

ALMA MATER STUDIORUM – UNIVERSITA' DI BOLOGNA

SCUOLA DI INGEGNERIA E ARCHITETTURA

CAMPUS DI CESENA

CORSO DI LAUREA TRIENNALE IN INGEGNERIA BIOMEDICA

TESI DI LAUREA

in

Comportamento Meccanico dei Materiali (LT)

**ANALISI BIOMECCANICA *IN VITRO*
DI SEGMENTI DI RACHIDE TRAMITE
CORRELAZIONE DIGITALE DI IMMAGINI**

Candidato:

Alessio Amicone

Relatore:

Chiar.mo Prof. Luca Cristofolini

Correlatore:

Dott. Ing. Marco Palanca

Sessione III

Anno Accademico

2015/16

*Alla mia famiglia che mi ha sempre
dato la forza di andare avanti...*

Indice

Sommario pag. 7

Abstract pag. 8

Capitolo I – Introduzione

1.1 Il rachide pag. 9

1.2 Anatomia e biomeccanica del rachide pag. 9

1.3 Stato dell'arte sulla caratterizzazione meccanica del rachide pag. 14

1.4 Digital Image Correlation (DIC) pag. 19

1.4.1 Il pattern..... pag. 20

1.4.2 Parametri di regolazione pag. 21

1.5 Cosa manca..... pag. 23

1.6 Obiettivi..... pag. 23

Capitolo II – Materiali e metodi

2.1 Preparazione del provino di rachide di maiale pag. 24

2.2 Preparazione del provino di rachide umano..... pag. 28

2.3 Preparazione del pattern..... pag. 30

2.3.1 Programma di controllo del pattern..... pag. 31

2.4 Descrizione delle prove effettuate sul maiale..... pag. 33

2.5 Descrizione delle prove effettuate sull'umano pag. 35

2.6 Tecniche di misura pag. 36

2.6.1 Programma di controllo della prova rumore pag. 39

Capitolo III – Risultati

3.1 Risultati della prova sul rachide di maiale pag. 40

3.1.1 Risultati in assenza di deformazioni	pag. 40
3.1.2 Flessione anteriore – vista frontale	pag. 40
3.1.3 Flessione anteriore – vista laterale.....	pag. 42
3.1.4 Flessione laterale – vista frontale.....	pag. 43
3.1.5 Flessione laterale – vista laterale	pag. 45
3.2 Risultati della prova sul rachide umano (Flessione anteriore)	pag. 46

Capitolo IV – Discussioni

4.1 Interpretazione dei risultati del rachide di maiale.....	pag. 48
4.2 Interpretazione dei risultati del rachide umano.....	pag. 49
4.3 Come si inserisce in letteratura	pag. 49
4.4 Limiti	pag. 50

Capitolo V – Conclusioni pag. 51

Bibliografia	pag. 52
--------------------	---------

Ringraziamenti	pag. 55
----------------------	---------

Sommario

In questi ultimi anni, diversi studi si sono posti come obiettivo quello di analizzare la biomeccanica del rachide, focalizzandosi sulla valutazione del range of motion e della rigidità dei singoli componenti, quali dischi e vertebre, tralasciando l'aspetto relativo alle deformazioni. Il mio lavoro di tesi si propone di verificare l'applicabilità di un metodo innovativo per la caratterizzazione meccanica, in termini di deformazione, di segmenti di rachide multi-vertebre, oggetto di studio presso il laboratorio dove ho svolto la tesi. Tramite l'utilizzo della Correlazione Digitale di Immagini (DIC), attraverso misure a tutto campo e non invasive, si è riusciti a discriminare gli spostamenti e le deformazioni sull'intera superficie del rachide preso in analisi, affiancando come supporto algoritmi che permettessero un controllo preliminare.

Partendo da un rachide di maiale, applicandogli un pattern bianco su sfondo blu e diverse configurazioni di carico, sono giunto all'implementazione di un metodo di analisi in grado di valutare quantitativamente e qualitativamente lo stato delle deformazioni, per poi applicarlo a segmenti di rachide umano.

In ultima analisi si è arrivati a riconoscere l'importanza di uno studio a tutto campo dei segmenti di rachide, date le diverse distribuzioni di deformazione tra i suoi componenti (vertebre e dischi).

Abstract

In the past years, several studies have focused on the analysis of the spine biomechanics paying particular attention to the range of motion and the stiffness of the single components, such as discs and vertebrae, leaving aside the aspect related to the distribution deformation.

The aim of my Thesis is to check the usefulness and applicability of an innovative method for the mechanical characterisation, in terms of deformations, of multi-vertebrae spine segments.

The use of the Digital Images Correlation (DIC), supported by preliminary-check algorithms, uses full-field and non-invasive measurements, allowing us to detect displacements and deformations all over the surface of the spine segment.

Starting from a porcine spine segments, I applied a white pattern over a blue background. I tested the specimens in different loading scenarios. I managed to apply a new method of analysis able to evaluate both quantitatively and qualitatively the magnitude of the deformations, that could eventually be used with human spine segments.

Having considered all the different strain distributions amongst the spine segments, we recognise the importance of an full-field study of the various components, discs and vertebrae.

Capitolo I

Introduzione

In questo capitolo verrà fatta una breve descrizione relativa alla biomeccanica e all'anatomia del rachide, dei corpi vertebrali e dei dischi intervertebrali; verrà inoltre sottolineata l'importanza degli studi dei problemi associati ad essi.

Verrà poi trattato lo stato d'arte riguardante gli studi relativi alla caratterizzazione meccanica dei segmenti di rachide presi in esame e verranno fatte alcune considerazioni riguardanti l'approccio e la strumentazione principale utilizzati durante il mio studio.

Infine verranno esposti gli obiettivi della tesi.

1.1 Il rachide

Il rachide, in anatomia conosciuto con il nome di colonna vertebrale, è una struttura meccanica del corpo umano, che occupa una posizione dorso-mediale nel torso, di elevata complessità [1]. Le sue funzioni principali sono:

- Funzione di sostegno della testa e del tronco;
- Trasferire le forze in gioco fra la testa, il tronco e le pelvi;
- Consentire la flessibilità del tronco;
- Consentire la flessione e la torsione del tronco;
- Accogliere e proteggere il midollo spinale.

Il rachide è un complesso formato da uno scheletro (la colonna vertebrale), unito da varie articolazioni e rivestito da numerosi muscoli intrinseci ed estrinseci, che gli conferiscono una certa stabilità e mobilità [2]. Si articola con il cranio, le costole e la cintura dell'anca, e fornisce un punto di inserzione ai muscoli del dorso.

1.2 Anatomia e biomeccanica del rachide

Il rachide è costituito da 33 o 34 vertebre e può essere suddiviso in cinque segmenti che formano lo scheletro delle varie parti del corpo (fig.1.1) [2]:

- Segmento cervicale: è la parte più mobile e delicata della struttura vertebrale, composto da 7 vertebre (chiamate C1-C7) che permettono ampi movimenti del collo e della testa. La prima si articola con i condili occipitali del cranio, l'ultima si unisce alla prima vertebra toracica.

- Segmento toracico: è costituito da 12 vertebre toraciche (chiamate T1-T12) situate all'altezza del torace, e si differenziano dalle altre per la presenza di faccette articolari per le coste. Sono quindi più numerose delle cervicali e mano a mano che si scende verso il basso aumentano di dimensione. La prima è unita alla settima vertebra cervicale, l'ultima si articola con la prima vertebra lombare.
- Segmento lombare: è formato da 5 vertebre lombari (chiamate L1-L5) che, essendo soggette ai carichi maggiori, sono le più grandi e hanno la caratteristica forma a cuneo. La prima è articolata con la dodicesima vertebra toracica, l'ultima con l'osso sacro.
- Segmento sacrale: consta di 5 vertebre (chiamate S1-S5), che a differenza delle altre sono fuse tra loro e insieme formano un osso di forma triangolare, l'osso sacro. Questo funge da base della colonna vertebrale e si articola in alto con la quinta vertebra lombare, lateralmente con le ossa dell'anca e in basso con il coccige.
- Segmento coccigeo: è formato da quattro o cinque vertebre coccigee unite a formare il *coccige*, un tratto rudimentale della colonna vertebrale che si articola in alto con l'osso sacro e che, insieme a quest'ultimo e le ossa dell'anca, costituisce lo scheletro della pelvi [2].

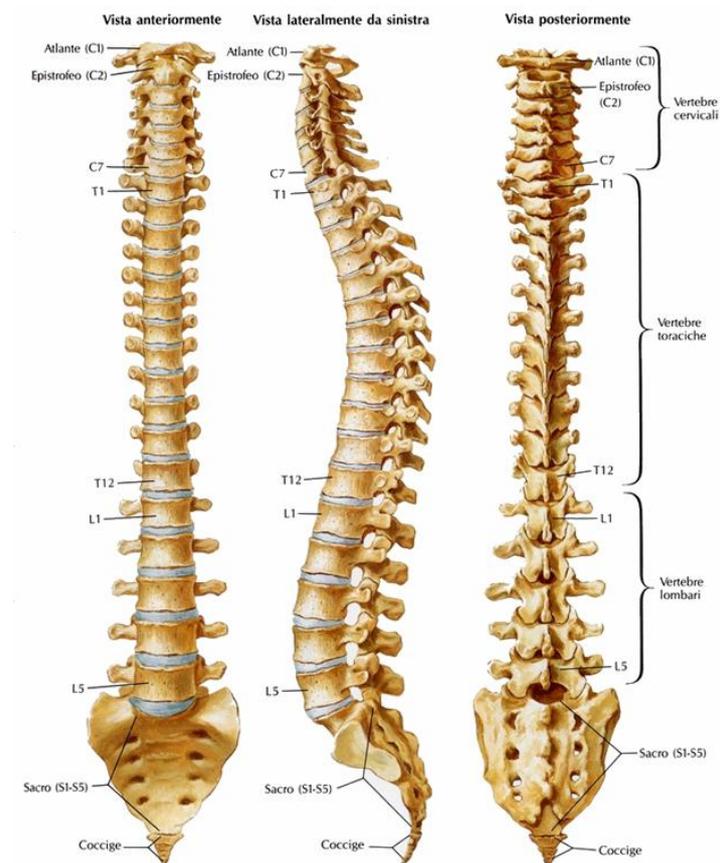


Fig.1.1: viste della colonna vertebrale e distinzione nei 4 segmenti

Come si può osservare dalla figura sopra (fig.1.1), la colonna vertebrale non è rettilinea ma presenta delle curvature sia sul piano sagittale che su quello frontale. Questa caratteristica fa sì che la colonna vertebrale abbia una maggiore flessibilità e una maggiore capacità nell'assorbire gli impatti. Allo stesso tempo permette di mantenere un'adeguata rigidità e stabilità a livello delle articolazioni intervertebrali [3].

In proiezione laterale, infatti, presenta: una convessità anteriore a livello del suo segmento cervicale, *lordosi cervicale*, una convessità posteriore nel segmento toracico, *cifosi dorsale*, una nuova convessità anteriore nel segmento lombare, *lordosi lombare*, un'ultima convessità posteriore nel segmento sacrococcigeo, *cifosi sacro coccigea*.

Nella proiezione anteriore della colonna, invece, è visibile una leggera curva concava a sinistra nel tratto toracico e due curve minori di compenso, concave a destra, nei segmenti cervicale e lombare. Queste curvature vengono definite *scoliosi fisiologica* [2].

Ogni vertebra (fig.1.2) presenta due parti principali: un segmento posteriore, *l'arco* e un segmento solido anteriore, *il corpo*.

I corpi sono sovrapposti l'uno con l'altro, al fine di formare un pilastro solido in grado di supportare il cranio e il tronco. Gli archi, invece, creano uno spazio di forma cilindrica dietro i corpi, che serve a proteggere il midollo spinale, e sono costituiti da:

- 2 peduncoli: attraverso i quali l'arco si mette in giunzione con il corpo
- 2 lamine
- 7 processi: quattro articolari, due trasversi e uno spinoso [4]

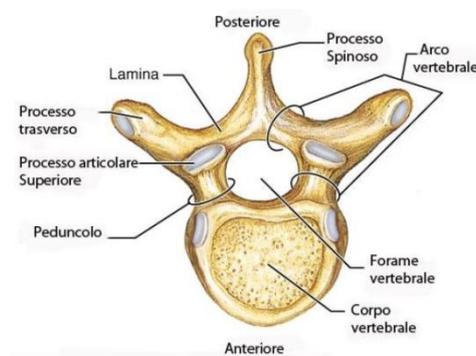


Fig.1.2:vista mediale di una vertebra

Le vertebre, infilate le une sulle altre, sono articolate fra loro grazie ai dischi intervertebrali, i processi articolari e i legamenti.

La presenza dei dischi permette alla colonna movimenti di torsione e di inclinazione nei vari piani. Anatomicamente, ogni disco consta di tre parti (fig.1.3):

- Nucleo polposi: è la parte centrale del disco, costituito principalmente da mucopolisaccaridi fortemente igroscopici (trattengono l'acqua). Il contenuto dell'acqua varia tra il 70% e il 90%. Il suo scopo è quello di rispondere alle sollecitazioni delle forze agenti sulla colonna e distribuirle in modo uniforme all'anello fibroso.
- Anello fibroso: è la struttura che circonda il nucleo, ed è formato da una fibrocartilagine più abbondante di fibre rispetto al nucleo polposi, più ricco di matrice extracellulare, condrociti e acqua. Le fibre sono disposte in strati concentrici che si intrecciano tra di loro. Il suo scopo è quello di contenere e proteggere il nucleo polposi e conferire al disco una grande resistenza alla compressione. In caso di rottura, il nucleo polposi può fuoriuscire dalla propria sede ed erniare all'esterno comprimendo le formazioni contigue (ernia del disco).
- End-plate cartilagineo: rappresenta il limite superiore e inferiore del disco ed è composto da cartilagine ialina e separa il nucleo polposi e l'anello fibroso dal corpo vertebrale.



Fig.1.3: Disco intervertebrale e corpo vertebrale

- Il legamento longitudinale anteriore: è un lungo nastro che aderisce alla faccia anteriore dei corpi vertebrali e in parte ai dischi intervertebrali, dall'osso occipitale fino alla faccia pelvica del sacro (fig.1.4).
- Il legamento longitudinale posteriore: è posto sulla faccia posteriore dei corpi vertebrali, all'interno del canale vertebrale. Si estende dall'osso occipitale fino al canale sacrale (fig.1.4).

Le diverse parti delle vertebre sono unite dai legamenti a distanza, rappresentati dai legamenti gialli, dai legamenti interspinosi, dal legamento sopraspinoso e dai legamenti intertrasversari:

- I legamenti gialli: sono legamenti rettangolari tesi tra il margine inferiore di una lamina vertebrale e il margine superiore della lamina sottostante (fig.1.4). Il loro nome è dovuto al colore che dipende dalla loro ricchezza in fibre elastiche.
- I legamenti interspinosi: uniscono il margine inferiore di un processo spinoso al margine superiore del processo spinoso sottostante (fig.1.4).
- Il legamento sopraspinoso: è un cordone fibroso, teso dall'osso occipitale fino alla faccia dorsale del sacro. Unisce gli apici dei processi spinosi e, in avanti, si fonde con il margine posteriore dei legamenti interspinosi (fig.1.4).
- I legamenti intertrasversari: sono fasci fibrosi che uniscono gli apici dei processi trasversi (fig.1.4).

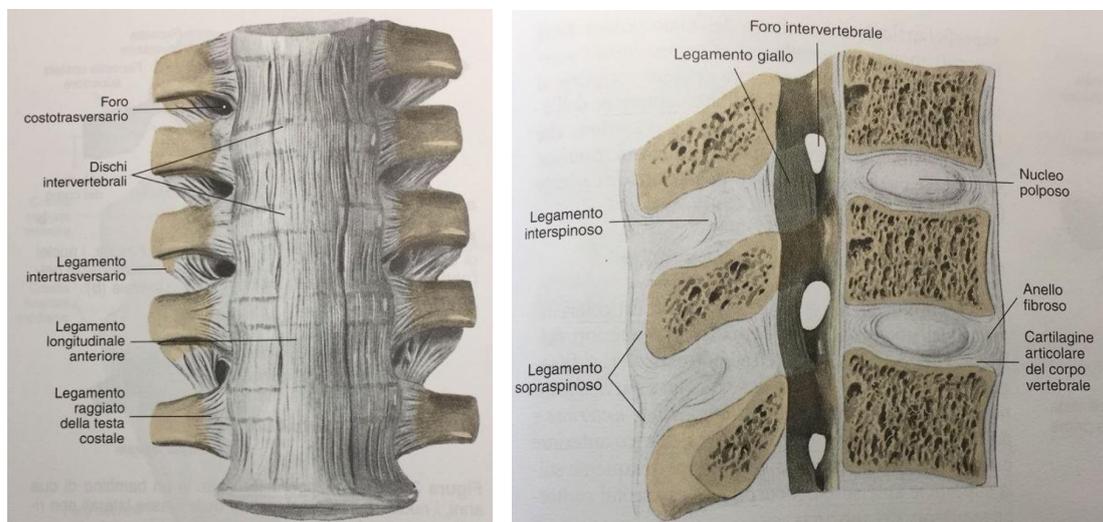


Fig.1.4: A sinistra, faccia anteriore di un segmento di rachide che illustra alcuni dei dispositivi articolari intervertebrali e costo vertebrali. A destra, sezione sagittale mediana dei un segmento di rachide.

Un aspetto di rilevante importanza quando si parla di rachide è la sua biomeccanica, in quanto ogni singolo tratto lavora diversamente dagli altri: ognuno di essi sarà soggetto a carichi di intensità e direzione specifiche oltre che a ROM (Range of Motion) differenti. In particolare i movimenti fisiologici della colonna vertebrale sono i seguenti:

- *Rotazionali*: comprende tutti quei movimenti che la vertebra compie attorno al proprio asse. Tutte le rotazioni producono un cambiamento nell'orientamento della vertebra.
- *Traslazionali*: sono movimenti di piccola entità dell'intera vertebra in una certa direzione.

Complessivamente, la colonna vertebrale risulta più rigida in estensione rispetto alla flessione, vediamo quindi come si comporta ogni singolo tratto.

Il tratto toracico risulta essere meno mobile rispetto a quello cervicale e lombare, questo è ottimizzato per essere rigido, per proteggere gli organi all'interno della cavità toracica e il midollo spinale, e permette inoltre una posizione eretta oltre a facilitare le attività meccaniche della cassa toracica e dei polmoni. Inoltre confrontando il suo tratto superiore con quello inferiore possiamo notare caratteristiche differenti: il primo risulta essere costituito da vertebre simili a quelle cervicali e, rispetto al tratto inferiore, presenta una maggiore rotazione. Ricordiamo che la rotazione assiale è un movimento ampio nel tratto cervicale, ma ridotto in quello lombare. Al contrario il tratto toracico inferiore permette un'ampia flessione-estensione, che aumenta gradualmente nel tratto lombare, il quale supporta i carichi maggiori e permette anche il movimento del tronco.

1.3 Stato dell'arte sulla caratterizzazione meccanica del rachide

La colonna vertebrale, da un punto di vista biomeccanico, è probabilmente la struttura più complessa del sistema muscolo-scheletrico umano e il suo studio è una sfida ancora in corso [5]. Di seguito verrà esposto lo stato dell'arte sulla caratterizzazione meccanica del rachide, tralasciando tutti gli studi fatti su impianti e possibili soluzioni chirurgiche di compensazione o sostegno della colonna vertebrale.

Negli ultimi decenni, sono stati effettuati molti test sulla colonna vertebrale, utilizzando diversi metodi sperimentali, i quali però non sono applicabili per effettuare misure sugli esseri viventi. Per ovviare a questo problema si procede ad un'analisi biomeccanica *in vitro* su segmenti di cadavere.

Definire uno scenario di carico da simulare *in vitro* è uno dei compiti più difficili, e ha un effetto determinante sul risultato del test. L'attività quotidiana induce complessi scenari di carico sulla colonna vertebrale [5]. Pertanto, la misurazione e la valutazione dei carichi *in vivo* nella colonna vertebrale, ha un forte interesse clinico e biomeccanico poiché è necessario per comprendere la distribuzione degli sforzi e indagare varie patologie. Si possono ricavare informazioni riguardo i carichi spinali da una combinazione di parametri cinematici, misurati *in vivo*, e dei modelli matematici [5].

Per i test *in vitro*, vengono utilizzati carichi, il più simile possibile a quelli fisiologici, per cercare di riprodurre le diverse configurazioni di carico normalmente imposte alla colonna vertebrale durante una vita regolare. Nel caso di prove a rottura si applicano carichi elevati, nel caso di prove che prevedono intervalli di carico invece, generalmente si usano dei cicli di

carico di ampiezza costante fino alla rottura [6] e la frequenza con la quale si esercitano i carichi è di 0,5-1 Hz, frequenza simile a quella con cui i carichi vengono impressi alla colonna vertebrale durante il cammino o durante la vita quotidiana.

Le specifiche e le tipologie di campioni utilizzati per le prove *in vitro* presenti in letteratura, sono diverse a seconda dello studio a cui sono finalizzate.

I lavori meccanici svolti si concentrano su tre diverse scale dimensionali:

- Tessuto
- Singola vertebra (intera vertebra, corpo vertebrale isolato oppure privo di *endplates*)
- Segmenti di rachide (due o più vertebre adiacenti)

Ognuno dei livelli appena descritti è finalizzato all'ottenimento di informazioni di vario tipo. Possiamo quindi dire che: a livello tissutale si possono caratterizzare le proprietà meccaniche del materiale attraverso metodologie relativamente semplici, almeno dal punto di vista concettuale (rigidezza, elasticità, tensione di danneggiamento, comportamento viscoelastico quindi modalità di deformazione nel tempo); a livello della singola vertebra sono definibili le proprietà strutturali della stessa; mentre relativamente al segmento di rachide possiamo definire la cinematica complessiva di questo (comprensivo dell'insieme di vertebre, legamenti e dischi) consentendo lo studio di fenomeni assai complessi come, ad esempio, la stabilità della colonna vertebrale.

I test sono accoppiati a differenti tipi di carico in base all'azione simulata e hanno lo scopo di accertare:

- La cinematica della colonna vertebrale: questi protocolli sono generalmente progettati per replicare compiti motori semplici (combinazioni di momenti puri e forze) concentrandosi sul rapporto tra movimento e carichi. Quindi, i risultati forniscono informazioni riguardo alcuni parametri come il ROM (range of motion), gli assi di rotazione comuni, zona neutra e zona elastica.
- Le proprietà meccaniche e strutturali del corpo vertebrale e dei dischi: rigidità, deformazioni, forze e modalità di fallimento sono indagate applicando condizioni di carico semplificate (per esempio, compressione assiale) per garantire un miglior controllo dell'esperimento.
- Il confronto tra le condizioni sane e patologiche (ad esempio, la degenerazione del disco, l'instabilità spinale, l'osteoporosi): questi esperimenti sono anche eseguiti per valutare gli effetti dei trattamenti clinici [5].

I segmenti di rachide, si trovano in letteratura con diversi nomi a seconda del segmento che si utilizza. Andando più nello specifico i segmenti della colonna vertebrale composti da una serie di vertebre adiacenti vengono chiamati unità spinali multi-segmenti (MSU) (fig.1.5) oppure, facendo riferimento a due sole vertebre adiacenti, sono chiamati FSU (Functional Spinal Unit) (fig.1.5) [5]. In entrambi i casi, comunque, a seconda della parte su cui si vuole focalizzare l'attenzione (disco o vertebre), si decide se sono da lasciare intatte tutte le strutture che la circondano (legamenti, dischi e superfici articolari), con l'intento di riprodurre meglio le condizioni anatomiche e, quindi, anche far sì che le condizioni di carico siano le più fisiologiche possibili.

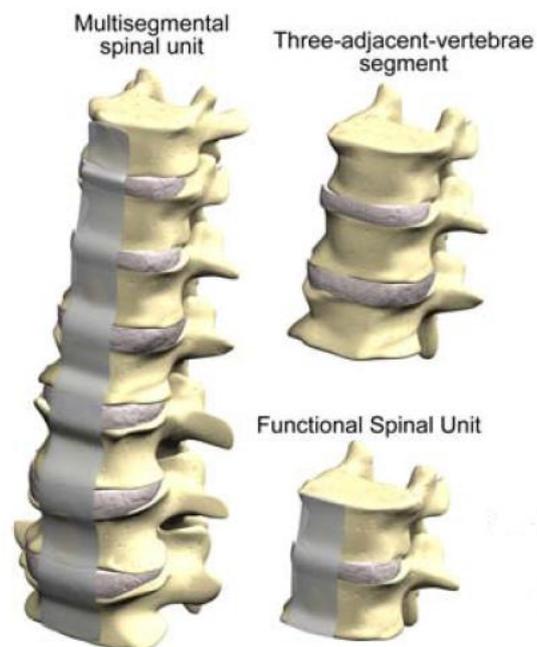


Fig.1.5: Nell'immagine abbiamo: a sinistra MSU, in alto a destra un segmento di 3 vertebre e in basso a destra un FSU

In questo contesto, possono essere usati due approcci complementari per analizzare i vari segmenti:

- Applicando una serie di movimenti noti e misurando le risultanti forze di reazione e momenti. Imponendo quindi una determinata cinematica si possono definire i carichi ad essa associati. Sulla base di quanto appena detto, i movimenti applicati possono essere progettati basandosi su misure *in vivo* non invasive.[7]
- Applicando un insieme di forze e momenti noti e misurare le deformazioni risultanti. In altre parole si impone una forza (solitamente carichi di compressione) al fine di vedere quali movimenti e quali tensioni insorgono. Un grande vantaggio è che i

carichi applicati rimangono costanti, ma per l'effetto viscoelastico il segmento di rachide continua a deformarsi [8].

In letteratura sono presenti opinioni contrastanti sull'applicazione di entrambi gli approcci.

E' stato dimostrato nel corso dei vari studi che per ottenere delle prove ripetibili in diversi laboratori e da differenti operatori, è necessario fissare dei riferimenti sul corpo vertebrale per soddisfare le caratteristiche di ripetibilità (più prove svolte dallo stesso operatore), riproducibilità (prove svolte da operatori diversi) e robustezza (in caso di presenza di deformità della vertebra) [9].

Le procedure attuate per ottenere l'allineamento del rachide sono varie e sfruttano in genere riferimenti a strutture anatomiche (come gli *endplate*, cioè la faccia superiore/inferiore del corpo vertebrale, o il canale spinale).

In alcuni studi [10] si è allineato un segmento di 3 vertebre adiacenti cercando di mettere la parete posteriore della vertebre centrale ortogonalmente al terreno per poi cementare le estremità del provino con PMMA (polimetilmetacrilato) in maniera da garantire il parallelismo delle stesse estremità.

Secondo un altro studio [11], invece, viene utilizzato un segmento più piccolo composto da due vertebre. Qui per l'allineamento si è cercato di tenere orizzontale il disco intervertebrale prima di cementare le estremità del provino con del PMMA.

In recenti studi, vengono usati dei righelli orizzontali, paralleli tra loro, per effettuare l'allineamento nel piano frontale e sagittale, mentre l'allineamento nel piano trasverso, prevede l'identificazione del centro del corpo vertebrale e l'allineamento del processo posteriore [12].

Per quanto riguarda il passo successivo all'allineamento, ossia le prove meccaniche *in vitro* vere e proprie, solitamente in letteratura si trovano una vastità di articoli riguardanti lo studio del range of motion (ROM) e della rigidità (stiffness) complessiva del segmento più o meno esteso di rachide.

In altri studi la colonna vertebrale è stata studiata analizzando, in maniera non simultanea, le deformazioni locali sulle vertebre o sui dischi. Sulle vertebre le deformazioni sono state valutate mediante l'uso di estensimetri, sensori impiegati per la misurazione della deformazione, applicati sul corpo vertebrale: il valore di deformazione ottenuto è molto accurato e preciso, però è limitato solo a quei punti in cui sono stati applicati gli estensimetri [13,14]. Per quanto riguarda i dischi, dato il loro basso modulo elastico, non si possono

misurare mediante l'utilizzo convenzionale degli estensimetri bensì solo attraverso metodi ottici [15,16].

Ulteriori studi hanno analizzato le vertebre mediante l'utilizzo della DIC [17], trascurando però i dischi adiacenti.

In un altro lavoro [18], sempre riferendoci alla distribuzione della deformazione su segmenti di rachide, è stata impiegata una 3D-DIC ad alta velocità per valutare le tensioni sulla parte anteriore di segmenti cervicali di rachide di maiale. Grazie a questo studio si è stati in grado di identificare il picco della deformazione a rottura sulla superficie senza però dare valori riguardanti l'intera superficie del provino.

Per quanto riguarda la preservazione dei tessuti da testare, trattandosi di tessuti di cadaveri, se non venissero trattati con la dovuta cautela, tenderebbero a degradarsi, perdendo le proprietà meccaniche che avrebbero *in vivo* e rendendo tutte le prove prive di significato. Inoltre, soprattutto con campioni di tipo umano, un altro aspetto importante che riguarda la manipolazione dei tessuti cadaverici, è il rischio biologico. Al fine di evitare qualsiasi pericolo potenziale, i campioni alcune volte vengono fissati in formalina. Tuttavia, il fissaggio in formalina potrebbe portare a un grande irrigidimento dei tessuti molli, compresi i dischi [5].

L'utilizzo dei modelli animali presenta diversi vantaggi nei test biomeccanici. Infatti i campioni di cadavere umano sono difficili da ottenere e la loro richiesta è sottoposta a regolamentazioni etiche più severe. C'è, però, da sottolineare il fatto che la struttura e la caratteristica meccanica dei provini animali sono differenti rispetto a quelle umane, sia per il numero delle vertebre che compongono ogni singolo tratto del rachide, che presentano una rete di trabecole più densa ed una massa ossea maggiore rispetto a quelle umane [19] e sia per i carichi a cui vengono sottoposti ciclicamente (prevalenza di compressione nell'uomo in quanto bipede).

Oltre a questi aspetti però, le prove sperimentali sono anche affette da alcune limitazioni intrinseche [5]:

- È difficile misurare lo sforzo/deformazione su tutta la superficie.
- Acquisire ulteriori misurazioni (necessità di un diverso set-up delle prove e di una aggiuntiva strumentazione con conseguente aumento dei costi).

- La disidratazione del campione porta ad una proporzionale distorsione dei risultati della prova, in altre parole più questo risulta disidratato, più i risultati della prova saranno affetti da errore. Per ovviare a tale ostacolo si può innanzitutto idratare il provino, soprattutto nella parte dei dischi che tende a disidratarsi maggiormente rispetto ai corpi vertebrali.

In alternativa il comportamento meccanico di strutture ossee può essere analizzato mediante modelli numerici (principalmente metodi agli elementi finiti (FE)), che hanno il vantaggio di consentire una variazione pressoché infinita di parametri. Questi modelli possono essere ottenuti attraverso una tomografia computerizzata (TC) del segmento osseo da studiare [20]. Questi di solito vengono usati solo per la validazione del modello in esame [5]. Tale integrazione tra modelli agli elementi finiti (FE) e misurazioni in vitro è stata usata anche per indagare la resistenza a fatica, la frattura e la rigidità di un singolo corpo vertebrale [21,22].

In conclusione possiamo dire che la letteratura ha studiato a fondo le proprietà biomeccaniche delle singole vertebre e progressivamente anche degli interi segmenti della colonna vertebrale, utilizzando sia il modello umano che quello animale. Un problema che rimane ancora da risolvere è la determinazione di misure di distribuzioni di deformazione a tutto campo.

1.4 Digital Image Correlation (DIC)

La Digital Image Correlation è una tecnica di misura delle deformazioni a tutto campo, non invasiva. L'applicazione della Digital Image Correlation nel campo biomeccanico è recente ed è in costante crescita grazie alla sua grande flessibilità e potenzialità, permettendo di misurare spostamenti e deformazioni [17]. Il metodo si basa sull'acquisizione di immagini del provino, sottoposto a sollecitazione attraverso un sistema di una o più telecamere. Il software, in seguito all'acquisizione, ha il compito di riconoscere, identificare e "rincorrere" ogni singolo punto sulla superficie del campione nei vari step e, infine, quantificare il valore dello spostamento dei singoli punti durante l'evoluzione della prova. Dalla derivazione degli spostamenti sarà quindi possibile ottenere il campo delle deformazioni.

1.4.1 Il pattern

Per identificare in maniera univoca ogni punto sulla superficie del provino e quindi per avere un corretto riconoscimento di questa, al fine di ottenere una precisa e accurata misura della deformazione è necessario realizzare un pattern avente le seguenti caratteristiche:

- Random, in modo tale da rendere ogni area della superficie del campione univocamente identificabile;
- Ad elevato contrasto, per rendere più efficiente il riconoscimento della superficie del provino;
- Un rapporto bianco-nero pari al 50% [23].

Il pattern bianco su nero o nero su bianco è quello più utilizzato. Si ricopre quindi la superficie del provino con un colore chiaro (solitamente bianco) e si realizza il pattern di colore scuro (solitamente nero); è anche possibile invertire questa scelta cromatica e lavorare con altri colori che garantiscono un alto contrasto.

E' di particolare rilevanza la dimensione degli *speckle* che compongono il pattern (in relazione alle dimensioni del campione), poiché la loro dimensione va ad influire sull'accuratezza della misura; se questo fosse troppo piccolo, minore del pixel, porterebbe alla perdita di movimenti minori al pixel, di conseguenza si "muoverà" all'interno dell'area del pixel senza modificare l'intensità luminosa; uno *speckle* troppo grande, maggiore delle dimensioni della *facet* (sottodomini di pixels di dimensioni NxN), causa, invece, decorrelazioni.

La dimensione ideale dei punti di *speckle* corrisponde a 3-5 volte un pixel, ne consegue che la dimensione di ognuno di questi sul provino varia ogni volta che cambia la risoluzione delle telecamere e la grandezza della finestra di misura [24]. Infatti, a parità di risoluzione del sensore, maggiore è la misura della finestra, maggiore è l'area corrispondente coperta da ciascun pixel.

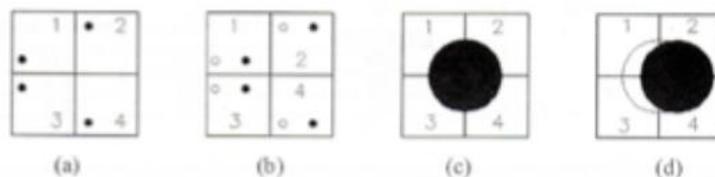


Fig.1.6 : Dimensioni degli speckle rispetto ai pixels. Nei casi a) e b) la deformazione del provino comporta un movimento degli speckles ma non la variazione dell'intensità dei pixel; nei casi c) e d) la deformazione del provino modifica l'intensità luminosa dei singoli pixels, è così possibile osservare spostamenti inferiori al pixel.

Si può calcolare la dimensione caratteristica degli *speckles* (L) prendendo in considerazione la finestra di misura e la risoluzione del sensore fotografico. Una volta definito il fattore di ingrandimento (M), dato dal rapporto tra i pixels presenti sul lato maggiore del sensore e la dimensione in mm della finestra di misura:

$$M = \frac{\text{pixels lato maggiore ccd}}{\text{dimensioni mm finestra di misura}} = \left[\frac{\text{pixels}}{\text{mm}} \right]$$

si ottiene la dimensione caratteristica degli *speckles* (L), pari al rapporto tra il numero di pixels che ricopre sul sensore della videocamera ogni *speckle* ed il fattore di ingrandimento:

$$L = \frac{P}{M} = \left[\text{pixels} \frac{\text{mm}}{\text{pixels}} \right] = [\text{mm}]$$

Al fine di facilitare il riconoscimento del pattern realizzato, alle telecamere, si può illuminare il provino con luce bianca, LED o alogena.

1.4.2 Parametri di regolazione

Solitamente le immagini sono in scala di grigi, al fine di ottenere un miglior contrasto, una maggiore sensibilità e minori tempi di calcolo. In base al livello dell'intensità riflessa, nei sistemi a 8 bit ogni pixel può assumere un valore da 0 a 255.

Per ottenere un buon risultato da questa tecnica di misura, c'è bisogno di adattare ad ogni applicazione un certo numero di parametri [23]:

- *Facet size*: dimensione, in pixels, dell'area dei riquadri che suddividono il fotogramma;
- *Grid spacing*: dato che le singole *facet* non sono poste una di fianco all'altra, ma è prevista una sovrapposizione, il *grid spacing* rappresenta distanza tra due *facet* consecutive; questa sovrapposizione determina un'area di sovrapposizione, detta *overlapping area* (fig.1.7).

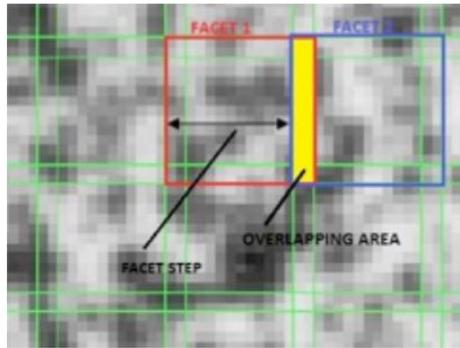


Fig.1.7 : suddivisione dell'immagine in facet

- *Strain computation window*: (tipicamente più larga della singola *facet*) usata per derivare il campo di deformazione su un'area maggiore, per cercare di ridurre il rumore;
- *Filtering*: filtro ,talvolta applicato alle diverse fasi di correlazione per ridurre il rumore [23]. Nello specifico il parametro denominato *Contour Smoothing* indica il numero di punti di calcolo consecutivi che si utilizzano per filtrare gli spostamenti; può essere sia disabilitato ma anche presente, e non presenta un valore di default ma viene ottimizzato in base alla specifica applicazione (solitamente 5x5 e 9x9 [25]).

Ogni *facet* è caratteristica dell'insieme di pixels che racchiude e sovrapponendole si avranno più punti rappresentativi ravvicinati. La dimensione della *facet* deve essere definita in base:

- alla dimensione del provino (o in base al *field of view*)
- alla dimensione degli *speckles*
- ai gradienti di deformazione che ci aspettiamo in base alle condizioni di carico e in base all'anatomia [23].

La grandezza della *facet* comporta alcune conseguenze quali: accuratezza e dettaglio della misura, riduzione del rumore e tempi di calcolo. Nel caso di una *facet* grande si avrebbe una buona accuratezza, una riduzione del rumore ma non si vedrebbero gli effetti locali, comportando quindi una perdita di risoluzione [23]. E' quindi applicabile nei casi in cui ci aspetta un campo di deformazione omogeneo con gradiente degli spostamenti costante.

Al contrario, una *facet* piccola permette di vedere gli effetti locali ma non filtrerà il rumore, ed è quindi utilizzabile in quei casi in cui si riscontrano dei forti gradienti degli spostamenti. I tempi di calcolo aumentano con la dimensione della *facet* ma, il fattore determinante per quanto riguarda il tempo di calcolo risulta essere il valore della *grid spacing*.

1.5 Cosa manca

La colonna vertebrale è una delle strutture più complesse del corpo umano ed è spesso studiata a causa del suo tasso di mortalità legato alle sue patologie. I test biomeccanici *in vitro* sulla colonna vertebrale sono solitamente focalizzati solo sulla valutazione del *range of motions* (ossia dei gradi di libertà permessi, quindi dei movimenti) e della rigidità nelle differenti condizioni cinematiche (estensione, flessione, torsione, ecc.) e per diverse condizioni del rachide (fisiologiche, patologiche, ecc.). Quello che però manca, è una quantificazione della distribuzione delle deformazioni sulla sua superficie, sia in termini di tessuti rigidi (quindi sulle vertebre) sia in termini di tessuti molli (sui dischi intervertebrali), per meglio comprendere il suo comportamento. Alcuni studi hanno cercato di descrivere la deformazione sulle vertebre e sui dischi, ma separatamente, senza considerare una visione a tutto campo.

1.6 Obiettivi

In questo studio ci siamo posti l'obiettivo di esaminare l'applicabilità della Digital Image Correlation per l'analisi, a tutto campo, di segmenti di rachide multi-vertebre, sia di maiale che umane, ponendo particolare attenzione ai tessuti molli (dischi intervertebrali) al fine di ottenere un sistema innovativo per la caratterizzazione meccanica di segmenti ossei *in vitro*.

Questo progetto prevede la preparazione di segmenti di rachide a partire dal provino grezzo, per poi proseguire con la pulizia del campione al fine di preparare un pattern stocastico di *speckles* bianchi su sfondo blu che ricopra i tessuti rigidi e molli. Sottoponendo il campione a differenti condizioni di carico simili a quelle fisiologiche (flessione anteriore e laterale per i campioni di maiale e flessione anteriore per i campioni umani), si analizzeranno i segmenti di rachide mediante l'uso della DIC, ponendo particolare attenzione alle deformazioni superficiali.

Inoltre, dato che la qualità delle misure di deformazione ottenute tramite la DIC dipendono fortemente dalla qualità del pattern sulla superficie del campione [23], svilupperò, sulla base di precedenti studi, un algoritmo in Matlab (Math Works Inc, Natick, Massachusetts, USA) che mi permetta di verificare la qualità del pattern, misurando la dimensione media degli *speckles*. Infine, per far fronte agli errori in assenza di deformazioni e di spostamenti rigidi reali, realizzerò un programma, sempre usando Matlab, per l'analisi del rumore in condizione di *zero-strain*.

Capitolo II

Materiali e metodi

Qui di seguito verranno esposti i diversi strumenti e procedimenti utilizzati presso il laboratorio di biomeccanica dell'università, al fine di ottenere un metodo ripetibile e modulare per la caratterizzazione biomeccanica di segmenti ossei.

2.1 Preparazione del provino di rachide di maiale

In questo studio sono stati utilizzati segmenti di rachide di maiale provenienti dalla catena alimentare conservati a -28°C prima della preparazione e prima di essere testati. Gli animali erano tutte di sesso femminile, della stessa razza, di circa 9 mesi e 100kg al momento della morte.

I segmenti consistevano di quattro vertebre toraco-lombari (T7-T10/T11-T14/L2-L5) e tre dischi. I muscoli, il legamento longitudinale anteriore, il periostio e le costole (dove sono presenti) li ho accuratamente rimossi utilizzando strumenti chirurgici (fig.2.1), senza danneggiare i corpi vertebrali e i dischi intervertebrali.

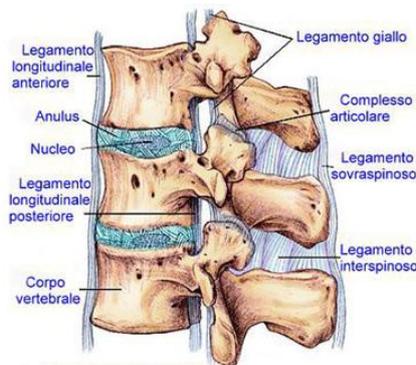


Fig.2.1 : Strumenti chirurgici [26]: in alto, a. pinza kocher curva, b. porta-aghi, c. mosquito dentate, d. pinza anatomica, e. cucchiaio chirurgico , f. bisturi, g. guanto di maglia. In basso, una riproduzione dei legamenti del rachide

Invece sono stati lasciati il legamento interspinoso, quello sopraspinoso, i legamenti longitudinali posteriori, e le capsule al fine di preservare la cinematica naturale durante le prove. (riferimento alla fig.2.2)

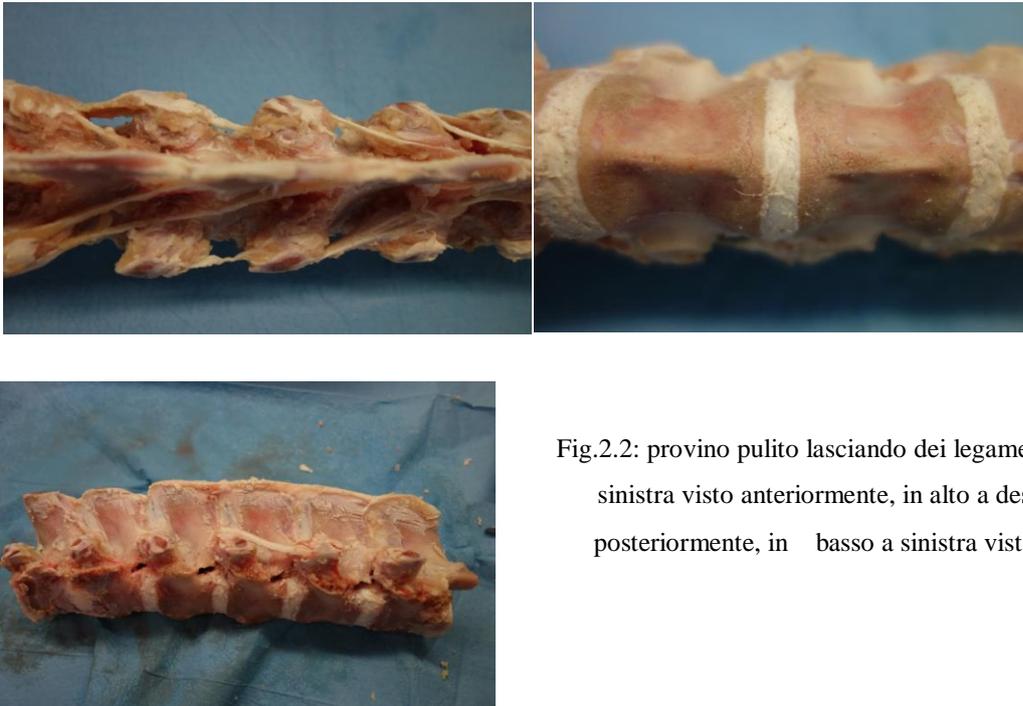


Fig.2.2: provino pulito lasciando dei legamenti, in alto a sinistra visto anteriormente, in alto a destra visto posteriormente, in basso a sinistra vista laterale

Successivamente i campioni sono stati allineati adattando un metodo già esistente, affinché si potessero comparare i risultati dei test meccanici sotto le stesse condizioni di carico.

Per un allineamento stabile, ho utilizzato un posizionatore a sei gradi di libertà (6 DoF) (fig.2.3), in modo che il disco centrale di ogni segmento fosse stato allineato orizzontalmente nelle viste frontali e laterali [27].



Fig.2.3: posizionatore a 6 gradi di libertà

Posso riassumere i passi principali del processo di allineamento nei seguenti punti (fig.2.4):

1. Il campione è stato bloccato con il 6 *DoF* con l'estremità caudale in alto (bloccata dalla carta vetrata) e il lato anteriore del rachide in vista. Il provino, nel mio caso, era costituito da quattro vertebre, ed è quindi stato preso il disco centrale come riferimento (oppure nel caso più generale si considera il disco più vicino alla parte che si vuole studiare).
2. Il disco intervertebrale centrale deve essere allineato con il piano orizzontale. A questo proposito è stato utilizzato un "truschino" per misurare la metà del disco intervertebrale sia a destra che a sinistra. Per avere l'altezza uguale in ambedue i lati, sono state sfruttate le manopole del posizionatore per ruotare il campione.
3. Il disco centrale deve essere allineato anche sull'asse sagittale e per fare questo, abbiamo usato un set di righelli, squadre e calibro ripetendo poi il procedimento precedente.



Fig.2.4 : Processo di allineamento: scegliamo la parte del provino che vogliamo analizzare e poi allineiamo il disco intervertebrale con il piano orizzontale (punti 1,2,3)

A questo punto abbiamo creato le due basi di cemento parallele tra loro, cementando i due endplates estremi del provino in colate di resina indurente all'interno di pots, per permettere il montaggio sul setup presente in laboratorio.

I *pots* sono stati costruiti in modo tale da avere la stessa dimensione (per esempio di dimensioni 62mm x 62mm) (fig.2.5).

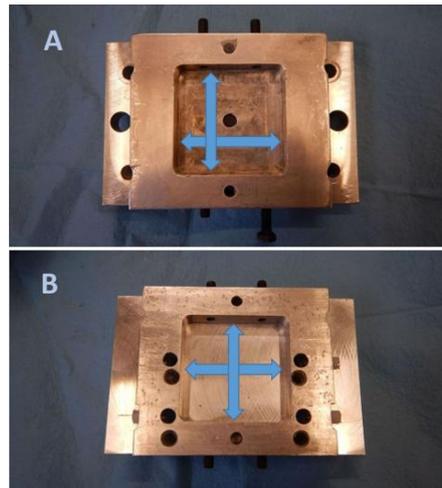


Fig.2.5: I due pots differenti aventi un'area quadrata. Sono intercambiabili in quanto hanno la stessa dimensione. Il pot A ha il foro centrale per facilitare la rimozione del cemento.

Per la preparazione del cemento (resina Tectrasp, Tecmet 2000, Milano, Italia) sono state utilizzate le seguenti proporzioni:

- 40 mg di polvere di resina
- 20 mg di liquido indurente (monomero)

Dopo aver preso le giuste quantità di resina e di liquido indurente, queste sono state mescolate tra loro, facendo attenzione a non includere aria. Per evitare l'eventuale formazione di bolle l'indurente è stato versato sulla resina. Il cemento è stato poi colato velocemente all'interno del pot (precedentemente ricoperto di spray distaccante), dove la vertebra veniva lasciata annegare.

Non appena il cemento si è indurito e asciugato, il rachide è stato liberato dalla morsa del posizionatore e lo stesso procedimento è stato eseguito per l'altro endplate: infatti è stata cementata anche la parte caudale ruotando di 180° il provino (parte craniale in alto) e seguendo il procedimento appena descritto (vedi fig.2.6).

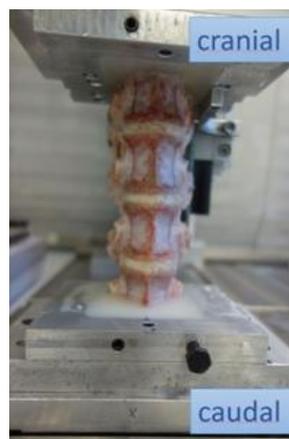


Fig.2.6 : Campione cementato

2.2 Preparazione del provino di rachide umano

Una volta messo a punto il metodo, ci siamo concentrati sull'essere umano per ovvie ragioni di interesse. Infatti la caratterizzazione della colonna vertebrale umana riveste un ruolo fondamentale in biomeccanica, poiché potrebbe aiutare i medici e gli ingegneri per la progettazione di impianti con una maggior probabilità di successo [33,34].

Il segmento di rachide T11-L2 (fig.2.12) è stato ottenuto nel rispetto del programma internazionale di donazione alla scienza. Il donatore, di sesso maschile, età di 49 anni, e un peso di circa 90 Kg, non soffriva di patologie muscolo scheletriche.

I processi di preparazione relativi a tale provino sono analoghi quelli sopra descritti, anche se hanno richiesto molta più attenzione e cura, data la difficile reperibilità dei provini, la fragilità, molto spesso legata a fattori riconducibili all'età del donatore, ed infine il rischio biologico di contaminazione.



Fig.2.12: Segmento di colonna vertebrale umana in fase di pulizia

Una volta isolato il segmento di rachide di nostro interesse, anche su questo provino sono stati rimossi tutti i tessuti molli intorno al corpo vertebrale, senza però danneggiare i tessuti dietro l'arco posteriore, specialmente i legamenti.

Il campione è stato allineato con i dischi intervertebrali disposti orizzontalmente e le estremità sono state cementate nella resina acrilica. Infine, anche in questo caso, è stato preparato uno specifico pattern bianco su sfondo blu (lo sfondo preparato come nel caso del maiale con una soluzione di blu di metilene e il pattern con una vernice a base d'acqua spruzzata con una pistola aerografo) [28], adatto per grandi (dischi intervertebrali) e piccole (vertebre) deformazioni, per misurare queste con la Digital Image Correlation (DIC). (fig.2.13)

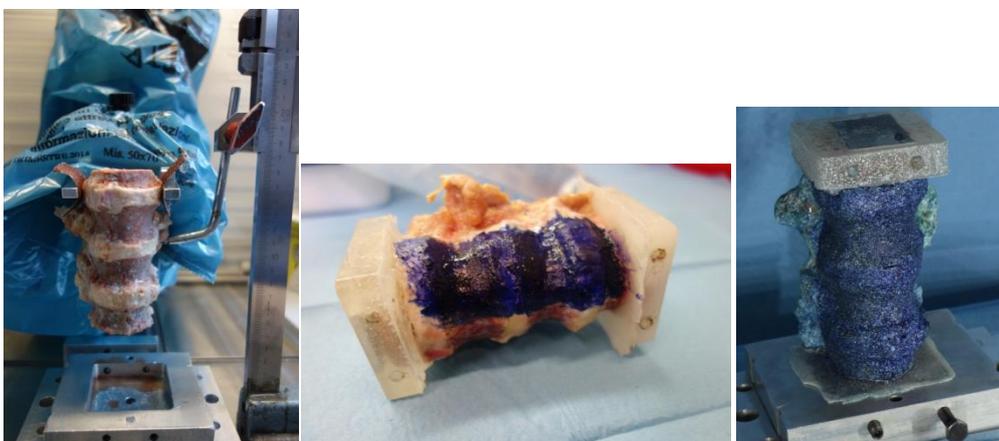


Fig.2.13: in sequenza a partire da sinistra abbiamo il processo di allineamento del campione, poi il processo di preparazione dello sfondo di blu di metilene e infine il provino con il pattern

2.3 Preparazione del pattern

Una volta solidificato il cemento, affinché la Digital Image Correlation acquisisse l'intero segmento di rachide (sia vertebre che dischi), è stato fatto un pattern ad alto contrasto bianco su blu [23]. E' stato preparato prima uno sfondo scuro colorando con un pennello i segmenti della colonna vertebrale con una soluzione di blu di metilene ed acqua (in proporzione 4g di blu di metilene per 100 ml di acqua). E' stato scelto il blu di metilene poiché, penetrando nei tessuti, impedisce la delaminazione e lo sgretolamento dello strato di fondo delle classiche vernici [29,30].

Dopo aver effettuato più applicazioni al fine di ottenere uno sfondo uniforme (3 volte sui dischi e 5 sulle vertebre), si è passati alla preparazione degli *speckles*. Tramite una pistola aerografo ad aria compressa (AZ3 HTE 2, Antes Iwata, Torino, Italia) è stata poi spruzzata una vernice bianca a base d'acqua (Bianco Opaco, Chrèon, Italia) che è stata diluita con 40% d'acqua.

E' stato però dimostrato che l' applicazione del blu di metilene sui legamenti aumenta la loro rigidità dello 0,8%, e la deposizione sul modello della vernice bianca aumenta ulteriormente la rigidità all'1,7% [31].

Per rendere ripetibile e riproducibile il processo, i possibili parametri di regolazione dello strumento, ossia la pressione di erogazione, la portata di vernice e l'apertura del ventaglio (tutti comandi a vite continui), sono stati discretizzati già in studi precedenti numerando i giri della ghiera dalla posizione di tutto chiuso (fig.2.7). In questo modo si ha la possibilità di impostare i parametri desiderati durante le varie prove in maniera univoca tra i diversi operatori. Nei nostri esperimenti la distanza di spruzzatura (di circa 300mm) e la pressione (100 000 KPa) sono state ottimizzate [31] in modo da ottenere una media desiderata della grandezza dei *dots* (0,18 mm) con una piccola deviazione standard.



Fig.2.7 : discretizzazione dei comandi continui della pistola aerografo

E' stata fatta asciugare la vernice sul provino (fig.2.8) per poi effettuare la prova meccanica. Prima di iniziare la prova, ho analizzato la qualità del pattern con un algoritmo da me ideato

in Matlab (Math Works Inc, Natick, Massachusetts, USA) per calcolare la media e la deviazione standard della dimensione media degli *speckles*.

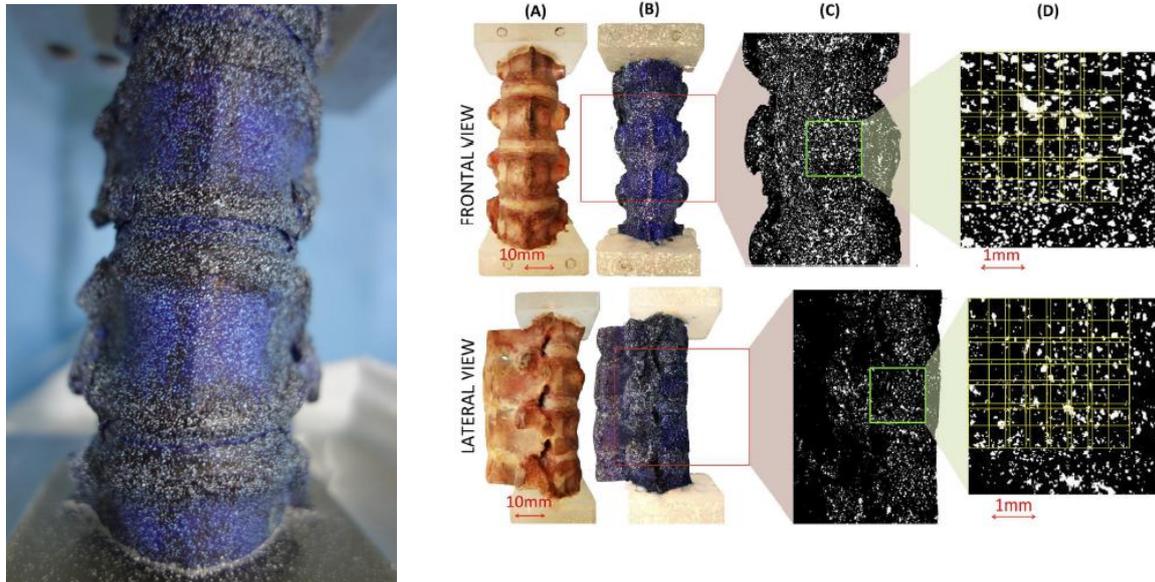


Fig.2.8 [32] : a sinistra vediamo un primo piano del provino di maiale verniciato, a destra invece abbiamo una panoramica in diverse scale dimensionali della preparazione e dell'analisi dei provini. Il rachide di maiale è stato pulito rimuovendo tutti i tessuti circostanti (A), è stato preparato il pattern bianco su sfondo nero (B): la finestra rossa rappresenta l'area di interesse analizzata dalle telecamere della DIC. Sono state poi generate delle immagini binarie della regione di interesse (che ricopre il disco centrale e le due vertebre adiacenti) per valutare la dimensione degli *speckles* bianchi (C). La *facet size* e la *grid spacing* (linee gialle) possono essere comparate alla dimensione dei *dots* nell'immagine binaria (D).

2.3.1 Programma di controllo del pattern

Per verificare la qualità del pattern fatto, è stato sviluppato un algoritmo in Matlab (Math Works Inc, Natick, Massachusetts, USA). In particolare si è cercato di verificare la dimensione degli *speckle*, il contrasto e il rapporto tra bianchi e neri. Sono stati scritti due programmi: uno per il pattern bianco su uno sfondo nero e uno per il pattern nero su uno sfondo bianco.

In entrambi l'immagine, registrata a 8 *bit* (i valori di ogni *pixel* possono variare tra 0 e 255) viene trasformata in un'immagine rispetto al valore medio dei toni di grigio (threshold) (fig.2.9).

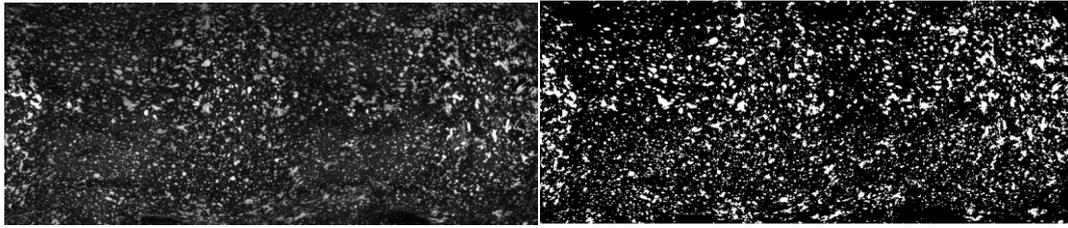


Fig.2.9: immagine ad 8 bit e, dopo il filtraggio, immagine binaria
(pattern bianco su background nero)

La differenza tra i due programmi è che nel caso di pattern nero su sfondo bianco, dato che in seguito è stato usato uno specifico comando per identificare i punti bianchi su un background scuro, è stato implementato un ciclo for per trasformare i punti neri in punti bianchi e viceversa. (fig.2.10)

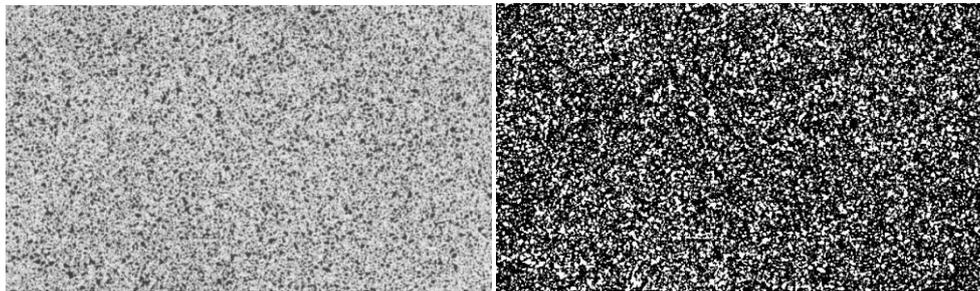


Fig.2.10:immagine ad 8 bit e, dopo il filtraggio, immagine binaria
(pattern nero su background bianco)

Nell'immagine ottenuta si calcola tramite un opportuno comando l'area delle zone bianche, considerando che ogni pixel è rappresentato da un quadrato (infatti il comando permette di calcolare solo l'area di ogni macchia bianca, identificata dal numero binario 1, senza considerare quella delle macchie nere, identificata dal numero binario 0).

La fase successiva del programma consiste nell'identificare, partendo dall'area, la dimensione in pixel di ogni lato di ogni *speckle* e, sapendo dalla letteratura che il valore minimo ottimale di *speckle* corrisponde a circa 3-5 *pixels*, vedere, quindi, se il pattern eseguito è adeguato per il nostro scopo. A questo punto si determina il valor medio e la deviazione standard delle dimensioni degli *speckle*. Possiamo così definire sia la dimensione media degli *speckle*, e sia la loro deviazione standard e renderlo immediatamente fruibile mediante un istogramma (fig.2.11), che indica quale sia la dimensione dello *speckle*, in pixel, maggiormente presente e quanto sia variabile all'interno del fotogramma stesso.

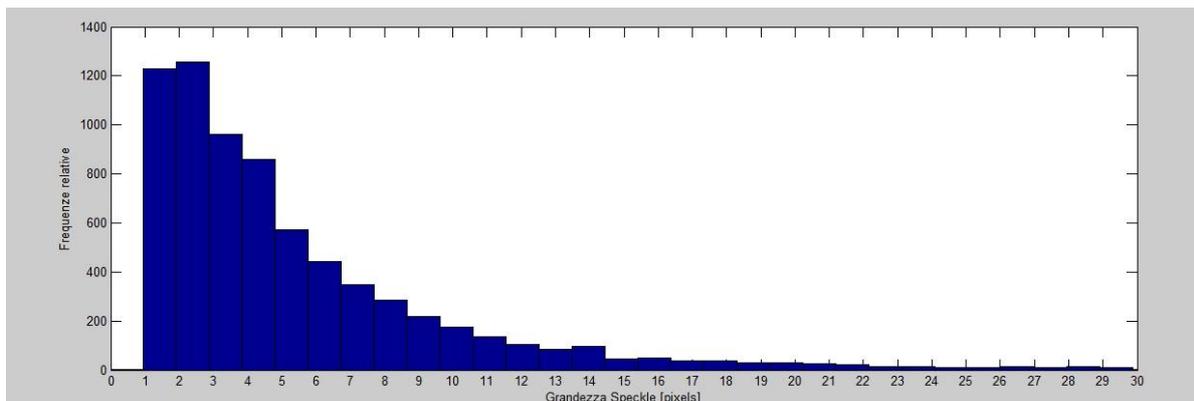


Fig.2.11: Nel grafico è riportato un esempio di istogramma che rappresenta la diversa frequenza delle diverse dimensioni degli speckle. Infatti in ascissa troviamo la dimensione degli speckle, in ordinata la frequenza con la quale si presentano speckle della stessa dimensione. Questo permette di individuare il picco e capire quanto stretta è la distribuzione.

2.4 Descrizione delle prove effettuate sul maiale

Illustrata la preparazione del provino si passa ora alla descrizione delle prove meccaniche.

Per effettuare le prove di caratterizzazione meccanica su segmenti ossei, è stata utilizzata una macchina di prova uni assiale (8032, Instron, High Wycombe, Regno Unito) composta da una pressa oleodinamica, la quale permette di comandare un carico o uno spostamento uniassiale. La pressa idraulica (oleodinamica) sfrutta la pressione di un fluido (olio idraulico) per sviluppare una forza, nel nostro caso di compressione.

Per misurare il carico imposto dalla pressa al provino è necessario interporre fra il provino e la macchina di prova, una cella di carico. Nel nostro studio abbiamo utilizzato una cella di carico della Instron GmbH che misura massimo 25kN in prove dinamiche.

Il set up della macchina è stato impostato in modo da essere isostatico. In particolare al fine di evitare la trasmissione di altre componenti indesiderate di carico, la rotazione libera del piatto di carico è stata consentita in un'unica direzione mediante un giunto sferico in grado di muoversi su una rotaia. Contemporaneamente le traslazioni orizzontali libere sono state garantite per mezzo di due cuscinetti lineari a basso attrito (fig.2.14).

Per la prova è stato fissato il pots superiore sul quale è stato ancorato il provino, successivamente si è provveduto a fissare anche il pots inferiore, il quale poggiava sul giunto sferico precedentemente descritto.

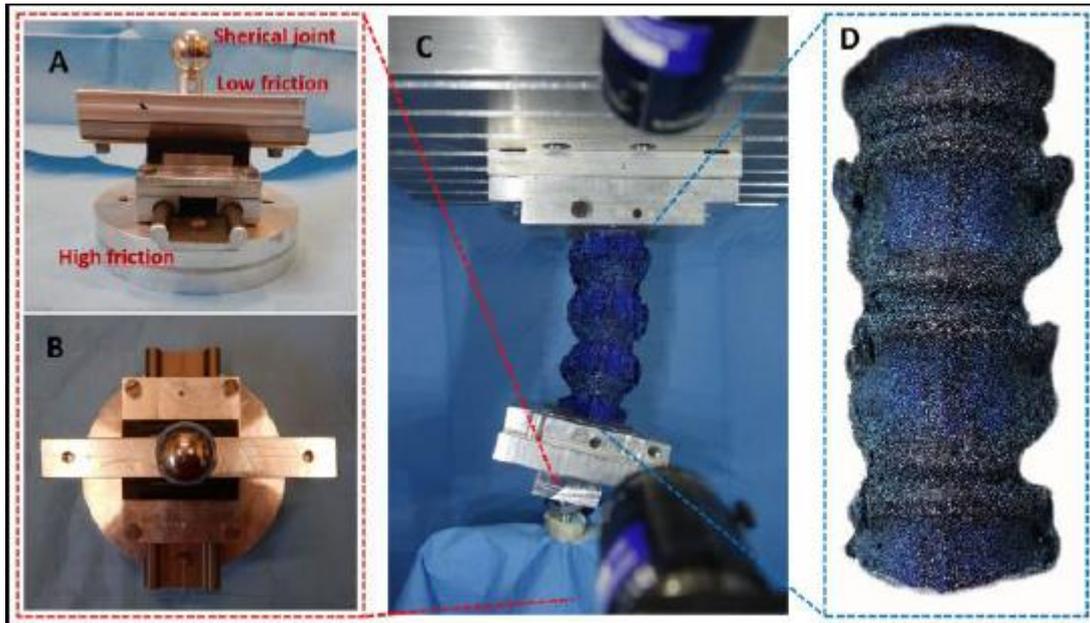


Fig.2.14 : A,B: vista del set up posto in basso sulla macchina di prova (A-vista frontale, B-vista dall'alto). D: quattro segmenti di vertebre della colonna vertebrale con un pattern bianco su sfondo nero

Per valutare la fattibilità di misura delle deformazioni su un provino così complesso, sono state applicate diverse condizioni di carico per riprodurre le diverse configurazioni normalmente imposte ai segmenti di rachide.

Per il nostro test la rotaia è stata impostata prima in direzione antero-posteriore e poi in direzione latero-laterale in modo da simulare due diverse condizioni di carico che sono spesso indagate in letteratura [5] (fig.2.14):

- Flessione anteriore (*anterior bending*): la forza verticale aveva un offset anteriore pari al 20% della profondità antero-posteriore del disco intervertebrale centrale;
- Flessione laterale (*lateral bending*): la forza verticale aveva uno spostamento laterale pari al 20% dell'ampiezza laterale-laterale del disco intervertebrale centrale.

Sono stati applicati dieci cicli di condizionamento tra 0 e 1.0 mm di compressione a 0,5 Hz. Poi è stata applicata per ogni configurazione di carico una compressione di 3.0 mm con uno step di 0.1 mm.

Grazie alle prove preliminari siamo riusciti a trovare il valore massimo, tale per cui non si superasse il limite di elasticità del materiale costituente il provino. In realtà, questo ci ha permesso di raggiungere una deformazione inferiore a 2000 microstrain sull'osso (si può comparare con la deformazione associata al carico fisiologico [35]) e al di sotto dei 100000

microstrain nei dischi intervertebrali (che è comparabile con la deformazione fisiologica nei dischi [36]).

2.5 Descrizione prove effettuate sull'umano

Per quanto riguarda le prove meccaniche sui campioni umani, sono state utilizzate le stesse procedure, ma essendo uno studio preliminare della biomeccanica del rachide, nell'ottica di metterci in condizioni controllate, abbiamo scomposto i movimenti possibili del rachide in singole componenti di movimenti ed essendo la flessione antero-sagittale la componente più significativa, ci siamo limitati ad analizzare la flessione anteriore cercando di riprodurre una flessione fisiologica di 15° [38] (fig.2.17), versione semplificata del task motorio. Anche in questo caso abbiamo acquisito, tramite intervalli regolari di carico, le immagini della vista frontale della regione di interesse (disco intervertebrale centrale e vertebre adiacenti).

Le immagini sono state poi analizzate, come per i campioni di maiale, con il software della DIC usando gli stessi parametri descritti precedentemente. Infine sono state calcolate le deformazioni principali massime e minime.

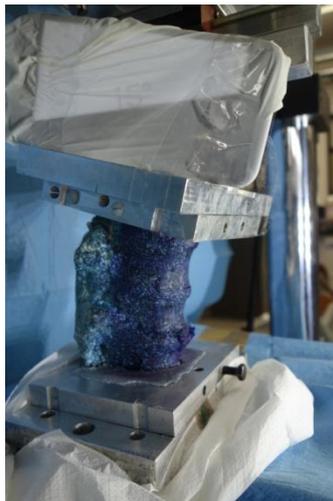


Fig.2.17: Flessione anteriore segmento di rachide umano

2.6 Tecniche di misura

Durante il mio percorso di tesi è stato utilizzato un sistema 3D-DIC (Q400, Dantec Dynamics, Skovlunde, Denmark). La strumentazione principalmente utilizzata nella Digital Image Correlation (DIC), (vedi fig.2.15) è composta da:

- 2 telecamere (solo una in caso di correlazione di immagini 2D) in bianco e nero (5 MegaPixels, 2440 x 2050 pixels, 8-bit), con delle lenti di 35mm (Apo-Xenoplan 1.8/35, Schneider-Kreuznach, Bad-Kreuznach, Germany) per una visione stereoscopica, posizionate verticalmente su un cavalletto che fa da supporto anche per le luci;
- Scheda di acquisizione dati (permette di importare le immagini registrate dalle telecamere e di collegare, contemporaneamente all'acquisizione di immagini, altri strumenti di misura con l'uscita del segnale digitale);
- Sorgente luminosa (2 bancate a LED, 10 000 lumen in totale);
- Computer con il software per la correlazione ed elaborazione delle immagini;
- Primari di calibrazione del sensore.

Il primo passo necessario, è quello di fare una calibrazione con un calibratore di geometria nota (AI4-BMB-9x9). In questa fase il software determina tutti quei parametri dimensionali e geometrici all'interno del volume di misura per poter poi determinare spostamenti e deformazioni del provino.



Fig.2.15 : Sistema di correlazione di immagini

Sapendo che gli spostamenti rigidi o le deformazioni imposte causano un movimento di questi pixels sul piano del sensore fotografico, il sistema DIC agisce rintracciando i vari *speckle* nei

fotogrammi da elaborare, ne definisce gli spostamenti e, per derivazione si determinano le deformazioni.

La correlazione 3D invece, si basa sulla stereovisione, la quale sfrutta lo stesso principio che sta alla base della visione umana [37]. E' un approccio più generale perché attraverso la registrazione di immagini da diverse direzioni e la conseguente elaborazione dei dati provenienti da queste permette di ricavare spostamenti e deformazioni tridimensionali; si cerca di misurare le coordinate dei punti da diverse angolazioni e di relazionarle ad un sistema di riferimento globale. Le immagini dello stesso istante vengono registrate da diverse angolazioni, verranno poi accoppiate tramite un algoritmo.

I risultati della correlazione di immagine possono, però, essere affetti da errori dovuti a diverse cause. Distinguiamo tre macrocategorie di errore:

- Gli errori di correlazione, che influenzano l'accuratezza della strumentazione;
- Gli errori di ricostruzione 3D, riconducibili a errori di calibrazione.
- Gli errori dovuti al pattern

A loro volta gli errori di correlazione si dividono in errori sistematici e casuali.

Gli errori sistematici sono dovuti a effetti locali all'interno del pixel, causati dalla discretizzazione del pattern del provino operata dal sensore; rappresentano inoltre la limitazione principale sull'accuratezza dei risultati

Gli errori casuali, invece, sono imputabili al numero limitato dei pixels a disposizione per ogni facet e rappresentano una limitazione per la precisione delle misure.

Per la nostra sono stati utilizzati i seguenti parametri:

- *Facet size*: 33 pixels;
- *Grid spacing*: 19 pixels;
- *Contour smoothing*: un filtro, con *local regression* di dimensione 5x5; [32]

Inoltre, riguardo il sistema della DIC, a differenza di quanto descritto precedentemente, sono da sottolineare alcuni parametri utilizzati durante le prove meccaniche: il campo visivo (*field of view*) è stato fissato a 70 mm per 60 mm, che ha comportato una risoluzione spaziale di 28 micrometri, con una profondità di campo di 20 mm. Questo ci ha permesso di valutare lo spostamento e la deformazione nella regione di nostro interesse, ossia al centro del disco intervertebrale e nelle due vertebre adiacenti craniale e caudale. Il campo visivo è risultato essere sufficientemente ampio per evitare di perdere parte della regione di nostro interesse a causa degli spostamenti sotto grandi deformazioni.

Per avere la possibilità di valutare i diversi lati della colonna vertebrale, per ogni condizione di carico e per ogni campione sono state eseguite due diverse acquisizioni (fig.2.16):

- Vista frontale: le telecamere hanno acquisito la superficie anteriore del segmento di rachide;
- Vista laterale: le telecamere hanno acquisito la parte laterale (destra o sinistra) del segmento della colonna vertebrale.

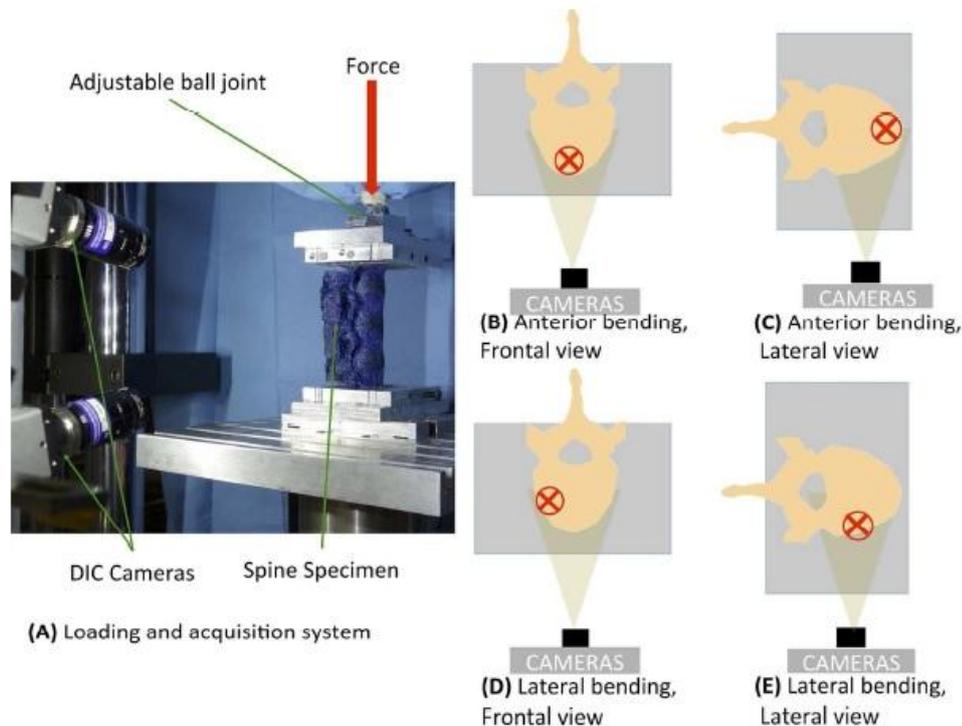


Fig.2.16 [32]: Le differenti configurazioni di carico sono state riprodotte utilizzando una macchina uni assiale e un particolare sistema lineare a basso attrito e un giunto sferico per evitare la trasmissione di componenti indesiderate di forze (A). Sono state disegnate, viste dall'alto, le diverse configurazioni di carico (anterior bending (B,C), lateral bending (D,E)) e le differenti viste (frontale (B,D), laterale (C,E)): la croci rosse rappresentano la forza di compressione applicata al campione; le due telecamere sono allineate verticalmente.

E' stata effettuata un'ottimizzazione e una validazione preliminare [38]. Infatti sono state scattate coppie di immagini di segmenti di rachide scarichi, e in seguito sono state analizzate con delle impostazioni hardware e software ottimali per valutare gli errori di misura in una configurazione a noi nota (condizione di deformazione nulla nota come *zero-strain*). Infatti la condizione di *zero-strain* implica che qualsiasi deformazione diversa da zero è vista come un errore di misura.

Basandoci su studi effettuati precedentemente, in particolare i test di Kolmogorov-Smirnov, che definivano la distribuzione dell'errore come una gaussiana, abbiamo potuto calcolare gli

errori casuali e sistematici , per ogni campione, come la media e la deviazione standard delle deformazioni principali massime e minime, valutate sulla vista frontale e sagittale dei campioni.

Durante le prove meccaniche vere e proprie, le serie di immagini sono state acquisite partendo dalla condizione di *zero-strain* (provino scarico preso come gradino di riferimento) e, come precedentemente detto, è stata applicato un carico di compressione di 3 mm a intervalli regolari di 0.1 mm.

2.6.1 Programma di controllo della prova rumore

Un altro programma che ho sviluppato sfruttando il software Matlab (Math Works Inc, Natick, Massachusetts, USA) riguarda l'analisi dell'effetto del rumore sulle misure di spostamento e deformazione delle immagini in condizione di *zero-strain* in termini di media e deviazione standard delle deformazioni principali massime e minime, valutate sulla vista frontale e sagittale in assenza di sollecitazioni in modo tale che ogni valore diverso da zero fosse stato ritenuto errore.

La prova viene effettuata scattando 2 o più fotogrammi al provino, immobile e senza alcun carico. Il programma permette di caricare tutti i dati relativi agli spostamenti, alle deformazioni e alle coordinate lungo le tre direzioni x, y e z e anche le deformazioni principali massime e minime, generando dei path per ricercare questi parametri dal file system esportato direttamente dal software Istra4D.

A questo punto il programma prende gli strain apparenti (poiché in realtà si è in condizione di zero strain) quantificati per ogni punto di misura e ne calcola l'errore sistematico (quanto si sposta mediamente dal valore atteso) e l'errore random (quanto disperde la misura) sottoforma di media e deviazione standard.

Capitolo III

Risultati

3.1 Risultati della prova sul rachide di maiale

Tutte le prove effettuate sui provini hanno portato a delle misure valide sull'intera regione di interesse di questi, sia nelle viste frontali che in quelle laterali, per entrambe le configurazioni di carico, durante tutta la durata dei test. Si può notare una certa somiglianza nelle distribuzioni di deformazione presente nei tre provini. Nello specifico ci siamo concentrati sulle deformazioni principali massime e minime facendo riferimento alle mappe di colore fornite dal software, che indicano quale zona subisce deformazioni maggiori rispetto alle altre.

3.1.1 Risultati in assenza di deformazione

In assenza di deformazione, facendo riferimento all'elaborazione delle X e delle Y, nonostante l'errore medio sarebbe dovuto essere zero, la deformazione principale massima presentava un errore sistematico di 30 microstrain e uno casuale di 80 microstrain. Invece la deformazione principale minima mostrava un errore sistematico di -10 microstrain e uno casuale di 90 microstrain. I valori appena enunciati sono stati ottenuti dalla mediana degli errori calcolati sui tre provini.

Per quanto riguarda la vista laterale, invece, la deformazione principale massima presentava un errore sistematico di 5 microstrain e uno casuale di 140 microstrain. Relativamente alla deformazione principale minima si è rilevato un errore sistematico di -10 microstrain e uno casuale di 140 microstrain, sempre ottenuti tramite la mediana dei tre provini [32].

3.1.2 Flessione Anteriore – vista frontale

Flettendo anteriormente il provino, nella vista frontale, tra il primo e l'ultimo step abbiamo riscontrato una perdita di correlazione del 4.4% sulla regione di interesse. Mentre nelle vertebre le deformazioni sono risultate notevolmente omogenee, come si può notare anche dalla figura (fig.3.1), per i dischi abbiamo riscontrato un gradiente di deformazione con valori più elevati nella zona centrale. Quanto appena detto non è sempre valido per le vertebre, in quanto l'omogeneità che caratterizza le sue deformazioni dipende dal fondo scala utilizzato, che in questo caso è molto ampio.

Per le vertebre le deformazioni rilevate sono state: deformazione principale massima dell'ordine di +500 microstrain e quella principale minima di -1 500 microstrain. Come conseguenza al fatto che le vertebre provenissero tutte da maiali giovani, le deformazioni maggiori si sono riscontrate sulle cartilagini di accrescimento.

Dall'immagine (fig.3.2) possiamo inoltre notare come i dischi sono sottoposti a deformazioni maggiori rispetto a quelle del corpo vertebrale [32]. Infatti la deformazione principale massima riscontrata dei dischi variava dai +20 000 microstrain ai +30 000 microstrain (disposta orizzontalmente), mentre quella minima variava intorno ai -40 000 microstrain (disposta assialmente).

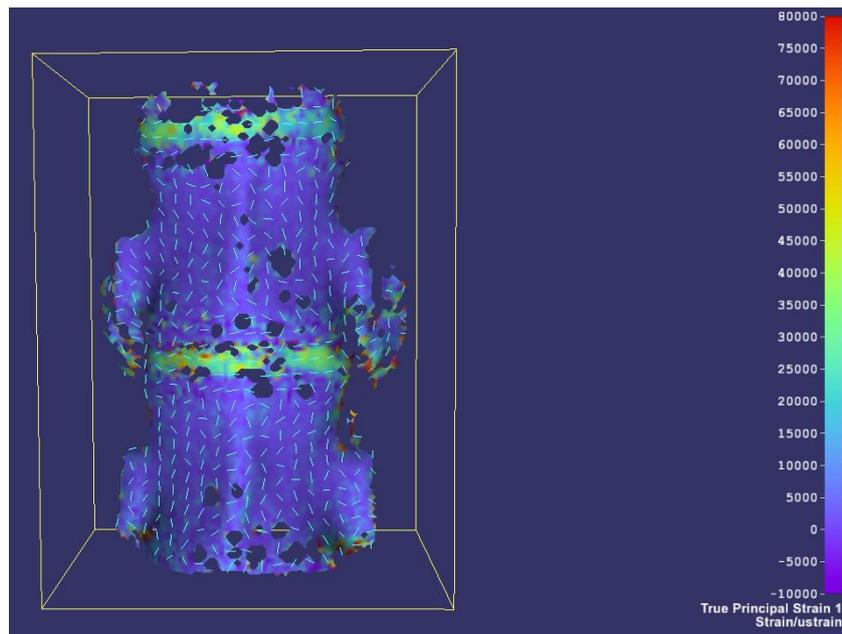


Fig.3.1: Immagine registrata dal sistema DIC. Segmento di rachide sottoposto a flessione anteriore con vista frontale. A destra la scala indica i valori della deformazione principale massima per l'ultimo step.

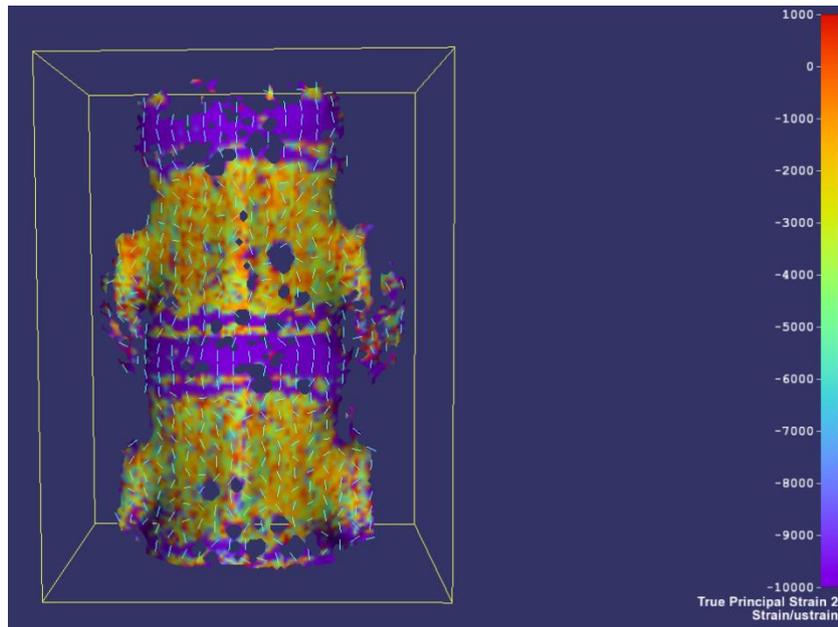


Fig.3.2: Immagine registrata dal sistema DIC. Segmento di rachide sottoposto a flessione anteriore con vista frontale. A destra la scala indica i valori della deformazione principale minima per l'ultimo step.

3.1.3 Flessione anteriore – vista laterale

Flettendo anteriormente il provino, ma questa volta nella vista laterale, tra il primo e l'ultimo step abbiamo riscontrato una perdita di correlazione del 5.7% sulla regione di interesse. Anche in questo caso, mentre nelle vertebre le deformazioni sono risultate notevolmente omogenee, come si può notare anche dalla figura (fig.3.3), per i dischi abbiamo riscontrato un gradiente di deformazione con valori più elevati nella zona posteriore rispetto a quella anteriore.

Per le vertebre la deformazione principale massima è stata dell'ordine dei +600 microstrain , mentre quella principale minima è approssimativamente dei -1 500 microstrain.

Infatti la deformazione principale massima riscontrata nei dischi, maggiore rispetto a quella delle vertebre, variava tra i +12 000 microstrain sul lato anteriore e, +87 000 su quello posteriore, mentre la deformazione principale minima (fig.3.4) variava tra i -87 000 microstrain (nella parte anteriore) e i -18 000 microstrain (parte posteriore), riscontrando un gradiente simile a quello della deformazione principale massima con di segno opposto.

In questa configurazione ciò che risalta maggiormente è come i dischi si comprimessero nella parte posteriore e si espandessero in quella anteriore.

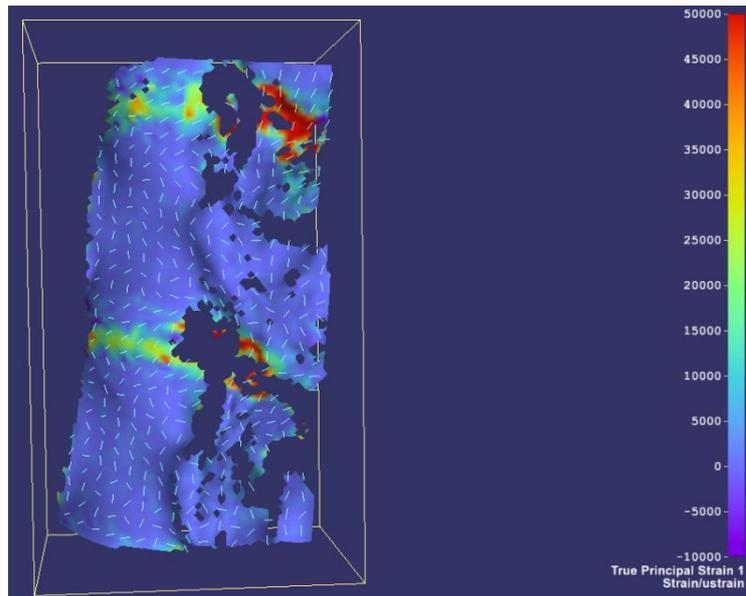


Fig.3.3: Immagine registrata dal sistema DIC. Segmento di rachide sottoposto a flessione anteriore con vista laterale. A destra la scala indica i valori della deformazione principale massima per l'ultimo step.

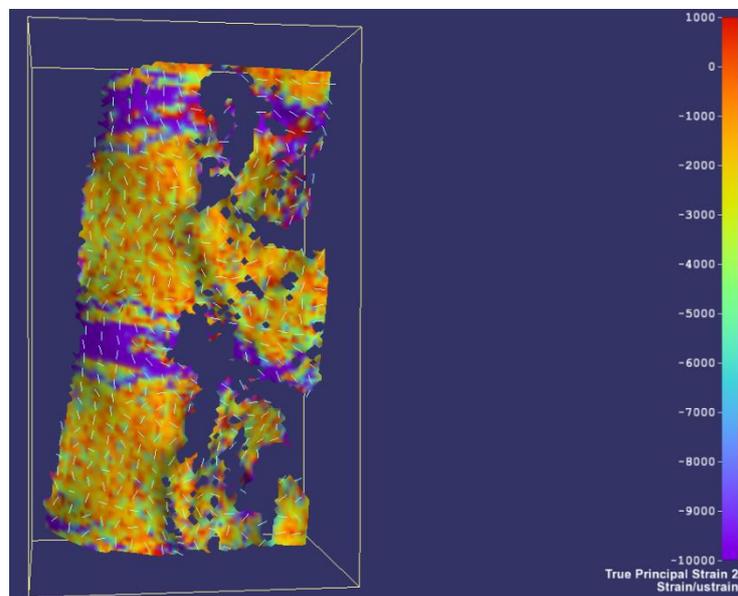


Fig.3.4: Immagine registrata dal sistema DIC. Segmento di rachide sottoposto a flessione anteriore con vista laterale. A destra la scala indica i valori della deformazione principale minima per l'ultimo step.

3.1.4 Flessione laterale – vista frontale

Relativamente alla flessione laterale secondo la vista frontale, tra lo step iniziale e finale, abbiamo riscontrato una perdita dell'1,5% di correlazione della regione di interesse.

Anche in questo caso è da sottolineare la presenza di un gradiente di deformazione per i dischi, mentre per le vertebre la deformazione è risultata omogenea.

Nelle vertebre, le deformazioni principali massime e minime assumevano i seguenti valori: +500 microstrain e -1700 microstrain, rispettivamente. Impostando in modo ottimale i parametri hardware e software, si possono riscontrare le deformazioni delle cartilagini di accrescimento.

Per quanto riguarda i dischi, avendo applicato la flessione laterale su entrambi i lati (destra e sinistra), le distribuzioni di deformazione sono risultate simmetriche e maggiori rispetto a quelle delle vertebre. Il disco tendeva da una parte ad estendersi e dall'altra a comprimersi (fig.3.5). In particolare la deformazione principale massima variava tra + 6 000 microstrain (nel lato a compressione, distribuzione orizzontale) e + 143 000 microstrain (nel lato a trazione, distribuzione assiale); relativamente alla deformazione principale minima invece abbiamo dei valori compresi tra -85 000 microstrain (nel lato a compressione) e +12 000 microstrain (nel lato a trazione) (fig.3.6) [32].

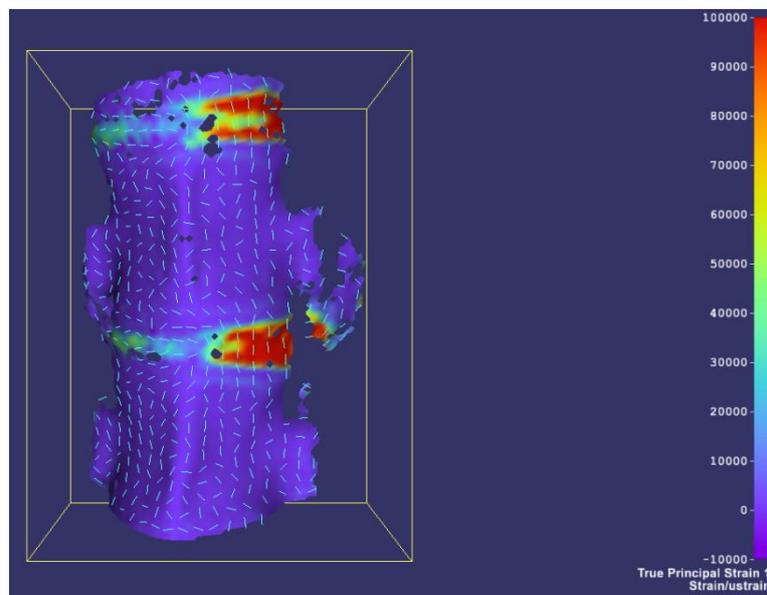


Fig.3.5: Immagine registrata dal sistema DIC. Segmento di rachide sottoposto a flessione laterale con vista frontale. A destra la scala indica i valori della deformazione principale massima per l'ultimo step.

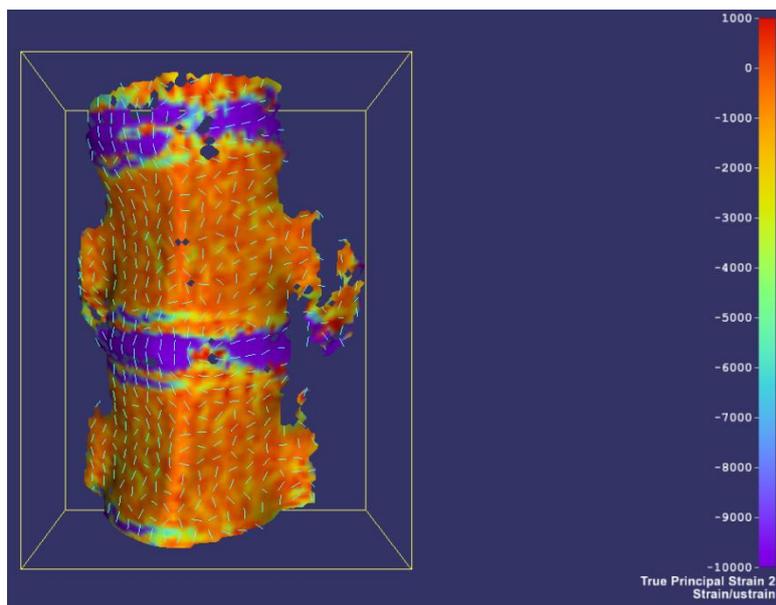


Fig.3.6: Immagine registrata dal sistema DIC. Segmento di rachide sottoposto a flessione laterale con vista frontale. A destra la scala indica i valori della deformazione principale minima per l'ultimo step.

3.1.5 Flessione laterale – vista laterale

Nella vista laterale, flettendolo lateralmente, abbiamo riscontrato, tra il primo e l'ultimo step, una perdita di correlazione sulla superficie di interesse del provino del 5,2%. Rispetto ai casi precedentemente analizzati, possiamo notare l'assenza di gradienti di deformazioni sui dischi, semplicemente guardando l'immagine (fig.3.7) e notando una distribuzione alquanto uniforme.

Le deformazioni principali massime nel lato in compressione sono risultate dell'ordine dei +70 000 microstrain, mentre quelle principali minime circa -60 000 microstrain.

Per quanto riguarda le vertebre, si sono riscontrati valori di deformazioni massime e minime inferiori rispetto a quelle dei dischi e con valori approssimativi di +700 microstrain e -1400 microstrain, rispettivamente (fig.3.8) [32].

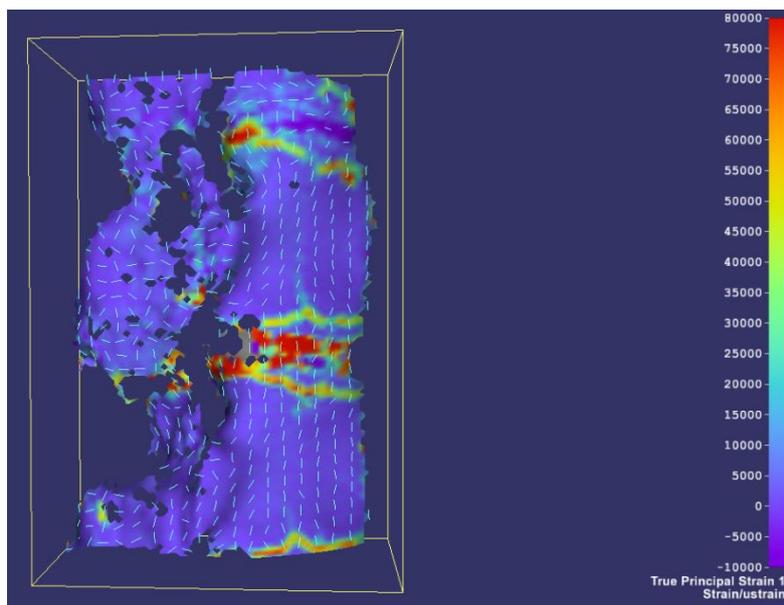


Fig.3.7: Immagine registrata dal sistema DIC. Segmento di rachide sottoposto a flessione laterale con vista laterale. A destra la scala indica i valori della deformazione principale massima per l'ultimo step.

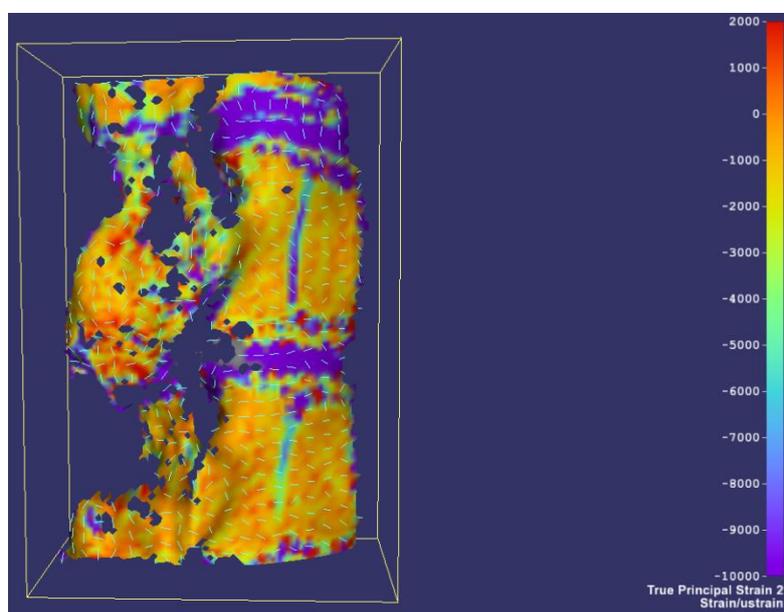


Fig.3.8: Immagine registrata dal sistema DIC. Segmento di rachide sottoposto a flessione laterale con vista laterale. A destra la scala indica i valori della deformazione principale minima per l'ultimo step.

3.2 Risultati della prova sul campione umano (Flessione anteriore)

Le misure anche in questo caso sono state molto buone e interessanti, riscontrando una perdita di correlazione del 6% della regione di interesse tra il primo e l'ultimo step.

In assenza di deformazione abbiamo ottenuto un valore di errore sistematico delle immagini di 10 *microstrain* e un valore di errore casuale di 100 *microstrain*.

Le vertebre hanno mostrato una distribuzione delle deformazioni abbastanza uniforme, con deformazione principale massima (fig.3.9) e minima (fig.3.10) dell'ordine di migliaia di *microstrain*.

I dischi intervertebrali invece erano caratterizzati da valori di deformazioni molto più grandi (centinaia di migliaia di *microstrain*) rispetto a quelli delle vertebre, presentando a differenza di quest'ultime, un gradiente di deformazione con un picco nella porzione centrale. La direzione della deformazione principale massima mostrava il rigonfiamento dei dischi, sotto compressione, nella parte anteriore. [28]

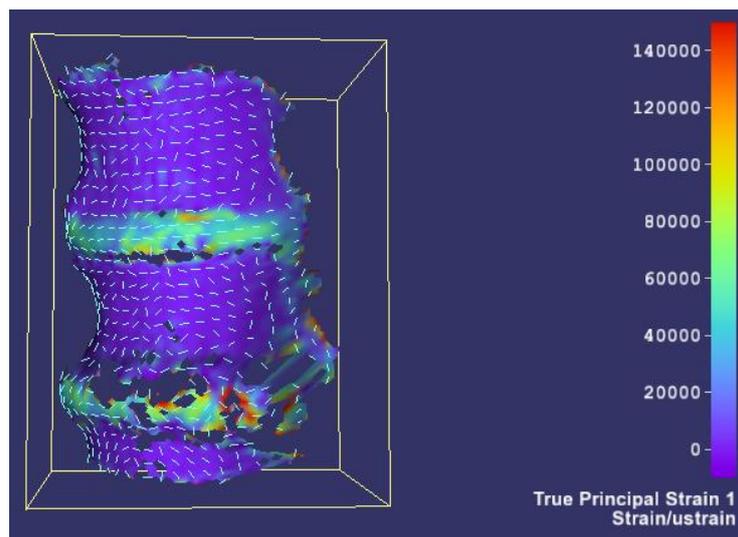


Fig.3.9: Immagine registrata dal sistema DIC. Segmento di rachide umano sottoposto a flessione anteriore con vista frontale. A destra la scala indica i valori della deformazione principale massima per l'ultimo step.

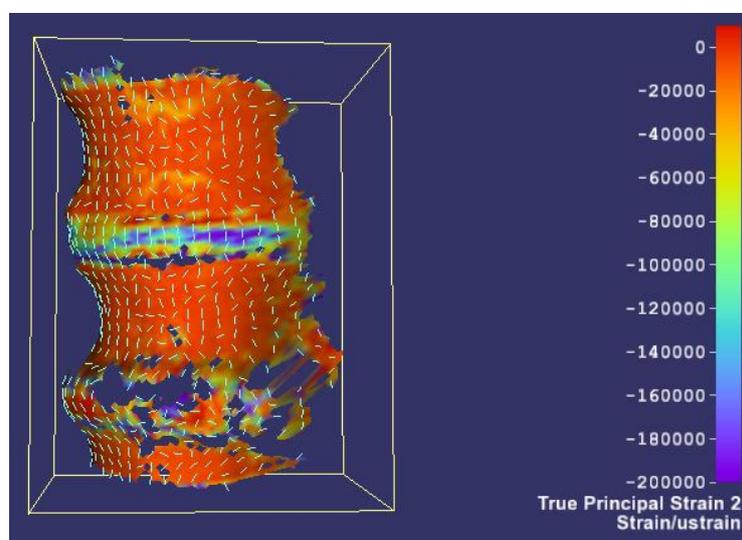


Fig.3.10: Immagine registrata dal sistema DIC. Segmento di rachide umano sottoposto a flessione anteriore con vista frontale. A destra la scala indica i valori della deformazione principale minima per l'ultimo step.

Capitolo IV

Discussioni

4.1 Interpretazione dei risultati sul rachide di maiale

Per queste prove *in vitro* sono state riprodotte due diverse configurazioni di carico, che spesso sono indagate in letteratura, secondo due viste differenti (frontale e laterale) [39] [32].

Dall'analisi dei risultati possiamo evidenziare il fatto che non tutta l'area analizzata con il sistema della DIC è stata correlata. Infatti alcune zone sono state escluse, ma in generale, per il nostro obiettivo, la superficie correlata copriva il *field of view* desiderato, con una perdita di correlazione inferiore al 5,7% della superficie iniziale [32]. Questa perdita è dovuta a diversi fattori, il principale dei quali è attribuibile alla perdita di fluidi dal corpo vertebrale durante la compressione, specialmente nella vista frontale [32], andando a compromettere la nitidezza degli *speckle* sulla superficie, ma può essere legata anche ad esempio a fattori inerenti all'illuminazione e al fuoco delle telecamere.

Per tutti i test effettuati le deformazioni misurate, hanno confermato i risultati attesi e la coerenza con la biomeccanica della colonna vertebrale [3] , ossia la presenza di gradienti di deformazione tra dischi e vertebre, riscontrando nei primi deformazioni maggiori (dell'ordine di migliaia di microstrain [32]), mentre nelle vertebre queste sono risultate inferiori (minori di 2000 microstrain [32]).

Infatti nei corpi vertebrali la deformazione fisiologica è risultata essere inferiore a 2 000 microstrain, mentre nei dischi intervertebrali la deformazione fisiologica è risultata al di sotto dei 150 000 microstrain [15] e la deformazione di rottura si è stimata intorno ai 250 000 microstrain [36]. Questo, comunque, non esclude il possibile utilizzo della DIC per investigare sia le deformazioni fisiologiche che la rottura.

Focalizzandoci in particolare sul disco, la DIC è stata in grado di discriminare attraverso l'orientamento delle deformazioni principali come, contemporaneamente, una porzione del disco fosse sottoposta a compressione e a trazione. Infatti durante la flessione, la parte frontale del disco intervertebrale risultava compresso mentre la parte centrale mostrava una piccola regione con una deformazione in trazione. Quanto detto è riconducibile al fatto che il disco, quando è in compressione, si gonfia e, di conseguenza, la parte centrale della superficie si espande. In particolare nel lato compresso dei dischi, come si evince anche dalle immagini

proposte nei risultati, le deformazioni principali minime sono assiali, mentre quelle principali massime sono molto elevate e disposte orizzontalmente.

Grazie al fatto che i provini testati provenissero da maiali relativamente giovani, e impostando in modo ottimale i parametri software e hardware della DIC, siamo stati in grado di catturare la deformazione delle cartilagini di accrescimento delle vertebre.

4.2 Interpretazione dei risultati sul rachide umano

Sulla base di queste considerazioni, siamo passati all'analisi di segmenti di rachide umani, cercando di determinare le deformazioni a tutto campo sulla superficie di questi.

Come si può osservare dai risultati, nonostante il nostro studio si sia limitato ad un solo tipo di configurazione di carico (flessione anteriore), anche in questo caso abbiamo riscontrato delle distribuzioni molto diverse tra dischi e vertebre.

Alcune zone non sono state correlate per le stesse motivazioni riguardanti i campioni di maiale sopra descritte. A causa, però, delle maggiori perdite di liquido dai corpi vertebrali o di un' errata costruzione del pattern, prima di ottenere i risultati sopraelencati, siamo stati costretti a effettuare un nuovo pattern sul provino umano, dopo aver usato la carta vetrata (con numero di grana 1000, per non compromettere la superficie dei segmenti), volta a togliere le *speckles* del precedente pattern per una migliore correlazione, e dopo averlo ricoperto nuovamente, con un pennello, di blu di metilene. Come risultato finale abbiamo ottenuto una perdita di correlazione di circa il 6% rispetto alla superficie inizialmente correlata.

Per quanto riguarda le deformazioni, anche in questo caso, i dischi intervertebrali sono risultati essere caratterizzati da valori di deformazione molto maggiori rispetto a quelli delle vertebre, con un picco nella porzione centrale e, come per il maiale, con la deformazione principale massima disposta orizzontalmente.

A causa dell'età avanzata dei donatori dei campioni umani, sui provini non è stata rilevata la presenza delle cartilagini di accrescimento e, di conseguenza, non è stato possibile effettuare considerazioni numeriche su questa parte del provino.

4.3 Come si inserisce in letteratura

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di definire un nuovo procedimento per indagare i segmenti di rachide misurando simultaneamente sui dischi intervertebrali e sulle vertebre le deformazioni superficiali associate ad essi. Le configurazioni di carico non sono state applicate con lo scopo di replicare qualsiasi task motorio fisiologico, ma essendo uno studio preliminare della biomeccanica del rachide, nell'ottica di metterci in condizioni controllate,

abbiamo scomposto i movimenti possibili del rachide in singole componenti di movimento, al fine di capire anche le possibili limitazioni di questa tecnica.

Le prove *in vitro* svolte fin ora, riguardanti lo studio delle deformazioni del rachide, sono state fondamentali poiché hanno costituito un ottimo punto di partenza per nuove applicazioni nel campo della biomeccanica del rachide, permettendoci anche di mettere in pratica il nostro lavoro, dimostrando quindi l'importanza di uno studio delle deformazioni di segmenti di rachide a tutto campo, date le grandi disomogeneità dei gradienti di deformazione tra l'osso e il disco.

4.4 Limiti

Innanzitutto alcune limitazioni riguardano lo strumento di misura, ossia il sistema DIC. Infatti gli svantaggi riscontrati nell'utilizzarlo sono:

- Una minore precisione rispetto ad altre tecniche di misura.
- La necessità di doverlo ottimizzare nel migliore dei modi per ogni specifica applicazione.
- Un'analisi pseudo real-time, con il bisogno di elaborare e correlare, entro alcuni minuti, l'immagine.
- La necessità di una preparazione della superficie del provino [23].

Un'altra limitazione è legata alla rimozione dei tessuti circostanti al provino. Tale procedura da un lato è necessaria per uno studio più dettagliato del provino e con minore percentuale di errore, dall'altro limita una fedele riproduzione fisiologica.

Per quanto riguarda i carichi, in questo studio, sono state applicate delle varianti semplificate rispetto a quelli reali fisiologici. Abbiamo comunque cercato di riprodurre le componenti di carico più significate e più simili a ciò che si riscontra nella realtà. Tale semplificazione è stata introdotta poiché il nostro studio è da considerarsi preliminare, quindi si è basato sullo studio del metodo che sarà poi utilizzato per indagare la biomeccanica del rachide.

Capitolo V

Conclusioni

L'obiettivo principale di questo studio è stato quello di sviluppare una metodologia che quantificasse la distribuzione della deformazione superficiale su strutture complesse, quali segmenti di rachide toracico e lombare multi-vertebre di maiale, considerando contemporaneamente sia i dischi (quindi i tessuti molli) che le vertebre (quindi tessuti rigidi), servendosi della DIC e, partendo da un'adeguata preparazione del pattern oltre che dall'ottimizzazione di parametri relativi alla DIC. Questa tecnica di misura delle deformazioni si è dimostrata essere un valido aiuto per lo sviluppo di un metodo di analisi della biomeccanica del rachide. Infatti ha messo in evidenza come tra i diversi tipi di tessuti adiacenti (rigidi e molli) siano presenti distribuzioni di deformazione diverse, confermando l'importanza di indagare segmenti di colonna vertebrale tramite l'utilizzo di uno strumento che permetta una visione a tutto campo, al fine di completare la valutazione del range of motion e della rigidità (oggetti di studio dei test biomeccanici *in vitro* svolti fino a questo momento).

Per ovvie ragioni di interesse, tale procedura è stata applicata con successo su un campione di tipo umano.

Focalizzandoci su ciò che possono essere gli sviluppi futuri possiamo dire che i risultati ottenuti da questo studio implicano nuove possibili applicazioni per lo studio della biomeccanica del rachide, puntando anche a migliorare i trattamenti chirurgici. In particolare potrebbe essere un ottimo punto di partenza cercare di aumentare la complessità delle prove *in vitro*, in termini di riproduzione di task motori fisiologici.

Bibliografia

- [1] [https://it.wikipedia.org/wiki/Rachide_\(anatomia\)](https://it.wikipedia.org/wiki/Rachide_(anatomia))
- [2] Giuseppe Anastasi, et al., 2006, Trattato di anatomia umana, vol. 1, 4^a ed., Milano, Edi.Ermes, pp. 132-152
- [3] White III, A.A., Panjabi, M.M., 1990. Clinical Biomechanics of the Spine, Second Edition ed. Lippincott Williams & Wilkins
- [4] Gray H., 2016, Gray's anatomy, 41^a ed., Elsevier
- [5] Brandolini N., Cristofolini L., Viceconti M., 2013, Experimental methods for the biomechanical investigation of the human spine: a review, *Journal Of Mechanics in Medicine and Biology*, 14(1): pp. 1430002-2-4, 1430002-11-14, 1430002-16-18, 1430002-20-21
- [6] Lochmuller E.M., Eckestein F., Kaiser D. et al., 1998, Prediction of vertebral failure loads from spinal and femoral dual-energy x-ray absorptiometry, and calcaneal ultrasound: An in situ analysis with intact soft tissues, *Bone*, 23(5): 417-424
- [7] Panjabi MM, Kato Y, Hoffman H, Cholewicki J, Krag M, 2000, A study of stiffness protocol as exemplified by testing of a burst fracture model in sagittal plane, *Spine*, 25(21): 2748-2754
- [8] Panjabi MM, 2007, Hybrid multidirectional test method to evaluate spinal adjacent-level effects, *Clinical Biomech*, 22(3): 257-265
- [9] Cristofolini L., 2011, Anatomical reference frames for long bones: biomechanical applications, *Handbook of Anthropometry: Physical Measures of Human Form in Health and Disease Springer*, New York
- [10] Hongo M., Abe E., Shimada Y., Murai H., Ishikawa N., Sato K., 1999, Surface strain distribution on thoracic and lumbar vertebrae under axial compression: The role in burst fractures, *Spine*, 24(12): 1197-1202
- [11] Frei H., Oxland T.R., Nolte L.P., 2002, Thoracolumbar spine mechanics contrasted under compression and shear loading, *J Orthop Res*, 20(6): 1333-1338
- [12] Danesi V., Zani L., Scheele A., Berra F., Cristofolini L., 2013, Reproducibile reference frame for in vitro testing the human vertebrae, *J Biomech.*, 47(1): 313-318
- [13] Cristofolini L., Brandolini N., Danesi V., Juszczak M.M., Erani P., Viceconti M., 2013, Strain distribution in the lumbar vertebrae under different loading configurations, *The spine journal: official journal of the North American Spine Society*, 13(10): 1281-1292
- [14] Danesi V., Erani P., Brandolini N., Juszczak M., Cristofolini L., 2016, Effect of the in Vitro Boundary Conditions on the Surface Strain Experienced by the Vertebral Body in the Elastic Regime, *Journal of biomechanical engineering*, 138(10): 104501-104503/104509

- [15] Stokes I., 1987, Surface Strain on Human Intervertebral Discs, *Journal of Orthopedic Research*, 5(3): 48-355
- [16] Spera D., Genovese K., Voloshin A., 2011, Application of Stereo-Digital Image Correlation to Full-Field 3-D Deformation Measurement of Intervertebral Disc, *Strain* , 47(1): e572-e587
- [17] Palanca M., Brugo T.M., Cristofolini L., 2015, Use of digital image correlation to investigate the biomechanics of the vertebra, *Journal Of Mechanics in Medicine and Biology*, 15(2): 154004-1 – 154004-10
- [18] Holsgrove T.P., Cazzola D., Preatoni E., Trewartha G., Miles A.W., Gill H.S., Gheduzzi S., 2015, An investigation into axial impacts of the cervical spine using digital image correlation, *The spine journal: official journal of the North American Spine Society*, 15(8): 1856-1863
- [19] Wang Y., Liu G., Li T. et al., 2010, Morphometric comparison of the lumbar cancellous bone of sheep, deer and humans, *Comp Med*, 60(5): 374-379
- [20] Viceconti M., Taddei F., 2003, Automatic generation of finite element meshes from computed tomography data, *Crit Rev Biomed Eng*, 31(1-2): 27-72
- [21] Dall'Ara E., Schmidt R., Pahr D et al., 2010, A non linear finite element model validation study based on a novel experimental technique for inducing anterior wedge-shape fractures in human vertebral body in vitro, *J Biomech*, 43(12): 2374-2380
- [22] Chevalier Y., Pahr D., Zysset PK., 2009, The role of cortical shell and trabecular fabric in finite element analysis of the human vertebral body, *J Biomech Eng*, 131(11): 111003.1-111003.12
- [23] Palanca M, Tozzi G, Cristofolini L, 2016, The use of digital image correlation in the biomechanical area: a review, *International Biomechanics*, 3(1): 2-3, 9-10
- [24] Ajovalasit A. 2009, Introduzione alla analisi sperimentale delle tensioni
- [25] AA.VV. 2012, Istra 4D Software Manual
- [26] <http://strumentistaso.altervista.org/Ortopedia/strumenti.html>
- [27] Rohlmann A., Neller S., Claes L., Bergmann G. and Wilke H.J. (2001), Influence of a follower load on intradiscal pressure and intersegmental rotation of the lumbar spine. *Spine (Phila Pa 1976)*, 26(24): E557-561.
- [28] Palanca M., Ruspi M.L., Amicone A., Faldini C., Cristofolini L., 2017, In vitro full-field strain distribution on human thorocolumbar spine segment subjected to flexion, submitted to the 23rd Congress of the European Society of Biomechanics (Seville, Spain, 2-5 July, 2017)

- [29] Lionello G., Sirieix C. and Baleani M., 2014, An effective procedure to create a speckle pattern on biological soft tissue for digital image correlation measurements. *J Mech Behav Biomed Mater*, 39: 1-8
- [30] Luyckx T., Verstraete M., De Roo K., De Waele W., Bellemans J. and Victor J., 2014, Digital image correlation as tool for 3D strain, 1: 7
- [31] Lionello G, Cristofolini L, 2014, A practical approach to optimizing the preparation of speckle patterns for digital-image correlation, *Meas. Sci. Technol.*, 25(10): 1-2
- [32] Palanca M., Miguel M., Ruspi M.L., Faldini C., Cristofolini L., Exploring the strain distribution of thoracolumbar spine segments: An application of Digital Image Correlation, submitted to *Strain*, pp.4-7, 9-11
- [33] Smith J.S., Sansur C.A., Donaldson W.F., 3rd, Perra J.H., Mudiyan R., Choma T.J., Zeller R.D., Knapp D.R., Jr., Noordeen H.H., Berven S.H., Goytan M.J., Boachie-Adjei O. and Shaffrey C.I., 2011, Short-term morbidity and mortality associated with correction of thoracolumbar fixed sagittal plane deformity: a report from the Scoliosis Research Society Morbidity and Mortality Committee. *Spine (Phila Pa 1976)*, 36: 958-964.
- [34] Luca A., Ottardi C., Sasso M., Prosdocimo L., La Barbera L., Brayda-Bruno M., Galbusera F. and Villa T. (2016) Instrumentation failure following pedicle subtraction osteotomy: the role of rod material, diameter, and multi-rod constructs. *Eur Spine J*.
- [35] Cristofolini L. (2015) In vitro evidence of the structural optimization of the human skeletal bones. *Journal of biomechanics*, 48(5): 787-796.
- [36] O'Connell G.D., Vresilovic E.J. and Elliott D.M. (2011) Human intervertebral disc internal strain in compression: the effect of disc region, loading position, and degeneration. *J Orthop Res*, 29: 547-555.
- [37] Sutton M.A., Orteu J.J., Schreier H.W., 2009, Image Correlation for shape, motion and deformation measurement
- [38] White et al., 1990, *Clinical Biomechanics of the Spine*
- [39] Busscher I., van Dieen JH, Kingma I, van der Veen AJ, Verkerke GJ, Veldhuizen AG, 2009, Biomechanical characteristics of different regions of the human spine: An in vitro study on multilevel spinal segments, *Spine (Phila Pa 1976)* , 34: 2858-2864

Ringraziamenti

Sono giunto al termine di questa avventura con un bagaglio pieno di esperienze, successi e sacrifici. Non è stato affatto facile passare da mere formule teoriche alle applicazioni pratiche affrontate durante l'esperienza in laboratorio. Ed è per questo che adesso vorrei dire GRAZIE ad alcune persone che mi hanno accompagnato, sostenuto ed incoraggiato durante questo percorso.

Innanzitutto vorrei ringraziare il prof. Luca Cristofolini per la fiducia dimostratami e per avermi dato la grande opportunità di lavorare con lui in un laboratorio di biomeccanica per un progetto così interessante e ambizioso, offrendomi quindi la possibilità di mettermi in gioco con nuove realtà e di dare, nel mio piccolo, un contributo alla ricerca. Vorrei inoltre ringraziarlo anche per l'imminente esperienza all'estero che mi ha aiutato a realizzare.

Un caloroso grazie vorrei dedicarlo al correlatore più simpatico ed elegante di tutta l'Università di Bologna. Grazie Marco per la pazienza e la disponibilità che mi hai dimostrato in questi mesi. Grazie per aver creduto in me fino alla fine e per avermi sostenuto e spinto a dare il massimo soprattutto in queste ultime settimane. Grazie anche per i consigli e i suggerimenti che mi hai dato e per avermi fatto, sì lavorare con serietà e impegno, ma mantenendo sempre un clima sereno e scherzoso. Spero di essere stato all'altezza di quanto mi è stato chiesto di fare, di certo l'impegno e la passione da parte mia non sono mancati. Grazie anche per avermi inserito come coautore della pubblicazione scientifica. Ah dimenticavo! Mi scuso per la mia poca esperienza con Matlab, ma mi prometto di migliorare e imparare.

Vorrei inoltre ringraziare Toti per il supporto e i consigli che mi ha dato durante questi mesi. Grazie anche a te che sono riuscito a portare a termine questo lavoro, con il tuo impegno e la dedizione al lavoro. Fedele compagna di pulizia dei provini, grazie alla quale anche questa parte del lavoro è risultata piacevole.

Infine vorrei ringraziare tutti i componenti del laboratorio di biomeccanica di Via Terracini. In particolare vorrei dire grazie Kavin per avermi insegnato e spiegato nel dettaglio tante cose a me sconosciute e, per avermi fatto ridere con le tue battute sempre a portata di mano. Grazie anche a Federico e Alberto. Spero in futuro di avere nuovamente l'opportunità di lavorare ad un progetto simile e con le stesse persone con le quali ho avuto il piacere e l'onore di lavorare in questi mesi.

Un doveroso grazie, lo devo dedicare ai miei genitori. Questo traguardo è sicuramente frutto del mio impegno, ma in gran parte è anche merito vostro. Senza il vostro sostegno e i vostri

sacrifici non sarei mai potuto arrivare a fare tutto questo. Grazie per esserci sempre e per avermi trasmesso valori e principi che mi hanno fatto diventare quello che sono. So che un semplice grazie è riduttivo, ma non finirò mai di ringraziarvi. Grazie anche a mia sorella Martina, la mia prima amica della vita, che mi ha sempre tenuto per mano.

Un pensiero speciale anche ai miei nonni, la saggezza della famiglia. A voi che avete sempre saputo ascoltarmi e sorprendermi e, che in questi tre anni mi avete supportato sotto ogni punto di vista, anche facendomi credere, ad ogni mio ritorno a casa, di essere “Sciupato”.

Un grazie speciale va anche a tutto il resto della famiglia.

Tra tutte le persone che ci sono state non posso non dedicare un grazie speciale ai miei amici di una vita: Federico, Christian, Fabrizio e Francesca. Nonostante stiamo percorrendo strade differenti, pur essendo distanti, a centinaia di chilometri, continuiamo a camminare accanto, a crescere insieme, a insultarci, a condividere gioie ma anche sofferenze, insomma continuiamo a coltivare quel rapporto di amicizia che da sempre ci contraddistingue. Siete la mia forza.

Un ringraziamento speciale va anche alla “Banda”, al gruppo Meg, al Don e a Daniela, che nonostante la distanza e vedendoci anche solo una volta ogni due mesi, siete sempre riusciti a influenzarmi con la vostra positività.

Ringrazio anche i “reduci del 5H”. Il caso ci ha fatto diventare compagni di classe, il destino ci ha reso amici!

Non posso non ringraziare i miei compagni di corso di questi tre anni intensi. Quante ne abbiamo passate! Giornate intere rinchiusi in casa o in biblioteca a studiare, facendoci forza l’un l’altro, riuscendo a conciliare impegni, divertimento (quante serate al Verdi) e serietà. Dai sulla serietà scherzavo. Un grazie speciale va a Guido, Mario (per gli amici Enrico o forse il contrario), Lorenzo, Ufo, Luppi e Matilde. Ringrazio, inoltre, calorosamente le ragazze di Casalbene per avermi ospitato e sopportato in questi due ultimi mesi da sfollato. Scusate e grazie ancora, ma è più facile trovare l’ago nel pagliaio che una casa a Bologna !

Grazie anche a Elisa e Chiara che in questi sei mesi abbiamo condiviso questa nuova esperienza nel laboratorio sostenendoci a vicenda nei momenti di difficoltà. Grazie anche per gli appunti che vi ho “scroccato” soprattutto in quest’ultimo anno di università (Beh ma anche prima dai).

Ringrazio inoltre i coinquilini di Via Savolini. Grazie al dottor Cosimo, allo scugnizzo Federico, a Davide l’aggiusta tutto, al maresciallo Mario e all’MVP Savino. Siete e rimarrete i coinquilini più ignoranti della storia. Ah dimenticavo! Grazie anche a Luca P. .

Un grazie speciale va a Francesca. Grazie perché mi sei stata sempre vicino, mi hai sempre infuso coraggio e sei sempre stata in grado di consolarmi e ascoltarmi. Insieme abbiamo

superato tanti ostacoli e mi hai reso una persona migliore. Grazie soprattutto per quest'ultimo periodo, mi hai aiutato a vedere la fine che non arrivava mai e insieme abbiamo gioito e pianto di gioia per questo traguardo. Sei speciale !

Grazie anche a voi che siete lassù e che mi avete aiutato nei momenti più bui in cui non vedevo una via di uscita. Grazie nonno Virgilio e nonna Maria e grazie al mio angelo Daniele. Infine grazie ad ogni persona che è passata nella vita. Tutti avete lasciato un po' di voi e spero vi siate portati via un po' di me. C'è chi si è portato via molto e chi meno, ma non ci è stato chi non ha lasciato nulla.

Grazie a tutti.