



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Ingegneria dell'Informazione

Corso di Laurea Magistrale in Bioingegneria

Progettazione di Scaffold basati sull'analisi morfologica dei tessuti ossei

Relatore: Prof. Gianpaolo SAVIO

Correlatore: Prof.ssa Maria Francesca UCCHEDDU

Laureanda: Martina GHISLENI

Matricola: 2063246

Anno accademico 2024-2025

4 Dicembre 2024

Abstract

Le ossa, strutture fondamentali del corpo umano, svolgono un ruolo cruciale nella protezione, nel supporto meccanico, nella riserva minerale e nella produzione di cellule ematiche. Tuttavia, condizioni patologiche come l'osteoporosi o le fratture complesse compromettono queste funzioni, richiedendo soluzioni innovative per la rigenerazione ossea. Questa tesi si concentra sulla progettazione di scaffold tridimensionali biomimetici che imitano le caratteristiche dell'osso naturale, bilanciando porosità, resistenza meccanica e degradazione controllata. Lo scaffold è stato modellato utilizzando un approccio parametrico basato sui diagrammi di Voronoi, implementato attraverso Rhinoceros e Grasshopper. Dai risultati emerge come l'approccio utilizzato abbia permesso di generare una struttura trabecolare realistica, ben definita e personalizzabile. Inoltre questa metodologia ha consentito di regolare dinamicamente parametri chiave, come fattori di scala, numero di semi, e dimensione del box, per analizzare gli effetti morfologici, che includono porosità, dimensione dei pori, dimensione dei canali connettivi e sezioni trabecolari (in termini di diametro, area, perimetro e indice di forma), garantendo la replicazione fedele dell'architettura dell'osso naturale. Attraverso questa analisi è stata individuata una configurazione ottimale dello scaffold, caratterizzata da un lato box di 2mm, un numero di semi di 57, fattori di scalatura pari a $S_f=0,70$ e $S_v=0,8$. Questa configurazione ha prodotto una porosità ottimale dell'80%, che assicura un'efficace comunicazione tra i pori senza compromettere eccessivamente la densità strutturale, una dimensione media dei canali connettivi di 0.0386 mm, sufficiente per favorire la permeabilità e la vascolarizzazione, un diametro medio delle sezioni trabecolari di 0.105 mm, che conferma l'ottimizzazione della configurazione con trabecole sufficientemente spesse da garantire la stabilità strutturale, evitando la riduzione eccessiva del materiale solido. Infine anche l'indice di forma, calcolato tra area e perimetro delle sezioni trabecolari, con un valore prossimo a 1, indica sezioni trabecolari regolari, vicine ad una forma ideale. Il metodo sviluppato ha consentito di progettare uno scaffold tridimensionale personalizzabile, in grado di replicare fedelmente la morfologia e la struttura irregolare dell'osso naturale. Gli sviluppi futuri includono la modellazione dell'osso corticale, l'integrazione con la struttura trabecolare e l'introduzione di gradienti di porosità per simulare la transizione naturale tra corticale e trabecolare. Simulazioni meccaniche avanzate, basate sull'analisi agli elementi finiti, saranno fondamentali per ottimizzare la risposta biomeccanica degli scaffold. Inoltre, l'utilizzo di materiali biocompatibili, come polimeri sintetici e compositi, e tecnologie di stampa 3D, come la stereolitografia, rappresentano strumenti chiave per tradurre i modelli digitali in strutture fisiche altamente personalizzate.

Indice

Capitolo 1: Introduzione.....	1
1.1) Tessuto Osseo.....	1
1.1.1 Composizione dell'Osso.....	3
1.1.2 Struttura Gerarchica dell'Osso.....	4
1.1.3 Comportamento meccanico del tessuto osseo.....	13
1.1.3.1 Proprietà meccaniche dell'Osso Corticale.....	15
1.1.3.2 Proprietà meccaniche dell'Osso trabecolare.....	19
1.2) Scaffold.....	24
1.2.1 Caratteristiche dello scaffold.....	26
1.2.2 Parametri da considerare per la progettazione degli scaffold.....	30
1.2.2.1 Design strutturale: porosità.....	30
1.2.2.1.1 Caratteristiche della porosità.....	33
1. Dimensione dei pori.....	34
2. Morfologia dei pori.....	35
3. Interconnessione tra i pori.....	39
4. Distribuzione della dimensione dei pori.....	41
1.2.2.1.2 Come si misura la porosità	44
1.2.2.2 Design della superficie.....	50
1.2.2.3 Materiali.....	51
1.2.2.4 Tecnologie di produzione	54
1.3) Stampa 3D.....	58
1.3.1 Stato dell'Arte della Produzione Additiva	58
1.3.2 Tecnologie AM disponibili.....	59
1.3.3 SLA: Stereolitografia.....	64
1.4) Scopo della tesi.....	69
Capitolo 2: Metodi utilizzati per la progettazione dello scaffold.....	71
2.1) Approcci alla modellazione geometrica.....	71
2.2) Procedura di modellazione dello scaffold basato sul reticolo di Voronoi.....	75
2.3) Modellazione della struttura ossea.....	80
2.3.1 Creazione dell'osso trabecolare.....	80
2.3.2 Creazione dell'osso corticale.....	86
2.3.3 Creazione dell'osso intero.....	87

2.4)	Analisi dei parametri per determinare la morfologia ottimale.....	89
2.4.1	Porosità Creazione dell'osso trabecolare.....	89
2.4.2	Numero input di popolamento (numero dei pori).....	90
2.4.3	Dimensione effettiva dei pori.....	92
2.4.4	Interconnessione tra pori.....	95
2.4.4.1	Livello di interconnessione.....	95
2.4.4.2	Analisi della dimensione dei canali connettivi.....	96
2.4.5	Dimensione trabecolare.....	98
2.4.6	Indice di forma (Circolarità).....	105
Capitolo 3: Risultati e Discussione.....		109
3.1)	Porosità.....	110
3.2)	Numero di input di popolamento (Numero dei pori).....	112
3.3)	Dimensione effettiva dei pori.....	114
3.4)	Interconnessione tra i pori.....	116
3.4.1.	Livello di interconnessione.....	116
3.4.2.	Dimensione dei canali connettivi.....	118
3.5)	Dimensione trabecolare.....	119
3.6)	Analisi dei risultati dello studio: Sezione trabecolare e Indice di forma.....	121
3.7)	Analisi degli effetti della variazione del Fattori di Scala Sf nella Modellazione dello Scaffold Trabecolare.....	123
3.7.1	Risultati geometrici	124
3.7.2	Risultati porosità e dimensione dei canali connettivi.....	127
3.7.3	Risultati di Diametro, Perimetro, Area e Indice di forma	128
3.7.4	Confronto dei risultati ottenuti variando il fattore di scala Sf.....	131
3.8)	Analisi degli effetti della variazione del Fattori di Scala Sv nella Modellazione dello Scaffold Trabecolare.....	134
3.9)	Configurazione ottimale dello scaffold	135
Capitolo 4: Conclusioni e prospettive future.....		137
Bibliografia.....		149

Capitolo 1: Introduzione

1.1) Tessuto osseo

Le ossa sono componenti fondamentali del corpo umano, caratterizzate da forme, densità e dimensioni diverse. Esse sono composte principalmente da tessuto osseo, un tipo di tessuto connettivo di supporto fortemente mineralizzato.

Il tessuto osseo è costituito da cellule specializzate immerse in una matrice extracellulare composta da fibre proteiche (principalmente collagene di tipo I) e una sostanza fondamentale impregnata di minerali. Questa composizione conferisce all'osso una notevole durezza e resistenza meccanica [1].

Le ossa svolgono numerose funzioni vitali per l'organismo [1]:

- protezione di tessuti e organi interni, come il cervello e il cuore.
- sostegno strutturale, forniscono un'ossatura per l'attacco dei muscoli consentendo il movimento.
- fungono da riserva di minerali essenziali come calcio, fosforo, sodio e magnesio, regolando i livelli di tali ioni nei fluidi corporei.
- producono le cellule del sangue nel midollo osseo (ematopoiesi).
- intervengono nell'omeostasi minerale, regolando la concentrazione di minerali nel corpo.

Possono essere classificate in base alla loro geometria in tre categorie principali [2]:

- Ossa lunghe: presentano una lunghezza maggiore rispetto alle altre dimensioni (ossa degli arti: femore, tibia, omero, radio e ulna). Sono costituite da una parte centrale cilindrica chiamata diafisi e due estremità note come epifisi. Tra la diafisi e l'epifisi nei bambini si trova la metafisi, che contiene una cartilagine di coniugazione che permette l'accrescimento in lunghezza dell'osso.
- Ossa piatte: lunghezza e larghezza prevalgono sullo spessore (ossa del cranio, scapole e sterno).
- Ossa brevi: le tre dimensioni sono circa uguali (ossa del carpo e del tarso, vertebre).

Dal punto di vista microstrutturale, il tessuto osseo è organizzato in due diverse forme strutturali: l'osso compatto e l'osso trabecolare. L'osso compatto, denso e privo di cavità macroscopiche, forma la porzione più superficiale delle ossa lunghe, mentre l'osso trabecolare

si trova principalmente nelle ossa brevi, nelle ossa piatte e nelle epifisi delle ossa lunghe, presentando trabecole che delimitano cavità contenenti midollo osseo ematopoietico [2].

Il tessuto osseo, per la sua complessità e funzionalità, necessita di strutture di supporto che ne garantiscano la crescita, il mantenimento e la riparazione. Due di queste sono il periostio e l'endostio, membrane connettivali che rivestono rispettivamente la superficie esterna e interna delle ossa, fondamentali per la formazione di nuovo osso e rimodellamento [3].

Il **periostio** è una membrana connettiva fibrosa che avvolge la superficie esterna delle ossa, esclusi i punti di articolazione che sono coperti da cartilagine. Si suddivide in due strati distinti: uno esterno fibroso che conferisce resistenza e protezione all'osso sottostante ed ancora tendini e legamenti tramite le fibre di Sharpey; uno interno osteogenico riccamente vascolarizzato che contiene cellule osteoprogenitrici cruciali per la crescita in larghezza delle ossa. L'**endostio**, sottile strato di cellule osteoprogenitrici che riveste la cavità midollare della diafisi, è fondamentale per il rimodellamento e la riparazione interna dell'osso, poiché le cellule possono differenziarsi in osteoblasti e osteoclasti a seconda delle necessità. Queste due membrane lavorano in sinergia per mantenere la salute e la funzionalità del tessuto osseo, questa cooperazione è vitale per la capacità dell'osso di rispondere a lesioni e adattarsi a nuove condizioni biomeccaniche [4].

Come mostrato in Figura 1, la superficie esterna delle ossa lunghe è ricoperta dal periostio, al di sotto si trova l'osso corticale e ancora più all'interno l'osso trabecolare che contiene il midollo osseo. La diafisi (osso compatto), rivestita dal periostio, contiene una cavità midollare interna avvolta dall'endostio. L'epifisi (osso spugnoso) è ricoperta da cartilagine articolare alle estremità che forma le superfici articolari.

La **cartilagine articolare**, situata alle estremità delle ossa lunghe, è un tessuto connettivo altamente specializzato, composto principalmente da collagene e grandi molecole di proteine-polisaccaridi. Questo tessuto fornisce una superficie a basso attrito (<0.01) per facilitare il movimento articolare [3].

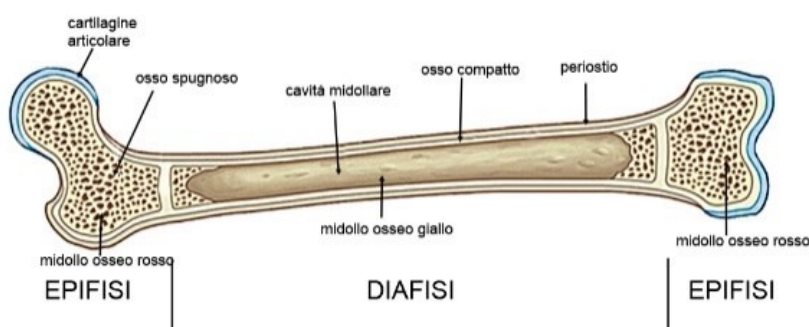


Figura 1: Principali componenti anatomiche di un osso lungo.

1.1.1) Composizione dell'osso

L'osso umano è una struttura complessa e dinamica che presenta una composizione eterogena, principalmente costituita da una matrice organica e una fase minerale. In termini di peso, l'osso è composto da 10-20% di collagene, dal 60-70% di minerale osseo e dal 9-20% di acqua [3].

- **Matrice organica:**

La matrice organica dell'osso è composta per il 95% da collagene di tipo I. Questo fornisce flessibilità e resistenza, permettendo all'osso di assorbire e dissipare le forze meccaniche. Oltre al collagene, la matrice contiene proteine organiche: proteoglicani (biglicano, decorina) e glicoproteine (osteocalcina, osteonectina, osteopontina e sialoproteina ossea), che svolgono ruoli cruciali nella mineralizzazione, in quanto regolano dimensione, orientamento e forma dei cristalli, e nella funzionalità biologica dell'osso [5], [6].

- **Fase Minerale:**

La componente minerale dell'osso è costituita principalmente da idrossiapatite (HA) con la formula chimica $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Tuttavia, la composizione esatta può variare, con la presenza di altri ioni come stronzio, zinco e carbonato che influenzano le proprietà meccaniche e biologiche dell'osso. La fase minerale conferisce durezza e stabilità strutturale all'osso [3]. I minerali conferiscono durezza e rigidità, contribuendo alla resistenza alla compressione del tessuto osseo [7].

- **Contenuto di Acqua:**

L'osso contiene anche una significativa quantità di acqua, che costituisce tra il 9% e il 20% del peso totale, fondamentale per il mantenimento dell'elasticità e della funzionalità del tessuto osseo [3]. L'acqua è cruciale per il funzionamento meccanico delle ossa, con differenze significative nelle proprietà meccaniche tra osso secco e bagnato. Si trova all'interno della fibrilla, negli spazi vuoti tra le molecole di collagene e tra le fibrille stesse [8].

- **Cellule ossee:**

Il tessuto osseo ospita quattro tipi di cellule, che costituiscono il 2% della massa: osteoblasti, osteoclasti, osteociti e cellule del rivestimento osseo (cellule osteoprogenitrici), che lavorano sinergicamente per mantenere l'equilibrio tra formazione e riassorbimento osseo. Le cellule osteoprogenitrici sono in grado di differenziarsi in osteoblasti. Gli osteoblasti producono e mineralizzano nuova matrice ossea, osteociti la mantengono e gli osteoclasti la assorbono. Nella matrice ossea ci sono anche ormoni, citochine e fattori di crescita che regolano il metabolismo e la

rigenerazione ossea, svolgendo un ruolo cruciale nella salute e nella funzione dell'osso [10].

Gli osteociti agiscono come sensori meccanici, monitorano e regolano la matrice ossea e orchestrano il processo di rimodellamento: quando rilevano sollecitazioni o danni sull'osso inviano segnali agli osteoclasti, se l'osso deve essere degradato, oppure agli osteoblasti, se deve essere prodotto, per mantenere l'equilibrio dinamico tra formazione e riassorbimento osseo [5].

1.1.2) Struttura Gerarchica dell'Osso

L'osso è un tessuto composito caratterizzato da una struttura gerarchica che varia a diverse scale di lunghezza, dalle dimensioni nanoscopiche fino alla dimensione macroscopica dell'osso come organo osseo. Questa struttura complessa è organizzata su sette livelli gerarchici, partendo dalle fibrille di collagene mineralizzato fino alla complessa architettura tridimensionale dell'osso [9].

Ciascun livello gerarchico possiede caratteristiche specifiche che contribuiscono in modo unico alle proprietà meccaniche complessive dell'osso, le quali variano in funzione della direzione e del tipo di carico applicato [3].

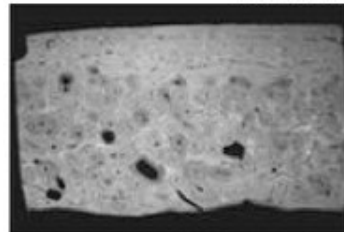
Per via della complessa struttura eterogenea dell'osso, è necessario esaminare le relazioni tra i vari livelli strutturali e proprietà meccaniche al fine di comprendere la sua adattabilità alle diverse funzioni [8].

La struttura graduale dell'osso, con variazioni nella composizione, struttura e proprietà meccaniche, non solo aiuta a dissipare l'energia delle fratture prevenendo la propagazione delle crepe, ma consente anche all'osso di adattarsi ai carichi ciclici e statici, rendendolo straordinariamente efficace nel rispondere a una vasta gamma di sollecitazioni meccaniche [9].

Questa sofisticata organizzazione permette all'osso di combinare resistenza e flessibilità, adattandosi alle necessità meccaniche e funzionali del corpo umano, rappresentando così un esempio di adattamento biologico che può ispirare la progettazione di materiali sintetici [5].



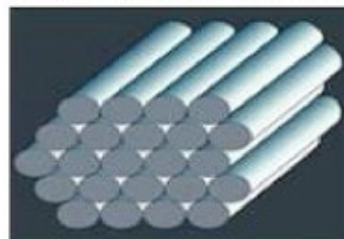
Level 7: Whole bone



Level 5: osteonal and circumferential lamellar bone



Level 6: compact and trabecular (spongy) bone



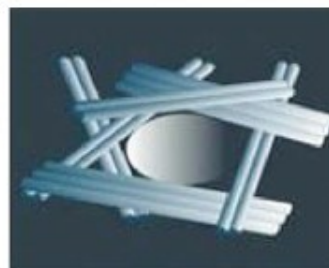
Parallel arrays



Woven fiber structure

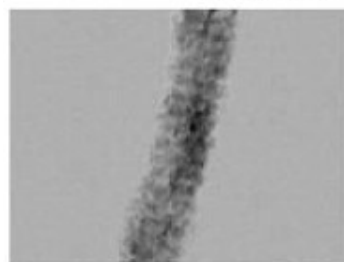


Lamellar structure

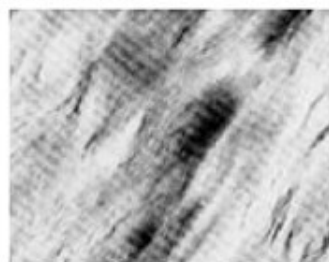


Root dentin structure

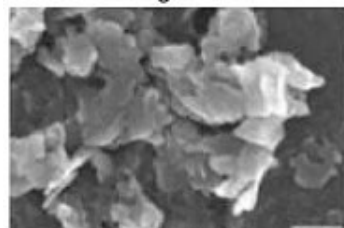
Level 4: Structural types



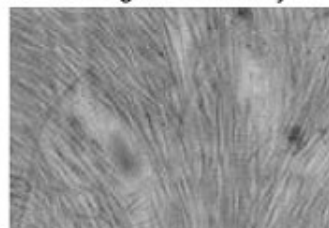
Level 2: Mineralized collagen fibril



Level 3: Mineralized collagen fibril array



Crystals



Collagen fibrils

Level 1: Basic building blocks

Figura 2: I livelli gerarchici di organizzazione delle ossa [9].

- **Livello 1: Elementi costitutivi di base (Struttura Sub – Nanoscopica, < 100 nm)**

La sub-nanostruttura dell'osso comprende gli elementi costitutivi di base del materiale osseo: la matrice organica, composta principalmente da collagene di tipo 1 (fibrille di collagene non mineralizzata) e una fase minerale [8].

Cristalli di idrossiapatite: I cristalli minerali, disposti sottoforma di piastre o aghi sono dispersi tra e all'interno delle fibrille di collagene con un orientamento specifico: assi cristallografici paralleli alle fibrille di collagene. Sono lunghi circa 50 nm, larghi 25 nm, e spessi 1,5-5 nm. La loro funzione è quella di conferire rigidità e resistenza alla compressione, rinforzando la matrice ossea limitando la crescita dei cristalli stessi [3],[7], [8],[9].

Molecole di collagene: hanno forma cilindrica, sono lunghe circa 300 nm e larghe 1,5 nm. Ogni molecola è formata da 3 catene polipeptidiche avvolte in una tripla elica, conferendo rigidità e resistenza alla struttura [3]. Le molecole di collagene, si auto-assemblano in *fibrille* con una periodicità di 68 nm e un'organizzazione sfalsata che crea sovrapposizioni tra molecole di 27 nm e spazi di 40 nm tra le estremità delle molecole. Questi fori fungono da siti per la nucleazione dei cristalli minerali e conferiscono flessibilità e resistenza alla trazione [7].

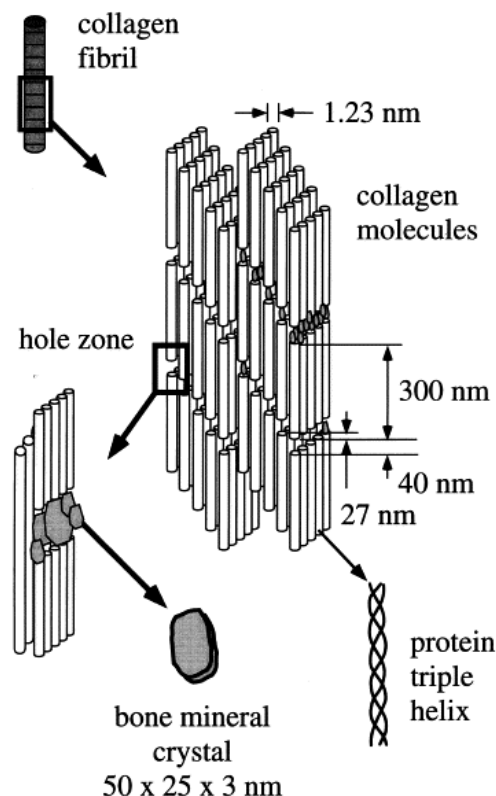


Figura 3: Diagramma schematico che illustra l'assemblaggio di una fibrilla di collagene e cristalli minerali ossei [7].

- **Livello 2: Fibrilla di collagene mineralizzata (Struttura Nanoscopica)**

Le fibrille di collagene mineralizzate sono l'unità fondamentale della matrice ossea, hanno un diametro di circa 80-100 nm. Sono composte da una serie regolare e sfalsata di molecole di collagene disposte parallelamente tra loro (da 200 a 800), legate a cristalli di idrossiapatite [9].

La mineralizzazione inizia negli spazi testa-coda tra le molecole di collagene (40 nm), con i cristalli di idrossiapatite che si formano in questi buchi e successivamente si espandono nelle zone di sovrapposizione (27nm) [7]. Durante la crescita, i cristalli comprimono le molecole a tripla elica riducendo la distanza media tra loro di 1,5 nm a 1,1 nm. All'inizio la matrice ospite limita la crescita dei cristalli, mantenendoli separati lungo la lunghezza della fibrilla; alla fine i cristalli si uniscono per formare fogli estesi. Tale composizione conferisce una notevole resistenza e rigidità. La struttura delle fibrille mineralizzate è caratterizzata da un modello di bande di 68 nm, visibile con tecniche avanzate come microscopia elettronica a trasmissione (TEM) e la tomografia elettronica 3D [8].

- **Livello 3: Fibre di collagene (Struttura Nanoscopica)**

A livello nanoscopico, le fibrille di collagene mineralizzate si dispongono in fasci o matrici, allineate lungo la loro lunghezza, e si aggregano per formare **fibre di collagene** resistenti e flessibili. Le fibre di collagene sono quindi una rete tridimensionale che forma la base della struttura ossea, hanno diametro da 100 a 2000 nm. Le fibrille di collagene mineralizzate possono essere allineate solo rispetto ai loro assi, creando una struttura con disposizione più varia, oppure anche rispetto agli strati cristallini formando una struttura compatta, come mostrato in Figura 4.d.

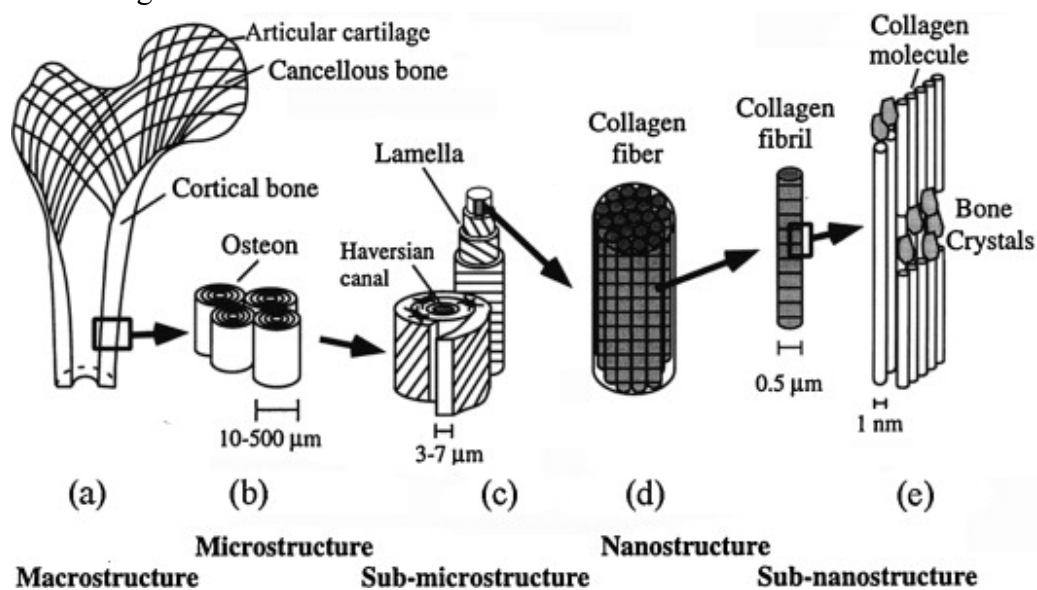


Figura 4: Organizzazione strutturale gerarchica dell'osso che varia a diverse scale di lunghezza [3].

- **Livello 4: Tipologie strutturali (Struttura Sub - Microscopica)**

Al quarto livello, come si nota in Figura 2, esistono 4 tipologie di strutture ossee a seconda di come si dispongono le fibre di collagene, ossia fasci/matrici di fibrille di collagene mineralizzate e cambiano nel corso della vita di un uomo [8].

- *Struttura a matrice parallela*: Le fibre di collagene sono organizzate in fasci paralleli all'asse lungo dell'osso ma non disposti in sistemi lamellari. Questo tessuto osseo non lamellare a fibre parallele è tipico di anfibi, pesci e uccelli.
- *Struttura a matrice radiale*: Le fibre di collagene sono disposte su un piano perpendicolare all'asse lungo dell'osso con orientamenti casuali.
- *Struttura a fibra intrecciata*: Le fibre di collagene con diametri variabili sono disposte in modo irregolare con orientamenti casuali e poco compatti. Questa configurazione, più elastica e meno resistente, è tipica del *tessuto osseo fibroso*, noto anche come osso a fibre intrecciate. Questo tipo di osso immaturo si trova nei neonati e durante la guarigione delle fratture e una volta formato viene rapidamente riassorbito e sostituito con il tessuto osseo lamellare, più resistente e organizzato.
- *Struttura lamellare*: Le fibre di collagene sono organizzate in fasci paralleli regolari disposti in strati alternati formando le **lamelle**. Nei sottostrati le fibre hanno orientamenti diversi, sono ruotate progressivamente, ciò conferisce resistenza meccanica all'osso. Le lamelle, con uno spessore di circa 3.7 μm , si dispongono intorno al canale Haversiano, formando i sistemi osteonici tipici del *tessuto osseo lamellare*. Questo tipo tessuto è un osso maturo, ha una struttura leggera e molto resistente, capace di resistere a diversi tipi di stress meccanico ed è il principale costituente del tessuto osseo nell'adulto. Si suddivide ulteriormente in corticale (compatto) e trabecolare (spugnoso) [9].

- **Livello 5: Osteoni e trabecole (Struttura Microscopica)**

Osteoni

Gli osteoni, o sistemi Haversiani, rappresentano l'unità strutturale fondamentale dell'osso corticale umano adulto. Corrono paralleli all'asse lungo dell'osso, sono disposti uno in fianco all'altro e immersi nel tessuto interstiziale. Queste strutture cilindriche hanno un diametro di circa 200-250 μm ed una lunghezza che varia da 1 a 3 mm [7], [8].

L'osteone è formato da 10-15 lamelle avvolte in strati concentrici che formano strutture cilindriche attorno ad un canale centrale, chiamato canale Haversiano, il quale contiene un vaso

sanguigno. Il canale Haversiano ha un diametro di circa 50 μm e fornisce nutrimento e supporto agli osteociti [9].

Oltre ai canali Haversiani, esistono anche canali trasversali o obliqui di diametro simile, detti canali di Volkmann. Questi ultimi connettono i canali Haversiani tra loro e con la superficie esterna dell'osso, facilitando la distribuzione di nutrienti e l'eliminazione dei rifiuti [5].

I canalicoli sono minuscoli canali che connettono le lacune (piccole cavità contenenti osteociti) tra loro e con il canale Haversiano. La struttura interconnessa di lacune, canalicoli ossei e canale di Volkmann costituisce un sistema continuo di cavità all'interno dell'osso, che consente il trasporto delle sostanze metaboliche tra il sangue che scorre nei vasi contenuti nel tessuto e le cellule. I canalicoli hanno un diametro di circa 0,1-0,2 μm , mentre le lacune misurano circa 10-20 μm di lunghezza e 5-10 μm di larghezza [3], [8].

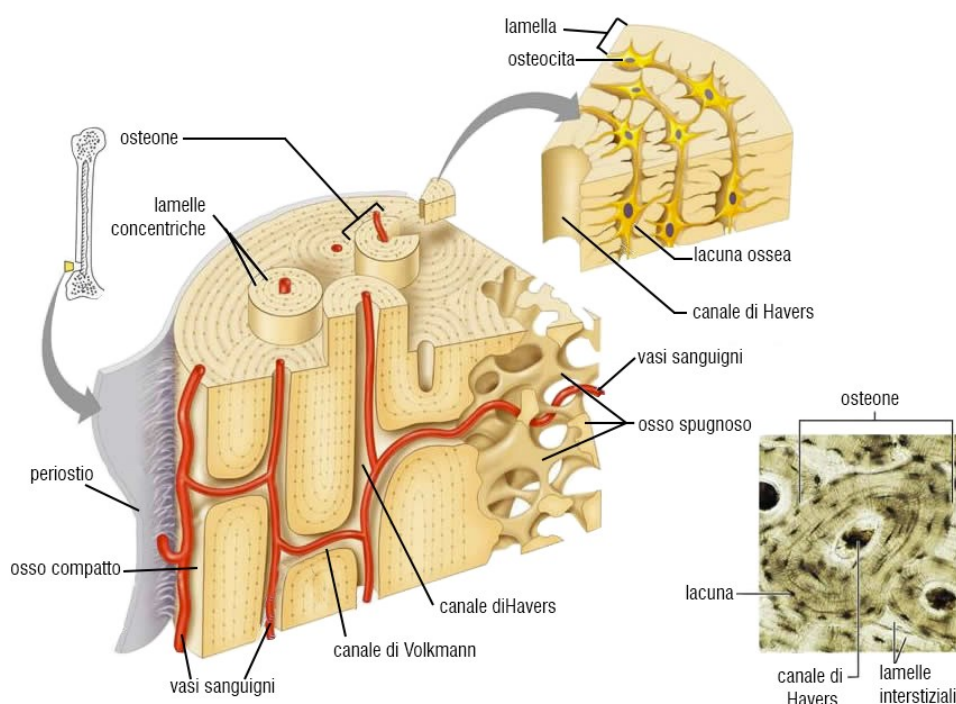


Figura 5: Struttura dell'osso corticale: l'osteone.

Trabecole

L'osso spongioso, privo di sistemi Haversiani, presenta una rete tridimensionale composta da trabecole interconnesse in una serie di combinazioni [7]. Le trabecole sono sottili bastoncini e placche ossee, con spessori variabili tra 100-300 μm e diametri di circa 50 – 300 μm , intervallate da spazi pieni di midollo osseo che variano tra 500 e 1500 μm . Le trabecole, orientate secondo le direzioni delle sollecitazioni cui l'osso è sottoposto, si intersecano formando cavità midollari contenenti midollo osseo. Gli osteociti nell'osso trabecolare sono distribuiti in maniera disomogenea, con forme e dimensioni variabili [6].

Livello 6: Osso corticale e Osso trabecolare (Struttura Macroscopica)

Su scala macroscopica, l'osso si distingue in corticale (compatto) e spongioso (trabecolare) ciascuno con caratteristiche distintive [10].

I due si differenziano principalmente per la loro densità, porosità e organizzazione strutturale. La *frazione volumetrica* (V_f) è il rapporto tra il volume del tessuto osseo effettivo e il volume totale del campione.

La *densità del tessuto* (ρ_{tiss}) è definita come il rapporto tra massa e volume del tessuto osseo reale, mentre la *densità apparente* (ρ_{app}) è il valore ottenuto considerando la massa del tessuto osseo rispetto al volume complessivo del campione, incluso quello associato ai canali vascolari e alla porosità di livello superiore. La frazione volumetrica, la densità dei tessuti e le densità apparenti sono correlate come segue [5]: $\rho_{app} = \rho_{tiss} V_f$

L'osso corticale è più denso, compatto e meno poroso, con una struttura organizzata e regolare, mentre l'osso spongioso è più leggero, poroso e ha una struttura interconnessa meno regolare. La densità del tessuto osseo è circa $2,0 \text{ g/cm}^3$ per entrambi i tipi di osso, mentre la densità apparente varia tra i due tipi di osso per effetto della presenza di vuoti tra le trabecole [5],[7].

Le differenze strutturali tra osso corticale e trabecolare si rispecchiano nelle loro proprietà meccaniche, che risultano fortemente influenzate dal rapporto pieni-vuoti della struttura trabecolare [5].

Tabella 1: Caratteristiche dell'osso Corticale e Trabecolare a confronto

Osso compatto		Osso trabecolare
Collagene + minerale	Materiali	Collagene + minerale
5-30%	Porosità	30-90%
$1.8-2.0 \text{ g/cm}^3$	Densità (ρ)	$1.8-2.0 \text{ g/cm}^3$
$1.4-2.0 \text{ g/cm}^3$	Densità apparente (ρ_a)	$0.18-1.4 \text{ g/cm}^3$
10-20 GPa	Modulo elastico (E)	$\propto \rho_a^2$
150-200 MPa	Sforzo a rottura (σ_r)	$\propto \rho_a^2$
0.5-3.0%	Deformazione a rottura (ϵ_r)	5-10%

Osso Corticale

L'osso corticale, noto anche come osso compatto, costituisce l'80% della massa ossea totale, forma una copertura intorno alla cavità midollare centrale e può essere osservato nel guscio esterno delle estremità del femore e nei densi strati esterni delle ossa piatte [7].

È caratterizzato da una struttura densa e compatta con bassa porosità, generalmente inferiore al 30% ed è fondamentale per fornire una resistenza meccanica elevata, necessaria per sopportare carichi pesanti [3].

Questo tipo di osso è costituito principalmente da osteoni, unità strutturali cilindriche caratterizzate da lamelle disposte circonferenzialmente attorno ai canali Haversiani, che vengono continuamente rimodellate. Questo processo di rimodellamento è cruciale per riparare le microfratture e mantenere la robustezza dell'osso, migliorando nel tempo le sue proprietà meccaniche. Tale organizzazione conferisce all'osso corticale un modulo di Young elevato, rendendolo capace di sopportare sollecitazioni meccaniche, fornire supporto strutturale e protezione al midollo osseo [5].

La porosità corticale, data dai canali Haversiani, oscilla tra il 3% e il 12% ma può aumentare fino al 30% con l'età. La densità corticale apparente è generalmente più alta di quella trabecolare, vale circa $1,85 \text{ g/cm}^3$ [10].

Osso Trabecolare

L'osso trabecolare, noto anche come osso spugnoso o osso cancelloso, costituisce il restante 20% della massa ossea totale. È localizzato principalmente alle estremità delle ossa lunghe, all'interno delle vertebre e nelle ossa piatte come il bacino e il cranio. Questo tipo di osso si trova nelle regioni sottoposte a carichi minori ma provenienti da diverse direzioni, con le trabecole orientate localmente lungo la direzione di maggiore sollecitazione [5].

L'osso trabecolare ha una struttura a nido d'ape interconnessa, composta da trabecole e cavità riempite di midollo osseo. Questa configurazione crea una rete leggera, altamente porosa con bassa densità, ma comunque resistente. Le trabecole sono orientate lungo le linee di stress meccanico, il che permette all'osso trabecolare di fornire supporto strutturale e distribuire i carichi in modo efficiente, proteggendo le ossa da fratture [7].

La porosità dell'osso trabecolare oscilla tra il 70% al 95% e la densità apparente varia significativamente da $0,10 \text{ g/cm}^3$ nella colonna vertebrale a $0,60 \text{ g/cm}^3$ nel femore [10].

L'osso trabecolare pur avendo un modulo di Young inferiore all'osso corticale, è capace di assorbire le forze di compressione e adattarsi alle variazioni delle sollecitazioni meccaniche. Inoltre gli spazi trabecolari sono il principale sito di produzione delle cellule del sangue, fondamentali per la salute del sangue e del sistema immunitario. Le cellule vengono nutrite tramite canalicoli dei vada presenti nel midollo osseo contenuto nelle cavità tra le trabecole. Anche l'osso trabecolare è soggetto a un continuo rimodellamento, che include il danno e la riparazione delle singole trabecole. È un processo essenziale per mantenere la salute ossea e rispondere alle variazioni delle forze meccaniche [5].

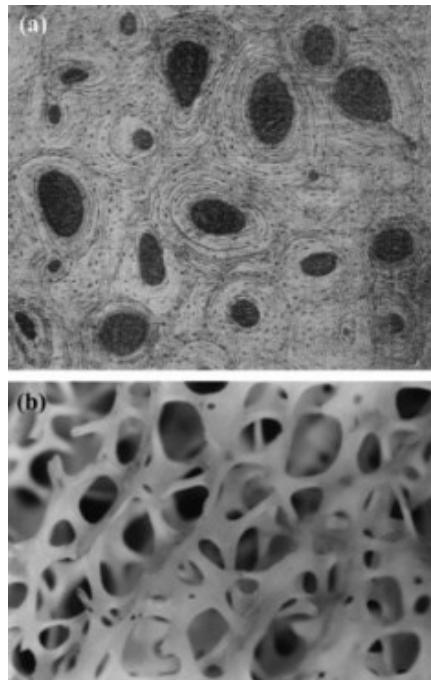


Figura 6: (a) micrografia ottica della sezione trasversale dell'osso corticale di femore umano; (b) Immagine SEM dell'osso spongioso [3].

- **LIVELLO 7: Osso intero**

La combinazione di questi due tipi di tessuto osseo permette alle ossa di possedere elevata resistenza meccanica, grazie alla densità dell'osso trabecolare, mantenendo la leggerezza, grazie alla porosità delle ossa trabecolari. Le ossa sono cave all'interno, non solo per contenere il midollo osseo, ma anche per ridurre il peso complessivo aumentando la resistenza meccanica. Questa organizzazione strutturale è essenziale per le varie funzioni biomeccaniche del corpo umano [3],[5].

Dunque l'iterazione tra le componenti crea un materiale composito, con morfologia geometrica tridimensionale, con proprietà ottimali per sostenere carichi e resistenze alle fratture [7].

1.1.3) Comportamento Meccanico del Tessuto Osseo

Dopo aver introdotto la struttura complessa e gerarchica che sta alla base del tessuto osseo, andremo ad analizzare come questa ne determina il comportamento meccanico.

A *livello macroscopico*, vengono eseguiti test di carico assiale (compressione o tensione), flessione o torsione, a velocità di carico monotoniche o cicliche, per valutare il comportamento meccanico dell'osso intero durante la deformazione elastica e il cedimento. Questi test forniscono una panoramica delle *proprietà meccaniche estrinseche* dell'osso, influenzate da dimensione, forma e geometria complessiva dell'osso, oltre che dalle condizioni di carico (orientamento, durata e velocità di applicazione) a cui è sottoposto; includono: rigidità strutturale, carico massimo, lavoro di frattura, carico di frattura [11].

A *livello tissutale*, gli stessi test eseguiti su campioni di osso corticale e trabecolare consentono di valutare le *proprietà meccaniche intrinseche* del tessuto osseo quali: resistenza (capacità dell'osso di sopportare carichi senza cedere o rompersi), tenacità (capacità del materiale di assorbire energia e deformarsi plasticamente prima di rompersi), duttilità (capacità del materiale di subire deformazioni permanenti prima della rottura), fornendo informazioni cruciali per la diagnosi e il trattamento di patologie ossee. Queste proprietà dipendono dalla composizione chimica e dalla microstruttura interna (orientamento di osteoni e trabecole), dalla densità apparente e dalla frazione volumetrica ossea (BV /TV: bone volume / total volume, descrive la quantità effettiva di osso presente rispetto al volume totale di interesse, includendo parte solida e vuoti); includono [11]:

- **Modulo elastico** (Misura la rigidità del materiale osseo, ovvero la resistenza del materiale alla deformazione elastica sotto un carico)
- **Sforzo Ultimo** (Massimo sforzo che il materiale può sopportare prima di subire una deformazione permanente o una rottura)
- **Deformazione ultima** (Massima deformazione che il materiale può sopportare prima di rompersi)
- **Punto di Snervamento** (Punto di inizio della deformazione plastica, cioè quando la deformazione diventa permanente anche dopo la rimozione del carico)

Ai fini dell'analisi del comportamento meccanico di un segmento osseo andremo a considerare le proprietà meccaniche dell'osso intero e successivamente analizzeremo separatamente il tessuto osseo corticale e trabecolare (1.1.3.1; 1.1.3.2), note le loro differenze microstrutturali.

Il tessuto osseo presenta un comportamento fragile con deformazioni limitate quando sottoposto a trazione, mentre il dominio elastico - lineare si estende fino alla rottura. È importante notare l'asimmetria delle proprietà meccaniche tra trazione e compressione: l'osso mostra una maggiore resistenza a compressione e una maggiore rigidità a trazione. L'osso, per via della sua struttura, è un materiale anisotropo: le proprietà meccaniche variano a seconda della direzione delle sollecitazioni applicate. Mostra anche proprietà viscoelastiche, soprattutto a lungo termine, con un comportamento diverso a seconda della velocità di applicazione del carico. Inoltre con l'aumentare dell'età, diventa meno deformabile e più fragile, anche se la resistenza e la rigidità restano comparabili tra soggetti giovani ed adulti [12].

L'osso corticale e l'osso trabecolare, pur svolgendo funzioni complementari nel corpo umano, presentano comportamenti meccanici distinti, a causa delle loro diverse proprietà microstrutturali. Dalla curva sforzo-deformazione in Figura 7 risulta evidente come i due tipi di tessuto osseo rispondano in maniera significativamente diversa ad uno stimolo meccanico in compressione. Per l'osso corticale, si osserva una pendenza iniziale ripida della curva, indicativa di un modulo elastico molto elevato, ed una ridotta duttilità, manifestando un comportamento fragile. Al contrario, l'osso trabecolare presenta una rigidità inferiore e una maggiore duttilità, con una elevata deformazione a rottura. Infatti la curva mostra una regione elastico-lineare estesa che raggiunge deformazioni fino a circa il 5%, prima di entrare in un comportamento plastico dovuto al compattamento delle trabecole. In sintesi l'osso trabecolare è più duttile ma meno rigido e necessita dell'osso corticale, più rigido e fragile, per resistere efficacemente alle sollecitazioni meccaniche [13].

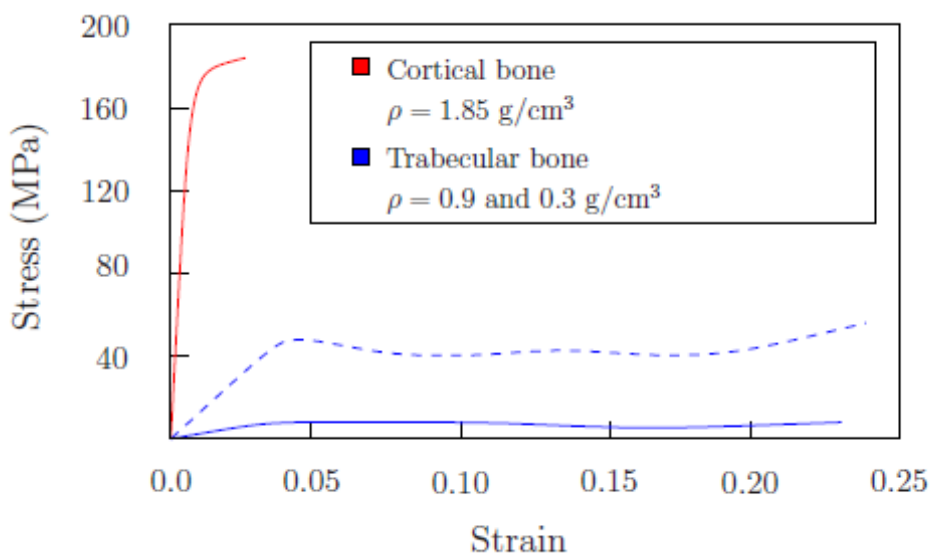


Figura 7: Curva sforzo-deformazione per osso corticale (linea rossa) e trabecolare (linea blu) [13].

1.1.3.1.) PROPRIETÀ MECCANICHE DELL'OSSO CORTICALE

Il tessuto osseo corticale può essere pensato come un materiale composito, i cui componenti principali sono idrossiapatite e collagene. I cristalli di apatite, con un modulo elastico di 165 GPa conferiscono elevata resistenza e rigidità; al contrario il collagene, con modulo elastico pari a 2 GPa, aumenta la duttilità dell'osso. Di conseguenza, all'aumentare del contenuto minerale migliora la rigidità del tessuto, mentre con l'aumento del collagene migliora il comportamento post-elastico dell'osso corticale incrementando la capacità di assorbire gli urti, quindi la tenacità del materiale [5].

L'osso corticale, ha una struttura anisotropa, determinata dall'orientamento degli osteoni disposti parallelamente all'asse longitudinale dell'osso. Le proprietà del tessuto osseo corticale vengono influenzate da diversi fattori come l'orientamento del carico, età del soggetto, velocità e durata di applicazione del carico [3].

- **Anisotropia**

La struttura dell'osso corticale determina proprietà meccaniche diverse, che variano significativamente a seconda della direzione di carico applicato: longitudinale, radiale e circonferenziale. L'osso corticale è più forte e rigido quando il carico è applicato longitudinalmente all'asse dell'osso, rispetto alle direzioni trasversali, poiché la direzione longitudinale è quella di maggior sviluppo di stati tensionali dovuti alle differenti sollecitazioni che insistono tipicamente sulle ossa lunghe come femore e tibia. Le prove di trazione condotte su campioni di osso corticale umano di tibia confermano la differenza significativa del modulo elastico nella direzione longitudinale (18.4 GPa) e nelle direzioni radiali (6.91 GPa) e circonferenziali (8.51 GPa) [14].

L'osso corticale può essere modellato come materiale trasversalmente isotropo, dove le proprietà in direzione radiale e circonferenziale sono considerate uguali a causa dei loro valori confrontabili e inglobate nel termine trasversale, mentre la direzione longitudinale mostra valori di modulo elastico significativamente superiori [15].

L'osso corticale presenta un comportamento differente a trazione e a compressione, come mostrato in Figura 8. L'osso caricato in direzione longitudinale, mostra una deformazione a rottura del 3% e una deformazione di snervamento 0.7%, inferiori rispetto alla compressione, dove la deformazione a rottura è dell'1.5% e la deformazione di snervamento dell'1% [3]. Questo comportamento plastico con un punto di snervamento ben definito, è evidente in direzione longitudinale, mentre in direzione trasversale l'osso è marcatamente più fragile.

Inoltre dal grafico è evidente una maggiore resistenza in compressione rispetto alla trazione [13]. Questa caratteristica è essenziale per comprendere come l'osso supporta il peso corporeo, resiste alle forze esterne e risponde alle varie sollecitazioni meccaniche a cui è sottoposto durante il corso della vita di un individuo [5].

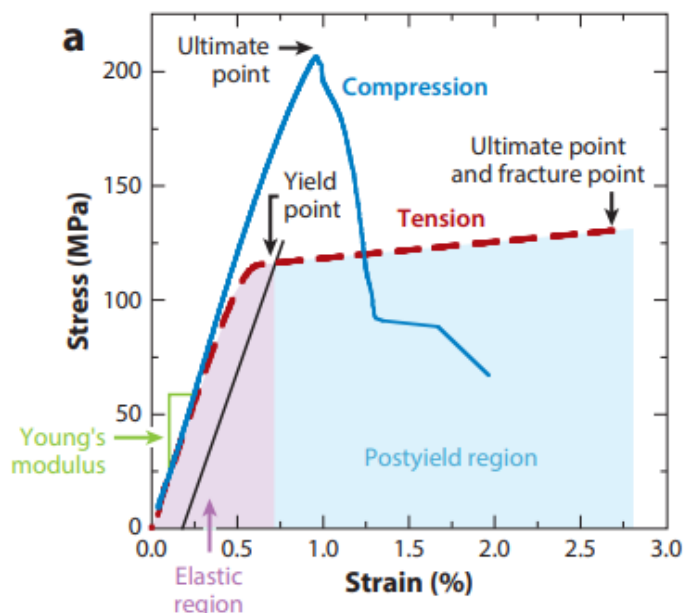


Figura 8: Andamento della tensione in funzione della deformazione in compressione e in trazione nell'osso corticale in direzione longitudinale [15].

Tabella 2: Proprietà meccaniche dell'osso corticale femorale in relazione all'orientamento del carico rispetto all'asse osseo [5],[3],[13],[15].

Tipo di Test	Resistenza alla Rottura (MPa)	Deformazione Ultima a Rottura (%)	Deformazione di snervamento (%)	Modulo Elastico (GPa)
Trazione Longitudinale	124-174	1.4 – 3.1	0.7	17.9- 20
Compressione Longitudinale	170-205	1.85-2.6	1.0	17.9- 20
Trazione Trasversale	49-53	0.7	0.4	10.1-11.5
Compressione Trasversale	131-133	2.8	1.1	10.1-11.5
Taglio Longitudinale	54-68	N/A	N/A	3.0-3.3

- **Effetti dell'invecchiamento**

Con l'avanzare dell'età, si registra un aumento della porosità e una diminuzione del contenuto proteico e della densità ossea, portando ad indebolimento della struttura ossea che diventa ulteriormente fragile [16].

Le proprietà meccaniche dell'osso corticale, tra cui la resistenza alla rottura e la deformazione ultima, diminuiscono con l'età, mentre aumenta la suscettibilità alle fratture. Questo fenomeno è dovuto a diversi fattori legati all'invecchiamento del tessuto osseo [16].

In particolare come si può osservare nella Figura 9, la resistenza alla rottura diminuisce di circa il 2% per decennio a partire dai 30 anni, contribuendo all'aumento della fragilità, mentre la deformazione ultima diminuisce del 10% per decennio. In giovane età è circa 5%, sopra gli 80 anni scende all'1%. Il modulo elastico tende a rimanere costante fino ai 55 anni, poi si riduce ma non in modo significativo [5].

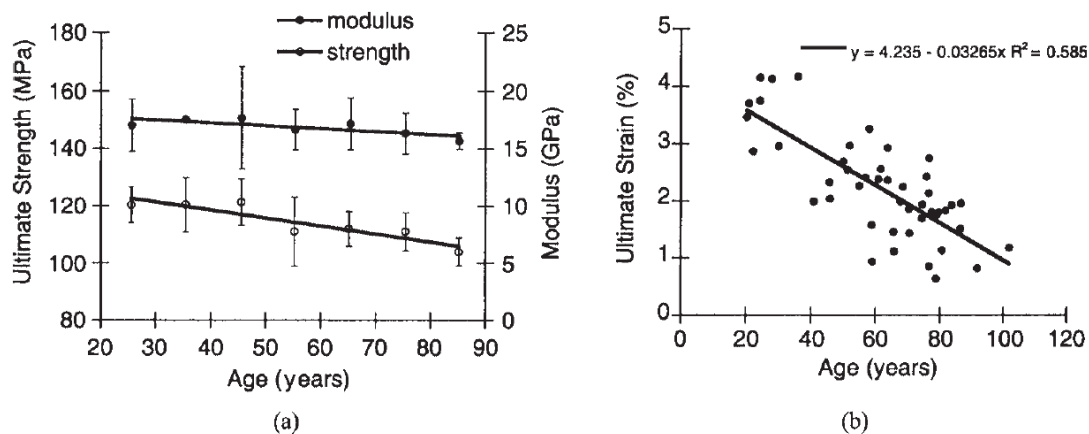


Figura 9: (a) Resistenza alla rottura a trazione e modulo elastico, (b) Deformazione ultima a trazione [5]

- **Effetti della velocità e della durata di applicazione del carico**

L'osso corticale, essendo un materiale viscoelastico, risponde in modo diverso a seconda della velocità di applicazione del carico. A velocità molto basse di deformazione, gli effetti della velocità di deformazione sono modesti. L'osso corticale esibisce proprietà elastiche con una regione elastica lineare seguita da una regione plastica piatta. Le curve sforzo-deformazione in Figura 10 mostrano infatti una deformazione di circa lo 0,8% a basse velocità, indicando che l'osso è tenace e può sopportare deformazioni significative prima della rottura. Con l'aumentare della velocità di deformazione (da 0.1 – 1-0 %/s a 10%/s), l'osso corticale diventa più rigido ma anche più fragile e la deformazione ultima diminuisce. Il modulo elastico e la resistenza

dell'osso aumentano moderatamente con l'incremento della velocità di deformazione fino a sei ordini di grandezza [3],[5],[17].

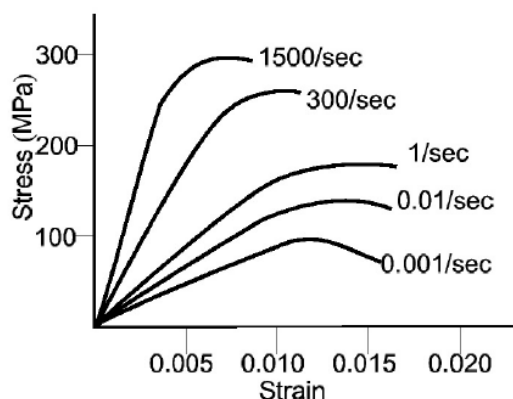


Figura 10: Curve sforzo-deformazione per osso compatto umano con diverse velocità di deformazione [17]

L'effetto della durata di applicazione di carico si può valutare con prove di creep. Quando l'osso viene caricato fino al punto di snervamento e poi scaricato, si sviluppano deformazioni permanenti. Se l'osso corticale viene caricato ripetutamente oltre il punto di snervamento, si riducono resistenza e rigidità, causando microdanni, che possono derivare dal distacco degli aggregati di idrossiapatite o dallo scorrimento tra le lamelle ossee [5].

La frattura si propaga generalmente in direzione perpendicolare rispetto alla trazione, ortogonale agli osteoni, con maggiori possibilità di deviare rispetto a una cricca longitudinale. Questo comportamento indica la natura isotropica dell'osso, che ha una maggiore resistenza in direzione longitudinale rispetto alla trasversale [18].

1.1.3.2.) PROPRIETÀ MECCANICHE OSSO TRABECOLARE

L'osso trabecolare, noto anche come osso spugnoso, è un materiale biologico con proprietà meccaniche distintive che lo rendono fondamentale per molte funzioni biomeccaniche. È caratterizzato da una struttura reticolare altamente porosa che conferisce proprietà meccaniche complesse essenziali per comprendere il suo comportamento sotto carichi fisiologici e patologici.

L'osso trabecolare mostra un comportamento elastico non lineare anche a piccole deformazioni. Tuttavia, spesso è modellato come elastico lineare fino al cedimento, che avviene tipicamente a circa l'1% di deformazione. Dopo il cedimento, l'osso trabecolare può sostenere grandi deformazioni, fino al 50%, mantenendo la sua capacità di carico. Questo permette all'osso trabecolare di assorbire una notevole quantità di energia durante il cedimento meccanico.

Di seguito verranno esaminate in dettaglio le proprietà meccaniche dell'osso trabecolare in termini di resistenza, rigidità e deformazioni, influenzate da diversi fattori quali l'anisotropia dovuta alla disposizione orientata delle trabecole, la densità ossea, l'età del soggetto, la velocità e durata di applicazione del carico. La comprensione di questi aspetti è fondamentale per valutare come l'osso risponda a diversi stimoli meccanici e come le sue proprietà possano cambiare in condizioni di invecchiamento o malattia. Infine analizzeremo i meccanismi di danno e frattura, fattori cruciali per prevedere il comportamento dell'osso sotto carichi ciclici e dinamici, contribuendo a una migliore comprensione dei rischi associati a fratture e lesioni ossee [5].

- **Anisotropia**

L'osso trabecolare presenta un comportamento anisotropo, ovvero le sue proprietà meccaniche variano in base alla direzione del carico e all'orientamento delle trabecole. L'anisotropia è una conseguenza diretta della sua struttura interna porosa, costituita da una rete tridimensionale di trabecole disposte, secondo la legge di Wolff, lungo le direzioni delle tensioni principali. Questa disposizione permette di ottimizzare la resistenza alle forze a cui l'osso è sottoposto, ripartendo i carichi dalle epifisi al tessuto corticale circostante [19].

Le proprietà elastiche e di resistenza variano significativamente a seconda della direzione del carico, con una maggiore resistenza e rigidità nelle direzioni dove le trabecole sono più densamente allineate. La resistenza longitudinale (parallela alla direzione principale delle trabecole) è tipicamente superiore alla resistenza trasversale (perpendicolare alla direzione

principale delle trabecole). Il modulo di Young dell'osso trabecolare varia tra 10 e 3000 MPa, a seconda della porosità, dell'architettura trabecolare e di altri fattori analizzati nei sottocapitoli seguenti. La resistenza dell'osso trabecolare è fortemente correlata al modulo di Young ed è generalmente inferiore di due ordini di grandezza rispetto a quest'ultimo, con valori compresi tra 0.1 e 30 MPa. Per questi motivi l'osso trabecolare può essere modellato come materiale ortotropo, caratterizzato da proprietà diverse lungo le tre direzioni ortogonali principali [5],[19].

Le proprietà meccaniche dell'osso trabecolare differiscono notevolmente tra trazione, compressione e taglio. In generale, sono migliori in compressione rispetto alla trazione, ma la curva tensione-deformazione dell'osso trabecolare, illustrata in Figura 11, non ha un punto di snervamento ben definito. Le deformazioni di snervamento e le tensioni di snervamento sono maggiori in compressione rispetto alla trazione per ciascun sito anatomico, indicando una maggiore capacità di resistere agli urti o di assorbire energia senza rompersi. Le deformazioni ultime sono tipicamente comprese tra 1.0 e 2,5% [5],[19].

La resistenza dell'osso trabecolare è massima in compressione e minima in taglio, ed è variabile non solo in funzione della direzione del carico ma anche dalla densità apparente.

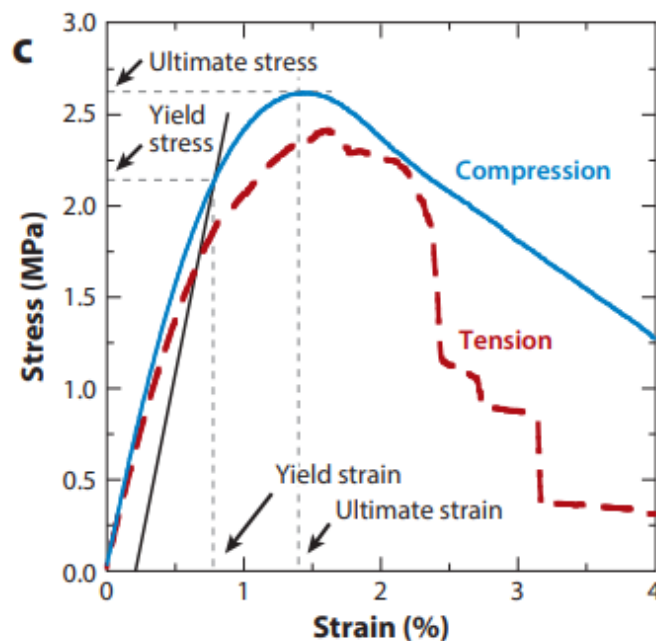


Figura 11: Andamento della tensione in funzione della deformazione in compressione e in trazione nell'osso trabecolare [15].

- **Effetti della Densità apparente**

L'osso trabecolare mostra una dipendenza significativa delle sue proprietà meccaniche dalla densità apparente. Il modulo di Young e la resistenza mostrano una correlazione positiva: un aumento della densità apparente comporta un loro incremento. Le deformazioni di snervamento in compressione mostrano una debole correlazione positiva con la densità apparente, diventando meno evidente nei campioni più densi. Al contrario, le deformazioni di snervamento in trazione risultano indipendenti dalla densità [19].

La Figura 12 fornisce una comprensione dettagliata delle proprietà meccaniche anisotrope dell'osso trabecolare, evidenziando l'importanza della densità apparente e della direzione del carico nella determinazione della sua resistenza. Dai tre grafici ortotropo si nota che la tensione di snervamento aumenta con l'aumento della densità apparente e la resistenza longitudinale (tratteggiata) è maggiore della resistenza trasversale (tratteggiata corta), nel caso di taglio queste differenze sono meno pronunciate. I rapporti di anisotropia della resistenza, come il SAR (rapporto di resistenza longitudinale rispetto alla trasversale) variano con la densità. In compressione, il SAR decresce con l'aumento della densità, indicando che la differenza tra resistenza longitudinale e trasversale diminuisce all'aumentare della densità. Al contrario, in tensione il SAR mostra un leggero aumento con l'aumento della densità, suggerendo che la differenza tra resistenza longitudinale e trasversale diventa più evidente a densità più elevate. Infine il SAR in taglio rimane relativamente costante e basso rispetto agli altri due casi, suggerendo una minore anisotropia nella resistenza al taglio [20].

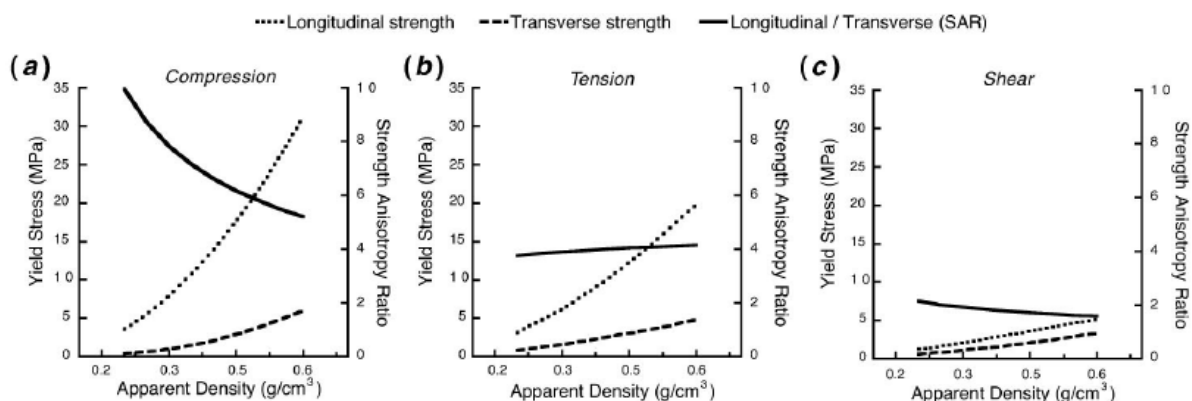


Figura 12: Tre grafici che correlano la densità apparente dell'osso trabecolare tibiale bovino con la tensione di snervamento sotto diverse condizioni di carico: compressione, tensione, taglio. Inoltre viene riportato il rapporto di anisotropia della resistenza (SAR) tra la direzione longitudinale e trasversale all'orientamento trabecolare principale [20].

- **Effetti dell'età**

L'età ha un impatto significativo sulle proprietà meccaniche dell'osso trabecolare, comportando una generale riduzione della resistenza e del modulo elastico con l'avanzare degli anni. Studi indicano che la resistenza dell'osso trabecolare diminuisce di circa il 10% per decade, fenomeno illustrato nella Figura 13, che mostra la dipendenza dello sforzo ultimo dall'età per l'osso trabecolare della vertebra e del femore umano [5].

La riduzione della densità ossea e le modificazioni della microstruttura trabecolare, dovute a invecchiamento e patologie, sono le principali cause di questa diminuzione, e conseguono una minor capacità di snervamento dell'osso trabecolare e un aumento del rischio di fratture e danni strutturali [5].

Con l'avanzare dell'età, la densità ossea diminuisce, rendendo il tessuto più cedevole e deformabile sotto carico. Inoltre, l'attività di rimodellamento osseo, in cui il tessuto vecchio viene rimosso dagli osteoclasti e sostituito da nuovo tessuto formato dagli osteoblasti, diventa meno efficiente. L'attività degli osteoclasti tende a superare quella degli osteoblasti, portando a una perdita di massa ossea. L'osteoporosi è una patologia che aggrava ulteriormente questi effetti, caratterizzata da un'attività di riassorbimento osseo persistente e dominante rispetto alla neoformazione. Questo provoca una riduzione della quantità di minerali nelle ossa e un'aumentata porosità, che a sua volta riduce significativamente il modulo elastico dell'osso. A livello microstrutturale, le trabecole diventano più sottili e distanti, aumentando l'anisotropia e riducendo la resistenza meccanica complessiva [19].

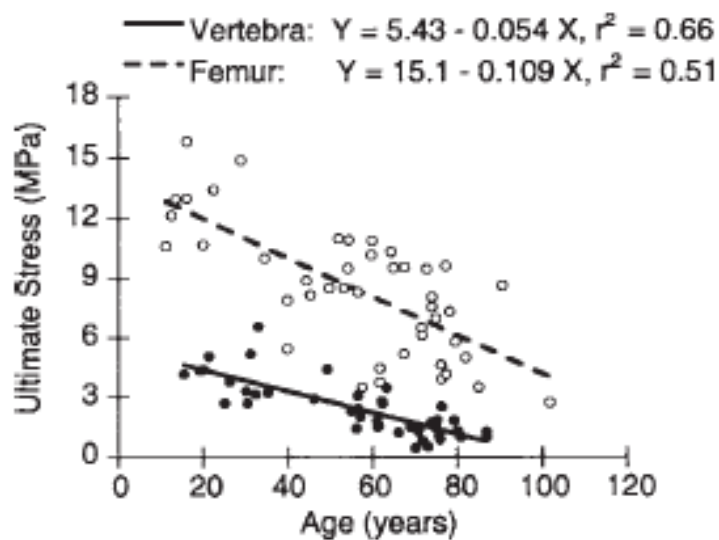


Figura 13: Dipendenza dello sforzo ultimo dall'età per l'osso trabecolare della vertebra e del femore umano. Per entrambi i siti anatomici, la forza diminuisce di circa il 10% ogni decennio [5].

- **Effetti della velocità e della durata di applicazione del carico**

Le proprietà meccaniche dell'osso trabecolare non sono statiche ma variano in funzione della velocità e della durata di applicazione del carico, mostrando fenomeni viscoelastici, creep e fatica, che influenzano la resistenza e il modulo di rigidezza dell'osso [5].

Le fratture dell'osso trabecolare possono avvenire attraverso due principali meccanismi: il superamento del limite elastico e l'accumulo progressivo di danni da fatica per carichi ciclici.

La viscoelasticità dell'osso porta ad una variazione della sua rigidità e resistenza con la velocità di deformazione: carichi applicati rapidamente possono aumentare leggermente la resistenza, mentre carichi costanti possono causare un rilassamento delle tensioni attraverso un fenomeno di creep, che porta ad una deformazione progressiva e potenzialmente a fratture. Quando l'osso trabecolare è sottoposto a compressione oltre il suo limite elastico, sviluppa deformazioni permanenti, perdendo rigidità [5]. Inoltre, la fatica, intesa come la capacità di resistere a carichi ciclici ripetuti, provoca un accumulo di danni, che diminuisce la rigidezza e porta alla formazione e propagazione di microfessure, aumentando il rischio di fratture [20].

Queste microfratture possono manifestarsi sotto forma di singole fratture trabecolari o di collasso della struttura trabecolare, con un rischio che cresce con l'età e l'esposizione ai carichi ciclici. In particolare, molte fratture cliniche, specialmente nella colonna vertebrale, possono risultare da deformazioni permanenti accumulate nel tempo, anche in assenza di eventi traumatici evidenti. Questo fenomeno sottolinea come carichi sub-elastici ripetuti possano indurre deformazioni cumulative, culminando in fratture clinicamente rilevanti [20].

La riparazione delle singole trabecole è parte del processo fisiologico di rimodellamento osseo, che ottimizza continuamente la struttura ossea in termini di peso e resistenza. Pertanto, comprendere i meccanismi di danno e frattura dell'osso trabecolare è cruciale per migliorare la diagnosi e il trattamento delle condizioni ossee degenerative, specialmente nelle persone anziane o affette da osteoporosi. Approfondire la ricerca su questi aspetti è cruciale per lo sviluppo di interventi mirati a ridurre il rischio di fratture e a migliorare la qualità della vita dei pazienti [20].

1.2) Scaffold

L'osteoporosi, una condizione patologica prevalente negli anziani, è caratterizzata da una riduzione della massa e della resistenza ossea che porta a un'elevata incidenza di fratture [21]. Questa malattia riduce il potenziale di riparazione delle fratture, complicando ulteriormente il processo di guarigione e generando significativi costi sanitari e prolungati tempi di recupero. A livello globale, l'osteoporosi provoca fratture ossee ogni 20 secondi in persone sopra i 50 anni [22]. Le ossa sono in grado di supportare carichi abituali per oltre 50 anni, tuttavia, in caso di frattura, è necessario un supporto adeguato fino al completo ripristino della struttura ossea [10],[21].

Una frattura può richiedere da alcuni mesi ad un anno per guarire completamente e tornare allo stato precedente al danno. Il processo di guarigione di una frattura ossea si svolge attraverso tre fasi principali. Nella prima fase, definita 'infiammatoria', che inizia immediatamente dopo la frattura e dura circa una settimana, le cellule staminali mesenchimali (MSC) e gli ematomi preparano l'area della frattura. Nella seconda fase, detta 'di riparazione', che dura circa 3-5 mesi, si forma il callo molle costituito da tessuti connettivi fibrosi e/o cartilaginei formati dalle MSC che differenziano in condrociti e altre cellule specifiche. Successivamente la cartilagine mineralizzata del callo molle viene riassorbita dagli osteoclasti e sostituita da osso intrecciato dagli osteoblasti, formando un callo duro, che ridà stabilità meccanica. Nella fase finale, denominata 'di rimodellamento', che può durare anni, l'osso intrecciato viene trasformato in osso lamellare, ripristinando la struttura e la funzionalità originale dell'osso [23].

La guarigione ossea richiede un'adeguata vascolarizzazione per fornire ossigeno e nutrienti necessari alla rigenerazione del tessuto osseo. In caso di frattura, l'ambiente circostante può diventare ipossico, ostacolando il processo di guarigione. Le MSC presenti nel midollo osseo iniziano a differenziarsi in cellule cartilaginee, formando un tessuto provvisorio. Contestualmente, nuovi vasi sanguigni penetrano nell'area ipossica, fornendo ossigeno e nutrienti, mentre la cartilagine si indurisce e si trasforma gradualmente in osso. Durante questo processo, alcune cellule cartilaginee possono morire, creando spazi vuoti che vengono poi riempiti da nuovi vasi sanguigni e cellule endoteliali staminali, formando una rete vascolare matura e funzionale [22].

La rigenerazione ossea è un processo complesso che richiede l'interazione coordinata tra vari elementi biologici e meccanici, quali cellule osteogeniche, una matrice osteoconduttiva, segnali osteoinduttivi, stabilità meccanica e vascolarizzazione [3].

Nel contesto clinico, i sostituti ossei sono utilizzati per riparare difetti ossei, aumentare il volume osseo e supportare la guarigione delle fratture. Ogni anno vengono effettuate oltre 2,2 milioni di procedure di innesto osseo a livello globale [24]. Ciò evidenzia la crescente domanda nella ricostruzione ortopedica chirurgica e la necessità di sviluppare delle tecnologie degli impianti ossei [3].

Il gold standard per la riparazione ossea rimane l'uso di innesti ossei autologhi, prelevati da un sito donatore del paziente stesso. Tuttavia, l'utilizzo di autotrapianti presenta limitazioni significative, tra cui la morbidità del sito donatore e la disponibilità limitata del materiale osseo. Gli allotrapianti offrono un'alternativa, ma comportano rischi di trasmissione di malattie e rigetto immunitario nell'organismo ricevente. Per superare queste limitazioni, e soddisfare la crescente domanda di impianti ortopedici, sono stati sviluppati **sostituti ossei sintetici**. La loro scelta dipende in gran parte dall'applicazione clinica e dalle esigenze biologiche e meccaniche ad essa associate [3], [24].

L'ingegneria dei tessuti propone l'uso di **scaffold biocompatibili**, popolati con cellule autogene, per fornire sostituti ossei e favorire la rigenerazione dei tessuti ossei danneggiati che non possono guarire spontaneamente [22].

Lo scaffold, o impalcatura, è una struttura tridimensionale utilizzata nell'ingegneria tissutale per fornire supporto temporaneo per le cellule e favorire la rigenerazione del tessuto osseo. Fungono da modello su cui le cellule possono attaccarsi, crescere e interagire tra loro e supportano la formazione della matrice extracellulare (ECM), che è cruciale per la struttura e la funzione del tessuto [10]. Questo avviene perché gli scaffold imitano l'ambiente naturale del tessuto in cui le cellule normalmente vivono, e ciò le aiuta a comportarsi in modo più fisiologico, migliorando la qualità della rigenerazione tissutale [22]. Inoltre gli scaffold forniscono supporto strutturale temporaneo al tessuto appena formato, che deve avere una certa resistenza e stabilità per sostituire efficacemente il tessuto osseo danneggiato o mancante. Dunque gli scaffold sono particolarmente importanti, in quanto guidano la formazione del nuovo osso in modo ordinato e funzionale, migliorando il successo dei trattamenti di rigenerazione ossea [10].

1.2.1) Caratteristiche degli scaffold:

La progettazione adeguata e ottimale degli scaffold si basa su tre fattori che devono essere bilanciati: comportamento biologico durante il processo di guarigione, il comportamento meccanico e il comportamento di degradazione [23].

Gli scaffold devono essere biodegradabili, possedere proprietà meccaniche adeguate e supportare la biologia cellulare per essere efficaci nella rigenerazione del tessuto osseo. Forniscono supporto meccanico e spazio per l'adesione, la proliferazione e la differenziazione cellulare, facilitando la formazione e la crescita dei tessuti [3].

Durante la crescita le cellule producono e secernono componenti della matrice extracellulare, come collagene e altri proteoglicani, che riempiono lo scaffold e iniziano a formare la nuova struttura tissutale. Man mano che il nuovo tessuto si forma, lo scaffold viene gradualmente degradato e riassorbito dal corpo, lasciando solo il tessuto rigenerato [22].

Pertanto sta diventando una priorità assoluta sviluppare scaffold con proprietà meccaniche simili a quelle del tessuto osseo nativo, biocompatibili per evitare risposte avverse e garantire l'integrazione con il tessuto ospite, e in grado di degradarsi a un tasso che consenta il rimodellamento osseo senza necessità di reinterventi [10].

- **Proprietà biologiche**

Gli scaffold utilizzati in ingegneria biomedica devono essere *biocompatibili*, ossia non devono provocare risposte immunitarie avverse una volta impiantati nel corpo umano. Test di citocompatibilità e di emocompatibilità verificano la compatibilità di un dispositivo impiantabile con l'ambiente circostante durante il processo di guarigione [23].

L'osteoconduttività è la capacità di un materiale di fungere da impalcatura per guidare la formazione del nuovo osso lungo le sue superfici. L'osteoinduttività, invece, è la capacità intrinseca di un materiale di indurre la formazione ossea in assenza di fattori osteogenici, dimostrata dalla formazione ossea dopo l'impianto di questi materiali in un sito ectopico [24].

Gli scaffold devono essere *osteoconduttivi*, supportando la capacità di crescita di nuovo tessuto osseo e facilitando l'adesione e la proliferazione delle cellule ossee. Fungono anche da veicoli di rilascio di citochine come proteine morfogenetiche ossee (BPM), fattori di crescita simili all'insulina e fattori di crescita trasformanti, che trasformano le cellule precursori in cellule produttrici di matrice ossea, fornendo osteoinduzione [10].

L'*osteogenesi*, ossia la capacità di promuovere la formazione di nuovo tessuto osseo, è facilitata seminando gli scaffold con le cellule osteogeniche prima dell'impianto, come osteoblasti e cellule mesenchimali, che hanno il potenziale di differenziarsi in lignaggi osteoblastici. La combinazione di scaffold, citochine e cellule genera scaffold di ingegneria tissutale che forniscono una rigenerazione ossea in vivo più efficace rispetto alle sole matrici biomateriali [10].

I processi cellulari essenziali per l'osteogenesi includono:

- **Penetrazione cellulare:** Garantisce che le cellule ossee possano entrare e muoversi attraverso tutto lo scaffold, facilitando una distribuzione uniforme delle cellule e la formazione di nuovo tessuto osseo su tutta la superficie del materiale [25].
- **Migrazione cellulare:** Permette alle cellule di muoversi e colonizzare l'intera struttura dello scaffold. Questo movimento è stimolato da gradienti chimici e meccanici e dalle interazioni cellula-matrice che guidano le cellule verso le aree appropriate dello scaffold dove possono iniziare a formare nuovo tessuto [25].
- **Infiltrazione cellulare:** Le cellule ossee, come gli osteoblasti, penetrano nello scaffold e colonizzano le aree interne, dove possono iniziare a depositare nuova matrice [10].
- **Proliferazione cellulare:** Le cellule si moltiplicano, aumentando la popolazione cellulare necessaria per la formazione di matrice ossea e la crescita del nuovo tessuto [24].
- **Differenziazione cellulare:** Le cellule staminali mesenchimali si trasformano in osteoblasti funzionali, capaci di produrre e mineralizzare la matrice ossea e formare nuovo tessuto osseo, completando così la rigenerazione ossea [24].

La *vascolarizzazione*, è il processo di formazione di nuovi vasi sanguigni all'interno di un tessuto o un impianto, essenziale per garantire l'apporto di ossigeno e nutrienti necessari per la sopravvivenza e la funzionalità dei tessuti. Questo processo è particolarmente critico nella rigenerazione ossea, poiché facilita la guarigione dei tessuti danneggiati e supporta il metabolismo cellulare [22]. È importante inserire gli scaffold in un sito ospite stabile che contenga un'adeguata vascolarizzazione e un'adeguata fonte di cellule precursori e osteoblasti [24].

L'*angiogenesi* è un sotto-processo specifico della vascolarizzazione, in cui nuovi vasi sanguigni si formano a partire da quelli preesistenti. Le cellule endoteliali, che rivestono l'interno dei vasi sanguigni, migrano e proliferano verso le aree dove è richiesta la formazione di nuovi vasi, organizzandosi in strutture tubulari che formano nuovi capillari [22].

- **Proprietà meccaniche**

Le proprietà meccaniche degli scaffold sono fondamentali per garantire un adeguato supporto strutturale e facilitare la rigenerazione del tessuto osseo. Gli scaffold devono possedere resistenza meccanica sufficiente per supportare il tessuto circostante e mantenere la struttura sotto carico fisiologico fino a quando il tessuto rigenerato non sia in grado di supportare tali carichi autonomamente. Nella progettazione di scaffold biomimetici, resistenza e rigidità devono essere simili a quella dell'osso naturale per garantire una fissazione stabile durante la rigenerazione ed evitare il riassorbimento osseo e il fallimento dell'impianto. Inoltre le proprietà meccaniche degli scaffold influenzano significativamente l'osteointegrazione tra impianti e tessuti e i comportamenti cellulari. Il modulo di Young deve essere simile a quello dei tessuti circostanti per evitare stress post-operatorio [3].

- **Proprietà di degradazione**

Uno scaffold *biodegradabile* deve fornire supporto temporaneo all'osso fratturato, prevenendo disallineamenti durante il processo di guarigione, e non richiedere rimozione post-guarigione in quanto viene gradualmente dissolto o assorbito dal corpo. Questo processo di biodegradazione deve essere sincronizzato con la formazione del nuovo tessuto osseo, mantenendo l'integrità meccanica dello scaffold fino a quando il tessuto rigenerato non è in grado di supportare carichi fisiologici autonomamente [23].

Il processo di biodegradazione degli scaffold implica la dissoluzione chimica o la decomposizione dei biomateriali in ambienti fisiologici, con il materiale degradato assorbito dai tessuti circostanti senza necessità di un intervento chirurgico [3].

Il tasso di degradazione degli scaffold è cruciale: deve offrire alle cellule il tempo sufficiente per produrre nuovo tessuto fornendo allo stesso tempo una resistenza meccanica stabile per supportare il sistema fino alla sua completa rigenerazione ossea. Una degradazione troppo rapida, può compromettere l'integrità meccanica dello scaffold, determinando un collasso prematuro prima che il tessuto osseo sia completamente rigenerato. Al contrario degradazione troppo lenta, può alterare il microambiente dei tessuti, compromettendo la biocompatibilità dello scaffold e la successiva riparazione dei tessuti [3].

Idealmente lo scaffold dovrebbe degradarsi in sincronia con la formazione del nuovo tessuto naturale, mantenendo l'integrità meccanica fino a quando il nuovo tessuto non è adeguatamente formato per supportare il carico [25].

L'interfaccia tra osso e impianto biodegradabile è complessa, con attività biochimiche, biomeccaniche e biologiche che influenzano il comportamento di biodegradazione e la perdita di integrità meccanica, che può variare fino a circa 6 mesi dalla fase di rimodellamento. Durante questo periodo, la resistenza combinata di osso parzialmente guarito e impianto parzialmente degradato deve essere superiore al 100% per soddisfare i requisiti di resistenza durante il processo di guarigione [23].

Un modello previsionale per l'interfaccia osso-impianto aiuta a comprendere la sequenza temporale della resistenza dell'impianto rispetto all'osso durante il processo di guarigione. Man mano che l'impianto si degrada, la sua resistenza meccanica diminuisce, mentre la resistenza ossea aumenta con l'avanzare della guarigione. L'impianto dovrebbe degradarsi completamente entro sei mesi dalla guarigione per evitare complicazioni, garantendo che la resistenza percentuale combinata rimanga superiore al 100% per soddisfare i requisiti di resistenza [23].

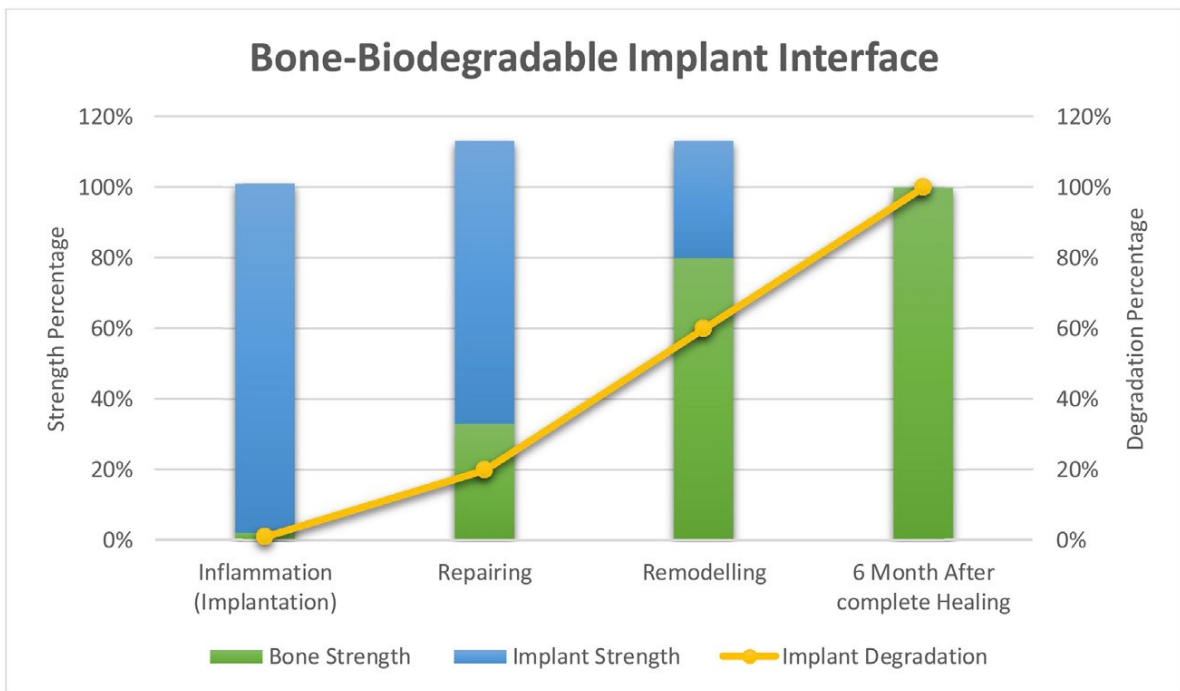


Figura 14: Interfaccia osso-impianto con percentuale di rinforzo e degrado [23].

1.2.2) Parametri per la progettazione degli scaffold:

Uno degli obiettivi principali dell'ingegneria del tessuto osseo è sviluppare scaffold osteoconduttivi, porosi e biodegradabili per indurre la crescita del tessuto osseo. Questi innesti devono mantenere un'adeguata resistenza meccanica durante la guarigione dell'osso e degradarsi ad una velocità controllata per fornire spazio per la formazione del nuovo osso [26].

La progettazione degli scaffold deve considerare diversi parametri che influenzano sia le proprietà fisico-chimiche che biologiche, bilanciandole con il degrado dell'impalcatura [25].

I parametri da considerare sono quattro e verranno analizzati di seguito: design strutturale (1.2.2.1), design superficiale dello scaffold (1.2.2.2), materiali (1.2.2.3) e tecnologie di produzione (1.2.2.4).

Progettare scaffold con parametri coretti, per facilitare la rigenerazione e la vascolarizzazione, mantenendo al contempo le proprietà meccaniche necessarie per resistere alle sollecitazioni meccaniche esterne e facilitare la fissazione stabile degli impianti, è un problema significativo nell'ingegneria del tessuto osseo [22].

1.2.2.1) DESIGN STRUTTURALE: POROSITÀ

Il design strutturale degli scaffold, caratterizzato da un'adeguata porosità, è fondamentale per la rigenerazione del tessuto osseo e l'osteointegrazione a lungo termine, influenzando in modo determinante la proliferazione, la differenziazione e l'infiltrazione delle cellule osteogeniche, nonché la diffusione dei nutrienti e la rimozione dei prodotti di scarto [3], [25].

La porosità è definita come la percentuale di spazio vuoto in un materiale solido, ed è una proprietà morfologica che non dipende dal materiale stesso, ma piuttosto dalla sua struttura interna [10]. Essa indica la quantità di vuoti, o pori, presenti all'interno di un materiale e viene espressa come la frazione volumetrica di questi spazi rispetto al volume totale del materiale. Matematicamente è definita dalla relazione:

$$\phi = \frac{V_V}{V_T}$$

Dove V_V è il volume dello spazio vuoto e V_T è il volume totale del materiale [28].

Esistono diverse classificazioni della porosità basate sulla dimensione dei pori. Secondo la IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), i materiali porosi vengono

suddivisi in microporosi (pori con diametro inferiore 2 nm), mesoporosi (pori con diametro compreso tra 2 e 50 nm), e macroporosi (pori con diametro superiore a 50 nm) [27].

Tuttavia, nel contesto dell'ingegneria dei tessuti, questa classificazione è spesso semplificata in due categorie principali: micropori (< 50 µm) e macropori (> 50 µm). [25] I **micropori** favoriscono l'adsorbimento di proteine osteoinduttive e migliorano l'interazione delle cellule osteogeniche con la superficie dello scaffold, facilitando la formazione di nuovo tessuto osseo attraverso processi di adsorbimento proteico e segnalazione cellulare specifica [25]. D'altra parte, i **macropori** sono fondamentali per la vascolarizzazione e la rigenerazione del tessuto, poiché permettono la migrazione cellulare e la formazione di vasi sanguigni all'interno dello scaffold, migliorando l'integrazione dello scaffold con il tessuto ospite [25].

La **porosità** è un parametro cruciale che influisce sui processi biologici, sulle proprietà meccaniche e di degradazione dello scaffold.

1) Impatto biologico

La porosità è fondamentale per l'*osteogenesi*, poiché influenza direttamente diversi processi cellulari cruciali per la formazione del nuovo osso. La presenza di pori all'interno dello scaffold facilita la penetrazione, la migrazione e l'infiltrazione delle cellule osteogeniche, promuovendo una distribuzione uniforme e una colonizzazione efficace dello scaffold da parte delle cellule ossee, essenziale per avviare e supportare il processo di rigenerazione ossea [10], [25].

La presenza di pori crea una superficie tridimensionale che facilita l'adesione e la proliferazione delle cellule osteogeniche, favorendo una migliore *osteointegrazione* rispetto a superfici lisce. Questo porta a un miglior interblocco meccanico tra il biomateriale e l'osso circostante, aumentando la stabilità dell'impianto [10].

Inoltre, la porosità è essenziale per supportare l'*angiogenesi*, ovvero la formazione di nuovi vasi sanguigni all'interno dello scaffold. Questo processo è necessario per la rigenerazione ossea in quanto fornisce ossigeno e nutrienti necessari per la crescita e il mantenimento del nuovo tessuto osseo. Scaffold con elevata porosità e pori interconnessi facilitano la penetrazione dei vasi sanguigni, migliorando il trasporto di nutrienti e contribuendo alla guarigione e alla vascolarizzazione dell'area trattata. La struttura porosa degli scaffold mantiene anche una capillarità adeguata a garantire un flusso continuo di liquidi e biomolecole, supportando la diffusione cellulare e la vascolarizzazione post-impianto [22].

2) Impatto meccanico

Dal punto di vista meccanico, un aumento della porosità può significativamente ridurre la resistenza meccanica dello scaffold, compromettendone l'integrità strutturale.[10] Il modulo elastico tangente degli scaffold porosi diminuisce all'aumentare della porosità. Ad esempio in Figura 15 è mostrato l'andamento del modulo elastico tangente del tantalio che passa da 2,2 GPa a 373 MPa aumentando la porosità d 66% a 88% [3].

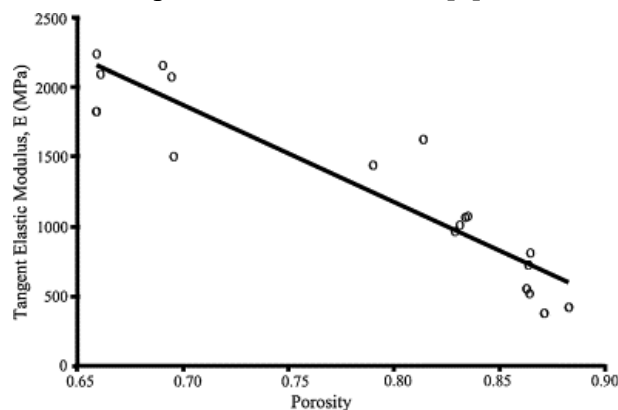


Figura 15: Il modulo elastico tangente degli scaffold porosi in tantalio regredisce contro la porosità dello scaffold [3].

Inoltre, un incremento del volume poroso dal 10 al 20% può portare una diminuzione di quattro volte della resistenza meccanica, [24] rendendo scaffold con porosità superiore all'80% inadatti per applicazioni in difetti ossei [22]. È quindi essenziale trovare un equilibrio tra la porosità necessaria per promuovere l'osteogenesi e la resistenza meccanica necessaria per sostenere il carico applicato durante il processo di guarigione [25].

3) Impatto sulla degradazione

La porosità influenza anche il tasso di degradazione degli scaffold, un fattore critico per la rigenerazione ossea. Una maggiore porosità aumenta la capacità dei fluidi di penetrare nella struttura, accelerando il processo di degradazione [25]. Tuttavia, un tasso di degradazione troppo rapido può compromettere l'integrità meccanica dell'impianto prima che il nuovo tessuto osseo possa sostituirlo. Pertanto, scaffold realizzati con materiali ad alto tasso di degradazione non dovrebbero avere porosità elevate, poiché il rapido esaurimento del materiale comprometterebbe la stabilità strutturale; mentre materiali con tasso di degradazione più lento possono beneficiare di una porosità maggiore per migliorare l'interazione con le cellule ospiti senza compromettere la stabilità strutturale [10].

La progettazione ottimale di questi dispositivi deve considerare attentamente il bilanciamento tra la porosità necessaria per favorire i processi biologici vitali l'osteogenesi e la resistenza meccanica richiesta per sostenere l'impianto durante il processo di guarigione, nonché il tasso di degradazione del materiale [10].

1.2.2.1.1) CARATTERISTICHE DELLA POROSITÀ

I parametri chiave da considerare, quando si ottimizza la morfologia dello scaffold, includono: dimensione dei pori, morfologia dei pori, interconnettività tra i pori e distribuzione della dimensione dei pori. Tutte queste proprietà strutturali devono essere bilanciate per ottenere una porosità adeguata a guidare una corretta rigenerazione dei tessuti [22].

Ora analizziamo come ogni caratteristica dei macropori influenzi le proprietà fisico-chimiche (proprietà meccaniche e permeabilità) e biologiche (penetrazione, proliferazione, differenziazione cellulare, risposta in vivo) di uno scaffold. La Figura 16 riassume le proprietà meccaniche e biologiche generali degli scaffold e il modo in cui le proprietà strutturali, le influenzano. L'andamento è dato dalla direzione delle frecce. Le frecce interne nere evidenziano l'incremento della proprietà strutturale. Le linee colorate correlano la proprietà strutturale dell'impalcatura ai comportamenti fisico-chimici o biologici. Le frecce indicano un trend, le linee tratteggiate indicano una controversia o un trend non determinato [25].

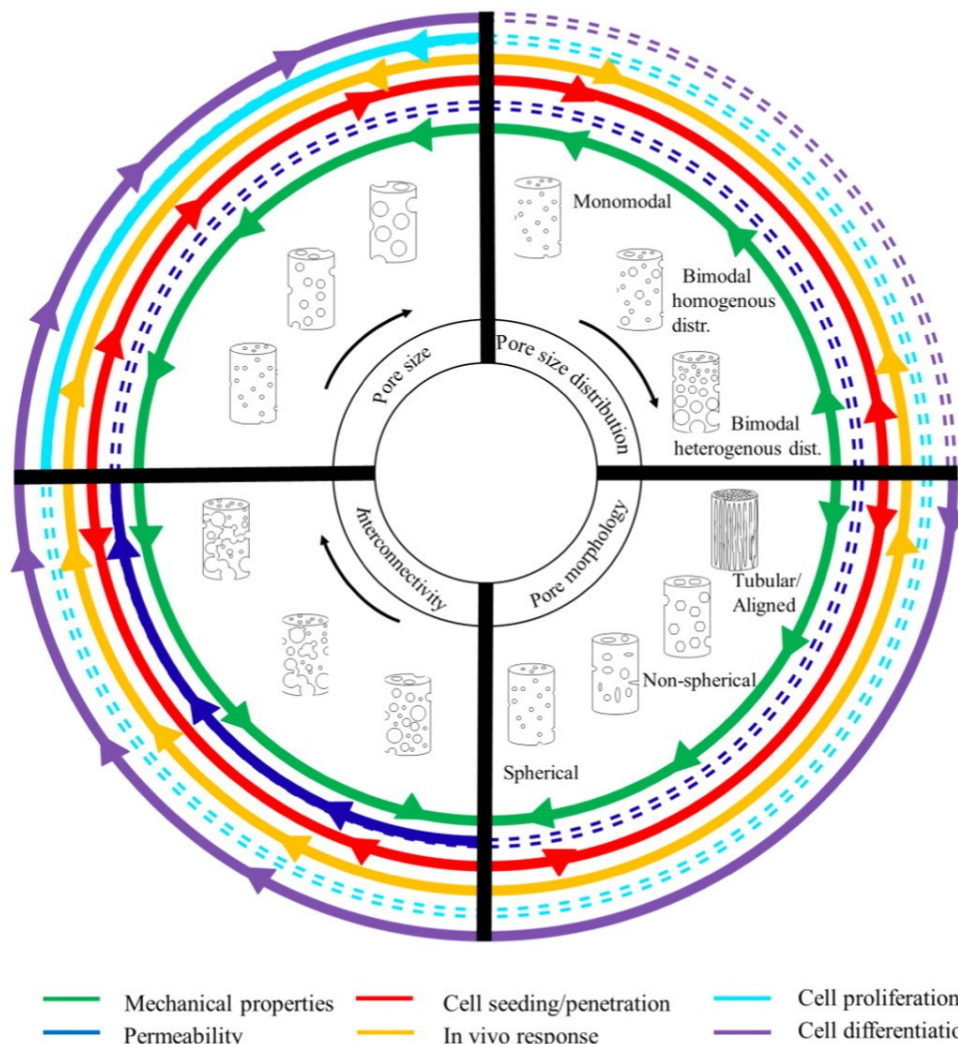


Figura 16: Schema che mostra l'impatto delle proprietà strutturali dello scaffold su determinati comportamenti fisico-chimici e biologici [25].

1) DIMENSIONE DEI PORI

La dimensione dei pori degli scaffold è un parametro fondamentale, ampiamente studiato per determinare l'intervallo ottimale per supportare efficacemente i processi biologici, meccanici e di permeabilità necessari per una rigenerazione ossea efficace [25].

- **Penetrazione, Proliferazione e Differenziazione**

Gli scaffold con diverse dimensioni dei pori mostrano un impatto significativo sull'osteogenesi in vitro, influenzando la proliferazione e l'attività osteogenica delle cellule ossee [10]. È essenziale che i pori siano sufficientemente grandi per consentire l'allocazione e la migrazione delle cellule all'interno dello scaffold, garantendo al contempo un'adeguata distribuzione dei nutrienti e dei fattori di crescita [25]. Pori con diametri superiori a 300 μm facilitano l'infiltrazione cellulare, favoriscono la colonizzazione dell'intero scaffold e promuovono l'osteogenesi diretta grazie a una migliore vascolarizzazione [10]. Al contrario pori troppo piccoli ($< 100 \mu\text{m}$) limitano significativamente la penetrazione cellulare, ostacolando la migrazione e la distribuzione uniforme delle cellule all'interno dello scaffold [22]. Pori di dimensioni intermedie (200-350 μm) ottimizzano l'adesione e la proliferazione cellulare [25].

- **Effetto della risposta in vivo**

Diversi studi hanno investigato la dimensione dei pori ottimale per la rigenerazione ossea in vivo. Hulbert et al. hanno stabilito che la dimensione minima necessaria per la rigenerazione ossea mineralizzata è di circa 100 μm , a causa delle dimensioni delle cellule, dei requisiti di migrazione e del trasporto [10]. La maggior parte delle ricerche concorda che il diametro ottimale dei pori per la rigenerazione ossea, la crescita tissutale e la formazione vascolare varia tra 100 e 400 μm [25]. Pori più piccoli (75-100 μm) tendono a favorire la crescita di tessuto osteoide non mineralizzato, invece, pori superiori a 400 μm migliorano la vascolarizzazione, riducendo la formazione di tessuto fibroso e promuovendo l'osteogenesi diretta e maggiore osteointegrazione [10], [22], [25].

- **Effetto sulle proprietà meccaniche:**

Pori piccoli offrono maggiore densità e rigidità, ma possono limitare la penetrazione cellulare e la vascolarizzazione [22]; al contrario, pori con dimensioni più grandi migliorano la vascolarizzazione, la crescita cellulare e la rigenerazione ossea, ma possono ridurre le proprietà meccaniche complessive dello scaffold, come il modulo di compressione [26]. Per esempio, un aumento della dimensione dei pori da 125 μm a 300 μm ha portato a una riduzione del modulo di compressione da 10,3 MPa a circa 3 MPa [3].

2) MORFOLOGIA DEI PORI

La morfologia dei pori degli scaffold, ovvero la forma, la disposizione e l'orientamento dei pori, ha un'influenza significativa su vari aspetti della loro funzionalità. Il modo in cui i pori sono allocati in riferimento al tessuto e la capacità dello scaffold di imitare la struttura dell'osso sono alcuni dei parametri che portano a una migliore progettazione degli scaffold [25]. La geometria dei pori può variare notevolmente includendo forme esagonali, rettangolari, triangolari, parallelogrammi, ecc. È stato dimostrato che le differenze nella larghezza dei pori e nella curvatura della superficie portano a variazioni nella morfologia dei tessuti e nel tasso di crescita. Inoltre progettare l'architettura con diversi valori di offset può alterare il comportamento meccanico, la proliferazione e la differenziazione cellulare [22].

- **Penetrazione, Proliferazione e Differenziazione**

Di seguito vengono illustrate le principali tipologie di morfologie dei pori, in ordine crescente di complessità, e i conseguenti effetti cellulari:

Morfologia tubolare/colonnare/allineata: I pori sono allineati verticalmente, formando strutture simili a tubi o colonne; supportano una buona penetrazione grazie alla loro continuità verticale. La maggiore larghezza dei pori fornisce ampie superfici per la crescita e la colonizzazione cellulare, promuovendo una proliferazione elevata e una differenziazione cellulare ottimizzata [25].

Morfologia non sferica: Presentano una maggiore complessità geometrica che comprende pori con forme come rettangoli, esagoni, triangoli, parallelogrammi, ecc. La varietà di angoli e spazi nei pori non sferici favorisce l'infiltrazione delle cellule, aumentando la penetrazione, che è influenzata dalla curvatura e dalla dimensione dei pori. Pori più grandi, con minore curvatura superficiale, facilitano una penetrazione più profonda nei tessuti rispetto a pori più piccoli, con maggiore curvatura che offrono meno spazio per la penetrazione. Per quanto riguarda la proliferazione, scaffold con pori esagonali mostrano la massima crescita cellulare, seguiti da quelli con pori rettangolari e triangolari, grazie al maggior numero di angoli e quindi una più breve distanza tra i montanti che favoriscono una più rapida formazione di ponti cellulari. Inoltre scaffold con forme parallelogramma e triangolari mostrano una maggiore proliferazione rispetto a quelli con morfologia quadrata. Infine la differenziazione osteogenica delle cellule è maggiore nei pori triangolari rispetto ad altre forme, suggerendo che la morfologia dei pori influenzi la specializzazione cellulare indipendentemente dalla proliferazione [22].

Morfologia sferica: I pori hanno una forma sferica, con una curvatura superficiale uniforme. Sebbene mostrino una proliferazione inferiore rispetto ai pori non sferici, gli scaffold con pori sferici offrono una buona base per la crescita cellulare grazie alla superficie uniforme che facilita l'adesione cellulare. Gli scaffold con pori sferici offrono la migliore differenziazione osteogenica rispetto ad altre morfologie, grazie alla loro conformazione che facilita l'espressione di marcatori osteogenici e supporta una crescita tridimensionale uniforme delle cellule [25].

La geometria dei pori include anche la disposizione e l'orientamento dei pori. Diversi parametri geometrici, come l'offset, influenzano il comportamento cellulare [25]:

- **Offset di base:** Questa struttura omogenea ha mostrato una maggior proliferazione cellulare di cellule staminali mesenchimali, favorendo la crescita cellulare uniforme grazie al maggior numero di punti di ancoraggio disponibili per le cellule [22]
- **Offset incrociato:** Configurazione in cui le fibre o strati sono disposti in modo incrociato, formando angoli interconnessi, che migliorano la differenziazione cellulare e l'attività dei marcatori di differenziazione [25].
- **Forme geometriche specifiche:** Pori parallelogrammi e triangolari hanno dimostrato favorire una maggiore proliferazione cellulare rispetto alle forme quadrate, offrendo più punti di ancoraggio e una migliore distribuzione delle forze [25].

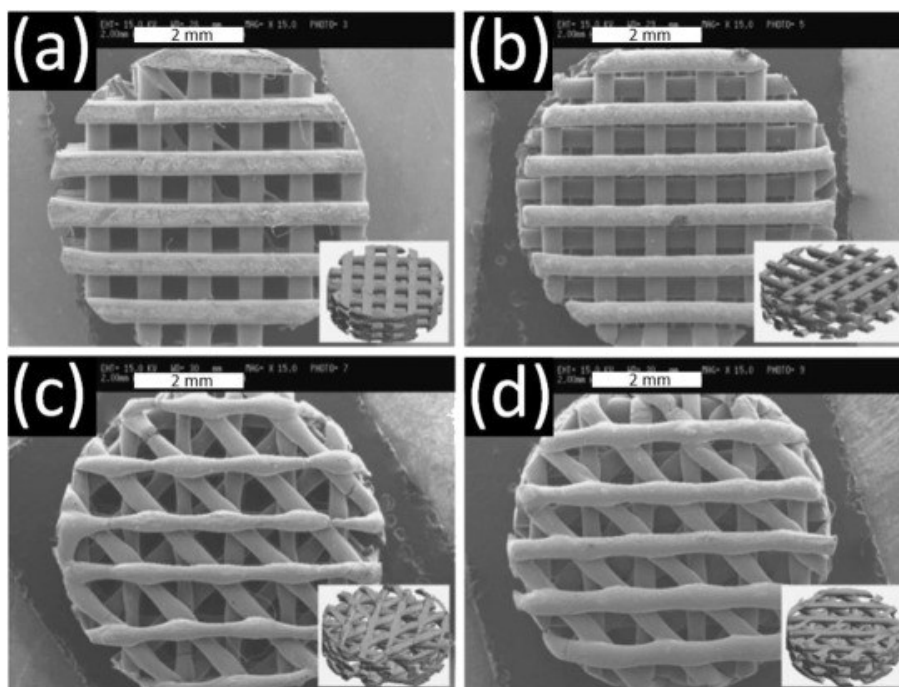


Figura 17: Immagini SEM (le barre rappresentano 2 mm) di scaffold PCL prodotti da una tecnica di tracciamento 3D con diverse architetture: a) base, b) base-offset, c) incrociate ed) offset incrociate, comprese immagini μ -CT (immagini inserite) [25].

- **Effetto della risposta in vivo**

Nell'ambito della rigenerazione ossea, la morfologia dei pori è cruciale per l'integrazione degli scaffold nei tessuti circostanti. Scaffold con pori radiali (colonnari) mostrano una migliore integrazione nei tessuti circostanti rispetto agli scaffold con pori sferici. Questo perché le cellule sono in grado di infiltrarsi più profondamente negli scaffold radiali, permettendo ai vasi sanguigni di migrare all'interno, migliorando l'apporto di nutrienti e l'efficacia della rigenerazione tissutale. Gli scaffold con pori orientati in modo casuale, sebbene supportino una crescita tissutale più rapida, tendono a formare tessuti fibrosi, a differenza degli scaffold radiali che promuovono la formazione di fibrocartilagine [25].

- **Effetto sulle proprietà meccaniche**

Un aumento della complessità della morfologia comporta un miglioramento delle proprietà meccaniche. Ciò è dimostrato da Lee et al, come mostrato in Figura 18, in cui scaffold con strutture a reticolo, sfalsate e diagonali mostrano una resistenza a compressione crescente (6.05 7,43 e 9,81 MPa rispettivamente), indicando che una maggiore complessità strutturale migliora la resistenza meccanica [25].

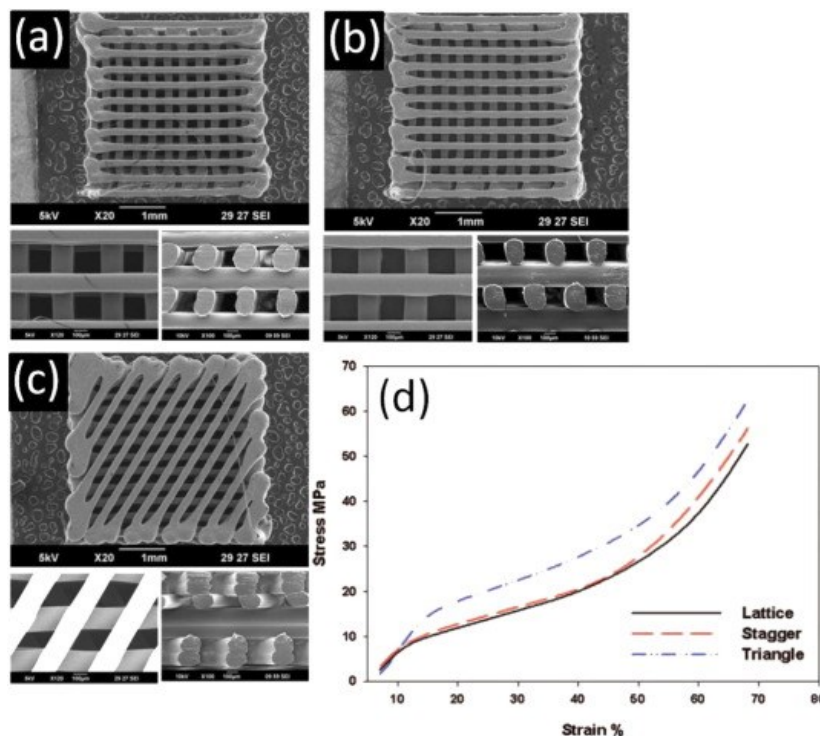


Figura 18: Immagini SEM di impalcature con diverse morfologie di puntoni: a) reticolo, b) scaglionamento, e c) diagonale, d) grafico sollecitazione/deformazione per ogni impalcatura [25].

Scaffold con pori sferici mostrano moduli elastici più elevati rispetto a quelli con pori cilindrici, come illustrato in Figura 19. Questo indica che il modulo aumenta con la frazione di volume dei pori, dimostrando come la geometria dei pori influenzi direttamente le proprietà meccaniche degli scaffold [3].

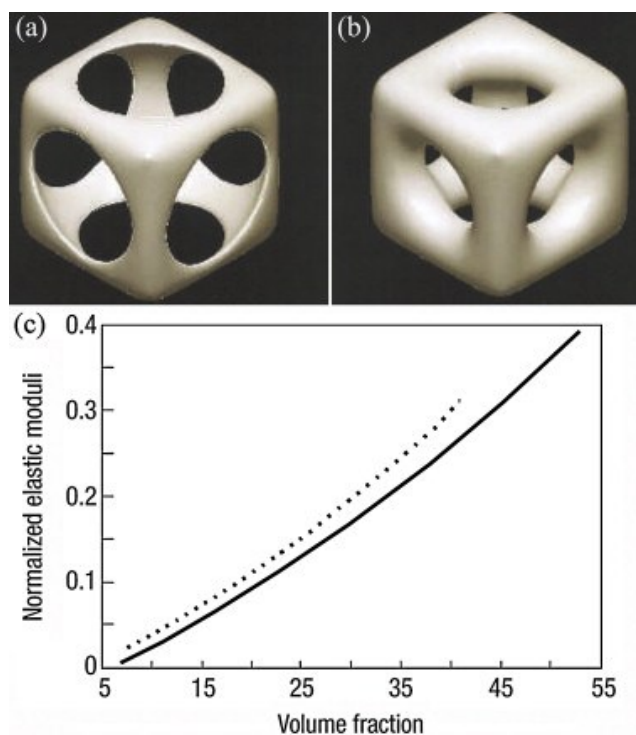


Figura 19. Modulo rispetto alla porosità per due scaffold con microstrutture progettate a pori sferici e pori cilindrici. (a) Il poro sferico, (b) poro cilindrico, (c) grafico dei moduli elastici effettivi normalizzati dai moduli di base per poro sferico (linea tratteggiata) e poro cilindrico (linea continua). I risultati dimostrano che il modulo aumenta come previsto con la frazione di volume e che, per una data frazione di volume, il poro sferico è più rigido [3].

Anche l'orientamento dei pori contribuisce in modo significativo ai comportamenti meccanici degli scaffold. Scaffold con pori allineati mostrano una resistenza meccanica superiore rispetto a quelli con pori disposti in modo casuale [3].

Infine una maggiore curvatura superficiale è associata ad una maggiore formazione di tessuto e migliori proprietà meccaniche dello scaffold. Le cellule tendono a stabilizzarsi agli angoli dei pori, favorendo le interazioni cellulari e minimizzando lo stress cellulare, che a sua volta migliora la rigenerazione ossea [22]. L'inclusione di offset negli scaffold può migliorare le proprietà meccaniche aumentando il modulo elastico grazie alla formazione di pori più piccoli e uniformi [25].

3) INTERCONNESSIONE TRA I PORI

I materiali porosi possono essere definiti come solidi contenenti delle discontinuità, cioè una frazione del loro volume è occupata da spazi vuoti di differenti forme e dimensioni. La porosità rappresenta una "componente non componente" della microstruttura del materiale, distinguibile in due tipologie: porosità aperta e porosità chiusa [27].

La **porosità aperta** è rappresentabile come una rete continua di vuoti collegati tra loro e con l'ambiente esterno. In altre parole, le cavità aperte sono insenature che dalla superficie si estendono all'interno del materiale [29]. Questa tipologia consente una maggiore adesione dei rivestimenti sulla superficie del materiale, migliorando le interazioni con i tessuti circostanti e supportando una rigenerazione più efficace [28]. La porosità aperta controlla notevolmente le proprietà adesive dei rivestimenti sulla superficie del materiale [27].

La **porosità chiusa** è costituita da pori isolati dispersi nel materiale non comunicano con l'esterno. Questa tipologia limita la migrazione cellulare e la diffusione dei nutrienti, riducendo l'efficacia della rigenerazione tissutale [28]. Una situazione intermedia, tra pori interconnessi e 'vicoli ciechi' è rappresentata da quella dei pori collegati con l'ambiente esterno solo ad un'estremità del materiale [29].

I pori interconnessi offrono vantaggi rispetto a scaffold contenenti pori senza uscita, perché una connessione spaziale continua del sistema di pori è cruciale per la crescita di nuovo osso e per il mantenimento dell'interfaccia tissutale nel lungo periodo [24].

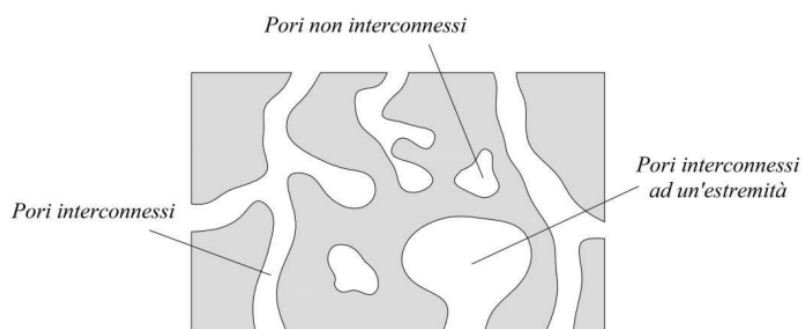


Figura 20: Schematizzazione di un materiale con pori interconnessi, non interconnessi e interconnessi ad un'estremità del materiale [29].

- **Penetrazione, Proliferazione e Differenziazione**

L'interconnettività tra i pori è essenziale per la migrazione cellulare e la diffusione dei nutrienti e dei segnali molecolari, migliora la permeabilità dello scaffold e supporta una rigenerazione tissutale efficace ma deve essere attentamente bilanciata per mantenere la resistenza meccanica [24].

Una buona interconnessione facilita la penetrazione cellulare, consentendo alle cellule di colonizzare efficacemente l'intera struttura dello scaffold. Pori interconnessi di dimensioni ottimali, intorno a 400 μ m, offrono un buon compromesso tra permeabilità e resistenza. La migrazione efficiente delle cellule e dei nutrienti, permessa da una buona interconnessione tra i pori, è essenziale per la formazione di una rete vascolare robusta e funzionale [22].

- **Effetto della risposta in vivo**

In vivo, l'architettura degli scaffold progettata per massimizzare la permeabilità favorisce la penetrazione ossea e l'infiltrazione vascolare. Ad esempio, scaffold di fosfato di calcio con pori di interconnessioni di 20 μ m sono sufficienti per la penetrazione cellulare, mentre dimensioni superiori a 50 μ m sono necessarie per la crescita ossea. Una struttura dei pori ben interconnessa è quindi cruciale per la rigenerazione dei tessuti e la formazione di una rete vascolare funzionale. La permeabilità elevata, correlata all'interconnessione dei pori, supporta una rigenerazione ossea efficace [25].

- **Effetto sulle proprietà meccaniche:**

Le proprietà meccaniche degli scaffold sono influenzate dalle dimensioni e dall'interconnessione dei pori. Un aumento della dimensione dei pori può aumentare il modulo elastico dello scaffold, mentre una porosità eccessiva può compromettere la resistenza meccanica. Scaffold con porosità dell'80% rappresentano un punto critico tra interconnettività e proprietà meccaniche ottimali [10].

- **Effetto sulla permeabilità**

La permeabilità è direttamente correlata all'interconnessione dei pori e rappresenta la capacità dello scaffold di consentire la circolazione di fluidi, come nutrienti e rifiuti metabolici. Scaffold con pori interconnessi ben definiti, come quelli fabbricati mediante stampa 3D, mostrano una permeabilità 10 volte superiore rispetto a scaffold con pori casuali, permettendo un afflusso di nutrienti e un deflusso di rifiuti più efficiente. Ciò supporta una rigenerazione ossea più efficace, favorendo la crescita cellulare anche nelle zone centrali dello scaffold. L'interconnessione è dominante nella capacità di fluidi e cellule di penetrare; una bassa interconnessione può compromettere la riparazione dei tessuti. Una maggiore permeabilità supporta la rigenerazione ossea efficace [25].

4) DISTRIBUZIONE DELLA DIMENSIONE DEI PORI

La distribuzione della dimensione dei pori si riferisce alla variazione delle dimensioni dei pori presenti all'interno di un materiale poroso, come uno scaffold. Esistono diverse tipologie di distribuzione della dimensione dei pori:

- **Monomodale:** Tutti i pori hanno dimensioni simili. Questo approccio è vantaggioso per garantire una distribuzione uniforme delle cellule all'interno dello scaffold e per favorire una crescita tissutale omogenea; tuttavia potrebbe limitare la vascolarizzazione e la diffusione dei nutrienti [25].
- **Bimodale:** Sono presenti due dimensioni di pori differenti: macropori che consentono la penetrazione di vasi sanguigni e la diffusione di nutrienti, favorendo l'osteogenesi, e micropori che aumentano la superficie per l'adsorbimento delle proteine e forniscono punti di attacco per gli osteoblasti, creando un ambiente tridimensionale favorevole all'adesione cellulare e alla crescita tissutale. Lo scaffold bimodale migliora la vascolarizzazione, l'adesione e la crescita cellulare [30].
- **Omogenea:** I pori hanno dimensioni uniformi in tutto lo scaffold, garantendo proprietà uniformi e prevedibili, come negli scaffold di idrossiapatite pura [25].
- **Eterogenea (a gradiente):** La dimensione dei pori varia in modo continuo o graduale attraverso lo scaffold, replicando in modo più accurato le caratteristiche del tessuto osseo naturale come variazioni di densità e composizione tra osso corticale e trabecolare. Questa distribuzione migliora la biomimesi e la rigenerazione ossea, come osservato in scaffold compositi di idrossiapatite e collagene. Gli scaffold gradienti possono avere una composizione o una morfologia che varia gradualmente attraverso lo spazio, creando una transizione graduale delle proprietà lungo una direzione specifica. Ad esempio, uno scaffold potrebbe avere un gradiente di porosità o di composizione chimica che varia da un'estremità all'altra [10],[22],[25].

Esiste un'ulteriore classificazione riguardo l'organizzazione a più livelli e la complessità strutturale che distingue pori gerarchici da quelli non gerarchici. Gli **scaffold gerarchici** hanno una struttura organizzata a più livelli, con pori di dimensioni diverse organizzati gerarchicamente. Questi combinano micro, macro e, talvolta, nanopori, migliorando la permeabilità e la conformità. La progettazione gerarchica è promettente per ottenere le proprietà globali desiderate, replicando la complessa struttura del tessuto osseo. Al contrario gli scaffold non gerarchici presentano una struttura uniforme, senza una chiara distinzione tra diversi livelli di organizzazione, con una distribuzione dei pori omogenea senza una gerarchia strutturale specifica [3].

La distribuzione della dimensione dei pori influenza sia le proprietà meccaniche che biologiche dello scaffold, determinando l'interazione delle cellule con il materiale, la permeabilità ai nutrienti, e la resistenza meccanica complessiva [25].

- **Penetrazione, Proliferazione e Differenziazione**

Lo studio della distribuzione delle dimensioni dei pori intende comprendere come si comportano le cellule in presenza di dimensioni dei pori significativamente diverse nello stesso scaffold rispetto agli scaffold che presentano solo una dimensione dei pori [25].

- **Monomodale vs Bimodale:** Scaffold con distribuzione bimodale dei pori mostrano una maggiore adesione cellulare iniziale, mentre gli scaffold monomodali supportano meglio la proliferazione e la differenziazione a lungo termine grazie alla maggiore esposizione ai nutrienti [25].
- **Eterogenee vs Omogenee:** Gli scaffold con distribuzione eterogenee (a gradiente) favoriscono una maggiore efficienza di semina cellulare rispetto a quelli omogenei, poiché aumentano le probabilità che le cellule incontrino punti di adesione. Tuttavia, la struttura omogenea dei pori può permettere una migliore penetrazione e una distribuzione più uniforme dei nutrienti perché cellule fluiscono direttamente nello scaffold con meno possibilità di interazione [25].
- **Bimodali gerarchici vs Monomodali:** Gli scaffold gerarchici favoriscono l'adsorbimento delle proteine, supportando meglio la proliferazione cellulare, e migliorano la stabilità meccanica, grazie alla presenza di micropori [3].
- **Scaffold a Gradiente:** Gli scaffold con gradiente di porosità imitano meglio la struttura dell'osso naturale, migliorano la crescita cellulare e il trasporto di nutrienti e rifiuti, e favoriscono la differenziazione osteogenica delle cellule staminali mesenchimali MSC *in vitro*, aumentando il contenuto di calcio e l'attività ALP, grazie al migliore apporto di ossigeno e sostanze nutritive nei pori più grandi [22].

- **Effetto sulle proprietà meccaniche**

La distribuzione della dimensione dei pori all'interno di uno scaffold non solo influisce sulle sue proprietà biologiche ma anche su quelle meccaniche. Gli scaffold con pori omogenei tendono ad avere proprietà meccaniche più prevedibili, mentre quelli con pori a gradiente possono offrire un comportamento meccanico più complesso e potenzialmente migliore in alcune applicazioni [25].

- **Monomodale vs Bimodale:** Gli scaffold monomodali tendenzialmente hanno proprietà meccaniche inferiori rispetto a scaffold bimodali. La struttura semplice e omogenea dei

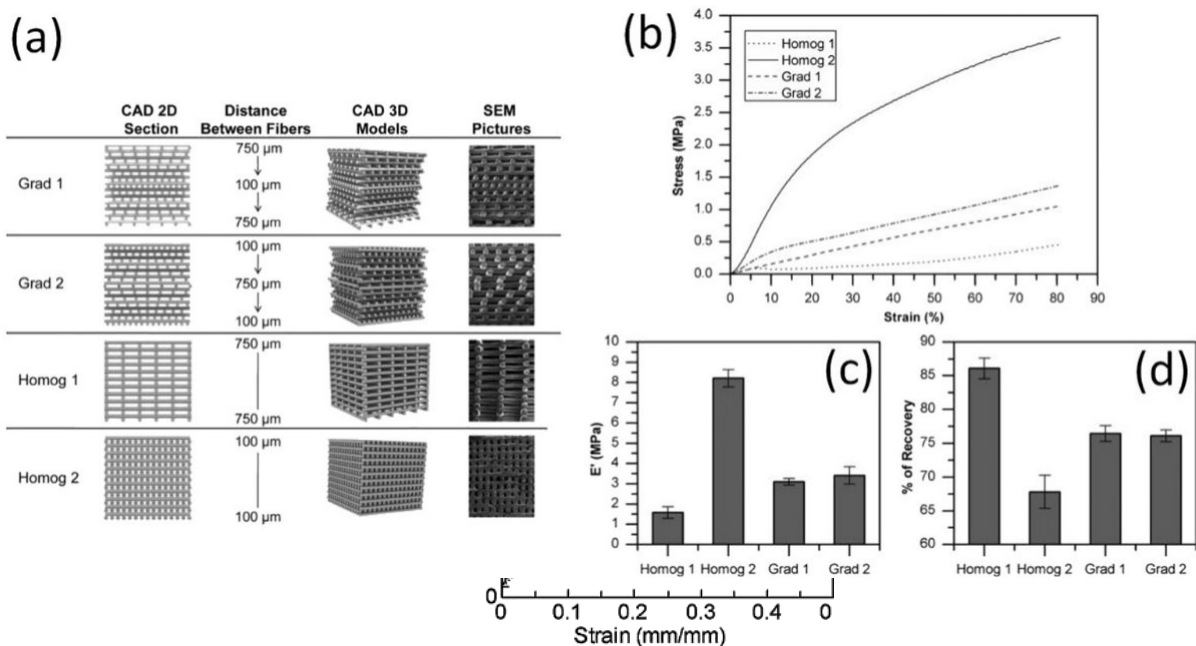
pori negli scaffold monomodali è più soggetta a collasso sotto stress elevato. Al contrario, gli scaffold bimodali migliorano le proprietà meccaniche in termini di resistenza alla compressione e al cedimento non fragile grazie alla combinazione di micro e macropori [22].

- **Omogenea vs Eterogenea (gradiente):** Scaffold con pori omogenei di dimensioni diverse (es. Homog1 con pori di 750 μm e Homog1 con pori di 100 μm) mostrano comportamenti meccanici variabili. Dalla Curva tensione-deformazione si nota che scaffold con pori più piccoli (Homog2) supportano stress più elevati, mentre quelli pori più grandi (Homog1) hanno un modulo di Young più elevato (Fig. 21 c) e tassi di recupero più bassi (Fig. 21 d). Gli scaffold a gradiente presentano una variazione della dimensione dei pori: Grad1 ha pori più grandi sulla superficie e sul fondo che diminuiscono verso il centro, al contrario Grad2 mostra pori più grandi al centro dello scaffold e pori più piccoli su superficie e sfondo. Questi scaffold a gradiente possono migliorare le proprietà meccaniche rispetto agli scaffold omogenei, adattando la distribuzione dei pori in modo più complesso, offrendo un equilibrio tra resistenza e flessibilità. Curve tensione-deformazione (Fig. 21 b) presentano modelli molto simili per gli scaffold a gradiente [25].

Figura 21: a) Modello e immagini SEM per scaffold eterogenei (Grad) e omogenei (Homog) prodotti mediante tecniche di plottaggio 3D, b) sollecitazione vs. deformazione, c) modulo di Young e d) % di recupero [25].

- **Bimodali gerarchici vs Monomodali:**

Gli scaffold porosi di idrossiapatite con struttura gerarchica, che includono sia micropori



che macropori, migliorano significativamente la resistenza meccanica e la stabilità.

Questo è essenziale per supportare il carico meccanico durante la guarigione. Gli scaffold gerarchici mostrano uno stress da cedimento meccanico superiore rispetto agli scaffold con solo macropori, come si può notare in Figura 22. Ciò li rende più robusti e resistenti, in grado di sopportare un carico maggiore mantenendo l'integrità strutturale per un intervallo più ampio prima di deformarsi plasticamente o cedere [3].

Figura 22: Curva sforzo-deformazione di scaffold porosi in idrossiapatite (HA) mostra che gli scaffold gerarchici (curva tratteggiata) hanno una migliore performance meccanica rispetto agli scaffold con solo macropori (curva solida) [3].

➤ **Scaffold a Gradiente:**

Gli scaffold a gradiente, che replica la struttura naturale dell'osso, migliorano la rigenerazione ossea. Strati altamente porosi favoriscono la crescita cellulare e il trasporto di nutrienti e rifiuti, mentre strati compatti supportano il carico meccanico. Ciò è dimostrato da Boccaccio et al., dove l'osso spugnoso leggero presenta una maggiore crescita cellulare e l'osso corticale rigido supporta il carico meccanico esterno [22].

1.2.2.1.2) COME SI MISURA LA POROSITÀ

La misurazione della porosità richiede una combinazione di diverse tecniche per coprire l'intera gamma di dimensioni dei pori e per ottenere una comprensione completa della struttura porosa dei materiali. Ogni tecnica ha i suoi punti di forza e limitazioni, e la scelta dipende dalle specifiche esigenze del materiale e dall'accuratezza richiesta. L'integrazione di metodi diretti, indiretti e di imaging offre una visione completa e dettagliata delle caratteristiche porose dei biomateriali [28].

1) Gravimetria

La gravimetria è una tecnica diretta utilizzata per misurare la porosità totale di un materiale attraverso la densità. La porosità totale (Π) si calcola utilizzando la densità del materiale (ρ) e la densità apparente dell'impalcatura ($\rho_{scaffold}$) ottenuta dividendo il peso per il volume dell'impalcatura, con la seguente formula [10]: $\Pi = \frac{\rho - \rho_{scaffold}}{\rho}$

Inoltre, la porosità (ε) può essere calcolata confrontando la densità degli scaffold ($\rho_{scaffold}$) con la densità di riferimento ρ_c [26]: $\varepsilon = \left(1 - \frac{\rho_{scaffold}}{\rho_c}\right) \times 100\%$

Questi calcoli forniscono una misura della frazione volumetrica dei pori nel materiale.

2) Porosimetria ad intrusione di mercurio (MIP)

Questo metodo misura sia la porosità che la distribuzione della dimensione dei pori. Gli scaffold vengono immersi nel mercurio, che viene forzato a penetrare nei pori del materiale utilizzando una pressione crescente. Nel MIP, il volume di metallo liquido che penetra in un solido viene misurato in funzione della pressione applicata. L'analisi successiva si basa sulla legge capillare che regola la penetrazione del liquido nei piccoli pori. La dimensione dei pori è inversamente proporzionale alla pressione necessaria per l'intrusione [28].

L'equazione di Washburn mette in relazione raggio (r) dei pori assunti cilindrici con la pressione imposta (P) come segue: $P = \frac{2\sigma \cos \theta}{r}$, dove σ è la tensione superficiale e θ è l'angolo di contatto [10].

La porosità aperta (π) è calcolata come: $\pi = \frac{V_{intrusione}}{V_{scaffold}}$, dove $V_{intrusione}$ è il volume totale di mercurio intruso e $V_{scaffold}$ è il volume dell'impalcatura.

Mentre la porosità chiusa (ω) è determinata come [10]: $\omega = \Pi - \pi$

Sebbene i pori siano raramente cilindrici, l'equazione di Washburn è generalmente accettata come metodo pratico per analizzare quelli che normalmente sono sistemi di pori molto complessi. Questo metodo è utile per esplorare la struttura dei pori di dimensioni superiori a 3,5 nm, comprendendo un intervallo fino a 2000 nm [28].

3) Termoporometria

La termoporometria sfrutta il fenomeno per cui piccoli cristalli di un liquido fondono a temperature inferiori rispetto al liquido sfuso. Questo principio può essere utilizzato per analizzare la distribuzione delle dimensioni dei pori congelando un liquido all'interno del materiale poroso e rilevando la fusione tramite calorimetria a scansione differenziale (DSC). La DSC misura i flussi di calore transitori durante i cambiamenti di fase. Per una particella solida sferica isolata nel suo liquido, l'abbassamento del punto di fusione (ΔT_m) può essere descritto dall'equazione di Gibbs-Thomson:

$$\Delta T_m = \frac{2\sigma_{sl}}{H_f \rho_s x}$$

Dove T_m è la temperatura di fusione della massa, σ_{sl} è l'energia di interfaccia solido-liquido, H_f è l'entalpia di fusione della massa, ρ_s è la densità del solido, x è il diametro della particella [28].

4) Fisisorbimento

Il fisisorbimento o adsorbimento fisico è il processo in cui le molecole di gas aderiscono ad una superficie, senza formare legami chimici, a pressioni inferiori alla pressione di vapore. Le principali tecniche di misurazione del fisisorbimento sono le isoterme di adsorbimento, che misurano la quantità di gas rispetto alla pressione a temperatura costante. Le isoterme forniscono informazioni su area superficiale totale, volume dei pori e distribuzione del volume e dell'area dei pori in base alle dimensioni dei pori. Le tecniche di misurazione dell'isoterma includono: volumetrico, gravimetrico e calorimetria. La classificazione IUPAC delle isoterme comprende sei tipi principali, basati sulle caratteristiche specifiche dei materiali e delle interazioni: tipo I materiali microporosi (es. Zeolite e Carbone attivo), tipo II materiali non porosi (es. allumina e silice non porosi), tipo III materiali non porosi con interazione debole tra adsorbato e adsorbente (es. grafite/acqua), tipo IV materiali mesoporosi (es. Allumina mesoporosa e Silice), tipo V materiali porosi con interazione debole tra adsorbato e adsorbente (ad es. carbone attivo/acqua), tipo VI materiali superficiali omogenei (es. grafite/Kr e NaCl/Kr) [28].

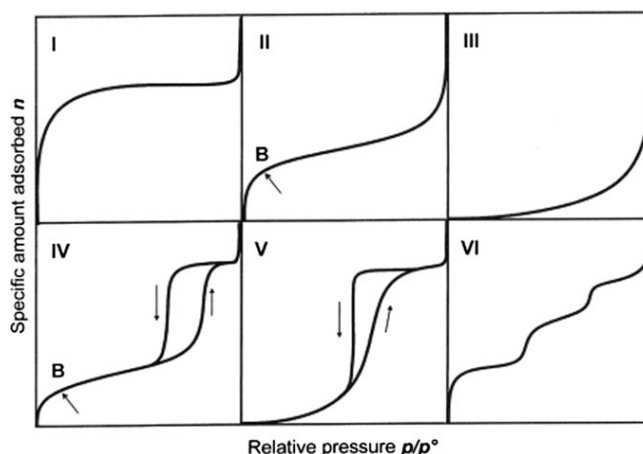


Figura 23: I sei principali tipi di isoterme di fisisorbimento dei gas, secondo la classificazione IUPAC [28]

5) Adsorbimento di azoto e analisi BET

L'azoto gassoso è ampiamente utilizzato come molecola sonda per l'analisi delle superfici solide. Questo permette di misurare l'area superficiale del solido valutando la capacità del monostrato di azoto adsorbito. La teoria di BET (Brunauer, Emmett e Teller) sviluppata nel 1938, utilizza l'adsorbimento multistrato di azoto gassoso a 77 K per misurare l'area superficiale di un solido. La quantità adsorbita al punto B di un'isoterma di tipo II, rappresentato in Figura 23, rappresenta il completamento del monostrato, da cui si calcola l'area superficiale specifica tramite l'equazione BET:

$$\frac{\frac{p}{p^0}}{n(1 - \frac{p}{p^0})} = \frac{1}{n_m C} + \frac{C - 1}{n_m C} \left(\frac{p}{p^0}\right)$$

dove n è la quantità adsorbita ad una pressione relativa p/p^0 ; n_m è la capacità del monostato; C è il parametro BET correlato all'energia di adsorbimento del primo strato. Questo metodo è adatto per caratterizzare materiali con pori tra circa 2 nm e 150 nm. Il metodo BET è utilizzato per valutare il volume dei micropori e l'area esterna, non è adatto per isoterme di tipo III, di tipo V o di tipo VI. Gli esperimenti BET vengono generalmente condotti a una pressione relativa, P/P^0 , di circa 0,3 a 77 K, dove P^0 è la pressione di saturazione [28].

6) Assorbimento dinamico del vapore

L'assorbimento dinamico del vapore (DVS, Dynamic Vapour Sorption) è una tecnica gravimetrica utilizzata per misurare la quantità di vapore acqueo assorbito o desorbito nei biomateriali in funzione dell'umidità relativa. La tecnica DVS, automatizzata, fornisce informazioni dettagliate su porosità, area superficiale e meccanismi di adsorbimento e desorbimento dei materiali. Il campione, posizionato all'interno di una camera di misurazione, è esposto a variazioni controllate di umidità relativa. La massa varia dopo ogni cambiamento di umidità: aumenta quando assorbe vapore e diminuisce quando lo rilascia. Il sistema attende che il campione raggiunga l'equilibrio, e registra il valore della massa per ogni livello di umidità. Questo serve per costruire le isoterme di assorbimento e desorbimento che rappresentano la quantità di vapore assorbito/ rilasciato in funzione dell'umidità relativa a temperatura costante [28].

7) Metodo dello spostamento di liquido

La porosità aperta può essere calcolata immergendo lo scaffold in un volume noto di liquido (V_1), seguito da cicli di evacuazione-ripresurizzazione per forzare il liquido nei pori arrivando a raggiungere un volume V_2 . Dopo l'immersione, lo scaffold viene rimosso e si misura il volume rimanente (V_3). La porosità aperta è data da [10]:

$$\pi = \frac{V_1 - V_3}{V_2 - V_3}$$

8) Picnometria a gas

La picnometria misura la densità e il volume dei pori di un materiale usando gas inerti come elio o azoto, sfruttando il metodo dello spostamento del gas. Questo metodo si basa sulla legge di Boyle-Mariotte, che afferma che per una quantità fissa di gas a temperatura costante, il

prodotto tra pressione e volume è costante. Il picnometro a gas "a volume costante" è il più comune.

La procedura tipica include la sigillatura del campione in una camera di volume noto (V_a), l'immersione del gas nella camera fino al raggiungimento della pressione P_1 . Il volume del gas all'interno della camera è V_a , ma il gas non occupa il volume del campione stesso. Il sistema è collegato ad un'altra camera vuota di volume V_b attraverso una valvola. Quando questa viene aperta il gas si espande in entrambe le camere V_a e V_b . Durante questa espansione il gas penetra anche nei pori del campione. La pressione finale P_2 viene registrata dopo che il gas ha raggiunto l'equilibrio tra le due camere. Utilizzando la legge dei gas ideali ($PV = nRT$), la variazione di volume e della pressione consente di determinare il volume del campione. V_{bulk} è il volume apparente dei campioni, dato dalla somma dei volumi delle camere meno il volume dei pori, di conseguenza si ricava il volume dei pori V_v :

$$V_v = V_{bulk} - V_a - V_b \left(\frac{P_2}{P_2 - P_1} \right)$$

Le molecole di elio possono penetrare in pori molto piccoli, consentendo misurazioni precise della densità di spostamento del gas, ottenuta dividendo il volume spostato per il peso del campione. Questo metodo è non distruttivo e fornisce risultati affidabili per determinare volume e densità reali, assoluti, scheletrici e apparenti [28].

METODI DI IMAGING:

I metodi di imaging digitale sono strumenti avanzati e convenienti per analizzare la porosità e gli altri parametri strutturali. Software come cui ImageJ, MATLAB, ICY, Avizo, Image Pro sono utilizzati per misurare parametri quali forma, dimensione e distribuzione dimensionale di pori e particelle, sia in 2D che in 3D. Modelli stereologici e texture 3D permettono una comprensione più dettagliata delle strutture interne. Ogni metodo di imaging ha i suoi vantaggi e limiti. La scelta dipende dal tipo di campione, dalle dimensioni dei pori da analizzare, e dal livello di dettaglio richiesto. La combinazione delle tecniche 2D e 3D, insieme all'elaborazione delle immagini al computer, offre una visione completa e precisa della porosità e della microstruttura dei materiali [28].

9) Microscopia Ottica (OM)

Utilizza la luce visibile per ingrandire e visualizzare i campioni. Si basa sull'uso di luce trasmessa proveniente da una fonte posta sul lato opposto del campione rispetto alla lente

dell'obiettivo. Un condensatore è utilizzato per focalizzare la luce sul campione, un processo noto come illuminazione di Köhler. Questo approccio ottimale garantisce una visualizzazione chiara e dettagliata dei campioni; offre una risoluzione limitata rispetto ad altri metodi ma è semplice e veloce. La microscopia ottica consente di osservare campioni sottili, utilizzando tecniche come la microscopia in campo chiaro, in campo scuro, a contrasto di fase e a luce polarizzata [28].

10) Microscopia Elettronica a Scansione (SEM)

Le immagini SEM vengono analizzate per misurare la porosità e le dimensioni dei pori utilizzando vari software di computer. Le immagini SEM offrono risoluzioni elevate, utili per l'analisi dettagliata della morfologia dei pori. La microscopia elettronica a scansione SEM è una tecnica di imaging ad alta risoluzione, fino a 0.5 micrometri, che utilizza un fascio di elettroni per produrre immagini dettagliate della superficie di un materiale. La SEM è particolarmente utile per osservare la morfologia superficiale e la struttura dei pori di un biomateriale. Attraverso l'elaborazione digitale è possibile misurare la dimensione, la forma e la distribuzione dei pori, ottenendo una comprensione dettagliata della loro struttura [28].

11) Microscopia Elettronica a Trasmissione (TEM)

La microscopia elettronica a trasmissione (TEM) offre una risoluzione ancora più alta rispetto alla SEM, permettendo di osservare la struttura interna dei pori a livello nanometrico. Nel TEM, un fascio di elettroni attraversa il campione e viene rilevato per formare un'immagine. Questa tecnica è particolarmente utile per analizzare i materiali nanoporosi e per comprendere la disposizione interna dei pori a scale molto ridotte [28].

12) Tomografia MicroComputerizzata (micro-CT)

La tomografia computerizzata (CT), conosciuta anche come tomografia assiale computerizzata (TAC), è una tecnica di imaging avanzata che utilizza i raggi X per ottenere immagini 3D non distruttive e dettagliate delle sezioni trasversali del corpo umano o di oggetti vari. È utile per caratterizzare la microstruttura dei materiali per pori superiori a 3 μm , come la porosità e la distribuzione della dimensione dei pori. Si basa sulla legge di Beer-Lambert, che distingue i pori grazie al coefficiente di attenuazione lineare. Una variante è la micro-tomografia computerizzata (micro-CT) [28].

La micro-CT, è una tecnica non distruttiva, non invasiva, che consente di ottenere immagini tridimensionali ad alta risoluzione, fino a 5 μm , di oggetti piccoli, permettendo un'analisi dettagliata della loro struttura interna. Il funzionamento della micro-CT inizia con la

generazione di raggi X che attraversano l'oggetto preso in esame, posizionato su un supporto rotante. I sensori rilevano l'intensità dei raggi dopo il passaggio attraverso l'oggetto, raccogliendo i dati che un computer elabora per ricostruire immagini bidimensionali delle sezioni trasversali del campione. Queste vengono poi combinate, utilizzando software specializzati, per formare un'immagine tridimensionale dettagliata che consente di visualizzare e quantificare la porosità e i dettagli morfologici degli scaffold in 3D, come dimensione dei pori e distribuzione dei pori all'interno del campione [10], [31].

13) Risonanza magnetica nucleare (NMR)

La risonanza magnetica nucleare (NMR) può essere utilizzata per visualizzare la struttura interna dei materiali senza distruggerli. Questa tecnica è efficace per caratterizzare la distribuzione dei pori e le dinamiche dei fluidi all'interno dei materiali porosi. La NMR rilassa il comportamento delle molecole di un fluido confinato nei pori, fornendo informazioni sulle dimensioni dei pori e sulla connettività della rete porosa. Le tecniche NMR possono essere combinate con l'uso di fluidi traccianti per migliorare la risoluzione spaziale e fornire una caratterizzazione dettagliata della struttura porosa [28].

1.2.2.2) DESIGN DELLA SUPERFICIE

In questa sezione viene analizzato il secondo parametro da considerare nella progettazione dello scaffold per la rigenerazione ossea: il design della superficie, che essendo il primo punto di contatto tra il materiale e l'ambiente biologico circostante, influenza in modo significativo l'adesione, la proliferazione e la differenziazione cellulare [3].

La composizione chimica e morfologica della superficie dello scaffold determina la capacità delle cellule di attaccarsi inizialmente e migrare successivamente. Le modifiche superficiali, come rivestimenti bioattivi o trattamenti chimici, possono migliorare sia la biocompatibilità che la bioattività dello scaffold, favorendo una migliore adesione cellulare [25]. Ad esempio, trattamenti specifici possono creare siti di legame favorevoli per le proteine della matrice extracellulare (ECM), essenziali per l'adesione cellulare e la trasduzione del segnale [22]. Il design superficiale dello scaffold può essere progettato per imitare la matrice extracellulare naturale, favorendo così la proliferazione e differenziazione cellulare. Le caratteristiche superficiali, come le nano-topografie e le modifiche chimiche, possono essere utilizzate per creare un ambiente che promuova la differenziazione delle cellule staminali verso specifiche linee cellulari, come gli osteoblasti, cruciali per la formazione ossea [3]. Inoltre, l'integrazione di fattori di crescita pro-angiogenici e l'impianto di scaffold in siti vascolarizzati sono strategie che facilitano la migrazione delle cellule endoteliali e promuovono la formazione di nuovi vasi

sanguigni [22]. Anche il tasso di degradazione dello scaffold può essere regolato attraverso modifiche superficiali. Tecniche come l'irradiazione con fascio di elettroni o l'uso di materiali ibridi/compositi, possono modulare la velocità di degradazione dei materiali, garantendo che lo scaffold si decomponga in modo sincronizzato con la formazione del nuovo tessuto osseo [3].

Esistono tre diverse strategie di progettazione superficiale: la personalizzazione chimica della superficie, la regolazione della struttura superficiale e gli effetti sinergici di chimica e struttura. La prima strategia prevede l'uso di rivestimenti bioattivi, come l'idrossiapatite, che migliorano l'integrazione con le cellule e i tessuti circostanti. La seconda strategia si concentra sulla modifica della micro e nano topografia, che influenza significativamente il comportamento cellulare, dove microstrutture superficiali favoriscono l'adsorbimento iniziale delle proteine, critico per l'attacco cellulare e la successiva proliferazione e differenziazione. Infine la combinazione delle due strategie può creare un ambiente altamente favorevole per la rigenerazione ossea. Scaffold con macrostruttura simile a quella dell'osso naturale forniscono spazio per la crescita cellulare, mentre una microstruttura ottimizzata supporta l'adsorbimento delle proteine e la migrazione cellulare [3].

1.2.2.3) MATERIALI

La scelta dei materiali è un fattore determinante nella progettazione dello scaffold che bilancino proprietà meccaniche, biologiche e di degradazione, essenziali per soddisfare le esigenze cliniche e favorire la rigenerazione tissutale. I materiali comunemente utilizzati includono i polimeri biodegradabili, le ceramiche bioattive, i metalli e i compositi. Ogni materiale presenta specifici vantaggi e svantaggi che devono essere considerati attentamente durante la progettazione. Le proprietà meccaniche devono essere sufficientemente robuste per supportare il carico fisiologico, mentre le caratteristiche biologiche devono promuovere l'integrazione e la proliferazione cellulare. Inoltre, il tasso di degradazione del materiale deve essere attentamente controllato per garantire che l'impalcatura venga gradualmente sostituita dal nuovo tessuto osseo [3],[10],[26].

1) Ceramica

Le ceramiche utilizzate negli scaffold per la rigenerazione ossea possono essere divise in due categorie principali: ceramiche cristalline e vetroceramiche.

La ceramica cristallina più comunemente impiegata è *l'idrossiapatite (HA)*. La sua composizione chimica è molto simile alla componente inorganica dell'osso, il che le conferisce

eccellenti proprietà di biocompatibilità e osteoconduttività che facilitano l'integrazione con il tessuto osseo naturale e promuovono la crescita cellulare e la rigenerazione ossea [32]. Tuttavia, le ceramiche sono fragili e hanno una bassa velocità di degradazione, che può ritardare l'integrazione completa con il tessuto osseo circostante [10]. Inoltre, la porosità delle ceramiche può essere controllata solo in misura limitata a causa delle elevate temperature necessarie per la sinterizzazione [25].

Le *vetroceramiche* e i biovetri rappresentano un'altra classe di materiali in grado di indurre la crescita ossea, grazie alla loro capacità di presentare diverse combinazioni di porosità e dimensioni dei pori. Questi materiali supportano la coltura di osteoblasti e possono essere progettati per il rilascio controllato di farmaci, migliorando la funzionalità terapeutica degli scaffold [10]. Inoltre, i biovetri hanno proprietà di biodegradabilità controllata, possono rilasciare ioni benefici che stimolano le cellule ossee, e favoriscono la formazione di fasi ossee simili ai minerali, rendendoli materiali promettenti per la realizzazione di scaffold ossei [3]. Tuttavia, le tradizionali tecniche di produzione degli scaffold in vetroceramica non sempre soddisfano le esigenze cliniche e la fragilità intrinseca e la mancanza di prestazioni superelastiche limitano la loro applicazione pratica per la riparazione di ossa portanti [10].

2) Metalli

I materiali metallici, come *l'acciaio inossidabile* e le *leghe di titanio*, sono ampiamente utilizzati per realizzare scaffold grazie alle loro eccellenti proprietà meccaniche e alla buona lavorabilità. Gli scaffold metallici offrono una resistenza meccanica superiore, essenziale per sostenere carichi elevati tipici delle ossa portanti [10]. Tuttavia, questi materiali presentano svantaggi significativi, che ne limitano l'efficacia complessiva, come la scarsa aderenza ai tessuti, che ostacola una corretta integrazione con il tessuto osseo circostante, e un basso tasso di degradazione che richiede spesso la necessità di un secondo intervento chirurgico per rimuovere l'impianto [10]. Le proprietà biologiche dei metalli sono relativamente basse, e il possibile rilascio di ioni metallici può causare gravi reazioni avverse, riducendo ulteriormente la loro biocompatibilità [25]. Inoltre la rigidità dei materiali metallici è molto superiore rispetto all'osso naturale, causando il riassorbimento del tessuto osseo circostante per effetto della protezione dallo stress [3]. Per ovviare a queste limitazioni, si possono creare strutture porose o utilizzare leghe superelastiche a memoria di forma, come il nichel-titanio, che migliorano le proprietà biomeccaniche degli scaffold. Inoltre, le leghe a base di magnesio, con la loro rapida degradazione e ottima biocompatibilità, rappresentano un'alternativa promettente ai metalli tradizionali [3].

3) Polimeri naturali

I polimeri naturali, come *collagene* e *glicosamminoglicani*, sono ampiamente utilizzati per la realizzazione di scaffold nell'ingegneria tissutale grazie alla loro elevata biocompatibilità e biodegradabilità, dovute alla somiglianza con i materiali strutturali dei tessuti umani. Tuttavia, la loro bassa resistenza meccanica e l'alto tasso di degradazione ne limitano l'applicazione in aree soggette a carichi elevati. Per migliorare le proprietà meccaniche si ricorre a modifiche chimiche o all'integrazione del loro utilizzo in compositi [10]. La degradazione di questi polimeri avviene per erosione superficiale e la velocità dipende dalla disponibilità di enzimi nel sito di impianto [3].

4) Polimeri sintetici

I polimeri sintetici, come *PLA (acido poli-lattico)*, *PGA (acido poli-glicolico)* e i loro derivati, oltre al *PCL (poli-capro-lattone)*, sono ampiamente utilizzati negli scaffold grazie alla loro versatilità nella progettazione [26]. Questi materiali consentono di modulare varie caratteristiche dello scaffold, come forma, porosità, dimensione dei pori, tasso di degradazione e proprietà meccaniche, per adattarsi alle specifiche applicazioni dei tessuti [10].

Tra i vantaggi principali di questi materiali vi sono l'eccellente biocompatibilità, la possibilità di regolare la composizione chimica e la biodegradazione, e la facilità di lavorazione che consente un controllo preciso della morfologia e della porosità [3], [25]. Inoltre, supportano efficacemente la crescita dei tessuti biologici circostanti, rendendoli ideali per la fabbricazione di dispositivi medici e scaffold per l'ingegneria tissutale. Tuttavia i polimeri sintetici hanno una resistenza meccanica inferiore, che li rende meno adatti per applicazioni in aree ad alto stress meccanico [10]. Per superare questi limiti e migliorare quindi le proprietà meccaniche e biologiche degli scaffold, vengono sviluppati nuovi compositi e ibridi sintetici a base di biopolimeri [3]. La degradazione dei polimeri sintetici avviene tramite idrolisi chimica e decomposizione enzimatica e la velocità dipende dalla diffusione dell'acqua nella matrice polimerica, dalla porosità e dalla struttura dello scaffold [3].

5) Compositi

I compositi combinano diversi materiali per sfruttare i vantaggi di ciascuno e superare i rispettivi limiti [10]. La matrice polimerica, costituita da polimeri biodegradabili come PLA, PGA e PCL, si può integrare con rinforzi bioceramici, quali l'idrossiapatite (HA) e il fosfato tricalcio (TCP) noti per la loro eccellente osteoconduttività [26]. Questa combinazione permette di migliorare le proprietà meccaniche, biologiche e di degradazione degli scaffold. Ad esempio,

la combinazione di HA con PCL aumenta significativamente la resistenza alla compressione e il modulo elastico, rendendo questi scaffold adatti ad applicazioni in cui è necessario sostenere carichi elevati. Dal punto di vista biologico, i materiali ceramici facilitano l'attaccamento e la proliferazione delle cellule ossee, mentre i biopolimeri forniscono un supporto senza causare risposte immunitarie avverse [10]. Infine, la biodegradazione dei compositi è regolabile: materiali ceramici come l'HA accelerano la degradazione dei polimeri, compensando la loro natura idrofobica e l'elevata cristallinità, che generalmente rallentano la biodegradazione [10], [26]. Tuttavia, i compositi presentano una resistenza meccanica inferiore rispetto ai metalli, e la loro produzione richiede tecniche di fabbricazione avanzate e controlli rigorosi dei parametri di processo [3]. Inoltre, la necessità di bilanciare la porosità per la crescita cellulare con le proprietà meccaniche rappresenta una sfida significativa nella progettazione degli scaffold [26].

Nonostante queste sfide, i compositi mostrano un grande potenziale per applicazioni cliniche avanzate nella rigenerazione ossea. Infatti, grazie alla composizione chimica regolabile dei singoli biopolimeri e alla loro combinazione con altri materiali biocompatibili, gli scaffold si possono adattare a diverse applicazioni mediche ed ottenere caratteristiche paragonabili a quelle dell'osso naturale [3].

1.2.2.4) TECNOLOGIE DI PRODUZIONE

Oltre ai materiali da selezionare, anche il metodo di fabbricazione è fondamentale nella progettazione di uno scaffold biomimetico poroso che bilanci le proprietà meccaniche, biologiche e il tasso di degradazione e soddisfi le esigenze cliniche. La porosità si ottiene mediante un'ampia varietà di tecniche, ciascuna delle quali determina specifiche morfologie e dimensione dei pori [25].

L'avanzamento tecnologico e la crescente domanda di materiali porosi hanno spinto la ricerca verso lo sviluppo di metodi di sintesi che permettano un controllo preciso dei parametri che determinano le caratteristiche strutturali e tessiturali degli scaffold [27].

Esistono diverse tecniche per generare la porosità necessaria e controllare le caratteristiche dei pori, a seconda del materiale utilizzato per fabbricare lo scaffold, ciascuno con i propri vantaggi e limitazioni.

Le tecniche più comuni per creare porosità in un materiale e fabbricare scaffold porosi includono: lisciviazione del sale, schiumatura del gas, liofilizzazione, sinterizzazione, replicazione con schiuma/spugna, separazione di fase indotta termicamente, prototipazione rapida e stampa 3D, elettrofilatura [10], [22],[25],[33].

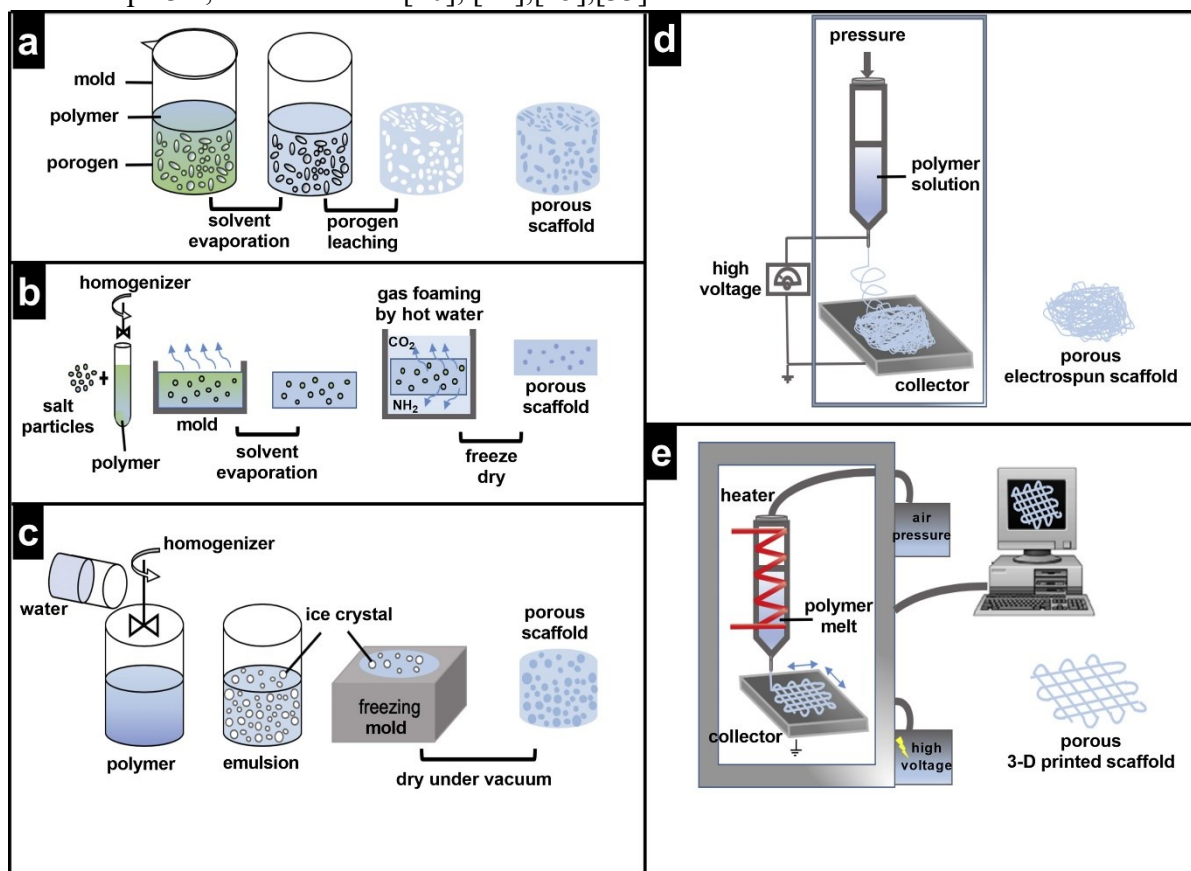


Figura 24: Metodi per generare la porosità di un'impalcatura: Varie tecniche di fabbricazione di impalcature porose. (a) lisciviazione di porogeni, (b) schiuma di gas, (c) liofilizzazione, (d) elettrofilatura in soluzione, (e) elettroscrittura a fusione e stampa 3D [22].

- 1) **Lisciviazione del sale:** Consiste nell'incorporazione di un porogeno (ad esempio sale) ad un materiale base dello scaffold. Successivamente il porogeno viene rimosso tramite lisciviazione in una soluzione acquosa, lasciando una struttura porosa. Questo processo comporta la miscelazione del polimero con il sale, la compattazione della miscela, la rimozione del solvente e il lavaggio per eliminare il sale disciolto. È una tecnica comunemente usata con polimeri biodegradabili come PLLA (poli-L-lattide), PLGA (copolimero di acido polilattico-co-glicolico) e PCL (policaprolattone). Permette un controllo preciso delle dimensioni e della distribuzione della dimensione dei pori attraverso la selezione della dimensione e della concentrazione delle particelle di sale utilizzate nella miscela [34].
- 2) **Schiumatura del gas:** Prevede l'introduzione di un gas come l'anidride carbonica in un polimero in fase liquida o semi-solida, creando bolle che formano pori. Il gas può

essere introdotto mediante un processo fisico o chimico, portando alla formazione di una struttura porosa durante la solidificazione del polimero [25]. Questo metodo consente di controllare la porosità e la distribuzione dei pori attraverso la regolazione della pressione del gas, la temperatura e la velocità di raffreddamento. Questo metodo è adatto per la produzione di scaffold in vetro bioattivo o ceramica [35]. Un esempio è la schiumatura con CO₂ supercritica, che permette di variare i parametri di fabbricazione, come il peso molecolare del componente polimerico, per ottenere diverse dimensioni e interconnessioni dei pori, ottimizzando le proprietà meccaniche degli scaffold [22].

- 3) **Replicazione con schiuma/spugna:** Questa tecnica utilizza una schiuma o una spugna come modello, che viene poi impregnato con il materiale dello scaffold. Successivamente, il modello viene rimosso per decomposizione termica o dissoluzione lasciando una replica porosa della struttura originale. È utilizzata per polimeri come il PLGA e il PCL e soprattutto per materiali ceramici come l'idrossiapatite. Permette di controllare con precisione la porosità selezionando la schiuma /spugna come modello e la concentrazione del materiale impregnato [36].
- 4) **Liofilizzazione:** Prevede il congelamento del materiale e la successiva rimozione del solvente tramite sublimazione. Il materiale, generalmente una soluzione polimerica, viene congelato rapidamente e poi posto sotto vuoto per sublimare l'acqua o un altro solvente, lasciando una matrice porosa [37]. Questa tecnica, conosciuta anche come 'freeze-drying', è adatta per vetro bioattivo, ceramica e soprattutto polimeri idrofili come collagene, gelatina e derivati dell'acido ialuronico. Permette di ottenere una struttura altamente porosa e omogenea, con un controllo della dimensione dei pori attraverso il tasso di congelamento e la concentrazione del polimero nella soluzione [22].
- 5) **Sinterizzazione:** Processo che consiste nel riscaldare delle particelle di materiale (come ceramica o metalli) fino a che non iniziano a fondere e aderire tra loro, senza raggiungere la fusione completa. In altre parole, le particelle si compattano e si legano termicamente in uno stampo con la geometria desiderata. Questo metodo, adatto per materiali ceramici (come l'idrossiapatite), biovetri e alcuni metalli biocompatibili, è particolarmente efficace nel controllare la densità e la dimensione dei pori regolando la temperatura di sinterizzazione [38].
- 6) **Prototipazione rapida e stampa 3D:** Sono tecniche di produzione additiva che costruiscono oggetti strato per strato utilizzando le informazioni da un file digitale. Queste tecnologie, adatte per polimeri, vetro bioattivi e ceramiche, offrono grande

flessibilità nella progettazione e nella personalizzazione delle strutture porose. Infatti permettono un controllo eccellente sulla geometria complessiva, la dimensione e la distribuzione dei pori, consentendo la fabbricazione di scaffold personalizzati per specifiche applicazioni cliniche [25].

- 7) **Separazione di fase indotta termicamente:** Si basa sulla separazione di due fasi (una solida e una liquida) all'interno di una soluzione polimerica a seguito di un cambiamento di temperatura. Il raffreddamento controllato consente la formazione di una rete porosa omogenea quando una delle due fasi viene rimossa. Tecnica adatta per polimeri termoplastici come PLLA e il PLGA. Permette di controllare la morfologia e la dimensione dei pori attraverso la regolazione della temperatura di separazione e del tasso di raffreddamento [39]. Il congelamento direzionale di sospensioni, che consiste nel controllare l'orientamento dei cristalli di ghiaccio durante il congelamento di un polimero a base di acqua o di un impasto ceramico, crea scaffold polimerici con pori allineati [25].
- 8) **Elettrofilatura e elettroscrittura a fusione:** Utilizzata principalmente per creare nanofibre, impiegando un campo elettrico per filare polimeri in soluzioni o in fusione. Questo processo produce scaffold con una rete di fibre sottili e porosità elevata, adatta per applicazioni in ingegneria tissutale [40]. La tecnica MEW (Direct Melt Electrowriting) è più adatta per generare biomateriali porosi omogenei con dimensioni dei pori ordinate *di grandi dimensioni* ($>100 \mu\text{m}$) e forme dei pori personalizzabili, fornendo un substrato adatto per l'infiltrazione cellulare [22].

1.3) Stampa 3D

In questo paragrafo si parlerà dello stato dell'arte dell'AM e delle diverse metodologie che essa racchiude, puntando maggiormente l'attenzione sulla stereolitografia (SLA).

1.3.1) Stato dell'Arte della Produzione Additiva

La Produzione additiva (Additive Manufacturing, AM), comunemente conosciuta come stampa 3D, è il termine generale per indicare quelle tecnologie che creano oggetti fisici mediante l'aggiunta successiva di strati di materiale, basandosi su un modello digitale tridimensionale. Questa tecnica si differenzia dai metodi tradizionali di produzione, come quelli sottrattivi e formativi, poiché non richiede l'uso di stampi o strumenti aggiuntivi. Le tecnologie di AM trovano applicazioni in diversi settori tra cui l'ingegneria, la medicina, l'istruzione, l'architettura e l'intrattenimento [41].

Il processo AM inizia con un file CAD dell'oggetto, che viene convertito in formato STL per adattarsi alla stampante 3D, che deposita strati di materiale fino a formare l'oggetto finale [42]. Dal suo sviluppo negli anni '80, l'AM ha visto una rapida evoluzione, non solo nelle tecnologie impiegate ma anche nella varietà di materiali disponibili, rivoluzionando settori come l'elettronica, la medicina, l'automotive e l'aerospaziale [43].

Uno dei principali vantaggi della produzione additiva è la capacità di creare oggetti con geometrie complesse, che sarebbero irrealizzabili con le tecniche di produzione tradizionali [44]. Inoltre, l'AM consente una notevole libertà di progettazione, permettendo la personalizzazione dei prodotti secondo le specifiche esigenze del cliente o dell'applicazione [45]. La riduzione degli sprechi del materiale, limitando l'uso solo della quantità necessaria per la costruzione dell'oggetto, contribuisce a una maggiore sostenibilità ambientale, rendendo l'AM una tecnologia sempre più ecologica [43]. Un altro vantaggio è la rapidità del ciclo di sviluppo del prodotto, che permette di attuare modifiche durante la fase di progettazione, riducendo i tempi: mentre i metodi di produzione tradizionali impiegano mesi, l'AM può completare un progetto in poche ore o giorni, favorendo la cosiddetta 'prototipazione rapida' [44]. Questa velocità è particolarmente utile in settori caratterizzati da rapidi cambiamenti e dalla necessità di rispondere tempestivamente alle dinamiche di mercato [42]. L'efficienza dell'AM nella produzione di piccoli lotti o unità singole permette una produzione economicamente vantaggiosa anche per serie limitate, riducendo la necessità di grandi scorte nel magazzino. L'adozione crescente di biomateriali e materiali riciclabili, derivati da risorse rinnovabili come la biomassa organica, rafforza ulteriormente l'impatto positivo di questa tecnologia sull'ambiente, favorendo un'economia circolare e sostenibile [45].

1.3.2) Tecnologie AM disponibili

Le tecnologie di produzione additiva sono classificate secondo la norma ISO/ASTM 52900, che organizza i processi in base ai materiali utilizzati (polimero, metallo, ceramica o composito), ai principi applicati per la fusione o l'incollaggio (fusione, fotopolimerizzazione, sinterizzazione, ecc.), alla forma della materia prima utilizzata (liquido, polvere, sospensione, filamento, ecc.) e al modo in cui il materiale viene riassembleato [46].

Le 7 categorie di processo di produzione additiva, basate sullo standard ISO/ASTM 52900, sono: binder jetting, direct energy deposition, material extrusion, material jetting, powder bed fusion, sheet lamination and vat photopolymerization [41].

Nel getto di legante (*binder jetting*) un agente liquido viene depositato selettivamente per unire materiali in polvere, formando strati solidi. La deposizione diretta di energia (*direct energy deposition, DED*), utilizza una fonte di energia termica focalizzata per fondere i materiali durante il deposito. Analogamente, la fusione a letto di polvere (*powder bed fusion, PBF*) impiega laser per fondere selettivamente regioni di un letto di polvere, producendo componenti metallici o polimerici attraverso metodi come la sinterizzazione laser selettiva (SLS) e la fusione laser selettiva (SLM). Nell'estrusione di materiali (*material extrusion*), i polimeri fusi o altre sostanze vengono depositati *strato per strato* attraverso un ugello, con processi come la fabbricazione di filamenti fusi (FFF), nota anche come modellazione a deposizione fusa (FDM), che utilizza polimeri termoplastici fusi, e la scrittura a inchiostro diretto (DIW) che non richiede la fusione dei materiali.

Altri processi di fabbricazione includono il getto di materiale (*material jetting*), che deposita selettivamente goccioline di materiale su una piattaforma tramite ugelli piezoelettrici, e la laminazione di fogli (*sheet lamination, SHL*), in cui fogli di materiale vengono incollati per formare una parte.

Infine, la fotopolimerizzazione in vasca (*vat photopolymerization VPP*), utilizza la luce per polimerizzare selettivamente un fotopolimero liquido contenuto in una vasca. Questa tipologia di fabbricazione include tecniche come la stereolitografia (SLA) e il digital light processing (DLP), che creano oggetti tridimensionali ad alta risoluzione con dettagli precisi attraverso la fotopolimerizzazione localizzata [41].

Una caratteristica chiave della stampa 3D è la relazione inversa tra l'area di stampa e la risoluzione: un aumento della risoluzione comporta generalmente una riduzione dell'area di stampa disponibile. Questo principio è visibile in tutte le tecnologie di stampa 3D, ognuna delle

quali offre un compromesso distinto, influenzando così la scelta della tecnologia più adatta in base alle specifiche esigenze progettuali.

Il continuo miglioramento delle tecniche e dei materiali, ha reso la produzione additiva sempre più efficiente e versatile, capace di produrre oggetti complessi con elevate proprietà meccaniche e finiture superficiali di alta qualità. Questo progresso ha portato un aumento del numero di tecnologie AM disponibili, rispondendo alla crescente domanda di prodotti personalizzati e di alta qualità [42].

Le tecnologie disponibili di stampa 3D differiscono per la modalità di deposito degli strati, principi operativi e materiali utilizzati, offrendo soluzioni diversificate per una vasta gamma di applicazioni, come illustrato in Figura 25 [43].

Di seguito l'analisi si focalizzerà su principali metodi citati: FDM, SLS/SLM, DIW, SLA.

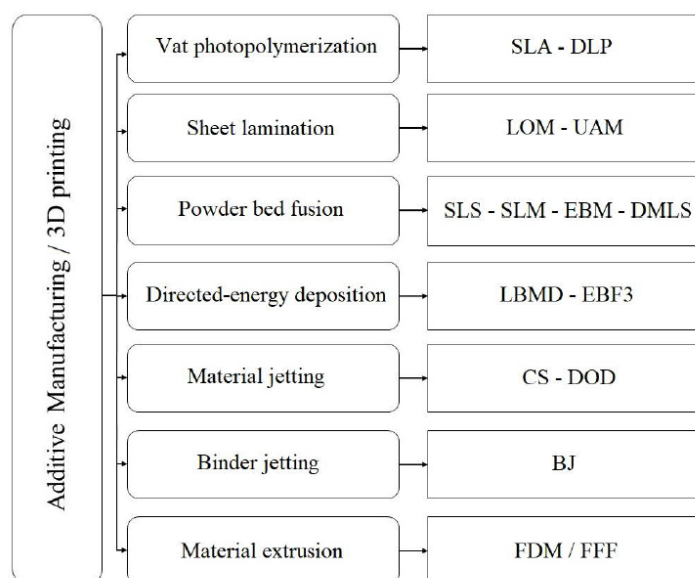


Figura 25: Classificazione standard delle tecnologie AM basata sulla norma ISO/ASTM 52900 [47].

- **FDM: Modellazione a Deposizione Fusa**

La modellazione a deposizione fusa (FDM), anche nota come Fused Filament Fabrication (FFF), è una delle tecnologie di stampa 3D più diffuse, impiegata per creare oggetti tridimensionali attraverso l'estrusione di filamenti termoplastici, che vengono depositati strato dopo strato seguendo un modello digitale [44]. Funziona grazie a una testina di stampa riscaldata che fonde un filamento di materiale termoplastico e lo estrude attraverso un ugello, per poi depositarlo su una piattaforma di costruzione. Il materiale solidifica rapidamente dopo l'estrusione, formando una struttura solida e stabile, dal basso verso l'alto [43].

I materiali comunemente usati nella FDM includono l'acido polilattico (PLA), noto per la sua biodegradabilità e facilità d'uso, e l'acrilonitrile butadiene stirene (ABS), che offre migliori

proprietà meccaniche e una finitura superficiale superiore, particolarmente utile per modelli dettagliati e componenti funzionali [44].

Uno dei principali vantaggi della tecnologia FDM è il suo costo relativamente basso, sia per quanto riguarda le macchine che i materiali di consumo, rendendola una delle opzioni più economiche tra le tecnologie di stampa 3D. Inoltre, la FDM è rinomata per la sua facilità d'uso e l'ampia disponibilità di macchine sul mercato, che variano da dispositivi di consumo a sistemi industriali avanzati [44]. Un altro punto di forza è la varietà di materiali disponibili, che include opzioni ecologiche e biocompatibili come il PLA, rendendola adatta per applicazioni in settori come quello ambientale e medico. Inoltre l'efficienza energetica della FDM, specialmente quando si utilizzano materiali come il PLA, può ridurre significativamente il consumo energetico necessario per la produzione di prodotti polimerici [45].

La FDM presenta alcune limitazioni significative. La precisione dimensionale è relativamente bassa, con una tolleranza tipica di circa $\pm 127 \mu\text{m}$, inferiore rispetto ad altre tecnologie di stampa 3D come la SLA, che offre una precisione di $\pm 50 \mu\text{m}$. Inoltre, gli oggetti stampati tendono ad avere una superficie più ruvida (R_a), un aspetto che può essere parzialmente migliorato attraverso l'ottimizzazione dei parametri di processo o tramite trattamenti post-processo. Un ulteriore svantaggio è rappresentato dai tempi di stampa, che possono essere lunghi, soprattutto quando si cerca di ottenere un'elevata precisione o una migliore qualità superficiale [42].

- **DIW: Scrittura a Inchiostro Diretto**

La scrittura diretta con inchiostro, nota anche come Direct Ink Writing (DIW), è un'altra tecnologia di stampa 3D basata sull'estrusione. Tuttavia, a differenza della modellazione a deposizione fusa FDM, che utilizza materiali termoplastici, la DIW si basa sull'uso di inchiostri viscoelastici per costruire oggetti tridimensionali. Nella tecnologia DIW, un ugello estrude inchiostri viscoelastici, che sono materiali con proprietà reologiche specifiche, inclusa una viscosità variabile che si riduce con l'aumento della velocità di taglio, un fenomeno noto come assottigliamento al taglio. Questo comportamento è cruciale per garantire che l'inchiostro possa essere estruso senza ostruzioni e che, una volta depositato, mantenga la forma desiderata. Per stabilizzare le forme stampate, è essenziale che il materiale abbia un modulo elastico al taglio sufficiente. Questo è spesso ottenuto aggiungendo agenti diluenti come l'argilla, che modificano le proprietà reologiche degli inchiostri, rendendoli adatti alla stampa. La versatilità della scelta dei materiali degli inchiostri, tra cui polimeri, ceramiche e materiali compositi, rende la DIW una tecnologia adatta per impieghi in settori specializzati, come la biomedicina, l'elettronica e la costruzione di materiali strutturali. Inoltre la tecnologia DIW è in grado di

stampare dettagli complessi e strutture intricate, rendendola ideale per applicazioni che richiedono alta precisione e personalizzazione. D'altra parte, i requisiti viscoelastici e reologici degli inchiostri e la loro preparazione, rendono la tecnologia DIW costosa e complessa rispetto ad altre tecnologie di stampa [43].

- **SLM: Fusione Laser Selettiva e SLS: Sinterizzazione Laser Selettiva**

La fusione laser selettiva (SLM) e la sinterizzazione laser selettiva (SLS) sono due tecnologie avanzate di produzione additiva che operano attraverso il processo di fusione a letto di polvere. Entrambe utilizzano un raggio laser per creare oggetti tridimensionali, ma differiscono per i materiali utilizzabili e i meccanismi di fusione delle polveri.

Nel processo SLM, le polveri metalliche sono fuse completamente per creare oggetti densi e solidi. Un raggio laser ad alta potenza scorre sulla superficie di un letto di polvere, fondendo selettivamente le particelle secondo le indicazioni di un modello digitale CAD. Dopo la solidificazione dello strato, un nuovo strato di polvere viene applicato, e il processo si ripete fino a completare l'oggetto. La SLS, invece, utilizza il calore di un laser per sinterizzare, ovvero fondere parzialmente, polveri di materiale. Questo processo unisce le particelle senza liquefarle completamente e consente di lavorare con una vasta gamma di materiali tra cui polimeri, metalli e ceramiche, il che la rende una tecnologia molto versatile. Le polveri non sinterizzate fungono da supporto per le strutture durante la costruzione, eliminando la necessità di supporti aggiuntivi [43].

La SLM è limitata principalmente ai metalli, come le leghe di ferro, titanio e nichel, che richiedono una fusione completa per ottenere le proprietà desiderate. Questo metodo permette di produrre componenti con elevate proprietà meccaniche, grazie alla completa fusione e solidificazione delle polveri metalliche, che garantisce alta densità e integrità strutturale. È consono per applicazioni in settori come l'aerospaziale e il biomedicale, dove sono richieste alte prestazioni meccaniche e resistenza a condizioni estreme. La tecnologia è anche molto adattabile in termini di design, consentendo la fabbricazione di geometrie complesse che sarebbero difficili o impossibili da realizzare con tecniche tradizionali. La SLS, d'altro canto, molto più versatile in termini di materiali, è idonea per una gamma più ampia di applicazioni, sebbene le parti prodotte siano generalmente meno dense e con proprietà meccaniche inferiori rispetto a quelle ottenute con SLM. Uno dei principali vantaggi della SLS è la sua capacità di produrre parti con geometrie complesse e cavità interne che sarebbero difficili da ottenere con altre tecnologie. La SLS offre anche una buona precisione dimensionale e può utilizzare materiali che non sono facilmente stampabili con altre tecnologie [43].

Entrambe i metodi offrono un'alta precisione (50-100 μm) e la capacità di produrre dettagli complessi. Questo è particolarmente vantaggioso per applicazioni che richiedono tolleranze strette e dettagli intricati [48].

Tuttavia, le tecnologie presentano alcuni svantaggi. In primis, le macchine per SLM e SLS, insieme ai materiali utilizzati, tendono ad essere costosi. Questo può rappresentare un ostacolo per le piccole imprese o i progetti con budget limitato [48]. Inoltre, la gestione delle polveri metalliche richiede attrezzature specializzate per garantire la sicurezza e la qualità durante il processo produttivo aumentando la complessità operativa. La necessità di mantenere una temperatura elevata durante la stampa e un raffreddamento controllato può complicare il processo, aumentando i tempi di produzione e il consumo energetico. Inoltre le polveri riutilizzate possono perdere qualità, perché si degradano nel tempo, influenzando negativamente la qualità del prodotto finale, riducendone la precisione e le proprietà meccaniche [44]. Infine, sebbene le tecnologie possano produrre oggetti con buona precisione, la finitura superficiale può essere un problema, in quanto le parti prodotte possono presentare superfici ruvide che richiedono trattamenti post-processo per ottenere una finitura liscia e uniforme, aumentando ulteriormente i costi e i tempi di produzione [48].

- **DLP: Digitale Light Processing**

L'elaborazione della luce digitale è una tecnologia di stampa simile alla SLA, ma utilizza un proiettore di luce digitale per polimerizzare simultaneamente un intero strato di resina fotopolimerica. Il cuore del sistema DLP è un dispositivo a micro-specchi digitali (Digital Micromirror Device, DMD), composto da milioni di piccoli specchi che possono orientarsi per riflettere la luce UV secondo il pattern desiderato. Questo metodo consente la polimerizzazione di strati interi in un singolo passaggio, rendendo il processo potenzialmente più rapido rispetto alla SLA, che invece utilizza un raggio laser per polimerizzare la resina punto per punto. La tecnologia DLP combina alta risoluzione e velocità di produzione, grazie alla capacità di proiettare pattern UV 2D sulla superficie della resina, polimerizzando così aree più ampie in tempi ridotti [43].

1.3.3) SLA: STEREOLOGRAFIA

La stereolitografia (SLA) è stata la prima tecnologia di stampa 3D inventata nel 1986, e rimane una delle più consolidate e utilizzate per la produzione di oggetti tridimensionali ad alta risoluzione [43].

- **Principio di funzionamento:**

Utilizza un laser ultravioletto (UV) per polimerizzare selettivamente una resina liquida fotopolimerica, solidificandola strato per strato secondo il modello digitale (CAD) dell'oggetto da realizzare. La macchina SLA, rappresentata in Figura 26, comprende un serbatoio per la resina, una piattaforma di costruzione mobile e un sistema di specchi per dirigere il raggio laser.

Durante il processo di stampa, il laser traccia il contorno di ciascuno strato sulla superficie della resina, solidificandola. Una volta che il layer è stato completato, la piattaforma di costruzione si sposta verticalmente per creare una piccola distanza, consentendo alla resina liquida di coprire il layer solidificato, e il processo si ripete fino al completamento dell'oggetto [42].

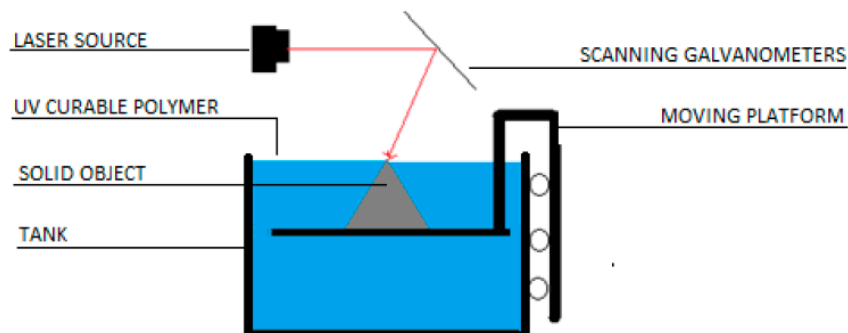


Figura 26: Macchina SLA [42].

- **Processo di fotopolimerizzazione:**

La SLA impiega la fotopolimerizzazione per solidificare resina liquida, trasformandola in un materiale plastico indurito.

Il processo di fotopolimerizzazione inizia con la *fotoiniziazione*, dove i fotoiniziatori presenti nella resina assorbono la luce UV e producono radicali liberi attraverso meccanismi come la scissione o l'astrazione. Seguono fasi di *transizione di eccitazione*, dove le molecole assorbono fotoni passando a stati eccitati. Possono poi tornare a un minor stato energetico, durante la *diseccitazione*, in cui l'energia viene rilasciata attraverso processi radiativi (fluorescenza o fosforescenza) o non radiativi (rilascio di calore senza emissione di luce, attraverso processi interni), che possono coinvolgere la fluorescenza o la fosforescenza.

Infine, il meccanismo di polimerizzazione coinvolge tre fasi: iniziazione, propagazione e terminazione delle catene polimeriche, portando alla solidificazione della resina. Nella prima, i radicali liberi attaccano i monomeri della resina generando specie attive e iniziando la formazione di catene polimeriche. Poi, le specie continuano a reagire con altri monomeri, facendo crescere le catene polimeriche. La polimerizzazione si conclude quando i radicali vengono neutralizzati, interrompendo la crescita delle catene. Alla fine, la crescita delle catene si arresta quando i radicali vengono neutralizzati. Durante la solidificazione, si verificano processi di gelificazione (la resina passa da uno stato liquido ad uno solido gommoso) e vetrificazione (la resina diventa ad uno stato vetroso), che influenzano le proprietà finali del materiale, come la viscosità e la densità di reticolazione, determinando la qualità dell'oggetto stampato [44].

- **Classificazione della Stereolitografia:**

La SLA è classificata in base al movimento della piattaforma di costruzione e al movimento del laser. Nel primo criterio, si distingue tra configurazioni 'top-down' e 'bottom-up', visibili in Figura 27. Nel primo metodo, la piattaforma di costruzione si solleva durante il processo di stampa, consentendo alla resina di riempire lo spazio creato sotto di essa. Questo approccio offre vantaggi come una maggiore sicurezza, in quanto il laser è confinato all'interno del dispositivo di stampa, e una migliore qualità della superficie stampata. Invece, nel 'bottom-up', la piattaforma si abbassa dopo la polimerizzazione di ogni strato, con la resina liquida posizionata sopra di essa. Questo metodo facilita la rimozione dell'oggetto stampato e consente un migliore controllo sulla distribuzione della resina [44]. Per quanto riguarda il movimento del laser, esistono due tecniche principali: la stereolitografia a proiezione (PSL) e la stereolitografia a scansione (SSL). La prima utilizza un singolo scatto di esposizione laser per ogni strato, ideale per la stampa di piccoli oggetti ad alta risoluzione. D'altro canto, la SSL, scansiona l'intera superficie di ogni strato, rendendola adatta per oggetti di grandi dimensioni a scapito della risoluzione. Esiste anche una tecnica ibrida, chiamata stereolitografia basata su proiezione a scansione (SPSL), che combina i vantaggi delle due tecniche precedenti [44].

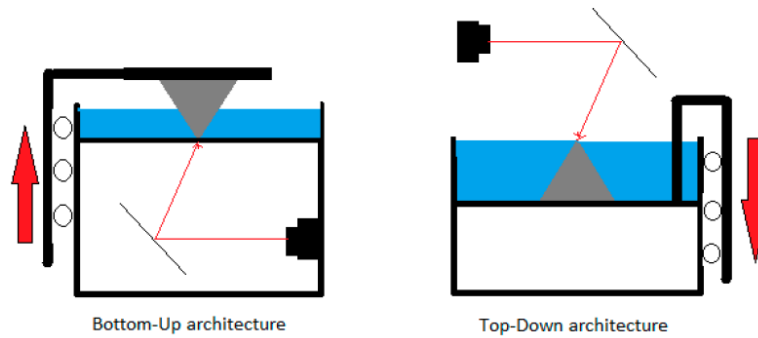


Figura 27: Schemi delle due configurazioni della macchina: SLA bottom-up (a sinistra) e SLA top-down (a destra) [42].

- **Caratteristiche oggetti stampati:**

Questa tecnologia permette di produrre oggetti con una risoluzione estremamente elevata, fino a 25 micron, con dettagli molto fini, grazie alla capacità di controllare con precisione il punto di focalizzazione del laser e la profondità della polimerizzazione [43].

Gli oggetti realizzati con SLA presentano superfici lisce. Tuttavia, possono manifestare un effetto a gradini, particolarmente visibile su superfici inclinate o curve, che può essere ridotto attraverso trattamenti post-elaborazione. I modelli polimerici stampati con SLA offrono buone proprietà meccaniche come resistenza alla trazione e modulo di elasticità, rendendoli adatti a una varietà di applicazioni industriali, incluse quelle biomediche e dentali [42].

Inoltre la SLA è in grado di utilizzare una vasta gamma di materiali, inclusi quelli biodegradabili e biocompatibili, rendendola ideale per applicazioni in ambiti come la biomedicina e l'ingegneria dei tessuti. Recentemente, sono state sviluppate resine fotopolimeriche biodegradabili per la SLA, come i copolimeri di trimetilene carbonato e poli (ϵ -caprolattone), nonché poli (propilene fumarato), che supportano la sostenibilità nella produzione additiva [45].

- **Parametri che influenzano la stampa:**

La stereolitografia (SLA) è una tecnica di stampa 3D altamente accurata, in cui vari parametri, come la risoluzione, la qualità della superficie e le proprietà meccaniche, influenzano la precisione, la qualità e le caratteristiche finali dei pezzi prodotti [42], [44].

- 1) **Profondità e larghezza di polimerizzazione**

La profondità di penetrazione (C_d) e la larghezza di polimerizzazione (L_w), visibili in Figura 28, sono fondamentali per definire la risoluzione e la precisione dei dettagli nella stampa SLA [44].

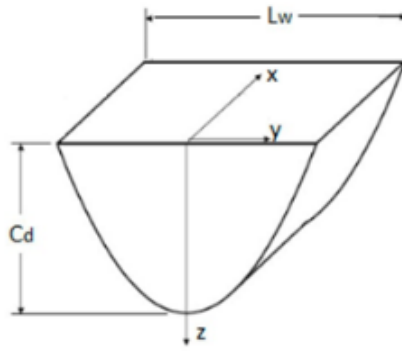


Figura 28: Una linea polimerizzata di un polimero durante il processo SLA [42].

La **profondità di polimerizzazione** (C_d) rappresenta la distanza alla quale la resina fotosensibile si solidifica a causa dell'esposizione alla luce UV. Questo parametro è cruciale per la determinazione della risoluzione verticale e l'integrità strutturale delle parti stampate. La profondità di polimerizzazione è fortemente influenzata dalle proprietà intrinseche della resina, come il contenuto di nanoparticelle, le loro dimensioni, e l'indice di rifrazione sia delle nanoparticelle che della resina stessa [44].

La profondità di polimerizzazione, può essere calcolata mediante l'equazione di Beer-Lambert, che descrive come C_d sia correlata all'energia massima di esposizione (E_{max}) e all'energia critica necessaria per avviare la polimerizzazione (E_c). La formula è espressa come [42]:

$$C_d = D_p \ln\left(\frac{E_{max}}{E_c}\right)$$

Dove D_p è una costante caratteristica del materiale che rappresenta la profondità di penetrazione alla quale l'intensità della luce è ridotta a 1/e del valore iniziale [42].

La **larghezza di polimerizzazione** (L_w) si riferisce all'ampiezza dell'area solidificata per un dato passaggio del raggio laser, influenzando la risoluzione orizzontale della stampa. Questo parametro dipende dalla dispersione della luce nel materiale e dal profilo del raggio laser. Una maggiore dispersione causa un incremento della larghezza di polimerizzazione, peggiorando la risoluzione, quindi riducendo la precisione dei dettagli orizzontali [44]. L'equazione che descrive la larghezza di polimerizzazione è [44]:

$$L_w = F \sqrt{\ln \frac{E}{\varphi E_c}}$$

Dove F e φ sono fattori determinati dal profilo del raggio laser e dalla natura del composito di resina. E_c dipende esclusivamente dal fotoiniziatore e dal monomero liquido. L'energia fornita

E è calcolata considerando la potenza del laser (p_0), alla velocità di scansione (v_s) e al diametro del raggio laser sulla superficie della resina (w_0) [44]:

$$E = \frac{2p_0}{\pi w_0 v_s}$$

Dalle equazioni fornite risulta evidente che C_d e L_w sono ampiamente influenzati dalle proprietà delle nanoparticelle, tra cui la concentrazione di carico, l'indice di rifrazione e le dimensioni. [44] Un'ampia differenza nell'indice di rifrazione tra nanoparticelle e resina liquida può aumentare la dispersione della luce, riducendo la profondità e aumentando la larghezza di polimerizzazione, con conseguente peggioramento della risoluzione [42].

2) Spessore dello strato

Lo spessore dello strato è un parametro critico che determina la risoluzione verticale della stampa SLA. Strati più sottili consentono una risoluzione maggiore e una finitura superficiale più liscia, ma aumentano il tempo di stampa complessivo. La scelta dello spessore è vincolata dalla lunghezza d'onda del laser e dalla distribuzione spettrale, che influenzano la profondità di penetrazione della luce nella resina [42].

3) Caratteristiche del laser:

La lunghezza d'onda della luce laser, solitamente compresa tra 300 e 400 nm, deve essere compatibile con il fotoiniziatore presente nella resina, il quale deve assorbire questa lunghezza d'onda per generare radicali liberi necessari alla polimerizzazione. Il diametro del raggio laser influisce sulla risoluzione orizzontale; diametri più piccoli permettono dettagli più fini [44].

4) Tempo di attesa:

Permettere alla resina di riposare tra le scansioni può ridurre la tensione superficiale e migliorare il legame tra gli strati, ma allunga il tempo di stampa complessivo. L'uso di resine a bassa viscosità o meccanismi come il movimento a lama strisciante può mitigare questo problema [42].

5) Parametri post-elaborazione:

Il trattamento post-elaborazione, che include il risciacquo in acqua, la pulizia in alcool etilico, la rimozione dei supporti e la polimerizzazione finale in una camera UV, è essenziale per migliorare la qualità finale delle parti [42]. La post-elaborazione permette di ridurre la rugosità superficiale e migliorare le proprietà meccaniche delle parti stampate, come resistenza alla trazione e modulo di elasticità [44].

1.4) Scopo della tesi

Il principale obiettivo di questa tesi è la creazione di modelli geometrici biomimetici dell'osso, progettati per replicare le caratteristiche strutturali, meccaniche e biologiche delle sue componenti corticale e trabecolare. Questi modelli trovano applicazione in molteplici ambiti, tra cui la formazione, le simulazioni meccaniche, lo studio di patologie, la simulazione funzionale e la fabbricazione di scaffold. L'approccio adottato combina tecniche di modellazione avanzate e metodologie digitali per sviluppare rappresentazioni accurate e versatili dell'architettura ossea.

Lo scopo di questo studio è quello di progettare uno scaffold, che riproduca accuratamente le caratteristiche morfologiche e strutturali dell'osso naturale, offrendo un equilibrio tra porosità e resistenza meccanica. Tenendo conto dei parametri strutturali, presentati in sezione 1.2.2., si cerca di sviluppare scaffold biomimetici che replichino la geometria e le proprietà dell'osso naturale, garantendo un ambiente ottimale per la rigenerazione ossea e il recupero funzionale del tessuto danneggiato.

Questo progetto mira a sviluppare una soluzione innovativa per la rigenerazione ossea, superando i limiti delle tecniche tradizionali come gli innesti autologhi e gli allotrapianti, che presentano problematiche legate alla disponibilità, al rigetto o alle infezioni.

Capitolo 2: Metodi utilizzati per la progettazione dello scaffold

In questo capitolo andremo a descrivere una metodologia di modellazione ed analisi di un tratto osseo con particolare attenzione alla struttura trabecolare. La metodologia proposta può trovare impiego in diversi contesti quali la simulazione (meccanica e funzionale) e la realizzazione di scaffold con tecnologie additive.

Ad esempio, per la creazione di uno scaffold personalizzato da utilizzare nella produzione additiva (AM, Additive Manufacturing), è essenziale sviluppare un modello CAD tridimensionale (3D). A seconda dell'applicazione il modello deve includere le informazioni necessarie allo scopo. Una volta progettato, il modello viene esportato in formati compatibili come .stl , .ply, obj o .step, tenendo conto della porosità desiderata, della dimensione target dei pori e delle dimensioni complessive dello scaffold. Il processo permette di produrre strutture che rispondano alle esigenze biomeccaniche e funzionali, favorendo la rigenerazione ossea [49].

Il capitolo è organizzato come segue. La prima sezione offre una visione dei possibili approcci alla progettazione di scaffold. La sezione successiva descrive il metodo proposto in questa tesi per generare lo scaffold biomimetico, analizzando il funzionamento dei diagrammi di Voronoi, del software Rhinoceros e del plugin Grasshopper. Successivamente viene descritta nel dettaglio la procedura per ottenere e analizzare lo scaffold osseo in Grasshopper. Infine vengono mostrati nel dettaglio i passaggi per modificare i parametri.

2.1) Approcci alla modellazione geometrica

Questa sezione fornisce informazioni riguardo la classificazione dei materiali cellulari, degli approcci alla modellazione geometrica dei materiali cellulari e dei Limiti degli approcci tradizionali alla progettazione degli scaffold.

Un materiale cellulare è definito come un solido costituito da una rete interconnessa di montanti o piastre che formano bordi e facce delle cellule. Questo tipo di struttura è tipico di materiali porosi come spugne, sugheri o osso trabecolare. I materiali cellulari, spesso indicati come strutture reticolari, possono avere dimensioni delle celle unitarie comprese tra 0,1 e 10 mm. Queste caratteristiche li rendono ideali per applicazioni che richiedono leggerezza, alta porosità e specifiche proprietà meccaniche, come nell'ingegneria tissutale [49]

- **Classificazione dei Materiali cellulari**

I materiali cellulari possono essere classificati in base alla distribuzione delle celle nell'intera struttura, alla topologia e alla geometria delle celle e alle dimensioni degli elementi cellulari (Figura 29).

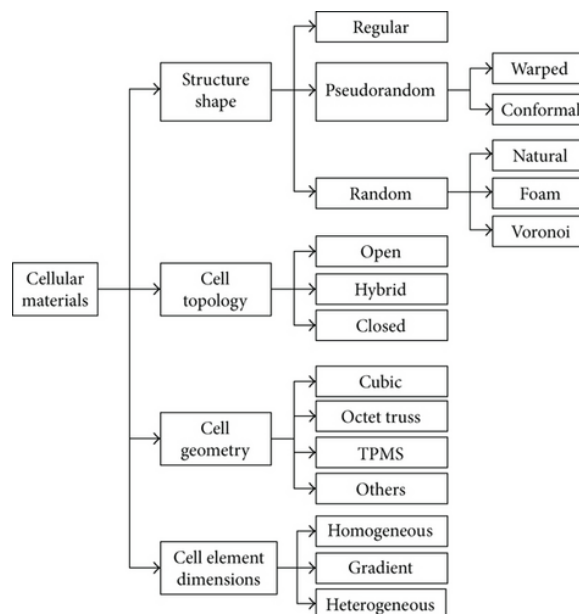


Figura 29: Schema di Classificazione dei materiali cellulari [49]

1) Forma della struttura:

- **Regolare:** Le celle unitarie si ripetono uniformemente nello spazio.
- **Pseudocasuale:** Le celle variano in forma e dimensione per adattarsi a specifiche esigenze progettuali. Possono essere strutture deformate (celle mantengono topologia ma subiscono deformazioni) o conformi (celle si adattano a una geometria esterna variando geometria e dimensioni).
- **Casuale:** Le celle sono distribuite e modellate in maniera casuale, come nelle ossa trabecolari. Questo tipo di struttura può essere ottenuto tramite diagrammi di Voronoi.

2) Topologia cellulare:

- **Materiali Cellulari Aperti:** I pori sono interconnessi, ideali per applicazioni biomediche in cui il flusso di fluidi è essenziale. nelle applicazioni biomediche, come l'ingegneria tissutale, dove la connessione tra le cellule è necessaria per consentire lo scambio di fluido e la ricrescita dei tessuti
- **Materiali Cellulari Chiusi:** I pori non sono interconnessi, adatti per applicazioni strutturali.
- **Materiali Cellulari Ibridi:** Combinano porzioni aperte e chiuse.

3) Geometria delle celle:

Le celle possono avere forme semplici: cubica semplice (SC) (Figura 30A), la cella cubica a corpo centrato (BCC) (Figura 30B) e la cella cubica a corpo centrato rinforzata (RBCC) (Figura 30C), cella *a traliccio otetto* (OT) (Figura 30D), celle Gibson-Ashby modificate (GA) (Figura 30E) e le celle Wallach-Gibson modificate (WG) (Figura 30F). Le celle possono essere anche molto complesse come le *superfici minime triplamente periodiche* (TPMS), come il giroide di Schoen, la superficie P di Schwarz [49].

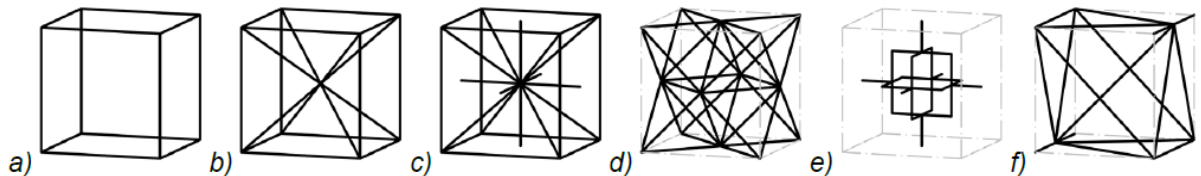


Figura 30: da articolo Savio 2015. Tipi di cellule: (a) SC, (b) BCC, (c) RBCC, (d) OT, (e) GA e (f) WG.

4) Dimensioni degli elementi cellulari:

Infine, concentrandosi sulla dimensione (vale a dire, lo spessore di un TPMS o il diametro del raggio di una struttura reticolare) degli elementi della cella, viene presentata un'altra classificazione. Se tutti gli elementi della cella hanno lo stesso spessore, può essere chiamata *cella omogenea*; altrimenti, se lo spessore dei montanti è diverso, la cella può essere chiamata *eterogenea*. Se lo spessore degli elementi della cella varia gradualmente secondo uno schema, può essere definito materiale cellulare *a cella a gradiente* [49].

- **Classificazione degli approcci alla modellazione geometrica**

La modellazione di geometrie solide può essere classificata principalmente in due approcci: rappresentazione del confine (BRep) che descrive la superficie tra un solido e l'ambiente circostante e rappresentazione del volume (VRep) che descrive l'intero solido punto per punto (Figura 31) [49].

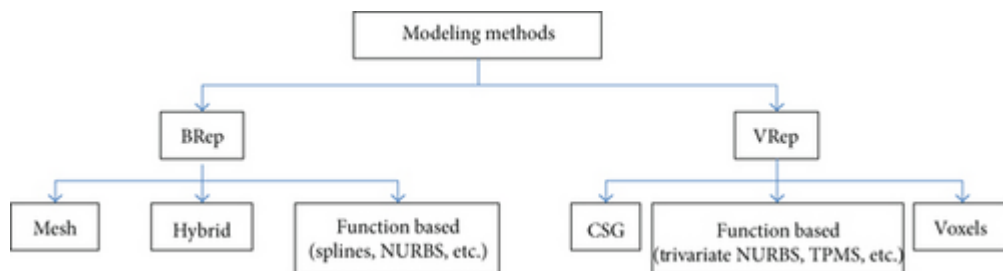


Figura 31: Metodi di modellazione geometrica dei materiali cellulari [49].

Boundary Representation (BRep): La Boundary Representation (BRep), o rappresentazione del confine, descrive un oggetto tridimensionale attraverso le sue superfici esterne, che separano il solido dall'ambiente circostante. In questo approccio, la geometria del modello è definita dai suoi elementi costitutivi principali [49]:

- Vertici, che rappresentano punti nello spazio.
- Spigoli, che sono linee che collegano i vertici.
- Facce, che costituiscono le superfici dell'oggetto.

Le superfici possono essere descritte tramite funzioni matematiche (NURBS, B-Spline, Bézier) o attraverso mesh poligonali. Questo metodo è comunemente usato per generare file in formati standard come .stl o .ply, che sono ampiamente adottati nella produzione additiva e nei processi di stampa 3D. Uno dei principali punti di forza del BRep è la sua capacità di rappresentare superfici complesse con elevata precisione, rendendolo ideale per applicazioni che richiedono dettagli visivi raffinati. Inoltre, il BRep consente di eseguire operazioni booleane, come l'unione, l'intersezione o la sottrazione di oggetti geometrici, facilitando la creazione di geometrie composite. Tuttavia, questo approccio non descrive l'interno del solido, considerandolo "vuoto" e non è quindi adatto per rappresentare proprietà interne, come la variazione graduale della densità o altri gradienti funzionali. Inoltre, in geometrie particolarmente complesse, le operazioni booleane possono generare errori computazionali, rendendo l'elaborazione più complessa [49].

Volume Representation (VRep): La Volume Representation (VRep), o rappresentazione del volume, descrive l'oggetto tridimensionale non solo attraverso le sue superfici, ma anche considerando l'intero volume interno. La geometria è rappresentata punto per punto all'interno del volume dell'oggetto. Questo approccio si basa su due principali modalità di rappresentazione [49]:

- Voxel: L'oggetto viene suddiviso in unità volumetriche elementari, simili ai pixel in 2D ma applicati in tre dimensioni.
- Funzioni trivariate: Alcuni metodi rappresentano il volume usando funzioni matematiche continue che definiscono il solido in ogni punto dello spazio attraverso una funzione che restituisce: valori positivi per i punti interni al solido, Valori nulli per i punti sul confine, valori negativi per i punti esterni al solido.

Questa metodologia è particolarmente adatta per materiali funzionalmente graduati, dove le proprietà dell'oggetto, come lo spessore o la densità, variano gradualmente all'interno del

volume. Ad esempio, può essere utilizzata per progettare scaffold biomedicali con densità personalizzate o gradienti di proprietà meccaniche. Un vantaggio chiave della VRep è la sua capacità di descrivere con precisione proprietà interne, rendendola ideale per applicazioni che richiedono un controllo completo del volume dell'oggetto. Tuttavia, questo approccio è più computazionalmente complesso rispetto al BRep, poiché richiede maggiori risorse per rappresentare e gestire grandi quantità di dati volumetrici [49].

La scelta tra BRep e VRep dipende dalle esigenze progettuali: BRep è preferibile per la modellazione di superfici dettagliate e VRep per la rappresentazione di proprietà interne.

- **Limiti degli approcci tradizionali alla progettazione degli scaffold.**

Gli approcci tradizionali per la progettazione di scaffold ossei si basano principalmente sulla ripetizione regolare di celle unitarie in matrici tridimensionali. Sebbene questi metodi siano stati ampiamente utilizzati grazie alla loro semplicità e prevedibilità, presentano una serie di limiti significativi che ne riducono l'efficacia nella rigenerazione tissutale. Uno dei principali limiti è la *scarsa biomimesi*. Le strutture generate non imitano accuratamente la complessità e l'irregolarità della morfologia trabecolare naturale dell'osso. Inoltre questi approcci presentano *limitazioni geometriche*, poiché la ripetizione uniforme delle celle unitarie produce strutture regolari e prevedibili. Questa regolarità limita la possibilità di creare distribuzioni realistiche dei pori e variazioni spaziali. Un ulteriore problema è la scarsa personalizzazione, in quanto non è possibile adattare la microstruttura dello scaffold alle specifiche esigenze anatomiche del paziente. Infine questi metodi presentano una difficoltà di controllo parametrico, ovvero una limitata capacità di regolare con precisione parametri chiave come la porosità, la dimensione dei pori e l'interconnessione tra i pori. Questa mancanza di flessibilità limita la possibilità di ottimizzare lo scaffold per soddisfare contemporaneamente i requisiti meccanici, biologici e anatomici richiesti dalla rigenerazione tissutale [50].

2.2) Procedura di modellazione dello scaffold basato sul reticolo di Voronoi.

Nel presente lavoro è stato adottato un approccio basato sui diagrammi di Voronoi per la progettazione dello scaffold tridimensionale, al fine di generare una struttura cellulare casuale che riproduca le caratteristiche irregolari e biomimetiche dell'osso naturale. La modellazione geometrica dello scaffold è stata realizzata attraverso un approccio BRep (Boundary Representation), che descrive la struttura mediante la rappresentazione delle superfici di

confine delle celle di Voronoi. Per la realizzazione pratica del modello, è stato utilizzato il software Rhinoceros 3D integrato con il plug-in parametrico Grasshopper.

Il metodo proposto si ispira all'approccio generativo biomimetico descritto da Fantini et al, che utilizza i diagrammi di Voronoi per superare i limiti degli approcci tradizionali [50]. Questo sistema consente di progettare scaffold con microstrutture porose e interconnesse che imitano in modo realistico l'organizzazione irregolare e complessa delle trabecole ossee naturali. Poiché la modellazione si basa sulla progettazione del processo piuttosto che sulla semplice definizione di una forma statica, è possibile ottenere forme complesse tramite un processo di modellazione automatico e modificarle interattivamente per soddisfare esigenze biomeccaniche e anatomiche specifiche. Un aspetto cruciale di questo approccio è la possibilità di regolare parametri come porosità e dimensione dei pori, intervenendo sul numero e sulla distribuzione dei semi che generano il diagramma di Voronoi [50].

- **Diagrammi di Voronoi**

Il metodo proposto inizia con la generazione di un diagramma di Voronoi, che è una rappresentazione geometrica che suddivide uno spazio in diverse regioni basandosi sulla distanza da un insieme di punti detti semi. Ogni regione, chiamata cella di Voronoi, è associata a un singolo seme e include tutti i punti che sono più vicini a quel seme rispetto a qualsiasi altro. Questa partizione spaziale è ampiamente utilizzata per modellare strutture irregolari, ispirandosi a configurazioni naturali, e trova applicazione in numerosi campi scientifici e ingegneristici [51].

La costruzione di un diagramma di Voronoi segue un processo ben definito [52]:

1. Si parte con un insieme di punti (n), chiamati semi, distribuiti nello spazio. Questi punti rappresentano i centri di influenza delle regioni che verranno generate.

2. Ogni seme genera una regione espandendosi uniformemente nello spazio. Questa espansione può essere immaginata come cerchi concentrici in 2D o sfere in 3D che si allargano partendo dai semi. L'espansione avviene a una velocità uniforme per tutti i semi.

3. Quando due semi si incontrano durante l'espansione, si forma un confine tra di loro. Questo confine separa le regioni di influenza dei due semi ed è costituito da punti equidistanti da entrambi. Nello spazio ci sono più semi, il processo continua finché ogni punto dello spazio è associato al seme più vicino, creando così le celle di Voronoi (Figura 32).

4. Alla fine, lo spazio viene suddiviso completamente in celle di Voronoi. In 2D, le celle assumono forma di poligoni convessi separati da segmenti di linea. In 3D, invece, le celle

diventano poliedri convessi delimitati da piani. Nella Figura 33, è mostrato un esempio del diagramma di Voronoi 3D.

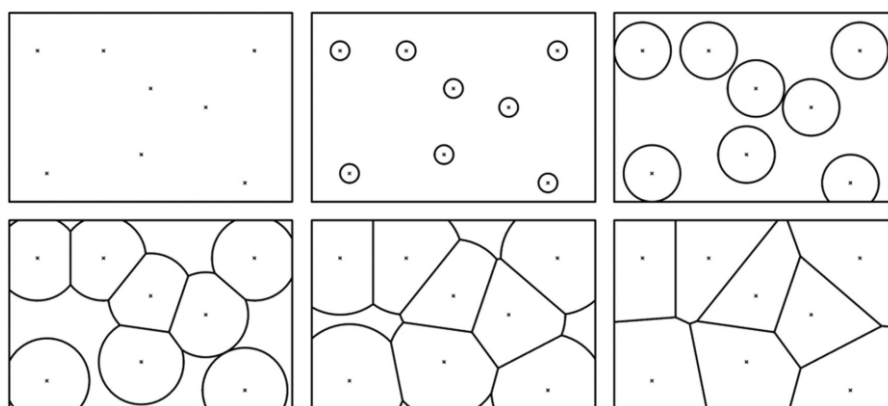


Figura 32: Rappresentazione grafica della formazione di un diagramma di Voronoi 2D [50].

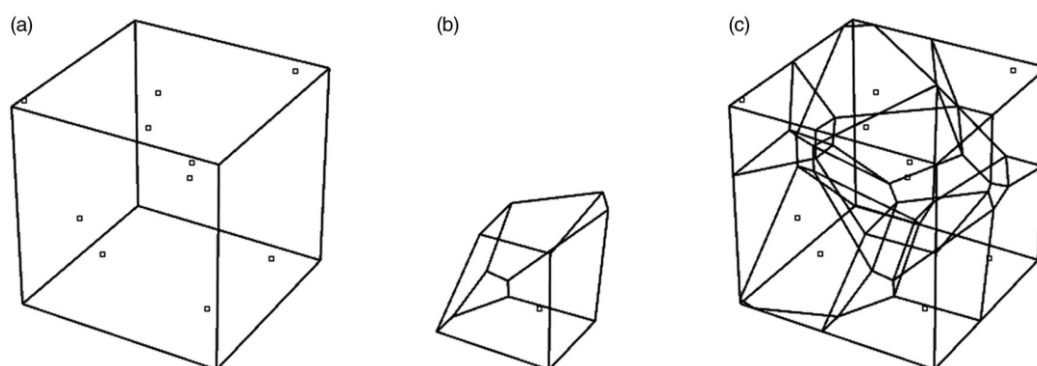


Figura 33: esempio tridimensionale di un diagramma di Voronoi: (a) Cubo di riferimento, (b) Poliedro generato (c) Partizione nei poliedri di Voronoi 3D [50].

- **Rhinoceros**

Rhinoceros[®], o Rhino, è un software commerciale per la modellazione 3D assistita da computer (CAD) sviluppato da Robert McNeel & Associates [54]. Nato inizialmente come plug-in per AutoCAD, è oggi una piattaforma indipendente ampiamente utilizzata in settori come il design industriale, l'architettura, il design navale, il design automobilistico, la prototipazione rapida e l'ingegneria inversa [54]. Il software implementa diverse strutture dati, tra le quali ci sono anche le NURBS (Non-Uniform Rational B-Splines), che consente di rappresentare in modo accurato qualsiasi forma geometrica, da semplici linee bidimensionali, cerchi e archi, fino alle superfici organiche tridimensionali [54]. Rhinoceros è un potente software CAD 3d utilizzato per modellare geometrie complesse [55]. Supporta la creazione, modifica, analisi, documentazione, rendering, animazione e traduzione di modelli NURBS [53].

Vantaggi di Rhinoceros:

1. **Modellazione basata su NURBS:** Rhinoceros consente di modellare con precisione sia forme geometriche semplici che organiche complesse. Questa flessibilità lo rende adatto

per progetti finalizzati alla produzione di modelli 3D altamente dettagliati [56]. Grazie alla sua capacità di rappresentare una vasta gamma di geometrie con elevata precisione, Rhinoceros trova applicazioni in processi che spaziano dall'illustrazione all'animazione, fino alla prototipazione e alla produzione industriale [53], [54].

2. **Versatilità e Compatibilità:**

Rhinoceros supporta oltre 30 formati di file, garantendo una facile interoperabilità con altri software di progettazione come AutoCAD e SketchUp. Questa caratteristica facilita l'importazione, l'esportazione e la conversione di modelli tra diversi ambienti CAD. La sua compatibilità con una vasta gamma di formati lo rende ideale per applicazioni multidisciplinari che richiedono interoperabilità e scambio di dati di modelli tra diverse piattaforme. Inoltre, è particolarmente apprezzato per la capacità di integrare modelli creati con altri software e di rifinirli per ottenere prodotti tridimensionali finali di alta qualità. [53],[54], [55].

3. **Ecosistema di plug-in:** Il software offre un'ampia gamma di plug-in integrati e di terze parti, tra cui Flamingo, Penguin e V-Ray, che ampliano le sue capacità aggiungendo funzionalità per rendering fotorealistici, animazioni e rappresentazioni avanzate [53].

Inoltre plug-in come Grasshopper aggiungono funzionalità per la progettazione parametrica e le simulazioni avanzate, rendendo il software potente per analisi specialistiche [55].

4. **Accessibilità e Apprendimento:** Rhinoceros è considerato un software "leggero" grazie al suo modello basato su NURBS [54]. Numerosi tutorial interattivi sono disponibili per facilitare l'apprendimento, rendendolo uno strumento accessibile a studenti e professionisti [53].

5. **Efficienza:** Grazie alla possibilità di creare geometrie semplificate, Rhinoceros è efficiente nelle fasi preliminari di progettazione, dove sono necessarie simulazioni rapide per valutare e ottimizzare le soluzioni progettuali [55].

Tuttavia presenta alcuni svantaggi. In primis la dipendenza dai plug-in. Per funzionalità avanzate, come analisi energetiche o rendering realistici di strutture complesse è necessario ricorrere a plug-in esterni. Questa dipendenza può limitarne l'utilizzo come strumento autonomo, rendendo indispensabile l'integrazione con applicativi aggiuntivi. Inoltre non fornisce dettagli su proprietà meccaniche, limitando così il suo impiego in alcune applicazioni avanzate [55]. Nonostante le sue capacità avanzate di modellazione, Rhinoceros è percepito meno intuitivo rispetto a software come Sketchup, secondo un'indagine condotta tra studenti [54].

- **Grasshopper**

Grasshopper è un plug-in integrato in Rhinoceros che consente la modellazione parametrica tramite un editor grafico di algoritmi. Questo approccio consente la generazione automatizzata di elementi progettuali attraverso parametri definiti dall'utente, migliorando significativamente l'efficienza del flusso di lavoro. La modellazione parametrica permette di controllare e variare dinamicamente i componenti di un progetto seguendo regole algoritmiche, rendendo Grasshopper uno strumento particolarmente utile per simulazioni preliminari e ottimizzazioni progettuali [55].

Uno dei principali vantaggi di Grasshopper è la capacità di gestire varianti progettuali in modo dinamico, semplificando la creazione e la modifica di geometrie complesse. Rispetto ai metodi tradizionali, Grasshopper riduce il numero di parametri di input necessari, ottimizzando i tempi di calcolo e le risorse computazionali. Questa efficienza lo rende particolarmente utile nelle fasi iniziali di progettazione, dove sono richieste simulazioni rapide e l'adattamento delle soluzioni progettuali a esigenze specifiche. Tuttavia, l'uso efficace di Grasshopper richiede una conoscenza di base della progettazione parametrica e degli algoritmi. Inoltre modelli dettagliati richiedono tempi di simulazione significativamente più lunghi, rappresentando un limite nelle fasi avanzate di progettazione [55].

L'integrazione tra Rhinoceros e Grasshopper rappresenta un potente strumento per affrontare le sfide progettuali in ambito architettonico e ingegneristico. Rhinoceros offre un elevato livello di dettaglio nella modellazione tridimensionale, rendendolo ideale per supportare decisioni progettuali complesse. Grasshopper, complementare a Rhinoceros, consente di generare varianti progettuali con precisione e rapidità e di effettuare simulazioni rapide e precise, particolarmente utili nelle fasi preliminari di progettazione [53], [55].

2.3) Modellazione della struttura ossea

La modellazione dell'osso trabecolare e dell'osso corticale rappresenta un processo fondamentale per la riproduzione virtuale della struttura ossea. La simulazione di una geometria che rispecchi le caratteristiche funzionali e strutturali dell'osso è cruciale in ambiti quali l'ingegneria dei tessuti e la bioingegneria. A tal fine, si utilizza un approccio computazionale basato su algoritmi generativi implementati in Grasshopper, un ambiente di modellazione parametrica. Di seguito vengono analizzati nel dettaglio i passaggi effettuati per realizzare l'osso trabecolare, l'osso corticale e l'osso intero, mostrati in Figura 34.

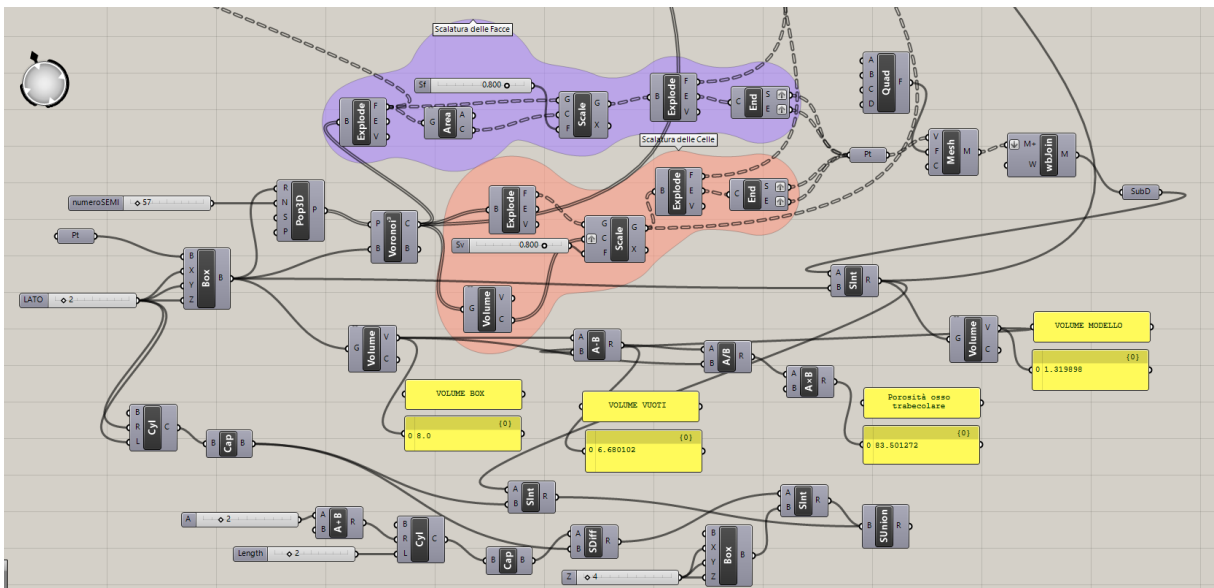


Figura 34: Rappresentazione schematica del processo di modellazione ossea tramite Grasshopper, con parametri ottimali.

2.3.1) Creazione dell'osso trabecolare:

La struttura trabecolare viene modellata attraverso un processo basato su celle poliedriche generate tramite diagrammi di Voronoi, con successive operazioni di scalatura delle facce e delle celle per simulare i pori e i canali connettivi. I passaggi successivi includono la generazione di una mesh regolare e continua e l'intersezione con un volume di confinamento, al fine di ottenere un modello solido e chiuso, pronto per successive analisi e simulazioni.

Passaggi operativi:

1) Creazione della regione di Modellazione (Domain Box): Il primo passo consiste nella definizione della regione limite per il modello osseo, utilizzando un box tridimensionale generato con il componente *Domain Box*. Questo box rappresenta il contorno entro cui si

svilupperà la struttura trabecolare, nel nostro caso il lato del box è stato impostato a 2mm (Figura 35A)

2) Generazione dei punti di Popolamento (Populate 3D): All'interno della regione R, si genera una popolazione casuale di n punti usando *Populate 3D*. Nel nostro caso i punti sono stati impostati a 57 (Figura 35 B). Questi punti fungono da semi per le celle di Voronoi e ne determinano la distribuzione spaziale.

3) Creazione del Diagramma di Voronoi 3D: I punti generati nella fase precedente vengono utilizzati per costruire un diagramma di Voronoi 3D, in cui ogni seme genera una cella poliedrica rappresentativa di una porzione (poro con relative trabecole) della struttura trabecolare ossea (Figura 35C).

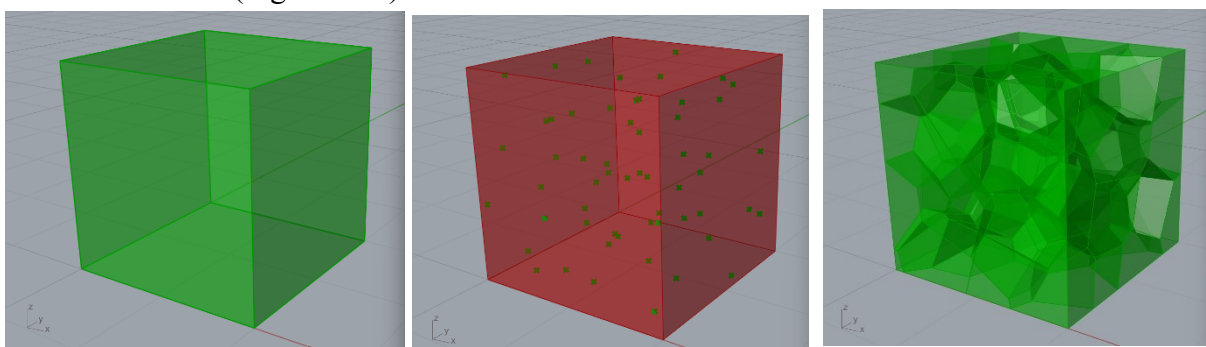


Figura 35: a) Box iniziale (2mm), b) Distribuzione dei punti (57), c) Celle poliedriche generate dal diagramma di Voronoi (57).

4) Scalatura per la Creazione delle trabecole: Per ottenere un modello realistico della struttura trabecolare, si eseguono due processi paralleli di scalatura.

- **Scalatura delle facce delle celle poliedriche:** Ogni cella del Voronoi viene esplosa nelle sue singole facce (*Explode*), dalle quali si estraggono i centroidi (*Area*). Le facce vengono scalate (*Scale*) rispetto ai propri centroidi, riducendo le dimensioni con un fattore di scala Sf compreso tra 0 e 1, creando così i canali connettivi vuoti tra le celle (in viola in Figura 34). Nella Figura 36 è mostrata la geometria scalata ottenuta applicando un fattore di scala Sf=0.8.

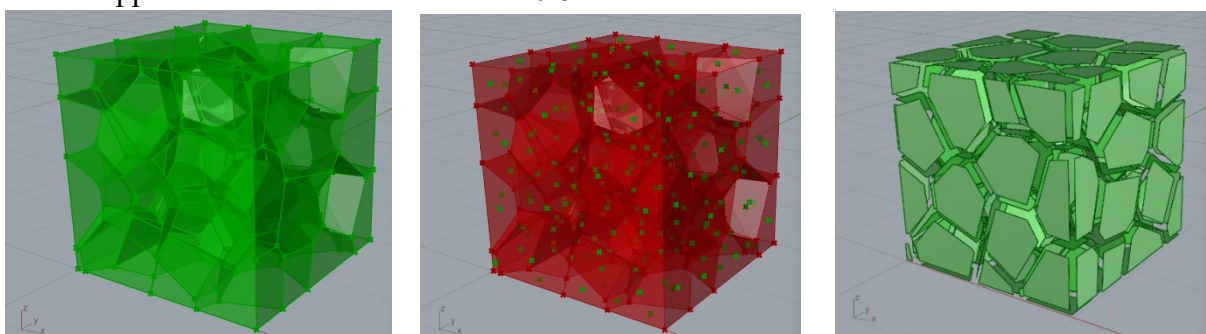


Figura 36: a) Celle di Voronoi iniziali esplose, b) Centroide (croce verde) di ogni faccia della cella iniziale del Voronoi, c) Geometria delle facce scalate del fattore Sf.

- **Scalatura delle celle poliedriche:** Si calcolano i centroidi delle celle (*Volume*) e ogni cella viene scalata rispetto al proprio centroide con un fattore di scala S_v compreso tra 0 e 1. La scalatura produce una versione ridotta della cella, che rappresenta il poro solido all'interno della struttura (in rosa in Figura 34). La Figura 37 illustra il risultato ottenuto con un fattore di scala $S_v = 0.8$.

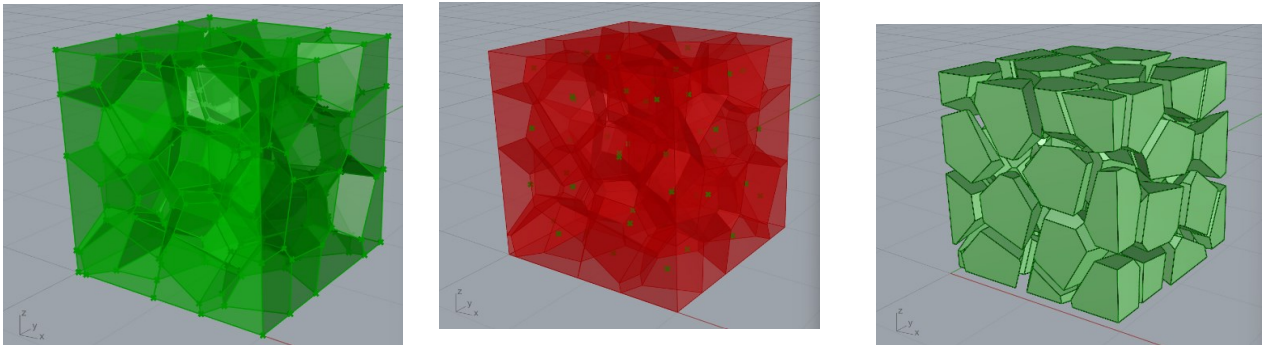


Figura 37: a) Celle di Voronoi iniziali esplose, b) Volume (croce verde) di ogni cella iniziale del Voronoi (rosso), c) Geometria delle celle scalate del fattore S_v .

La combinazione delle geometrie scalate è mostrata in Figura 38C, evidenziando il confronto tra le facce scalate (S_f), le celle scalate (S_v).

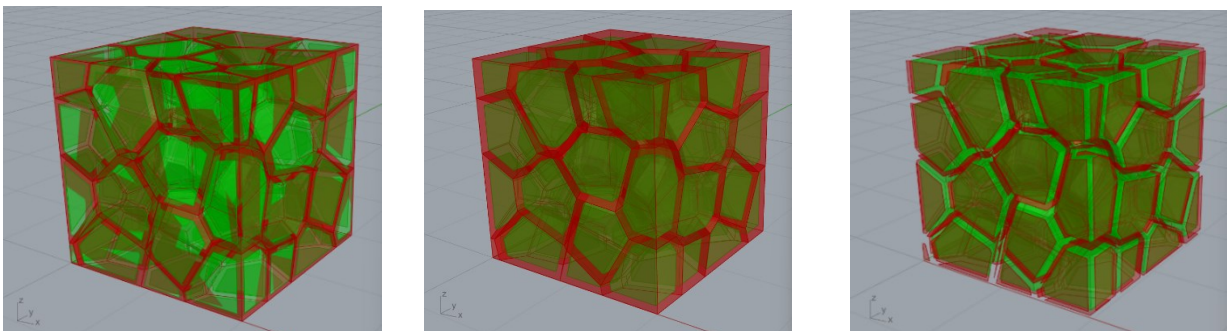


Figura 38: a) Confronto tra facce scalate con $S_f=0,8$ (verde) e celle iniziali (rosso), b) confronto tra celle scalate con $S_v=0,8$ (verde) e celle iniziali (in rosso), c) Confronto delle due Geometrie scalate con $S_f=0.8$, $S_v=0,8$: facce scalate (rosso) e celle scalate (verde).

5) Generazione della Mesh con elementi quadrilateri a partire dai punti estratti: A questo punto, si procede con l'esplosione (*Explode*) delle due geometrie scalate per estrarre facce (F), spigoli (E) e vertici (V). Successivamente, per ciascuno spigolo esploso vengono identificati il punto di inizio e di fine (*End Points*), che vengono organizzati in una struttura gerarchica garantendo una gestione corretta e ordinata dei punti (*Graft*). Questo passaggio isola ciascuna coppia di punti su rami separati, consentendo di trattarli come entità indipendenti.

I punti così organizzati vengono utilizzati come vertici per la costruzione di un mesh quadrilatera. I punti estratti vengono ordinati e inseriti nel componente *Points* e connessi per

creare facce quadrilaterali tramite il componente *Quad e Mesh* che genera singole facce della mesh. Questo approccio permette di ottenere una mesh regolare e ottimizzata, caratterizzata da una disposizione coerente dei vertici e da una topologia ben definita. La Figure 40 C illustra il risultato della mesh per una singola cella, mentre la Figura 41E per l'intera struttura Voronoi.

Per comprendere meglio i passaggi effettuati per la creazione della Mesh quadrata a partire dai punti ho estratto una singola cella iniziale del Voronoi, evidenziata in giallo in Figura 39, ed eseguito le scalature delle facce rispetto al proprio centroide (Figura 39C) e rispetto al centroide della cella (Figura 39D). Sono stati quindi estratti i punti di inizio e di fine di ogni spigolo delle facce che creano facce quadrilaterali generano una Quad Mesh (Figura 40).

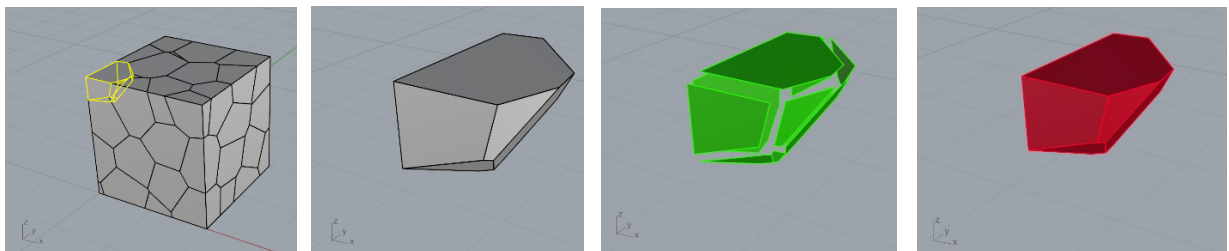


Figura 39: a) Celle iniziali del Voronoi, b) Estrazione di una singola cella, c) Facce scalate $S_f=0,8$, d) Celle scalate $S_v=0,8$.

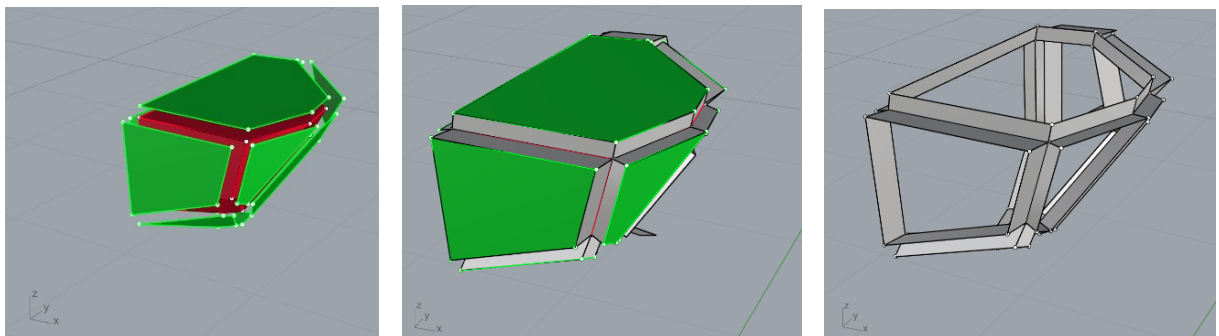


Figura 40: a) Facce scalate S_f (verde) Celle scalate S_v (rosso) con i rispettivi punti di inizio e fine di ogni spigolo di ogni faccia, b) Creazione della Mesh quadrata creata dai 4 punti (grigio), si notano anche facce scalate (verde) e celle scalate (rosso), c) Mesh di una singola cella poliedrica.

Di seguito gli analoghi passaggi mostrati per tutte le celle di Voronoi. La mesh generata è composta da quadrilateri con vertici derivati dagli spigoli delle geometrie scalate, garantendo una rappresentazione regolare e una gestione topologica efficace (Figura 41 E).

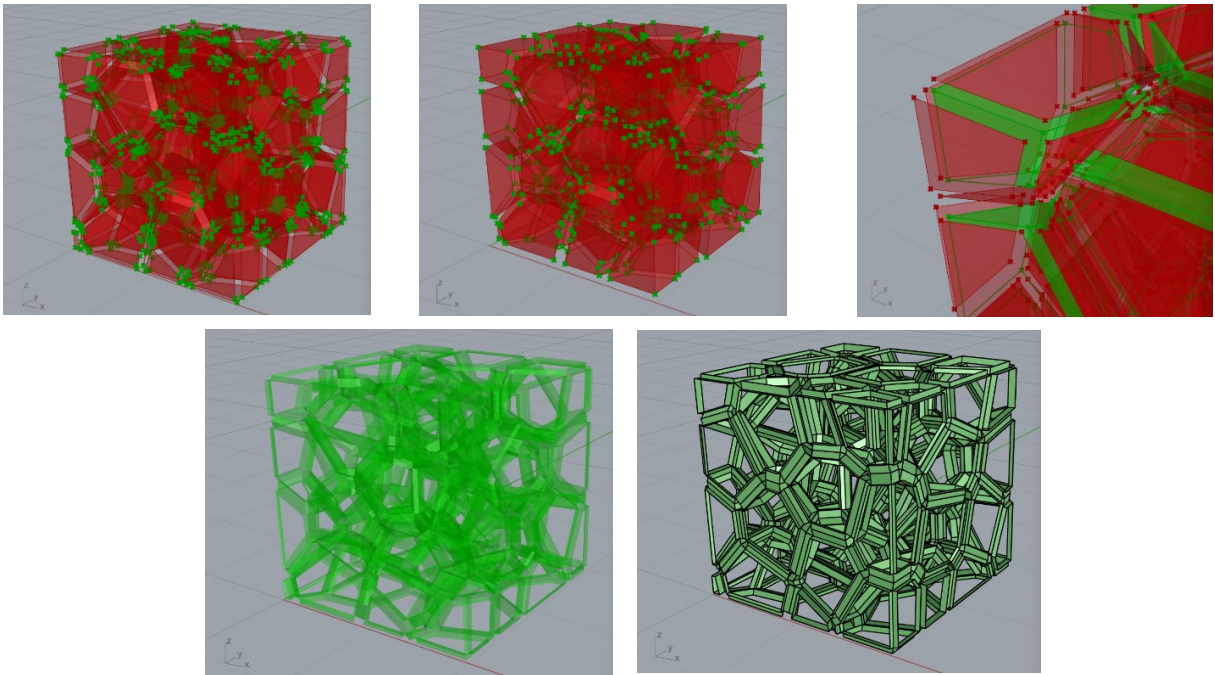


Figura 41: a) Esplosione delle facce scalate (rosso) con punti di inizio e fine degli spigoli di ogni faccia (croci verdi), b) Esplosione delle celle scalate (rosso) con punti di inizio e fine degli spigoli di ogni faccia (croci verdi), c) Ingrandimento di una cella scalata (verde) e delle facce scalate della cella (rosso) con i rispettivi punti di inizio e di fine che verranno utilizzati per creare la mesh, d) Mesh quadrata, e) Bake della mesh quadrata.

Successivamente il componente *Weaverbird's Join Meshes and Weld (wbJoin)*, unisce singole facce in un'unica mesh, eliminando la duplicazione dei vertici della mesh. Infine, la mesh viene impiegata come poligono di controllo di una *Subdivision Surface (SubD)*, ottenendo una geometria più morbida e organica, priva di spigoli netti. In Figura 42 viene rappresentata la SubD ottenuta con lato box 2mm, numero di punti 57, Sf e Sv impostati a 0.8.

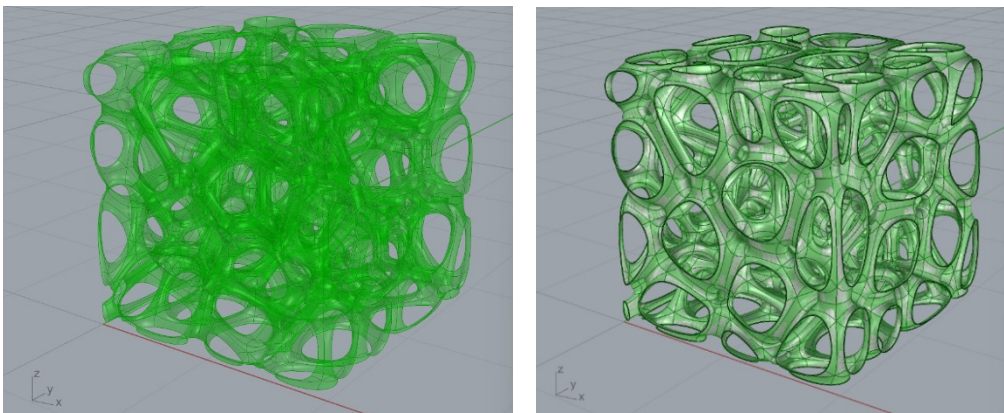


Figura 42: a) Preview della SubD, b) Bake della SubD.

6) Intersezione Solidea con Box iniziale: L'intersezione solida tra la SubD (input A) e il box iniziale (input B) viene eseguita tramite il componente *Solid Intersection*. Questo passaggio

isola la porzione della struttura SubD all'interno del box definito, eliminando le parti esterne ai confini del box. La geometria risulta chiusa e priva di elementi superflui, pronta per l'analisi volumetrica e strutturale (Figura 43). Infatti da questa intersezione solida vengono eseguite le analisi, nella Sezione 2.4, per modificare i parametri in modo da ottenere le dimensioni target della struttura trabecolare.

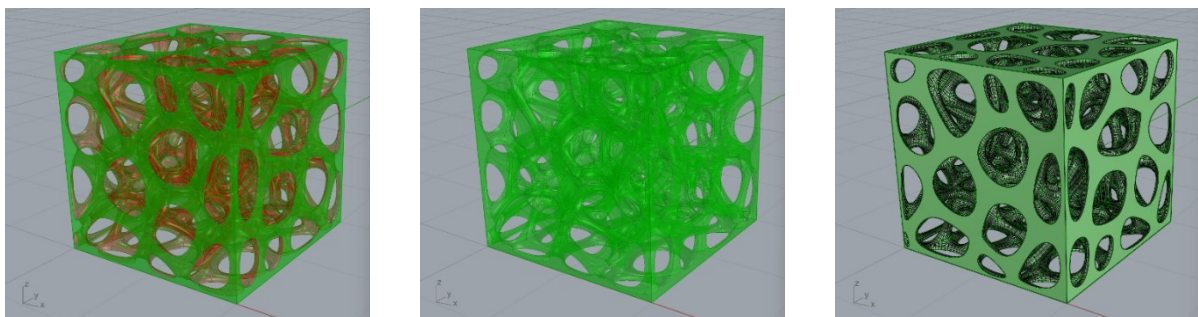


Figura 42: a) Confronto Sint (verde) e SubD (rosso), b) Sint, c) Bake Sint. (box di lato 2mm, $n=57$, Sf ed $Sv=0,8$).

7) Creazione del Cilindro per l'Intersezione Finale: Si genera un cilindro (*Cylinder*), impostando raggio e lunghezza corrispondenti alle dimensioni della box iniziale (2mm), successivamente chiuso alle estremità (*Cap Holes*), ottenendo una superficie chiusa. Infine, tramite un'ulteriore intersezione booleana (*Solid Intersection*), il cilindro viene intersecato con la struttura trabecolare precedentemente, ottenendo con precisione la geometria della struttura trabecolare finale (Figura 43). Il cilindro può chiaramente essere sostituito da qualunque forma atta a delimitare la porzione trabecolare.

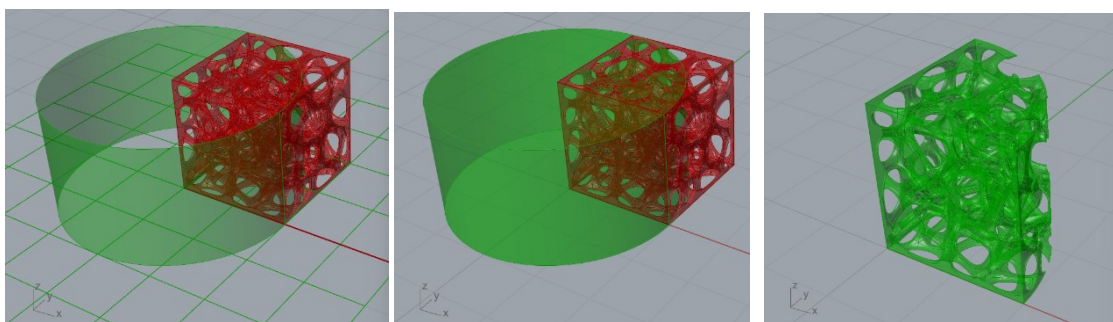


Figura 43: a) Cilindro (verde) e struttura trabecolare Sint (rosso), b) Cilindro chiuso (verde), Sint (rosso), c) Struttura trabecolare ottenuta dall'intersezione tra cilindro e Sint.

2.3.2) Creazione dell'osso Corticale:

Passaggi operativi:

1) Creazione del cilindro per l'osso corticale: Si crea un cilindro rappresentante l'osso corticale (*Cylinder*) con altezza uguale a quella del cilindro trabecolare, ma con raggio incrementato di un valore prefissato. In Figura 44A è illustrato un cilindro derivato da un box iniziale di 10mm, con un'altezza di 10 mm e raggio 12 mm (ottenuto sommando il raggio del cilindro trabecolare di 10 mm a un incremento di 2mm). Analogamente in Figura 45A, è mostrato un cilindro generato a partire da una box iniziale di 2mm, con un'altezza di 2mm e raggio 2.5mm.

2) Chiusura del cilindro: Questo cilindro viene chiuso alle estremità tramite il comando Cap Holes, ottenendo una geometria solida chiusa (Figura 44a e Figura 45a).

3) Differenza solida per creare lo spazio dell'osso corticale: Si esegue una differenza booleana (*Solid Difference*) tra il cilindro corticale e quello trabecolare, generando un'intercapedine che rappresenta l'osso corticale (Figura 44B, Figura 45B).

4) Creazione di un Box esterno: Si genera un box con dimensioni laterali corrispondenti al raggio del cilindro corticale, che servirà da limite esterno della struttura. In Figura 44C il box ha lato di 12 mm (pari al raggio incrementato del cilindro corticale), mentre in Figura 45 C il box ha lato di 2.5mm in linea con il raggio del cilindro generato a partire da una box di 2mm.

5) Intersezione Solida tra Osso Corticale e Box: Infine, si esegue un'intersezione (*Solid Intersection*) tra il box esterno e la struttura corticale ottenuta tramite differenza solida, per delimitare la struttura corticale entro il volume del box. Il risultato dell'intersezione è mostrato in Figura 46, in cui la componente verde rappresenta l'osso corticale e quella rossa l'osso trabecolare.

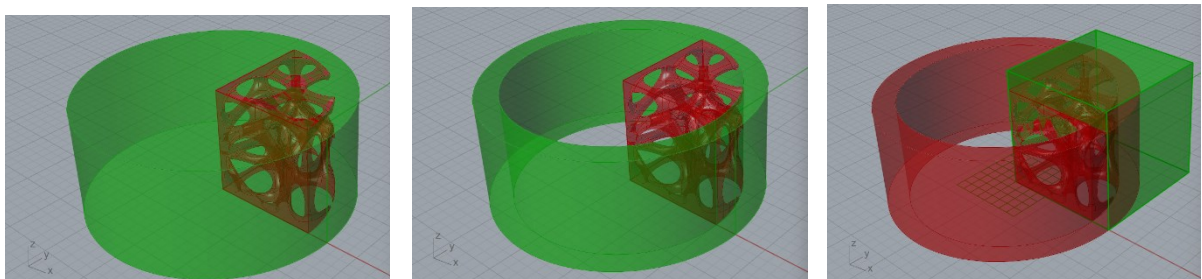


Figura 44: a) Cilindro dell'osso corticale chiuso, b) Differenza solida tra cilindro corticale e trabecolare, c) Box esterno con lato di 12mm.

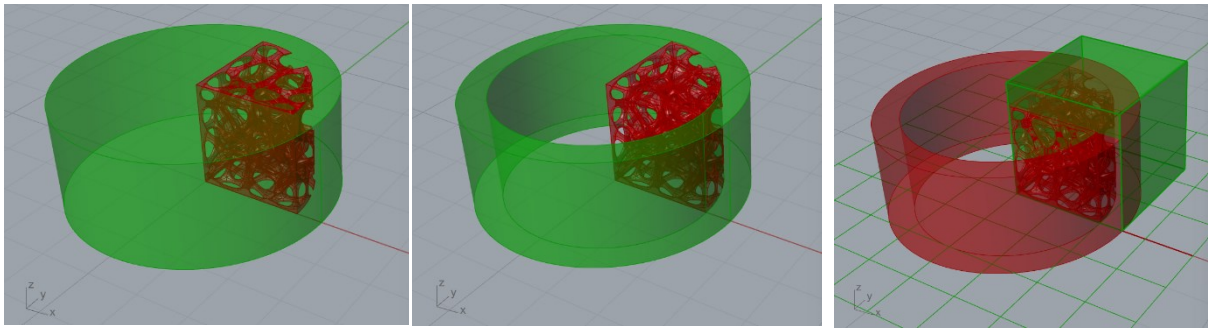


Figura 45: a) Cilindro dell'osso corticale chiuso, b) Differenza solida tra cilindro corticale e trabecolare, c) Box esterno di lato 4 mm.

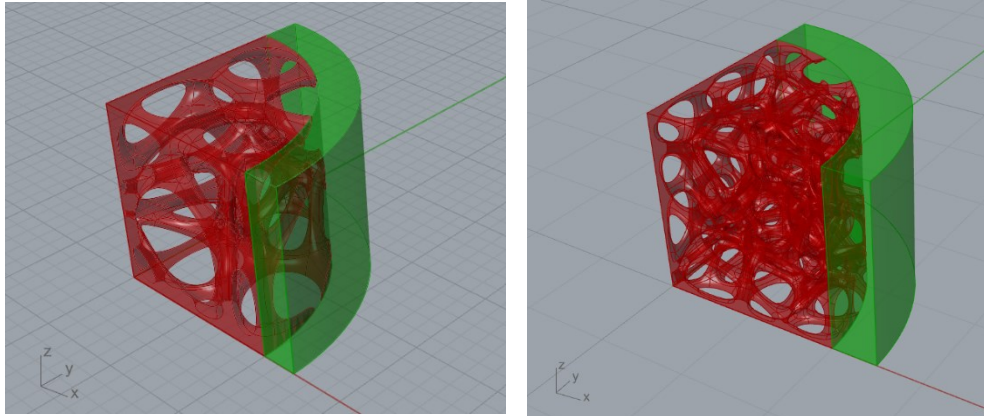


Figura 46: osso corticale (verde) e osso trabecolare (rosso) per a) modello generato da una box di 10mm con 10 punti di popolamento, b) modello generato da una box di 2mm con 57 punti di popolamento.

2.3.4) Creazione dell'osso Intero:

Passaggi operativi:

L'osso intero viene realizzato tramite unione solida (*Solid Union*) tra l'osso trabecolare e l'osso corticale. L'osso trabecolare è ottenuto dall'intersezione della struttura reticolare con un cilindro il cui raggio corrisponde alle dimensioni del box iniziale, mentre l'osso corticale risulta dall'intersezione tra un box esterno e l'intercapedine risultante dalla differenza solida tra i due cilindri (trabecolare e corticale). La Figura 47 mostra i risultati finali dell'osso intero per due configurazioni: in (A) la dimensione iniziale della box è di 10 mm, mentre in (B) è di 2 mm.

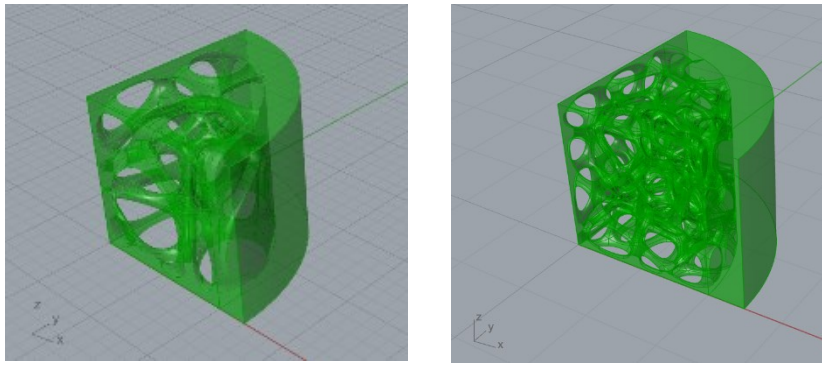


Figura 47: Osso Intero A) dimensioni iniziali di 10mm B) dimensioni iniziali di 2mm.

Per raffigurare al meglio l'osso intero è stato scelto un box di 4 mm, numero di semi di 453. Dunque il raggio del cilindro trabecolare è di 4mm, mentre quello del cilindro trabecolare è di 5mm (Figura 48).

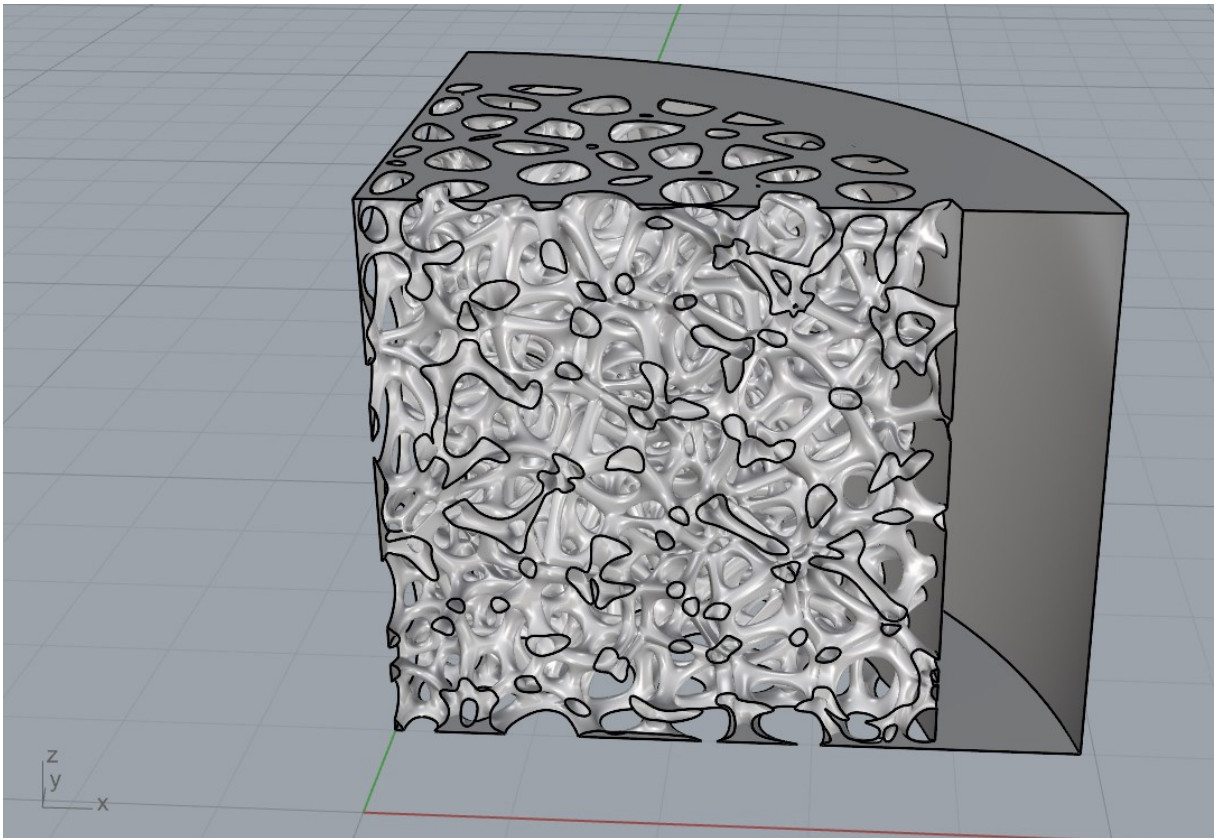


Figura 48: Osso intero (lato box 4mm, raggio trabecolare 4mm, raggio corticale 4mm, numero di semi 453).

Dalla Figura 48 sono evidenti due limiti dello studio. In primis la mancanza dei canali Haversiani e di Volkmann caratteristici dell'osso corticale. Inoltre nelle intersezioni delle trabecole con l'osso corticale vengono creati degli spigoli, che non sono connessioni continue. La presenza di tali discontinuità può influenzare negativamente la distribuzione dello stress meccanico e ostacolare la crescita cellulare uniforme.

2.4) Analisi dei parametri per determinare la morfologia ottimale

La determinazione delle dimensioni ottimali per la morfologia dello scaffold trabecolare richiede l'analisi e l'ottimizzazione dei parametri di input per correlare al meglio i risultati ottenuti con le proprietà target desiderate. I parametri di ingresso del processo includono: il numero di semi (n) utilizzati per generare il diagramma di Voronoi, il fattore di scala delle facce delle celle (Sf) e il fattore di scala relativo al volume delle celle (Sv).

Gli obiettivi progettuali (parametri target), definiti in base alla letteratura scientifica e ai requisiti funzionali dello scaffold, comprendono: la percentuale di porosità (generalmente compresa tra 50%-90%), la dimensione dei pori (variabile tra 150- 600 μm , ovvero 0.15 – 0.6 mm) e la dimensione trabecolare [50].

L'analisi della morfologia trabecolare dello scaffold è stata condotta considerando i seguenti aspetti: 1) porosità, 2) numero dei pori, 3) dimensione dei pori, 4) dimensioni delle interconnessioni, 5) dimensioni dello spessore trabecolare. Dai valori di area e perimetro delle sezioni trabecolari, vengono infine analizzati 6) l'indice di forma medio e 7) gli effetti delle variazioni dei fattori di scala Sf ed Sv.

Per visualizzare in modo dinamico l'effetto delle modifiche dei parametri, il processo è stato interamente gestito in Grasshopper, con visualizzazione diretta in Rhinoceros. Questo approccio ha facilitato un'analisi interattiva e intuitiva, rendendo possibile una rapida valutazione delle variazioni geometriche e strutturali, al fine di ottimizzare il modello rispetto ai parametri target definiti.

2.4.1) Porosità

La porosità rappresenta la percentuale di volume vuoto rispetto al volume totale. Per calcolarla, si procede con la misurazione del volume del box di confinamento e il volume della struttura solida generata (volume del modello), ottenendo così il volume dei vuoti tramite differenza. Il rapporto tra il volume dei vuoti e il volume totale, moltiplicato per 100, fornisce la porosità effettiva (Figura 49).

- Porosità : $P\% = \frac{V_{\text{bounding box}} - V_{\text{scaffold}}}{V_{\text{bounding box}}} \times 100$
- Volume vuoti : $V_{\text{void}} = V_{\text{bounding box}} - V_{\text{scaffold}}$

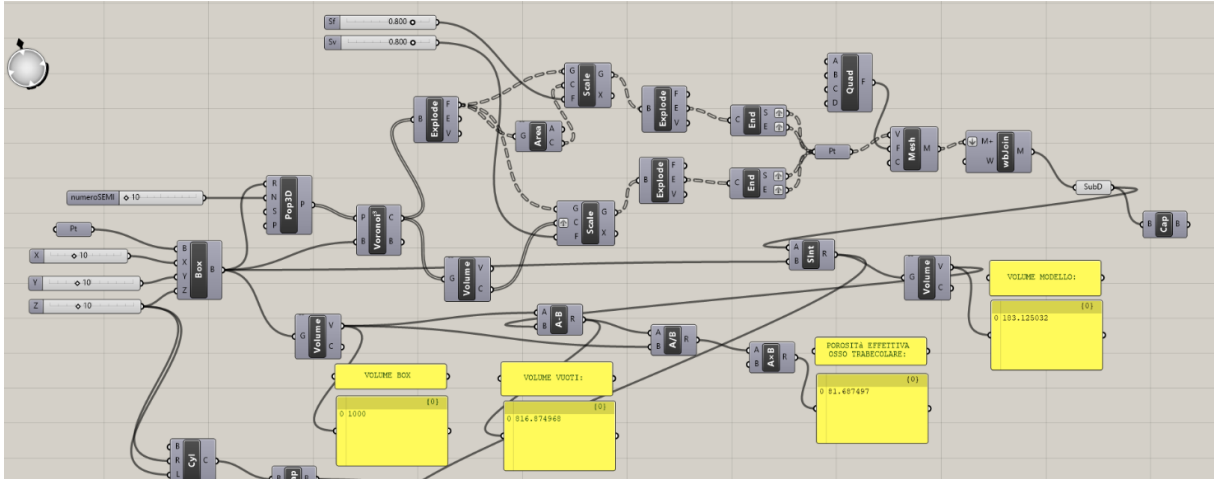


Figura 49: script di Grasshopper da cui si ottiene la porosità effettiva dell'osso trabecolare con box di lato 10, e numero di semi 10.

2.4.2) Numero di input di popolamento (numero dei pori)

La stima del numero di pori dello scaffold è correlata ai parametri target di porosità e dimensione dei pori. I pori, rappresentati dalle celle poliedriche del diagramma di Voronoi, sono stimati come il numero di semi di popolamento utilizzati. Il volume dei vuoti target, calcolato per una porosità desiderata, e il volume di una sfera rappresentante il poro target, vengono utilizzati per determinare il numero ottimale dei pori [50].

Si ricava il Volume dei vuoti target impostando il valore di percentuale di porosità target P%:

$$- \text{Volume vuoti target} = V_{\text{box}} \times P\%_{\text{Target}}$$

In generale, la forma di un poro è estremamente variabile. Partendo dal suo volume, è possibile ricavare un indicatore di dimensione che è pari al diametro D_p di una sfera che ha il medesimo volume. Nota che sia la dimensione del poro D_p è quindi possibile calcolare il volume del singolo poro.

$$- \text{Volume poro singola sfera target} = \frac{4}{3} \pi \left(\frac{D_p}{2} \right)^3$$

Il numero totale dei pori n (ovvero il numero dei punti di input di popolamento) viene stimato come rapporto tra Volume totale dei vuoti Target e volume di una singola sfera:

$$- n = \frac{\text{Volume vuoti Target}}{\text{Volume singola sfera Target}} \quad n = \frac{V_{\text{bounding box}} \times P\%}{\frac{4}{3} \pi \left(\frac{D_p}{2} \right)^3}$$

Di seguito la Figura 50 e 51, rappresentano screen di Grasshopper in cui si ottiene il numero dei pori ottimali in base a Lato del box, Porosità target e dimensione dei pori target.

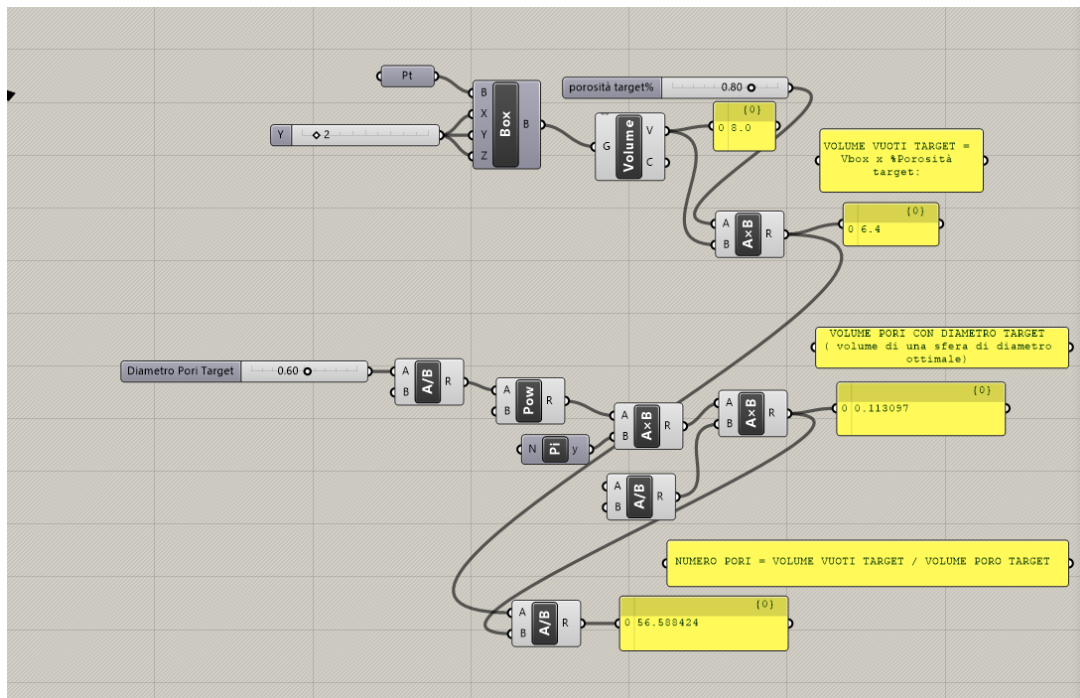


Figura 50: Screen di Grasshopper da cui si ottiene il numero di pori ottimale avendo lato della Box di 2mm, porosità target 80%, dimensione pori target 0.8mm.

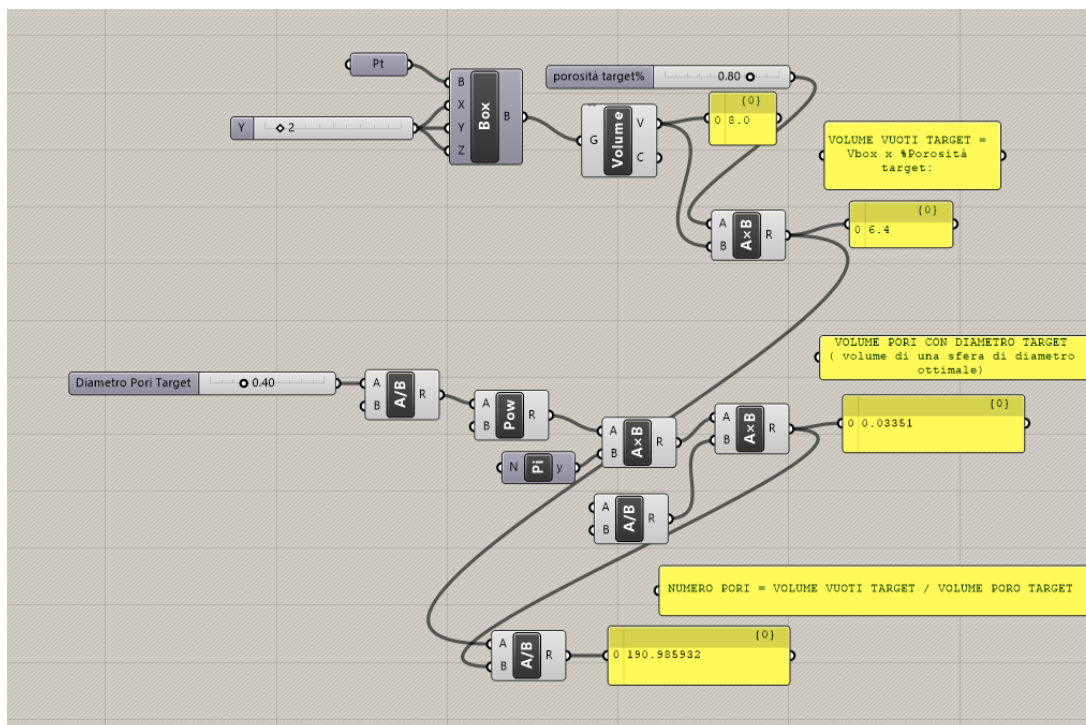


Figura 51: Screen di Grasshopper da cui si ottiene il numero di pori ottimale avendo lato della Box di 2mm, porosità target 80%, dimensione pori target 0.4mm.

A questo punto modifico i parametri in Grasshopper per ottenere la struttura trabecolare in base a ciò che ho appena analizzato. Dunque impostando la porosità all'80% e la dimensione target dei pori a 0.6mm ottengo valori da inserire: numero di semi iniziale di 57, dimensione della box di 2mm, i fattori di scala Sf ed Sv A 0.8 (Figura 52). Da qui ricavo la porosità effettiva, che vale $P\% = 83,501272$, che rientra negli standard.

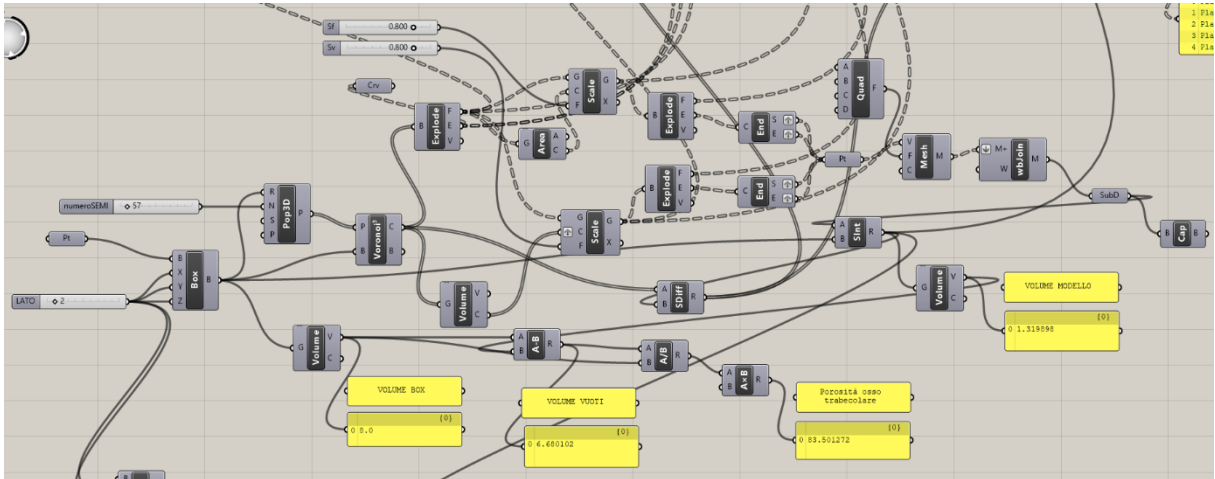


Figura 52: script di Grasshopper da cui si ottiene la porosità effettiva dell'osso trabecolare con box di lato 2mm, e numero di semi 57.

2.4.3) Dimensione effettiva dei pori

Nello scaffold trabecolare, i pori sono rappresentati da celle poliedriche generate dal diagramma di Voronoi, che presentano geometrie irregolari. Ogni cella poliedrica corrisponde a uno spazio vuoto nello scaffold, ossia un poro. Tuttavia, a causa della complessità geometrica delle celle, risulta complesso determinare una misura precisa della dimensione dei pori. Il *metodo poliedro-sfera* affronta questo problema approssimando ogni poro con una sfera equivalente, il cui volume corrisponde al volume del poro [50].

Sono stati implementati due approcci distinti per calcolare la dimensione effettiva dei pori, che si differenziano per il criterio con cui viene stimato il volume equivalente del poro. In entrambi i casi, una volta determinato il volume del poro, il diametro del poro viene calcolato applicando la formula inversa del volume della sfera:

$$r = \sqrt[3]{\frac{3V}{4\pi}} \quad e \quad D = 2r$$

Infine si estrapolano i valori di diametro minimo e massimo, che vengono confrontati con i valori target (150 μ m- 600 μ m) indicati in letteratura, per verificarne la rispondenza alle caratteristiche desiderate.

Di seguito vengono descritti i passaggi implementati in Grasshopper per ciascun metodo, illustrati in Figura 53.

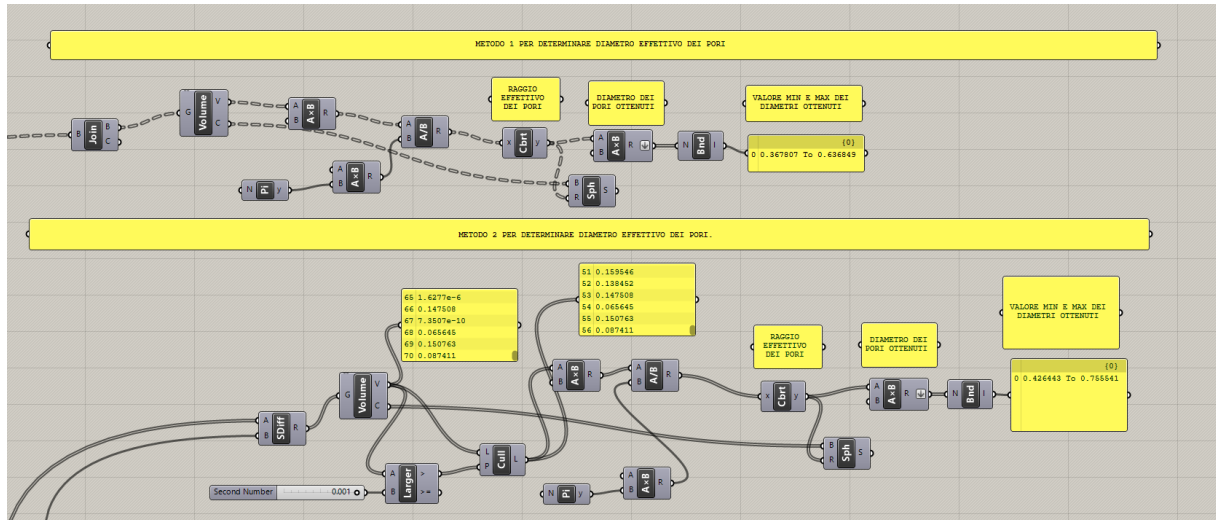


Figura 53: Passaggi in Grasshopper per ottenere i diametri effettivi dei pori con il Metodo 1 (in alto) e con il Metodo 2 (in basso). Sono mostrati i valori di massimo e minimo diametro per entrambi i metodi, riferiti ad un box di lato 2mm, diametro target di 0,6mm e numero di semi di 57.

Metodo 1: Calcolo del Diametro dei Pori tramite il Volume delle celle poliedriche scalate

Nel primo metodo, ogni cella poliedrica viene approssimata da una sfera centrata sul centroide della cella stessa e avente volume equivalente a quello della cella poliedrica scalata con il fattore Sv.

1. Scala delle Celle Poliedriche: Si parte dalle celle del diagramma di Voronoi, scalando ciascuna cella rispetto al proprio centroide con un fattore Sv (*Scale*). Utilizzando il comando *Brep Join*, si uniscono le celle scalate per ottenere un singolo insieme geometrico.
2. Calcolo del Volume delle celle scalate: Si calcola il volume di ciascuna cella (*Volume*), considerato equivalente al volume del poro (Figura 54A).
3. Determinazione del Diametro: Per ciascun volume, si calcola il raggio equivalente della sfera tramite la formula inversa del volume della sfera e, moltiplicando per 2, si ottiene il diametro del poro. I diametri vengono organizzati in una lista (*Flatten*) e analizzati con il componente *Bounds* per determinare il valore minimo e massimo.

4. Visualizzazione delle sfere: Utilizzando i raggi calcolati, si genera una sfera (*Sphere*) per ogni cella, centrata sul corrispondente centroide. Le sfere visualizzano graficamente i pori approssimati con il metodo poliedro-sfera (Figura 54b).

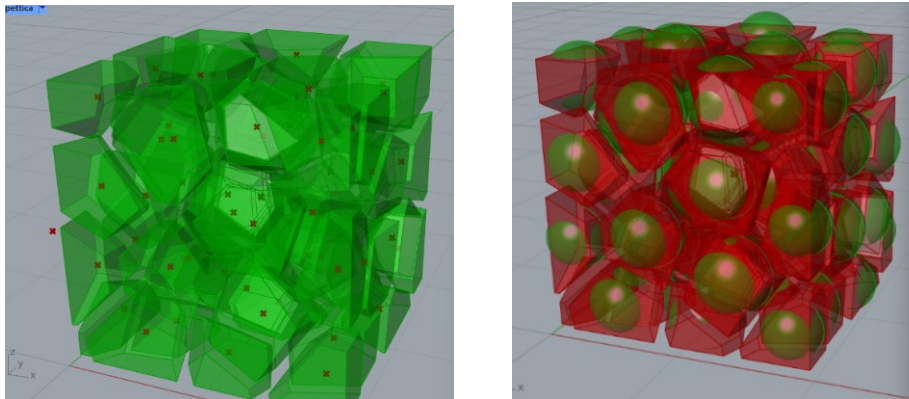


Figura 54: a) Celle scalate del fattore S_v (verde) con indicazione dei volumi (croci rosse). b) Sfere (verde) che approssimano i pori, posizionate nei centroidi delle celle scalate (rosso).

Metodo 2: Calcolo del Diametro dei Pori tramite Volume dello spazio vuoto effettivo

Il secondo metodo isola il volume vuoto effettivo mediante una differenza solida booleana (*SDiff*) tra le celle di Voronoi originali e la struttura reticolare dello scaffold. Il diametro dei pori viene ricavato dal volume del vuoto effettivo. Ogni poro viene approssimato ad una sfera posizionata nei centroidi degli spazi vuoti.

1. Differenza Solida tra Celle e Struttura: Si esegue una differenza booleana (*Solid Difference, SDiff*) tra le celle del Voronoi iniziali e la struttura reticolare dello scaffold (*Sint*), ottenendo le porzioni di spazio realmente vuote (Figura 55A).
2. Calcolo dei volumi: Si calcola il volume (*Volume*) di ciascuna polisuperficie chiusa risultante dalla differenza booleana. Questo rappresenta il volume effettivo dei pori.
3. Filtraggio dei Volumi non significativi: Dalla Figura 53 si può notare che i volumi ricavati risultano maggiori (70) rispetto a quelli che dovrei ottenere (57 = numero di semi di popolamento). Questo accade perché tramite l'operazione di differenza booleana si sono creati erroneamente elementi geometrici piccoli e forvianti che non mi interessano. Quindi devo filtrare i volumi inferiori ad una soglia predefinita, per mantenere solo i volumi significativi. Per fare questo con il comando *Larger Than* ottengo una lista booleana di veri/falsi, a seconda che il volume sia maggiore (vero) o minore (falso) di una certa soglia, impostata a 0.001 mm^3 . Successivamente eseguendo un *Cull Pattern*, prendendo come lista i volumi e come pattern l'output di *Larger Than*, ottengo i volumi degli elementi che mi interessano.

4. Determinazione del Diametro dei pori: Analogamente al metodo 1, si ricavano i diametri effettivi dei pori utilizzando la formula inversa del volume della sfera. Da questi vengono estratti i valori minimo e massimo (Bounds).
5. Visualizzazione delle Sfere: Le sfere, calcolate sulla base dei volumi filtrati, vengono generate per rappresentare i pori in modo realistico (Figura 55B).

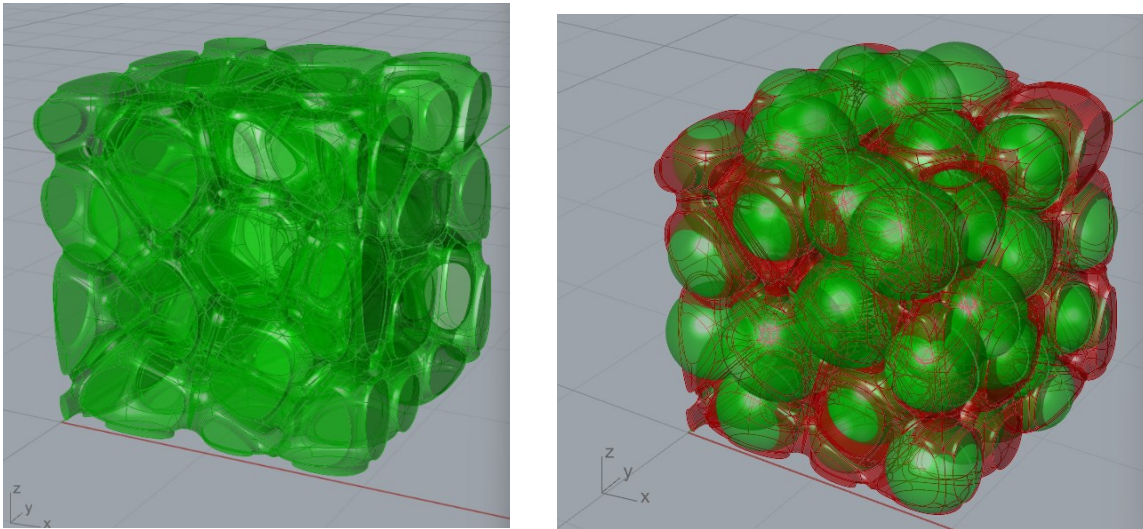


Figura 55: a) Rappresentazione della differenza solida (SDiff); b) Sfere (verde) che approssimano i pori tramite SDiff, con indicazione delle geometrie in rosso.

2.4.4) Interconnessione tra pori

Negli scaffold generati mediante diagrammi di Voronoi, l'interconnessione tra i pori è garantita dalla presenza di canali connettivi che si sviluppano nelle aree in cui le facce delle celle poliedriche scalate si trovano a contatto. Ogni poro è rappresentato da una cella di Voronoi opportunamente scalata, e i canali connettivi offrono percorsi per la comunicazione tra i pori adiacenti [50]. Questi canali rivestono un ruolo cruciale nel favorire il collegamento strutturale e lo scambio di fluidi all'interno dello scaffold, come indicato in letteratura.

2.4.4.1) Livello di Interconnessione

Il livello di interconnessione tra i pori si riferisce alla continuità e alla connessione dei canali tra le celle poliedriche. Questo livello è misurato attraverso il numero medio di facce dei poliedri: ogni faccia di una cella scalata può rappresentare un canale connettivo verso una cella adiacente. Di conseguenza, il numero medio di facce costituisce un indicatore del livello di interconnessione tra i pori [50].

Il Grasshopper, per calcolare il numero medio di facce, si eseguono i seguenti passaggi:

1. Esplosione delle facce scalate Sf delle celle poliedriche: Si utilizzano i componenti *Explode* per ottenere le singole facce scalate delle celle.

2. Conteggio delle facce: il numero di facce di ciascun poliedro viene calcolato con il componente *List Length*.

3. Calcolo del valore medio: Si determina il valore medio del numero di facce per cella con il componente *Average*. Questo rappresenta il livello di interconnessione tra i pori.

Un livello di interconnessione maggiore suggerisce una struttura più aperta e interconnessa, utile per applicazioni specifiche. Tale valore può essere utilizzato per confrontare diverse configurazioni dello scaffold e valutare quale meglio soddisfa i requisiti progettuali.

2.4.4.2) Analisi della dimensione dei canali connettivi

Nel contesto del diagramma di Voronoi, i pori sono rappresentati dalle celle poliedriche, mentre i canali connettivi tra pori adiacenti sono rappresentati dalle facce comuni a due celle adiacenti. Di conseguenza, la dimensione dei canali è definita dall'area di tali facce. Sono stati implementati in Grasshopper due metodi per calcolare questa dimensione, distinguendosi per il livello di precisione: Metodo 1 approssimativo, Metodo 2 più realistico. I passaggi operativi sono illustrati in Figura 56.

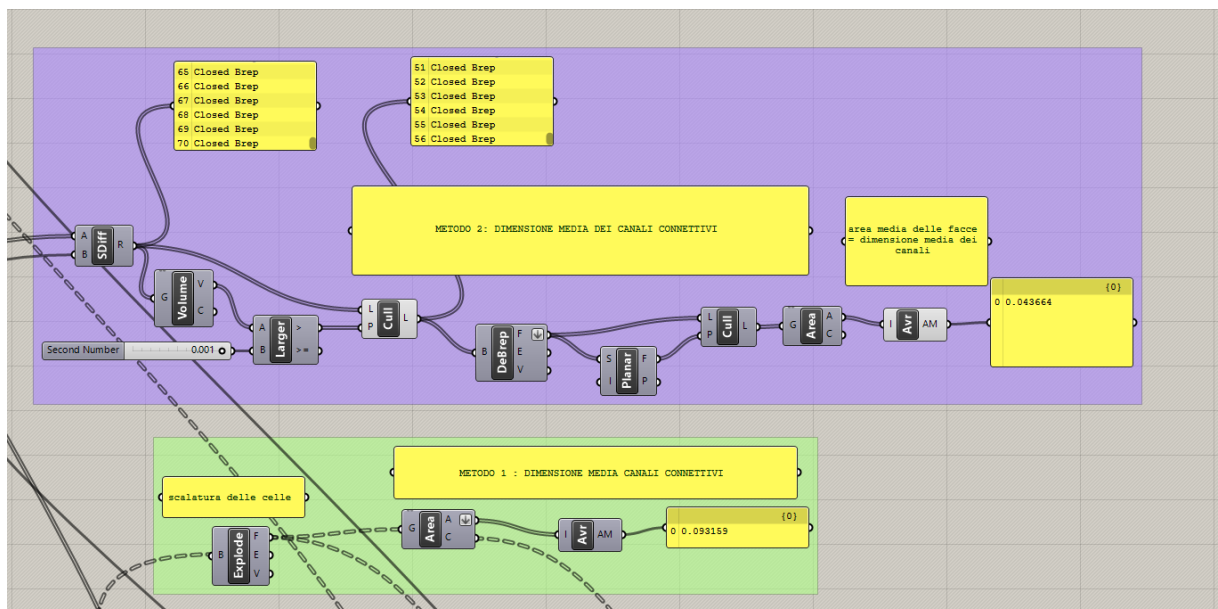


Figura 56: Passaggi in Grasshopper per i due metodi.

Metodo 1: Area delle Facce Scalate.

Nel primo metodo, la dimensione dei canali connettivi viene approssimata all'area delle *facce scalate* dei poliedri generati dal diagramma di Voronoi. Ogni faccia scalata rappresenta un canale di connessione tra pori adiacenti, e la dimensione di questi canali è quindi definita dall'area di queste facce. Le facce scalate sono state scalate con un fattore $S_f=0,8$ (Figura 57A) e $S_v=0,8$ (Figura 57B).

Passaggi in Grasshopper:

1. Calcolo dell'area delle facce scalate: Si utilizza il componente *Area* per calcolare l'area di ciascuna faccia scalata dal fattore S_f .
2. Determinazione del valore medio: il componente *Average* permette di calcolare la media delle aree delle facce scalate, fornendo una stima della dimensione media dei canali connettivi.

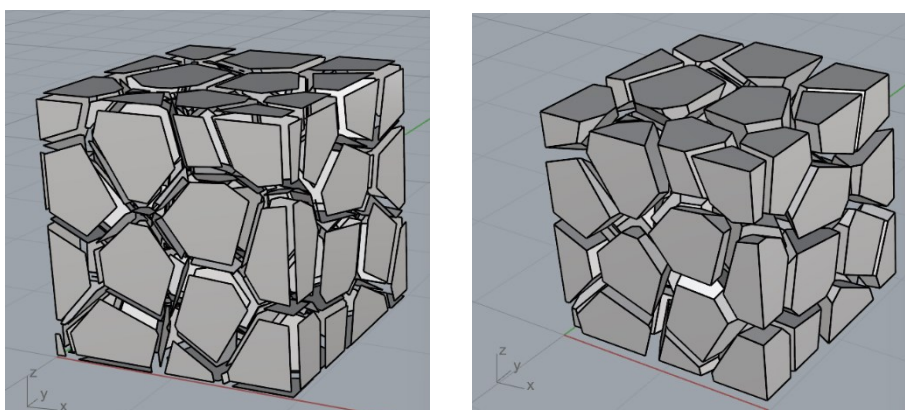


Figura 57: A) Facce esplose scalate con fattore S_f , B) Facce esplose delle celle scalate con fattore S_v .

Metodo 2: Area delle Superfici della Differenza Booleana.

Come nel secondo metodo applicato per ricavare la dimensione effettiva dei pori, viene eseguita una differenza solida (*SDiff*) per isolare le superfici effettive di connessione tra i pori. Successivamente i volumi risultanti sono stati filtrati utilizzando una soglia minima, eliminando le geometrie non rilevanti. Dopo l'isolamento iniziale delle superfici significative, sono state estratte le singole facce. Di queste, sono state ricavate solo le superfici piane, rappresentative dei canali di connessione, che vengono utilizzate per calcolare l'area media.

Passaggi in Grasshopper:

1. Calcolo della differenza booleana: Si esegue una differenza booleana (*SDiff*) tra le celle e la struttura dello scaffold per ottenere superfici di connessione effettive tra i pori (Figura 58A).
2. Filtraggio dei volumi rilevanti: In figura 56 si nota che in uscita da *SDiff* ci sono 70 closed brep, anziché 57, che vanno filtrati. Utilizzando comando *Larger Than* ottengo

una lista booleana di veri/falsi, a seconda che il volume di SDiff sia maggiore (vero) o minore (falso) di una certa soglia, impostata a 0.001 mm^3 .

3. Isolamento delle Superfici Significative: Si applica un filtro per rimuovere le superfici non rilevanti, ovvero che hanno volume inferiore alla soglia impostata. Per fare ciò, eseguo un *Cull Pattern*, prendendo come lista le superfici e come pattern l'output di Larger Than, così da ottenere l'insieme di superfici rappresentative dei canali di connessione (ottengo 57 closed brep).
4. Deconstruct Brep: Si utilizza *Deconstruct Brep* per estrarre le singole facce delle superfici selezionate (Figura 58b).
5. Test di planarità: Si applica il comando *Is Planar* per verificare la planarità delle facce.
6. Selezione delle superfici piane: Eseguo un altro *Cull Pattern* inserendo come lista le facce e come pattern il test di planarità, così da estrarre solo le superfici piane, che rappresentano i canali di connessione tra i pori (Figura 58c).
7. Calcolo dell'area e della Media delle aree: Si calcola l'area delle superfici piane filtrate (*Area*) e si determina la media (*Average*) di tali aree, ottenendo una stima della dimensione media dei canali connettivi.

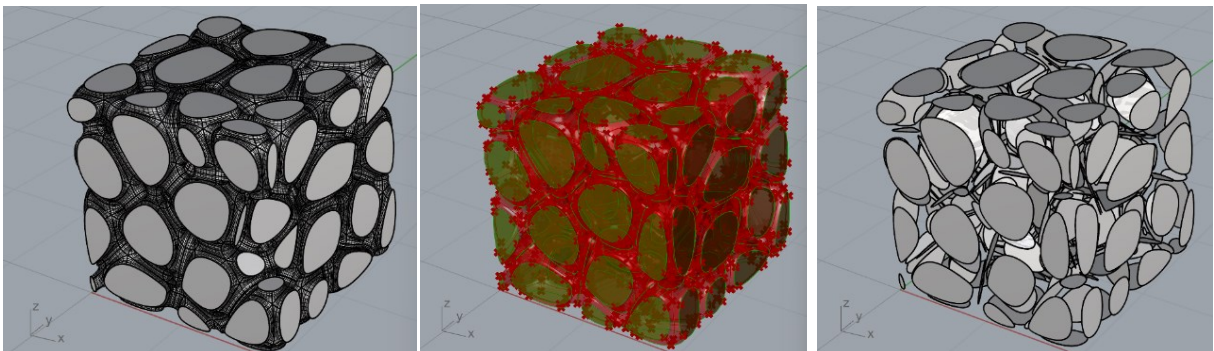


Figura 58: a) Differenza booleana (SDiff) per ottenere le superfici di connessione, b) Estrazione delle singole facce (Decostruzione di SDiff), c) Superfici Planari rappresentative dei canali di connessione

2.4.5) Dimensione Trabecolare

La dimensione trabecolare, indicata comunemente come spessore trabecolare, rappresenta il diametro delle travi solide che formano la struttura di uno scaffold osseo. La dimensione di queste trabecole incide notevolmente sulla resistenza strutturale dello scaffold: aumentando la densità scheletrica tramite un incremento della scala di volume (S_v), si ottiene una maggiore robustezza. Tuttavia, il termine "spessore" potrebbe non essere del tutto appropriato, poiché tradizionalmente si riferisce a una distanza tra due superfici. Si adotta pertanto il termine

"dimensione" o "diametro" trabecolare per meglio rappresentare questo parametro, che in letteratura varia comunemente tra i 100 e i 300 μm .

Metodi di calcolo della dimensione trabecolare.

Sono stati utilizzati quattro metodi per stimare la dimensione trabecolare. I primi tre, meno precisi, si basano su calcoli geometrici relativi a centri e spigoli delle facce delle celle scalate e assumono lo spessore (raggio dell'asta trabecolare) come distanza tra due elementi. Il quarto metodo, invece, impiega un approccio piú accurato basato su intersezioni di piani e ricava piú parametri (area, diametro, perimetro). I passaggi dettagliati di ogni metodo sono stati implementati su *Grasshopper* (Figura 59, Figura 60) e sono descritti di seguito.

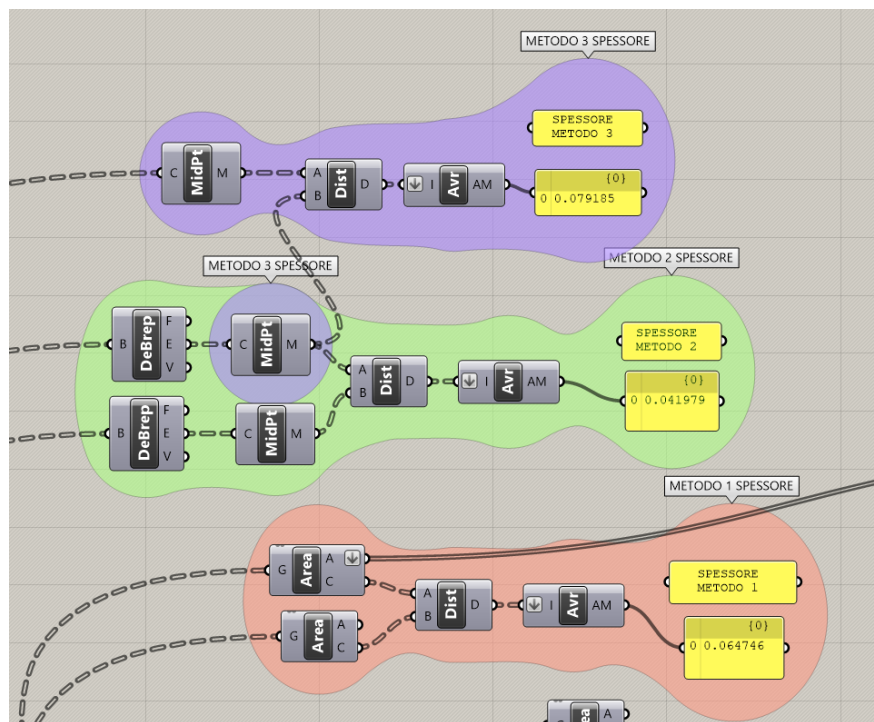


Figura 59: Grasshopper primi 3 metodi

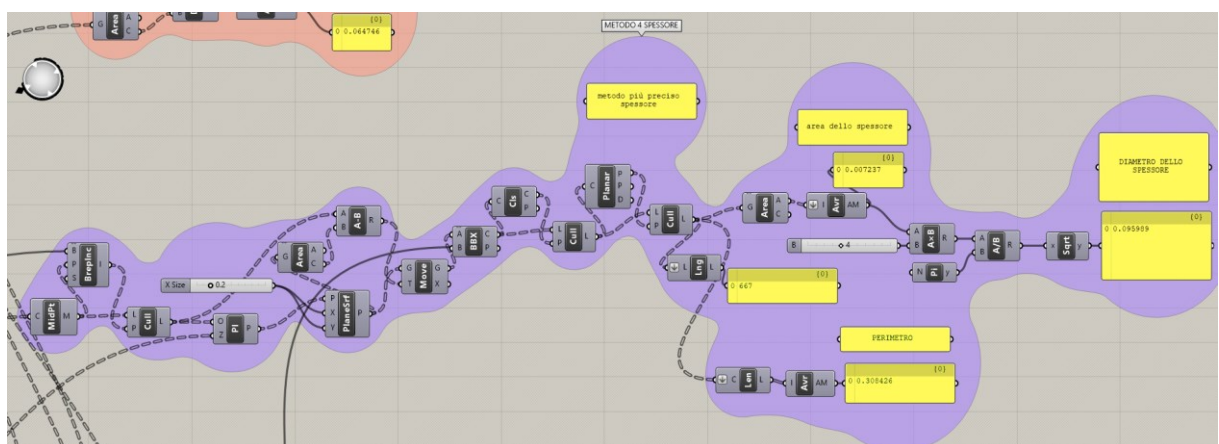


Figura 60: Grasshopper quarto metodo.

Metodo 1: Distanza tra il centroide delle facce scalate e il centroide delle facce delle celle scalate.

Il primo metodo stima la dimensione trabecolare calcolando la distanza tra i centroidi delle facce scalate delle celle del Voronoi. Si considerano le facce scalate dal fattore Sf e dal fattore Sv, e si misura la distanza tra i loro centroidi. Il risultato rappresenta il raggio medio delle trabecole, ovvero la metà della dimensione trabecolare (diametro).

Passaggi in Grasshopper:

1. Calcolo dei centroidi delle facce scalate: Utilizzare il componente *Area* per ottenere i centroidi delle facce scalate con Sf e Sv.
2. Misurazione delle distanze: Calcolare la distanza tra i centroidi delle facce scalate utilizzando il componente *Distance*.
3. Calcolo del valore medio: Utilizzare il componente *Average* per ottenere la media delle distanze ricavate, che rappresenta il raggio medio trabecolare.

Metodo 2: Distanza tra i punti medi degli spigoli delle facce originali e delle facce Scalate Sf.

Il secondo metodo raffina l'approssimazione calcolando la distanza tra i punti medi degli edge della faccia originale (non scalata) e quelli della faccia scalata Sf. Questa misurazione si concentra sugli spigoli piuttosto che sui centroidi delle facce, fornendo una stima più vicina agli elementi strutturali effettivi della trabecola.

Passaggi in Grasshopper:

1. Estrazione degli spigoli: Considero le facce delle celle iniziali e quelle scalate di un fattore Sf. Utilizzo il comando *Deconstruct Brep* per estrarre gli spigoli.
2. Calcolo dei punti medi degli spigoli: Applico il componente *Curve Middle* per individuare i punti medi degli spigoli.
3. Misurazione delle distanze: Calcolo le distanze tra i punti medi corrispondenti degli spigoli delle due configurazioni (*Distance*).
4. Calcolo del valore medio: Determino la media delle distanze con il componente *Average*, che rappresenta il raggio medio trabecolare.

Metodo 3: Distanza tra i punti medi degli spigoli delle facce originali e delle celle Scalate Sv.

Simile al metodo 2, questo approccio calcola la distanza tra i punti medi degli spigoli delle facce originali e degli spigoli delle celle scalate Sv. Tale metodo ottiene una stima più ampia della distanza media, avvicinandosi al raggio trabecolare reale.

Passaggi in Grasshopper:

1. Estrazione degli spigoli delle celle scalate: Ripetere il *Deconstruct Brep* per le facce delle celle scalate Sv, da cui ricavo facce, vertici e spigoli.
2. Calcolare i punti medi degli spigoli: Individuo i punti medi (*Curve Middle*) delle celle originali e delle scalate Sv.
3. Misurazione delle distanze: Calcolare la distanza tra i punti medi corrispondenti (*Distance*)
4. Calcolo del valore medio: Utilizzo il componente *Average* per ottenere la distanza media.

Per capire al meglio i primi tre metodi mostro ciò che è stato fatto in Rhinoceros analizzando una sola cella. Eseguo il bake della mesh della struttura reticolare e il bake delle celle iniziali del Voronoi, in modalità di visualizzazione Semitrasparente. In figura 62 sono mostrati gli spigoli delle facce delle celle in tre diverse configurazioni: a) spigoli delle facce delle celle iniziali, b) spigoli delle facce scalate del fattore Sf, c) spigoli delle facce delle celle scalate dal fattore Sv.

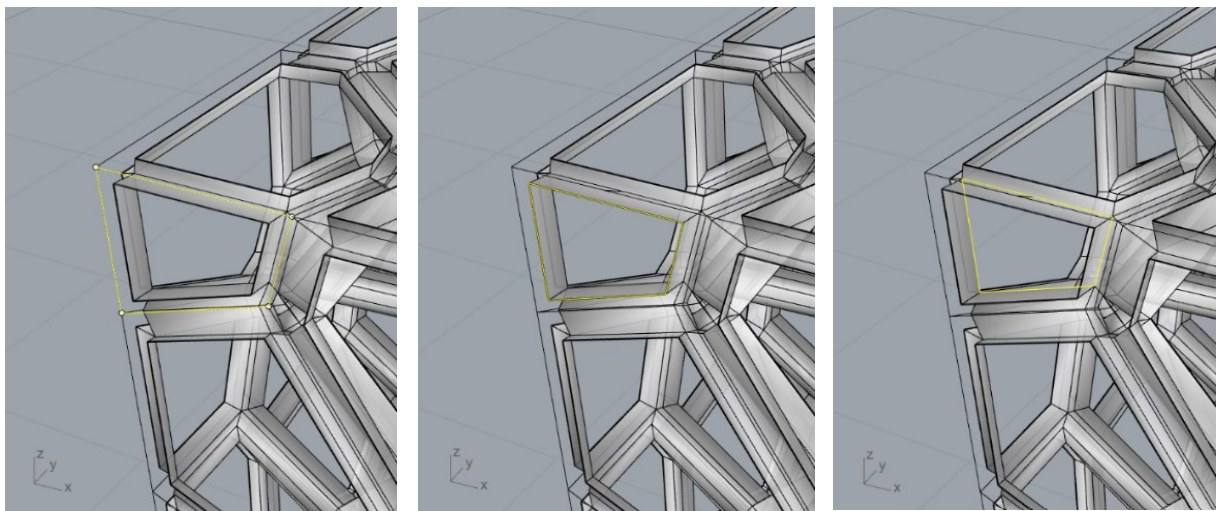


Figura 62: Bake della mesh e celle iniziali di Voronoi (linee sottili più esterne): a) spigoli delle facce delle celle iniziali, b) spigoli delle facce scalate dal fattore Sf, c) spigoli delle facce delle celle scalate dal fattore Sv.

- Metodo 1: Si crea una superficie per 4 punti selezionando i vertici che creano la faccia scalata Sf (Figura 62b). Successivamente premendo sul menù *Analizza*, seleziono *Proprietà di massa* e quindi *Centroide dell'area*, ottengo il centroide. Eseguo gli

analoghi passaggi sugli spigoli interni così da ottenere la superficie della faccia scalata Sv (Figura 62C) e quindi il relativo il centroide. Infine creo una linea che rappresenta la distanza tra i due centroidi, visibile in Figura 63A.

- Metodo 2: Si individua il punto medio degli spigoli della faccia originale e della faccia scalata con fattore Sf. Ciò si ottiene con il comando *Point* e *Osnap* attivo su *Medio*. Creo una linea che colleghi i due punti medi che rappresenta la distanza, visibile in Figura 63B.
- Metodo 3: I passaggi sono analoghi al secondo metodo, e il risultato è visibile in Figura 63c.

Visualizzazione dei primi tre metodi in Rhinoceros:

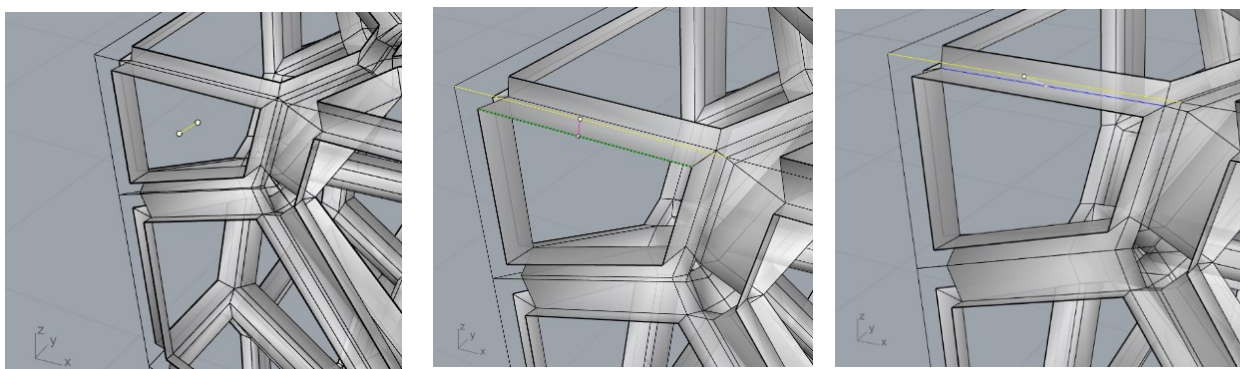


FIGURA 63: a) Metodo 1: Distanza (linea gialla) che connette i due centroidi, b) Metodo 2: Distanza (linea rosa) che connette il punto medio dello spigolo della faccia originale (giallo) e il punto medio dello spigolo della faccia scalata Sf (verde), c) Metodo 3: distanza (linea bianca) che connette il punto medio dello spigolo della faccia originale (giallo) e il punto medio dello spigolo della faccia scalata Sv (blu).

Metodo 4: Metodo delle Intersezioni

Il quarto metodo utilizza un approccio basato sulle intersezioni per ottenere una stima precisa della dimensione trabecolare. Generando piani normali agli spigoli delle celle di Voronoi e intersecandoli con la struttura trabecolare, si ricavano sezioni trasversali che permettono di calcolare parametri come area, perimetro e diametro. Grazie al filtraggio delle curve chiuse e planari ottenute dall'intersezione, questo metodo è in grado di escludere elementi fuori dalla struttura principale, garantendo così risultati altamente accurati e rappresentativi della struttura interna.

Passaggi in Grasshopper:

1. Calcolo del punto medio degli spigoli di ogni cella: Utilizzo *Curve Middle* per individuare i punti medi degli spigoli delle celle di Voronoi (Figura 64A).

2. Escludo i punti della superficie del box che generano sezioni incomplete: Creo un box scalato della struttura iniziale rispetto al suo centro di un fattore impostato a 0,99. Eseguo un controllo booleano, tramite il comando *Point in Brep*, per verificare se i midpoint si trovano all'interno del Brep (struttura tridimensionale chiusa), restituendo un pattern vero/falso. Applico un *Cull Pattern* per selezionare solo i punti medi interni alla struttura scalata ed escludere quelli che stanno fuori (Figura 64B). Questo passaggio riduce l'insieme dei midpoint agli unici necessari per le analisi successive.

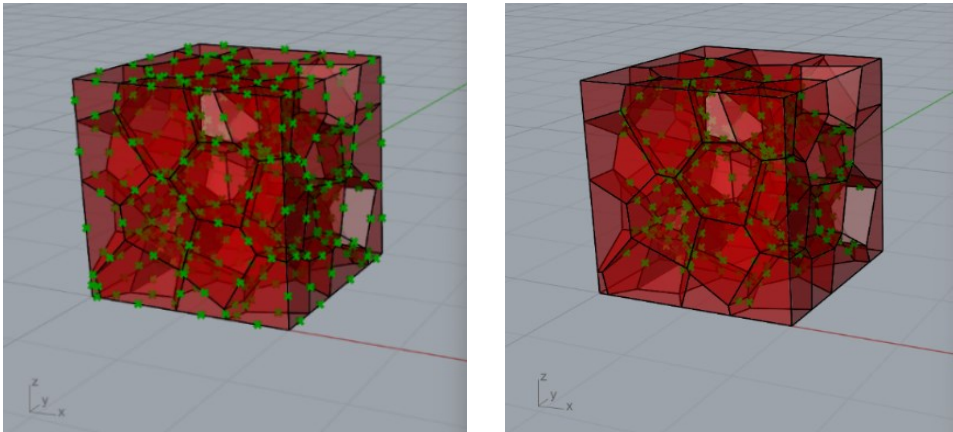


Figura 64: Modalità di visualizzazione *Wireframe* in *Rhinoceros*: in rosso *bake* delle celle *Voronoi*, a) punti medi (*croci verdi*) di tutti gli spigoli, b) punti medi significativi.

3. Creazione dei piani normali: Per ogni midpoint, genero piani normali agli spigoli delle celle di *Voronoi* tramite il componente *Plane Normal*. Questi piani fungono da base per la costruzione di superfici.
4. Creazione delle superfici piane: Utilizzo *Plane Surface* per creare superfici sui piani normali con dimensioni controllate tramite uno slider, impostato a 0.2 mm per garantire la visibilità delle sezioni trabecolari (Figura 65 A). Queste superfici vengono poi centrate rispetto ai propri punti medi (Figura 65B).

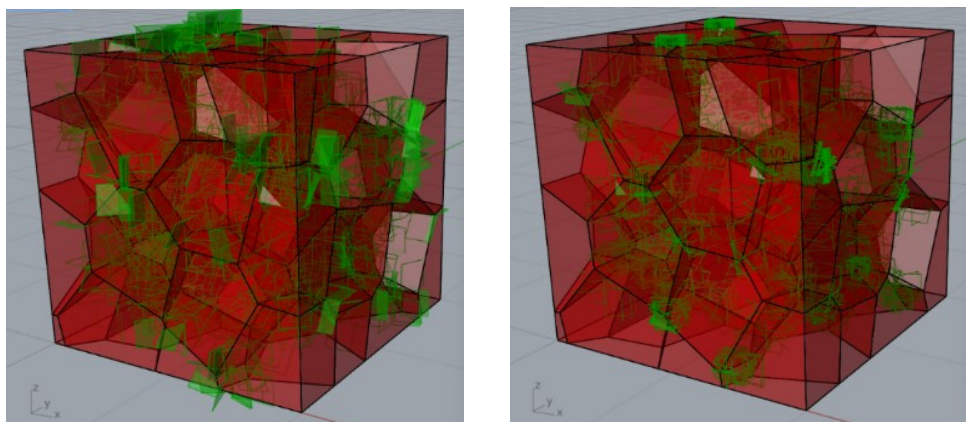


Figura 65: Visualizzazione *Wireframe* in *Rhinoceros*: in rosso *bake* delle celle iniziali di *Voronoi*, in verde A) *Plane Surface*, B) piani ottimali risultati da *move*.

- Centramento delle superfici: Dall'ingrandimento in Figura 66A, si nota che la superficie è creata su un lato del punto medio. Devo traslare tutte le superfici affinché il loro centro coincida con il midpoint. Per ottenere ciò, calcolo il centroide di ogni superficie piana (Area, Figura 66B), poi calcolo la differenza (Difference) tra i punti medi ed i centroidi, che verrà usata come spostamento per la traslazione della superficie piana (Move, Figura 66C).

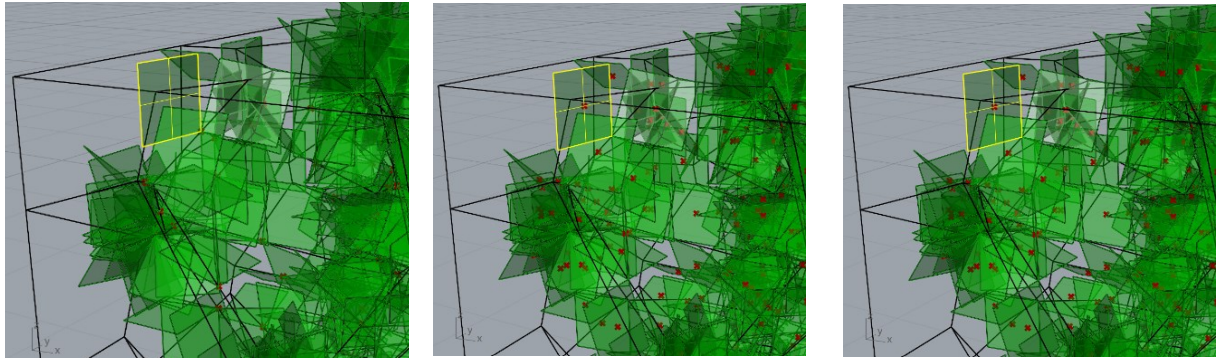


Figura 66: Modalità wireframe di Rhinoceros, celle iniziali del Voronoi (nero), Superfici Piane(verde): a) superficie piana costruita sul punto medio dello spigolo, b) centroide (croce rossa), c) superficie piana centrata correttamente.

- Intersezione tra superfici piane e struttura trabecolare: Applico un'intersezione *Brep|Brep* (BBX) tra le superfici piane ottenute e la struttura trabecolare (SInt), ottenendo curve che rappresentano le sezioni trasversali della struttura (FIGURA 67B). Nel nostro caso le curve ottenute dall'intersezione risultano 3194 (ogni spigolo appartiene a più celle Voronoi, quindi questo port ad una certa duplicazione dei piani di intersezione e delle conseguenti curve).

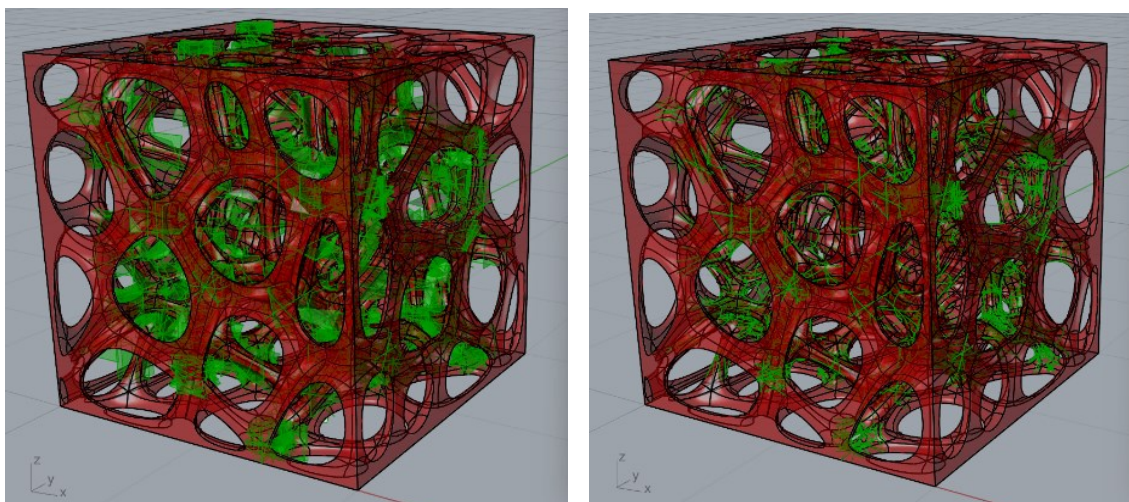


Figura 67: Visualizzazione wireframe in Rhinoceros: a) superfici piane centrate (verde), Sint (rosso), b) 3194 curve ottenute dall'intersezione *brep|brep* (verde), Sint (rosso).

- Filtraggio delle Curve Chiuse e Planari: Per ottenere un set affidabile di curve, applico dei filtri per rimuovere le curve aperte e non planari, assicurandomi che le curve

selezionate siano adeguate all'analisi finale (Figura 68). Il comando *Closed* testa se una curva è chiusa, restituendo un valore true/false. Eseguo un *Cull Pattern* sulle curve sfruttando il pattern del comando *Closed*, che elimina le curve aperte e ottiene solamente quelle chiuse. Poi eseguo un ulteriore *Cull Pattern* inserendo come lista le curve chiuse e come pattern l'output del comando *Planar* (che restituisce valori veri se le curve sono planari). In questo modo rimuovo le curve non planari e mi rimangono le curve chiuse e planari che rappresentano le sezioni trasversali. Nel nostro caso le curve selezionate risultano 667.

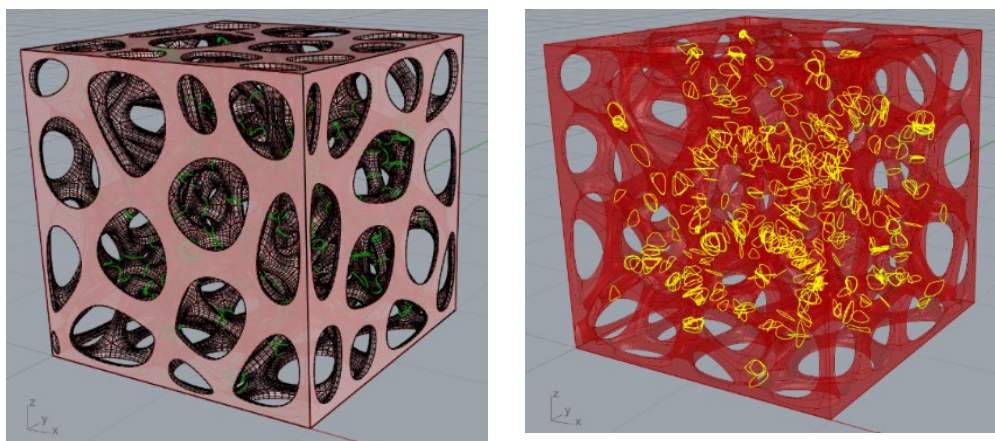


FIGURA 68: A) modalità ombreggiata: bake di Sint (rosa), 667 Curve chiuse e planari (verde), b) modalità wireframe: Sint (rosso), bake di 667 Curve chiuse e planari (giallo)

8. Calcolo dei parametri Geometrici:

- **Area media:** Per ciascuna curva chiusa e planare ricavo l'area (Area), poi calcolo il valore medio di queste (Average) che rappresenta l'area media delle sezioni trabecolari.
- **Diametro medio:** La sezione trabecolare è intesa come un cerchio. Quindi ricavo il diametro trabecolare dalla formula inversa del cerchio:

$$diámetro = \sqrt{\frac{4A}{\pi}}$$

- **Perimetro medio:** Calcolo la lunghezza di ciascuna curva (*Length*) e ricavo il valore medio (*Average*) che rappresenta il perimetro medio delle sezioni trabecolari.

2.4.6) Indice di forma (Circolarità)

L'indice di Forma, noto anche come **Circolarità**, mette in relazione l'area e il perimetro delle sezioni trasversali delle trabecole, fornendo un'indicazione dell'irregolarità e della complessità geometrica rispetto ad una configurazione di riferimento ideale rappresentata da un cerchio. In

ambito geometrico e morfologico, il rapporto tra area e perimetro è spesso utilizzato per descrivere il grado di deviazione di una figura da una forma ideale [56].

Indice di Forma (C) è definito matematicamente come [57]:

$$C = \frac{4\pi \times Area}{Perimetro^2}$$

Il valore massimo di questo indice è 1, che corrisponde ad una forma perfettamente circolare. Valori inferiori indicano forme sempre più irregolari e complesse rispetto al cerchio ideale [57].

La circolarità permette di valutare quanto le sezioni delle trabecole si discostino da una configurazione perfettamente circolare [58]:

- Sezione circolare: l'indice di forma assume il valore massimo, indicando la massima compattezza e il miglior rapporto area/perimetro.
- Sezione quadrata o romboidale: il perimetro aumenta rispetto all'area, riducendo l'indice di compattezza rispetto ad un cerchio.
- Sezione irregolare, come stellata o frastagliata: il perimetro cresce in modo considerevole rispetto all'area, riducendo ulteriormente l'indice di forma e suggerendo un elevato grado di irregolarità.

Passaggi in Grasshopper:

L'indice di forma viene calcolato per ciascuna sezione ottenuta mediante il quarto metodo per la determinazione dello spessore trabecolare. Per ciascuna curva di intersezione, viene calcolato un indice di forma. Successivamente, si procede con l'estrazione del valore medio (*Average*), dei valori massimo e minimo (*Bounds*), e con il calcolo della deviazione standard (Figura 69).

La deviazione standard è data da:

$$Deviazione\ Standard = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n}}$$

Dove x_i sono i valori nella lista, \bar{x} è il valore medio, e n è il numero di valori nella lista.

Procedura in Grasshopper per ottenere la deviazione standard:

1. Sottrarre il valore medio da ciascun elemento della lista (*Subtraction*).
2. Elevare al quadrato ciascuna differenza (*Square*).
3. Sommare tutte le differenze al quadrato (*Mass Addition*).
4. Calcolare il numero di elementi della lista (*List Length*)

5. Dividere la somma delle differenze quadrate per il numero di elementi nella lista (*Division*).
6. Calcolare la radice quadrata del risultato (*Sqrt*).

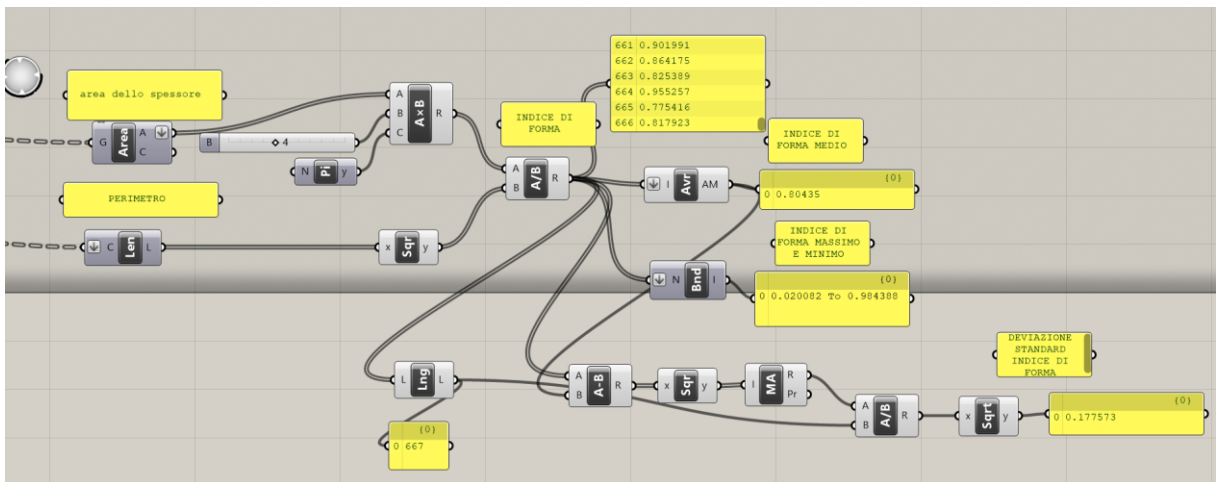


Figura 69: Passaggi in Grasshopper per ricavare i valori dell'indice di forma, poi indice di forma medio, indice di forma massimo e minimo e la deviazione standard. Risultati dell'indice di forma con $S_f, S_v = 0.8$.

Capitolo 3: Risultati e Discussione

La modellazione della struttura trabecolare, basata su celle poliedriche generate tramite diagrammi di Voronoi, ha prodotto una struttura complessa e ben definita, in grado di simulare fedelmente la morfologia ossea.

In questa sezione vengono presentati i risultati ottenuti dalla modifica dei parametri di input per ottimizzare la configurazione dello scaffold osseo. L'analisi è stata condotta con l'obiettivo di ottenere una struttura che rispetti i requisiti funzionali e morfologici richiesti, garantendo un equilibrio tra le proprietà strutturali e le caratteristiche biologiche desiderate.

In particolare, i parametri input che sono stati variati sono: lato del box, numero di pori (semi delle celle di Voronoi) e i fattori di scala Sf (fattore di scala delle facce delle celle di Voronoi) ed Sv (fattore di scala delle celle del Voronoi).

I parametri studiati e i risultati corrispondenti si concentrano sui seguenti aspetti:

1. **Porosità:** Valutazione della porosità globale della struttura e ottimizzazione mediante la variazione del numero di semi di popolamento e dei fattori di scala (Sf, Sv).
2. **Numero di pori:** Analisi del numero totale di pori ottenuto in relazione alla dimensione del box iniziale e al diametro target dei pori.
3. **Dimensione effettiva dei pori:** Studio della dimensione effettiva dei pori basato su due metodi di calcolo, con confronto tra i risultati.
4. **Interconnessione tra i pori:** Esame del livello di interconnessione e delle dimensioni dei canali connettivi, ottenuti con due metodologie.
5. **Dimensione trabecolare:** Stima della dimensione trabecolare mediante quattro differenti metodi, con valutazione dell'effetto dei parametri di input.
6. **Indice di forma:** Calcolo dell'indice di forma per valutare la regolarità, la simmetria e l'anisotropia della struttura generata.

I risultati dettagliati per ciascun aspetto sono descritti nelle sottosezioni seguenti.

3.1) Porosità

La porosità della struttura trabecolare è stata ottimizzata attraverso la modifica dei parametri di input, con l'obiettivo di identificare configurazioni che garantiscano valori porosimetrici adeguati ai requisiti progettuali dello scaffold. Di seguito sono riportati i principali risultati ottenuti:

- **Variazione del numero di semi di popolamento (n):** Mantenendo costanti i fattori di scala Sf e Sv, la porosità della struttura trabecolare ha mostrato una limitata variazione al crescere del numero di semi, come riportato in Tabella 3 e Grafico 1. Questo suggerisce che l'incremento del numero di semi, per un box di dimensioni fisse, ha un impatto marginale sulla porosità.
- **Variazione dei fattori di scala (Sf e Sv):** La porosità aumenta proporzionalmente con l'incremento dei fattori di scala Sf e Sv, impostati allo stesso valore. Impostando entrambi i fattori a 0,8 sono stati ottenuti valori ottimali di porosità, come mostrato in Tabella 4 e Grafico 2, che verranno utilizzati per le analisi nelle sottosezioni successive.

Tabella 3: Porosità effettiva modificando il numero della popolazione (n).

Lato Box (mm)	Numero popolazione	Fattori scala Sf, Sv	Porosità osso trabecolare
10	10	0.8	81,6875
10	20	0.8	82,6442
10	30	0.8	83,0769
10	40	0.8	83,3276
10	50	0.8	83,5066
10	60	0.8	83,4518
10	70	0.8	83,4142
10	80	0.8	83,5541
10	90	0.8	83,7017
10	100	0.8	83,7845

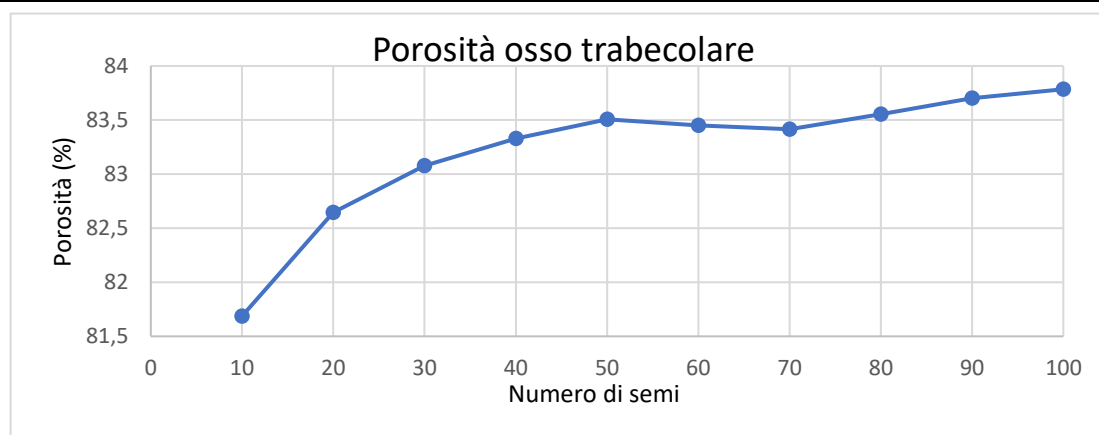


Grafico 1: Andamento della porosità al variare del numero di semi utilizzati per generare il diagramma di Voronoi, considerando un box di lato 10 mm. Si nota la limitata variazione della porosità (valori compresi tra 81,6875% e 83,7845%) al crescere del numero di semi.

Tabella 4: Porosità effettiva modificando i fattori di scala (Sf ed Sv impostati uguali) per un box di lato 10mm e una popolazione di 100 semi (n=100).

Lato Box (mm)	Numero popolazione	Fattori di scala Sf =Sv	Porosità osso trabecolare
10	100	0,25	17,5416
10	100	0,3	22,8053
10	100	0,35	28,5140
10	100	0,4	34,5700
10	100	0,45	40,8756
10	100	0,5	47,3327
10	100	0,55	53,8437
10	100	0,6	60,3108
10	100	0,65	66,6362
10	100	0,7	72,7221
10	100	0,75	78,4707
10	100	0,8	83,7845

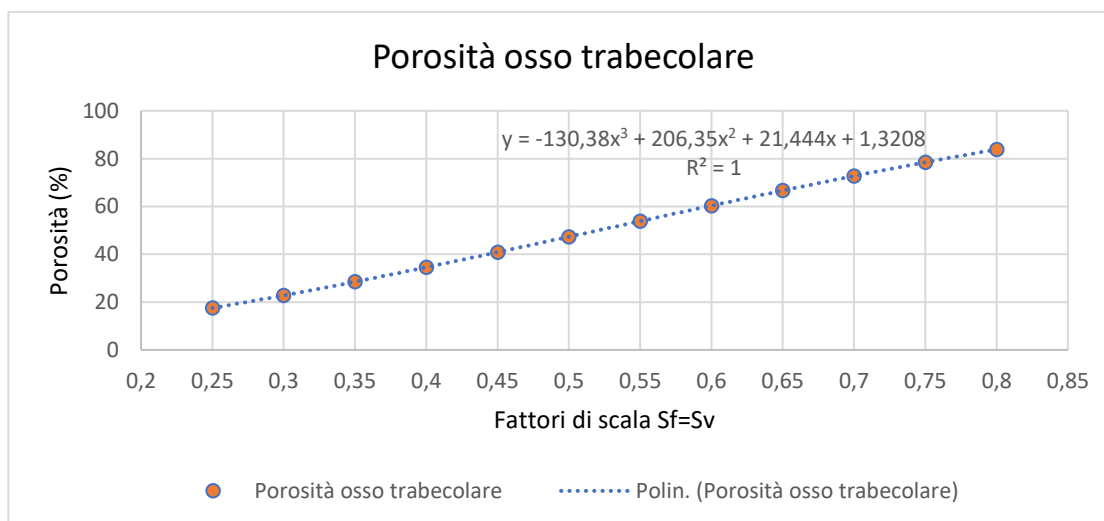


Grafico 2: Andamento della porosità al variare dei fattori di Scala Sf ed Sv impostati allo stesso valore, considerando un box di lato 10 mm, rappresentato dalla linea blu tratteggiata ottenuta tramite interpolazione polinomiale di terzo grado. Si nota l'aumento proporzionale della porosità (valori compresi tra 17,5416% e 83,7845%) al crescere dei fattori di scala.

3.2.) Numero di input di popolamento (Numero dei pori)

L'analisi del numero totale di pori è stata condotta variando sia la dimensione del box iniziale che il diametro target dei pori. Questa analisi ha permesso di individuare configurazioni bilanciate, considerando le implicazioni strutturali e computazionali.

1)Variazione della dimensione iniziale del Box:

Modificando la dimensione iniziale della box, è stato possibile analizzare le variazioni di volume dei vuoti e del numero dei pori. Come evidenziato in Tabella 5 e Grafico 3, all'aumentare del lato della box si verifica un incremento del numero di pori, con conseguente aumento del carico computazionale. Ad esempio, per un box con lato di 10 mm, il numero di pori è di circa 7074, mentre per un box di lato 2 mm, il numero di pori si riduce a 57, offrendo una configurazione più bilanciata e computazionalmente gestibile.

Tabella 5: Variazione del numero di pori con lato del box variabile. Parametri fissi: porosità target 80%, dimensione dei pori target 0,6mm, volume sfera target 0.113097 mm³.

Lato Box (mm)	Volume Box (mm ³)	Volumi Vuoti Target (mm ³)	Numero Pori
10	1000	800	7073,552997
9	729	583,2	5156,620135
8	512	409,6	3621,659134
7	343	274,4	2426,228678
6	216	172,8	1527,887447
5	125	100	884,1941246
4	64	51,2	452,7073918
3	27	21,6	190,9859309
2	8	6,4	56,58842397
1	1	0,8	7,073552997

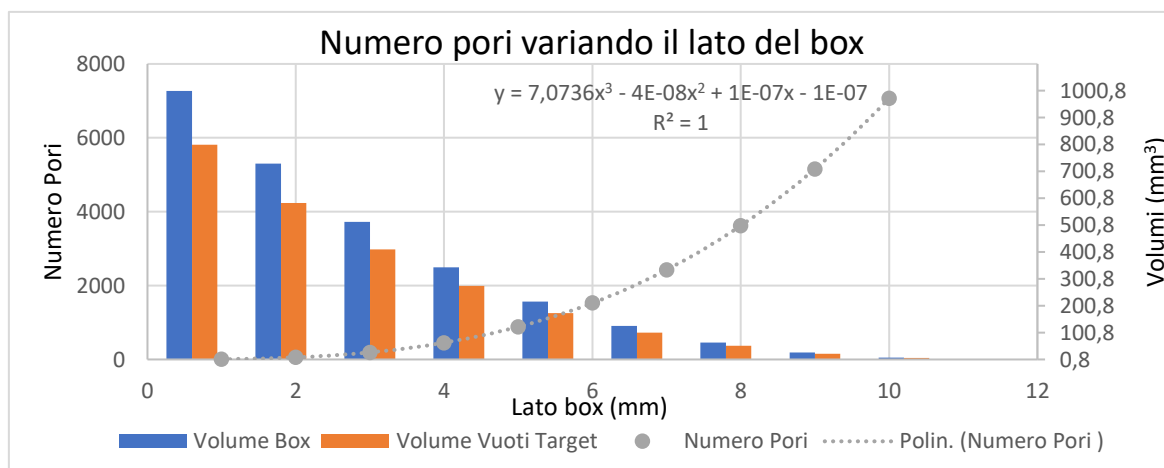


Grafico 3: Andamento del numero di pori al variare del lato del box (mm) rappresentato da una linea tratteggiata grigia ottenuta tramite interpolazione polinomiale cubica. I valori del Volume del box sono indicati nelle colonne blu, mentre i Volumi Vuoti Target nelle colonne arancio.

2)Variazione della dimensione dei pori target:

Il valore ottimale del numero di pori è stato determinato variando il diametro target dei pori all'interno di un intervallo ritenuto ottimale secondo la letteratura. In particolare, fissando un lato della box pari a 2 mm, una porosità target dell'80% e fattori di scala $S_f=S_v=0,8$ i risultati mostrano che una riduzione del diametro target dei pori comporta una diminuzione del volume associato a ciascun poro e un aumento proporzionale del numero totale di pori (Tabella 6, Grafico 4).

Ad esempio, in una box con lato di 2 mm, un diametro target dei pori di 0,6 mm corrisponde a un numero di pori pari a 57, mentre riducendo il diametro a 0,4 mm il numero di pori aumenta a 191.

Di conseguenza, la configurazione ottimale individuata, caratterizzata da un lato box di 2 mm, una porosità target fissata all'80%, un diametro target dei pori di 0,6 mm e un numero di pori pari a 57, è stata scelta come base per le analisi successive.

Tabella 6: Numero di pori per un box di lato 2 mm variando il diametro dei pori target. Parametri fissi: porosità target 80%, volume box 8 mm³, volume vuoti target 6,4 mm³.

Diametro Pori Target (mm)	Volume Sfera Target (mm ³)	Numero Pori Target
0,6	0,113097336	56,58842421
0,55	0,087113746	73,46716532
0,5	0,065449847	97,78479704
0,45	0,047712938	134,1355241
0,4	0,033510322	190,9859317
0,35	0,022449298	285,0868718
0,3	0,014137167	452,7073937
0,25	0,008181231	782,2783763
0,2	0,00418879	1527,887454
0,15	0,001767146	3621,659149

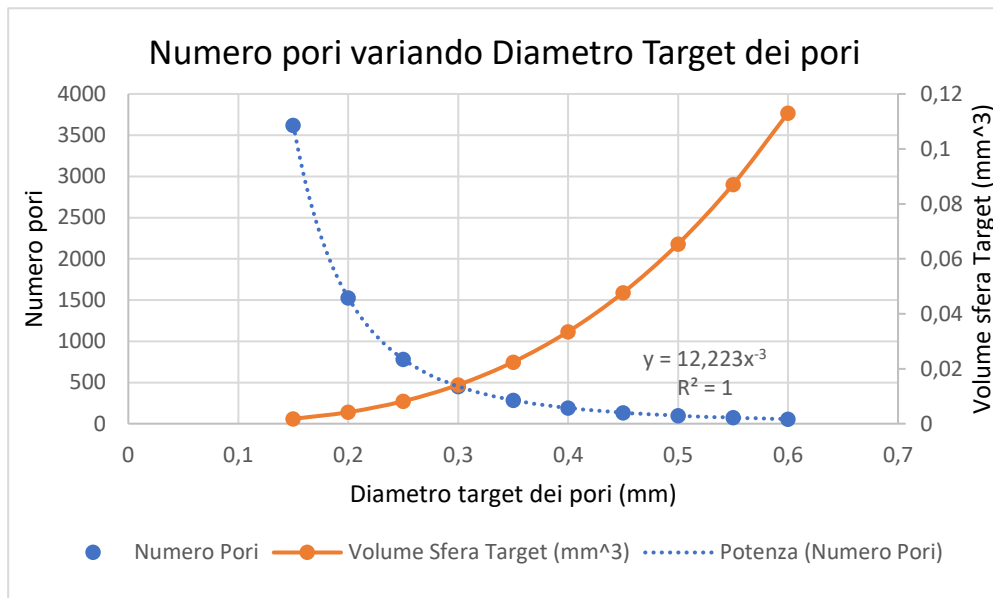


Grafico 4: Andamento del numero di pori al variare del Diametro Target dei pori (mm) rappresentato da una linea tratteggiata blu ottenuta tramite interpolazione di potenza. I valori del Volume della Sfera Target (mm³) sono rappresentati dalle curve di dispersione con indicatori in arancio.

3.3) Dimensione effettiva dei pori

I pori nella struttura trabecolare sono rappresentati dalle celle poliedriche generate dal diagramma di Voronoi. A causa della complessità geometrica delle celle, i pori sono approssimati a sfere equivalenti in volume [50]. Sono stati implementati due metodi basati sull'approssimazione volumetrica per calcolare il volume equivalente del poro, ciascuno con un differente approccio nella definizione del volume di riferimento. In entrambi i casi, il diametro del poro viene calcolato utilizzando la formula inversa del volume della sfera. L'obiettivo è confrontare i risultati ottenuti con ciascun metodo, valutandone la rispondenza ai valori target indicati in letteratura (150µm- 600 µm) per applicazioni nel design di scaffold ossei.

Metodo 1: Volume delle celle poliedriche scalate.

Questo metodo si basa sull'utilizzo del volume delle celle poliedriche generate dal diagramma di Voronoi, scalate secondo un fattore di scala Sv. Ogni cella (poro) è approssimata a una sfera il cui centro coincide con il centroide della cella stessa, e il cui volume è equivalente a quello della cella scalata. Sebbene utile come stima preliminare, questo metodo presenta limitazioni significative, in quanto considera l'intero volume delle celle scalate, includendo anche gli

spazi vuoti residui tra i pori, che non partecipano alla reale morfologia del poro. Pertanto, tende a sovrastimare il volume e a sottostimare la dimensione effettiva del poro.

Metodo 2: Volume dello spazio vuoto effettivo, ottenuto tramite differenza solida booleana.

Il secondo metodo, più realistico, isola il volume vuoto effettivo mediante una differenza solida booleana (SDiff) tra le celle di Voronoi originali e la struttura reticolare dello scaffold. Questo processo rimuove le porzioni solide non rilevanti, restituendo una stima più accurata del diametro effettivo dei pori, ricavato dal volume del vuoto effettivo. Ogni poro viene quindi approssimato a una sfera posizionata nei centroidi degli spazi vuoti. Questo metodo offre una maggior precisione rispetto al precedente, poiché considera esclusivamente il volume effettivo dello spazio vuoto.

Risultati e Confronto

La dimensione effettiva dei pori è stata valutata in funzione dei parametri di input per garantire la conformità con i requisiti funzionali della struttura ossea. In particolare, sono stati ricavati i diametri minimi e massimi per due configurazioni ottenute con diversi diametri target (0,6 mm e 0,4 mm), e quindi un diverso numero di pori (57 e 191), mantenendo costanti il lato del box (2mm), la porosità target (80%), volume box (8 mm³) e volume dei vuoti (6,4 mm³). I risultati ottenuti con i due metodi sono riassunti in Tabella 7 e Grafico 5.

Tabella 7: Confronto diretto tra le dimensioni effettive dei pori ottenute con il Metodo 1 e Metodo 2, con diversi diametri target dei pori (0,6 mm e 0,4 mm), diverso numero di pori (57 e 191).

DATI	METODO 1 (0,6mm target)	METODO 2 (0,6mm target)	METODO 1 (0,4 mm)	METODO 2 (0,4 mm)
Diametro Pori Target (mm)	0,6	0,6	0,4	0,4
Volume Sfera Target (mm ³)	0,113097336	0,113097336	0,033510322	0,033510322
Numero Pori Target	57	57	190,985	190,985
Diametro Effettivo minimo (mm)	0,367807	0,426443	0,213788	0,247368
Diametro Effettivo massimo (mm)	0,636849	0,755541	0,418921	0,502178

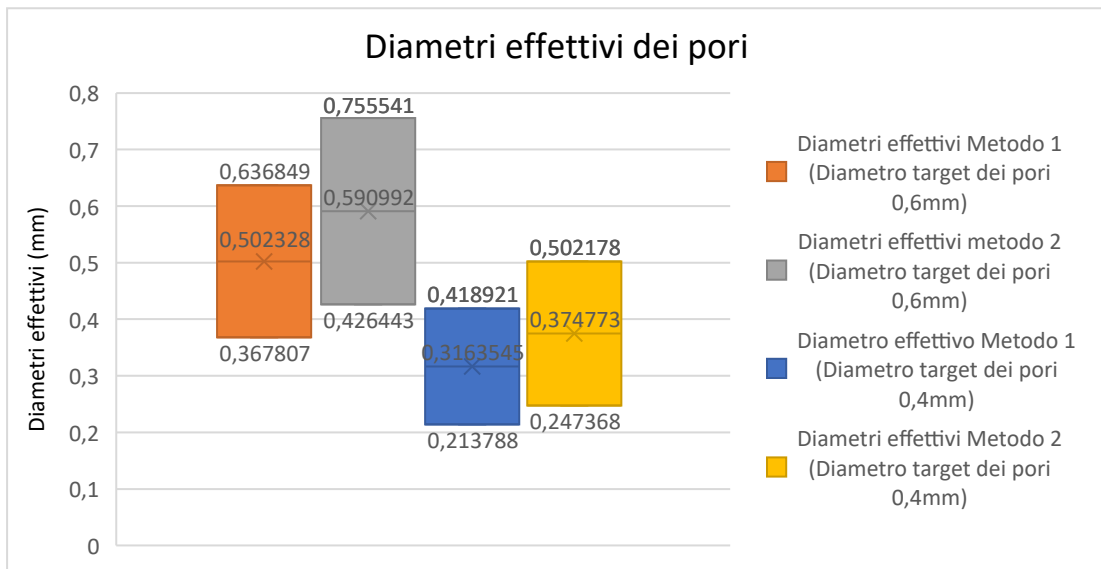


Grafico 5: Confronto dei diametri effettivi massimi e minimi dei pori ottenuti nei due metodi per due diverse dimensioni target dei pori (0,6mm e 0,4mm).

Osservazioni:

I diametri calcolati si mantengono all'interno del range indicato dalla letteratura (150–600 μm), con una migliore rispondenza per il Metodo 2. Questo tende a fornire valori di diametro leggermente più elevati rispetto al Metodo 1, sia per i diametri minimi che massimi. Ciò è attribuibile alla natura del Metodo 2, che considera esclusivamente il volume vuoto effettivo. Inoltre al variare della dimensione target dei pori da 0,6mm a 0,4mm, entrambi i metodi riflettono questa riduzione nei valori effettivi del diametro.

Il metodo 1, basato sull'approssimazione delle celle scalate, fornisce una stima preliminare delle dimensioni dei pori ed è utile per analisi preliminari. Tuttavia, tende a sovrastimare il volume del poro, includendo spazi solidi non vuoti, e quindi sottostima il diametro effettivo.

Il metodo 2, che utilizza la differenza booleana, risulta più accurato e rappresentativo della reale morfologia dei pori, escludendo gli effetti degli spazi solidi. Questo metodo è preferibile per applicazioni che richiedono un'elevata precisione nella caratterizzazione dei pori, come nel design di scaffold ossei. Pertanto, il secondo metodo verrà considerato come modello di riferimento per lo studio delle dimensioni dei pori nelle analisi successive.

3.4) Interconnessione tra pori

Sono stati analizzati il livello di interconnessione e la dimensione dei canali connettivi per valutare la comunicazione tra i pori e la permeabilità della struttura.

3.4.1) Livello di interconnessione

Il livello di interconnessione dei pori è stato valutato in base al numero medio di facce delle celle poliedriche del diagramma di Voronoi. Ogni faccia rappresenta un potenziale collegamento con una cella adiacente e, quindi, un canale di connessione tra i pori. Sebbene il livello di interconnessione non sia un parametro direttamente modificabile, esso varia con il numero di semi e la dimensione target dei pori [50].

Sono state analizzate diverse configurazioni, ottenute variando il numero di semi e la dimensione target dei pori, e per ciascuna è stato calcolato il numero medio di facce delle celle (Tabella 8).

Tabella 8: Livello di Interconnessione variando il numero medio delle facce.

Esempio	Lato Box (mm)	Fattore di scala (Sf=Sv)	Numero semi	Dimensione Target dei pori (mm)	Numero medio di Facce
1	2	0,25	57	0,6	10,92
2	2	0,8	57	0,6	10,92
3	2	0,8	191	0,4	12,15

Osservazioni:

- L'aumento del numero di semi nel diagramma di Voronoi incrementa il livello di interconnessione tra i pori. Questo perché più semi generano più facce nei poliedri, aumentando il numero di canali connettivi che si estendono da ciascun poro verso i pori vicini. Come evidenziato in tabella passando da 57 a 191 semi porta ad un aumento medio di facce da 10,92 a 12,15.
- La scalatura delle celle non influisce sul livello di interconnessione: sia con fattore di scala 0,24 che 0,8, il numero medio di facce rimane invariato a 10,92.
- Una dimensione target dei pori più piccola (0,4mm) porta ad un livello di interconnessione più elevato, poiché aumenta il numero di semi.

L'analisi suggerisce che, sebbene il livello di interconnessione possa essere influenzato dal numero di semi e dalla dimensione target dei pori, esso non rappresenta un parametro

controllabile direttamente. Piuttosto, è un risultato delle configurazioni adottate e dei parametri strutturali dello scaffold.

3.4.2) Dimensione dei canali connettivi

L'analisi della dimensione dei canali connettivi è stata condotta utilizzando due metodi distinti, con l'obiettivo di stimare accuratamente le dimensioni medie dei canali che collegano i pori nella struttura trabecolare.

Metodo 1: Area delle Facce scalate: In questo metodo, la dimensione dei canali connettivi è approssimata all'area delle facce scalate delle celle poliedriche del diagramma di Voronoi. Ogni faccia scalata, nel nostro caso di un fattore $S_f=0,8$, rappresenta un potenziale canale di connessione tra pori adiacenti. È stata calcolata l'area media delle facce scalate per stimare la dimensione media dei canali connettivi. Questo approccio, sebbene utile per una stima preliminare, include anche superfici non direttamente rilevanti per la connessione, come superfici non piane, fornendo una sovrastima delle dimensioni effettive dei canali.

Metodo 2: Superfici isolate tramite Differenza solida: Questo metodo si basa sull'uso di una differenza solida booleana (SDiff) per isolare le superfici effettive di connessione tra i pori. Le superfici rilevanti sono state filtrate utilizzando una soglia minima, selezionando successivamente solo le superfici piane. È stata calcolata l'area media di queste superfici planarizzate per stimare la dimensione media dei canali connettivi. Questo metodo garantisce una stima più precisa, escludendo superfici non significative e considerando solo gli elementi geometrici direttamente rappresentativi dei canali connettivi.

Risultati e Confronto

I risultati delle dimensioni medie dei canali connettivi calcolate con i due metodi sono riportati in Tabella 9.

Tabella 10: Confronto diretto tra Metodo 1 e Metodo 2 per ottenere la Dimensione media dei canali connettivi.

DATI	VALORI
Lato Box (mm)	2
Volume Box (mm ³)	8
Porosità Target (%)	80
volumi vuoti target (mm ³)	6,4
Diametro Pori Target (mm)	0,6
Volume Sfera Target (mm ³)	0,113097336

Numero Pori Target	57
Dimensione media canali Metodo 1 (mm ²)	0,093159
Dimensione media canali Metodo 2 (mm ²)	0,043664

I risultati evidenziano una discrepanza significativa tra le dimensioni medie dei canali connettivi ottenute con i due metodi, che valgono rispettivamente: 0,093159 mm² (Metodo 1), e 0,043664 mm² (Metodo 2). Questo divario riflette le diverse metodologie impiegate e le relative assunzioni.

- Metodo 1, basato sulle facce scalate che risultano più ampie, fornisce un valore di dimensione media dei canali connettivi superiore, poiché include anche superfici non rilevanti per la connessione tra i pori. Questo metodo è utile per una stima rapida ma produce valori meno rappresentativi della reale interconnessione dei pori.
- Metodo 2, che si avvale sulla differenza booleana, fornisce una stima più ridotta e realistica della dimensione media dei canali connettivi, perché isola le superfici piane di effettiva connessione tra i pori, escludendo elementi geometrici che non rappresentano interconnessioni. Questo metodo risulta più accurato e rispondente alla reale interconnessione dei pori, rendendolo adatto per studi dettagliati. Pertanto, verrà considerato come modello di riferimento per lo studio della dimensione media dei canali connettivi nelle analisi successive.

3.5) Dimensione trabecolare

La dimensione trabecolare è un parametro fondamentale per la caratterizzazione geometrica dello scaffold osseo, poiché descrive lo spessore medio delle trabecole che formano la struttura. Per stimare con precisione questa misura, sono stati impiegati quattro metodi distinti, ognuno con un diverso grado di complessità e precisione.

Metodo 1: Distanza tra i centroidi delle facce scalate

Il primo metodo stima la dimensione trabecolare calcolando la distanza tra il centroide della faccia scalata con il fattore Sf e il centroide della faccia scalata con il fattore Sv. Tale distanza rappresenta il raggio medio della trabecola, che vale 0.0647746 mm. Raddoppiando questo valore si ottiene il diametro trabecolare, che risulta circa 0.12955mm. Questo approccio, semplice e computazionalmente rapido, basato sui centroidi delle facce, fornisce una stima approssimativa e sottostimata della dimensione reale, poiché considera solo le aree centrali delle facce e non l'intera larghezza delle trabecole.

Metodo 2: Distanza tra punti medi gli spigoli delle facce scalate

In questo metodo, la dimensione trabecolare è calcolata come distanza tra il punto medio degli spigoli della faccia originale e della faccia scalata con fattore Sf. La distanza tra questi due punti rappresenta il raggio medio della trabecola, che risulta 0.041979 mm, con diametro medio conseguente di 0,083958 mm. Questo approccio considera solo una porzione della trabecola e può portare a sottostime, poiché viene ignorata la variazione di spessore lungo le trabecole.

Metodo 3: Distanza tra i punti medi degli spigoli delle facce delle celle scalate

La dimensione trabecolare viene calcolata come la distanza tra il punto medio degli spigoli della faccia originale e quelli delle facce scalate con il fattore Sv. La distanza media ottenuta è di 0.079185mm, corrispondente a un diametro di 0,15837 mm. Questo metodo fornisce una stima più ampia rispetto ai precedenti, ma rimane comunque approssimativo, poiché non tiene conto della variabilità geometrica interna delle strutture.

Metodo 4: Metodo delle Intersezioni per il Calcolo della Dimensione Trabecolare.

Il quarto metodo si avvale dell'analisi delle sezioni trasversali generate tramite intersezioni tra piani normali agli spigoli delle celle di Voronoi e la struttura trabecolare. Grazie al filtraggio delle curve chiuse e planari ottenute dall'intersezione, questo metodo è in grado di escludere elementi fuori dalla struttura principale, garantendo così risultati altamente accurati e rappresentativi della struttura interna, garantendo così stima accurata dello spessore trabecolare. Da queste sezioni trabecolari, intese come cerchi, vengono calcolati più parametri geometrici come area, perimetro e diametro. Il valore medio del perimetro è di 0.308426 mm, mentre l'area media della sezione trabecolare risulta 0.007237 mm². Da questo valore, con la formula inversa del cerchio, ottengo il diametro medio della sezione trabecolare, che vale 0.095989 mm. Dividendo per due si ricava un raggio di 0,0479945mm. Questo metodo, è il più preciso, in quanto riflette fedelmente la geometria reale delle trabecole.

Risultati e Confronto tra i 4 metodi

Nella Tabella 11 sono riassunti i risultati della sezione trabecolare (raggio e diametro) ottenuti con i quattro metodi.

Tabella 11: Dimensioni trabecolari ottenute con i quattro metodi, per un box di lato 2mm, numero semi 57, fattori Sf ed Sv = 0.8.

Metodi	Raggio medio delle trabecole	Diametro medio delle trabecole
Metodo 1	0.064775 mm	0.12955 mm
Metodo 2	0.041979 mm	0.083958 mm
Metodo 3	0.079185 mm	0.15837 mm
Metodo 4	0.047995 mm	0.095989 mm

Il confronto tra i quattro metodi evidenzia una progressiva precisione.

I primi tre metodi, basati su calcoli geometrici relativi a facce e spigoli delle celle scalate, sono utili per analisi preliminari grazie alla loro semplicità. Tuttavia, forniscono stime approssimative della dimensione trabecolare, in quanto non considerano la complessità geometrica della struttura trabecolare.

Il quarto metodo delle intersezioni, sebbene più complesso, è il più accurato, poiché calcola la dimensione trabecolare tramite sezioni trasversali che riflettono più fedelmente la struttura reale delle trabecole. Offre una stima dettagliata e rappresentativa della dimensione trabecolare, grazie alla selezione delle sezioni chiuse e planari e alla capacità di escludere elementi non rilevanti. Pertanto, il quarto metodo verrà considerato come modello di riferimento per lo studio delle dimensioni trabecolari nelle analisi successive.

3.6) Analisi dei risultati dello studio: Sezione trabecolare e Indice di forma

L'analisi condotta utilizzando il quarto metodo, basato sull'intersezione di piani normali agli spigoli delle celle di Voronoi con la struttura trabecolare, ha permesso di ottenere una rappresentazione dettagliata delle sezioni trasversali delle trabecole. I risultati mostrano che le sezioni trabecolari non sono perfettamente circolari ma presentano una complessità geometrica significativa. Questo comportamento si riflette in una serie di parametri geometrici calcolati, quali area, perimetro e indice di forma (circolarità), che forniscono una misura della regolarità e della compattezza delle sezioni.

I risultati ottenuti con il quarto metodo per una configurazione con $S_f = S_v = 0,8$, lato del box pari a 2mm e 57 semi, sono sintetizzati nella Tabella 12.

Tabella 12: Parametri ottenuti con il Metodo 4: $S_f=S_v=0.8$. lato 2mm, 57 semi.

Risultato	Valore
Diametro medio delle trabecole	0.095989 mm
Area media sezione trabecolare	0.007237 mm ²
Perimetro medio sezione trabecolare	0.308426 mm
Indice di forma medio	0.80435
Indice di forma Massimo	0.984388
Indice di forma minimo	0.020082
Deviazione standard	0.177573

1. Area e perimetro:

L'area media delle sezioni trabecolari (0.007237 mm²) è inferiore rispetto a quella teorica di un cerchio perfetto con lo stesso diametro medio. Allo stesso modo, il perimetro medio (0.308426 mm) è superiore rispetto a quello di un cerchio ideale (0.30156 mm), suggerendo una maggiore complessità geometrica e irregolarità delle sezioni, che assumono forme allungate o poligonali.

2. Irregolarità delle sezioni trabecolari:

L'indice di forma medio (~0.804), che mette in relazione l'area e i perimetri di ogni sezione, conferma che le sezioni trabecolari si discostano da una configurazione circolare ideale (Indice di forma=1). La deviazione standard elevata (~0.177) indica una notevole variabilità nella forma delle sezioni, mentre i valori massimo e minimo dell'indice di forma evidenziano un'ampia gamma di configurazioni. I valori di circolarità confermano che le trabecole non sono perfettamente circolari, ma presentano una significativa variabilità morfologica, come evidenziato dalla deviazione standard.

Il fatto che le trabecole non presentano una sezione perfettamente circolare è spiegato da diversi fattori:

1. Anisotropia strutturale dell'osso trabecolare: L'osso trabecolare è progettato per adattarsi a carichi meccanici specifici, il che comporta una variazione della forma delle trabecole per seguire le linee di forza. Quindi le sezioni che si discostano da una forma circolare perfetta, assumendo invece conformazioni irregolari.
2. Complessità Geometrica del modello: Durante la modellazione geometrica, la natura geometrica e l'interconnessione delle celle di Voronoi, nonché le operazioni di scalature applicate, influenzano la forma finale delle sezioni trabecolari. Questo

processo genera forme più poligonali, allungate o comunque lontane dalla perfezione del cerchio.

La forma e la complessità delle sezioni trabecolari sono strettamente influenzate dai fattori di scala S_f e S_v , che determinano rispettivamente la dimensione delle facce e dei volumi delle celle. La variazione di questi parametri introduce modifiche significative alla geometria e alla regolarità delle sezioni trabecolari, oltre che alle proprietà complessive dello scaffold.

La combinazione dei fattori di scala S_f e S_v permette di ottenere una vasta gamma di configurazioni morfologiche. Ad esempio, una configurazione con entrambi i fattori di scala impostati a 0,8 (Tabella 12) genera una struttura caratterizzata da elevata porosità (oltre l'80%) e un buon livello di interconnessione tra i pori, ma deve essere attentamente bilanciata per evitare un'eccessiva fragilità dello scaffold.

La modifica di S_f e S_v non si limita alla regolazione della porosità, ma incide sulla dimensione dei canali connettivi, sulla distribuzione del materiale e sullo spessore trabecolare. Di conseguenza, la progettazione di uno scaffold richiede un'accurata ottimizzazione di questi parametri per garantire il corretto equilibrio tra porosità e resistenza meccanica, adattando lo scaffold alle specifiche esigenze applicative in ambito bioingegneristico.

Nella prossima sottosezione, si analizzeranno i risultati ottenuti modificando il fattore di scala S_f , con particolare attenzione ai parametri geometrici, morfologici e strutturati derivati dalle sezioni trabecolari. Questo studio consentirà di comprendere in dettaglio come la regolazione di S_f influenzi la regolarità e la complessità delle sezioni trabecolari, individuando configurazioni ottimali per lo scaffold.

3.7) Analisi degli effetti della variazione del Fattori di Scala S_f nella Modellazione dello Scaffold Trabecolare

Per ottimizzare la configurazione dello scaffold trabecolare basato su celle di Voronoi, è stata analizzata la variazione del fattore di scala S_f , valutandone l'effetto su parametri geometrici, morfologici e strutturali, in termini di porosità, dimensione dei canali connettivi e delle caratteristiche delle sezioni trabecolari. L'obiettivo è identificare il miglior compromesso tra densità strutturale, regolarità delle sezioni trabecolari e prestazioni meccaniche.

Lo studio è stato condotto su un box con lato di 2 mm, 57 semi e con il fattore S_v fissato a 0.8 e il fattore S_f che varia da 0,85 a 0,60. Di seguito sono riportati i risultati e il confronto tra le configurazioni analizzate.

3.7.1) Risultati Geometrici

- Risultati delle scalature delle facce (Figura 70).

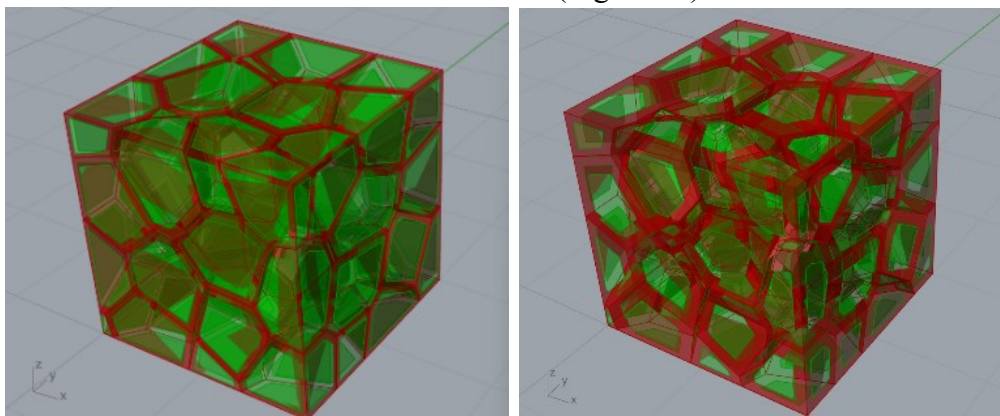


Figura 70: Celle iniziali (rosso), Facce scalate S_f (verde): a) $S_f=0,80$ e $S_v=0,80$, b) $S_f=0,60$ e $S_v=0,80$.

- Risultati Dimensione effettiva dei pori (Metodo 2) (Figura 71).

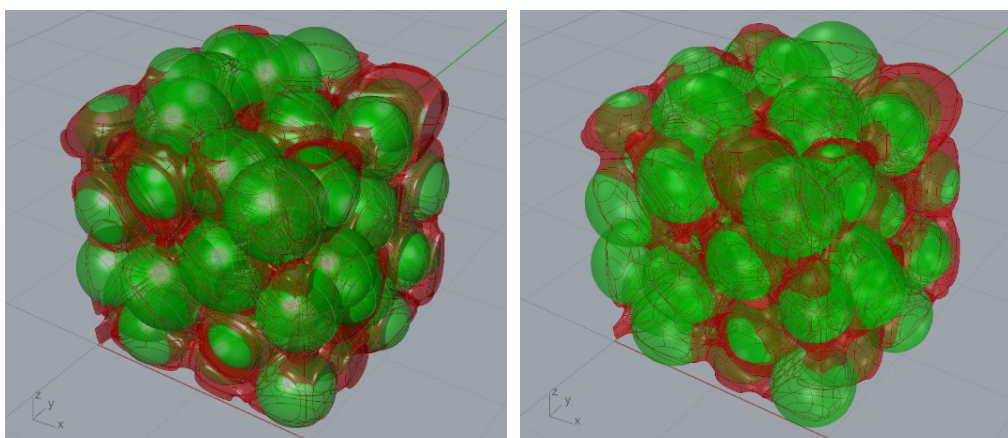


Figura 71: $SDiff$ (rosso), Sfere che approssimano i pori (verde): a) $S_f=0,80$ e $S_v=0,80$, b) $S_f=0,60$ e $S_v=0,80$.

- Risultati Dimensione dei canali connettivi (Metodo 2) (Figura 72).

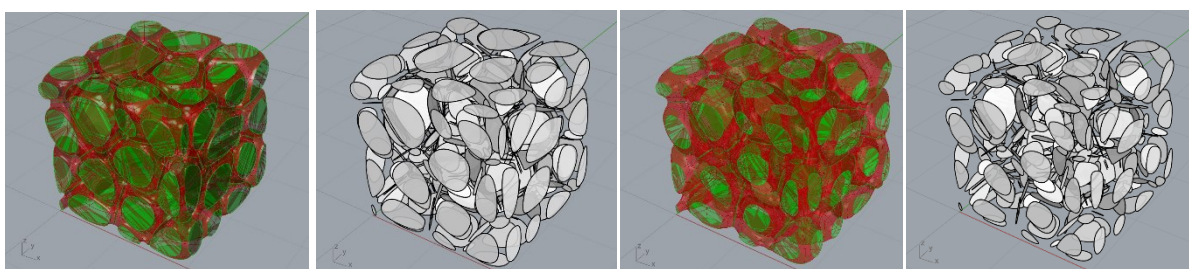


Figura 72: A) $SDiff$ (rosso), Facce piane che approssimano i pori (verde) con $S_f=0,80$ e $S_v=0,80$, B) Bake delle facce piane con $S_f=0,80$ e $S_v=0,80$, c) $SDiff$ (rosso), Facce piane che approssimano i pori (verde) con $S_f=0,60$ e $S_v=0,80$. D) Bake delle facce piane con $S_f=0,60$ e $S_v=0,80$.

- Risultati della sezione trabecolare.

La variazione di S_f (da 0,85 a 0,60) ha generato cambiamenti significativi sia nella struttura trabecolare (S_{Int}) che nelle sezioni trabecolari, rappresentate come curve chiuse e planari

tramite il quarto metodo. Le sezioni trabecolari associate ai valori più bassi di Sf risultano più regolati e prossime a una forma circolare, mentre quelle con valori più alti di Sf mostrano maggiore irregolarità.

I risultati geometrici delle strutture trabecolari (SInt) e delle sezioni trabecolari (curve chiuse e planari), ottenute per due diversi valori del fattore di scala Sf (0,80 e 0,60) sono visibili in Figura 73.

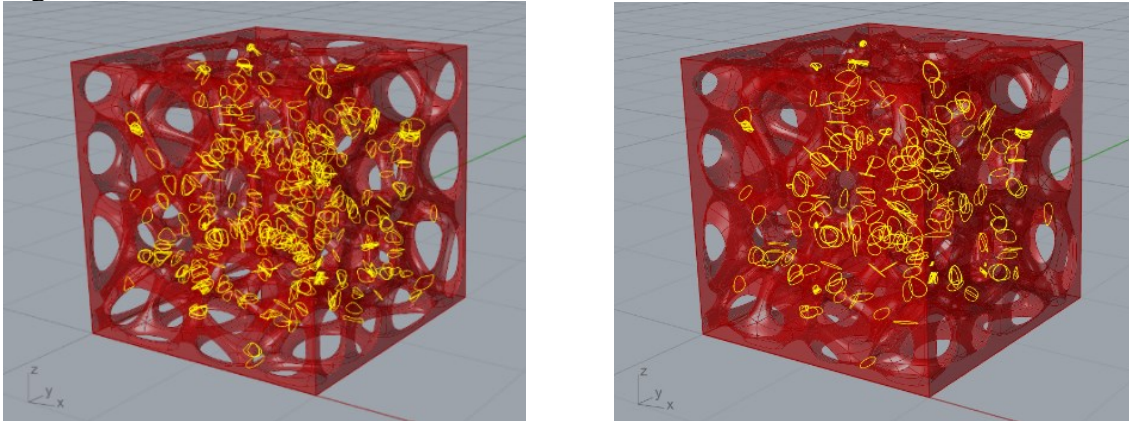


Figura 73: Confronto tra le strutture trabecolari (SInt, preview in rosso) e le sezioni trabecolari (curve chiuse e planari, evidenziate in giallo) per due valori distinti di Sf: a) $Sf = 0.80$, b) $Sf = 0.60$.

In Figura 74, invece, è possibile osservare una rappresentazione complessiva delle sezioni trabecolari ottenute variando progressivamente Sf. Ogni colore corrisponde a un valore specifico di Sf.

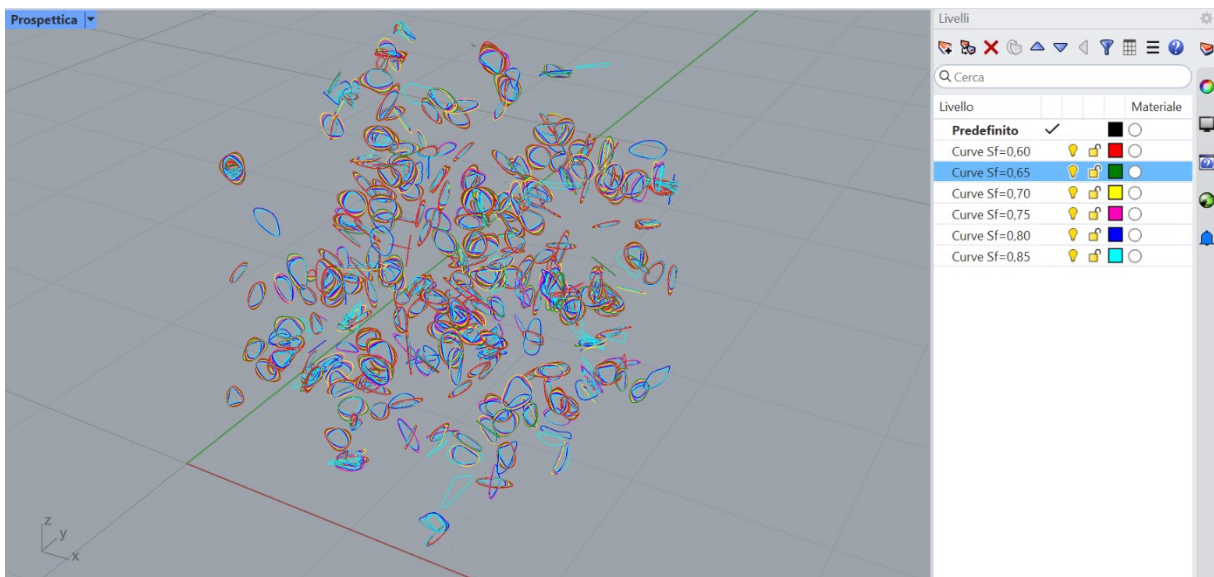


Figura 74: Confronto di tutte le sezioni trabecolari ottenute dalle diverse configurazioni variando il parametro Sf: $Sf=0,6$ (curve rosse), $Sf=0,65$ (curve verde), $Sf=0,7$ (curve gialle), $Sf=0,75$ (curve rosa), $Sf=0,8$ (curve blu), $Sf=0,85$ (curve azzurre).

Zoom delle sezioni trabecolari.

In Figura 75 è rappresentano un ingrandimento delle Strutture trabecolari con le relative Sezioni trabecolari di due configurazioni ($Sf=0,80$ ed $Sf=0,60$).

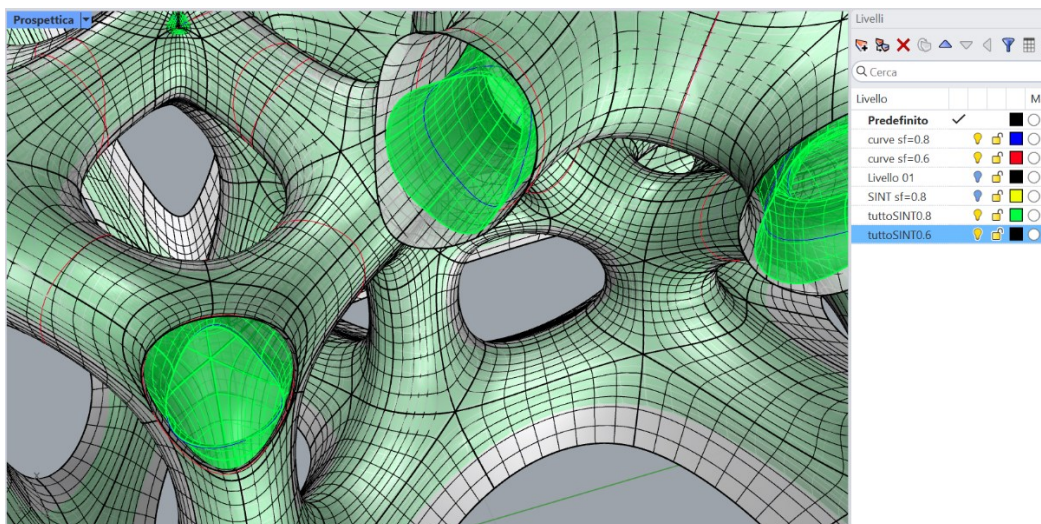


Figura 75: Struttura Sint con $Sf = 0,8$ (verde), Sint con $Sf=0,6$ (nero), Sezioni trabecolari con $Sf = 0,8$ (blu), Sezioni trabecolari con $Sf =0,6$ (rosso).

Confronto di tre sezioni trabecolari ottenute con tre diversi valori di Sf: $Sf=0,8$, $Sf=0,70$, $Sf=0,60$.

Nello studio sono stati analizzati diametro, area e perimetro delle sezioni trabecolari variando il fattore di scala Sf. Per mostrare la variazione delle sezioni trabecolari, al variare del parametro Sf, scelgo due aste con le tre sezioni trabecolari ottenute variando il parametro Sf rispettivamente di :0,80, 0,70 e 0,60 (Figura 76).

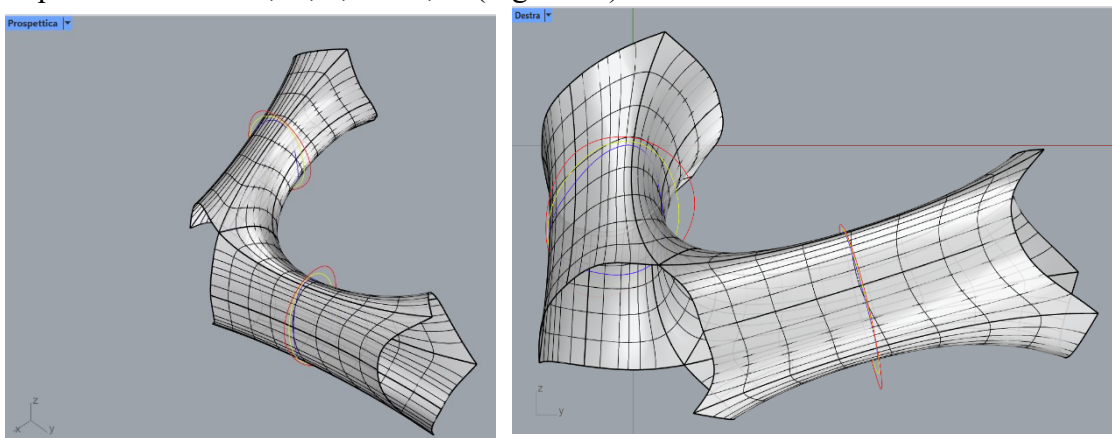


Figura 76: A) Rappresentazione delle due aste Sint per $Sf=0,8$ (nero), con le rispettive tre sezioni trabecolari: $Sf =0,80$ (curve blu), $Sf=0,70$ (curve gialle), $Sf=0,60$ (curve rosse). B) Creazione del piano C per la prima asta dall'oggetto: curva blu, e modalità di visualizzazione Destra.

Per ottenere una visualizzazione 2D delle sezioni trabecolari, sono stati eseguiti i seguenti passaggi:

- **Creazione del piano C:** Barra dei comandi → Piano C → Imposta piano C → Da oggetto. In questo modo Rhinoceros imposta un nuovo piano di costruzione che è perpendicolare alla curva selezionata (ad esempio, la curva blu in Figura 7b).
- **Visualizzazione delle sezioni trabecolari:** Voglio mettermi nei piani dei cerchi e visualizzarli in 2D. Per fare questo, devo cambiare la vista: Barra dei comandi → Imposta vista → Seleziona la vista (Superiore, Frontale o laterale) in base all'orientamento del piano di costruzione. Per la prima asta è stata utilizzata la vista Destra; per la seconda, la vista Superiore (Figura 78).

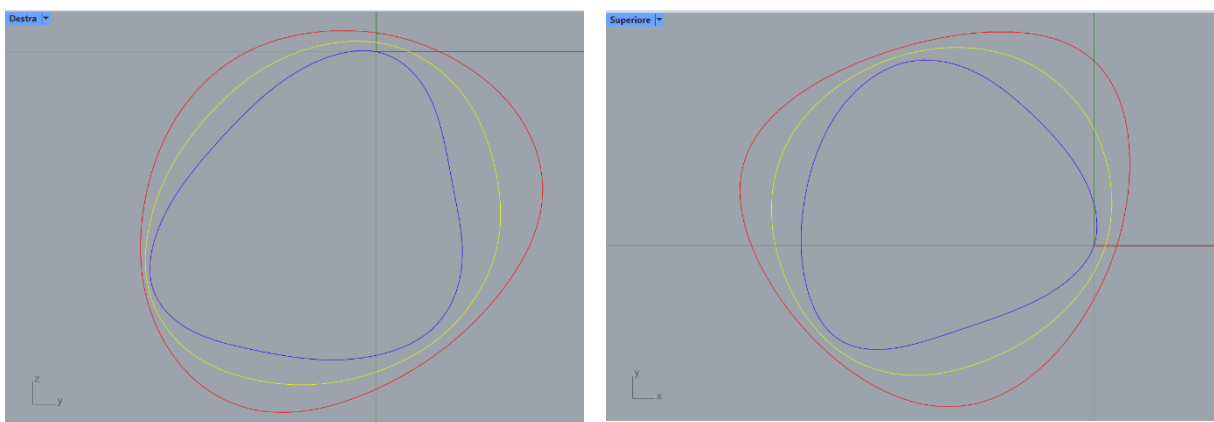


Figura 78: Rappresentazione delle sezioni trabecolari date dai diversi valori di Sf: Sf =,80 (blu), Sf=0,70 (giallo), Sf=0,60 (rosso), A) Vista destra della prima asta rispetto al piano C creato dalla curva blu, B) Vista Superiore della seconda asta rispetto al piano C creato dalla curva blu.

3.7.2) Risultati porosità e dimensione dei canali connettivi

Sono stati modificati i valori di Sf e analizzati i risultati direttamente dal Grasshopper in termini di porosità effettiva e dimensione media dei canali connettivi, visibili in Tabella 13 e Grafico 6.

Tabella 13: Valori di porosità e dimensione dei canali connettivi, al variare del fattore Sf.

Sf	Sv	Porosità (%)	Dimensione media dei canali connettivi (mm)
0.85	0.80	85,326574	0,044496
0.80	0.80	83,501272	0,043664
0.75	0.80	81,691485	0,0361
0.70	0.80	79,898944	0,038625
0.65	0.80	78,125106	0,034711
0.60	0.80	76,371803	0,029951

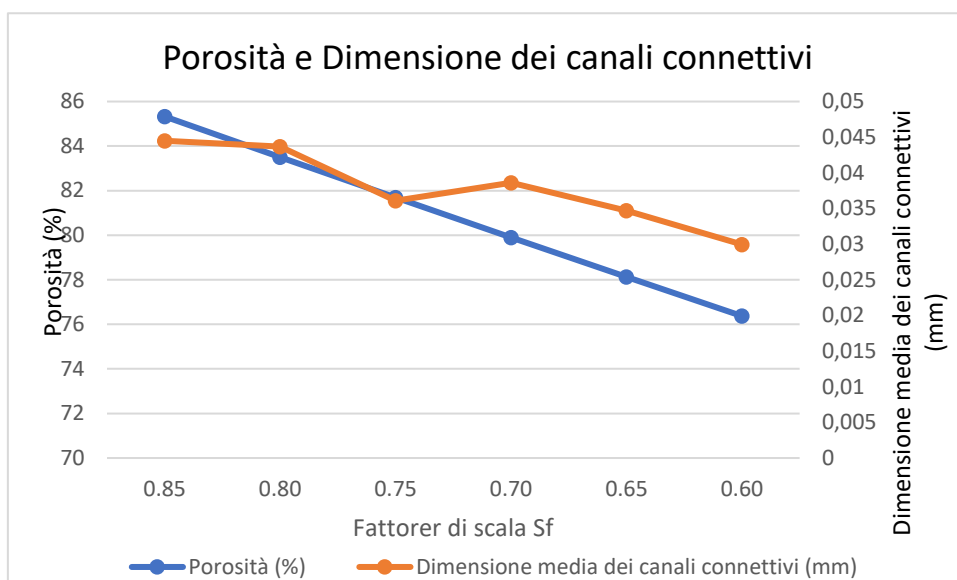


Grafico 6: Andamento della porosità e della dimensione dei canali connettivi, al variare dei fattori di scala Sf sono rappresentati rispettivamente da una linea blu e arancio.

I valori evidenziano che:

- All'aumentare di Sf, la porosità aumenta (da 76.37% per Sf= 0,60 a 85.33% per Sf=0,85), rendendo la struttura meno densa e più aperta.
- La dimensione media dei canali connettivi segue lo stesso trend di crescita, passando da 0.029951mm (Sf=0.60) a 0.044496mm (Sf=0.85). Questo incremento migliora la comunicazione tra i pori e la circolazione di fluidi (permeabilità).

3.7.3) Risultati di Diametro, Perimetro, Area e Indice di Forma

Per quanto riguarda l'analisi della sezione trabecolare (ottenuta dal quarto metodo), vengono ricavati un numero di diametri, aree, perimetri e indici di forma pari al numero di curve ottenute dall'intersezione, che variano al variare di Sf, con fissati il lato box di 2mm, il numero di semi 57 e il fattore Sv = 0.8. Per le analisi, viene calcolato il valore medio di diametri, aree e perimetri, ottenuti variando il parametro Sf (Tabella 14 e Grafico 7).

Tabella 14: Valori medi di diametro, area e perimetro, al variare del fattore Sf.

Sf	Sv	Diametro Trabecolare medio (mm)	Area media sezione trabecolare(mm ²)	Perimetro medio sezione trabecolare (mm)
0.85	0.80	0.088938	0.00612	0.296435
0.80	0.80	0.095989	0.007237	0.308426
0.75	0.80	0.101447	0.008083	0.31517
0.70	0.80	0.10522	0.008695	0.319803
0.65	0.80	0.107699	0.00911	0.320182

0.60	0.80	0.108321	0.009216	0.315469
------	------	----------	----------	----------

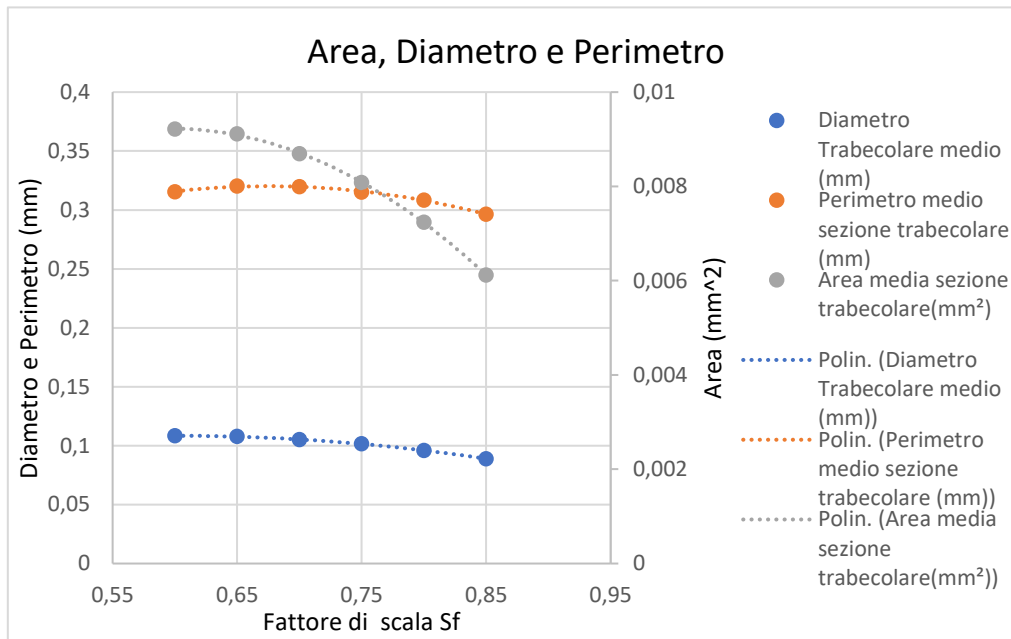


Grafico 7: L'andamento del Diametro trabecolare medio (mm), del Perimetro medio (mm) e dell'area media della sezione trabecolare (mm²), al variare del fattore di scala Sf, sono rappresentati da linee tratteggiate ottenute tramite interpolazione polinomiale di secondo grado. In particolare la linea blu rappresenta il Diametro, quella arancio il perimetro e infine la griglia l'Area.

I risultati mostrano che al diminuire di Sf, il diametro e l'area delle sezioni trabecolari aumentano progressivamente, suggerendo una struttura più robusta e meno porosa. Ad esempio, il diametro medio passa da 0.088938mm (Sf=0,85) a 0.108321 (Sf=0,60), mentre l'area media aumentata da 0.00612mm² a 0.009216 mm². Anche il perimetro medio delle sezioni trabecolari mostra un leggero incremento con la diminuzione di Sf, indicando una maggiore complessità geometrica delle sezioni per valori bassi del perimetro.

Successivamente si calcola l'indice di forma tra tutte le aree e i rispettivi perimetri, che risulta di numero pari al numero di curve ottenute dall'intersezione. Di questi valori estraggo il valor medio, massimo e minimo e la deviazione standard, così da ottenere una distribuzione statistica dei valori di forma. I risultati sono riportati in Tabella 15 e Grafico 8.

Tabella 15: Variazione dei valori di indice di forma, in termini di valore medio, massimo, minimo e deviazione standard, al variare del fattore Sf.

Sf	Sv	Numero valori (curve ottenute)	Indice di Forma Medio	Indice di Forma Massimo	Indice di Forma Minimo	Deviazione Standard dell'Indice di Forma
----	----	--------------------------------	-----------------------	-------------------------	------------------------	--

0.85	0.80	723	0.744564	0.9844	0.030996	0.177167
0.80	0.80	667	0.80435	0.984388	0.020082	0.177573
0.75	0.80	626	0.830427	0.994471	0.016296	0.195539
0.70	0.80	583	0.832626	0.997163	0.029673	0.218464
0.65	0.80	507	0.829091	0.996774	0.007556	0.230852
0.60	0.80	448	0.81079	0.997707	0.094625	0.23539

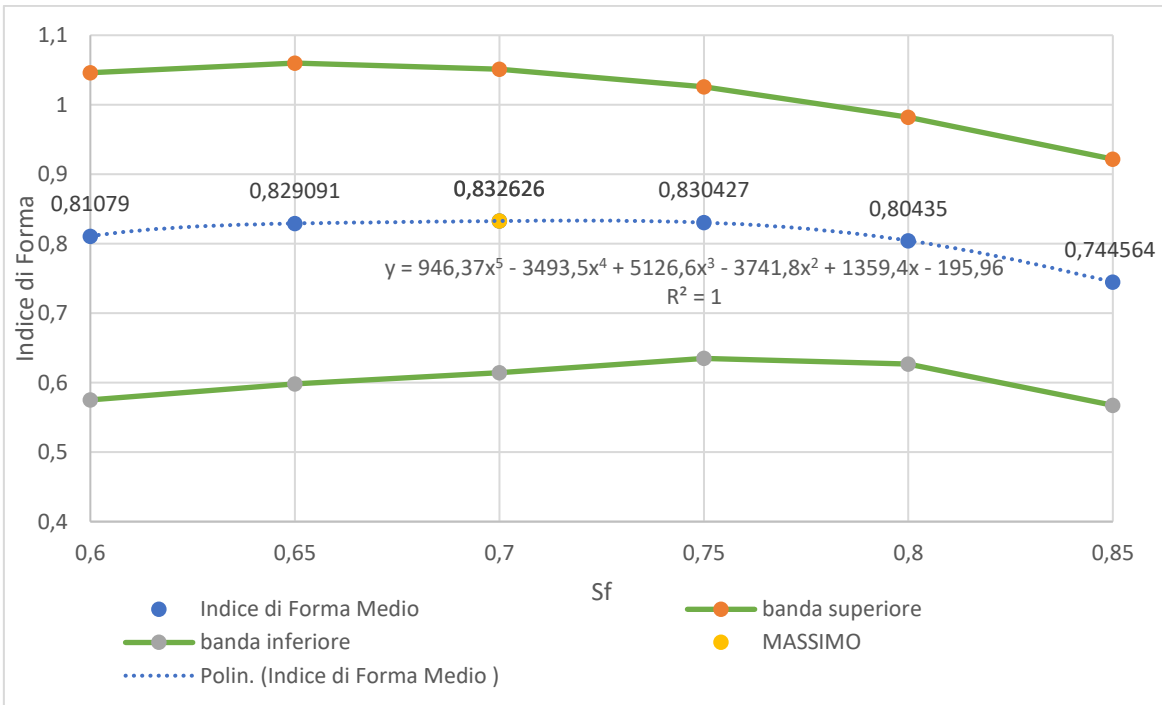


Grafico 8: Andamento dell'indice di forma medio al variare di Sf, rappresentato da una linea tratteggiata blu ottenuta tramite interpolazione polinomiale di quinto grado. I valori medi sono indicati in blu, la deviazione standard in verde e il valore massimo dell'indice di forma medio è evidenziato con un punto giallo.

I dati evidenziano che, l'indice di forma medio aumenta con la riduzione di Sf fino a 0.70, raggiungendo il valore massimo di 0.832, che indica una maggiore regolarità delle sezioni trabecolari. Per valori di Sf inferiori a 0.70, l'indice di forma medio diminuisce leggermente, riflettendo una perdita di regolarità. Ciò si può notare anche nei risultati geometrici in Figura 78, in cui la sezione trabecolare ottenuta con 0,70 ha la forma più circolare rispetto alle altre.

3.7.4) Confronto dei risultati ottenuti variando il Fattore di scala Sf.

La variazione dei fattori di scala Sf (fattore di scala delle facce delle celle di Voronoi) e Sv (fattore di scala delle celle del Voronoi) modifica in modo significativo le caratteristiche geometriche, morfologiche e strutturali dello scaffold trabecolare basato su celle di Voronoi.

È stata condotta un'analisi dei risultati ottenuti al variare del parametro Sf per fornire una comprensione approfondita dell'impatto di questo parametro sulle caratteristiche dello scaffold trabecolare.

Il comportamento della struttura, in termini di porosità, dimensione dei canali connettivi e delle caratteristiche delle sezioni trabecolari (diametro, area, perimetro e indice di forma), varia in funzione dell'aumento o della diminuzione di questo parametro. Di seguito sono descritti gli effetti di tali variazioni, sintetizzati in Tabella 16.

Tabella 16: Effetti della variazione del fattore Sf.

Parametro	Aumento di Sf	Riduzione di Sf
Porosità	Aumenta, struttura più aperta e meno densa	Diminuisce, struttura più densa e compatta
Dimensione media canali connettivi	Maggior apertura tra le celle, struttura più permeabile	Diminuisce, struttura meno permeabile
Diametro trabecolare medio (mm)	Diminuisce, trabecole più sottili	Aumenta, trabecole più spesse
Area media sezione trabecolare (mm ²)	Diminuisce, sezioni più piccole e meno solide (?)	Aumenta, sezioni più grandi e materiale concentrato (?)
Perimetro medio sezione trabecolare (mm)	Diminuisce leggermente	Aumenta leggermente
Indice di forma medio	Diminuisce, sezioni più irregolari e meno compatte	Aumenta, sezioni più regolari e simili a cerchi.

Osservazioni dei risultati ottenuti variando Sf:

1. Porosità e dimensione dei canali connettivi:

Aumento di Sf:

L'aumento del fattore di scala Sf determina un incremento della porosità e della dimensione media dei canali connettivi, come riportato in Tabella 13. Questo avviene perché, con valori più alti di Sf, la riduzione delle facce delle celle poliedriche del diagramma di Voronoi è meno marcata, mantenendo dimensioni vicine a quelle originali. Ciò crea spazi più ampi tra le facce delle celle adiacenti, favorendo una struttura più aperta e permeabile. Questo migliora la

comunicazione tra i pori e il trasporto di fluidi, ma comporta una diminuzione della densità del materiale solido e quindi una riduzione della robustezza strutturale dello scaffold.

Riduzione di Sf:

Una riduzione del fattore Sv porta a una diminuzione della porosità e della dimensione dei canali connettivi. Questo avviene perché le facce delle celle vengono ridotte in maniera significativa, riducendo lo spazio vuoto tra le celle adiacenti e aumentando la densità del materiale solido. I canali connettivi diventano più stretti e meno interconnessi, limitando la comunicazione tra i pori, ma conferendo maggiore solidità e resistenza alla struttura.

2. Diametro medio trabecolare:

Il diametro medio delle sezioni trabecolari è una misura della robustezza strutturale: trabecole più larghe indicano una struttura più robusta e resistente, mentre trabecole più sottili suggeriscono una struttura più porosa e meno densa.

Aumento di Sf:

L'analisi dei risultati, riportati in Tabella 14, mostra che un aumento del valore di Sf comporta una diminuzione del diametro medio delle sezioni trabecolari. Questo avviene perché, mentre il volume vuoto tra le celle cresce, il volume di materiale solido che compone le trabecole si riduce. Le trabecole risultano più sottili, riducendo la densità e la resistenza della struttura.

Questo comportamento riflette una distribuzione del materiale solido su una rete più aperta e meno densa, con una conseguente riduzione dello spessore delle trabecole.

Riduzione di Sf:

La riduzione di Sf comporta un aumento del diametro, poiché si ha un incremento del volume di materiale solido e quindi della densità della struttura (una struttura più densa). Le trabecole risultano più spesse e robuste, conferendo alla struttura maggior densità e resistenza.

3. Area media della sezione trabecolare:

Aumento di Sf:

L'area media delle sezioni trabecolari diminuisce all'aumentare di Sf, come illustrato in Tabella 15. Questo avviene a causa della distribuzione del materiale solido su sezioni più piccole. Questo riflette una maggior apertura tra le celle (aumento del volume dei vuoti e aumento della porosità) e una riduzione della densità di materiale solido (diminuzione del materiale solido trabecolare).

Riduzione di Sf:

La riduzione di Sf comporta un aumento dell'area media delle sezioni trabecolari, poiché aumenta la densità del materiale solido con conseguenti trabecole più spesse.

Questo comportamento riflette una maggiore concentrazione di materiale solido, che forma trabecole più spesse e con sezioni trasversali più ampie.

4. Perimetro medio della sezione trabecolare:

Aumento di Sf:

Il perimetro medio della sezione trabecolare diminuisce leggermente all'aumentare di Sf, ma meno significativamente rispetto all'area, come evidenziato dai valori in Tabella 14. Questo è dovuto alla riduzione delle dimensioni complessive delle sezioni trabecolari, che diventano più sottili.

Riduzione di Sf:

La riduzione di Sf aumenta leggermente il perimetro medio delle sezioni trabecolari. Questo comportamento è attribuibile a trabecole più spesse, che presentano sezioni più grandi e complesse.

5. Indice di forma medio:

L'indice di forma medio riflette la regolarità e la compattezza delle sezioni trabecolari, con valori più alti che indicano una maggiore somiglianza con una forma circolare ideale. È calcolato in funzione dell'area e del perimetro delle sezioni trabecolari.

Aumento di Sf:

Con l'aumento di Sf, l'indice di forma medio diminuisce, come dimostrato dai risultati in Tabella 15. Questo comportamento indica una riduzione della compattezza e della regolarità delle sezioni trabecolari, coerente con un aumento della porosità e della complessità geometrica della struttura. Ciò avviene perché l'area delle sezioni trabecolari si riduce in modo molto più marcato rispetto al perimetro, con un conseguente allontanamento delle sezioni dalla configurazione circolare ideale.

Riduzione di Sf:

La riduzione di Sf comporta un aumento dell'indice di forma medio. In questo caso le sezioni trabecolari diventano più regolari e compatte, riflettendo una maggiore somiglianza alla configurazione geometrica circolare. La maggiore densità del materiale solido consente di

ottenere una distribuzione uniforme, aumentando l'area delle sezioni in modo più significativo rispetto al perimetro. Questo comportamento riflette una struttura più densa e stabile, con una morfologia meno anisotropa.

3.8) Analisi degli effetti della variazione del Fattori di Scala Sv nella Modellazione dello Scaffold Trabecolare.

Il parametro Sv (fattore di scala delle celle di Voronoi) controlla il ridimensionamento complessivo delle celle poliedriche che compongono lo scaffold trabecolare, influenzando in modo significativo la *porosità globale* della struttura.

Molti studi utilizzano Sv per modulare globalmente la dimensione delle celle, spesso per controllare la porosità complessiva.

Il controllo della porosità è determinante per regolare la permeabilità e la quantità di materiale solido disponibile nella struttura [58]. Aumentando Sv, le celle di Voronoi vengono scalate in modo meno marcato, aumentando la porosità complessiva dello scaffold [58]. Questo favorisce una maggiore permeabilità e facilita il trasporto di fluidi, ma riduce la densità del materiale solido [59]. A valori alti di Sv, il materiale si distribuisce su una rete più aperta, riducendo la robustezza dello scaffold ma migliorando il flusso di nutrienti [60].

Al contrario, valori più bassi di Sv, le celle sono più piccole, e portano ad una struttura più compatta con porosità ridotta [58]. Questo aumenta la densità della struttura, limitando la permeabilità dello scaffold [59]. Riducendo Sv, il materiale solido si concentra maggiormente nelle trabecole, rafforzandole e migliorando la resistenza meccanica dello scaffold [60].

Il mio studio si è concentrato sul fattore Sf perché controlla direttamente la riduzione delle facce delle celle di Voronoi, influenzando in modo significativo le caratteristiche delle sezioni trabecolari e l'interconnessione tra i pori. Al contrario, Sv agisce in modo più globale, scalando uniformemente le dimensioni delle celle. Questa azione può alterare la porosità complessiva, ma ha un impatto meno diretto sulle caratteristiche delle trabecole, come il diametro, l'area e il perimetro, rispetto al parametro Sf. [59]

Il valore **Sv = 0.8** è stato scelto come configurazione ottimale predefinita, perché rappresenta un compromesso ottimale tra porosità e robustezza. Garantisce una porosità sufficiente per favorire il trasporto di fluidi e la comunicazione tra i pori, senza compromettere eccessivamente la densità del materiale solido. Tale configurazione si è dimostrata ideale anche in altri studi, che confermano Sv=0,80 come parametro ottimale per ottenere scaffold ben bilanciati dal punto di vista biomeccanico e morfologico [58],[59], [60].

3.7.5) Configurazione ottimale dello scaffold

La configurazione ottimale dello scaffold trabecolare si ottiene con $S_f=0,70$ e $S_v=0,80$, in quanto rappresenta il miglior compromesso tra porosità, dimensione dei canali connettivi, robustezza strutturale (area e diametro trabecolare) e regolarità delle sezioni trabecolari (indice di forma). Ecco una sintesi dei principali risultati che supportano questa scelta:

- **Porosità:** Con $S_f=0,70$ e $S_v=0,80$, la porosità raggiunge un valore di 79,9%, un livello che garantisce un'efficace comunicazione tra i pori senza comprometterne eccessivamente la densità strutturale.
- **Dimensione dei canali connettivi:** La dimensione media dei canali connettivi con $S_f=0,7$ è di 0.0386 mm, sufficiente per favorire il trasporto di fluidi mantenendo una struttura robusta e ben interconnessa.
- **Caratteristiche trabecolari (Diametro, Area, Perimetro):** Questa configurazione produce trabecole con un diametro medio di 0.105 mm e un'area media di 0.0087 mm², valori che indicano uno spessore adeguato a garantire stabilità strutturale, evitando la riduzione eccessiva del materiale solido.
- **Indice di forma:** L'indice di forma medio raggiunge il valore massimo di 0.832626, indicando sezioni trabecolari altamente regolari e compatte, vicine a una forma circolare ideale. Questa configurazione permette di mantenere sezioni trabecolari regolari, con un indice di forma che bilancia compattezza e porosità.

Questa configurazione dello scaffold trabecolare, rappresenta il miglior compromesso tra densità, permeabilità e regolarità geometrica, rendendola ideale per applicazioni biomeccaniche e biologiche.

Capitolo 3: Conclusioni e Prospettive Future

Le ossa sono strutture fondamentali del corpo umano, responsabili di molteplici funzioni tra cui protezione, supporto meccanico, riserva di minerali e produzione di cellule ematiche. Sono composte principalmente da tessuto osseo, un tessuto connettivo mineralizzato che combina resistenza e flessibilità grazie alla presenza di una matrice organica (10-20%, collagene di tipo I e proteine), una fase minerale (60-70%, idrossiapatite) e l'acqua (9-20%). Inoltre, il tessuto osseo ospita 4 tipi di cellule specializzate (osteoblasti, osteoclasti, osteociti e cellule del rivestimento), responsabili della sua formazione, mantenimento e rimodellamento. L'osso è organizzato su sette livelli gerarchici, che vanno dalla scala nanometrica delle fibrille di collagene mineralizzate, fino alla macrostruttura delle trabecole dell'osso spugnoso e degli osteoni dell'osso corticale. Questa complessa organizzazione gli consente di rispondere efficacemente alle sollecitazioni meccaniche, combinando resistenza e leggerezza. Esistono due tipologie di osso: il corticale e il trabecolare. L'osso corticale, denso e compatto, costituisce la parte più esterna delle ossa. È caratterizzato da una bassa porosità (<30%) e una elevata resistenza meccanica, necessaria per sostenere carichi elevati. L'osso trabecolare, invece, ha una struttura a nido d'ape composta da trabecole che si interconnettono con una porosità più elevata (50-95%). Questo tipo di osso è leggero ma capace di assorbire forze multidirezionali, ed è fondamentale per la rigenerazione ematica grazie agli spazi riempiti di midollo osseo [1-10].

Tuttavia, le ossa possono essere soggette a patologie come l'osteoporosi, che provocano una riduzione della massa e della resistenza strutturale, aumentando il rischio di fratture e complicando il processo di guarigione. Il meccanismo naturale di riparazione ossea può durare da alcuni mesi ad un anno e si articola in tre fasi principali (infiammatoria, riparazione e rimodellamento), che dipendono da fattori biologici e meccanici, tra cui vascolarizzazione, stabilità meccanica e segnali cellulari. Tuttavia, le condizioni patologiche, come l'ipossia nelle aree fratturate, possono ostacolare la rigenerazione ossea, rendendo necessarie soluzioni terapeutiche. Le tecniche tradizionali, come gli innesti ossei autologhi, sono limitati dalla scarsità di materiale e dai rischi associati (es. morbilità del sito donatore), mentre gli allotrapianti presentano pericoli di rigetto o infezioni. [3], [21-24].

Per superare tali limitazioni, si sono sviluppati sostituti ossei sintetici. In particolare l'ingegneria tissutale propone l'uso di scaffold biocompatibili, progettati per sostituire temporaneamente il tessuto osseo danneggiato e favorirne la rigenerazione, migliorando i tempi di recupero e riducendo i rischi associati alle tecniche tradizionali.[3],[10],[22],[24].

Gli scaffold sono strutture tridimensionali progettati per imitare l'ambiente naturale del tessuto osseo e supportarne la rigenerazione. Funziona come una matrice temporanea che favorisce l'adesione, la proliferazione e la differenziazione cellulare, guidando il processo di vascolarizzazione e formazione del nuovo tessuto. Questi dispositivi devono essere progettati per replicare le proprietà dell'osso naturale sia dal punto di vista biologico che meccanico [23]. In particolare devono essere biocompatibili, osteoconduttivi e osteoinduttivi, supportando l'adesione, la proliferazione e la differenziazione cellulare [23],[24],[25],[10]. Inoltre devono possedere una porosità interconnessa per facilitare il trasporto di nutrienti e fluidi, favorendo l'osteogenesi e vascolarizzazione, essenziali per la formazione di nuovo tessuto osseo [22],[24]. Meccanicamente, devono possedere una resistenza meccanica adeguata a sostenere carichi fisiologici durante la guarigione [3]. Infine, devono degradarsi in modo controllato, sincronizzandosi con la formazione del nuovo tessuto osseo. [23], [10],[3]

La progettazione di scaffold per la rigenerazione ossea richiede un'attenta ottimizzazione di parametri strutturali fondamentali, che influenzano direttamente le loro proprietà biologiche, meccaniche e di degradazione. In particolare, i parametri chiave quando si ottimizza la morfologia dello scaffold includono: porosità, dimensione dei pori, morfologia dei pori, interconnettività tra i pori e distribuzione della dimensione dei pori [22].

La porosità rappresenta la percentuale di spazio vuoto rispetto al volume totale dello scaffold [28]. Un livello ottimale di porosità è tra il 50-80%, è essenziale per favorire l'infiltrazione cellulare, la migrazione, la proliferazione e la vascolarizzazione, bilanciando al contempo la resistenza meccanica. [22],[25],[10]

I pori si classificano in micropori (<50 μm) e macropori (>50 μm) [27]. In particolare i micropori favoriscono l'adsorbimento di proteine e l'adesione cellulare. Questi servono per l'analisi del design della superficie perché il design superficiale influisce direttamente sull'adesione cellulare, proliferazione e differenziazione, ma non vengono considerati nell'analisi del design dello scaffold in quanto non consentono la vascolarizzazione o la migrazione cellulare. Macropori, invece, sono necessari per la vascolarizzazione e la migrazione cellulare e quindi l'osteogenesi [25]. Un intervallo ottimale per la rigenerazione ossea è 100-600 μm , con pori superiori a 400 μm che migliorano l'infiltrazione vascolare, favoriscono la colonizzazione dell'intero scaffold e promuovono l'osteogenesi diretta grazie a una migliore vascolarizzazione [10],[22],[25],[26].

La forma e la disposizione dei pori (es. sferici, tubolari, esagonali) influenzano l'infiltrazione cellulare, la vascolarizzazione e le proprietà meccaniche. Pori sferici offrono buona

osteogenesi, mentre morfologie più complesse migliorano la proliferazione e la resistenza meccanica [22],[25].

L'interconnessione dei pori è cruciale per garantire la diffusione di nutrienti, ossigeno e metaboliti, favorendo una rigenerazione tissutale uniforme. I pori devono essere connessi tra loro attraverso canali di diametro superiore a 50 μm per consentire un trasporto efficace di fluidi e una colonizzazione cellulare completa. Un livello ottimale di interconnessione migliora anche la permeabilità dello scaffold, facilitando la formazione di una rete vascolare. [24],[25][27],[28],[29]

Per quanto riguarda la distribuzione dei pori, questi possono essere: monomodale (dimensioni uniformi dei pori, adatti per una crescita cellulare omogenea), bimodale (combinazione di micropori e macropori per massimizzare l'adsorbimento cellulare e la vascolarizzazione), a gradiente (replicano la transizione tra osso trabecolare e corticale, combinando alta porosità per la crescita cellulare con resistenza meccanica nelle zone di carico) [22],[25],[30].

Questi parametri strutturali permettono di sviluppare scaffold biomimetici, capaci di replicare la morfologia e le proprietà dell'osso naturale, garantendo un ambiente ottimale per la rigenerazione ossea e il recupero funzionale del tessuto danneggiato.

L'obiettivo di questo studio è quello di progettare uno scaffold, che riproduca accuratamente le caratteristiche morfologiche e strutturali dell'osso naturale, offrendo un equilibrio tra porosità e resistenza meccanica.

La modellazione dello scaffold osseo è stata realizzata tramite un approccio geometrico basato sui diagrammi di Voronoi per generare una struttura biomimetica tridimensionale che rispecchi l'irregolarità naturale dell'osso. È stata adottata la rappresentazione del confine (Boundary Representation, BRep) per descrivere le superfici delle celle di Voronoi. Questo approccio, implementato attraverso il software Rhinoceros e il plug-in parametrico Grasshopper, consente una modellazione generativa flessibile, in cui i parametri di progettazione possono essere regolati dinamicamente. [49],[50],[51],[52],[53],[54],[55],[56].

La modellazione è stata suddivisa in diversi passaggi chiave. In primo luogo, è stato definito un dominio tridimensionale rappresentato da un box, all'interno del quale sono stati distribuiti casualmente dei punti di popolamento (semi) per generare il diagramma di Voronoi. Successivamente, le celle poliedriche ottenute sono state scalate per creare canali connettivi e

ottenere la porosità desiderata. Infine, è stata realizzata l'unione solida tra l'osso trabecolare e l'osso corticale attraverso operazioni booleane, così da ottenere una struttura chiusa, pronta per le analisi successive. Dai risultati emerge come la modellazione basata su diagrammi di Voronoi ha permesso di generare una struttura trabecolare realistica, ben definita e altamente personalizzabile.

L'ottimizzazione della struttura trabecolare dello scaffold è stata condotta direttamente in Grasshopper, attraverso un processo iterativo, che ha permesso di regolare i parametri strutturali in modo dinamico. Questo approccio ha il fine di bilanciare la porosità e le proprietà meccaniche per replicare l'architettura e le caratteristiche dell'osso naturale.

I parametri che sono stati variati, quali fattore Sf e Sv, numero di semi e dimensioni del box iniziale, hanno permesso di analizzare gli effetti morfologici che includono la porosità, la dimensione dei pori, i canali connettivi e le sezioni trabecolari, tutti fondamentali per garantire la funzionalità biomeccanica e la rigenerazione ossea.

La **porosità**, considerata un parametro fondamentale, è stata calcolata come rapporto tra il volume dei vuoti e il volume totale dello scaffold. I principali parametri modificati per raggiungere una porosità ottimale includono: i fattori di scala applicati alle celle (Sf e Sv), che regolano la dimensione delle celle di Voronoi, il numero di semi per la generazione delle celle di Voronoi, e le dimensioni del box iniziale, che definiscono il dominio tridimensionale del modello. L'obiettivo era ottenere una porosità compresa tra il 60% e l'80%, ritenuta ideale per garantire un equilibrio tra vascolarizzazione e stabilità meccanica. La configurazione ottimale individuata, con un lato del box di 2 mm, una porosità target fissata all'80%, $Sf=Sv=0,80$, un diametro target dei pori target di 0,6 mm, ha prodotto 57 semi, che rappresentano il numero ideale di celle di Voronoi per una struttura stabile e computazionalmente gestibile. Questa configurazione è stata adottata come base per tutte le successive analisi. In alternativa, una dimensione target dei pori di 0,4 mm ha generato 191 semi, configurazione utile per analisi aggiuntive.

Nel contesto del diagramma di Voronoi, i pori sono rappresentati dalle celle poliedriche, mentre i canali connettivi tra pori adiacenti sono rappresentati dalle facce comuni a due celle adiacenti. Per via della complessità geometrica delle celle, i pori vengono approssimati a sfere.

Per calcolare la **dimensione effettiva dei pori**, sono stati applicati due metodi distinti che si differenziano per il criterio con cui viene stimato il volume equivalente del poro: nel primo, il

diametro dei pori viene calcolato tramite il volume delle celle poliedriche scalate, nel secondo, invece, è stato stimato considerando il volume dello spazio vuoto effettivo tra le celle, ottenuto dalla differenza booleana tra le celle di Voronoi originali e la struttura reticolare dello scaffold. Il secondo metodo, risulta più accurato e rappresentativo della reale morfologia dei pori, escludendo gli effetti degli spazi solidi. Questo metodo è preferibile per applicazioni che richiedono un'elevata precisione nella caratterizzazione dei pori, come nel design di scaffold ossei.

Un'ulteriore analisi ha riguardato la **dimensione e l'interconnessione dei canali connettivi**, cruciali per la rigenerazione ossea. Il livello di interconnessione è stato misurato attraverso il numero medio di facce dei poliedri: ogni faccia scalata rappresenta un canale connettivo tra pori adiacenti. Di conseguenza, la dimensione dei canali è definita dall'area di tali facce. Sono stati implementati in Grasshopper due metodi per calcolare la dimensione e la distribuzione dei canali connettivi. Il primo approssima la dimensione all'area delle facce scalate delle celle di Voronoi, mentre il secondo applica delle operazioni booleane per estrarre le superfici effettive di connessione tra i pori. Quest'ultimo approccio, fornisce una stima più ridotta e realistica della dimensione media dei canali connettivi, perché isola le superfici piane di effettiva connessione tra i pori, escludendo elementi geometrici che non rappresentano interconnessioni. Questo metodo è risultato più accurato e rispondente alla reale interconnessione dei pori, rendendolo adatto per studi dettagliati.

Per caratterizzare la **struttura trabecolare** dello scaffold, sono stati applicati quattro diversi metodi di calcolo della dimensione trabecolare. I primi tre si sono basati sulla distanza tra centroidi e punti medi degli spigoli delle celle scalate, mentre il quarto metodo ha analizzato le sezioni ottenute tramite intersezioni planari e ha consentito di misurare parametri fondamentali come area, perimetro e diametro delle sezioni trabecolari, fornendo una visione dettagliata delle proprietà strutturali. Il quarto metodo delle intersezioni, sebbene più complesso, è risultato il più accurato, poiché calcola la dimensione trabecolare tramite sezioni trasversali chiuse e planari, escludendo elementi non rilevanti. Offre una stima dettagliata e rappresentativa della dimensione trabecolare, in quanto riflette più fedelmente la struttura reale delle trabecole. Pertanto, il quarto metodo verrà considerato come modello di riferimento per lo studio delle dimensioni trabecolari nelle analisi successive.

Infine, è stato calcolato **l'indice di forma** per valutare la simmetria e la regolarità delle sezioni trabecolari, al fine di analizzare la geometria e la complessità della struttura generata. Dai risultati dell'indice di forma, è evidente che le sezioni trabecolari si discostano da una

configurazione circolare ideale (Indice di forma=1), ma presentano una complessità geometrica significativa e una variabilità morfologica, come evidenziato dalla deviazione standard.

Per questo motivo, la fase finale dello studio si è concentrata sulla modifica del fattore di scala Sf, per comprendere come esso influenzi la regolarità e la complessità delle sezioni trabecolari, individuando la configurazione ottimale per lo scaffold.

In particolare vengono analizzati i risultati geometrici, morfologici e strutturali dello scaffold, ottenuti al variare del fattore Sf, in termini di porosità, dimensione dei canali connettivi e delle caratteristiche delle sezioni trabecolari. Nello studio, il fattore Sf passa da 0.60 a 0,85, Sv è fissato a 0,80, il lato box è di 2 mm, la porosità target è all'80%, la dimensione target pori è di 0,6mm, con un numero conseguente di numero pori pari a 57.

I risultati evidenziano che, con l'aumento del valore di Sf, le facce delle celle poliedriche del diagramma di Voronoi vengono ridimensionate mantenendo una dimensione più vicina a quella originale. Geometricamente, questo significa che la riduzione delle facce è meno marcata, lasciando quindi più spazio tra le facce delle celle adiacenti. Questa configurazione aumenta la porosità complessiva dello scaffold, poiché il volume vuoto tra le celle cresce, e crea canali connettivi più ampi, che favoriscono una migliore interconnessione tra i pori e una maggiore circolazione di fluidi. I risultati mostrano che, ad esempio passando da Sf=0,60 a Sf=,85, la porosità complessiva aumenta da 76.37% a 85.33%, e la dimensione dei canali connettivi segue lo stesso trend di crescita passando da 0.029951mm (Sf=0.60) a 0.044496mm (Sf=0.85). Tuttavia, dal punto di vista della struttura trabecolare, l'aumento di Sf comporta una diminuzione del diametro delle sezioni delle trabecole, poiché il volume di materiale solido che compone le trabecole si riduce. Di conseguenza, anche l'area della sezione trasversale diminuisce, mentre il perimetro può aumentare a causa della riduzione del materiale e della potenziale formazione di forme più irregolari. Ad esempio, il diametro medio passa da 0.088938mm (Sf=0,85) a 0.108321 (Sf=0,60), mentre l'area media aumentata da 0.00612mm² a 0.009216 mm². L'indice di forma diminuisce, indicando sezioni più irregolari e meno compatte che si allontanano dalla forma ideale circolare, assumendo configurazioni più complesse.

Al contrario, quando il valore di Sf diminuisce, le facce delle celle vengono ridotte in maniera significativa. Ciò porta ad un restringimento dello spazio tra le celle adiacenti, riducendo la porosità complessiva dello scaffold e aumentando il volume di materiale solido e quindi la densità della rete trabecolare. I canali connettivi risultano più stretti e meno interconnessi, limitando la comunicazione tra i pori. A livello delle sezioni trabecolari, il diametro medio

aumenta poiché le facce scalate sono più vicine e l'area media delle sezioni cresce. Il perimetro delle sezioni si riduce leggermente, rendendo le sezioni trabecolari più compatte e regolari. L'indice di forma tende ad aumentare, indicando una maggiore regolarità geometrica e una maggiore somiglianza delle sezioni trabecolari alla configurazione circolare. I dati evidenziano che, l'indice di forma medio aumenta con la riduzione di Sf fino a 0.70, raggiungendo il valore massimo di 0.832, che indica una maggiore regolarità delle sezioni trabecolari.

Attraverso questa analisi, è stata individuata una **configurazione ottimale** dello scaffold, caratterizzata dai valori dei fattori di scalatura pari a **Sf = 0,7 e Sv = 0,8**, in quanto raggiungono un equilibrio ideale tra porosità, robustezza strutturale e regolarità geometrica. In dettaglio, questa configurazione ha prodotto una densità complessiva del 79,9%, un livello che assicura un'efficace comunicazione tra i pori senza compromettere eccessivamente la densità strutturale. Per quanto riguarda i canali connettivi, la dimensione media rilevata è stata di 0.0386 mm, sufficiente per favorire la permeabilità (trasporto di fluidi e nutrienti) e la vascolarizzazione, mantenendo una struttura robusta e ben interconnessa. Le caratteristiche delle trabecole, tra cui il diametro medio di 0.105 mm e l'area media di 0.0087 mm², confermano che la configurazione ottimale offre trabecole sufficientemente spesse da garantire stabilità strutturale, evitando la riduzione eccessiva del materiale solido. Infine, l'indice di forma, con un valore medio di 0.8326, indica sezioni trabecolari altamente regolari e compatte, vicine a una forma circolare ideale, che bilancia porosità e resistenza.

Il metodo sviluppato ha consentito di progettare uno scaffold tridimensionale personalizzabile, in grado di replicare fedelmente le caratteristiche dell'osso naturale, bilanciando porosità, resistenza meccanica e capacità biologiche. La struttura risultante rappresenta un modello innovativo e versatile per applicazioni cliniche nella rigenerazione ossea, con potenziali sviluppi futuri nel campo dell'ingegneria tissutale e della biomeccanica.

In conclusione, Il lavoro svolto nella tesi ha fornito un approccio completo e innovativo per la progettazione e caratterizzazione di scaffold ossei biomimetici, dimostrando come sia possibile replicare con successo le caratteristiche dell'osso trabecolare attraverso metodologie avanzate e strumenti digitali.

Basandosi su quanto analizzato nell'introduzione e considerando i metodi e i risultati sviluppati nella tesi, emergono diverse possibilità di approfondimento e miglioramento per il futuro. Questi sviluppi potrebbero ampliare l'applicabilità e la validazione degli scaffold progettati, avvicinandoli ulteriormente a un utilizzo clinico. Di seguito alcune prospettive:

1. Modellazione e analisi della struttura corticale

In questo studio è stata effettuata la modellazione dell'osso trabecolare, analizzando in dettaglio i parametri strutturali e geometrici che lo caratterizzano, come la porosità, la dimensione dei canali connettivi e la regolarità delle trabecole. Tuttavia, un importante sviluppo futuro riguarda la modellazione e l'analisi della struttura corticale, per ottenere una rappresentazione completa e funzionale dell'intera struttura ossea.

L'osso corticale, che rappresenta la componente densa e compatta dell'osso, ha proprietà e parametri distinti rispetto alla struttura trabecolare, come una bassa porosità (<30%), e una maggiore resistenza meccanica.

Pertanto, le future ricerche dovrebbero concentrarsi sulla creazione di un modello geometrico dell'osso corticale, che includa la rete vascolare rappresentata dai canali Haversiani e di Volkmann, per simulare il flusso di nutrienti e ossigeno. Questo richiede una descrizione dettagliata delle dimensioni, densità e distribuzione di questi canali per garantire la fedeltà biomeccanica e biologica del modello. Sarà necessario valutare l'influenza dei parametri strutturali (delle proprietà geometriche dell'osso corticale), come la distribuzione e la densità dei canali Haversiani, sulle proprietà meccaniche complessive. Questo permetterà di ottimizzare il design dello scaffold per adattarsi alle diverse funzioni delle regioni corticali e trabecolari. Infine, combinare i modelli corticale e trabecolare per ottenere una rappresentazione completa dell'osso intero, analizzandone l'interazione e l'influenza reciproca.

La sfida principale è progettare uno scaffold che replichi fedelmente la **transizione naturale** tra osso corticale e osso trabecolare, evitando la formazione di spigoli vivi o discontinuità. Questi elementi, se presenti, possono compromettere l'integrazione dello scaffold con il tessuto circostante, ostacolare la rigenerazione ossea e aumentare il rischio di fallimento strutturale. Una transizione ben progettata è fondamentale per garantire un'efficace distribuzione dello stress meccanico e favorire una crescita cellulare uniforme. [61] La complessità della transizione tra le due regioni è complessa, poiché l'osso corticale e quello trabecolare differiscono significativamente in termini di densità, porosità e funzione. Queste differenze strutturali e funzionali complicano la progettazione di scaffold che possano integrare efficacemente entrambe le tipologie di tessuto osseo [62]

Per affrontare queste sfide, la ricerca si concentra sulla progettazione di scaffold con gradienti di porosità e composizione. Una distribuzione graduale delle dimensioni dei pori (a gradiente) consente di replicare con maggiore precisione le caratteristiche dell'osso naturale, come la transizione naturale di densità e composizione tra corticale e trabecolare. Questa distribuzione

migliora la biomimesi e la rigenerazione ossea, come osservato in scaffold composti di idrossiapatite e collagene. Gli scaffold gradienti possono avere una composizione o una morfologia che varia gradualmente attraverso lo spazio, creando una transizione graduale delle proprietà lungo una direzione specifica. Ad esempio, uno scaffold potrebbe avere un gradiente di porosità o di composizione chimica che varia da un'estremità all'altra [10],[22],[25].

Un'altra evoluzione nella progettazione è rappresentata dagli scaffold gerarchici, strutture organizzate su più livelli. Questi integrano pori di diverse dimensioni (micro, macro, e talvolta, nanopori), organizzati gerarchicamente, migliorando la permeabilità, la conformità e la capacità di replicare la struttura complessa del tessuto osseo [3],[25],[22].

Questi approcci nella progettazione degli scaffold potrebbero superare le sfide legate alla transizione tra corticale e trabecolare, offrendo soluzioni innovative per replicare l'interfaccia naturale dell'osso e garantire un'integrazione e rigenerazione tissutale ottimali.

2. Simulazione meccaniche dello scaffold

Dal punto di vista meccanico l'osso è un materiale anisotropo, con proprietà meccaniche dipendono dalla direzione del carico. Inoltre, presenta un comportamento viscoelastico, il che implica che la sua risposta varia in base alla velocità di applicazione del carico. L'osso corticale è rigido e resistente, ma fragile, mentre l'osso trabecolare più duttile, si adatta meglio alle sollecitazioni meccaniche. I fattori influenzano il comportamento meccanico dell'osso tra cui: età (l'invecchiamento riduce densità e resistenza ossea), densità apparente (maggiore densità corrisponde a una maggiore rigidità e resistenza), velocità di carico (incrementi nella velocità rendono l'osso più rigido e fragile).

Dopo la modellazione, un passo essenziale sarebbe l'implementazione di simulazioni numeriche per analizzare le prestazioni strutturali dello scaffold progettato e la sua capacità di replicare il comportamento meccanico dell'osso naturale.

Queste simulazioni, realizzate con tecniche come l'analisi agli elementi finiti (FEA) consentono di valutare la resistenza meccanica dello scaffold sotto carichi fisiologici, simulando le condizioni statiche (trazione e compressione) e dinamiche (carichi ciclici). Inoltre questi metodi consentono di analizzare la distribuzione dello stress e della deformazione, identificando eventuali punti critici o concentrazioni di stress che potrebbero compromettere l'integrità dello scaffold. Ed infine tramite le simulazioni meccaniche si può analizzare la transizione corticale

-trabecolare, verificando la variazione graduale di porosità e densità che garantisca una continuità meccanica e biologica [63].

Queste simulazioni meccaniche consentirebbero di ottimizzare ulteriormente il design dello scaffold, testando le diverse configurazioni e materiali senza la necessità immediata di test fisici. Questo approccio riduce i tempi e i costi di sviluppo, migliorando al contempo la qualità del prodotto finale.

3. Produzione fisica dello scaffold

Dopo aver completato la modellazione e ottimizzato digitalmente la geometria dello scaffold, il passo successivo consiste nella sua produzione fisica. Questo processo è essenziale per validare le proprietà progettate, e per verificare se il modello digitale mantiene le sue prestazioni una volta tradotto in una struttura reale. Per produrre fisicamente lo scaffold bisogna scegliere attentamente i materiali e le tecnologie di produzione.

I materiali devono garantire biocompatibilità, resistenza meccanica adeguata e un tasso di degradazione controllato. I materiali comunemente utilizzati includono i polimeri biodegradabili, le ceramiche bioattive, i metalli e i compositi. La ceramica comunemente impiegata è l'idrossiapatite (HA), che ha una composizione chimica molto simile alla componente inorganica dell'osso, il che le conferisce eccellenti proprietà di biocompatibilità e osteoconduttività. Tuttavia sono fragili e a lento degrado. I metalli, come l'acciaio e leghe di Titanio e leghe di magnesio, offrono una resistenza meccanica eccellente, ma con scarsa biodegradazione e rischio di rilascio di ioni tossici. Per quanto riguarda i polimeri naturali, come il collagene e i glicosamminoglicani hanno un'elevata biocompatibilità ma bassa resistenza meccanica. Mentre i polimeri sintetici, quali PCL e PLA, sono biocompatibili e con tasso di degradazione regolabile, adatti per la personalizzazione della porosità. Infine, i compositi, uniscono ceramiche e polimeri (es: PCL + HA), combinando la resistenza meccanica, l'osteoconduttività e la biodegradabilità regolata. Questi materiali rappresentano la miglior opzione perché offrono il miglior equilibrio tra proprietà meccaniche, biologiche e di degradazione.

Per quanto riguarda le tecnologie di produzione, diverse tecniche sono disponibili per generare strutture porose con geometrie complesse e dimensioni dei pori controllate [25]. Le principali tecniche: Liofilizzazione, Elettrofilatura, Lisciviazione del sale, Replicazione con spugna, Stampa 3D [10], [22],[25],[33],[34],[35],[36][37],[38].

In questo contesto, la stampa 3D si presenta come la tecnologia ideale, grazie alla sua capacità di riprodurre con precisione geometrie complesse e personalizzate. Offre il massimo controllo su porosità, geometria e interconnessione dei pori, rendendola ideale per creare scaffold personalizzati e biomimetici [43],[44],[45]. Il processo AM inizia con un file CAD dell'oggetto, che viene convertito in formato STL per adattarsi alla stampante 3D, che deposita strati di materiale fino a formare l'oggetto finale [42].

Le tecnologie di AM sono classificate in base ai materiali utilizzati e ai principi operativi. Le principali includono: FDM (Fused Deposition Modelling), DIW (Direct Ink Writing), SLS/SLM (Selective Laser Sintering/Melting), DPL (Digital Light Processing), SLA (Stereolitografia) [41][42],[43],[44],[45],[46],[47],[48]. Tra le tecnologie di stampa, la stereolitografia (SLA), emerge come la più avanzata e precisa per la produzione di scaffold ossei. Offre vantaggi significativi: elevata risoluzione (permette dettagli fino a 25 μm), superfici lisce (riducendo la necessità di trattamenti post-produzione), versatilità dei materiali (utilizza una vasta gamma di materiali inclusi quelli biodegradabili e biocompatibili), e precisione meccanica (offrono elevata resistenza alla trazione e al modulo di elasticità) [42],[43],[44],[45],

La stampa 3D consente inoltre di esplorare nuovi materiali e combinazioni, permettendo la creazione di scaffold con gradienti di porosità che imitano la transizione naturale tra osso corticale e trabecolare. Questo livello di personalizzazione è essenziale per soddisfare le esigenze specifiche di ciascun paziente.

Bibliografia:

- 1) Zallone, A., Teti, A. (2009). Il tessuto osseo. In: Osteoporosi e malattie metaboliche dell'osso.
- 2) Martini, Tallitsch, Nath. *Anatomia Umana*. s.l.: EdiSES UNIVERSITÀ, 2020.
- 3) Wu, Shuilin, et al. "Biomimetic porous scaffolds for bone tissue engineering." *Materials Science and Engineering: R: Reports* 80 (2014): 1-36.
- 4) Dorigoni Fabio "Metodi sperimentali per l'analisi del comportamento elastico ed inelastico del tessuto osseo corticale." Tesi di Laurea, Università degli Studi di Padova, 2022.
- 5) Keaveny, Tony M., Elise F. Morgan, and Oscar C. Yeh. "Bone mechanics." *Standard handbook of biomedical engineering and design* (2004): 8-1.
- 6) Fratzl, Peter, and Richard Weinkamer. "Nature's hierarchical materials." *Progress in materials Science* 52.8 (2007): 1263-1334.
- 7) Rho, Jae-Young, Liisa Kuhn-Spearing, and Peter Zioupos. "Mechanical properties and the hierarchical structure of bone." *Medical engineering & physics* 20.2 (1998): 92-102.
- 8) Weiner, Steve, and H. Daniel Wagner. "The material bone: structure-mechanical function relations." *Annual review of materials science* 28.1 (1998): 271-298.
- 9) Sharir, Amnon, Meir Max Barak, and Ron Shahar. "Whole bone mechanics and mechanical testing." *The Veterinary Journal* 177.1 (2008): 8-17.
- 10) Karageorgiou, Vassilis, and David Kaplan. "Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis." *Biomaterials* 26.27 (2005): 5474-5491.
- 11) Bailey, Stacyann, and Deepak Vashishth. "Mechanical characterization of bone: state of the art in experimental approaches—what types of experiments do people do and how does one interpret the results?" *Current osteoporosis reports* 16 (2018): 423-433.
- 12) Currey, J. D. (2006). *Bones: structure and mechanics*. Princeton university
- 13) Ehlers, Ing W. "Rizwan Arshad December 2004." (2004).
- 14) Knets, I., Kristapsons, M., Berzins, A., & Pugovics, O. (1981). Anisotropic mechanical properties of human cortical bone. *Mechanics of Composite Materials*, 17(2), 267-276.
- 15) Morgan, Elise F., Ginu U. Unnikrisnan, and Amira I. Hussein. "Bone mechanical properties in healthy and diseased states." *Annual review of biomedical engineering* 20 (2018): 119-143.
- 16) Havaladar, Raviraj, S. C. Pilli, and B. B. Putti. "Insights into the effects of tensile and compressive loadings on human femur bone." *Advanced biomedical research* 3.1 (2014): 101.

- 17) Maciel, Anderson. "Biomechanics of hip joint capsule." *Computer Graphics Lab, Institute of Computing and Multimedia Systems, School of Computer and Communication Sciences, Swiss Federal Institute of Technology* (2002).
- 18) *Influence of microdamage on fracture toughness of the human femur and tibia*. T.L. Norman, Y.N. Yeni, C.U. Brown, Z.Wang. 1998.)
- 19) Kopperdahl, David L., and Tony M. Keaveny. "Yield strain behavior of trabecular bone." *Journal of biomechanics* 31.7 (1998): 601-608.
- 20) Keaveny, Tony M., et al. "Biomechanics of trabecular bone." *Annual review of biomedical engineering* 3.1 (2001): 307-333.
- 21) Mueller, Thomas L., et al. "Mechanical stability in a human radius fracture treated with a novel tissue-engineered bone substitute: a non-invasive, longitudinal assessment using high-resolution pQCT in combination with finite element analysis." *Journal of tissue engineering and regenerative medicine* 5.5 (2011): 415-420.
- 22) Abbasi, Naghmeh, et al. "Porous scaffolds for bone regeneration." *Journal of science: advanced materials and devices* 5.1 (2020): 1-9.
- 23) Chandra, Girish, and Ajay Pandey. "Biodegradable bone implants in orthopedic applications: a review." *Biocybernetics and Biomedical Engineering* 40.2 (2020): 596-610.
- 24) Hannink, Gerjon, and JJ Chris Arts. "Bioresorbability, porosity and mechanical strength of bone substitutes: what is optimal for bone regeneration?." *Injury* 42 (2011): S22-S25.
- 25) Perez, Roman A., and Gemma Mestres. "Role of pore size and morphology in musculo-skeletal tissue regeneration." *Materials Science and Engineering: C* 61 (2016): 922-939.
- 26) Yu, Haiying, et al. "Effect of porosity and pore size on microstructures and mechanical properties of poly- ϵ -caprolactone-hydroxyapatite composites." *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials* 86.2 (2008): 541-547.
- 27) ben Mosbah, Mongi, et al. "Current state of porous carbon for wastewater treatment." *Processes* 8.12 (2020): 1651.
- 28) Lawrence, Mike, and Yunhong Jiang. "Porosity, pore size distribution, micro-structure." *Bio-aggregates based building materials: state-of-the-art report of the RILEM technical committee 236-BBM* (2017): 39-71.
- 29) Casnedi, MARIA LUDOVICA. "Influenza della porosità sulle proprietà dei materiali. Un approccio fenomenologico basato sulla geometria frattale." (2018).

- 30) Novotna, Lenka, et al. "Biphasic calcium phosphate scaffolds with controlled pore size distribution prepared by in-situ foaming." *Materials Science and Engineering: C* 95 (2019): 363-370.
- 31) Cooper, D. M. L., et al. "Comparison of microcomputed tomographic and microradiographic measurements of cortical bone porosity." *Calcified tissue international* 74 (2004): 437-447.
- 32) Woodard, Joseph R., et al. "The mechanical properties and osteoconductivity of hydroxyapatite bone scaffolds with multi-scale porosity." *Biomaterials* 28.1 (2007): 45-54.
- 33) Taniguchi, Naoya, et al. "Effect of pore size on bone ingrowth into porous titanium implants fabricated by additive manufacturing: An in vivo experiment." *Materials Science and Engineering: C* 59 (2016): 690-701.
- 34) Mikos, Antonios G., et al. "Laminated three-dimensional biodegradable foams for use in tissue engineering." *Biomaterials* 14.5 (1993): 323-330.
- 35) Harris, Leatrese D., Byung-Soo Kim, and David J. Mooney. "Open pore biodegradable matrices formed with gas foaming." *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and the Australian Society for Biomaterials* 42.3 (1998): 396-402.
- 36) Karageorgiou, Vassilis, and David Kaplan. "Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis." *Biomaterials* 26.27 (2005): 5474-5491.
- 37) Zhang, R., & Ma, P. X. (1999). Poly(α -hydroxyl acids)/hydroxyapatite porous composites for bone-tissue engineering. I. Preparation and morphology. *Journal of Biomedical Materials Research*, 44(4), 446-455.
- 38) Ryu, J., Ku, S. H., Lee, H., & Park, C. B. (2010). Mussel-inspired polydopamine coating as a universal route to hydroxyapatite crystallization. *Advanced Functional Materials*, 20(13), 2132-2139.
- 39) Ma, P. X., & Zhang, R. (1999). Synthetic nano-scale fibrous extracellular matrix. *Journal of Biomedical Materials Research*, 46(1), 60-72.
- 40) Li, Dan, and Younan Xia. "Electrospinning of nanofibers: reinventing the wheel?." *Advanced materials* 16.14 (2004): 1151-1170.
- 41) <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso-astm:52900:ed-2:v1:en>
- 42) Mukhtarkhanov, Muslim, Asma Perveen, and Didier Talamona. "Application of stereolithography based 3D printing technology in investment casting." *Micromachines* 11.10 (2020): 946.

- 43) Ge, Qi, et al. "Projection micro stereolithography based 3D printing and its applications." *International Journal of Extreme Manufacturing* 2.2 (2020): 022004.
- 44) Manapat, Jill Z., et al. "3D printing of polymer nanocomposites via stereolithography." *Macromolecular Materials and Engineering* 302.9 (2017): 1600553.
- 45) Voet, Vincent SD, et al. "Biobased acrylate photocurable resin formulation for stereolithography 3D printing." *ACS omega* 3.2 (2018): 1403-1408.
- 46) Maselli, Gabriele. "Caratterizzazione di materiali a struttura reticolare con gradiente di porosità per applicazioni biomediche." (2021).
- 47) Mousapour, Mehrdad. "Multi-metal 3D printing with extrusion method." (2020).
- 48) Grigolato, L., Rosso, S., Meneghello, R., Concheri, G., & Savio, G. (2019). Heterogeneous objects representation for additive manufacturing: a review. *Instant Journal of Mechanical Engineering*, 14-23.
- 49) Savio, Gianpaolo, et al. "Geometric modeling of cellular materials for additive manufacturing in biomedical field: a review." *Applied bionics and biomechanics* 2018.1 (2018): 1654782.
- 50) Fantini, M., Marco Curto, and Francesca De Crescenzo. "A method to design biomimetic scaffolds for bone tissue engineering based on Voronoi lattices." *Virtual and Physical Prototyping* 11.2 (2016): 77-90.
- 51) Okabe, A., Boots, B., and Sugihara, K., 1992. Spatial tessellations – concepts and applications of voronoi diagrams. Chichester: Wiley.
- 52) Okabe, A., Boots, B., and Sugihara, K., 1994. Nearest neighbourhood operations with generalized Voronoi diagrams: a review. *International Journal of Geographical Information Systems*, 8 (1), 43–71.
- 53) Kwame, Samuel, Noble Komla Dzegblor, and John Cantius Lodonu. "The use of computer-based tutorial to augment teaching and learning of computer software application: A case study of Rhinoceros 3d software." *International Journal of Innovative Research & Development* 4.2 (2015): 209-216.
- 54) De Yong, S., Yusita Kusumarini, and Purnama Esa Dora Tedjokoesoemo. "Interior design students' perception for AutoCAD, SketchUp and Rhinoceros software usability." *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. Vol. 490. No. 1. IOP Publishing, 2020.
- 55) De Sousa Freitas, Jader, et al. "Modeling and assessing BIPV envelopes using parametric Rhinoceros plugins Grasshopper and Ladybug." *Renewable Energy* 160 (2020): 1468-1479.

- 56) Castro, Lo, et al. "Implementazione di una nuova procedura per caratterizzare la forma di particelle mediante misure al CAMSIZER e algoritmi di clustering." *Quaderni di Geofisica* (2011).
- 57) https://it.wikipedia.org/wiki/Fattore_di_forma
- 58) Chao, Long, et al. "Analysis of mechanical properties and permeability of trabecular-like porous scaffold by additive manufacturing." *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 9 (2021): 779854.
- 59) Zhao, Haiyuan, et al. "Design and mechanical properties verification of gradient Voronoi scaffold for bone tissue engineering." *Micromachines* 12.6 (2021): 664.
- 60) Deering, Joseph, et al. "Selective Voronoi tessellation as a method to design anisotropic and biomimetic implants." *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 116 (2021): 104361.
- 61) Trinchese, Giovanni Felice, et al. "Gli scaffold in medicina rigenerativa." *LO SCALPELLO-OTODI Educational* 33.3 (2019): 230-236.
- 62) PETTENUZZO, MARCO. "Sintesi e stampa 3D di scaffolds a base di biovetri silico-sodico-calcici supportate da emulsioni in polimero preceramico."
- 63) Farina, Erica. "Elasticità e resistenza di uno scaffold osseo vetro-ceramico stampato in 3D mediante analisi a elementi finiti basati su scansioni microtomografiche." (2019).