



**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA**



DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

CORSO DI LAUREA IN BIOINGEGNERIA

**Caratterizzazione del comportamento tribologico di
cartilagine artificiale a base di alcool polivinilico**

Relatrice: Prof. ssa Silvia Todros

Laureanda: Elena Tomaselli

Correlatrice: Dott. ssa Marta Confalonieri

ANNO ACCADEMICO 2023 – 2024

Data di laurea 09/07/2024

INDICE

INDICE	1
ABSTRACT.....	3
INTRODUZIONE	5
Capitolo 1: La cartilagine.....	7
1.1 La cartilagine articolare	8
1.1.1 Proprietà meccaniche della cartilagine articolare	10
1.1.2 Lesioni della cartilagine articolare	15
1.1.3 Trattamento delle lesioni di cartilagine articolare	17
Capitolo 2: Alcool polivinilico (PVA)	23
2.1 Proprietà meccaniche dell'alcool polivinilico	24
2.2 Valutazione delle proprietà tribologiche: stato dell'arte.....	25
Capitolo 3: Materiali e metodi.....	35
3.1 Preparazione del PVA	35
3.2 Prove d'attrito	35
3.2.1 Codice Matlab	40
3.2.2 Giustificazione della media e della deviazione standard come migliore stima e principio di massima verosimiglianza.....	46
3.2.3 Analisi dei dati e statistica	49
Capitolo 4: Risultati e discussione	55
4.1 Confronto tra i coefficienti d'attrito.....	55
4.1.1 Effetto della composizione del PVA sul coefficiente d'attrito.....	64
4.1.2 Effetto della frequenza di spostamento sul coefficiente d'attrito	71
4.2.3 Effetto della presenza di acido ialuronico sul coefficiente d'attrito	78
Discussione e conclusioni.....	81
Bibliografia	85

ABSTRACT

Il danneggiamento della cartilagine articolare è un problema di salute molto diffuso, che causa dolore e disabilità ai pazienti interessati. Riparare la cartilagine articolare è estremamente difficile a causa della sua natura avascolare e aneurale. Questo progetto di tesi si concentra sullo studio di alcool polivinilico (PVA) quale biomateriale in grado di sostituire il tessuto cartilagineo danneggiato. In particolare, sono stati confrontati hydrogel ottenuti in tre diverse concentrazioni in peso di PVA su acqua (15 wt%, 20 wt% e 25 wt%) e sono state eseguite prove d'attrito in diverse condizioni con lo scopo di determinarne le caratteristiche tribologiche. Specificatamente, si sono confrontate 4 condizioni di carico normale (5 N, 10 N, 15 N e 20 N) e due diversi metodi di idratazione del polimero (con soluzione fisiologica o con acido ialuronico). I risultati ottenuti nel presente studio confermano le osservazioni riportate in letteratura e dimostrano che gli hydrogel di PVA in presenza di acido ialuronico presentano un coefficiente d'attrito paragonabile a quello della cartilagine articolare naturale, pertanto possono essere considerati validi sostituti del tessuto cartilagineo.

Articular cartilage damage is a widespread health problem that causes pain and disability to affected patients. Repairing articular cartilage is extremely difficult due to its avascular and aneural nature. This thesis project focuses on the study of polyvinyl alcohol (PVA) as a biomaterial capable of replacing damaged cartilage tissue. Specifically, hydrogels obtained in three different weight concentrations of PVA on water (15 wt%, 20 wt% and 25 wt%) were compared and friction tests were carried out under different conditions in order to determine its tribological characteristics. Specifically, four normal loading conditions (5 N, 10 N, 15 N and 20 N) and two different polymer hydration methods (with saline or hyaluronic acid) were compared. The results obtained in the present study confirm the observations reported in the literature and demonstrate that PVA hydrogels in the presence of hyaluronic acid exhibit a friction coefficient comparable to that of natural articular cartilage, thus they can be considered valid substitutes for cartilage tissue.

INTRODUZIONE

La cartilagine è una forma specializzata di tessuto connettivo, essa svolge un ruolo fondamentale nel corpo umano, fornendo sostegno meccanico e protezione. Suddivisa in tre tipi sulla base della sua composizione microstrutturale, ialina, elastica e fibrosa, la cartilagine articolare, in particolare, è di tipo ialino e riveste le superfici delle articolazioni.

Le articolazioni sono protette da una capsula articolare che racchiude una cavità sinoviale. Questo spazio contiene il liquido sinoviale, composto principalmente da acido ialuronico e acqua. Questo fluido viscoso è cruciale per nutrire le cellule cartilaginee e ridurre l'attrito tra le superfici articolari durante il movimento, garantendo un funzionamento armonico e senza attrito delle articolazioni. Inoltre, grazie alla sua azione lubrificante esso protegge anche le superfici articolari dall'usura, facilitandone lo scorrimento reciproco. Il movimento delle ossa a livello articolare è anche garantito dall'abbondante presenza di acido ialuronico che, grazie all'elevato quantitativo di cariche negative, è in grado di legare un cospicuo numero di molecole d'acqua fungendo da lubrificante.

La cartilagine, grazie alle sue proprietà meccaniche, come la resistenza alla pressione e la capacità di ridurre l'attrito, è essenziale per le dinamiche biomeccaniche del corpo umano. Tuttavia, l'articolazione è soggetta a costanti carichi meccanici che possono influenzare il metabolismo dei condrociti e causare danni al tessuto cartilagineo. Queste lesioni possono essere causate da traumi, oppure da processi infiammatori e degenerativi.

Gli obiettivi terapeutici si concentrano sul trovare terapie che rallentino il progressivo deterioramento della cartilagine articolare e, a tale scopo sono state sviluppate diverse tecniche di trattamento.

Nel presente progetto di tesi è stata valutata la sostituzione del tessuto cartilagineo danneggiato con hydrogel a base di alcool polivinilico (PVA), un polimero sintetico ottenuto tramite polimerizzazione di vinil acetato. Tra i vari biomateriali che possono fungere da possibili sostituti della cartilagine, infatti, gli hydrogel di PVA si distinguono per la loro elevata biocompatibilità e per essere caratterizzati da proprietà meccaniche regolabili.

In particolare, sono stati confrontati hydrogel con tre diverse concentrazioni in peso di PVA su acqua (15 wt%, 20 wt% e 25 wt%) e sono state eseguite prove d'attrito in diverse condizioni con lo scopo di determinarne le caratteristiche tribologiche.

Specificatamente, si sono confrontate 4 condizioni di carico normale (5N, 10N, 15N e 20N) e cinque diversi metodi di idratazione del polimero, con soluzione fisiologica o con 4 diverse concentrazioni di acido ialuronico.

I dati sperimentali ottenuti sono stati successivamente elaborati tramite l'implementazione di un codice Matlab, un'analisi statistica con il software Prism e fogli di lavoro Excel. Analizzando l'andamento dei coefficienti d'attrito ottenuti dalle prove eseguite in laboratorio, è stato osservato che l'utilizzo di acido ialuronico, quale mezzo di idratazione, consente di ottenere valori paragonabili a quelli del tessuto cartilagineo articolare.

Pur rimanendo da considerare ulteriori condizioni di prova per meglio valutare le proprietà meccaniche e di biocompatibilità, attualmente è possibile affermare che il PVA si presenta come un valido sostituto della cartilagine articolare.

Capitolo 1: La cartilagine

La cartilagine è una forma specializzata di tessuto connettivo, con funzioni di sostegno meccanico e di protezione.

Il tessuto cartilagineo è composto, oltre che da abbondante matrice extracellulare, da popolazioni cellulari importanti: i condroblasti, i condrociti e i condroclasti. In particolare, i condroblasti secernono la matrice extracellulare la quale costituirà la maggior parte del tessuto; dopodiché i condroblasti divengono condrociti. Nella matrice i condroblasti sono ospitati in lacune, all'interno delle quali possono dividersi e formare piccoli gruppi cellulari, i gruppi cellulari isogeni (o gruppi isogeni).

La matrice della cartilagine è formata da una parte amorfa e da una parte fibrillare. La sostanza fondamentale amorfa è ricca di acqua (fino a 85% nei giovani), glicosamminoglicani e glicoproteine.

La presenza di proteoglicani, di glicosamminoglicani e di fibre di collagene conferisce la consistenza gelatinosa della matrice extracellulare.

La cartilagine generalmente è rivestita da un connettivo capsulare, il pericondrio (tessuto connettivo fibroso compatto), in cui sono presenti i vasi sanguigni per il nutrimento del tessuto cartilagineo, il quale altrimenti è avascolarizzato.

In particolare, il pericondrio è associato a tutti i tessuti cartilaginei, ad eccezione del tessuto cartilagineo fibroso e del tessuto cartilagineo articolare. Quest'ultimo riceve il sostentamento dal liquido sinoviale presente a livello delle articolazioni.

La totale mancanza di innervazione e di vascolarizzazione riduce sensibilmente le capacità rigenerative del tessuto cartilagineo ed è responsabile dello spessore ridotto di tale tessuto [1], [2].

Le funzioni svolte dal tessuto cartilagineo dipendono essenzialmente dalla composizione della matrice extracellulare. Essa garantisce:

- resistenza a compressione grazie alla presenza di collagene e proteoglicani;
- recupero della forza iniziale in seguito a sollecitazione permettendo così l'assorbimento di traumi e la distribuzione di carichi.

- scorrimento delle superfici grazie all'elevato quantitativo di acido ialuronico a livello della matrice extracellulare.

Sulla base dell'abbondanza relativa della sostanza amorfa e delle fibre che vi sono incluse la cartilagine è distinta in tre tipi: ialina, elastica e fibrosa (Figura 1).

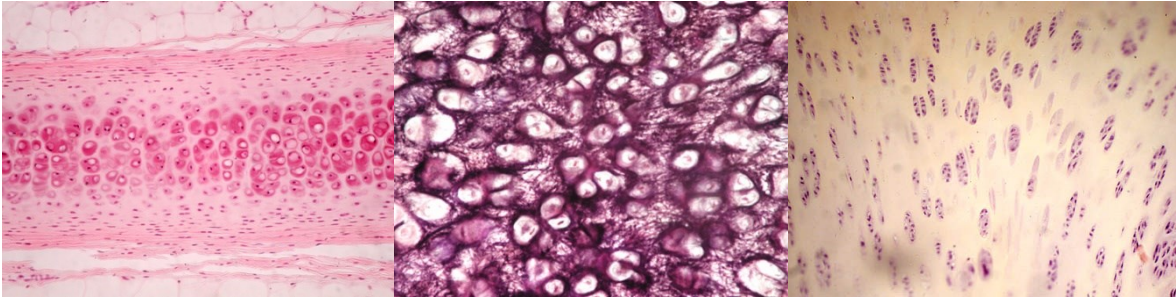


Figura 1: da sinistra verso destra si distinguono cartilagine ialina (colorazione: emallume-eosina), cartilagine elastica del padiglione auricolare di mammifero (colorazione: emallume-eosina), cartilagine fibrosa in cui si nota come la disposizione dei gruppi isogeni sia condizionata dalla presenza di fasci di fibre collagene (colorazione: emallume-eosina) [2].

Il tessuto cartilagineo presente a livello delle articolazioni è di tipo ialino. Il termine “ialino” è utilizzato in quanto questo tipo di cartilagine appare traslucido e semitrasparente se osservato a fresco. È il più diffuso sia a livello embrionale sia a livello dell'individuo adulto. Nell'embrione e nel feto costituisce gran parte dello scheletro e nei mammiferi adulti oltre a rivestire le superfici articolari, forma le cartilagini costali, gli anelli tracheali, gran parte delle cartilagini laringee, dei bronchi e del naso [2].

1.1 La cartilagine articolare

La cartilagine articolare è un tipo particolare di cartilagine ialina e la si trova sulla superficie di due capi articolari in rapporto di vicinanza. Le ossa a livello dell'articolazione possono essere rivestite da una struttura detta capsula articolare. Essa è organizzata in due strati: uno strato esterno di tipo fibroso che viene ulteriormente rinforzato da strutture legamentose o tendinee; uno strato interno di tipo membrano dato dalla membrana sinoviale. La capsula forma al suo interno uno spazio, conosciuto come cavità articolare o sinoviale. Tale cavità contiene liquido sinoviale, un fluido viscoso che rappresenta una particolare forma di matrice extracellulare, al cui interno sono presenti principalmente acido ialuronico e acqua. Questo fluido è prodotto da cellule specifiche della membrana sinoviale dette sinoviociti.

Il liquido sinoviale è molto importante poiché, data l'assenza del pericondrio sulla cartilagine articolare, esso ha il compito di nutrire le cellule qui presenti e ridurre al minimo l'attrito fra i capi articolari, garantendo così un movimento armonico. Inoltre, grazie alla sua azione lubrificante, esso protegge anche le superfici articolari dall'usura, facilitandone lo scorrimento reciproco. Il movimento delle ossa a livello articolare è anche garantito dall'abbondante presenza di acido ialuronico che, grazie all'elevato quantitativo di cariche negative, è in grado di legare un cospicuo numero di molecole d'acqua fungendo da lubrificante.

La cartilagine articolare presenta una struttura stratificata (Figura 2), dettata dal posizionamento delle fibre di collagene di tipo II e dalla disposizione e forma dei condrociti; si distinguono:

- *Strato superficiale o tangenziale*, si trova in prossimità della cavità articolare. Pur essendo molto sottile, si possono individuare due strati differenti. Il primo, chiamato "*lamina splendens*", presenta fini fibrille con pochi polisaccaridi ed è caratterizzato dall'assenza di condrociti. Il secondo, anch'esso composto da fini fibrille, mostra pochi condrociti dalla forma allungata che, insieme alle fibrille di collagene di tipo II, sono orientati con l'asse maggiore parallelamente alla superficie articolare. In questa zona la matrice è ricca di collagene ma povera di proteoglicani.
- *Strato di transizione o intermedio*, è più spesso rispetto al precedente e ampiamente popolato da condrociti di aspetto ovoidale che sono molto attivi metabolicamente. In questa zona la matrice è caratterizzata da larghe fibre di collagene che assumono una forma arcuata, un'alta concentrazione di proteoglicani e da un minor contenuto idrico rispetto alla zona superficiale.
- *Strato profondo o radiale*, caratterizzato da condrociti rotondi ancora più attivi metabolicamente. In questa zona si formano gruppi isogeni disposti in colonne di 6-8 elementi parallele tra di loro e perpendicolari alla superficie articolare. La matrice extracellulare è composta da fibre di collagene di diametro molto elevato, anch'esse disposte perpendicolarmente alla superficie articolare e da un notevole contenuto di proteoglicani, mentre la quantità di acqua è molto scarsa.

- *Strato calcificato*, separato dalla zona radiale soprastante da uno strato di matrice extracellulare detto “*tidemark*”. Lo strato calcificato divide la cartilagine dall’osso subcondrale sottostante e media il passaggio tra i due tessuti. A differenza delle regioni precedenti, in questa zona non sono presenti solamente condrociti, ma si possono trovare anche osteoblasti e osteoclasti. Inoltre, oltre al collagene di tipo II sono presenti anche fibre di tipo I e X.

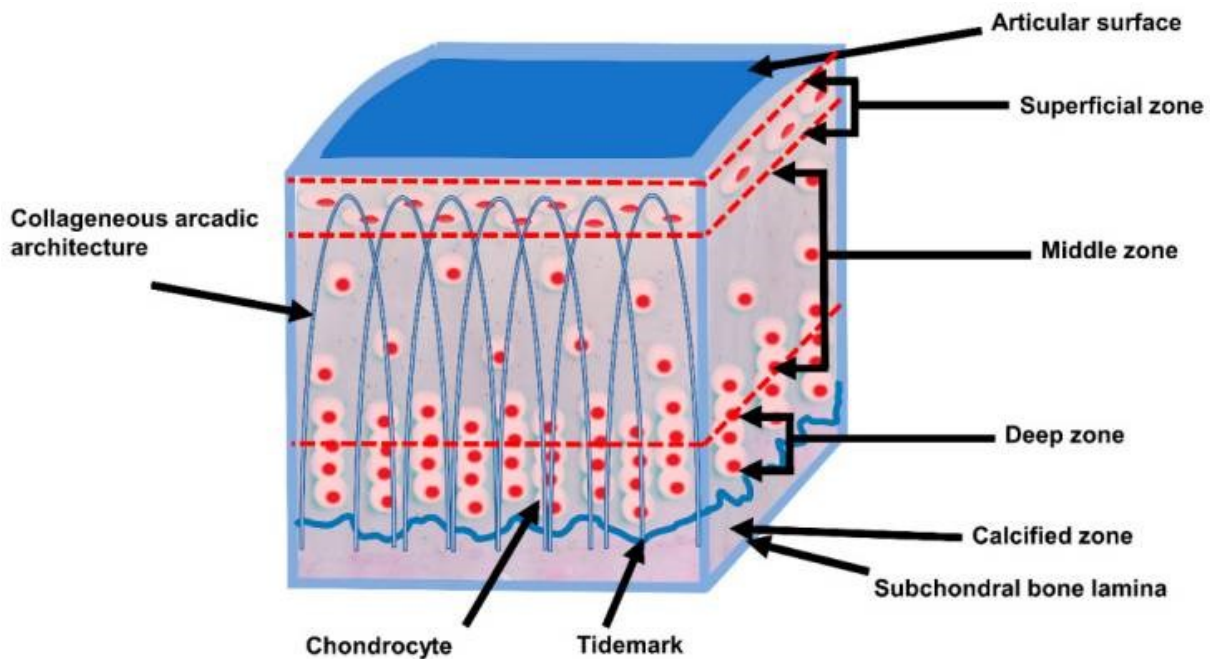


Figura 2: schema trasversale della cartilagine articolare sana [3].

La complessa composizione microstrutturale della cartilagine articolare conferisce ad essa precise proprietà meccaniche.

1.1.1 Proprietà meccaniche della cartilagine articolare

Come riportato da Cabitza et al. [4], nonostante la cartilagine sia sempre connotata dalla stessa struttura generale e dalle stesse funzioni, alcune caratteristiche, come lo spessore, la densità cellulare, la composizione della matrice e le proprietà meccaniche, possono variare anche notevolmente tra le diverse articolazioni ed anche tra aree diverse all’interno della stessa articolazione.

La cartilagine articolare è sottoposta a un'ampia gamma di carichi meccanici statici e dinamici. Grazie alla composizione e all'integrità strutturale della matrice extracellulare il tessuto è in grado di sopportare forze di compressione, di trazione e di taglio.

La matrice è composta per l'80% da acqua e per il restante 20% da macromolecole strutturali, quali fibre di collagene e proteoglicani. Questi elementi essendo carichi negativamente attraggono ioni positivi come il sodio che, a loro volta, sono in grado di richiamare osmoticamente le molecole d'acqua. Poiché la cartilagine è poco permeabile, l'acqua tende a restare all'interno del tessuto, in questo modo quando questa è sottoposta a compressione si genera una pressione idrostatica che permette il trasferimento omogeneo delle sollecitazioni attraverso gli strati di cui è composta.

Le fibre di collagene, invece, conferiscono resistenza alle sollecitazioni a trazione e a taglio, in particolare la distribuzione casuale delle fibre e dei proteoglicani all'interno della zona intermedia consente alla matrice un certo grado di deformazione senza perdita di liquidi. Inoltre, partecipano attivamente alla trasmissione del carico anche a livello della giunzione osteocondrale, la quale è sottoposta a notevoli forze torsionali e di taglio.

Forze di taglio e di tensione possono danneggiare la rete macromolecolare della matrice extracellulare. Per contrastare tale processo, è necessario ridurre al minimo l'attrito superficiale, ciò può essere ottenuto con la lubrificazione tissutale, la quale è molto efficiente in un'articolazione sana [4].

A partire dagli anni '50 del secolo scorso, McCutchen et al. [5], [6], [7], [8], [9] hanno iniziato a studiare i meccanismi relativi alla lubrificazione della cartilagine articolare. McCutchen è riuscito a dimostrare sperimentalmente che, sotto l'applicazione di un carico costante, il coefficiente d'attrito della cartilagine contro il vetro aumenta nel tempo. Dopodiché, rimuovendo il carico per 1 s e applicandolo nuovamente, ha osservato che il coefficiente d'attrito non torna al valore iniziale ma scende solo lievemente per poi aumentare ancora. Queste valutazioni hanno portato alla formulazione di un meccanismo di lubrificazione che è stato descritto come quello di un cuscinetto idrostatico auto-pressurizzato ("*self-pressurized hydrostatic bearing mechanism*").

Secondo questo meccanismo, la pressione creatasi dall'applicazione del carico sui due strati articolari pressurizza il fluido interstiziale, che ne sostiene la maggior parte. In questo modo solo una piccola frazione dell'azione esterna sarà sopportata dalla matrice solida.

Ne risulta che le forze di attrito sono significative solo per la porzione di carico trasferita attraverso la matrice solida degli strati articolari opposti. Quindi, finché la pressione del fluido

interstiziale rimane elevata, sostenendo la maggior parte del carico, l'attrito dovrebbe rimanere basso. Non solo, per spiegare i valori bassi del coefficiente d'attrito, McCutchen ha segnalato che il fluido pressurizzato nei pori della cartilagine fuoriesce nello spazio sinoviale formando una pellicola lubrificante [10].

Nello stesso articolo, Ateshian [10] riporta i risultati ottenuti da McCutchen [7], Malcom [10], Forster e Fisher [11], [12] per quanto riguarda la variazione del coefficiente d'attrito nel tempo. Gli studi di McCutchen evidenziano un aumento del coefficiente d'attrito nel caso di applicazione di un carico costante.

Malcom [10] ha successivamente misurato la risposta d'attrito della cartilagine contro la cartilagine, prelevata da articolazioni della spalla di bovini, ottenendo risultati sperimentali più completi. Durante i suoi esperimenti Malcom ha analizzato una serie di condizioni di prova, tra cui variazioni dell'entità e dell'intervallo temporale del carico applicato, della velocità di scorrimento e l'utilizzo di liquido sinoviale rispetto a una soluzione salina come lubrificante. Sulla base delle osservazioni condotte, secondo Malcom la risposta meccanica della cartilagine può essere attribuita alla sua natura bifasica.

Prove simili sono state successivamente condotte da Forster e Fisher [11], [12], i quali hanno ottenuto risultati concordanti con quelli di Malcom. In particolare, il coefficiente d'attrito è stato derivato attraverso prove in vitro con un setup "*pin-on-plate*". Sono state studiate due tipi di configurazioni, cartilagine contro metallo e cartilagine contro cartilagine, sottoponendole a diversi tempi di carico. Nel caso della prova cartilagine contro metallo, risulta una risposta tempo dipendente del coefficiente d'attrito dovuta al continuo caricamento del tessuto e alla conseguente perdita di liquido (Figura 3). A causa di questi fenomeni il coefficiente d'attrito aumenta fino ad assumere valori che variano tra 0.45 e 0.6 [13].

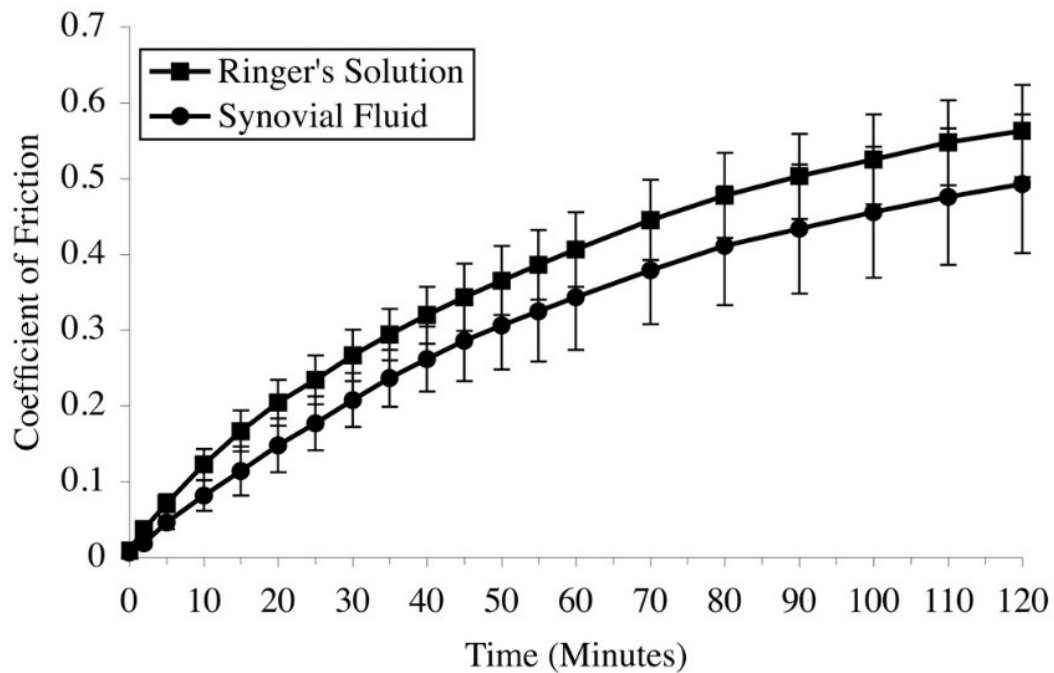


Figura 3: risposta tempo dipendente del coefficiente d'attrito di campioni di cartilagine articolare (\varnothing 9 mm) contro una superficie metallica, sotto l'applicazione di un carico costante di 30N, scorrimento reciproco di ± 25 mm a 4 mm/s, utilizzando soluzione di Ringer e fluido sinoviale come lubrificante [10].

Al contrario, nella prova cartilagine contro cartilagine, Forster e Fisher hanno ottenuto un coefficiente d'attrito che rimane costantemente basso, ciò è dovuto alla reidratazione del tessuto cartilagineo.

Jahn et al. [14] riportano i coefficienti d'attrito ottenuti su cartilagine articolare ottenuti tramite prove in vivo. Essi variano da circa 0.001 a 0.03, anche se è necessario sottolineare come tali misurazioni siano estremamente impegnative da eseguire. Innanzitutto, le superfici articolari sono così ben lubrificate che qualsiasi attrito misurato probabilmente è dominato da altre modalità di dissipazione dell'energia, quali perdite viscoelastiche derivanti dalla distorsione di legamenti, di membrane e di tessuto connettivo adiacenti. A causa di queste ulteriori modalità di dissipazione, è possibile che i valori misurati in vivo del coefficiente d'attrito possano essere più elevati di quelli effettivi. Inoltre, gli studi sulla cartilagine in vivo possono essere influenzati dalla *up-regulation* degli enzimi degradanti la cartilagine, fenomeno che avviene in risposta a un danneggiamento della cartilagine vivente. A causa di queste difficoltà si preferiscono eseguire prove in vitro per il calcolo del coefficiente d'attrito.

A questo proposito, Katta et al. [13] sottolineano l'importanza di altre variabili quali la lunghezza della corsa e la velocità di scorrimento, in riferimento a configurazioni "*pin-on-disk*" che prevedono la traslazione tra superfici, in particolare in un contesto di prove cartilagine

contro cartilagine. Questi parametri regolano sia la quantità di tessuto cartilagineo caricato, sia il tempo disponibile per la reidratazione di tale porzione. Influenzano anche il regime di lubrificazione in cui opera il contatto, il quale a sua volta controlla le proprietà di attrito del sistema e l'usura delle superfici cartilaginee.

Katta et al. [13] hanno poi dimostrato che la traslazione della zona di contatto fa sì che la maggior parte del carico sia sostenuto dalla fase liquida, con conseguenti coefficienti d'attrito molto bassi. Poiché le articolazioni umane, come quelle dell'anca o del ginocchio, tendono a trascorrere più tempo in movimento relativo tra le superfici articolari e in condizioni di carico dinamico piuttosto che costante, è improbabile che il supporto del carico da parte della fase liquida del tessuto cartilagineo raggiunga un valore nullo in circostanze fisiologiche normali.

Quindi, mentre la velocità di scorrimento controlla il tasso di idratazione, la lunghezza della corsa regola la quantità di tessuto cartilagineo che viene scaricato ad ogni ciclo. Grazie alle prove in vitro condotte da Bell [15] si è concluso che, se durante ogni ciclo, tra due superfici articolari la zona disponibile alla reidratazione è maggiore del 45% della zona di contatto totale, il coefficiente d'attrito rilevato è molto basso. Qualsiasi diminuzione della lunghezza della corsa comporta un aumento di tale coefficiente (Figura 4) [13].

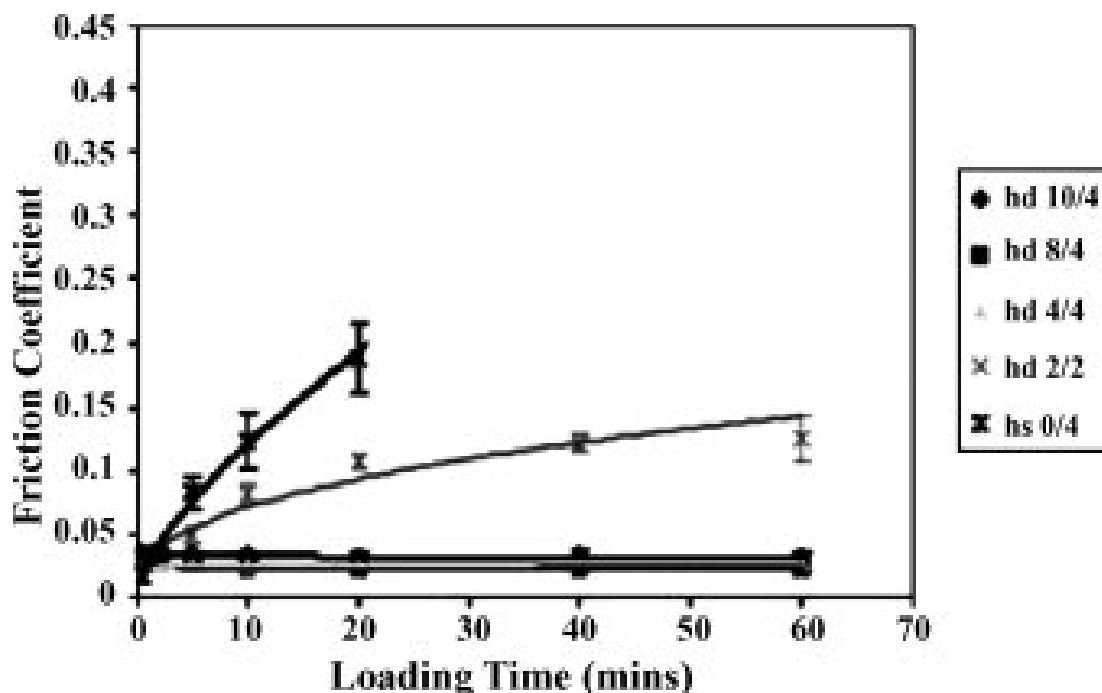


Figura 4: effetto della reidratazione (lunghezza della corsa e velocità di scorrimento) sul coefficiente d'attrito di cartilagine articolare (hd, modello dinamico sano; hs, modello statico sano; il numero prima dello slash indica la lunghezza della corsa in mm; il numero dopo lo slash indica la velocità di scorrimento in mm/s; barre di errore: SE (n = 3)) [13].

Grazie alla sua notevole resistenza alle pressioni e alla capacità di ridurre al minimo l'attrito durante i movimenti articolari, si è visto come la cartilagine costituisca un elemento fondamentale nella biomeccanica delle articolazioni. Allo stesso modo, si è osservato come il liquido sinoviale svolga un ruolo cruciale nel mantenere l'ambiente articolare lubrificato, garantendo il corretto funzionamento delle articolazioni.

Nonostante l'efficiente ruolo svolto dalla cartilagine articolare, l'articolazione subisce costantemente un carico meccanico che ne provoca cambiamenti nella sua struttura chimico-fisica, influenzando direttamente il metabolismo dei condrociti [4], [16].

1.1.2 Lesioni della cartilagine articolare

La cartilagine articolare può subire danni da traumi legati allo sport, all'attività lavorativa e agli incidenti stradali, malgrado le sue ottime caratteristiche meccaniche. Nei soggetti giovani, le lesioni traumatiche sono spesso la causa predominante, mentre negli individui più anziani sono più comuni le condizioni legate a processi infiammatori e degenerativi, quali le artriti e le artrosi [16].

L'osteoartrite (OA) o artrosi è una patologia articolare ad evoluzione cronica, caratterizzata da lesioni di tipo degenerativo a carico della cartilagine delle articolazioni diartrodiali. L'*Osteoarthritis Society International* definisce l'OA come una patologia che, inizialmente, si manifesta con un'alterazione molecolare dovuta ad esempio a metabolismo anomalo del tessuto articolare. Dopodiché, essa è seguita da un cambiamento anatomico e/ o fisiologico caratterizzato da degradazione cartilaginea, rimodellamento osseo, formazione di osteofiti, infiammazione articolare e perdita della normale funzione dell'articolazione [17].

Si tratta di una patologia estremamente diffusa e frequente poiché collegata al processo di invecchiamento. Tuttavia il suo sviluppo è influenzato anche da fattori genetici, sistemici e biomeccanici locali. È importante sottolineare che le fasi iniziali della malattia sono asintomatiche; essendo la cartilagine articolare non innervata, il dolore si manifesta quando il danno ha coinvolto altre strutture o quando la cartilagine è già danneggiata. Un'organizzazione sanitaria del Massachusetts, ha calcolato che i tassi di incidenza, standardizzati per età e sesso, dell'OA sintomatica dell'anca, del ginocchio e della mano erano rispettivamente di 88, 240 e 100 casi su 100.000 persone all'anno. Inoltre, è stato osservato che l'incidenza dell'OA sintomatica alla mano, al ginocchio e all'anca aumenta rapidamente intorno ai 50 anni, per poi stabilizzarsi dopo i 70. È stato poi stimato che il rischio di sviluppare OA sintomatica al

ginocchio nel corso della vita è del 40% negli uomini e del 47% nelle donne e, tale rischio sale al 60% nei soggetti con un indice di massa corporea (BMI) uguale o maggiore di 30 [18].

L'artrite reumatoide (AR), invece, è una malattia articolare infiammatoria, autoimmune e a carattere erosivo. La patogenesi dell'AR è complessa; fattori genetici e ambientali contribuiscono allo sviluppo di un processo immunoflogistico che coinvolge prevalentemente, ma non esclusivamente, la membrana sinoviale. I distretti più colpiti da AR sono le articolazioni diartrodiali; l'AR prevede un'evoluzione della patologia di tipo erosivo con gravi alterazioni dell'architettura articolare e compromissione funzionale. A differenza dell'OA, l'AR può essere in parte risolta mediante l'utilizzo sia di terapie farmacologica così come di terapie non farmacologiche.

L'AR ha un'incidenza minore rispetto all'osteoartrite con 20, 40 casi su 100.000 persone l'anno, tuttavia si presenta come la più frequente malattia infiammatoria articolare.

In generale, l'usura del tessuto cartilagineo è dovuta e può essere accentuata da diversi fattori, tra cui traumi, carichi anomali, alterazioni chimico-biologiche. Questi fattori possono agire singolarmente o sinergicamente, aumentando i tassi di usura della cartilagine oltre la normalità o al di sopra dei tassi di riparazione fisiologici. Sarebbe quindi ragionevole pensare che i meccanismi di degradazione legati alla cartilagine e alle malattie articolari possano influenzare anche la sua risposta all'attrito. A tal proposito la letteratura ha mostrato risultati contrastanti [10], [13].

Secondo quanto riportato da Ateshian [10], la degradazione del tessuto cartilagineo non necessariamente comporta un aumento del coefficiente di attrito. In uno studio condotto da Basalo [19], dove è stata documentata la pressurizzazione del fluido interstiziale, l'aumento osservato del coefficiente di attrito è stato coerente con la diminuzione del supporto massimo del carico esercitata dalla componente liquida della matrice. In altri studi, non è stata effettuata alcuna misurazione diretta o stima della pressurizzazione del fluido interstiziale. Pertanto, rimane poco chiaro se le diverse forme di degradazione del tessuto comportino necessariamente una riduzione della massima pressurizzazione del liquido tessutale.

Questi risultati sperimentali suggeriscono che le proprietà tribologiche della cartilagine articolare mostrino una resilienza maggiore alla progressiva degenerazione del tessuto rispetto a quanto comunemente ipotizzato [10].

1.1.3 Trattamento delle lesioni di cartilagine articolare

Date le caratteristiche biologiche della cartilagine articolare e vista la prognosi delle patologie che la riguardano, l'obiettivo terapeutico da raggiungere è trovare un trattamento che possa rallentare il progressivo deterioramento del tessuto cartilagineo [20].

Sicuramente, un modo per individuare in anticipo l'insorgenza della malattia è mediante l'utilizzo di tecniche di *imaging*. Nonostante ciò, è altrettanto importante sviluppare trattamenti che possano invertire o bloccare il progredire della lesione nelle fasi iniziali oppure ritardare la sostituzione dell'articolazione in fase finale.

In base alla gravità del danno e al decorso della malattia, le tecniche di trattamento attualmente in uso sono molteplici; si può prevedere l'utilizzo di farmaci antinfiammatori, lubrificanti per articolazioni, tecniche di abrasione o di microfratture, utilizzo di *graft* (*autograft*, *allograft* o sostituzione con biomateriali), soluzioni di ingegneria tissutale, emi-artoplastica, viscosupplementazione oppure, nel caso peggiore, si può intervenire con la sostituzione dell'intera articolazione [13]. Di seguito verranno illustrate alcune delle tecniche più utilizzate per il trattamento delle lesioni della cartilagine articolare.

- *Lubrificanti articolari*

Attualmente si stanno sviluppando lubrificanti articolari naturali e sintetici. A questo scopo, Bell et al. [21] hanno studiato l'utilizzo di peptidi che in condizioni fisiologiche si auto-assemblano formando una rete e, in un modello in vitro di cartilagine articolare contro cartilagine, hanno osservato che uno di questi (peptide P₁₁₋₉) è in grado di ridurre i livelli di attrito in modo efficiente in condizioni di carico statico.

Anche i fosfolipidi sintetici, la lubricina ricombinante e lo ialuronato ad alto peso molecolare sono stati proposti come lubrificanti articolari, ma la loro utilità nel trattamento del tessuto cartilagineo ai primi stadi della lesione non è ancora stata definita [13].

- *Sostituzione con biomateriali*

Generalmente, le piccole lesioni vengono trattate con *graft*, anche se, recentemente, in casi specifici sono state corrette mediante l'utilizzo di biomateriali. Alcuni dei problemi principali

di questa tecnica è il loro fissaggio, l'integrazione fisico-chimica con il tessuto cartilagineo circostante, la loro durata e il danneggiamento della cartilagine con cui sono in relazione nell'articolazione.

Sono stati proposti sia materiali duri che morbidi in sostituzione del tessuto danneggiato. Alcuni studi hanno riportato che gli hydrogel di PVA-H, quando fatti scorrere contro la cartilagine articolare, si sono dimostrati materiali migliori rispetto all'allumina o a UHMWPE per quanto riguarda le proprietà tribologiche. Altri studi hanno mostrato che, rispetto a materiali monofasici, come l'acciaio inossidabile, i materiali bifasici, ad esempio gli hydrogel, che sono caratterizzati da un elevato contenuto di acqua, possono garantire minore attrito e causare una minore degradazione superficiale del tessuto cartilagineo con cui sono in contatto.

Grazie a questi risultati, si è dimostrato che, nella maggior parte dei casi, materiali morbidi con proprietà comparabili a quelle della cartilagine articolare rappresentano validi sostituti del tessuto danneggiato [13].

- *Rigenerazione tissutale*

Le moderne metodiche di rigenerazione tissutale trovano un valido impiego nel trattamento di difetti ampi e profondi della cartilagine che non giungono all'osso subcondrale, oppure nel caso di lesioni a tutto spessore con esposizione dell'osso subcondrale, con dimensioni comprese tra 2 e 8 cm², laddove la cartilagine circostante sia sana.

Per ottenere un buon risultato finale è necessario che vengano rispettati i requisiti biologici e biomeccanici di corretta assialità e stabilità articolare. È importante inoltre distinguere le lesioni puramente condrali da quelle osteocondrali, per le quali spesso è richiesto un trattamento combinato dell'osso subcondrale e dello strato cartilagineo.

In base al meccanismo d'azione possiamo poi distinguere due gruppi di trattamenti chirurgici: tecniche di riparazione basate sulla stimolazione midollare, come artroplastica per abrasione, perforazione subcondrale e microfratture, e tecniche di rigenerazione condrale, ad esempio innesti osteocondrali autologhi o eterologhi, innesto autologo di condrociti e utilizzo di cellule staminali mesenchimale associate a scaffold.

Data la loro semplicità, le tecniche di stimolazione midollare, in particolare le microfratture, sono le più utilizzate dai chirurghi ortopedici. Esse sono eseguibili senza l'ausilio di strumentari particolari e sono caratterizzate da costi contenuti. I risultati ottenuti sono buoni, anche se il tessuto di riparazione risulta essere di tipo prevalentemente fibrocartilagineo.

La tecnica del trapianto autologo di condrociti per la riparazione di lesioni cartilaginee del ginocchio fu pubblicata per la prima volta Peterson e Brittberg [22]. L'obiettivo di questa metodologia è di rigenerare cartilagine ialina, tuttavia il fattore biologico determinato dalla vitalità, dalla densità e dal potenziale condrogenico delle cellule cartilaginee trasferite nel difetto da riparare rappresenta un punto cruciale per il successo di questa metodica. La cultura in vitro dei condrociti in monostrato può infatti portare alla perdita del fenotipo condrogenico e di conseguenza alla formazione di fibrocartilagine a livello del difetto.

Mediante l'utilizzo di differenti biomateriali (scaffold), quali gel e membrane di collagene o di acido ialuronico, si sono riuscite a realizzare culture tridimensionali riducendo così il tasso di de-differenziazione in senso fibroblastico, migliorando così la distribuzione cellulare nel difetto da riparare. Si tratta, in ogni caso di metodiche che prevedono due tempi chirurgici, con difficili possibilità d'impianto in artroscopia e con costi elevati, i cui risultati acquisiti in questi anni ne incoraggiano l'utilizzo solo in casi opportunamente selezionati. Queste metodiche di "seconda generazione" sono state ulteriormente perfezionate ottenendo così una "terza generazione" di procedure, le quali prevedono il trapianto di condrociti autologhi con caratterizzazione fenotipica delle cellule in laboratorio, garantendo così la selezione di popolazioni cellulari con una più elevata capacità di produrre in vivo una neo-cartilagine più duratura e stabile.

Le intrinseche limitazioni connesse all'utilizzo di cellule differenziate, quali i condrociti, hanno portato i ricercatori ad ipotizzare l'utilizzo di cellule staminali adulte (*Mesenchymal Stem Cells*, MSC), di facile reperimento e non legate a controversie etiche e che sembrerebbero essere delle buone candidate per la medicina rigenerativa.

Secondo Volpi et al. [16], una valida tecnica di rigenerazione tissutale è rappresentata dalla condrogenesi autologa indotta da matrice (*Autologous Matrix Induced Chondrogenesis*, AMIC). Si tratta di una tecnica di stimolazione midollare "matrix-based", che sfrutta il potenziale di guarigione dell'organismo dato dalle MSC associate a membrana in collagene I/III. Questa tipologia di membrana è in grado di indurre il differenziamento condrocitario delle MSC. Si tratta di una metodica che permette di trattare la lesione cartilaginea con un unico intervento, evitando quindi i processi di prelievo e di coltivazione delle cellule, servendosi solamente delle microfratture dell'osso subcondrale per richiamare le MSC nel sito del difetto. Sulla base delle prove eseguite, è in corso un ulteriore studio prospettico randomizzato controllato che prevede l'arricchimento della membrana con concentrato midollare

(*concentrated Bone Marrow*, cBM) prelevato dalla cresta iliaca. In questo modo, la tecnica AMIC, mediante l'utilizzo di cMB, potrebbe favorire una più rapida rigenerazione del difetto cartilagineo, riducendo anche i tempi di recupero.

- *Emi-artoplastica*

L'emi-artoplastica è una procedura che prevede la sostituzione di una metà dell'articolazione con un impianto. È eseguita su pazienti anziani e generalmente interessa l'articolazione coxo-femorale. Tuttavia, grazie al miglioramento delle tecniche di produzione e alla tipologia di materiali impiegati, l'emi-artoplastica sta diventando una procedura indicata anche per pazienti giovani così come per il trattamento di altre articolazioni, ad esempio quella del ginocchio.

Anche in questo caso, sono stati valutati sia materiali duri sia morbidi e, si è osservato che i secondi non hanno provocato alcun danneggiamento al tessuto cartilagineo con cui erano in contatto, nemmeno dopo 24 mesi dall'impianto; al contrario, materiali più duri come i ceramici e i metallici hanno indotto deterioramento del tessuto cartilagineo [13].

- *Viscosupplementazione*

Il concetto di viscosupplementazione venne introdotto nel 1993 da Balazs [23] come nuova strategia terapeutica per il trattamento di patologie, come l'OA, responsabili di un'alterazione qualitativa e quantitativa del liquido sinoviale delle articolazioni.

Balazs per primo ipotizzò che l'iniezione intra-articolare di acido ialuronico (HA) nelle articolazioni osteoartrosiche avrebbe avuto la capacità di ripristinare la viscoelasticità del liquido sinoviale, di aumentare il flusso di liquido articolare, di normalizzare la sintesi endogena e inibire la degradazione di ialuronato, di ridurre il dolore articolare e di migliorare la funzionalità dell'articolazione. Attualmente questa tecnica rappresenta uno dei trattamenti conservativi principali nella pratica clinica per l'OA di grado lieve-moderato del ginocchio, dell'anca e della spalla [24].

A questo proposito, quindi, la viscosupplementazione è utilizzata con l'obiettivo di ripristinare le condizioni fisiologiche e reologiche dell'articolazione danneggiata.

Al momento, esistono diverse formulazioni di HA utilizzate nella pratica clinica. Le differenze che le contraddistinguono sono date dal metodo di preparazione, dalla posologia, dalle caratteristiche biologiche e dal peso molecolare che può variare entro un range compreso

fra 500 e 6000 kDa. In particolare, l'HA ad alto peso molecolare possiede ottime funzioni lubrificanti; le catene a basso peso molecolare, invece, agiscono con un effetto biostimolante e antinfiammatorio [25].

Numerosi lavori hanno dimostrato come la viscosupplementazione con HA sia in grado di ridurre il dolore associato all'osteoartrosi e di migliorare la funzione articolare in pazienti affetti da gonoartrosi sintomatica [20].

Altri studi stanno valutando l'utilizzo di formulazioni ibride che possiedono le proprietà di entrambi i pesi molecolari, migliorando l'attività anabolica dei condrociti. Il successo di questi trattamenti è stato evidenziato non solo dai miglioramenti significativi del dolore, della funzione articolare e del livello dell'attività fisica, ma anche dal miglioramento delle immagini di risonanza magnetica ed ecografiche eseguite nei mesi successivi [25].

Capitolo 2: Alcool polivinilico (PVA)

Gli hydrogel sono attualmente oggetto di studio nel campo dell'ingegneria tissutale per lo sviluppo di cartilagine articolare sintetica. Grazie alla loro capacità di imitare la struttura e il comportamento meccanico dei tessuti biologici, sono considerati candidati promettenti per scaffold di matrici tissutali ingegnerizzate. In particolare, hydrogel di alcool polivinilico (PVA) sono ampiamente impiegati nel campo biomedico grazie alla loro biocompatibilità e non tossicità, rendendoli delle valide opzioni per lo sviluppo di cartilagine artificiale.

La struttura degli hydrogel si basa su una rete polimerica continua che può trattenere una grande quantità di acqua, fornendo così un ambiente poroso attraverso il quale le cellule possono proliferare e migrare. Questa caratteristica contribuisce alla loro eccellente biocompatibilità e al comportamento meccanico simile a quello dei tessuti molli [26], [27], [28].

Tra gli hydrogel sintetici, il PVA è stato studiato per una varietà di applicazioni nell'ingegneria tissutale. Questo polimero è stato utilizzato per rigenerare diversi tessuti all'interno del corpo umano, tra cui modelli di arterie, impianti corneali e sostituti della cartilagine danneggiata. La sua struttura bifasica e le proprietà meccaniche elastiche, viscoelastiche e compressive lo rendono particolarmente adatto per questo scopo [28], [29].

Sebbene ci siano ancora sfide nel migliorare le proprietà meccaniche degli hydrogel, la ricerca continua a sviluppare approcci per regolare la loro rigidità e resistenza. Questi materiali sono stati anche proposti per varie applicazioni, come la riparazione di difetti osteocondrali, con l'obiettivo di mimare il tessuto cartilagineo nativo e garantire la resistenza al carico meccanico, specialmente nelle articolazioni portanti [28].

Le caratteristiche necessarie che un biomateriale deve possedere per promuovere la rigenerazione della cartilagine articolare sono elevata resistenza al creep per favorire la stabilità meccanica dell'articolazione ed elevato contenuto di acqua per mantenere una superficie lubrificata e ridurre al minimo i danni alla cartilagine durante il movimento. È inoltre richiesta una certa bioattività per favorire l'adesione e la migrazione delle cellule; lo scaffold dovrebbe essere biodegradabile e in grado di rimodellarsi, in questo modo la cartilagine si forma e sostituisce il materiale impiantato [27].

Tra i possibili materiali considerati come sostituiti della cartilagine articolare, il PVA è caratterizzato da buone proprietà biomediche, è permeabile, idrofilico e biocompatibile, si contraddistingue per proprietà meccaniche simili a quelle dei tessuti molli e da un basso coefficiente di attrito. Inoltre, questo hydrogel può essere fabbricato regolando la resistenza alla trazione nell'intervallo caratteristico della cartilagine (1–17 MPa) [27], [30].

La sua struttura è data da una matrice polimerica porosa che è in grado di assorbire e trattenere un elevato quantitativo di acqua, maggiore del 90%, e attraverso essa le cellule possono proliferare e migrare. Inoltre, il PVA ha una struttura chimica semplice con gruppi idrossile (–OH) laterali che sono facilmente modificabili mediante reazioni chimiche e le dimensioni ridotte di questi gruppi consentono al polimero di adattarsi a una forma reticolata [26], [28].

I biomateriali a base di PVA possono essere formulati in modo da ottenere un adeguato comportamento meccanico/tribologico con caratteristiche bioattive/bioassorbibili per sostenere i meccanismi rigenerativi in vivo (ossia, la stimolazione della capacità di auto-guarigione del sito in cui avviene l'impianto e la sostituzione dello scaffold con tessuto rigenerato) [27]. Nella progettazione degli scaffold, i metodi di fabbricazione adottati, il peso molecolare del PVA, la percentuale di peso del PVA nell'acqua e le tecnologie di produzione giocano un ruolo chiave nel definire le caratteristiche biologiche e meccaniche degli hydrogel. Il crosslinking fisico mediante cicli di congelamento-scongelamento ("*freeze-thawing*", F-T) è il metodo migliore e più sicuro dal punto di vista biologico per produrre hydrogel a base di PVA con prestazioni meccaniche personalizzate. Infatti, variando il numero di cicli di F-T, e i tempi di mantenimento a temperature più basse/più alte, è possibile controllare le proprietà strutturali del polimero risultante, modulando la densità delle reti polimeriche. Ciò è dovuto al fatto che, il tipo (ionico/covalente), il numero e la lunghezza della reticolazione negli hydrogel possono influenzare drasticamente il loro modulo elastico. Va anche sottolineato che, la reticolazione fisica degli hydrogel garantisce che non sia necessario alcun agente reticolante, quindi non c'è possibilità di formazione di residui tossici [26], [27], [28].

2.1 Proprietà meccaniche dell'alcool polivinilico

Il concetto alla base della progettazione degli scaffold per l'ingegneria tissutale della cartilagine è creare un ambiente simile a quello fisiologico che riproduca la biomeccanica del tessuto sano, garantendo al contempo la presenza di una struttura porosa continua che favorisca la migrazione delle cellule e lo scambio ottimale di sostanze nutritive e rifiuti.

Per l'impianto all'interno dell'articolazione in vivo, è richiesto che i sostituti della cartilagine siano in grado di sopportare forze di compressione e trazione, abbiano un basso coefficiente d'attrito e siano interessati da fenomeni di lubrificazione e rigonfiamento in soluzione acquosa. Pertanto, una delle sfide principali è far sì che gli scaffold rispettino molteplici parametri meccanici, tra cui il modulo elastico e le proprietà viscoelastiche, non lineare e anisotrope, tipici del tessuto cartilagineo [27].

Un punto debole degli hydrogel di PVA è che hanno proprietà meccaniche e tribologiche diverse da quelle della cartilagine articolare. Nonostante ciò, sono contraddistinti da un contenuto di acqua e da una struttura porosa simili e, mostrano un coefficiente d'attrito confrontabile con quello della cartilagine.

Le proprietà tribologiche degli hydrogel di PVA sono determinate dalla temperatura, dalla polimerizzazione e dalla loro composizione. Anche il carico, la velocità e l'agente lubrificante hanno un enorme effetto sull'attrito. I materiali che entrano in contatto con la cartilagine nativa all'interno dell'articolazione devono mostrare un basso coefficiente d'attrito; lo sforzo di taglio superficiale generato in seguito all'attrito, infatti, produce uno sforzo di trazione nello strato superficiale immediato, così come un aumento della temperatura all'interfaccia. Entrambi questi fenomeni potrebbero danneggiare la cartilagine sana [26], [30].

2.2 Valutazione delle proprietà tribologiche: stato dell'arte

In letteratura, l'attrito degli hydrogel di PVA è stato testato principalmente contro superfici di leghe metalliche dure; tuttavia, i test sulla cartilagine naturale hanno rivelato bassi coefficienti di attrito. In generale, i test d'attrito sono stati condotti con lo scopo di valutare la capacità dello scaffold di minimizzare l'attrito, in vista di applicazioni come interfaccia tra i capi articolari [27], [30].

Barbon et al. [27] hanno valutato il comportamento di scaffold ibridi ottenuti combinando il PVA con componenti della matrice extracellulare, come acido ialuronico, collagene di tipo I o di tipo II e fibrina, così come con materiali sintetici. In generale, considerando anche il metodo di fabbricazione adottato, i risultati hanno dimostrato che l'arricchimento del PVA con componenti di origine biologica produce effetti significativi sulla biomeccanica dello scaffold finale, conferendo eccellenti proprietà meccaniche che corrispondono al comportamento meccanico e tribologico tipico del tessuto cartilagineo. Sulla

base delle evidenze attualmente disponibili in letteratura, Barbon et al. [27] hanno rilevato che PVA unito a idrossiapatite, anche con l'aggiunta di PAA o GO e acrilamide, può assicurare un basso coefficiente d'attrito.

Li et al. [31] hanno valutato il comportamento tribologico di cartilagine articolare umana e hydrogel di PVA contro acciaio inossidabile. In particolare, è stato studiato il contatto fra cartilagine e PVA, cartilagine contro cartilagine e cartilagine contro acciaio inossidabile utilizzando il metodo "pin-on-plate". Per valutare il comportamento tribologico sono state eseguite tre tipologie di test:

- *Prove di scorrimento continuo della durata di 60 minuti.* La Figura 5 evidenzia come il coefficiente d'attrito nei casi di contatto con PVA e con acciaio inossidabile aumenti gradualmente durante il test. Ciò non accade nel caso di contatto tra cartilagine articolare. L'aumento dell'attrito nei primi due casi è dovuto alla perdita del liquido interstiziale nel campione di cartilagine e nel PVA. Inoltre, si nota che il coefficiente d'attrito aumenta più rapidamente nel caso di contatto fra acciaio inossidabile e cartilagine, assumendo il valore di 0.266, mentre nel caso di contatto fra PVA e cartilagine il coefficiente raggiunge il valore di 0.178 [31].

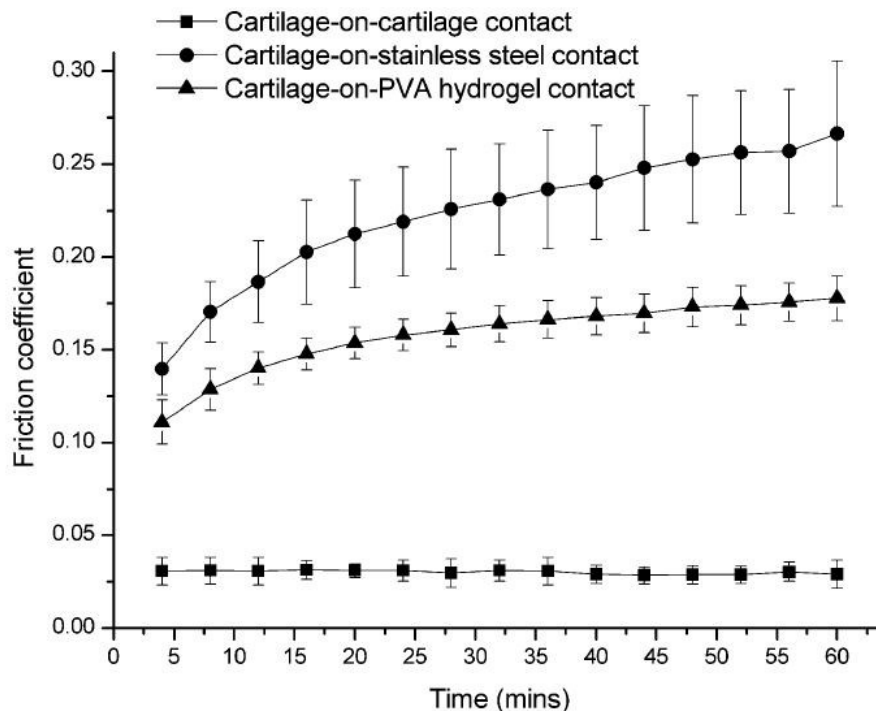


Figura 5: andamento del coefficiente d'attrito ottenuto nelle prove di scorrimento continuo in 60 minuti [31].

- *Prove con cambiamento del carico.* Dopo l'applicazione di un carico costante di 0.5 N per un minuto, è stata imposta una prova a scorrimento continuo della durata di 30 minuti e il carico è stato aumentato a 25 N. Dalla Figura 6 si evince che, durante il tempo della prova sperimentale, il coefficiente d'attrito nel modello cartilagine su PVA è aumentato da 0.152 a 0.171. Allo stesso modo, il coefficiente d'attrito tra acciaio inossidabile e cartilagine è incrementato da 0.254 a 0.289. Il coefficiente nel modello cartilagine contro cartilagine non ha mostrato alcun aumento significativo [31].

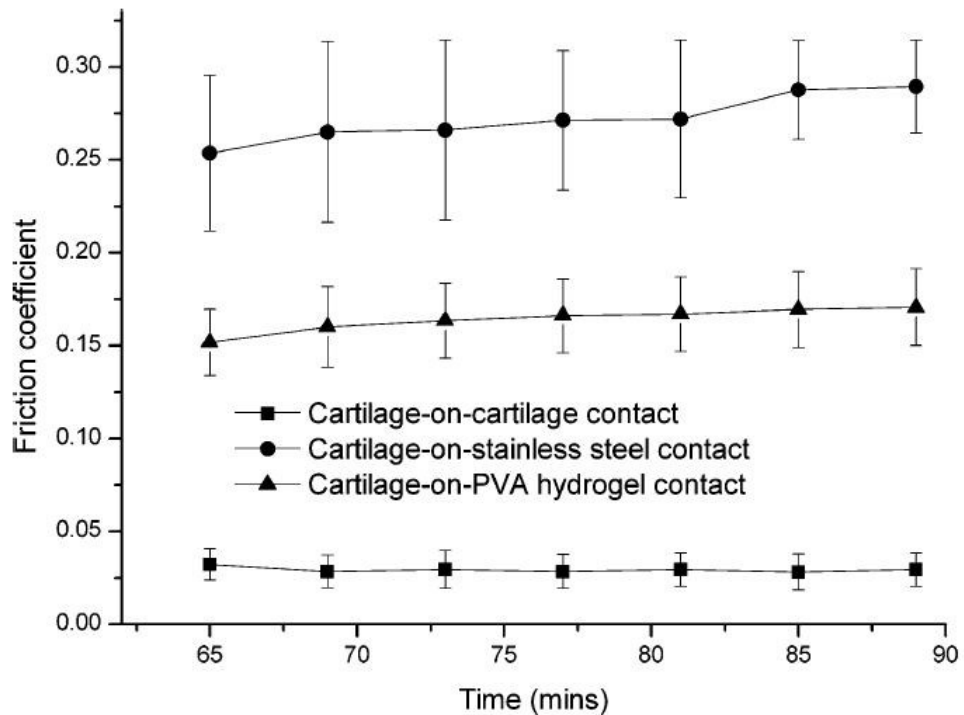


Figura 6: cambiamento del coefficiente d'attrito in seguito a modifica del carico applicato [31].

- *Prove di carico cicliche di 60 minuti.* Dalla Figura 7 si nota come il coefficiente d'attrito nel caso di contatto fra acciaio inossidabile e cartilagine aumenti significativamente durante la prova. Nei primi 20 minuti tale valore cresce rapidamente, da 0.093 a 0.155, e dopo 40 minuti il coefficiente si stabilizza a circa 0.159. Nel caso di contatto fra PVA e cartilagine, invece, il coefficiente d'attrito aumenta rapidamente nei primi 20 minuti da 0.046 a 0.058, in seguito non si registra un ulteriore incremento [31].

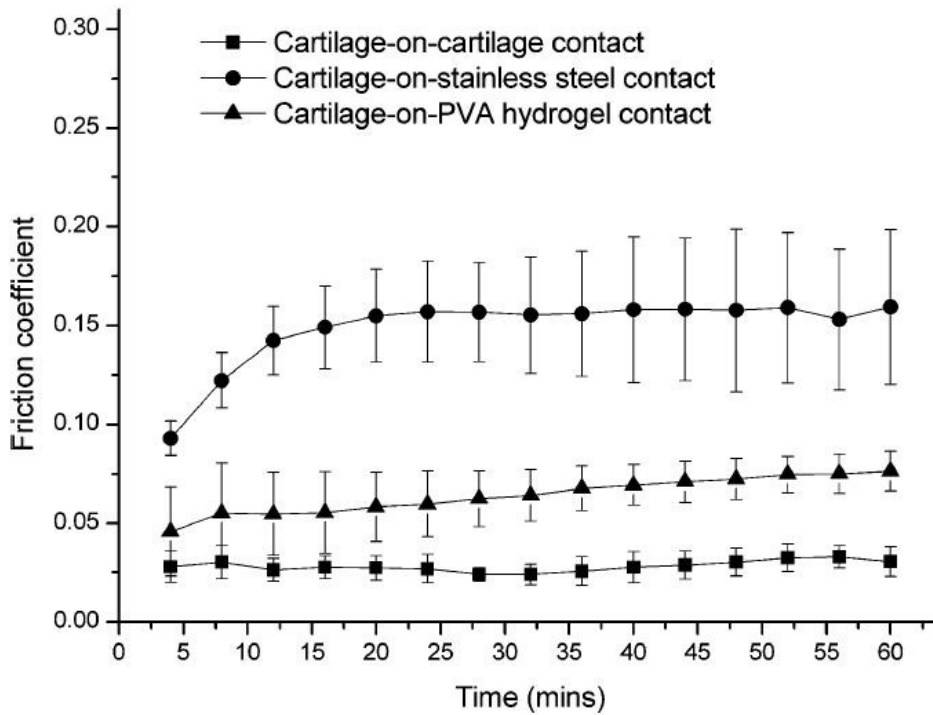


Figura 7: andamento del coefficiente d'attrito per prove di carico cicliche di 60 minuti [31].

In generale, è risultato che il coefficiente d'attrito, nel caso di contatto cartilagine contro cartilagine, mantiene valori di gran lunga inferiori rispetto a quelli calcolati negli altri due tipi di prove. Nei test a scorrimento continuo, il coefficiente d'attrito registrato nei contatti tra cartilagine – acciaio inossidabile e PVA è aumentato gradualmente. Dopo l'applicazione di un carico di 0.5 N, mantenuto costante per un minuto, si è osservato un calo del coefficiente d'attrito in entrambi i casi. Nei test che prevedevano l'applicazione di un carico ciclico, il coefficiente d'attrito è diminuito significativamente. In Figura 8 si riportano i confronti fra i valori del coefficiente d'attrito ottenuti nei diversi test per le diverse configurazioni [31].

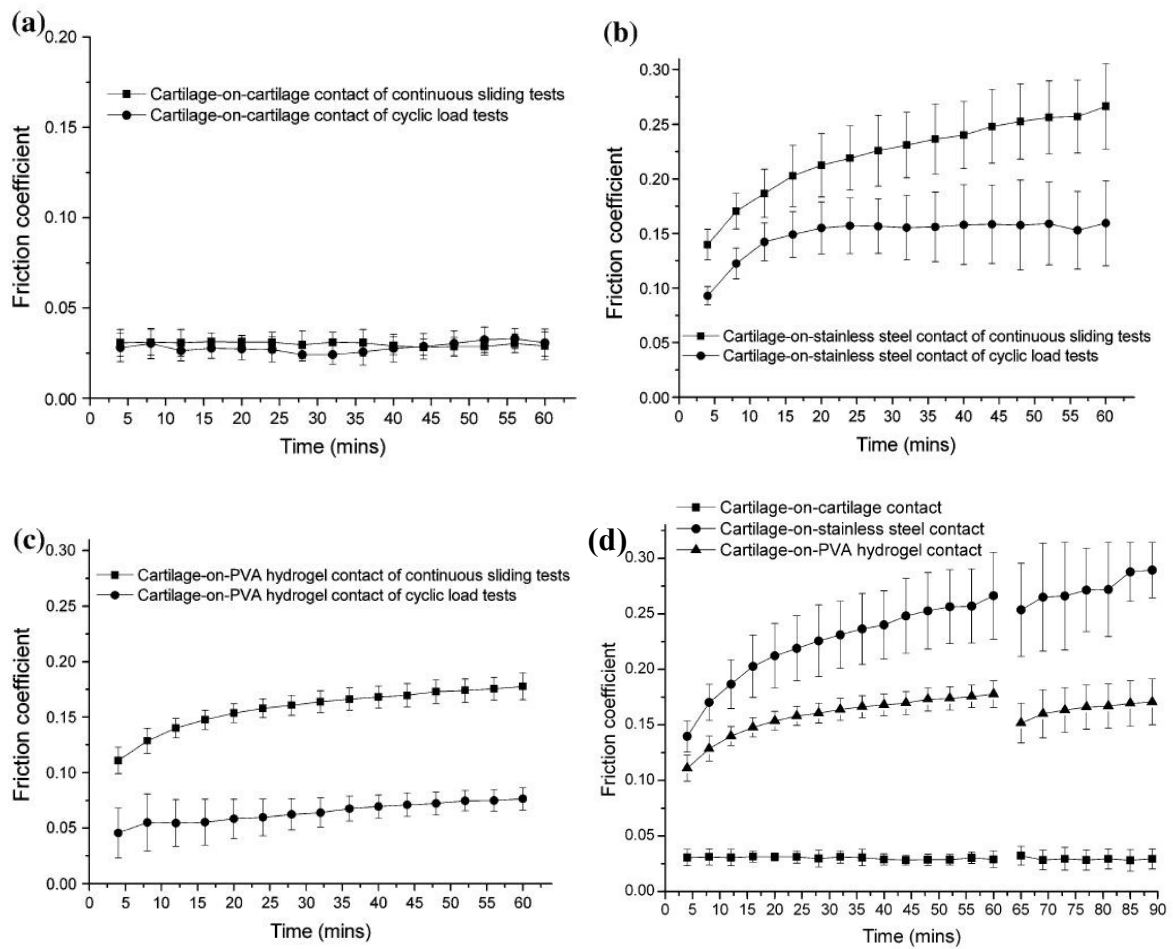


Figura 8: a) confronto fra test a scorrimento continuo e test a carico ciclico con contatto cartilagine su cartilagine; b) confronto fra test a scorrimento continuo e test a carico ciclico con contatto cartilagine su acciaio inossidabile; c) confronto fra test a scorrimento continuo e test a carico ciclico con contatto cartilagine su PVA; d) confronto fra test a scorrimento continuo e test con cambio di carico [31].

Li et al. [31] hanno osservato che i risultati ottenuti sono dovuti alle caratteristiche chimico-fisiche dei materiali. L'acciaio inossidabile è un materiale monofasico che non presenta alcuna struttura porosa. Nei test a scorrimento continuo si ha quindi un aumento del coefficiente d'attrito dovuto alla ripartizione del carico fra fase fluida e fase solida nella cartilagine con cui è in contatto. La diminuzione del valore di tale coefficiente nei test con carico ciclico può essere attribuita al recupero parziale del meccanismo di lubrificazione bifasico nella cartilagine articolare.

Il comportamento del PVA è spiegato invece dalla sua natura bifasica, simile a quella della cartilagine articolare; l'aumento del coefficiente d'attrito è dovuto alla perdita del supporto del carico da parte del fluido interstiziale. Nei test di scivolamento continuo e di carico ciclico, il fluido interstiziale viene perso con conseguente aumento del valore del coefficiente d'attrito. Nei test di carico ciclico, invece, il cambiamento di carico permette la reidratazione

della fase fluida. In questo modo questa fase è grado di sostenere il carico imposto dunque il coefficiente d'attrito aumenta più lentamente. Nonostante questa capacità, va sottolineato che, la proprietà bifasica del PVA non è così efficiente come nel caso della cartilagine articolare [31].

In un articolo successivo, Li et al. [30] hanno analizzato gli effetti che i cambiamenti di carico normale applicato, la velocità di scorrimento e la lubrificazione possono esercitare sul coefficiente d'attrito che si crea tra cartilagine articolare e PVA. In particolare, i risultati ottenuti dai test multifattoriali riportano che il coefficiente d'attrito è fortemente influenzato dai cambi di carico, esso diminuisce all'aumentare del carico. Inoltre, negli stessi esperimenti, Li et al. [30] hanno osservato che il valore del coefficiente d'attrito aumenta con la velocità. In ultima istanza, è stato riscontrato che utilizzando l'acido ialuronico come lubrificante, al posto della soluzione Ringer, il coefficiente d'attrito tra cartilagine e PVA diminuisce. Questi risultati sono mostrati in Figura 9 [30].

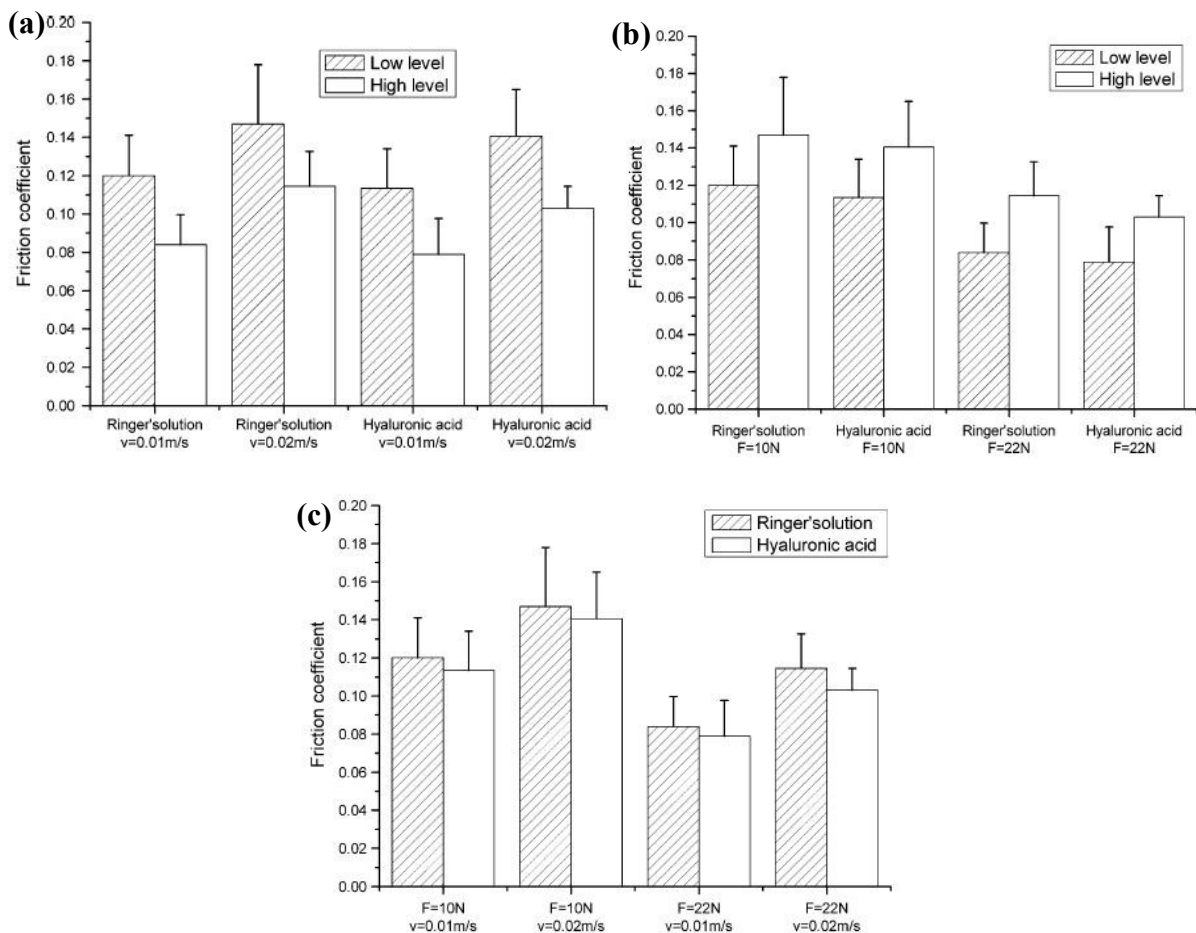


Figura 9: effetto sul coefficiente d'attrito a) del carico; b) della velocità di scorrimento; c) della soluzione lubrificante [30].

Oltre ai test multifattoriali, Li et al. [30] hanno eseguito prove a lungo termine. La Figura 10 mostra l'andamento del coefficiente d'attrito in 2 ore. Nei primi 10 minuti si nota un veloce aumento di tale valore, dopodiché l'incremento è minore. Si può osservare come l'utilizzo di acido ialuronico come soluzione lubrificante consenta di ridurre il valore del coefficiente d'attrito in maniera efficace.

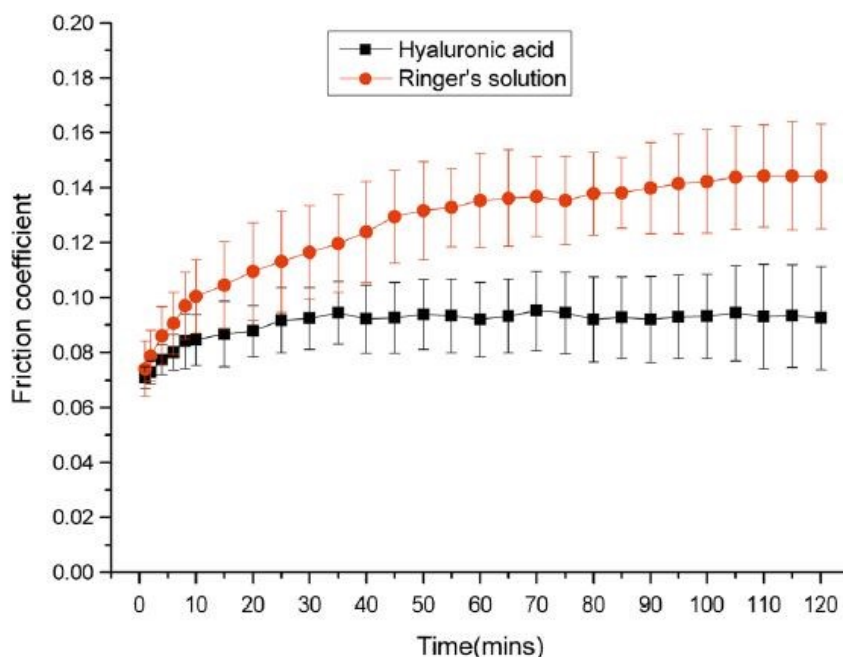


Figura 10: coefficiente d'attrito risultate dalle prove a lungo termine [30].

Duque-Ossa et. al [29] nei loro test si sono concentrati sull'effetto esercitato dall'acido ialuronico quando utilizzato come lubrificante, in condizioni fisiologiche e utilizzando una soluzione salina come solvente per la preparazione del campione. Le pressioni applicate durante le prove erano equivalenti a quelle sopportate quotidianamente dalle articolazioni. I risultati ottenuti mostrano che, indipendentemente dal fatto che il PVA a contatto con l'acciaio inossidabile sia lubrificato o meno, il coefficiente d'attrito è influenzato dalla velocità angolare. In Figura 11.a e 11.b si osserva che, con l'applicazione di un carico di 5 N, il coefficiente d'attrito aumenta tra 0 e 4 rad/s, dopodiché diminuisce velocemente tra i 4 e 10 rad/s. Infine, si registra un ulteriore aumento quando la velocità è maggiore di 10 rad/s. Come detto in precedenza, la lubrificazione causa una diminuzione del coefficiente di attrito. Per un carico di 3 N e una velocità angolare di 40 rad/s, esso aumenta da 0.11 a 0.31 quando si passa dalla lubrificazione con acido ialuronico allo stato secco. Anche la pressione genera un effetto sul coefficiente di attrito. Come mostrato in Figura 11.d, per 0.46 PSI, acido ialuronico come

lubrificante e velocità angolare di 10 rad/s, il coefficiente di attrito risulta pari a 0.14. Aumentando il carico a 1.82 PSI e mantenendo le altre condizioni inalterate, il coefficiente di attrito è aumentato a 0.24. Eseguendo la stessa prova su campioni asciutti il coefficiente di attrito è aumentato esponenzialmente dopo 0.91 PSI [29].

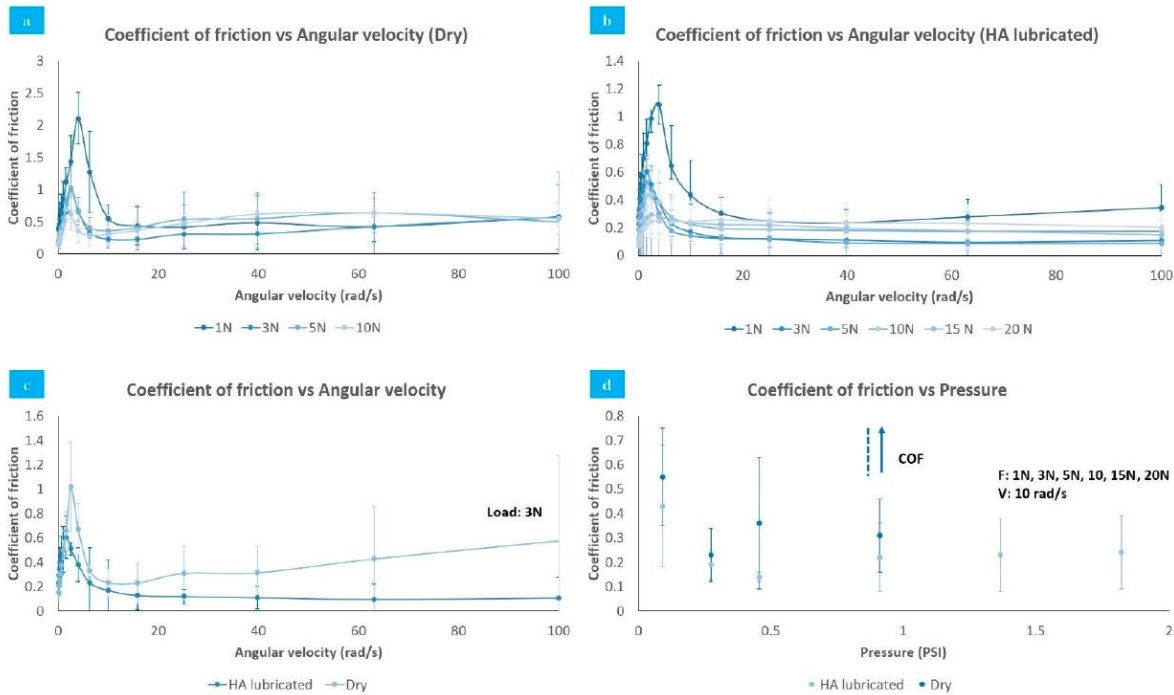


Figura 11: coefficiente d'attrito vs. velocità angolare: a) non idratato; b) lubrificato con acido ialuronico, c) lubrificazione a confronto; d) Coefficiente d'attrito vs. pressione (0.1-100 rad/s, 1-20 N) [29].

Duque-Ossa et al. [29] hanno quindi osservato che, nelle prime fasi del test, l'acido ialuronico forma un sottile strato che impedisce il contatto diretto tra l'hydrogel di PVA e la piastra in acciaio inossidabile, riducendo così l'usura superficiale. Questo strato è costituito dal lubrificante che fuoriesce dall'hydrogel, creando un'interfaccia che riduce l'area di contatto effettiva tra le superfici e di conseguenza il coefficiente di attrito. Inoltre, questo strato può essere costantemente rialimentato dal lubrificante rilasciato e da quello esterno attraverso il rigonfiamento dell'hydrogel. Col passare del tempo e durante il contatto tra le superfici, solo una piccola parte delle asperità della piastra in acciaio interagisce direttamente, generando attrito. Questo fenomeno è dovuto alla presenza di lubrificazione mista, dove l'acido ialuronico contribuisce a sostenere parte del carico. Tuttavia, un aumento continuo del carico provoca lo spostamento del lubrificante dalla superficie dell'hydrogel, aumentando l'area di contatto e di conseguenza il coefficiente di attrito. Questo comportamento è noto come lubrificazione idrodinamica, dove si verifica un'elevata pressurizzazione dei fluidi interstiziali sotto carichi normali, poiché il fluido sostiene la maggior parte del carico trasmesso attraverso le superfici

articolari. Di conseguenza, la forza di attrito sulla superficie di contatto è notevolmente ridotta, garantendo che il coefficiente di attrito rimanga basso. Al contrario, nelle condizioni di scorrimento a secco, il liquido all'interno della struttura porosa si espande come lubrificante durante le fasi iniziali. Successivamente, il liquido superficiale evapora senza essere sostituito, provocando un aumento del coefficiente di attrito e dell'usura superficiale. Nella cartilagine articolare questo comportamento misto e idrodinamico è spiegato dalla sua composizione bifasica.

Sono stati eseguiti numerosi studi sull'attrito tra la cartilagine articolare naturale e l'hydrogel di PVA, con particolare attenzione agli effetti esercitati dal carico, dalla velocità, dal lubrificante e dal tempo di test. In generale, i risultati qui riportati sono in linea con quelli ottenuti anche in altri studi multifattoriali presenti in letteratura, i quali hanno anch'essi evidenziato che un aumento del coefficiente di attrito è associato al carico applicato e alla presenza o assenza di lubrificante nel campione.

Inoltre, i valori del coefficiente di attrito riportati per la cartilagine articolare naturale e per la cartilagine sintetica di PVA risultano simili. In particolare, la cartilagine articolare naturale presenta un coefficiente di circa 0.1, mentre la cartilagine sintetica di PVA ottenuta tramite cicli di F-T mostra valori tra 0.4 e 0.8. Pertanto, l'hydrogel di PVA manifesta un coefficiente di attrito più elevato rispetto alla cartilagine articolare naturale. Nonostante ciò, si registra una similitudine tra la risposta all'attrito del contatto cartilagine su cartilagine e il contatto cartilagine su hydrogel di PVA. Questa analogia suggerisce che l'hydrogel di PVA possa rappresentare una valida alternativa come cartilagine artificiale [27], [29], [30], [31].

Capitolo 3: Materiali e metodi

3.1 Preparazione del PVA

I campioni di hydrogel a base di PVA sono stati preparati pesando il polimero in polvere a seconda della concentrazione che si vuole ottenere. Per questo progetto di tesi, sono state considerate 3 diverse concentrazioni di PVA: 15 wt%, 20 wt% e 25 wt% (Mw 146,000–186,000Da, idrolizzato al 99+%). Dopodiché la polvere viene messa in una bottiglia in pirex ermetica e si aggiunge acqua deionizzata. Il sistema viene posto in stufa a 90°C per 8 circa ore, fino a completa dissoluzione e infine la soluzione viene colata all'interno dello stampo in acido polilattico (PLA) specifico per l'applicazione.

Il cross-linking del polimero eseguito è di tipo fisico, esso consiste in 3 cicli di congelamento-scongelo (*freeze-thawing*, (F/T)), che prevedono 24 ore a – 20°C (F) e 24 ore a + 4°C (T). I campioni sono poi stati mantenuti a 4°C fino all'utilizzo [32]. In Figura 12 è mostrato uno schema dei passaggi svolti per la preparazione del PVA.

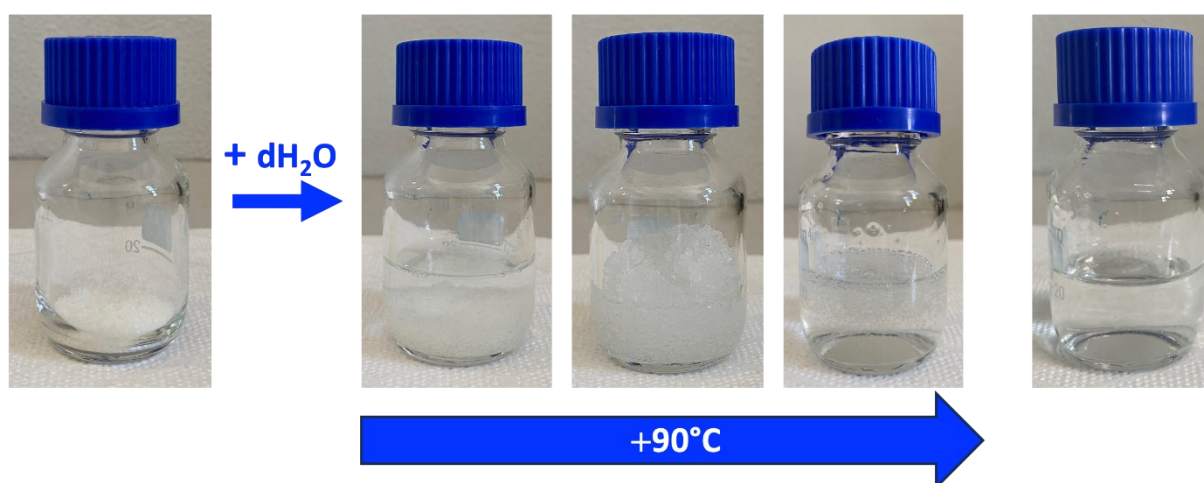


Figura 12: fasi della preparazione di PVA.

3.2 Prove d'attrito

Il dispositivo utilizzato per eseguire le prove d'attrito è il Sistema Bose® *ElectroForce* (*TA Instruments*), d'ora in avanti chiamato Bose. L'*ElectroForce planar TestBench* è un sistema appositamente progettato dalla Bose® per prevedere il comportamento meccanico dei materiali e confrontarli con i tessuti biologici.

Il sistema comprende un banco di prova metallico traforato, su cui sono fissati, tramite bulloni, quattro motori a induzione elettromagnetica e movimento lineare, nonché staffe di reazione opposte dotate di un perno trasversale scorrevole. Questi motori permettono di effettuare prove monoassiali e biassiali.

Il sistema offre diverse configurazioni di posizionamento e utilizzo dei motori e degli accessori, che possono essere fissati lungo tutta la superficie del banco di prova a seconda dell'esperimento da eseguire. Oltre ai motori e alle staffe, il sistema è composto da celle di carico di varia capacità, che possono essere montate in modi diversi, secondo la configurazione desiderata, utilizzando i componenti di assemblaggio forniti con il sistema. Queste celle funzionano da sensori, parallelamente ai motori, per rilevare le forze in atto durante le varie prove.

Motori e celle di carico comunicano con un software di controllo, parte integrante del sistema, che consente il monitoraggio completo dei motori durante le prove, la registrazione temporale delle grandezze fisiche di interesse e la configurazione informatizzata di tutti i parametri e le modalità di lavoro dei motori, ottimizzandone il funzionamento per eseguire le prove richieste.

La struttura utilizzata per condurre le prove d'attrito è mostrata in Figura 13, essa è formata da due piastre di materiale polimerico, una inferiore (Figure 14 e 15) e una superiore (Figura 16), che rimangono ferme durante l'esecuzione della prova. Su entrambe le piastre viene posizionato un campione di PVA di 15 mm di lunghezza, 10 mm di larghezza e 2 mm di spessore. Tra di esse è posto un braccio mobile di acciaio (Figure 15 e 16). Sulle facce che entrano in contatto con il PVA delle piastre fisse, viene posizionato un campione di PVA dello spessore di 2mm e area superficiale di 10x10 mm².

In particolare, a seconda della tipologia di prova eseguita, la piastra inferiore può essere riempita di soluzione fisiologica, oppure, se la prova prevede l'utilizzo di acido ialuronico come agente lubrificante, questo viene applicato solamente sui campioni di PVA tramite l'apposita siringa.

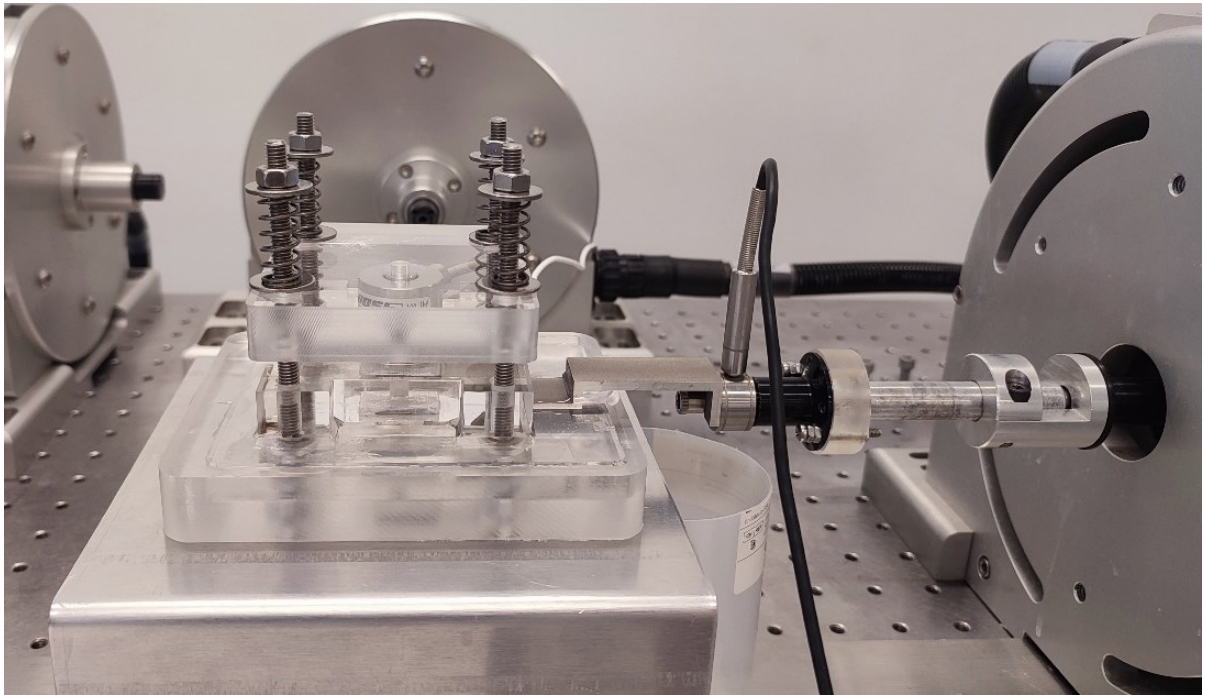


Figura 13: sistema di test completo per le prove d'attrito. Si notano le piastre superiore e inferiore e il braccio mobile posizionato tra esse. A destra del braccio mobile è posizionata la cella di carico 3 che rileva la forza d'attrito creatasi durante l'esecuzione del test.

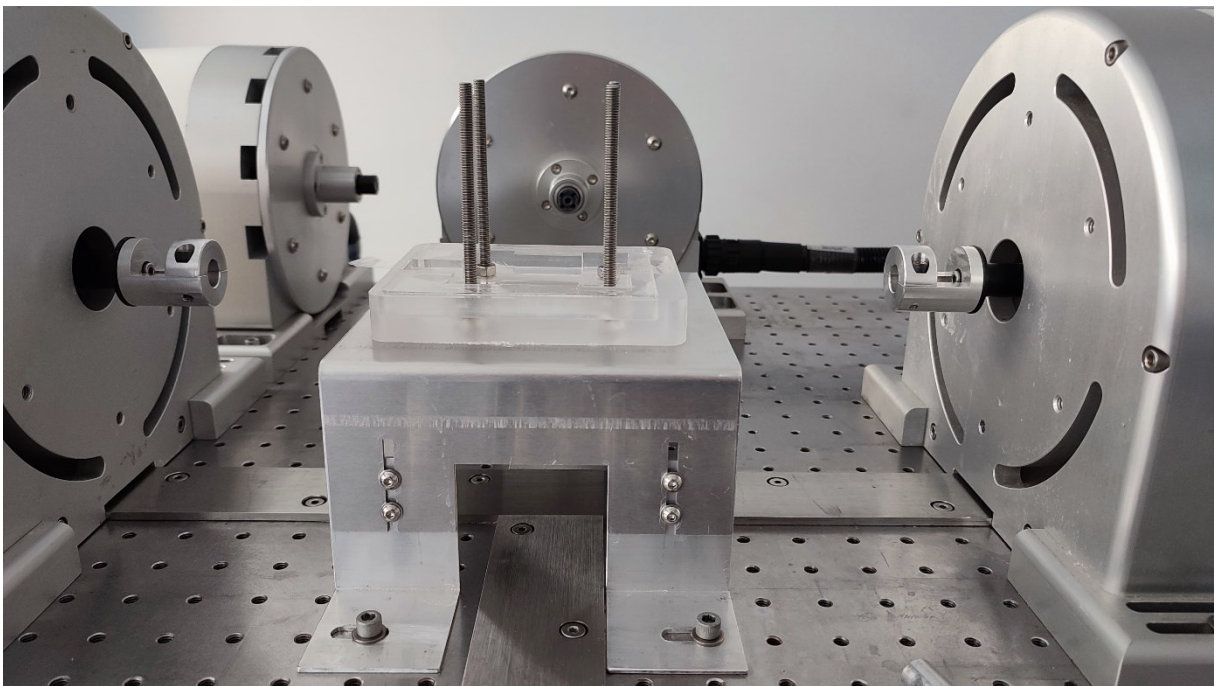


Figura 14: piastra fissa inferiore.

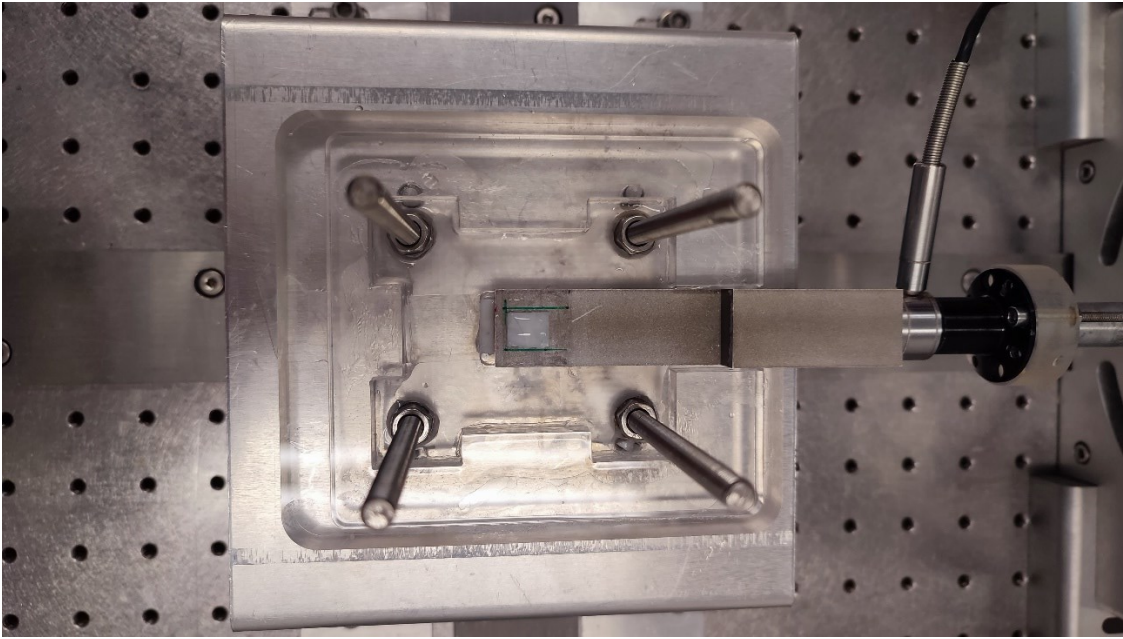


Figura 15: piastra fissa inferiore e braccio mobile con campione di PVA in vista dall'alto.

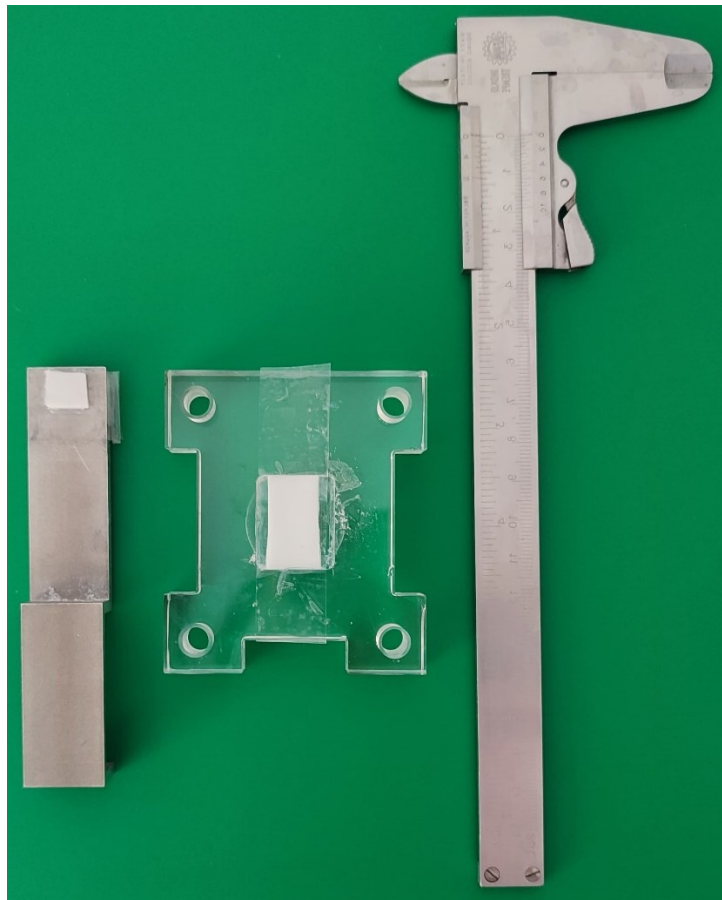


Figura 16: piastra fissa superiore e braccio mobile con PVA.

Dopo aver montato il sistema assemblando il braccio mobile tra la piastra inferiore e superiore, sulla sommità vengono posizionato una cella di carico (n°1) e un'altra piastra

sovrastante; il sistema viene poi chiuso a compressione per mezzo di molle calibrate. La cella di carico n°1 permette di monitorare la forza normale applicata dalle molle. Tra una prova e l'altra il valore della forza normale viene azzerato e reimpostato prima di ogni prova. La forza di attrito è invece rilevata dalla cella di carico n°3 su cui è appoggiato il braccio mobile; essa viene azzerata all'inizio di ogni prova.

Durante la prova il braccio mobile si muove in avanti e indietro con un movimento continuo, producendo attrito dinamico. L'andamento dello spostamento è di tipo triangolare da -3 mm a $+3\text{ mm}$ e la velocità è costante (Figura 17).

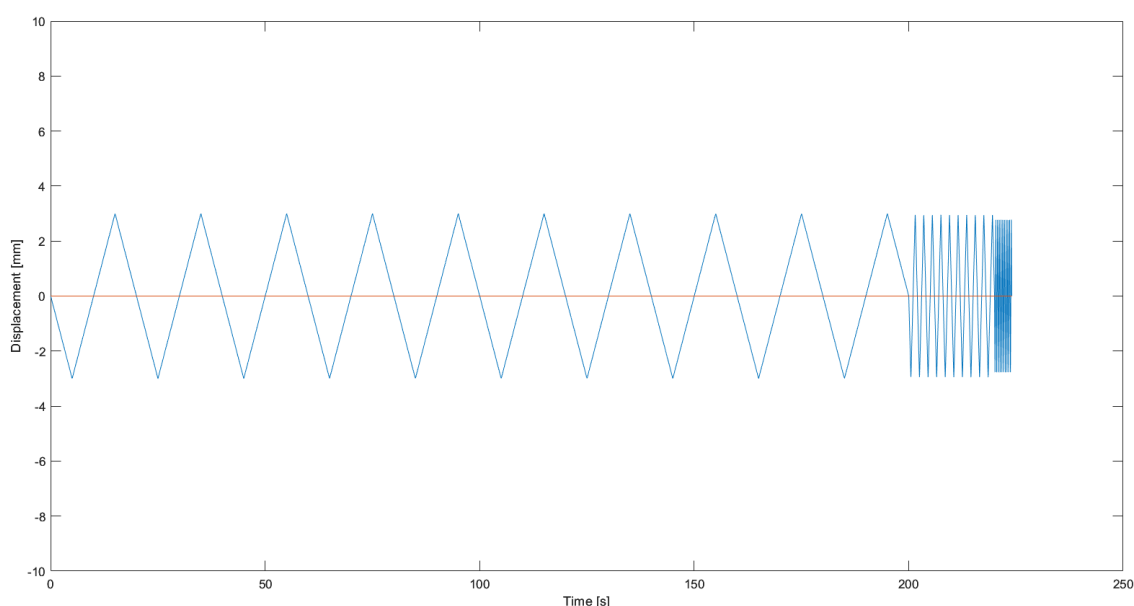


Figura 17: spostamento imposto.

Lo stesso provino è stato testato a tre frequenze differenti consecutive, secondo lo schema riportato in Tabella 1 e, per ogni campione, sono state eseguite 4 prove variando il carico imposto sul sistema (5 N, 10 N, 15 N e 20 N). Il valore di 20 N corrisponde alla tensione esercitata sulla cartilagine articolare mentre i carichi di 5 N, 10 N e 15 N sono stati scelti per mettere a punto il sistema e verificare se una tensione troppo elevata possa comportare problemi di tipo sperimentale.

Frequenza [Hz]	Velocità [mms^{-1}]	Numero di cicli	Durata della prova [s]
0.05	0.6	10	200
0.5	6	10	20
2.5	30	10	4

Tabella 1: protocollo sperimentale seguito.

Le prove di attrito eseguite sono quindi state di tipo PVA vs PVA (superficie contro superficie). Sono stati confrontati gli effetti di 6 agenti lubrificanti, soluzione fisiologica (PBS) e 5 diverse concentrazioni di acido ialuronico (HA0, HA1, HA2, HA3, HA4).

In totale sono state eseguite:

- 16 prove con carico di 5 N, di cui 15 con soluzione fisiologica e una con acido ialuronico HA0;
- 17 prove con carico di 10 N, di cui 16 con soluzione fisiologica e una prova con acido ialuronico HA0;
- 16 prove con carico di 15 N, di cui 15 con soluzione fisiologica e una prova con acido ialuronico HA0;
- 57 prove con carico di 20 N, di cui 27 con soluzione fisiologica, 9 prove con HA0, 5 con HA1, 5 con HA2, 5 con HA3 e 6 con HA4.

Per la valutazione dei dati sperimentali ottenuti mediante i test, innanzitutto si è proceduto implementando un codice Matlab che consentisse di calcolare il coefficiente d'attrito. Dopodiché i dati risultanti sono stati ulteriormente elaborati su Excel per determinarne l'andamento ed eseguire dei confronti.

3.2.1 Codice Matlab

Durante la prova, il software di controllo registra l'andamento di 4 parametri: *Elapsed Time* in secondi, *Displacement* in millimetri, *Load 1* e *Load 3*, ossia il carico normale impartito e la forza d'attrito registrata rispettivamente, in Newton. Al termine del test, questi dati vengono salvati in un foglio di lavoro .csv, il quale costituirà il file di input per il codice Matlab.

Lo scopo del codice è quello di calcolare l'andamento del coefficiente d'attrito durante la prova e il coefficiente d'attrito medio per le tre diverse frequenze (bassa, media ed alta).

Durante lo sviluppo e la stesura del codice sono state fatte alcune considerazioni.

Innanzitutto, le tre frequenze sono state valutate separatamente in quanto l'andamento dei valori di forza d'attrito, oltre a cambiare in base al carico normale impartito, risulta diverso a 0.05 Hz, 0.5 Hz e 2.5 Hz.

Inoltre, si è osservato che i dati registrati sperimentalmente non risultano esattamente simmetrici rispetto l'asse delle ascisse, perciò, per ogni frequenza, è stato calcolato il range tra il massimo e il minimo assoluti e, sulla base della differenza tra il valore massimo e il range calcolato, shifto i valori della forza d'attrito. Dopodiché considero il suo valore assoluto (figura 18).

```
% Shifto i valori per renderli simmetrici e li mostro in un plot
fig2 = figure();
fig2.Color = 'w';

subplot(1,2,1)
plot(time_freq1,load_fric_freq1_preshift)
hold on
plot(time_freq1, xaxis1)
ylim([-10 10])
xlabel('Time [s]')
ylabel('Load [N]')
title('Low frequency - Not shifted')

range = max(load_fric_freq1_preshift(zero_disp(2):zero_disp(18))) - min(load_fric_freq1_preshift(zero_disp(2):zero_disp(18)));
% Ho ridotto l'intervallo in cui cercare il massimo e il minimo perché nel
% primo e negli ultimi cicli il segnale è più sporco
shift = max(load_fric_freq1_preshift(zero_disp(2):zero_disp(18)))-range/2; % quanto mi devo spostare
load_fric_freq1= load_fric_freq1_preshift-shift;

subplot(1,2,2)
plot(time_freq1,load_fric_freq1)
hold on
plot(time_freq1, xaxis1)
xlabel('Time [s]')
ylabel('Load [N]')
ylim([-10 10])
title('Low frequency - Shifted')

load_fric_freq1= abs(load_fric_freq1);
load_N_freq1 = abs(load_N_freq1);
```

Figura 18: codice, relativo all'intervallo di bassa frequenza, che permette di rendere i valori di forza d'attrito simmetrici.

A questo punto, per ogni frequenza, si individuano degli ulteriori sotto-gruppi. In generale, come evidenziato in figura 19, si osserva che il punto di massimo spostamento corrisponde con l'inizio e la fine dell'intervallo d'interesse. Si individuano quindi 20 intervalli che corrispondono ai semi-cicli eseguiti per ogni frequenza.

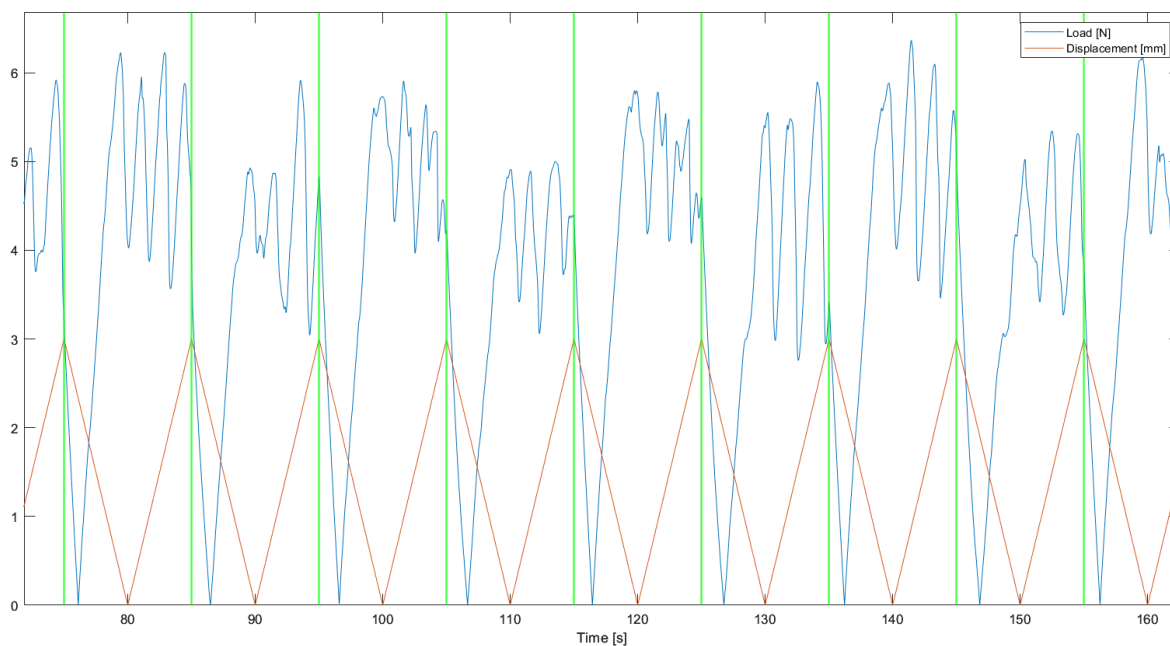


Figura 19: suddivisione dei valori di forza d'attrito in intervalli sulla base dei valori massimi dello spostamento.

Dopo aver individuato gli intervalli, proseguiamo considerandone uno alla volta. Al fine di calcolare il coefficiente d'attrito, si sono estratti i valori di forza compresi tra il punto di minimo locale e quello corrispondente al massimo spostamento (Figura 20).

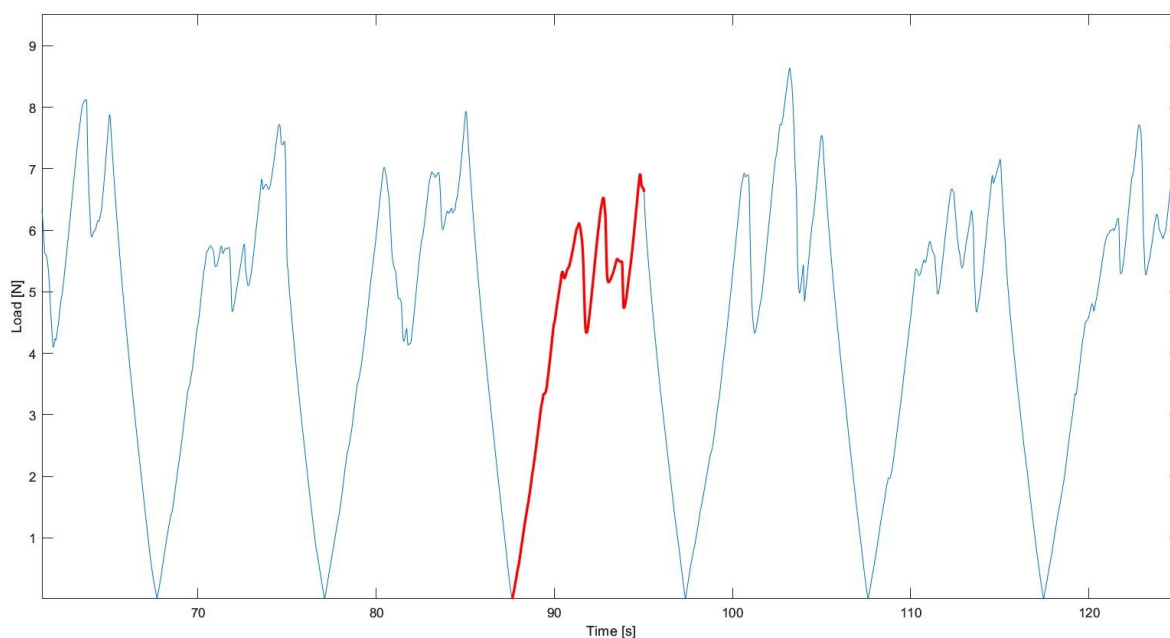


Figura 20: esempio di intervallo considerato.

In seguito, i valori di forza sono stati normalizzati rispetto al massimo locale (figura 21). Sono poi state definite delle soglie variabili e si sono considerati solamente i valori di forza

maggiori a tale limite (figura 22). In particolare, le soglie adottate per valutare sia le prove condotte con soluzione fisiologica, sia le prove condotte con acido ialuronico sono state del 60% per la bassa frequenza, del 75% per la media frequenza e dell'85% per l'alta frequenza.

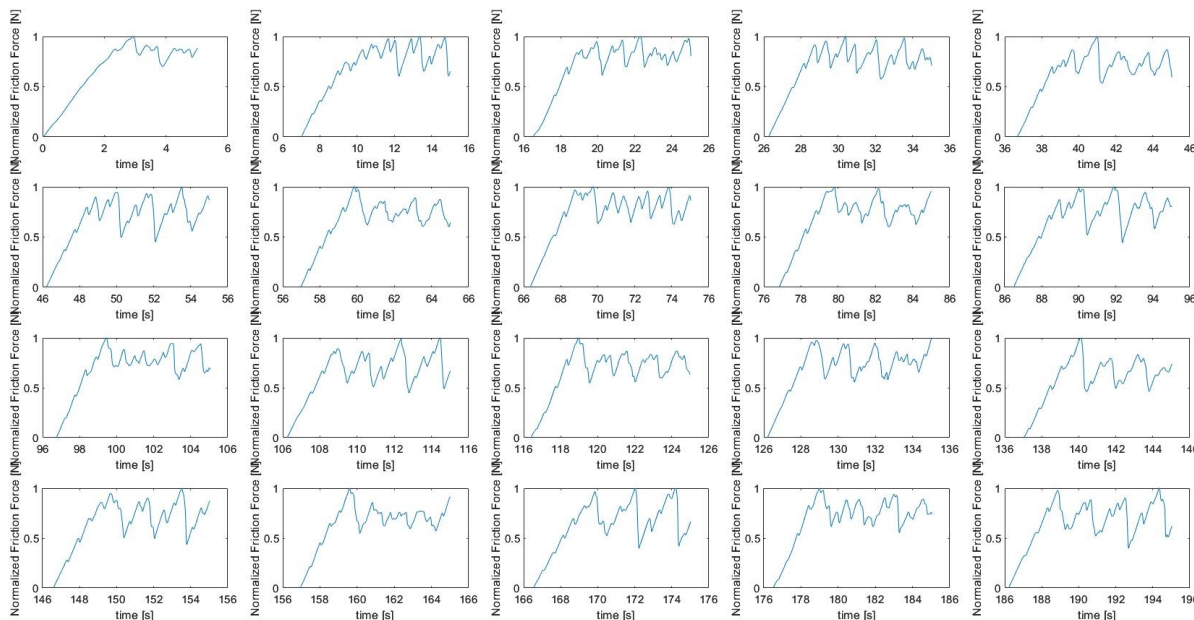


Figura 21: forza normalizzata per ogni semi-ciclo.

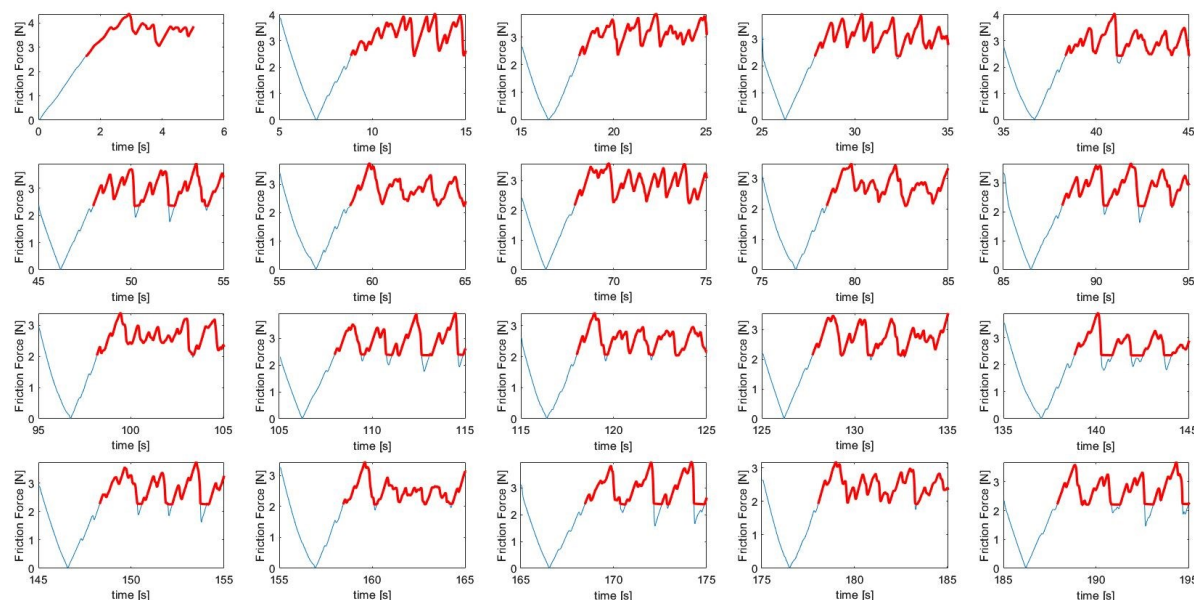


Figura 22: applicazione della soglia sui valori di forza per ogni semi-ciclo. In rosso sono evidenziati i valori maggiori della soglia applicata.

Dopodiché, per calcolare il coefficiente d'attrito sono stati adottati due diversi metodi (figura 23). In generale, il coefficiente d'attrito è ottenuto dal rapporto fra la forza d'attrito

generata e il carico normale. Nel primo caso il coefficiente d'attrito è stato ottenuto dividendo la forza d'attrito per la forza normale nominale, pari a 5 N, 10 N, 15 N e 20 N, a seconda della prova considerata, nel secondo è stato calcolato dividendo la forza d'attrito per il carico normale rilevato dalla cella di carico n° 1 in funzione del tempo di prova. Si è osservato, infatti, che la forza normale effettiva non era costante e corrispondente alla forza nominale per l'intera durata della prova.

In particolare, innanzitutto sono stati calcolati i coefficienti d'attrito istantanei tramite un ciclo *for* (in figura 23 sono indicati con `fc1_20N_temp(jj)` e `fc1_LoadN_temp(jj)`). Dopodiché eseguendo la media dei coefficienti appena ottenuti si ricava il coefficiente d'attrito per il tratto considerato (in figura 23 sono segnalati con `fc1(i)` e `fc1_loadN(i)`).

```
% Inizializzo le variabili per il calcolo del coefficiente d'attrito
fc1_20N_temp = zeros(length(load_fric_temp),1);
fc1_LoadN_temp = zeros(length(load_fric_temp),1);

for jj = 1:length(load_fric_temp)
    F = load_fric_temp(jj)/2;
    N = load_N_temp(jj);
    fc1_20N_temp(jj) = F/20;
    fc1_LoadN_temp(jj) = F/N;
end

% Calcolo valore medio del tratto considerato
mean_load_fric1 (i) = mean(load_fric_temp)/2;
sd_load_fric1 (i)= std(load_fric_temp);

mean_load_N1(i) = mean(load_N_temp);
sd_load_N1(i) = std(load_N_temp);

% Ricavo coefficiente di attrito (con forza normale 20 N)
fc1 (i) = mean(fc1_20N_temp);
sd_fc1 (i) = std(fc1_20N_temp);

% Ricavo il coefficiente d'attrito (con forza normale data da Load_N)
fc1_loadN(i) = mean(fc1_LoadN_temp);
sd_fc1_loadN(i) = std(fc1_LoadN_temp);
```

Figura 23: codice relativo al calcolo del coefficiente d'attrito generato nei semi-cicli dell'intervallo di bassa frequenza quando si impartisce un carico normale di 20 N.

Questo procedimento viene poi ripetuto anche per la media e la alta frequenza.

Infine, dopo aver calcolato forza e coefficienti d'attrito dei singoli intervalli, per ogni frequenza si misurano forza e coefficienti d'attrito complessivi (figura 24). Questi termini si ricavano dalla media dei valori precedentemente ricavati. In particolare, per ogni frequenza, sono stati esclusi dal calcolo i primi 5 semi-cicli poiché i valori dei coefficienti d'attrito si assestano dopo tali cicli.

```

%% Results
% Matrice di output
% composta dalle medie globali dei cicli (medie delle medie)
% riga1 = freq1, riga2 = freq2, riga3=freq3

output = zeros(3,6);
% media delle medie
output(1) = mean(mean_load_fric1(6:end));
output(2) = mean(mean_load_fric2(6:end));
output(3) = mean(mean_load_fric3(6:end));
% deviazione standard delle medie
output(4) = sum(sd_load_fric1(6:end))/sqrt(length(sd_load_fric1(6:end)));
output(5) = sum(sd_load_fric2(6:end))/sqrt(length(sd_load_fric2(6:end)));
output(6) = sum(sd_load_fric3(6:end))/sqrt(length(sd_load_fric3(6:end)));

output(7) = mean(fc1(6:end));
output(8) = mean(fc2(6:end));
output(9) = mean(fc3(6:end));

output(10) = sum(sd_fc1(6:end))/sqrt(length(sd_fc1(6:end)));
output(11) = sum(sd_fc2(6:end))/sqrt(length(sd_fc2(6:end)));
output(12) = sum(sd_fc3(6:end))/sqrt(length(sd_fc3(6:end)));

output(13) = mean(fc1_loadN(6:end));
output(14) = mean(fc2_loadN(6:end));
output(15) = mean(fc3_loadN(6:end));

output(16) = sum(sd_fc1_loadN(6:end))/sqrt(length(sd_fc1_loadN(6:end)));
output(17) = sum(sd_fc2_loadN(6:end))/sqrt(length(sd_fc2_loadN(6:end)));
output(18) = sum(sd_fc3_loadN(6:end))/sqrt(length(sd_fc3_loadN(6:end)));

```

Figura 24: codice relativo al calcolo della forza d'attrito media delle diverse frequenze e dei coefficienti d'attrito complessivi per la bassa, la media e l'alta frequenza ottenuti tramite le due diverse modalità di calcolo.

I dati ottenuti sono quindi stati salvati in due fogli di calcolo Excel, Output.xls e Output_raw.xls, dove sono stati ulteriormente elaborati e utilizzati per eseguire dei confronti.

3.2.2 Giustificazione della media e della deviazione standard come migliore stima e principio di massima verosimiglianza

La scelta dell'utilizzo della media e della deviazione standard quali migliore stima può essere spiegato tramite il principio di massima verosimiglianza.

In qualsiasi esperimento reale, si dispone solo di un numero finito di valori misurati. Di conseguenza, la distribuzione limite e i parametri che la caratterizzano, come il valore vero X e il parametro di dispersione σ , non sono noti a priori. Risulta quindi necessario stimare il valore vero della grandezza misurata a partire dai dati raccolti [33].

Supponendo di conoscere a priori il valore vero di X e la deviazione standard σ della distribuzione associata alle n misure della grandezza x_1, x_2, \dots, x_n a disposizione, la probabilità $P(x_1)$ di ottenere una misura nell'intervallo x_1 e $x_1 + dx$ è data da

$$P(x \text{ compreso tra } x_1 \text{ e } x_1 + dx) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-(x_1-X)^2/2\sigma^2} dx. \quad (3.1)$$

Tralasciando i coefficienti numerici e l'ampiezza dell'intervallo dx , si può scrivere

$$P(x_1) \propto \frac{1}{\sigma} e^{-(x_1-X)^2/2\sigma^2}. \quad (3.2)$$

Pertanto, la probabilità di ottenere una misura x_k è data da

$$P(x_k) \propto \frac{1}{\sigma} e^{-(x_k-X)^2/2\sigma^2}. \quad (3.3)$$

Galiotto (2016) [33] spiega che la probabilità di osservare l'intero insieme di n valori x_1, x_2, \dots, x_n è data dal prodotto delle singole probabilità

$$P(x_1, x_2, \dots, x_n) = P(x_1)P(x_2) \cdots P(x_n) \propto \frac{1}{\sigma^n} e^{-\sum(x_i-X)^2/2\sigma^2}. \quad (3.4)$$

Nella relazione (3.4), i valori x_1, x_2, \dots, x_n sono quelli ottenuti dalle misurazioni e sono quindi noti, mentre i valori di X e σ non si conoscono. Per determinarne la migliore stima, ossia il valore più verosimile, Galiotto (2016) [33] afferma che è possibile cercare la coppia di valori per cui la probabilità complessiva di ottenere x_1, x_2, \dots, x_n è massima applicando il principio di

massima verosimiglianza. Ne deriva che, la stima migliore di X è quel valore per cui la probabilità è massima, ossia quando l'esponente nella relazione (3.4) è minimo. Si procede quindi calcolando la derivata rispetto a X della funzione

$$f(x) = \frac{\sum(x_i - X)^2}{2\sigma^2} \quad (3.5)$$

e si pone uguale a zero:

$$\frac{d}{dx} \left\{ \frac{\sum(x_i - X)^2}{2\sigma^2} \right\} = \sum(x_i - X) = 0, \quad (3.6)$$

da cui si ottiene

$$X_{best} = \frac{\sum x_i}{n} = \bar{x}, \quad (3.7)$$

dove X_{best} indica la migliore stima per il valore vero X ottenuta a partire dai risultati delle misurazioni ed essa è proprio la media delle misure \bar{x} [33].

Lo stesso ragionamento può essere applicato per determinare la migliore stima per σ . In questo caso si calcola la derivata della funzione (3.4) rispetto a σ e la si pone uguale a zero:

$$\frac{d}{d\sigma} \left\{ \frac{1}{\sigma^n} e^{-\sum(x_i - X)^2/2\sigma^2} \right\} = \sigma^{-(n+3)} [\sum(x_i - X)^2 - n\sigma^2] e^{-\sum(x_i - X)^2/2\sigma^2} = 0, \quad (3.8)$$

da cui si ottiene

$$\sigma_{best}^2 = \frac{\sum(x_i - X)^2}{n} \quad (3.9)$$

e

$$\sigma_{best} = \sqrt{\frac{\sum(x_i - X)^2}{n}}. \quad (3.10)$$

Poiché abbiamo un numero finito di misure, il risultato ottenuto indica che la migliore stima per σ si ottiene con il valore vero di X che, in generale, non è esattamente uguale alla media \bar{x}

dei valori. Pertanto, $\sum(x_i - X)^2$ è sicuramente minore, o al massimo uguale, di $\sum(x_i - \bar{x})^2$, poiché la probabilità di trovare l'insieme di valori x_1, x_2, \dots, x_n è massima solo con il valore vero X [33].

Ora è necessario capire qual è l'incertezza in \bar{x} , quale migliore stima del valore vero X .

Nel nostro caso, ci interessa capire come calcolare la deviazione standard dei coefficienti d'attrito complessivi relativi alle diverse frequenze che sono stati ottenuti dalla media dei coefficienti d'attrito dei semi-cicli. Essa non può essere determinata semplicemente calcolando la media delle deviazioni standard precedentemente calcolate.

Come spiegato da Galiotto (2016) [33], supponendo di avere n misure della grandezza x e che queste siano distribuite normalmente attorno al valore vero di X con parametro di larghezza σ , ci si può domandare quale sia l'incertezza da associare alla media come migliore stima del valore vero. In quanto la media può essere vista come una funzione semplice degli n valori x_i , è possibile utilizzare le regole di propagazione degli errori per determinare la distribuzione dei risultati. Si assume che le x_i siano il risultato di n esperimenti in cui sono ottenuti gli n valori \bar{x}_i e $\sigma_{\bar{x}_i}$. Si ha che tutte le \bar{x}_i sono misure della stessa grandezza x , con lo stesso valore vero di X e lo stesso parametro di larghezza σ . Poiché tutte le misure sono assunte distribuite normalmente, deve essere distribuita normalmente anche la somma e di conseguenza il valore medio \bar{x} . Inoltre poiché tutte le \bar{x}_i hanno lo stesso valore vero X comune, il valore vero della media deve essere dato da

$$\bar{X} = \frac{1}{n} \sum X = \frac{n}{n} X = X . \quad (3.11)$$

Nell'ipotesi di effettuare parecchie volte lo stesso insieme delle n misure, i possibili valori di \bar{X} ottenuti sarebbero distribuiti normalmente attorno al valore vero X . Per quanto riguarda la larghezza della distribuzione si ha che

$$\sigma_{\bar{x}} = \frac{1}{n} \sqrt{\sigma_1^2 + \dots + \sigma_n^2} = \frac{1}{n} \sqrt{n\sigma_x^2} = \frac{\sigma_x}{n} , \quad (3.12)$$

dove abbiamo assunto che $\sigma_1 = \sigma_2 = \dots = \sigma_n = \sigma_x$. In conclusione, se si effettua una serie di n misure una sola volta, allora si può essere confidenti al 68.3% che il risultato della media giaccia entro $\sigma_{\bar{x}}$ (per eccesso o per difetto) dal valore vero X . La deviazione standard della

media $\sigma_{\bar{x}}$, così calcolata, può dunque essere presa come incertezza del valore medio della serie di misure [33].

3.2.3 Analisi dei dati e statistica

Per ogni valore di forza normale applicata (5 N, 10 N, 15 N, 20 N), le prove d'attrito sono state considerate separatamente sulla base delle concentrazioni in peso di PVA su acqua e dell'agente lubrificante utilizzato. Dopodiché, per ogni semi-ciclo sono stati calcolati il coefficiente d'attrito medio e la relativa deviazione standard e, allo stesso modo sono stati ricavati i coefficienti di attrito medi complessivi.

In seguito, i coefficienti d'attrito ottenuti con i due metodi di calcolo sono stati confrontati attraverso un t-test per verificare l'esistenza di una differenza statistica. Al fine di verificare l'esistenza di una uguaglianza o differenza fra i due metodi di calcolo del coefficiente d'attrito è stato eseguito un test statistico tramite il software Prism.

La verifica dell'ipotesi statistica prevede diverse fasi. Innanzitutto è necessario formulare il sistema di ipotesi; esso prevede un'ipotesi da verificare, detta ipotesi nulla (H_0) e un'ipotesi alternativa (H_1), generalmente negazione logica della prima. Dopodiché si sceglie la statistica test, una quantità calcolata a partire dai dati osservati che è in grado di riassumere l'informazione campionaria rilevante ai fini dell'inferenza. Successivamente, si esplicitano le assunzioni, ipotesi ausiliarie che non vengono sottoposte a verifica ma che si rendono necessarie per lo sviluppo formale del metodo, e si determina la distribuzione campionaria della statistica test. Infine, si prefissa il livello di significatività del test, ossia si decide con quale probabilità il test potrà condurre ad una decisione sbagliata. In questo modo si determina la regione di rifiuto per H_0 ; se il valore assunto dalla statistica test cade nella regione di rifiuto, il risultato campionario risulta significativamente lontano dall'atteso e H_0 viene rifiutata.

Nel presente studio, il test statistico eseguito è stato un t-test per variabili appaiate, poiché l'obiettivo è stato studiare la differenza esistente tra i coefficienti d'attrito derivanti dalla medesima prova ma calcolati in due modi diversi. Si tratta di un test di tipo parametrico in quanto si basa sui parametri media e deviazione standard. Prima di procedere è però necessario verificare il rispetto di alcune assunzioni:

- le variabili devono essere continue o almeno misurate in un intervallo;
- vi deve essere indipendenza fra media e varianza;
- le variabili di devono essere distribuite in modo (approssimativamente) normale;
- vi deve essere omogeneità delle varianze;
- i risultati ottenuti con l’analisi devono essere applicabili alle popolazioni;
- la dimensione campionaria deve essere maggiore di 10.

Per questi motivi, dopo aver importato i valori dei coefficienti d’attrito, calcolati secondo le due diverse modalità, in un nuovo foglio di lavoro Prism, prima di poter eseguire il t-test vero e proprio è stato verificato il rispetto dell’assunzione di normalità della distribuzione. Essa è stata accertata tramite un controllo visivo, ossia mediante scatter plot, Tukey box e whiskers plot o violin plot, oppure tramite “*Normality and Lognormality Tests*” (Figura 25). Quest’ultimo tipo di verifica esegue 4 test diversi e, di conseguenza, restituisce 4 p-value differenti, nonostante ciò il risultato dovrebbe essere lo stesso.

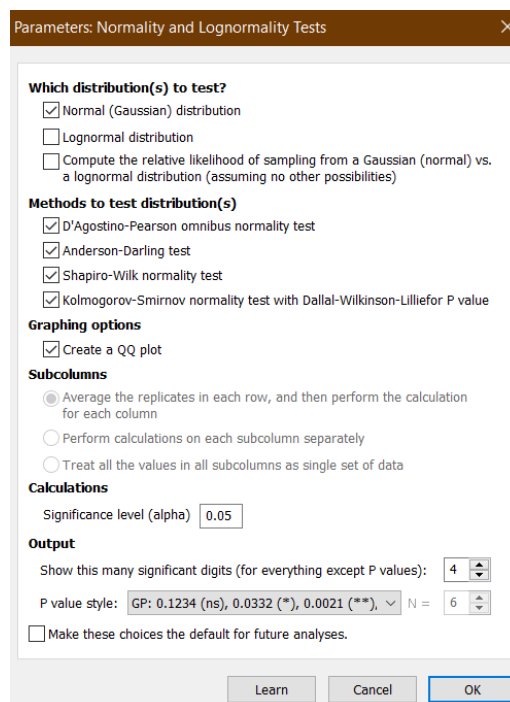


Figura 25: selezione dei parametri per il controllo dell'assunzione di normalità tramite il *Normality and Lognormality Tests*.

Verificata la normalità e l'omogeneità della varianza è stato eseguito il t-test per variabili appaiate. Il t-test potrebbe essere descritto come il rapporto fra “signal” e “noise”, poiché al numeratore si ha la misura legata alla differenza assoluta fra le medie, mentre al denominatore la misura di variabilità dentro i gruppi (Figura 26).

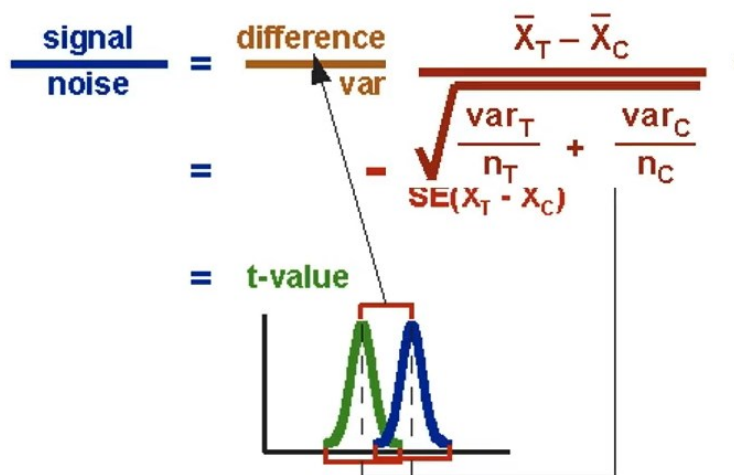


Figura 26: schema relativo al calcolo della statistica test $t_{student}$

Nel caso di t-test per variabili appaiate, la statistica test la cui distribuzione teorica è nota quando è vera l'ipotesi nulla è data da

$$t = \frac{D}{\frac{S_D}{\sqrt{n}}} \quad (3.13)$$

dove $D = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i^{camp1} - x_i^{camp2}) = \text{media delle differenze}$

$S_D = \text{deviazione standard delle differenze}$

$n = \text{numero di coppie}$

e t è una variabile aleatoria con densità di probabilità t-Student $t \sim T(n - 1)$.

I t-test possono essere unilaterali o bilaterali, ciò dipende dal quesito che vogliamo risolvere. In questo caso, l'obiettivo è capire se esiste una differenza fra i coefficienti d'attrito, perciò l'ipotesi nulla e l'ipotesi alternativa possono essere espresse come

$$\begin{cases} H_0: f_{C_{cost}} = f_{C_{var}} \\ H_1: f_{C_{cost}} \neq f_{C_{var}} \end{cases} \quad (3.14)$$

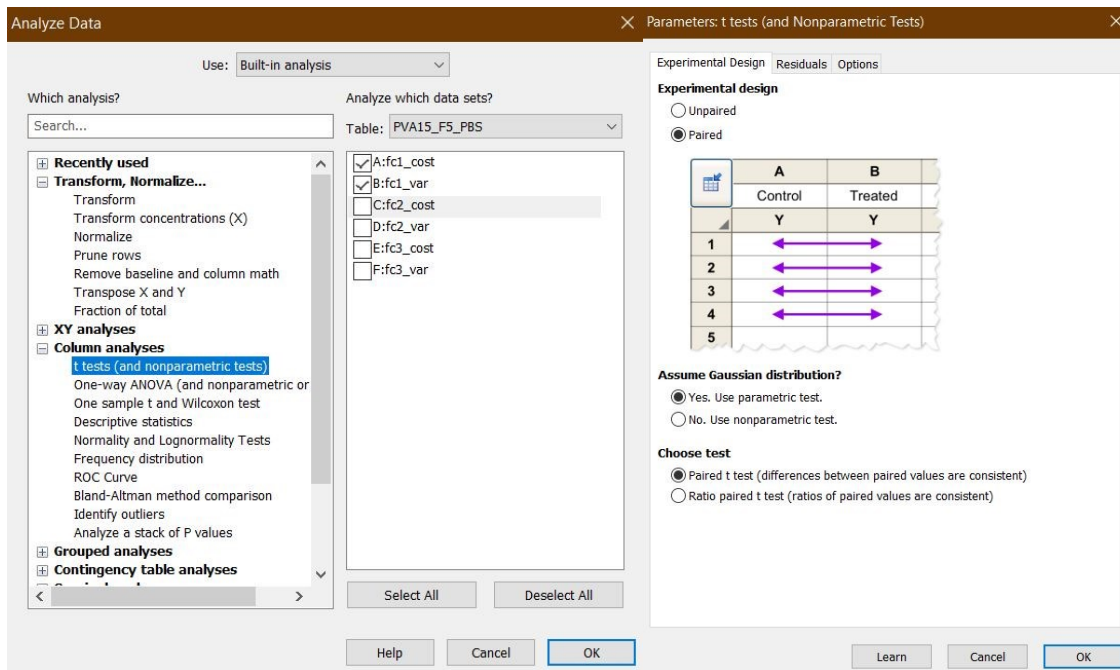


Figura 27: selezione dei dati e del t-test.

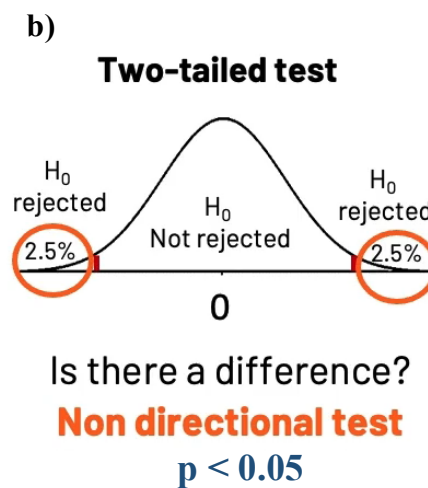
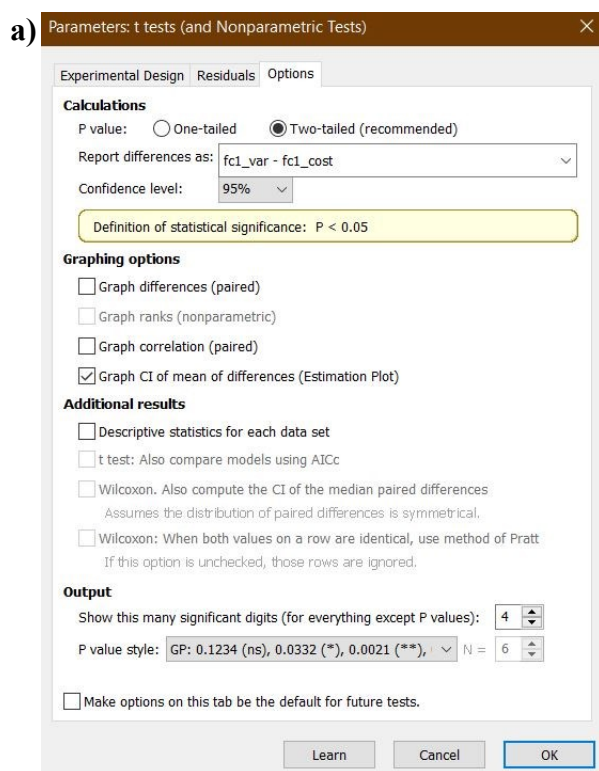


Figura 28: a) selezione dei parametri per l'esecuzione del test per variabili appaiate; b) il test è di tipo bilaterale; il centro di distribuzione è zero poiché l'ipotesi nulla prevede che non ci siano differenze fra i coefficienti d'attrito.

Nel caso in cui la normalità e l'omogeneità della varianza non sia verificata e il comando "Normality and Lognormality Tests" ci restituisca un esito negativo, Prism esegue il test non

parametrico di Wilcoxon, anche conosciuto come test della somma dei ranghi. I test non parametrici si basano sui ranghi delle osservazioni e non sul loro reale valore. Secondo il metodo di Wilcoxon, i dati dei due gruppi a confronto vengono combinati in una serie unica in ordine crescente e ad ogni osservazione si assegna il rango. Dopodiché, si definisce n_1 la dimensione del gruppo minore e n_2 la dimensione del gruppo maggiore. In questo caso i gruppi analizzati hanno la stessa dimensione, quindi l'attribuzione di n_1 e n_2 può essere casuale. Si procede calcolando la somma dei ranghi (T) del gruppo il cui numero di repliche è indicato con n_1 . Quando H_0 è vera, i valori del gruppo prescelto sono casualmente mescolati con quelli dell'altro gruppo. Di conseguenza, il valore di T tende ad una media attesa (μ_T) che dipende dal numero di osservazioni (n_1 e n_2) dei due gruppi, secondo la relazione

$$\mu_T = \frac{n_1 * (n_1 + n_2 + 1)}{2} . \quad (3.15)$$

Se H_0 è falsa, il valore di T osservato tende ad essere maggiore o minore di μ_T , in rapporto alla coda della distribuzione nella quale è collocata la tendenza centrale del gruppo n_1 .

Infine, per valutare l'effetto della composizione del PVA e della frequenza di spostamento sul coefficiente d'attrito è stata eseguita una analisi della varianza (ANOVA) a una via. Questo metodo statistico viene utilizzato per valutare le medie di più di due gruppi con una singola analisi. L'ipotesi H_0 prevede l'uguaglianza delle medie delle popolazioni considerate mentre H_1 presume che almeno una media sia diversa. Nonostante l'ipotesi nulla riguardi la media ciò che viene testato è la varianza.

Per eseguire l'analisi e testare H_0 è necessario suddividere la variabilità totale di ogni variabile considerata in due componenti: la variabilità all'interno dei gruppi, cioè quanto mediamente i singoli valori sono distanti dalla media del loro gruppo di appartenenza e la variabilità tra i gruppi, ossia quanto mediamente sono distanti le medie dei diversi gruppi dalla media generale. La prima viene definita dall'ANOVA come media dei quadrati degli errori (MSE), mentre la seconda come media dei quadrati tra gruppi (MSB). È facile intuire che più ci si allontana da H_0 , più MSB aumenta.

MSB e MSE sono due varianze e quando H_0 è vera il valore atteso ottenuto dal rapporto tra le due è pari a 1, la statistica test adottata dall'ANOVA è l'F di Fisher

$$F = \frac{MSB}{MSE} . \quad (3.16)$$

Ad ogni modo, l'ANOVA non identifica quale gruppo è diverso dagli altri, ma solamente se esiste una media diversa da un'altra tra le popolazioni analizzate.

Le assunzioni dell'ANOVA sono le stesse richieste dal t-test. Nel caso in cui non venga rispettato il requisito di normalità della distribuzione, Prism esegue automaticamente il test non parametrico Kruskal-Wallis, il quale confronta le mediane dei gruppi attraverso l'ordinamento dei dati e l'assegnazione di ranghi. La statistica test utilizzata è

$$H = \frac{12}{N(N+1)} \sum_{i=1}^k \frac{R_i^2}{n_i} - 3(N+1) \quad (3.17)$$

dove N è il numero totale di osservazioni

k è il numero di gruppi

R_i è la somma dei ranghi del gruppo i

n_i è il numero di osservazioni del gruppo i .

L'ipotesi nulla del test prevede che le mediane dei gruppi siano tutte uguali, mentre quella alternativa è vera quando almeno una risulta diversa. Se H_0 viene rifiutata significa che c'è una differenza significativa nelle mediane tra almeno due dei gruppi testati. Tuttavia, nemmeno il test di Kruskal-Wallis, così come l'ANOVA, indica quali gruppi sono diversi tra loro.

L'analisi statistica è stata eseguita con l'analisi della varianza (ANOVA) a una via e il test di confronto multiplo di Tukey, assumendo una distribuzione gaussiana, in caso di gruppi multipli. Le differenze tra i gruppi sperimentali sono state considerate statisticamente significative con $p < 0.05$.

Capitolo 4: Risultati e discussione

4.1 Confronto tra i coefficienti d'attrito

Per valutare l'effetto sul coefficiente di attrito del metodo utilizzato per calcolarlo, ovvero considerando la forza normale costante (valore nominale) o variabile nel tempo (valore misurato), la procedura di analisi statistica descritta nel paragrafo 3.2.3 è stata applicata a un campione di PVA per ogni forza normale e, nello specifico, si sono valutate i coefficienti d'attrito medi delle seguenti prove:

- PVA 15 wt%, forza normale 5 N e acido ialuronico HA0;
- PVA 15 wt%, forza normale 10 N e acido ialuronico HA0;
- PVA 15 wt%, forza normale 15 N e acido ialuronico HA0;
- PVA 20 wt%, forza normale 20 N e acido ialuronico HA0.

I risultati sono mostrati nelle figure 29, 30, 31 e 32. In tutti e quattro i casi il t-test ha rilevato una differenza significativa tra i due metodi di calcolo.

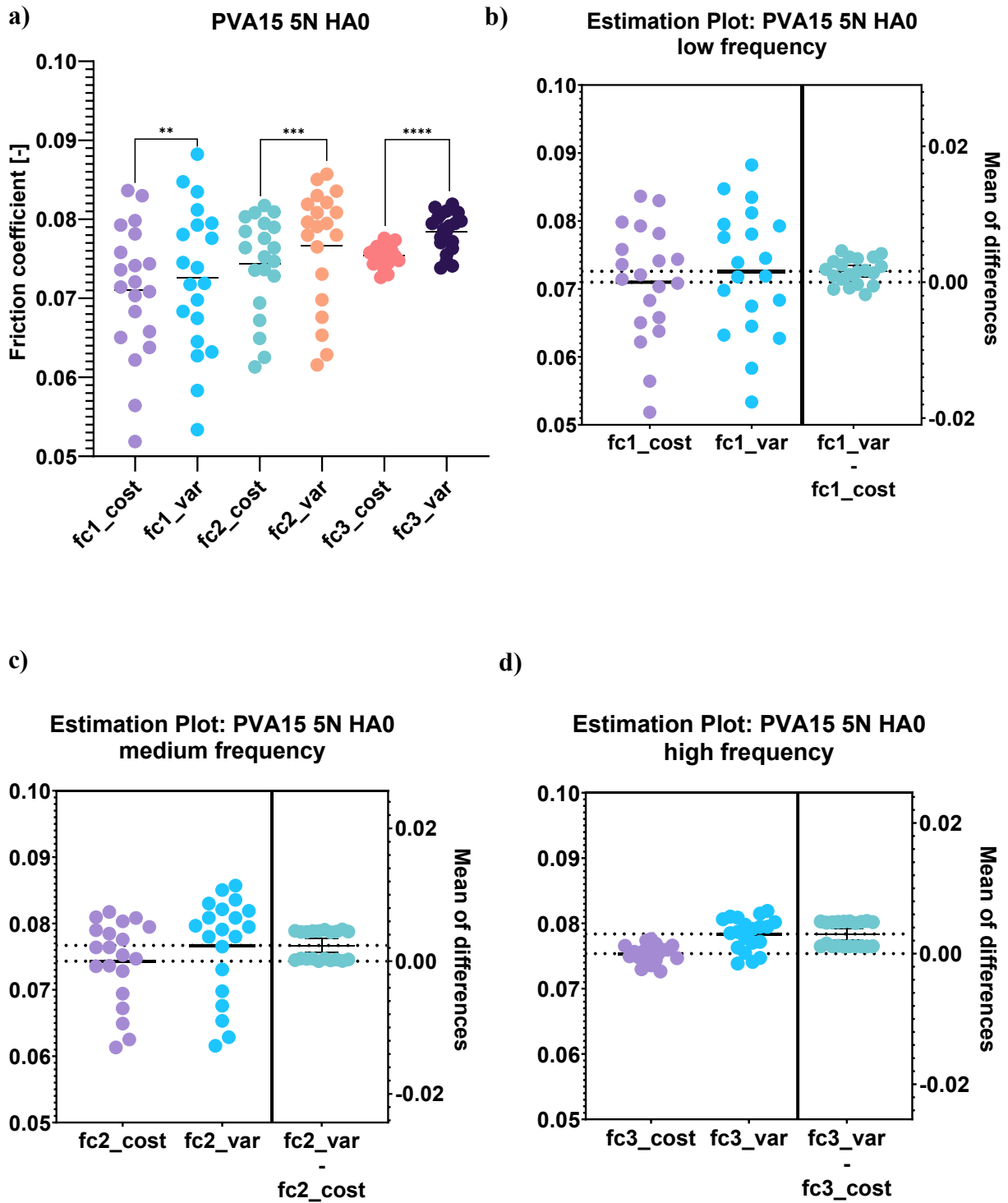


Figura 29: a) coefficienti d'attrito medi ottenuti dalle prove d'attrito condotte con PVA 15 wt%, forza normale di 5 N e acido ialuronico HA0. Essi presentano differenza significativa; b) risultati del t-test per i coefficienti d'attrito ottenuti considerando la porzione di prova a bassa frequenza (p-value < 0.01); c) risultati del t-test per i coefficienti d'attrito ottenuti considerando la porzione di prova a media frequenza (p-value < 0.001); d) risultati del t-test per i coefficienti d'attrito ottenuti considerando la porzione di prova ad alta frequenza (p-value < 0.0001).

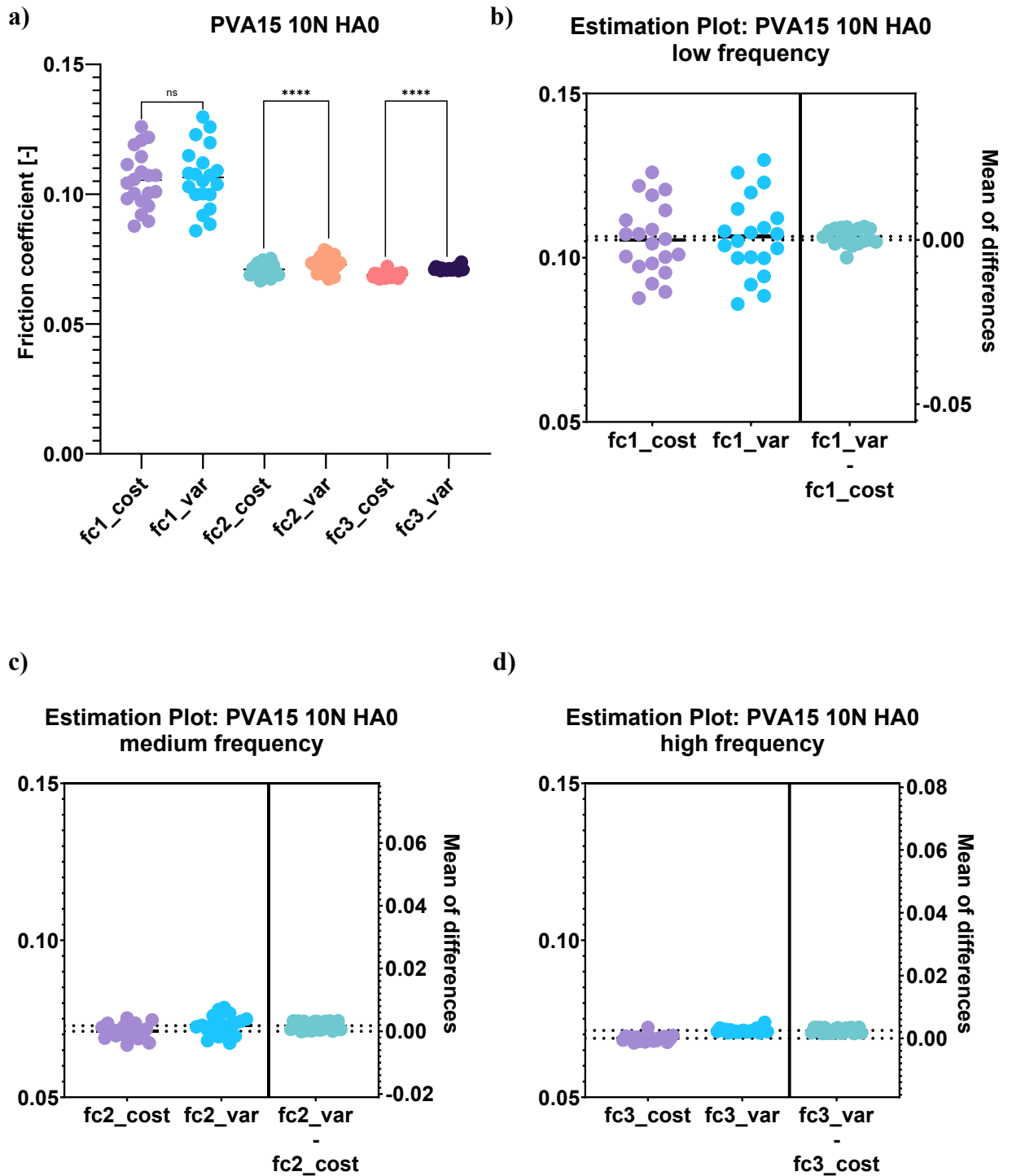


Figura 30: a) coefficienti d'attrito medi ottenuti dalle prove d'attrito condotte con PVA 15 wt%, forza normale di 10 N e acido ialuronico HA0. Essi presentano differenza significativa; b) risultati del t-test per i coefficienti d'attrito ottenuti considerando la porzione di prova a bassa frequenza ($p\text{-value} > 0.05$); c) risultati del t-test per i coefficienti d'attrito ottenuti considerando la porzione di prova a media frequenza ($p\text{-value} < 0.0001$); d) risultati del t-test per i coefficienti d'attrito ottenuti considerando la porzione di prova ad alta frequenza ($p\text{-value} < 0.0001$).

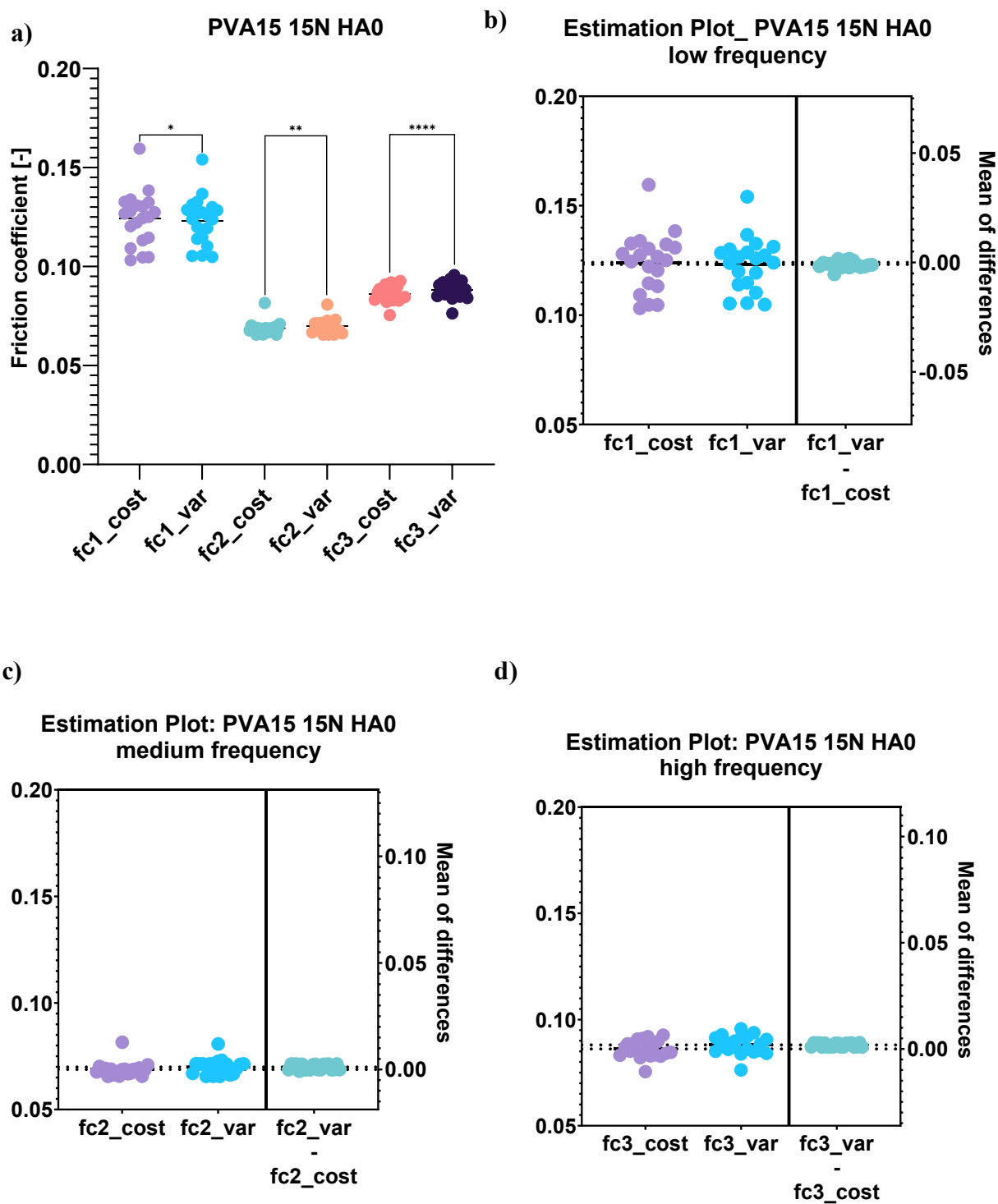


Figura 31: a) coefficienti d'attrito medi ottenuti delle prove d'attrito condotte con PVA 15 wt%, forza normale di 15 N e acido ialuronico HA0. Essi presentano differenza significativa; b) risultati del t-test per i coefficienti d'attrito ottenuti considerando la porzione di prova a bassa frequenza (p-value < 0.05); c) risultati del t-test per i coefficienti d'attrito ottenuti considerando la porzione di prova a media frequenza (p-value < 0.01); d) risultati del t-test per i coefficienti d'attrito ottenuti considerando la porzione di prova ad alta frequenza (p-value < 0.0001).

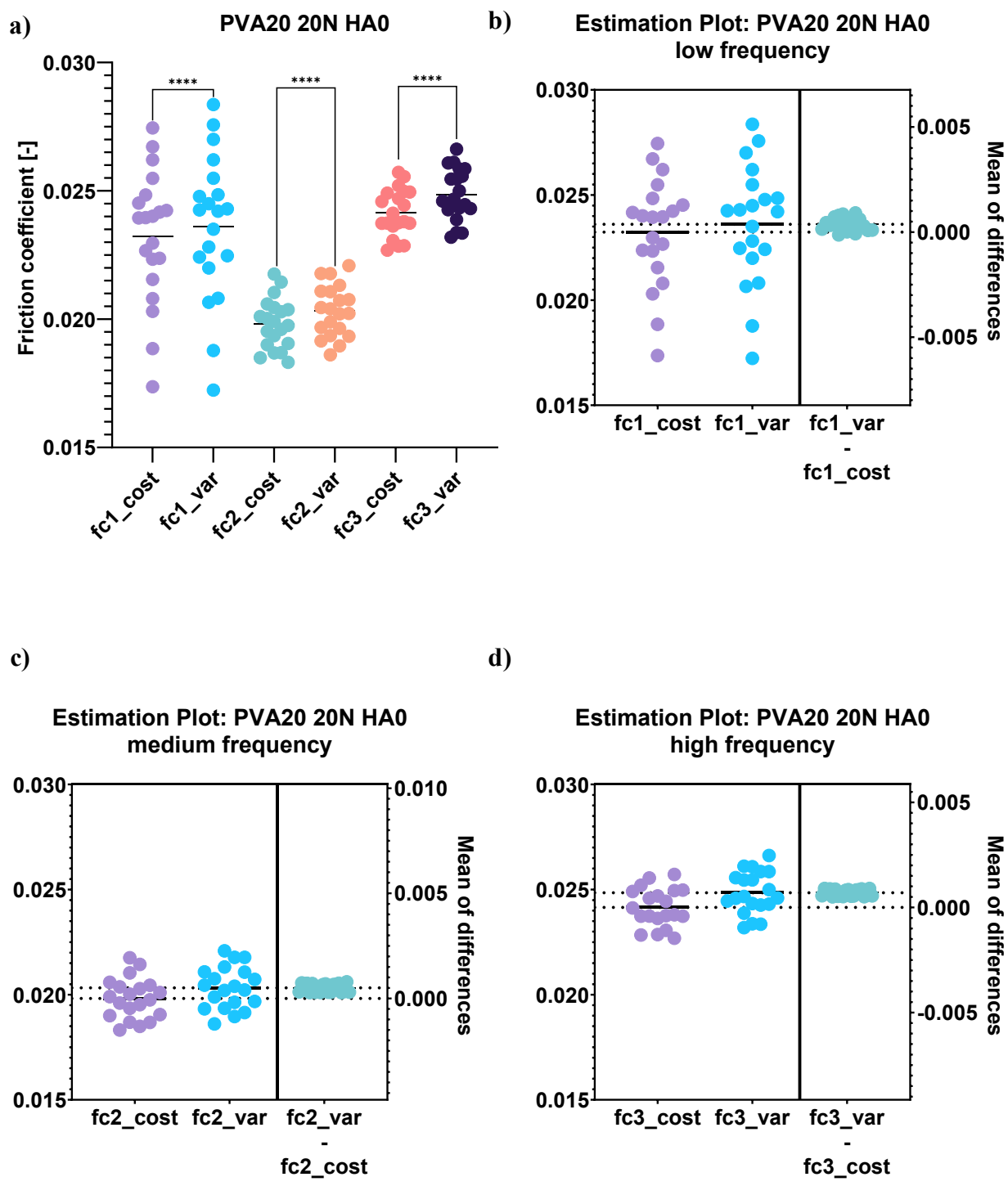


Figura 32: a) coefficienti d'attrito medi ottenuti delle prove d'attrito condotte con PVA 20 wt%, forza normale di 20 N e acido ialuronico HA0. Essi presentano differenza significativa; b) risultati del t-test per i coefficienti d'attrito ottenuti considerando la porzione di prova a bassa frequenza (p-value < 0.0001); c) risultati del t-test per i coefficienti d'attrito ottenuti considerando la porzione di prova a media frequenza (p-value < 0.0001); d) risultati del t-test per i coefficienti d'attrito ottenuti considerando la porzione di prova ad alta frequenza (p-value < 0.0001).

Dopo aver condotto il test statistico e appurata l'esistenza di una differenza tra i due metodi di calcolo, l'analisi dei risultati è stata condotta considerando i coefficienti d'attrito calcolati con la forza normale variabile, ossia quella registrata dalla cella di carico n°1, che corrisponde al valore reale della forza normale applicata in ogni istante e quindi restituisce una stima più realistica del coefficiente d'attrito.

Per ogni forza normale, sono stati calcolati i coefficienti d'attrito medi complessivi. I coefficienti ottenuti sono stati confrontati a seconda delle concentrazioni in peso di PVA su acqua e dell'agente lubrificante utilizzati per eseguire i test. Di seguito sono riportate le tabelle 2, 3, 4, 5 e 6 con i coefficienti risultanti.

Normal force 5 N				
	PVA 15 wt% with PBS	PVA 15 wt% with HA0	PVA 20 wt% with PBS	PVA 25 wt% with PBS
Low frequency	0,266	0,076	0,245	0,342
Medium frequency	0,194	0,079	0,187	0,221
High frequency	0,216	0,079	0,292	0,462

Tabella 2: confronto tra i coefficienti d'attrito medi ottenuti considerando le prove d'attrito eseguite imponendo una forza normale di 5 N.

Normal force 10 N				
	PVA 15 wt% with PBS	PVA 15 wt% with HA0	PVA 20 wt% with PBS	PVA 25 wt% with PBS
Low frequency	0,206	0,110	0,165	0,289
Medium frequency	0,152	0,073	0,137	0,205
High frequency	0,154	0,071	0,183	0,340

Tabella 3: confronto tra i coefficienti d'attrito medi ottenuti considerando le prove d'attrito eseguite imponendo una forza normale di 10 N.

Normal force 15 N				
	PVA 15 wt% with PBS	PVA 15 wt% with HA0	PVA 20 wt% with PBS	PVA 25 wt% with PBS
Low frequency	0,174	0,121	0,153	0,261
Medium frequency	0,122	0,069	0,130	0,216
High frequency	0,124	0,087	0,157	0,283

Tabella 4: confronto tra i coefficienti d'attrito medi ottenuti considerando le prove d'attrito eseguite imponendo una forza normale di 15 N.

Normal force 20 N – PVA 15 wt%			
	with PBS	with HA0	with HA1
Low frequency	0,139	0,061	0,050
Medium frequency	0,106	0,037	0,049
High frequency	0,107	0,048	0,048
	with HA2	with HA3	with HA4
Low frequency	0,039	0,041	0,040
Medium frequency	0,041	0,044	0,044
High frequency	0,044	0,044	0,041

Tabella 5: confronto tra i coefficienti d'attrito medi ottenuti considerando le prove d'attrito eseguite con PVA 15 wt% e imponendo una forza normale di 20 N; si osservano le differenze dovute al tipo di lubrificante utilizzato.

Normal force 20 N				
	PVA 20 wt% with PBS	PVA 20 wt% with HA0	PVA 25 wt% with PBS	PVA 25 wt% with HA0
Low frequency	0,100	0,025	0,192	0,046
Medium frequency	0,084	0,021	0,153	0,041
High frequency	0,114	0,025	0,191	0,059

Tabella 6: confronto tra i coefficienti d'attrito medi ottenuti considerando le prove d'attrito eseguite imponendo una forza normale di 20 N.

Dai dati riportati nelle tabelle, si osserva che all'aumentare della forza normale, il coefficiente d'attrito diminuisce. Ad esempio, nel caso di prove condotte a 0.05 Hz con campioni di PVA 15 wt% e soluzione fisiologica, il coefficiente d'attrito passa da 0.266, quando si applica una forza normale di 5 N, a 0.139 quando la forza normale è di 20 N; a 0.5 Hz, i valori diminuiscono da 0.194 a 0.106; ad alta frequenza invece il coefficiente d'attrito passa da 0.216 a 0.107. Lo stesso comportamento si verifica anche nel caso di PVA 20 wt% e di PVA 25 wt%. Inoltre, risulta evidente l'effetto della presenza di acido ialuronico, esso abbassa notevolmente i valori dei coefficienti d'attrito di circa il 30% - 78%. Un'altra osservazione possibile riguarda i coefficienti d'attrito risultanti alle diverse frequenze; a 0.05 Hz i coefficienti d'attrito risultano più elevati rispetto a quelli registrati a 2.5 Hz che, a loro volta, sono maggiori rispetto a quelli calcolati a 0.5 Hz. Infine, indipendentemente dalla forza normale applicata, i coefficienti d'attrito minori sono stati ottenuti durante le prove d'attrito eseguite con PVA 20 wt%, mentre quelli più elevati sono stati calcolati per le prove condotte con PVA 25 wt%.

Oltre ai coefficienti d'attrito medi complessivi, sono stati ricavati gli andamenti di tali valori durante l'esecuzione delle prove. I risultati ottenuti sono stati utilizzati per eseguire i seguenti confronti:

1. Effetto della composizione del PVA sul coefficiente d'attrito;
2. Effetto della frequenza di spostamento sul coefficiente d'attrito;
3. Effetto della presenza dell'acido ialuronico sul coefficiente d'attrito.

4.1.1 Effetto della composizione del PVA sul coefficiente d'attrito

Nelle figure dalla 35 alla 46, si riportano i valori del coefficiente di attrito misurato per il PVA al 15, 20 e 25 % in peso, confrontando i tre diversi hydrogel a parità di forza normale applicata in condizione di idratazione in soluzione tampone PBS. In particolare, le tre diverse tipologie di PVA sono confrontate sotto l'applicazione di una forza pari a 5 N (Figure 35, 36 e 37), 10 N (Figure 38, 39 e 40), 15 N (41, 42 e 43) e 20 N (44, 45 e 46).

Le figure 33 e 34 si riferiscono ai risultati ottenuti dall'esecuzione dell'analisi della varianza (ANOVA) a una via. In particolare, a parità di forza normale e frequenza di spostamento, sono stati confrontati i coefficienti d'attrito ottenuti dai tre diversi hydrogel. In tutti i casi si evidenzia la presenza di una differenza statistica estremamente significativa ($p\text{-value} < 0.001$). Inoltre, dallo studio dei grafici e dei confronti qui riportati è possibile osservare che i coefficienti d'attrito generati fra campioni di PVA 25 wt% sono più elevati di quelli sviluppati con PVA 15 wt% e PVA 20 wt% che sono invece paragonabili.

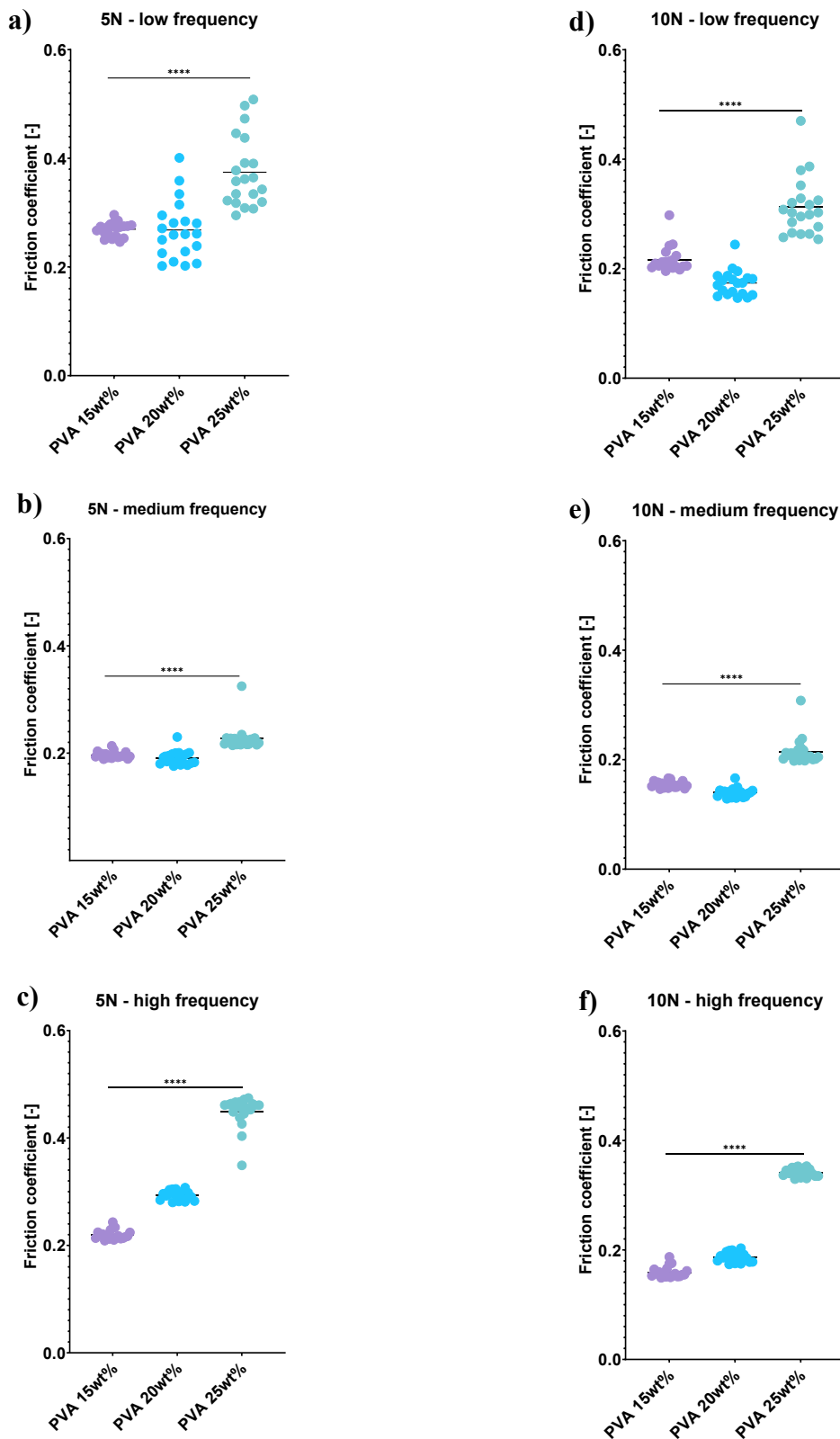


Figura 33: test ANOVA a una via.

Nelle figure a), b) e c) sono stati confrontati i coefficienti di attrito ottenuti da prove con carico normale di 5 N a bassa, media e alta frequenza rispettivamente. Nelle figure d), e) e f) sono stati confrontati i coefficienti d'attrito ottenute da prove con carico normale di 10 N a bassa, media e alta frequenza rispettivamente. In tutti i casi si osserva la presenza di una differenza statistica dettata dalla composizione del PVA ($p\text{-value} < 0.0001$).

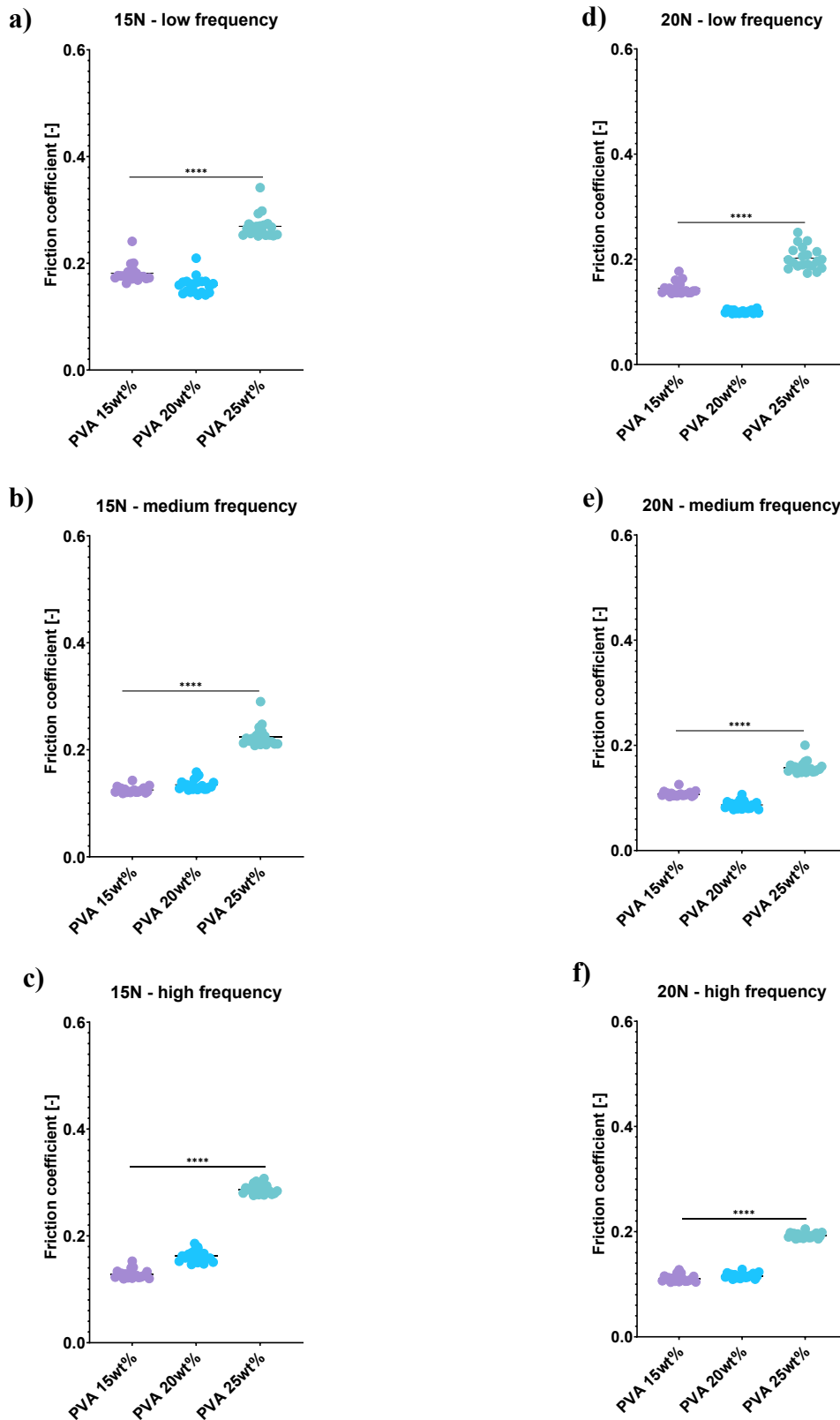


Figura 34: test ANOVA a una via.

Nelle figure a), b) e c) sono stati confrontati i coefficienti di attrito ottenuti da prove con carico normale di 15 N a bassa, media e alta frequenza rispettivamente. Nelle figure d), e) e f) sono stati confrontati i coefficienti d'attrito ottenute da prove con carico normale di 20 N a bassa, media e alta frequenza rispettivamente. In tutti i casi si osserva la presenza di una differenza statistica dettata dalla composizione del PVA (p-value < 0.0001).

PVA 15 wt% - 5 N with PBS

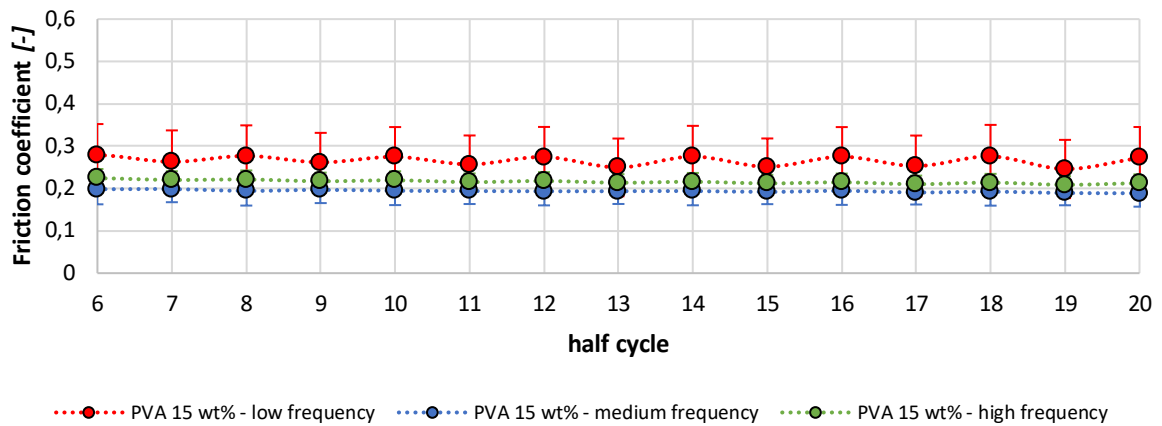


Figura 35: confronto dei coefficienti d'attrito ottenuti considerando le prove eseguite con PVA 15 wt% e carico normale pari a 5 N con PBS.

PVA 20 wt% - 5 N with PBS

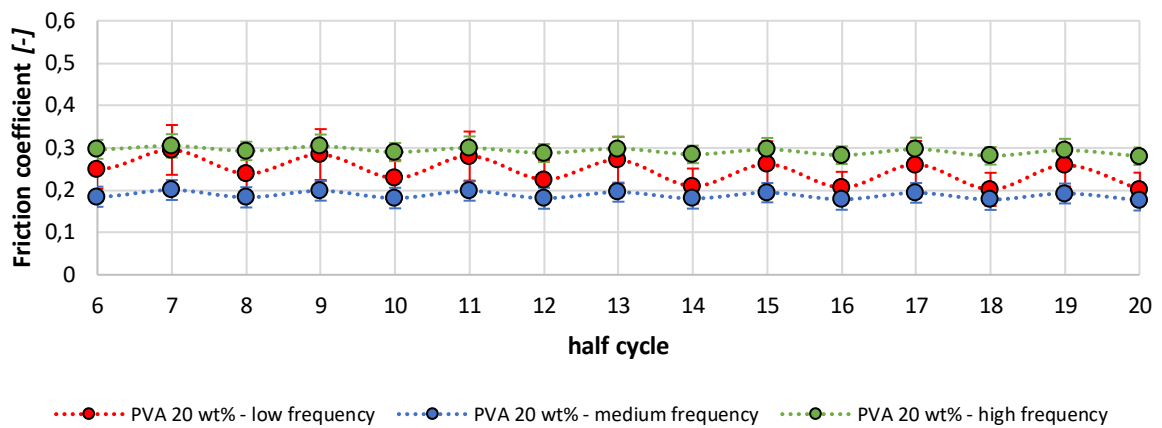


Figura 36: confronto dei coefficienti d'attrito ottenuti considerando le prove eseguite con PVA 20 wt% e carico normale pari a 5 N con PBS.

PVA 25 wt% - 5 N with PBS

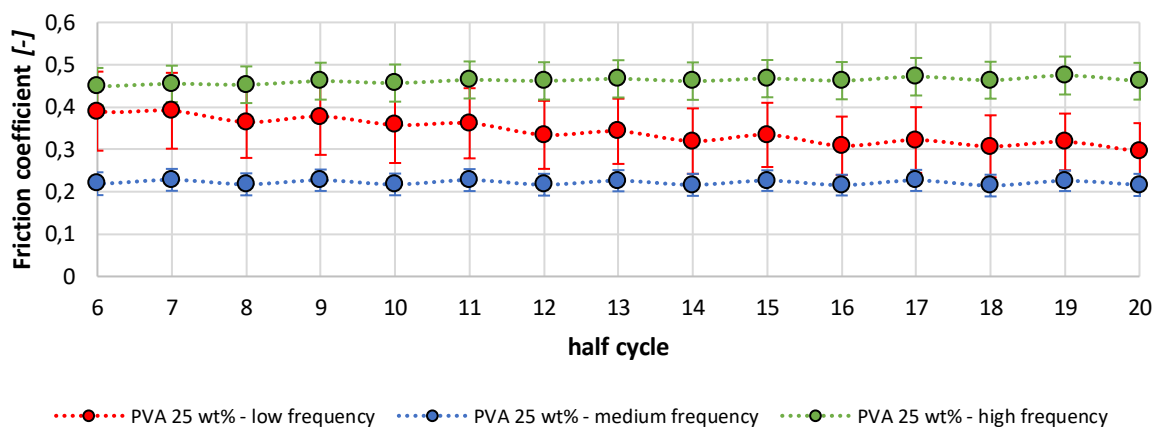


Figura 37: confronto dei coefficienti d'attrito ottenuti considerando le prove eseguite con PVA 25 wt% e carico normale pari a 5 N con PBS.

PVA 15 wt% - 10 N with PBS

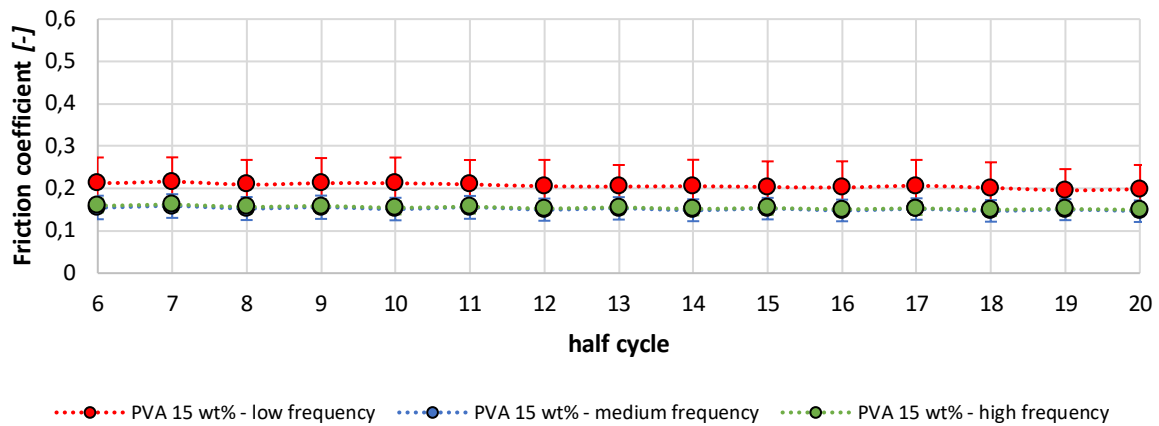


Figura 38: confronto dei coefficienti d'attrito ottenuti considerando le prove eseguite con PVA 15 wt% e carico normale pari a 10 N con PBS.

PVA 20 wt% - 10 N with PBS

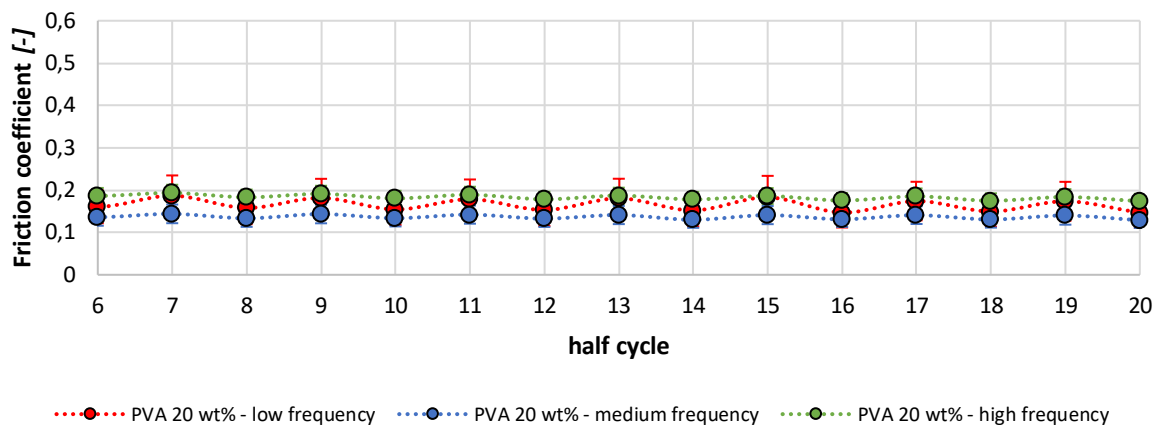


Figura 39: confronto dei coefficienti d'attrito ottenuti considerando le prove eseguite con PVA 20 wt% e carico normale pari a 10 N con PBS.

PVA 25 wt% - 10 N with PBS

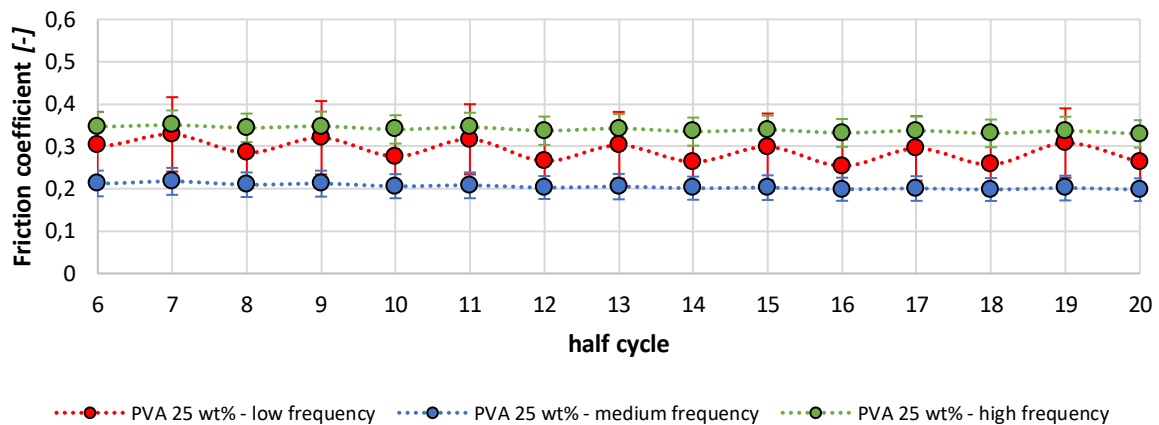


Figura 40: confronto dei coefficienti d'attrito ottenuti considerando le prove eseguite con PVA 25 wt% e carico normale pari a 10 N con PBS.

PVA 15 wt% - 15 N with PBS

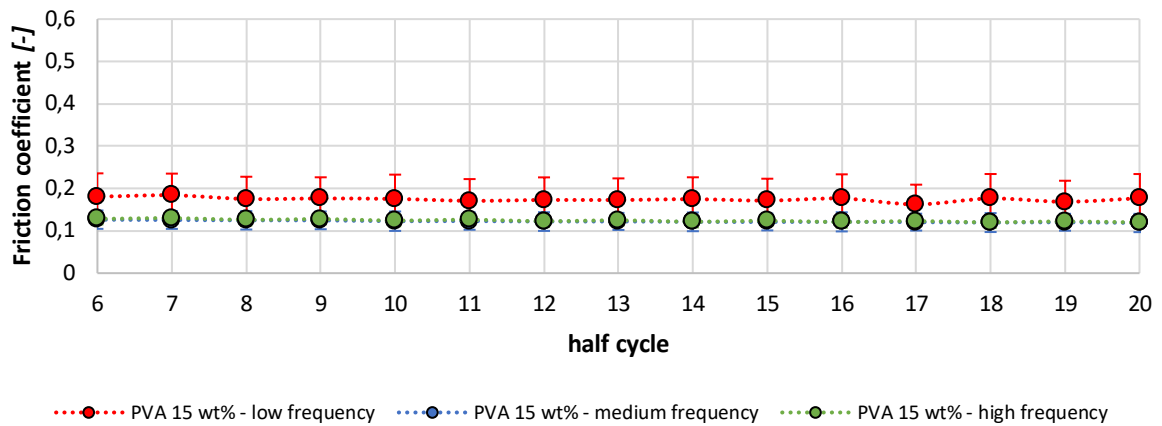


Figura 41: confronto dei coefficienti d'attrito ottenuti considerando le prove eseguite con PVA 15 wt% e carico normale pari a 15 N con PBS.

PVA 20 wt% - 15 N with PBS

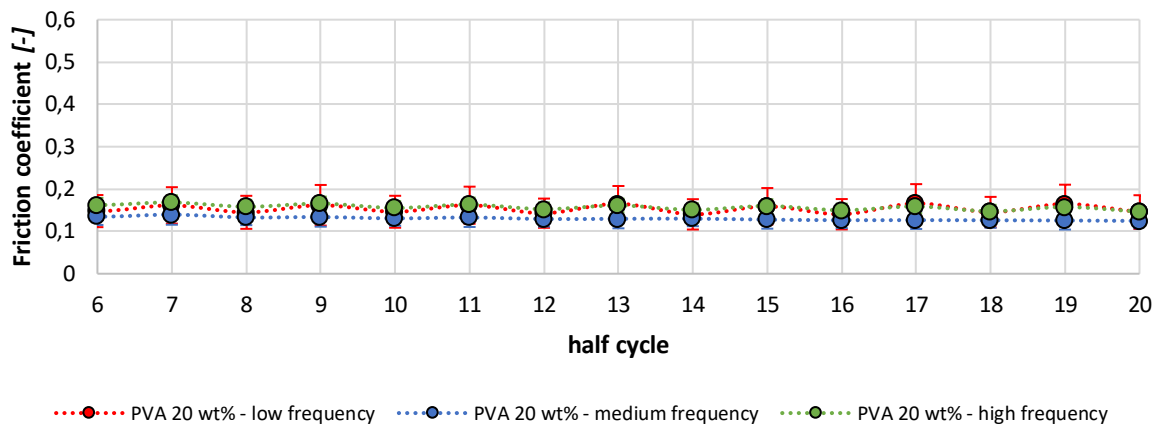


Figura 42: confronto dei coefficienti d'attrito ottenuti considerando le prove eseguite con PVA 20 wt% e carico normale pari a 15 N con PBS.

PVA 25 wt% - 15 N with PBS

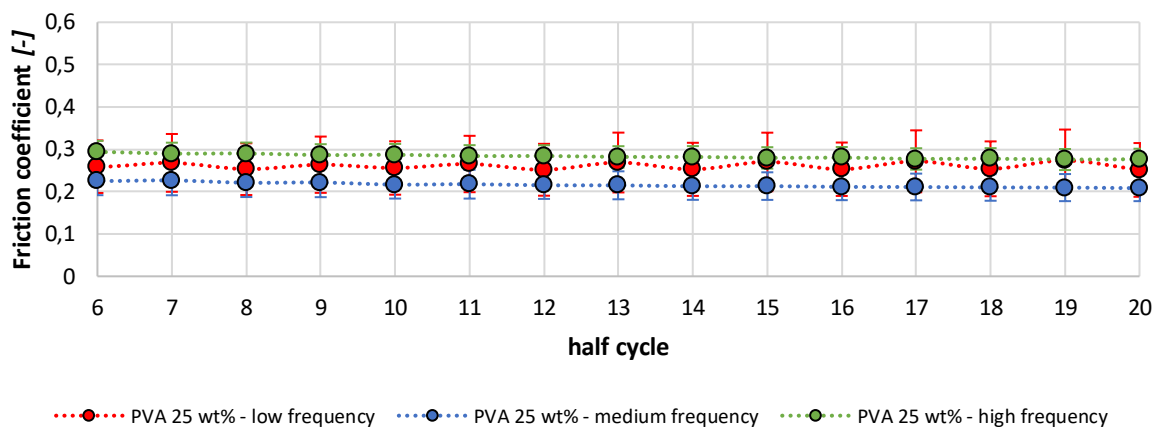


Figura 43: confronto dei coefficienti d'attrito ottenuti considerando le prove eseguite con PVA 25 wt% e carico normale pari a 15 N con PBS.

PVA 15 wt% - 20 N with PBS

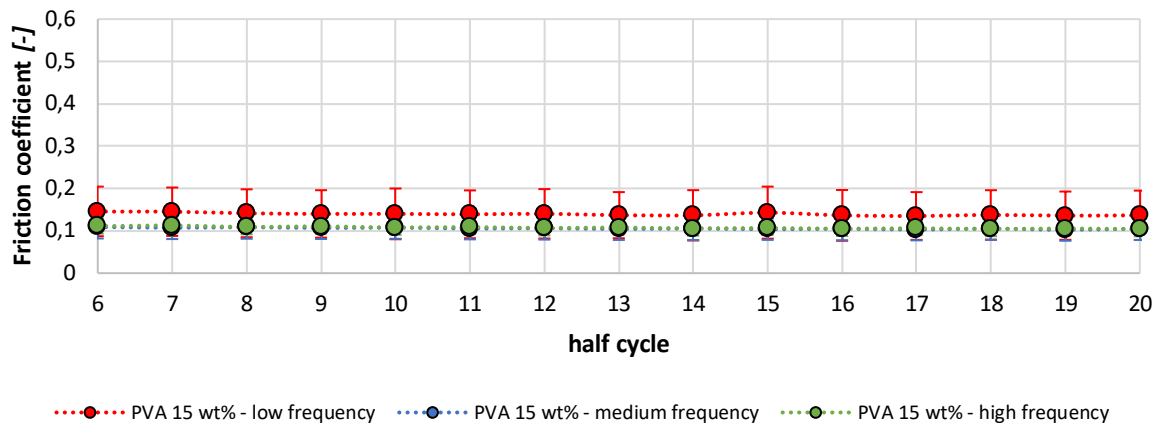


Figura 44: confronto dei coefficienti d'attrito ottenuti considerando le prove eseguite con PVA 15 wt% e carico normale pari a 20 N con PBS.

PVA 20 wt% - 20 N with PBS

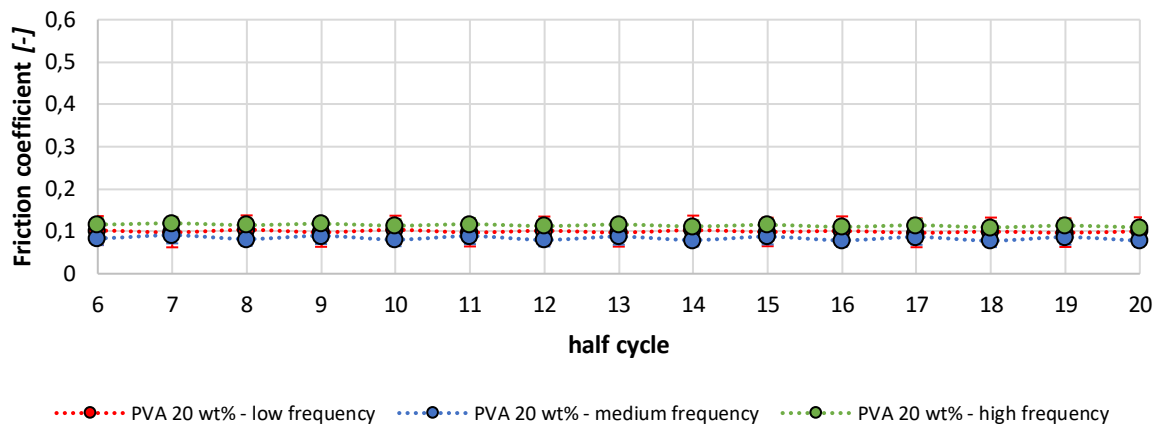


Figura 45: confronto dei coefficienti d'attrito ottenuti considerando le prove eseguite con PVA 20 wt% e carico normale pari a 20 N con PBS.

PVA 25 wt% - 20 N with PBS

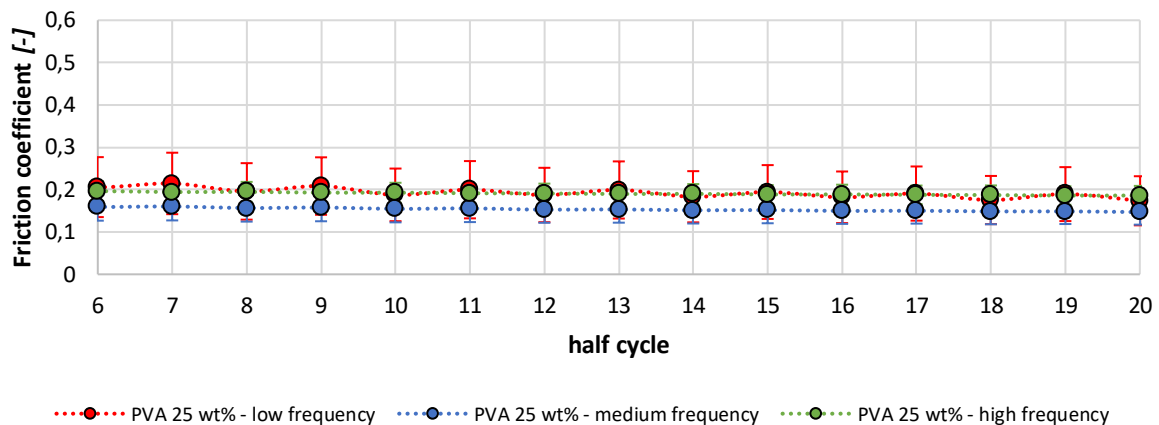


Figura 46: confronto dei coefficienti d'attrito ottenuti considerando le prove eseguite con PVA 25 wt% e carico normale pari a 20 N con PBS.

4.1.2 Effetto della frequenza di spostamento sul coefficiente d'attrito

Nelle figure dalla 49 alla 60, si riportano i valori del coefficiente di attrito misurato a bassa, media e alta frequenza di spostamento, confrontando le tre diverse condizioni di spostamento a parità di forza normale applicata in condizione di idratazione in soluzione tampone PBS. In particolare, le tre diverse tipologie di PVA sono confrontate sotto l'applicazione di una forza pari a 5 N (Figure 49, 50 e 51), 10 N (Figure 52, 53 e 54), 15 N (55, 56 e 57) e 20 N (58, 59 e 60).

Dall'analisi dei grafici qui riportati si nota che i coefficienti d'attrito relativi alla bassa e all'alta frequenza variano maggiormente e sono più elevati di quelli calcolati per la media frequenza che invece presentano un andamento più lineare. Tale effetto potrebbe essere dovuto ad un'instabilità del sistema di prova nel caso di applicazione di spostamenti alternati a diverse frequenze. Queste osservazioni sono confermate dai risultati ottenuti tramite il test statistico ANOVA a una via (Figure 47 e 48). Valutando i coefficienti d'attrito sulla base della composizione di PVA e del carico applicato, in tutti i casi risulta una differenza statistica (p -value < 0.0001) e gli scatter plot generati dal software Prism evidenziano la differenza, precedentemente citata, tra i valori dei coefficienti ottenuti a media, bassa e ad alta frequenza.

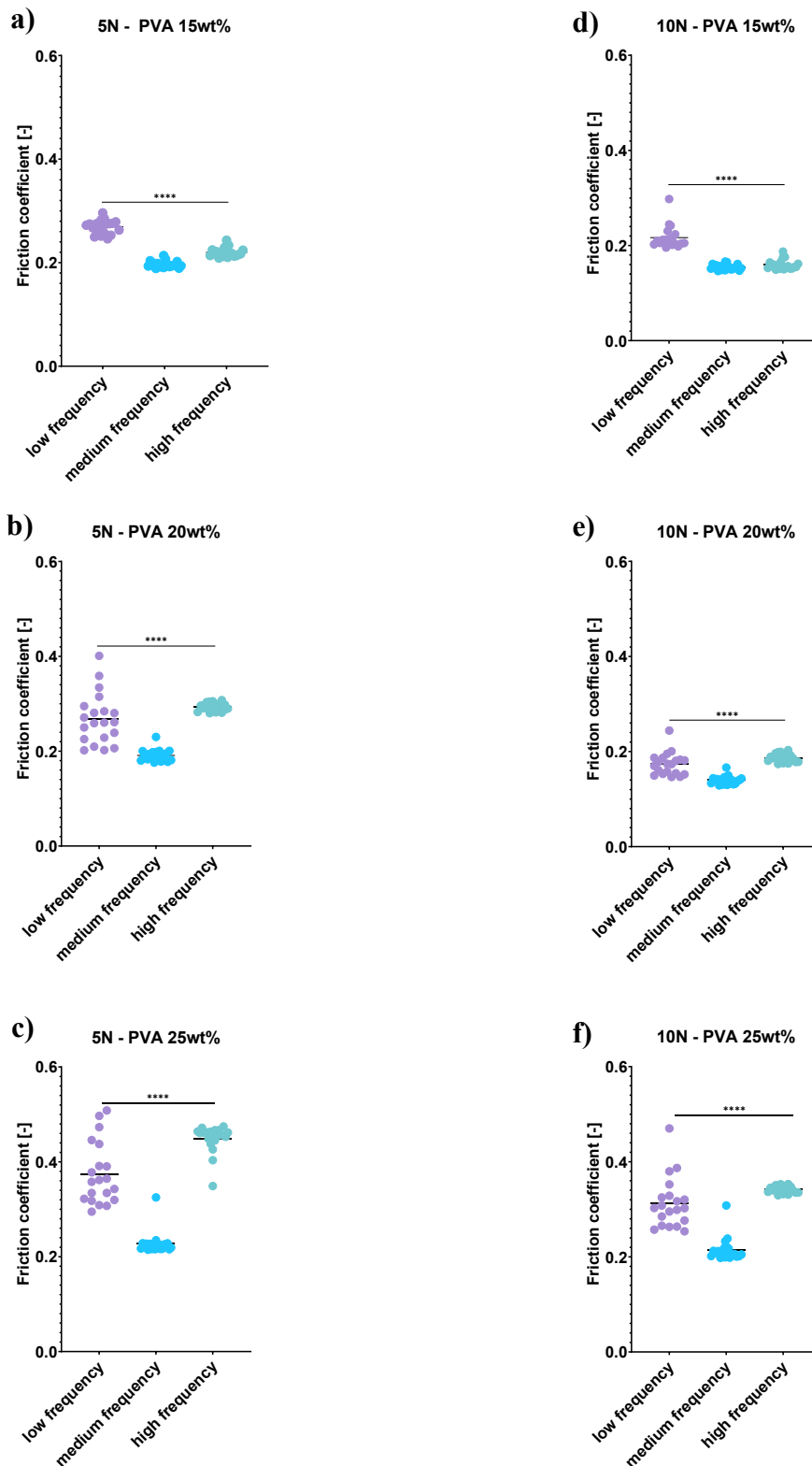


Figura 47: test ANOVA a una via.

Nelle figure a), b) e c) sono stati confrontati i coefficienti di attrito ottenuti da prove con carico di 5 N ed eseguite testando campioni di PVA 15wt%, 20wt% e 25wt% rispettivamente. Nelle figure d), e) e f) sono stati confrontati i coefficienti d'attrito ottenute da prove con carico normale di 10 N ed eseguite testando campioni di PVA 15wt%, 20wt% e 25wt% rispettivamente. In tutti i casi si osserva la presenza di una differenza statistica dettata dalla frequenza di spostamento considerata (p-value < 0.0001).

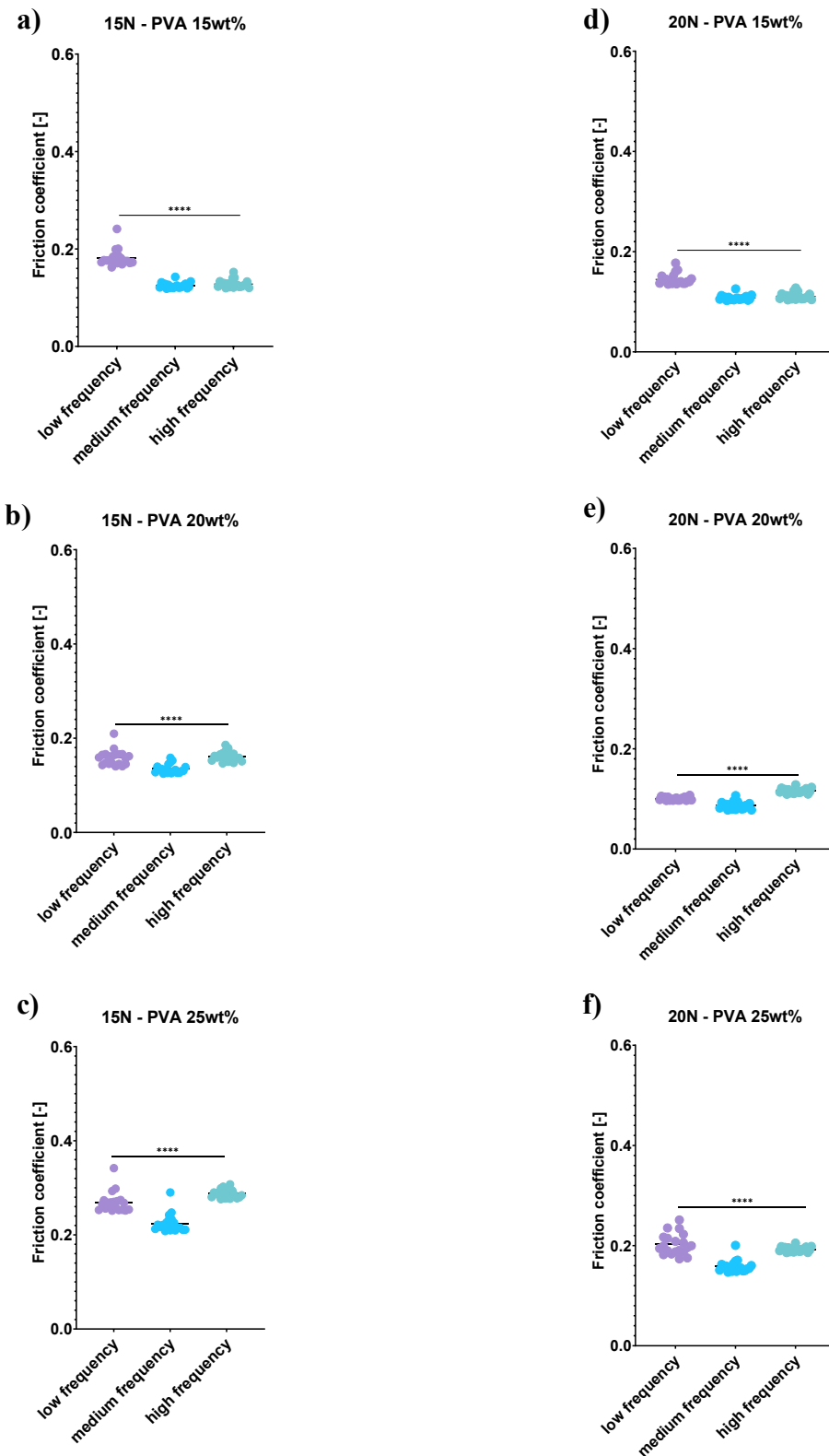


Figura 48: test ANOVA a una via.

Nelle figure a), b) e c) sono stati confrontati i coefficienti di attrito ottenuti da prove con carico di 15 N ed eseguite testando campioni di PVA 15wt%, 20wt% e 25wt% rispettivamente. Nelle figure d), e) e f) sono stati confrontati i coefficienti d'attrito ottenute da prove con carico normale di 20 N ed eseguite testando campioni di PVA 15wt%, 20wt% e 25wt% rispettivamente. In tutti i casi si osserva la presenza di una differenza statistica dettata dalla frequenza di spostamento considerata (p -value < 0.0001).

Low frequency - 5 N with PBS

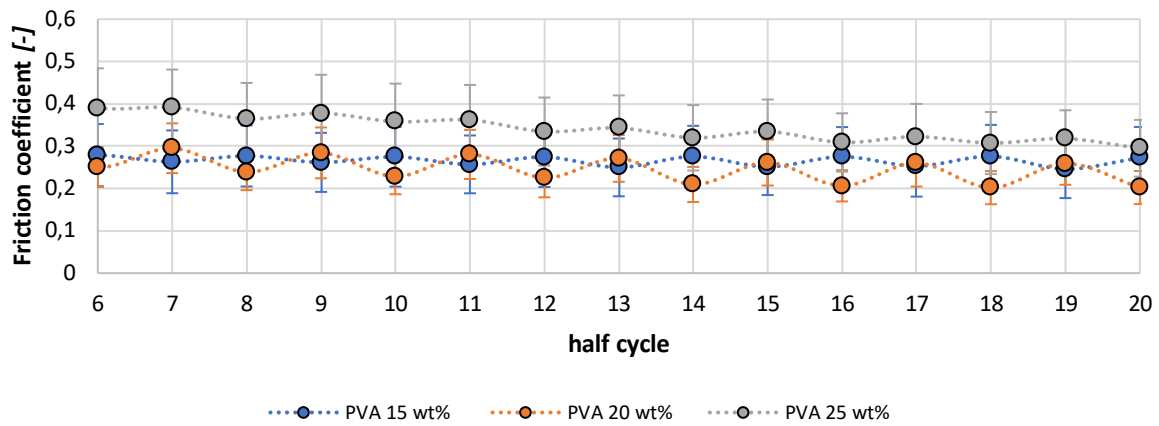


Figura 49: confronto fra coefficienti d'attrito ottenuti considerando la prima parte delle prove, a bassa frequenza (0.05 Hz), imponendo un carico normale di 5 N e con PBS.

Medium frequency - 5 N with PBS

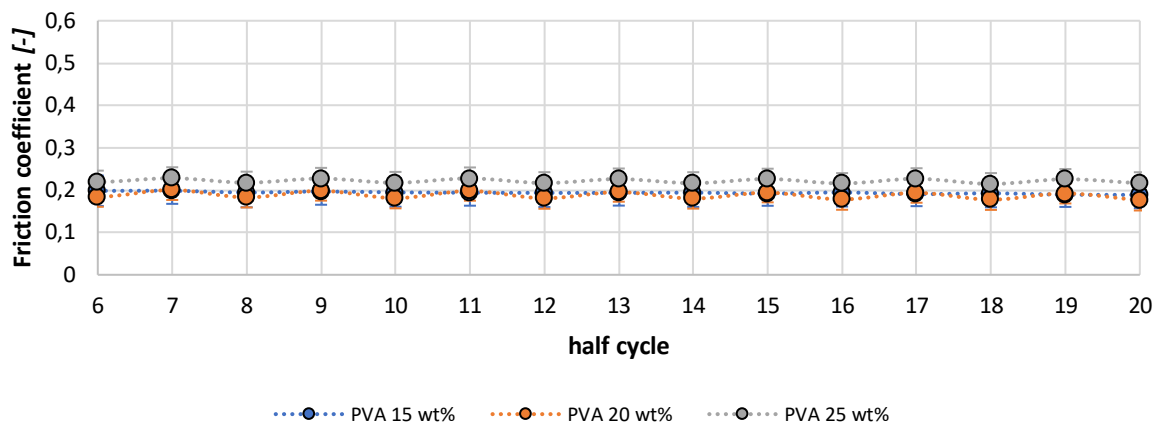


Figura 50: confronto fra coefficienti d'attrito ottenuti considerando la seconda parte delle prove, a media frequenza (0.5 Hz), imponendo un carico normale di 5 N e con PBS.

High frequency - 5 N with PBS

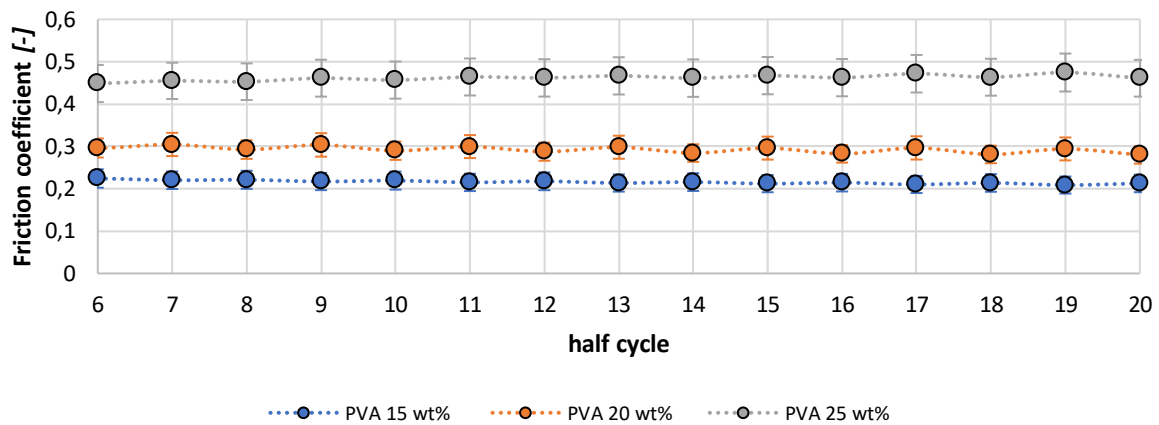


Figura 51: confronto fra coefficienti d'attrito ottenuti considerando l'ultima parte delle prove, ad alta frequenza (2.5 Hz), imponendo un carico normale di 5 N e con PBS.

Low frequency - 10 N with PBS

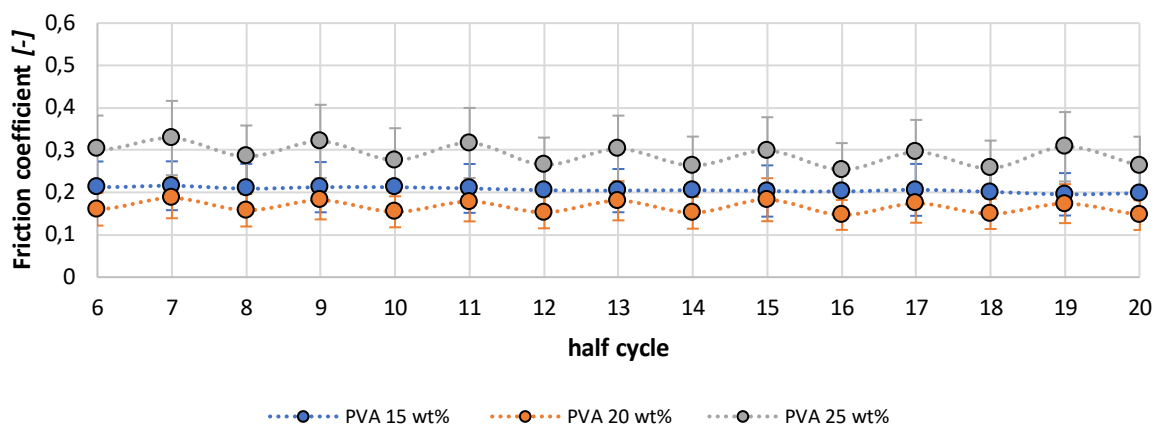


Figura 52: confronto fra coefficienti d'attrito ottenuti considerando la prima parte delle prove, a bassa frequenza (0.05 Hz), imponendo un carico normale di 10 N e con PBS.

Medium frequency - 10 N with PBS

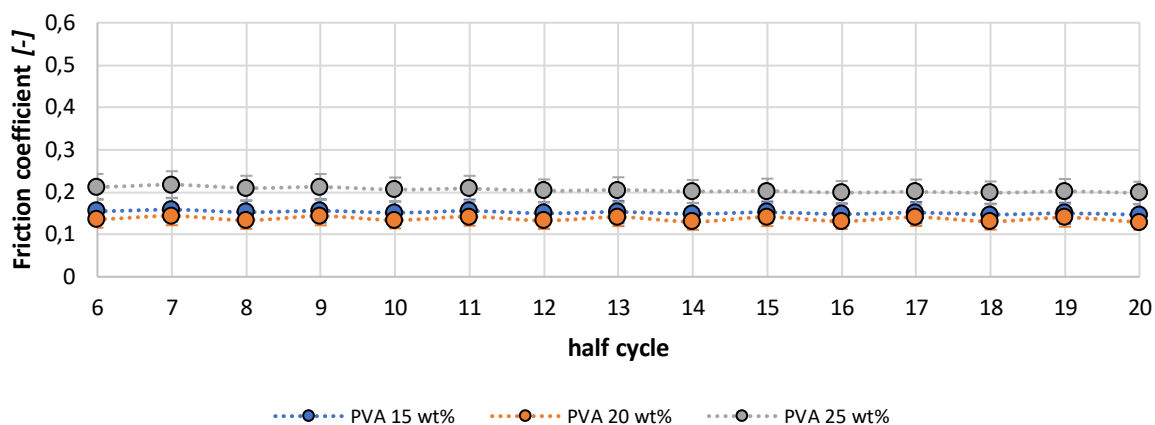


Figura 53: confronto fra coefficienti d'attrito ottenuti considerando la seconda parte delle prove, a media frequenza (0.5 Hz), imponendo un carico normale di 10 N e con PBS.

High frequency - 10 N with PBS

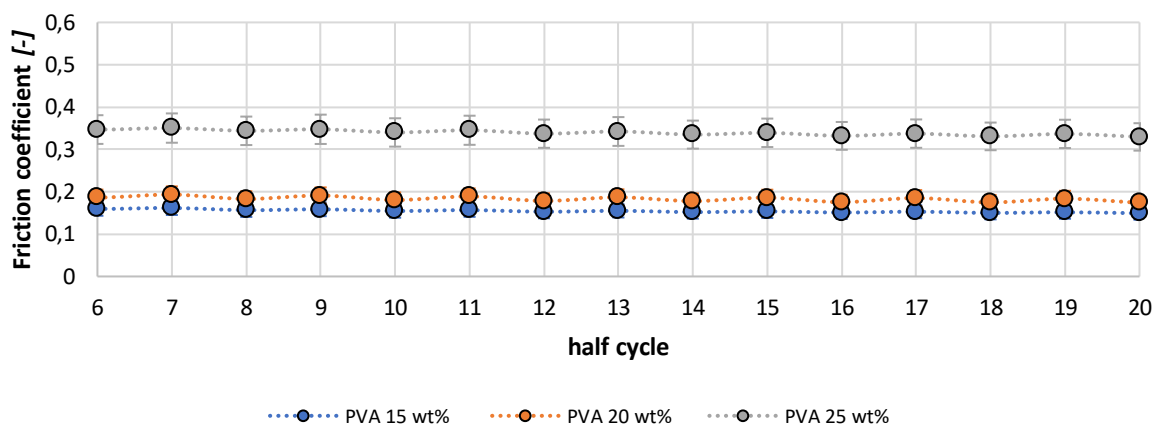


Figura 54: confronto fra coefficienti d'attrito ottenuti considerando l'ultima parte delle prove, ad alta frequenza (2.5 Hz), imponendo un carico normale di 10 N e con PBS.

Low frequency - 15 N with PBS

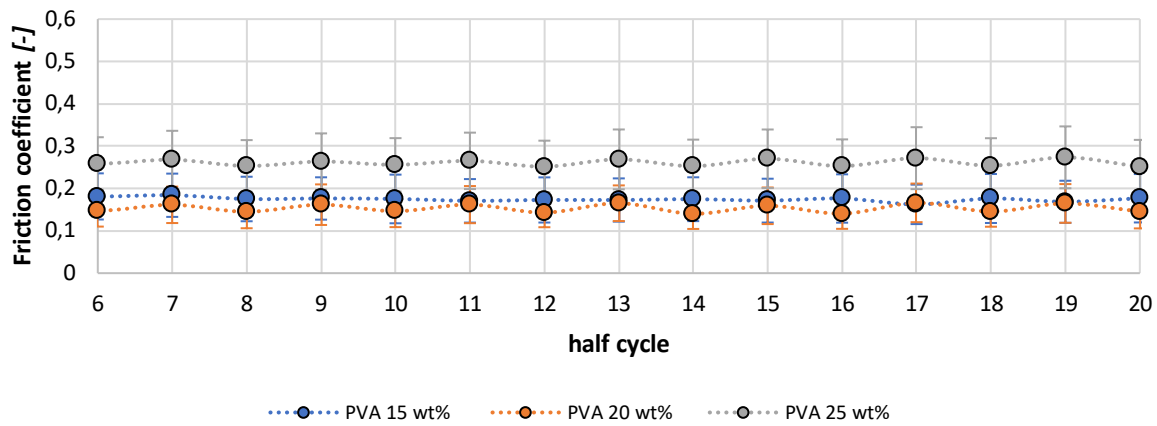


Figura 55: confronto fra coefficienti d'attrito ottenuti considerando la prima parte delle prove, a bassa frequenza (0.05 Hz), imponendo un carico normale di 15 N e con PBS.

Medium frequency - 15 N with PBS

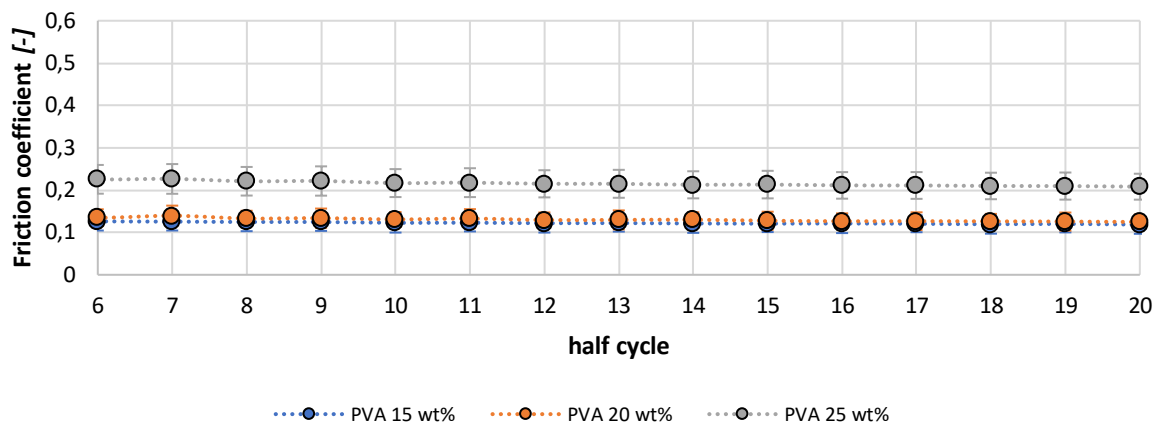


Figura 56: confronto fra coefficienti d'attrito ottenuti considerando la seconda parte delle prove, a media frequenza (0.5 Hz), imponendo un carico normale di 15 N e con PBS.

High frequency - 15 N with PBS

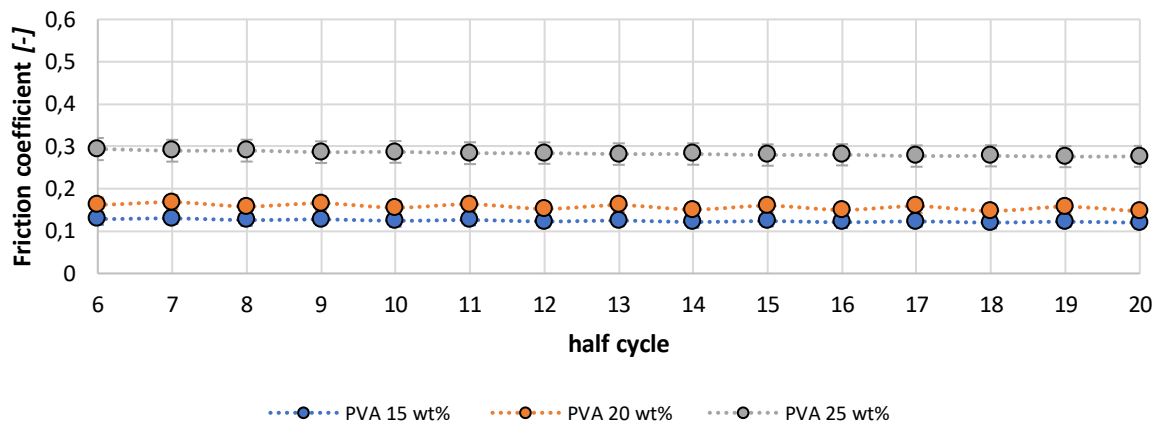


Figura 57: confronto fra coefficienti d'attrito ottenuti considerando l'ultima parte delle prove, ad alta frequenza (2.5 Hz), imponendo un carico normale di 15 N e con PBS.

Low frequency - 20 N with PBS

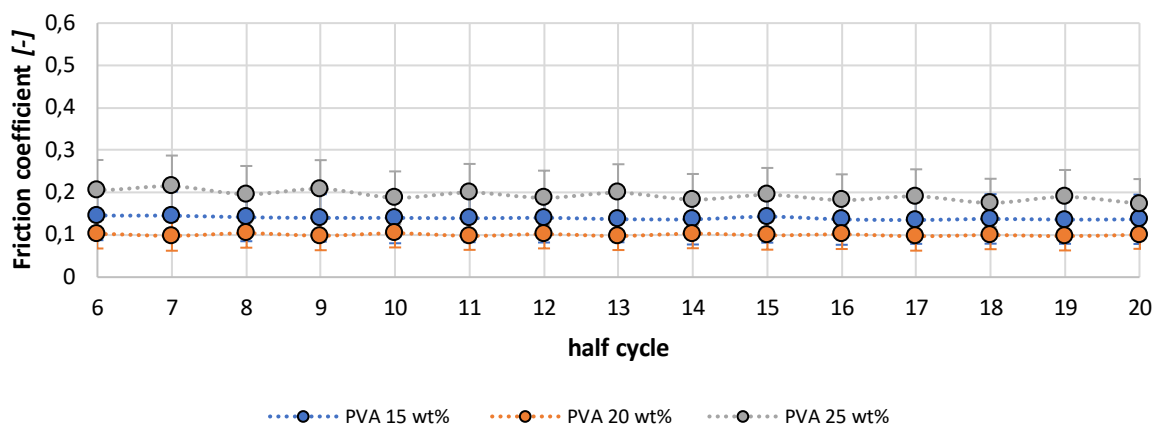


Figura 58: confronto fra coefficienti d'attrito ottenuti considerando la prima parte delle prove, a bassa frequenza (0.05 Hz), imponendo un carico normale di 20 N e con PBS.

Medium frequency - 20 N with PBS

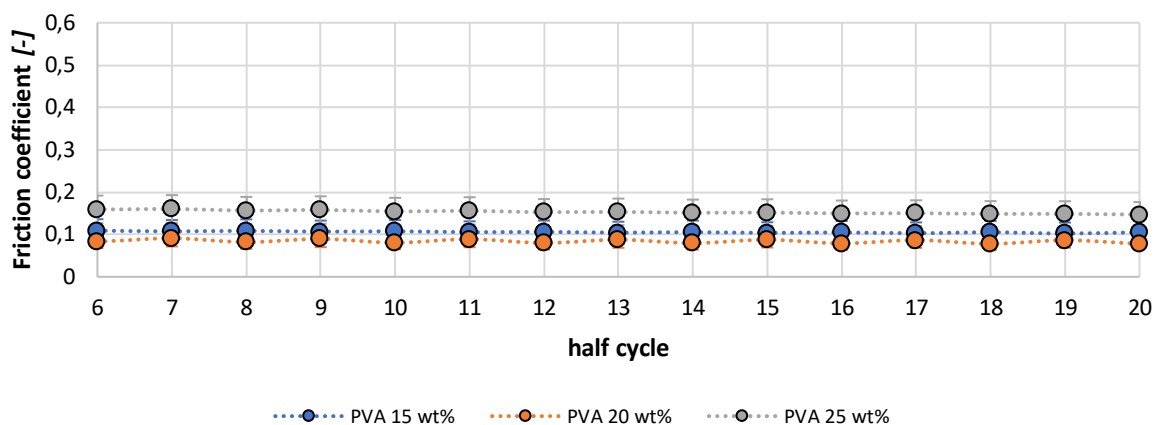


Figura 59: confronto fra coefficienti d'attrito ottenuti considerando la seconda parte delle prove, a media frequenza (0.5 Hz), imponendo un carico normale di 20 N e con PBS.

High frequency - 20 N with PBS

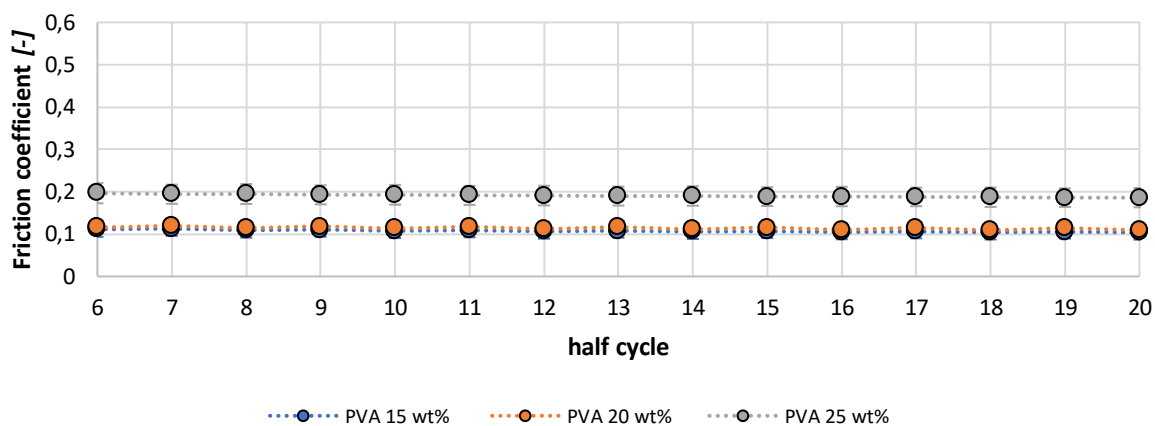


Figura 60: confronto fra coefficienti d'attrito ottenuti considerando l'ultima parte delle prove, ad alta frequenza (2.5 Hz), imponendo un carico normale di 20 N e con PBS.

4.2.3 Effetto della presenza di acido ialuronico sul coefficiente d'attrito

Nelle figure 61, 62 e 63, si riportano i valori del coefficiente di attrito misurato rispettivamente a bassa, media e alta frequenza di spostamento, esclusivamente sul PVA al 15% al fine di confrontare le tre diverse formulazioni di acido ialuronico utilizzato come lubrificante, in condizioni di forza normale pari a 20N. A tutte le frequenze di prova, si può osservare una riduzione del coefficiente di attrito tra la condizione in immersione in soluzione PBS e tutti i casi in cui viene applicato l'HA. Tuttavia, non è possibile riscontrare una differenza in termini di coefficiente d'attrito tra le diverse formulazioni di HA considerate.

PVA 15 wt% 20 N - Low frequency

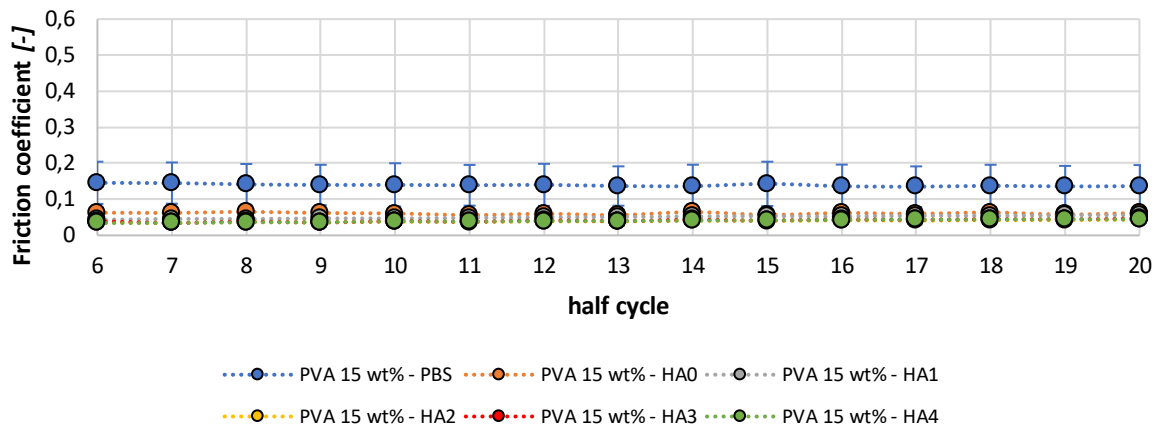


Figura 61: confronto fra coefficienti d'attrito ottenuti considerando la prima parte delle prove (con PBS, HA0, HA1, HA2, HA3 e HA4), a bassa frequenza (0.05 Hz), condotte su PVA 15 wt % e forza normale di 20 N.

PVA 15 wt% 20 N - Medium frequency

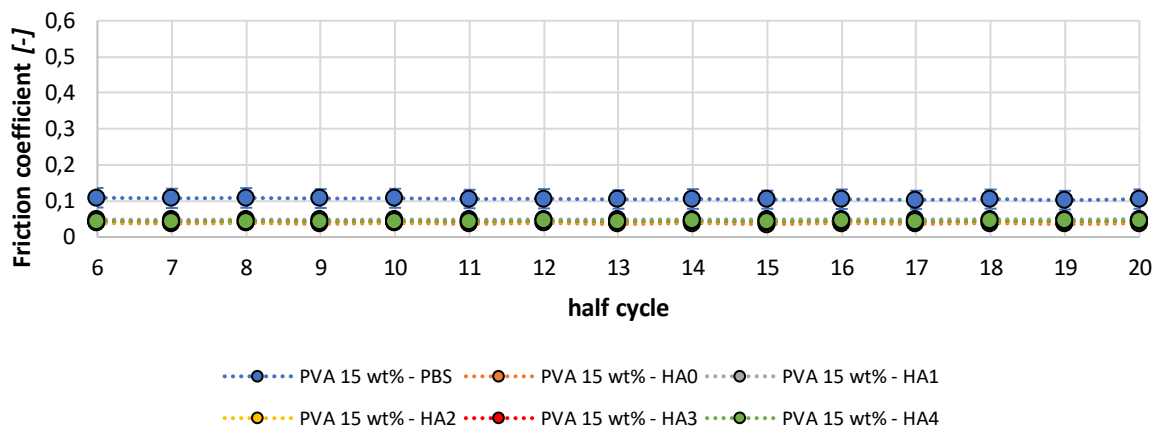


Figura 62: confronto fra coefficienti d'attrito ottenuti considerando la seconda parte delle prove (con PBS, HA0, HA1, HA2, HA3 e HA4), a media frequenza (0.5 Hz), condotte su PVA 15 wt % e forza normale di 20 N.

PVA 15 wt% 20 N - High frequency

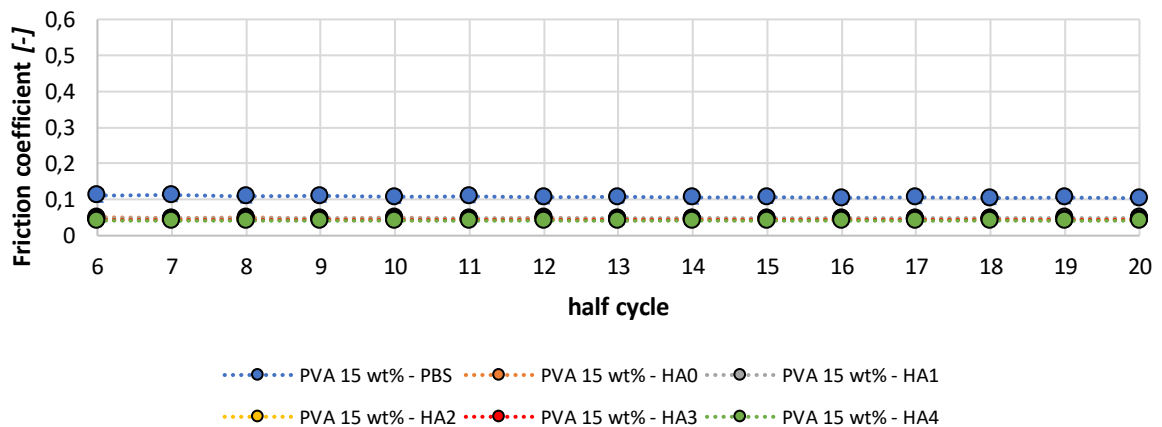


Figura 63: confronto fra coefficienti d'attrito ottenuti considerando l'ultima parte delle prove (con PBS, HA0, HA1, HA2, HA3 e HA4), ad alta frequenza (2.5 Hz), condotte su PVA 15 wt % e forza normale di 20 N.

Discussione e conclusioni

Le lesioni alla cartilagine articolare rappresentano un importante problema clinico. Attualmente, l'obiettivo terapeutico consiste nel trovare un trattamento che possa rallentare il decorso della patologia, nonostante ciò, è altrettanto importante sviluppare trattamenti che possano invertire o bloccare il progredire della lesione oppure ritardare la sostituzione dell'articolazione. In base alla gravità del danno e all'evoluzione della malattia, le tecniche di trattamento in uso sono molteplici.

Dallo studio della letteratura è emerso che, grazie ai progressi fatti in ambito di ingegneria tissutale, sono stati progettati e fabbricati sostituti biocompatibili del tessuto cartilagineo che mirano a riparare, mantenere o migliorare la funzione dei tessuti. A tal proposito, gli hydrogel si sono rivelati tra i polimeri più promettenti per imitare il tessuto cartilagineo. In particolare, il PVA si è distinto per le sue caratteristiche chimiche e meccaniche regolabili e la sua bioattività superficiale.

In questo lavoro di tesi è stato valutato il comportamento tribologico degli hydrogel di PVA attraverso il contatto PVA contro PVA. Più precisamente, sono state eseguite 106 prove d'attrito. Il test è caratterizzato da 3 tre diverse frequenze (0.05 Hz, 0.5 Hz, 2.5 Hz) e dall'imposizione di uno spostamento triangolare continuo a velocità costante. Sono state considerate tre diverse concentrazioni in peso di PVA su acqua (PVA 15 wt%, PVA 20 wt%, PVA 25 wt%), è stato indagato l'effetto esercitato dall'applicazione di quattro forze normali (5 N, 10 N, 15 N, 20 N) e si è osservato l'esito dovuto alla presenza/ assenza di acido ialuronico.

Valutare se tra due capi articolari si sviluppa attrito è importante per diverse ragioni. Innanzitutto, le articolazioni con un basso attrito funzionano in modo più efficiente, permettendo movimenti fluidi. Un attrito elevato, invece, può limitare il range di movimento, così come la funzionalità dell'articolazione. Inoltre, l'attrito eccessivo tra due superfici articolari può portare all'usura della cartilagine, causando danni articolari progressivi, infiammazione dei tessuti circostanti e dolore. L'attrito influisce anche sulla distribuzione delle forze durante il movimento, condizionando l'energia necessaria per compiere i movimenti stessi quindi, mantenere l'attrito al minimo significa garantire un buon comportamento biomeccanico dell'articolazione.

I dati ottenuti dai test sono stati elaborati tramite un codice Matlab sviluppato nell'ambito del presente lavoro di tesi. I coefficienti d'attrito medi sono stati calcolati tramite due diverse modalità di calcolo. La differenza fra le due è data dalla la forza normale utilizzata per ricavare il coefficiente d'attrito. Nel primo caso la forza d'attrito rilevata dalla cella di carico n°3 è stata divisa per una forza normale costante (5 N, 10 N, 15 N o 25 N), nel secondo caso il rapporto è stato eseguito con la forza normale misurata dalla cella di carico n°1 durante la prova, la quale risulta variabile. Successivamente è stata eseguita un'analisi statistica con Prism per confrontare i risultati ottenuti e verificare la presenza o l'assenza di una differenza significativa tra di essi. Infine i coefficienti d'attrito sono stati ulteriormente elaborati su fogli di lavoro Excel.

I risultati ottenuti concordano con quanto riportato in letteratura. Come spiegato da Duque-Ossa et al. [29] e da Li et al. [30], si è osservata una dipendenza del coefficiente d'attrito al carico applicato e alla presenza o assenza di acido ialuronico. Nello specifico i coefficienti d'attrito diminuiscono all'aumentare della forza normale e in caso di presenza di acido ialuronico. Inoltre i coefficienti d'attrito hanno mostrato una dipendenza anche alla frequenza di scorrimento del test. Essi diminuiscono da 0.05 Hz a 0.5 Hz e aumentano successivamente passando da 0.5 Hz a 2.5 Hz. Questo andamento può essere dovuto ad un'instabilità del sistema di prova nel caso di applicazione di spostamenti alternati a diverse frequenze. Nonostante ciò, l'aumento del coefficiente d'attrito registrato dalla media all'alta frequenza è confermato dai risultati ottenuti da Li et al. [31]. Secondo tale studio, questo comportamento è spiegato dalla natura bifasica del PVA e dalla perdita del supporto del carico da parte del fluido interstiziale [31]. Infine, la concentrazione in peso di PVA su acqua che è risultata migliore, in quanto coefficienti d'attrito minori, è stata PVA 20 wt%.

Per avere una conoscenza più completa del comportamento tribologico degli hydrogel di PVA potrebbe essere utile effettuare ulteriori studi che prevedano l'aumento della numerosità delle prove per ogni tipologia di test. Inoltre, si potrebbero calcolare i coefficienti d'attrito che si genererebbero in conseguenza a carichi normali maggiori di quelli studiati in questo progetto e applicati in modo ciclico e non solo continuo. In questo modo si riuscirebbe a simulare il lavoro svolto dalla cartilagine articolare. Infine, per meglio indagare le conseguenze generate in seguito alle prove d'attrito, si potrebbero analizzare le superfici dei campioni di PVA tramite microscopia elettronica a scansione.

Nonostante alcune limitazioni di questo studio, i risultati ottenuti hanno dimostrato che gli hydrogel di PVA in presenza di acido ialuronico presentano un coefficiente d'attrito paragonabile a quello della cartilagine articolare naturale pertanto possono essere considerati validi sostituti del tessuto cartilagineo.

Bibliografia

- [1] F. Centorrino, "Il tessuto cartilagineo," *Microbiologia Italia*. Accessed: Apr. 10, 2024. [Online]. Available: <https://www.microbiologiaitalia.it/didattica/il-tessuto-cartilagineo/>
- [2] G. Garaffo, E. Cottone, P. Pattono, and A. Guastalla, "Atlante di Citologia ed Istologia." Accessed: Apr. 10, 2024. [Online]. Available: <https://www.atlanteistologia.unito.it/page-130a8c.html?xml=connettivi.Cartilagine>
- [3] J. Eschweiler *et al.*, "The biomechanics of cartilage-an overview," *Life*, vol. 11, no. 4, Apr. 2021, doi: 10.3390/life11040302.
- [4] P. Cabitza, G. Mineo, P. Randelli, V. Sansone, and C. Verdola, *Ortopedia*. Esculapio, 2012.
- [5] P. R. LEWIS and C. W. MCCUTCHEN, "Experimental evidence for weeping lubrication in mammalian joints.," *Nature*, vol. 184, p. 1285, Oct. 1959, doi: 10.1038/1841285a0.
- [6] C. W. McCUTCHEN, "Mechanism of Animal Joints: Sponge-hydrostatic and Weeping Bearings," *Nature*, vol. 184, no. 4695, pp. 1284–1285, Oct. 1959, doi: 10.1038/1841284a0.
- [7] C. W. McCutchen, "The frictional properties of animal joints," *Wear*, vol. 5, no. 1, pp. 1–17, Jan. 1962, doi: 10.1016/0043-1648(62)90176-X.
- [8] C. W. Mcutchen, "Boundary lubrication by synovial fluid: demonstration and possible osmotic explanation.," *Fed Proc*, vol. 25, no. 3, pp. 1061–8, 1966.
- [9] C. W. McCutchen, "Joint lubrication.," *Bull Hosp Jt Dis Orthop Inst*, vol. 43, no. 2, pp. 118–29, 1983.
- [10] G. A. Ateshian, "The role of interstitial fluid pressurization in articular cartilage lubrication," *Journal of Biomechanics*, vol. 42, no. 9. pp. 1163–1176, Jun. 19, 2009. doi: 10.1016/j.jbiomech.2009.04.040.
- [11] H. Forster and J. Fisher, "The influence of loading time and lubricant on the friction of articular cartilage.," *Proc Inst Mech Eng H*, vol. 210, no. 2, pp. 109–19, 1996, doi: 10.1243/PIME_PROC_1996_210_399_02.
- [12] H. Forster and J. Fisher, "The influence of continuous sliding and subsequent surface wear on the friction of articular cartilage.," *Proc Inst Mech Eng H*, vol. 213, no. 4, pp. 329–45, 1999, doi: 10.1243/0954411991535167.
- [13] J. Katta, Z. Jin, E. Ingham, and J. Fisher, "Biotribology of articular cartilage-A review of the recent advances," *Med Eng Phys*, vol. 30, no. 10, pp. 1349–1363, Dec. 2008, doi: 10.1016/j.medengphy.2008.09.004.
- [14] S. Jahn, J. Seror, and J. Klein, "Lubrication of Articular Cartilage," *Annu Rev Biomed Eng*, vol. 18, pp. 235–258, Jul. 2016, doi: 10.1146/annurev-bioeng-081514-123305.
- [15] C. J. Bell, E. Ingham, and J. Fisher, "Influence of hyaluronic acid on the time-dependent friction response of articular cartilage under different conditions.," *Proc Inst Mech Eng H*, vol. 220, no. 1, pp. 23–31, Jan. 2006, doi: 10.1243/095441105X69060.
- [16] P. Volpi, L. De Girolamo, and P. Volpi, "Rigenerazione tissutale: applicazioni cliniche nel trattamento della cartilagine articolare Tissue regeneration: clinical application for the treatment of articular cartilage defects," 2010. Accessed: Apr. 11, 2024. [Online]. Available: <https://old.giot.it/article/rigenerazione-tissutale-applicazioni-cliniche-nel-trattamento-della-cartilagine-articolare/>
- [17] J. N. Katz, K. R. Arant, and R. F. Loeser, "Diagnosis and Treatment of Hip and Knee Osteoarthritis: A Review," *JAMA - Journal of the American Medical Association*, vol. 325, no. 6. American Medical Association, pp. 568–578, Feb. 09, 2021. doi: 10.1001/jama.2020.22171.

- [18] Y. Zhang and J. M. Jordan, “Epidemiology of osteoarthritis,” *Clinics in Geriatric Medicine*, vol. 26, no. 3, pp. 355–369, Aug. 2010. doi: 10.1016/j.cger.2010.03.001.
- [19] I. M. Basalo *et al.*, “Cartilage interstitial fluid load support in unconfined compression following enzymatic digestion,” *J Biomech Eng*, vol. 126, no. 6, pp. 779–86, Dec. 2004, doi: 10.1115/1.1824123.
- [20] E. Panuccio, A. Memeo, and S. Richetta, “Evaluation of the combined treatment of oral viscosupplementation with hyaluronic acid intra - articular injection on symptomatic knee osteoarthritis,” *Clinica Terapeutica*, vol. 166, no. 5, pp. 321–326, 2015, doi: 10.7417/T.2015.1886.
- [21] C. J. Bell *et al.*, “Self-assembling peptides as injectable lubricants for osteoarthritis,” *J Biomed Mater Res A*, vol. 78, no. 2, pp. 236–46, Aug. 2006, doi: 10.1002/jbm.a.30672.
- [22] M. Brittberg, A. Lindahl, A. Nilsson, C. Ohlsson, O. Isaksson, and L. Peterson, “Treatment of Deep Cartilage Defects in the Knee with Autologous Chondrocyte Transplantation,” *New England Journal of Medicine*, vol. 331, no. 14, pp. 889–895, Oct. 1994, doi: 10.1056/NEJM199410063311401.
- [23] E. A. Balazs and J. L. Denlinger, “Viscosupplementation: a new concept in the treatment of osteoarthritis,” *J Rheumatol Suppl*, vol. 39, pp. 3–9, Aug. 1993.
- [24] A. Bottiglieri, A. Contini, C. Di Fino, and G. Toro, “La viscosupplementazione,” *LO SCALPELLO-OTODI Educational*, vol. 33, no. 3, pp. 213–219, Dec. 2019, doi: 10.1007/s11639-019-00337-9.
- [25] E. La Paglia *et al.*, “Viscosupplementazione ecoguidata con acido ialuronico ibrido e PRP vs viscosupplementazione nel trattamento della artropatia di giovani pazienti affetti da sindrome da conflitto femoro-acetabolare,” 2017. Accessed: Apr. 11, 2024. [Online]. Available: <https://old.giot.it/article/viscosupplementazione-ecoguidata-acido-ialuronico-ibrido-prp-vs-viscosupplementazione-nel-trattamento-della-artropatia-giovani-pazienti-affetti-sindrome-conflitto-femoro-acetabolare/>
- [26] M. M. Blum and T. C. Ovaert, “Low friction hydrogel for articular cartilage repair: Evaluation of mechanical and tribological properties in comparison with natural cartilage tissue,” *Materials Science and Engineering C*, vol. 33, no. 7, pp. 4377–4383, Oct. 2013, doi: 10.1016/j.msec.2013.06.035.
- [27] S. Barbon *et al.*, “Enhanced biomechanical properties of polyvinyl alcohol-based hybrid scaffolds for cartilage tissue engineering,” *Processes*, vol. 9, no. 5, MDPI AG, May 01, 2021. doi: 10.3390/pr9050730.
- [28] S. Todros *et al.*, “Compressive Mechanical Behavior of Partially Oxidized Polyvinyl Alcohol Hydrogels for Cartilage Tissue Repair,” *Bioengineering*, vol. 9, no. 12, Dec. 2022, doi: 10.3390/bioengineering9120789.
- [29] L. C. Duque-Ossa, G. Ruiz-Pulido, and D. I. Medina, “Triborheological study under physiological conditions of PVA hydrogel/Ha lubricant as synthetic system for soft tissue replacement,” *Polymers (Basel)*, vol. 13, no. 5, pp. 1–15, Mar. 2021, doi: 10.3390/polym13050746.
- [30] F. Li, A. Wang, and C. Wang, “Analysis of friction between articular cartilage and polyvinyl alcohol hydrogel artificial cartilage,” *J Mater Sci Mater Med*, vol. 27, no. 5, May 2016, doi: 10.1007/s10856-016-5700-y.
- [31] F. Li, Y. Su, J. Wang, G. Wu, and C. Wang, “Influence of dynamic load on friction behavior of human articular cartilage, stainless steel and polyvinyl alcohol hydrogel as artificial cartilage,” *J Mater Sci Mater Med*, vol. 21, no. 1, pp. 147–154, Jan. 2010, doi: 10.1007/s10856-009-3863-5.
- [32] S. Todros *et al.*, “Time-dependent mechanical behavior of partially oxidized polyvinyl alcohol hydrogels for tissue engineering,” *J Mech Behav Biomed Mater*, vol. 125, Jan. 2022, doi: 10.1016/j.jmbbm.2021.104966.

- [33] A. A. Galiotto, “Introduzione al Laboratorio di Fisica, gli errori nelle misure sperimentali,” Oct. 2016, Accessed: Apr. 10, 2024. [Online]. Available: <https://sites.google.com/site/aurelioagliologallitto/didattica/ebook>