad un dosaggio pari a 25 kGy, non influenzano significativamente la composizione polimerica del materiale né ne alterano la storia termica. Tuttavia si nota un evidente calo della viscosità inerente, proporzionale alla radiazione, che deve essere tenuto in debita considerazione dal punto di vista industriale in fase di selezione del peso molecolare della materia prima vergine da acquistare. È necessario, infatti, garantire che il dispositivo impiantabile mantenga un peso molecolare sufficiente per tutta la durata della sua vita funzionale, anche a seguito dell'abbassamento che questo subisce per opera della sterilizzazione e della successiva degradazione in vitro.

I test meccanici non evidenziano differenze nelle performance dei dispositivi sottoposti ai diversi metodi di sterilizzazione almeno in fase iniziale; non è possibile escludere, tuttavia, che i trattamenti possano inficiare in maniera differente la vita funzionale del dispositivo in fase di degradazione.

CAPITOLO 7

Conclusioni

La degradazione dei polimeri riassorbibili è un processo particolarmente complesso e variabile, che dipende da svariati fattori legati alle proprietà del materiale, alle caratteristiche del dispositivo, all'ambiente con cui quest'ultimo viene a contatto e le sollecitazioni cui è sottoposto. Dato l'elevato numero di variabili coinvolte, fare previsioni sull'evoluzione di un impianto ortopedico biorassorbibile risulta essere un'operazione di notevole difficoltà, e che mantiene carattere di ipotesi a prescindere dalla precisione e dalla verosimiglianza del modello utilizzato.

Il test di degradazione condotto sulle viti riassorbibili è stato svolto per analizzare la risposta dei dispositivi a una condizione che mima la condizione fisiologica, seppur con un modello molto semplificato che prende in considerazione solo una parte delle variabili realmente coinvolte. Lo studio, pianificato per giungere a conclusione 3 mesi dopo l'immersione dei campioni in soluzione di PBS, al momento della stesura di questo elaborato è ancora in fase di svolgimento, pertanto i dati riportati andranno successivamente integrati con i risultati relativi all'ultimo timepoint. Nonostante il monitoraggio del comportamento sia limitato ai due mesi successivi la simulazione d'impianto, i risultati ottenuti possono essere considerati significativi in quanto la vita funzionale del dispositivo dichiarata è pari a 5 settimane, intervallo ampiamente coperto dai due timepoints analizzati. I risultati derivanti dalla prossima caratterizzazione saranno utili per confermare o confutare gli andamenti osservati finora.

Dalle caratterizzazioni chimico-fisiche, infatti, si è potuto constatare una leggera perdita di materiale da parte dei dispositivi, che hanno mostrato un calo della

lunghezza e del peso. Questa diminuzione è risultata più accentuata nella fase iniziale, entro i primi 30 giorni di immersione, e si è stabilizzata nella fase intermedia. L'azione della degradazione idrolitica è stata confermata dalla caduta della viscosità inerente, risultata a velocità pressoché costante; ciò significa che il processo idrolitico agisce operando una scissione delle catene polimeriche in segmenti a peso molecolare inferiore, ma non ne altera la composizione chimica, come dimostrato dall'analisi IR e calorimetrica. La caduta di peso molecolare si riflette, con lo stesso andamento, sulle proprietà meccaniche del materiale e in particolare sulla resistenza a flessione dei dispositivi.

Il decremento delle proprietà chimico-fisiche e meccaniche dovuto alla degradazione idrolitica, tuttavia, risulta essere, nel primo periodo, soltanto di lieve entità, e tale da garantire ugualmente la funzionalità del dispositivo.

La seconda parte dello studio, orientata alla valutazione dell'influenza di sterilizzazione a radiazioni gamma e beta, a diversi dosaggi, sui differenti dispositivi, ha mostrato che ai dosaggi considerati, viene inficiata, per tutti i dispositivi, solamente la viscosità inerente. La caduta del peso molecolare risulta direttamente legata all'intensità della radiazione: dosaggi più alti (come 25 kGy) provocano diminuzioni del peso molecolare maggiori; l'entità di tale diminuzione risulta anche legata alla geometria del dispositivo trattato, sottolineando suscettibilità superiore da parte dei campioni a spessore inferiore. La sterilizzazione a radiazione beta si è dimostrata di gran lunga meno aggressiva rispetto ai raggi gamma, soprattutto per i dosaggi inferiori; da questo punto di vista, potrebbe, quindi, risultare preferibile per il trattamento di piccoli dispositivi, a condizione che risulti un trattamento efficace.

Le prove meccaniche condotte sui dispositivi sterilizzati hanno evidenziato una fascia di risposte che può essere interpretata come un unico andamento, sottolineando una resistenza a flessione inferiore rispetto ai campioni non sterili; questo non è sufficiente, tuttavia, ad affermare che i diversi trattamenti non influiscano in modo differente sul materiale.

Il presente lavoro, frutto di un tirocinio svolto in azienda, è stato orientato all'analisi dei fenomeni degradativi legati ai dispositivi considerati e alla loro vita

funzionale, piuttosto che alla mera caratterizzazione del materiale. Caratterizzazioni più precise, come ad esempio la definizione dei prodotti di degradazione, la loro quantificazione e lo studio delle cinetiche, sono lasciate come spunti d'indagine per la ricerca, avendo risvolti industriali più trascurabili.

Appendice

Tabella A1: Valori di viscosità inerente dei campioni sterilizzati mediante radiazione gamma e del riferimento non sterile

	VISCOSITA' INERENTE (dl/g)			
	Campioni non sterilizzati	Campioni sterilizzati Gamma 25 kGy	Campioni sterilizzati Gamma 20 kGy	Campioni sterilizzati Gamma 16,5 kGy
<i>Cambra RSB 200-12 – PLDLLA</i>	4,86	1,52	1,68	1,88
		1,42	1,72	1,96
<i>Vite RSB 460-22 – PLDLLA</i>	4,19	1,49	1,72	1,81
		1,32	1,71	1,83
<i>Vite RSB 460-18 – PLDLLA</i>	4,02	1,50	1,89	1,74
		1,36	1,67	1,80
<i>PIN RSB 025-60 – PLDLLA</i>	2,13	1,23	1,43	1,52
		1,28	1,48	1,50
<i>PIN RSB 018-60 – PLDLLA</i>	2,81	1,47	1,54	1,65
		1,33	1,62	1,51
<i>Vite Calc. RSB 723 – PLLA</i>	2,48	1,53	2,14	1,66
		1,33	1,75	1,79

Tabella A2: Valori di viscosità inerente dei campioni sterilizzati mediante radiazione beta e del riferimento non sterile

	VISCOSITA' INERENTE (dl/g)			
	Campioni non sterilizzati	Campioni sterilizzati Beta 25 kGy	Campioni sterilizzati Beta 18 kGy	Campioni sterilizzati Beta 16 kGy
<i>Cambra RSB 200-12 – PLDLLA</i>	4,86	1,61	2,07	1,86
		1,55	2,03	1,91
<i>Vite RSB 460-22 – PLDLLA</i>	3,41	1,58	1,70	2,04
		1,56	1,78	1,83
<i>Vite RSB 460-18 – PLDLLA</i>	3,31	1,58	1,76	1,84
		1,53	1,85	1,85
<i>PIN RSB 025-60 – PLDLLA</i>	2,13	1,41	1,87	1,91
		1,48	1,82	1,94
<i>PIN RSB 018-60 – PLDLLA</i>	2,81	1,36	1,82	2,18
		1,27	1,81	2,18
<i>Vite Calc. RSB 723 – PLLA</i>	2,48	1,62	1,97	1,86
		1,55	1,79	1,83

Figura A1: curva di secondo riscaldamento dei campioni RSB 200-12 non sterile (rosso), sterilizzato Gamma 25 kGy (verde), Beta 25 kGy (blu), Gamma 16.5 kGy (viola), Beta 16 kGy (nero)

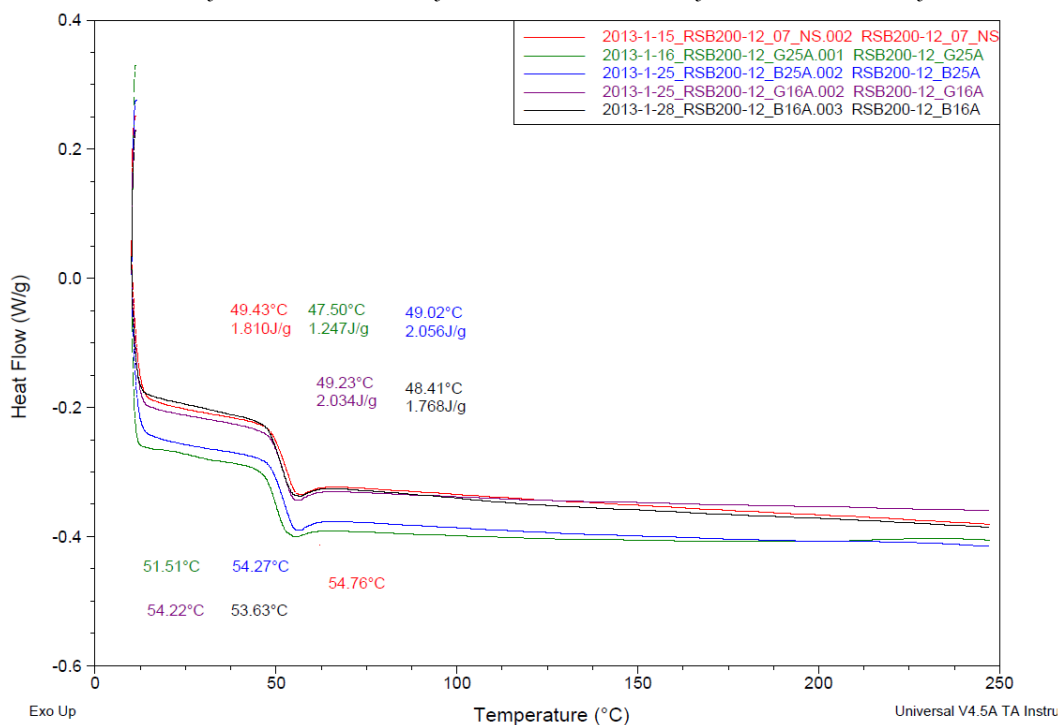


Figura A2: curva di secondo riscaldamento dei campioni RSB 460-22 non sterile (rosso), sterilizzato Gamma 25 kGy (verde), Beta 25 kGy (blu), Gamma 16.5 kGy (viola), Beta 16 kGy (nero)

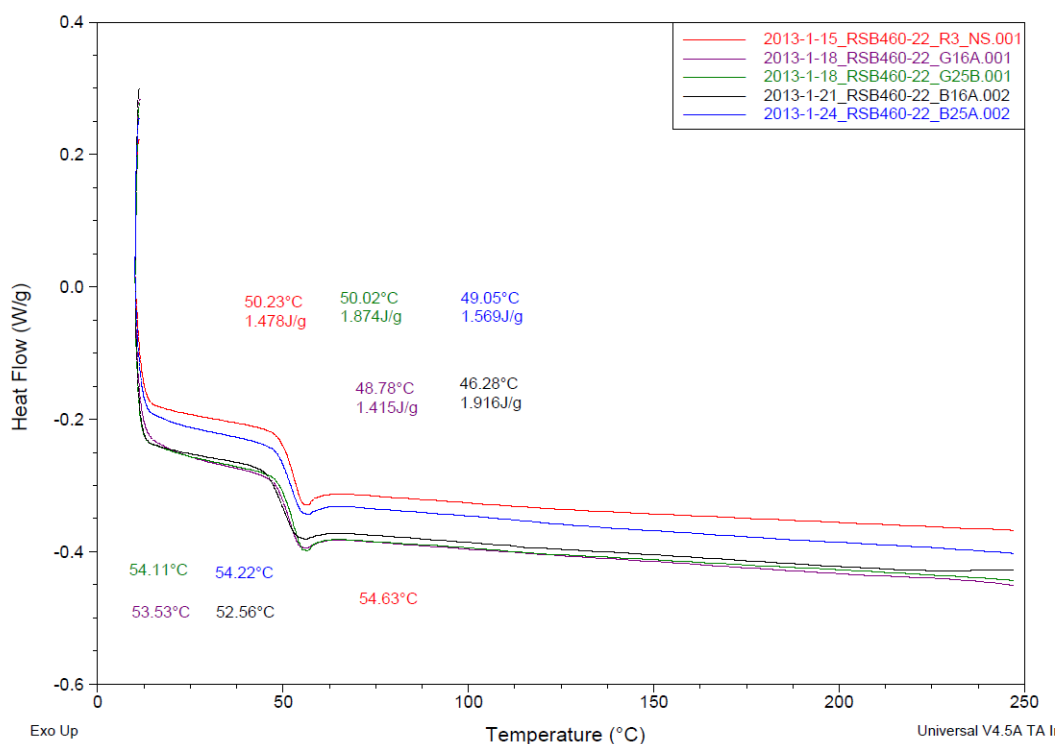


Figura A3: curva di secondo riscaldamento dei campioni RSB 018-60 non sterile (rosso), sterilizzato Gamma 25 kGy (verde), Beta 25 kGy (blu), Gamma 16.5 kGy (viola), Beta 16 kGy (nero)

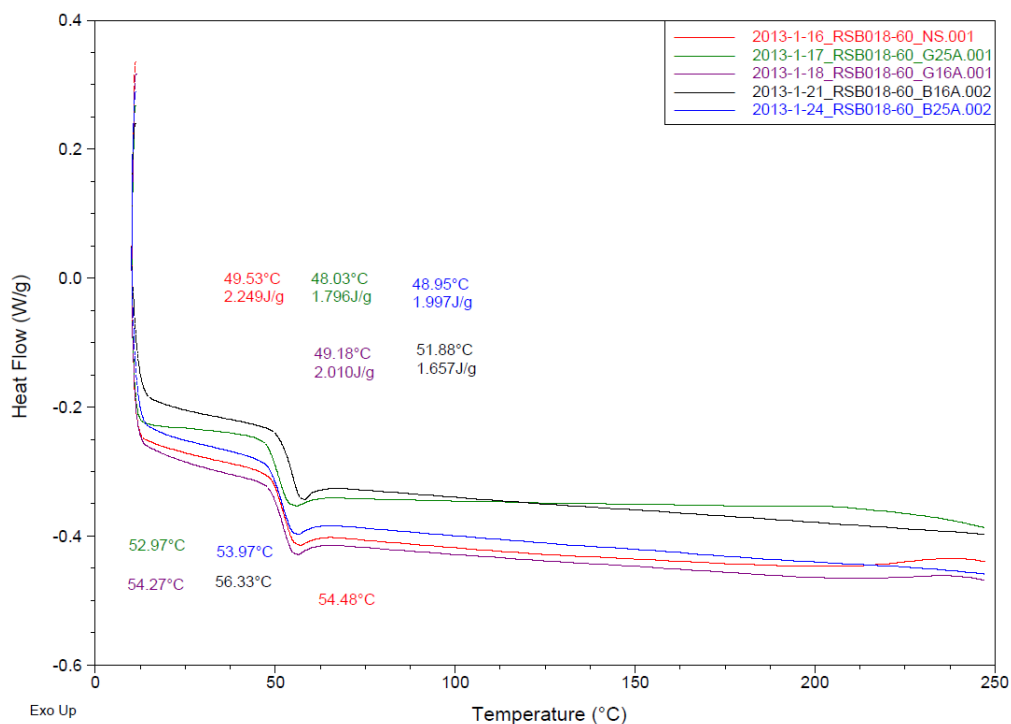


Tabella A4: valori del carico a rottura dei pin sterilizzati sottoposti a flessione

Specimen #	SampleID	Peak Load [N]
1	RSB01860 16KGy beta	3.06246
2	RSB01860 16KGy beta	2.87906
3	RSB01860 16KGy beta	2.64161
4	RSB01860 16.5KGy gamma	2.90080
5	RSB01860 16.5KGy gamma	3.00675
6	RSB01860 16.5KGy gamma	2.65082
7	RSB01860 18KGy beta	2.68126
8	RSB01860 18KGy beta	2.66415
9	RSB01860 18KGy beta	2.58329
10	RSB01860 20KGy gamma	2.92043
11	RSB01860 20KGy gamma	3.05391
12	RSB01860 20KGy gamma	3.13711
13	RSB01860 25KGy beta	2.98304
14	RSB01860 25KGy beta	2.68198
15	RSB01860 25KGy beta	2.65933
16	RSB01860 25KGy gamma	2.78465
17	RSB01860 25KGy gamma	2.87492
18	RSB01860 25KGy gamma	3.06271

Bibliografia

- [1] Gogolewski, "Bioresorbable polymers in trauma and bone surgery", *Injury*, 2000; 31 (4): 28–32.
- [2] Kronenthal, "Biodegradable polymers in medicine and surgery" In: Kronenthal et al eds Polymers in medicine and surgery. New York: Plenum Press, 1975.
- [3] Hollinger. ed. Biomedical applications of synthetic biodegradable polymers. Boca Raton, FL: CRC Press, 1995.
- [4] Hermann et al., "Polyglycolic acid sutures", *Arch. Surg.* 1970; 100: 486-490.
- [5] Frazza et al., "A new absorbable suture", *J. Biomed. Mater. Res. Symposium*, 1971;1: 43-58.
- [6] Conn et al., "Vicryl (Polyglactin910) synthetic absorbable sutures", *Am. J. Surg.*, 1974; 128: 19-23.
- [7] Ray et al., "Polydioxanone(PDS), a novel monofilament synthetic absorbable suture", *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1981; 153: 497-507.
- [8] Katz et al., "A newsynthetic monofilament absorbable suture made from polytrimethylene carbonate", *Surg. Gynecol. Obstet.* 1985; 161: 213-222.
- [9] Bezwada et al. "Monocryl@ suture, a new ultra-pliable absorbable monofilament suture", *Biomaterials*, 1995;16: 1141-1148.
- [10] D. Farrar, "Bioresorbable Polymers in Orthopaedics", *Medical Device Manufacturing & technology*, vol. 6, no. 2000, pp. 1–4, 2005.
- [11] Barber, "Resorbable materials for arthroscopic fixation: a product guide", *Orthop. Sp. Ed.*, 2000; 6(2): 1–11.
- [12] Pietrzak, "Principles of development and use of absorbable internal fixation", *Tis. Engin.* 2000; 6(4): 425–433.
- [13] Brodke et al "Dynamic cervical plates: biomechanical evaluation of load sharing and stiffness", *Spine*, 2001; 26(12): 1324-9.
- [14] Kennady et al., "Histomorphometric evaluation of stress shielding in mandibular continuity defects treated with rigid fixation plates and bone grafts", *Int J Oral Maxillofac Surg*, 1989; 18(3): 170-4.
- [15] Kennady et al., "Stress shielding effect of rigid internal fixation plates on mandibular bone grafts. A photon absorption densitometry and quantitative computerized tomographic evaluation", *Int J Oral Maxillofac Surg*, 1989; 18(5): 307-10.
- [16] Uthoff et al., " The effects of metal plates on post-traumatic remodelling and bone mass", *J Bone Joint Surg Br*, 1983; 65(1): 66-71.

- [17] Uthhoff et al., "Cortical porosis under plates. Reaction to unloading or to necrosis?", *J Bone Joint Surg Am*, 1994; 76(10): 1507-12.
- [18] Agins et al., "Metallic wear in failed titanium-alloy total hip replacements. A histological and quantitative analysis", *J Bone Joint Surg Am*, 1988; 70(3): 347-56.
- [19] Rokkanen et al., "Bioabsorbable fixation in orthopaedic surgery and traumatology", *Biomaterials*, 2000; 21: 2607-2613.
- [20] Pensler, "Role of resorbable plates and screws in craniofacial surgery", *J Craniofac Surg*, 1997; 8: 129-134.
- [21] Engelberg et al. "Physico-mechanical properties of degradable polymers used in medical applications: a comparative study", *Biomaterials*, 1991; 12: 292-304.
- [22] Lyman, "Biomedical Polymers", *Rev. Macromol. Chem.*, 1966; 1: 355-391.
- [23] Middleton et al., "Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices", *Biomaterials*, 2000; 21(23): 2335-46.
- [24] Pathiraja et al., "Biodegradable Synthetic Polymers for tissue engineering", *European Cells and Materials*, 2003; 5: 1-16.
- [25] Santos, "Bioresorbable Polymers for Tissue Engineering", *Tissue Engineering*, 2010.
- [26] Ciccone et al., "Bioabsorbable implants in orthopaedics: new developments and clinical applications", *J. Am. Acad. Orthop. Surg.*, 2001; 9: 280-288.
- [27] Webb et al., "Biodegradable polyester elastomers in tissue engineering", *Expert Opin Biol Ther.*, 2004; 4: 801- 12.
- [28] Hutmacher et al., "A review of material properties of biodegradable and bioresorbable polymers and devices for GTR and GBR applications" *The International journal of oral & maxillofacial implants*, 2000; 11(5): 667-78.
- [29] Bendix., "Chemical synthesis of polylactide and its copolymers for medical applications", *Polymer degradation and stability*, 1998; 59: 129-135.
- [30] Gupta et al., "Poly(lactic acid) fiber: An overview", *Progress in Polymer Science*, 2007; 32(4): 455-482.
- [31] Nampoothiri et al., "An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research", *Bioresource Technology*, 2010; 101(22): 8493-8501.
- [32] Garlotta "A Literature Review of Poly (Lactic Acid)", *Journal of Polymers and the Environment*, 2002; 9(2): 63-84.
- [33] Smit et al., "Time-Dependent Mechanical Strength of 70/30 Poly(L,DL-lactide)", *Spine*, 2008; 33(1): 14-18.
- [34] Göpferich "Mechanisms of polymer degradation and erosion", *Biomaterials*, 1996 ; 17(2): 103-14.
- [35] Tokiwa et al "Biodegradability and biodegradation of poly(lactide)", *Applied microbiology and biotechnology*, 2006; 72(2): 244-51.

- [36] Tamada et al., "Erosion kinetics of hydrolytically degradable polymers", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1993; 90(2): 552–6.
- [37] Vacanti et al., "Tissue engineering using synthetic biodegradable polymers". In: Shalaby et al *Polymers of Biological and Biomedical Significance*, American Chemical Society, 1994, 16–34.
- [38] Langer., "New methods of drug delivery", *Science*, 1990; 249: 1527–1532.
- [39] Li et al., "Structure–property relationships in the case of the degradation of massive aliphatic poly(a-hydroxy acids) in aqueous media, Part 2: degradation of lactide–glycolide copolymers: PLa37.5Ga25 and PLA75Ga25.", *J Mater Sci: Mater in Med*, 1990;1: 131–139.
- [40] Leenslag et al., "Resorbable materials of poly(L-lactide) VIII. In vivo and in vitro degradation", *Biomaterials*, 1987; 8: 311–314.
- [41] Duek et al., "In vitro study of poly(lactic acid) pin degradation", *Polymer*, 1999; 40(23): 6465–6473.
- [42] Pistner et al., "Poly(L-Lactide): a long-term degradation study in vivo. Part III. Analytical characterization", *Biomaterials*, 1993; 14: 291–298.
- [43] Mainil-Varlet et al., "Long-term in vivo degradation and bone reaction to various polylactides. 1. One year results", *Biomaterials*, 1997; 18: 257–266.
- [44] Lam et al., "Biodegradation of porous versus non porous poly(L-lactic acid) films", *J Mater Sci: Mater in Med*, 1994; 5: 181–189.
- [45] Trnka, "Osteotomies for hallux valgus correction", *Foot and ankle clinics*, 2005: 10(1): 15–33.
- [46] Easley et al., "International Advances in Foot and Ankle Surgery" 2012: 11–26.
- [47] Gefen et al., "Biomechanical analysis of the three-dimensional foot structure during gait: a basic tool for clinical applications", *Journal of Biomechanical Engineering*, 2000; 122: 630–639.
- [48] Gilchrist et al., "A Two-Part Viscoelastic Foot Model for Use in Gait Simulations", *J. Biomech.*, 1996; 29: 795–798.
- [49] Patil et al., "Analysis of stresses in two-dimensional models of normal and neuropathic feet", *Medical & biological engineering & computing*, 1996; 34(4): 280–4.
- [50] Scott et al., "Biomechanical Model of the Human Foot: Kinematics and Kinetics During the Stance Phase of Walking", *J. Biomech.*, 1993; 26: 1091–1104.
- [51] Rodgers, "Dynamic biomechanics of the normal foot and ankle during walking and running", *Physical therapy*, 1988; 68(12): 1822–30.
- [52] Fischer et al., "Investigation of the structure of solution grown crystals of lactide copolymers by means of chemical reactions", *Koll.-Z.Z. Polym*, 1973; 251: 980–990.

- [53] Kantoglu et al., "Radiation induced crystallinity damage in poly(L-lactic acid)", *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 2002; 197: 259–264.
- [54] Miyata et al., "Crystallization behaviour of poly (L -lactide)", *Polymer*, 1998; 39(22): 5515–5521.
- [55] Loo et al., "Hydrolytic degradation of electron beam irradiated high molecular weight and non-irradiated moderate molecular weight PLLA" *Acta biomaterialia*, 2006; 2(3): 287–96.
- [56] Loo et al., "Degradation of poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) and poly(L-lactide) (PLLA) by electron beam radiation", *Biomaterials*, 2005; 26(12): 1359–67.
- ASTM F 1925 – 99(2005): *"Standard Specification for Virgin Poly(L-Lactic)Acid Resin for Surgical Implants"*.
- ASTM F 1635 – 04 : *"Standard Test Method for in vitro Degradation Testing of Hydrolytically Degradable Polymer Resins and Fabricated Forms for Surgical Implants"*.
- ASTM F 2502 – 05: *"Standard Specification and Test Methods for Bioabsorbable Plates and Screws for Internal Fixation Implants"*.
- UNI EN 556-1 (2002): *"Sterilizzazione dei dispositivi medici. Requisiti per i dispositivi medici che recano l'indicazione "STERILE". Requisiti per i dispositivi medici sterilizzati terminalmente"*.