

ALMA MATER STUDIORUM – UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

SEDE DI CESENA

SECONDA FACOLTÀ DI INGEGNERIA CON SEDE A CESENA

CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

**SVILUPPO DI CEMENTI OSSEI
BIOATTIVI E BIO-RIASSORBIBILI PER
VERTEBROPLASTICA RIGENERATIVA**

Elaborato in

COMPORTAMENTO MECCANICO DEI MATERIALI

Relatore

Prof. Luca Cristofolini

Presentato da

Alessandra Femiano

Correlatore

Dott. Simone Sprio

ISTEC-CNR

Sessione Seconda

Anno Accademico 2011 – 2012

A mio fratello Federico,
per le sue idee, per la sua curiosità
e perché, comunque vada, so che ci sarà.

INDICE

MOTIVAZIONE DEL LAVORO DI RICERCA	9
CAPITOLO 1: INTRODUZIONE	11
1.1 IL TESSUTO OSSEO	11
1.1.1 MORFOLOGIA E STRUTTURA DEL TESSUTO OSSEO	12
1.1.2 TIPI DI OSSO	13
1.1.3 PROPRIETÀ MECCANICHE DELL'OSSO	15
1.2 LA COLONNA VERTEBRALE	15
1.2.1 LE VERTEBRE.....	18
1.3 BIOLOGIA DEL TESSUTO OSSEO.....	20
1.4 OSTEOPOROSI.....	22
1.5 VERTEBROPLASTICA E CIFOPLASTICA	24
1.6 I CEMENTI OSSEI ACRILICI.....	26
CAPITOLO 2: MATERIALI STUDIATI	27
2.1 TRICALCIO FOSFATO (TCP)	27
2.1.1 β -TCP	27
2.1.2 α -TCP	28
2.2 IDROSSIAPATITE.....	28
2.3 I CEMENTI OSSEI A BASE DI CALCIO FOSFATO.....	30
2.3.1 CARATTERISTICHE IMPORTANTI DI UN CEMENTO OSSEO INIETTABILE	31
2.3.2 ADDITIVI	32
2.3.3 TEMPI DI INDURIMENTO (SETTING)	32
2.4 IL RUOLO DELLO STRONZIO	34
2.5 ALGINATO	35
2.6 CALCIO CLORURO	36
2.7 ATTIVITÀ SVOLTA.....	37

CAPITOLO 3: REALIZZAZIONE PROVINI	39
3.1 MISCELAZIONE POLVERI.....	39
3.2 REALIZZAZIONE PASTICCHE.....	41
3.3 TRATTAMENTO TERMICO	43
3.4 SETACCIATURA.....	45
3.5 MACINAZIONE	45
3.6 ESSICAZIONE MEDIANTE ROTAVAPOR.....	47
3.7 REALIZZAZIONE CEMENTI.....	48
CAPITOLO 4: METODI: TECNICHE ANALITICHE E DI MISURA.....	53
4.1 DIFFRATTOMETRIA A RAGGI X (XRD)	53
4.1.1 PRINCIPIO DI FUNZIONAMENTO.....	54
4.1.2 METODO RIR	57
4.1.3 METODO RIETVELD	59
4.1.4 CAMPIONI ANALIZZATI	59
4.2 DENSITA' DEI CAMPIONI	60
4.2.1 CAMPIONI ANALIZZATI	61
4.3 ANALISI GRANULOMETRICA.....	62
4.3.1 LEGGE DI STOKES.....	62
4.3.2 METODO DI ANALISI.....	63
4.3.3 CAMPIONI ANALIZZATI	64
4.4 MICROSCOPIO ELETTRONICO A SCANSIONE (SEM).....	65
4.4.1 EDS.....	68
4.4.2 CAMPIONI ANALIZZATI	69
4.5 PROVE MECCANICHE.....	70
4.5.1 PROVE A COMPRESSIONE.....	70
4.5.2 CAMPIONI ANALIZZATI	72
CAPITOLO 5: RISULTATI E DISCUSSIONE.....	73
5.1 CARATTERIZZAZIONE CHIMICO-FISICA	73
5.1.1 ANALISI DELLE POLVERI PRIMA DEL SETTING	73

5.1.2 ANALISI DELLE POLVERI DOPO IL SETTING	78
5.1.3 DISCUSSIONE RISULTATI OTTENUTI DALL' ANALISI CHIMICO-FISICA.....	84
5.2 ANALISI DENSITÀ DEI CAMPIONI	85
5.2.1 DISCUSSIONE RISULTATI OTTENUTI DALL' ANALISI DELLA DENSITÀ DEI CAMPIONI	87
5.3 ANALISI GRANULOMETRICA.....	88
5.3.1 DISCUSSIONE RISULTATI OTTENUTI DALL' ANALISI GRANULOMETRICA.....	89
5.4 ANALISI AL SEM.....	89
5.4.1 ANALISI EDS.....	92
5.4.2 DISCUSSIONE RISULTATI OTTENUTI DALL' ANALISI SEM93	
5.5 VALUTAZIONE DEI TEMPI DI SETTING	93
5.5.1 DISCUSSIONE RISULTATI OTTENUTI NELLA VALUTAZIONE DEI TEMPI DI SETTING	95
5.6 PROVE MECCANICHE A COMPRESSIONE	97
5.6.1 DISCUSSIONE RISULTATI OTTENUTI DALLE PROVE MECCANICHE A COMPRESSIONE	105
CAPITOLO 6: CONCLUSIONI E SVILUPPI FUTURI.....	107
BIBLIOGRAFIA	111
SITOGRAFIA	113
RINGRAZIAMENTI	115

MOTIVAZIONE DEL LAVORO DI RICERCA

Lo scopo di questo lavoro di tesi, svolto presso l'Istituto di Scienza e Tecnologia dei Materiali Ceramici (ISTEC-CNR) di Faenza, è lo sviluppo di paste ceramiche in grado di funzionare in vivo come cementi ossei porosi bioattivi e bioriassorbibili.

Tali cementi, assolutamente innovativi, sono stati disegnati per essere utilizzati in chirurgia spinale, in particolare vertebroplastica e cifoplastica, per superare l'uso dei cementi a base acrilica.

Le paste utilizzate sono basate su polveri di alfa-TCP ionicamente sostituite con stronzio come agente anti-osteoporotico che, dopo miscelazione con opportune soluzioni acquose, induriscono trasformandosi in idrossiapatite.

L'attività si è basata sulla sintesi e caratterizzazione chimico-fisica, morfologica e meccanica dei materiali di partenza e sulla determinazione delle relazioni tra materie prime, parametri di processo e proprietà finali. Questi aspetti sono particolarmente interessanti e importanti poiché la realizzazione e il comportamento dei cementi dipendono strettamente dallo stato delle materie prime, inteso come: composizione in fasi, granulometria e rapporto liquido/solido.

Caratteristiche fondamentali dei cementi ossei realizzati sono la biocompatibilità, la bioattività e la bioriassorbibilità: la biocompatibilità è la capacità del materiale di essere metabolizzato senza arrecare effetti tossici o dannosi sul sistema biologico; la bioattività è la capacità del materiale di interagire con il tessuto vivente e stimolare i processi di rigenerazione mentre la bioriassorbibilità è la capacità del materiale di dissolversi attraverso processi fisiologici di rimodellamento osseo e di essere sostituito da nuovo tessuto osseo.

CAPITOLO 1:

INTRODUZIONE

1.1 IL TESSUTO OSSEO

Il tessuto osseo è un particolare tipo di tessuto connettivo di sostegno costituito da cellule disperse in un'abbondante matrice extracellulare, costituita da fibre e da sostanza amorfa di origine glicoproteica.

Questo tipo di tessuto è un'entità molto complessa, sia dal punto di vista della sua composizione che della sua struttura morfologica: ciò gli conferisce proprietà uniche di adattabilità alle varie sollecitazioni meccaniche, che lo rendono al tempo stesso leggero, resistente, elastico e soprattutto in grado di autorigenerarsi localmente in seguito a traumi di estensione limitata.

Il tessuto osseo contiene circa il 99% del calcio presente nell'intero organismo e ne rappresenta quindi il principale deposito.

Tale tessuto è costituito per il 70% in peso da idrossiapatite, una sostanza minerale a base di calcio, fosforo e piccole quantità di carbonato, magnesio, silicati e altre sostanze in tracce, organizzata in una struttura porosa e complessa che permette la distribuzione ottimale degli sforzi meccanici. Il restante 30% è composto da una matrice organica costituita principalmente da collagene e da acqua. Tra le componenti organiche ricordiamo, oltre al collagene, i proteoglicani, alcune proteine non collageniche, le citochine ed i fattori di crescita. L'elemento più abbondante è il collagene di tipo I che si organizza in fibre che fungono da supporto (matrice) per la nucleazione e l'accrescimento della fase minerale durante il processo di formazione di nuovo osso e che conferiscono elasticità e flessibilità alla struttura.

1.1.1 MORFOLOGIA E STRUTTURA DEL TESSUTO OSSEO

Tutte le ossa sono costituite da due tipi di tessuto osseo: corticale e trabecolare (Figura 1.1).

L'osso corticale (Figura 1.2), conosciuto anche come osso compatto, rappresenta l'80% in peso della massa scheletrica e forma la porzione esterna di tutte le ossa. Si tratta di un tessuto duro, solido e compatto perché privo di cavità macroscopicamente evidenti; solo piccoli canali sono riservati ai vasi sanguigni e alle cellule.

L'osso trabecolare (Figura 1.3), conosciuto anche come osso spugnoso, si trova principalmente nella parte più interna dell'osso. Esso è caratterizzato da una struttura alveolare che conferisce leggerezza all'osso, da una bassa densità e da una grande superficie specifica. Le trabecole, intersecate tra loro e orientate secondo le linee di carico, delimitano cavità midollari che contengono midollo rosso e giallo, sede principale del processo di produzione delle cellule del sangue. Questo tipo di osso costituisce solo il 20% della massa scheletrica, ma rappresenta la componente metabolicamente più attiva.

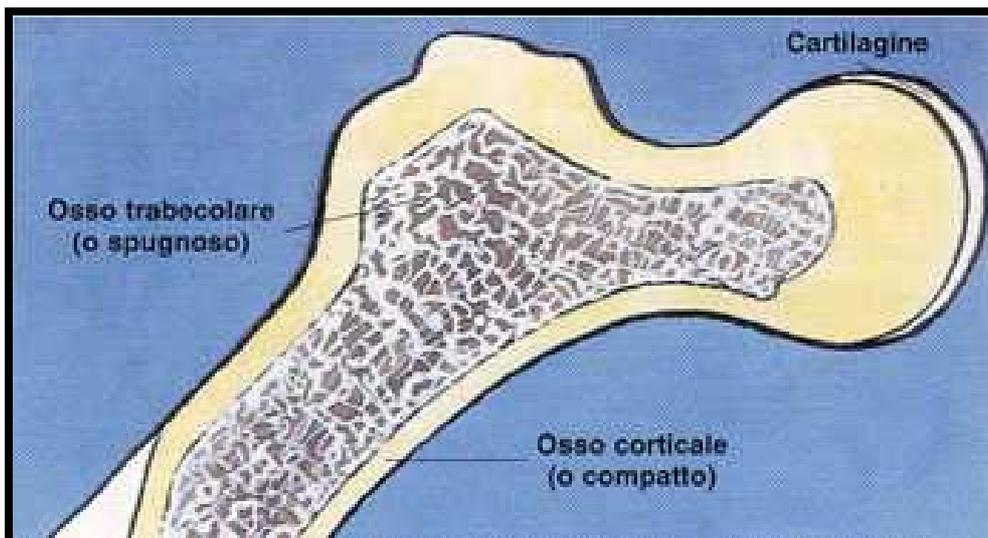


Figura 1.1: Morfologia dell'osso.

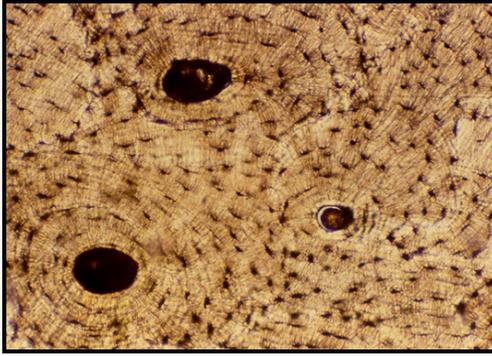


Figura 1.2: Osso corticale.

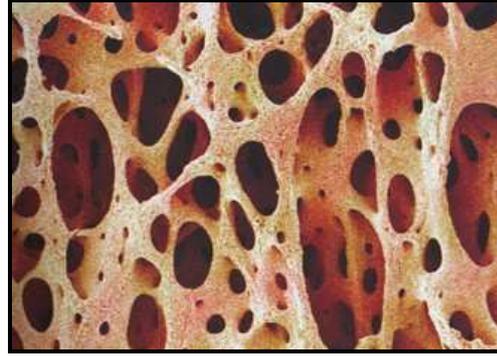


Figura 1.3: Osso spugnoso.

1.1.2 TIPI DI OSSO

In base alla loro morfologia le ossa, che risultano essere 206 nel corpo adulto, possono essere suddivise principalmente in tre gruppi: ossa lunghe, ossa corte e ossa piatte.

Le ossa lunghe presentano un corpo allungato (diafisi) e due estremità ingrossate (epifisi). Le epifisi sono costituite internamente da tessuto spugnoso, con trabecole più o meno fitte e variamente orientate; le diafisi, invece, presentano al loro interno una cavità, il canale midollare, in cui è contenuto il midollo osseo (Figura 1.4). Tipiche ossa lunghe sono quelle degli arti come femore, tibia, omero, radio e ulna.

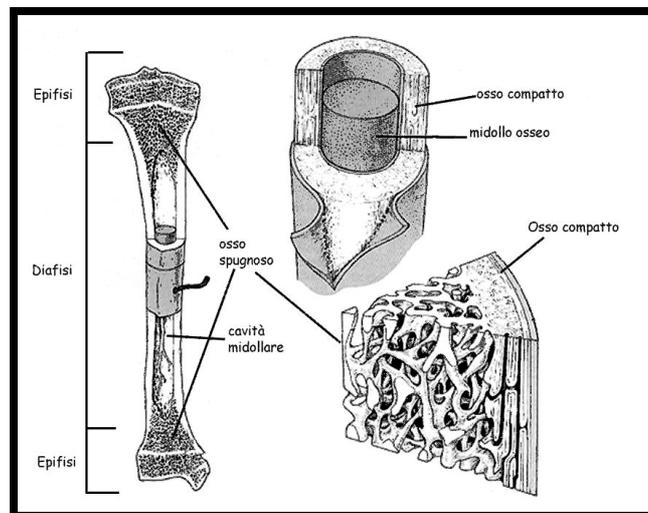


Figura 1.4: Le ossa lunghe.

Le ossa corte, che includono le vertebre, la testa del femore, tutti i metacarpi e le falangi delle mani e dei piedi, sono caratterizzate da lunghezza e diametro di simile misura e sono costituite da tessuto osseo spugnoso circondato da uno strato sottile di tessuto osseo compatto (Figura 1.5).

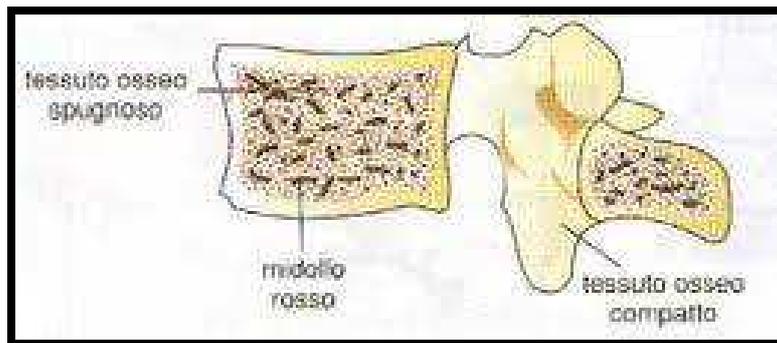


Figura 1.5: Le ossa corte.

Le ossa piatte sono costituite da uno strato di tessuto spugnoso interposto tra due lamine di tessuto compatto (Figura 1.6). Esempi di ossa piatte sono il cranio, le costole e lo sterno; la loro principale funzione è quella di proteggere gli organi vitali.

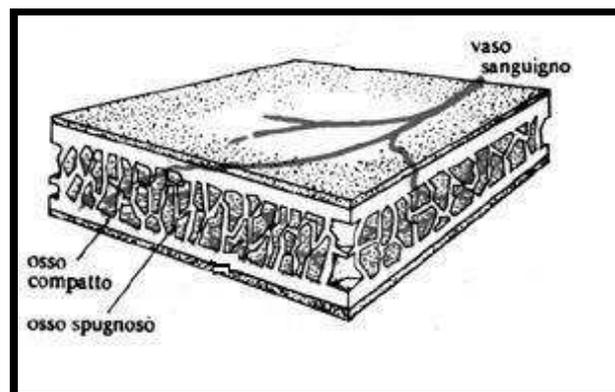


Figura 1.6: Le ossa piatte.

Nel corpo sono inoltre presenti ossa con forme e dimensioni variabili che prendono il nome di ossa irregolari; queste includono le ossa facciali, la rotula, le ossa carpali delle mani e le ossa tarsali dei piedi.

1.1.3 PROPRIETÀ MECCANICHE DELL'OSSO

La differente struttura dell'osso corticale e trabecolare si manifesta nelle differenti proprietà meccaniche. Tali proprietà nell'osso sono molto variabili a seconda ad esempio della specie, dell'età e del sito anatomico.

L'osso corticale è un materiale anisotropo quindi le sue proprietà meccaniche variano a seconda della direzione del carico.

Le proprietà meccaniche dell'osso trabecolare sono dovute alle caratteristiche meccaniche delle singole trabecole e alla loro particolare disposizione e orientamento, che consente di resistere a sollecitazioni che arrivano da diverse direzioni.

1.2 LA COLONNA VERTEBRALE

La colonna vertebrale ha diverse funzioni:

- di sostegno, per il corpo umano;
- di protezione, per il midollo spinale ammortizzando gli effetti di urti e vibrazioni;
- motoria, viste le possibilità di orientare la testa nello spazio, di piegare il corpo in avanti e di estenderlo in senso opposto, di fletterlo e di ruotarlo.

La colonna vertebrale umana è costituita da 33 vertebre articolate fra loro; anatomicamente è suddivisa in cinque regioni:

- regione cervicale;
- regione dorsale;
- regione lombare;
- regione sacrale;
- regione coccigea.

La regione cervicale è la parte più mobile e delicata della colonna vertebrale. Essa è costituita da 7 vertebre (vertebre cervicali, da C1 a C7) che sono distinguibili in una regione superiore e in una regione inferiore. Si parla quindi di rachide cervicale superiore, costituito da atlante (C1) ed epistrofeo (C2), che hanno una configurazione differente dalle altre vertebre per permettere i movimenti della testa, e di rachide cervicale inferiore che è costituito dalle 5 vertebre cervicali rimanenti (da C3 a C7).

La regione dorsale consta di 12 vertebre articolate con le coste (vertebre dorsali o toraciche, da T1 a T12): il loro volume aumenta man mano che si procede dall'alto verso il basso.

La regione lombare è costituita da 5 vertebre (da L1 a L5) che sono contraddistinte da un notevole volume del corpo vertebrale e che costituiscono l'asse che sostiene l'addome.

La regione sacrale consta di 5 vertebre (da S1 a S5): la loro fusione costituisce il cosiddetto osso sacro. Insieme al coccige e alle due ossa dell'anca, il sacro forma il bacino.

La regione coccigea, invece, è composta da 4-5 vertebre (da Co1 a Co4,5) la cui fusione costituisce il coccige.

Ogni vertebra è separata dalle altre da un disco cartilagineo, costituito da un anello fibroso che circonda al suo interno il nucleo polposo (Figura 1.7). Questo disco funziona da cuscinetto ed ha lo scopo di ammortizzare le pressioni che si sviluppano durante i movimenti. Oltre alla funzione ammortizzante i dischi intervertebrali conferiscono alle vertebre una certa mobilità che consente alla colonna vertebrale di curvarsi entro certi limiti.

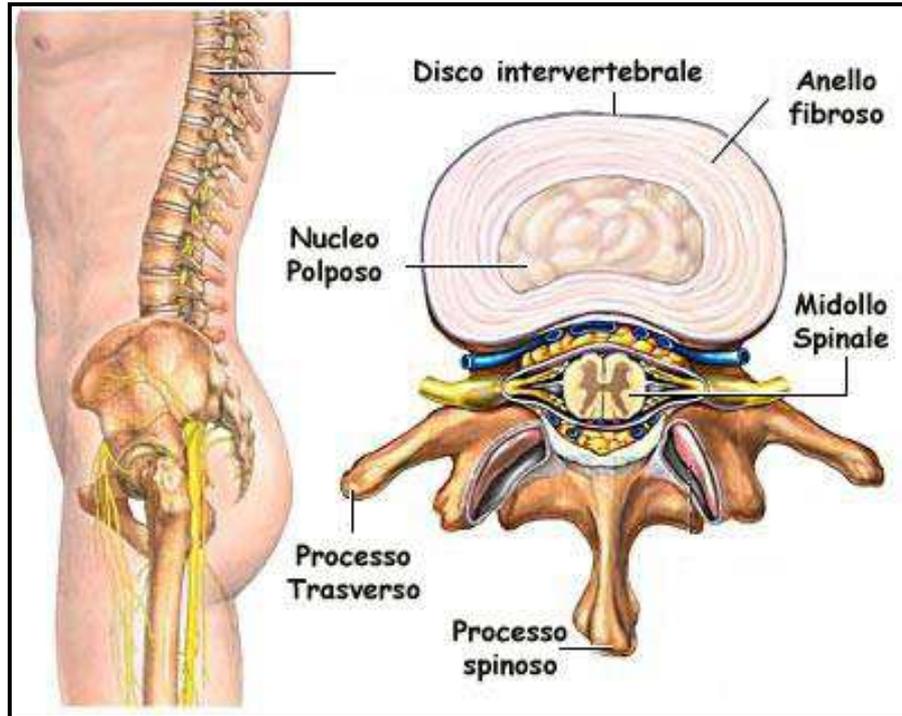


Figura 1.7: La colonna vertebrale.

La colonna nel suo insieme è rettilinea sul piano frontale, dividendo esattamente il corpo in due parti simmetriche, mentre sul piano sagittale si hanno le caratteristiche curve che disegnano il profilo dello scheletro umano (Figura 1.8). Le curve sono una lordosi cervicale, una cifosi dorsale, una lordosi lombare e ancora una cifosi sacro-coccigea. La presenza di queste curve rachidee aumenta la resistenza della colonna vertebrale alle sollecitazioni di compressione assiale conferendo una maggiore capacità di ammortizzare le pressioni esercitate.

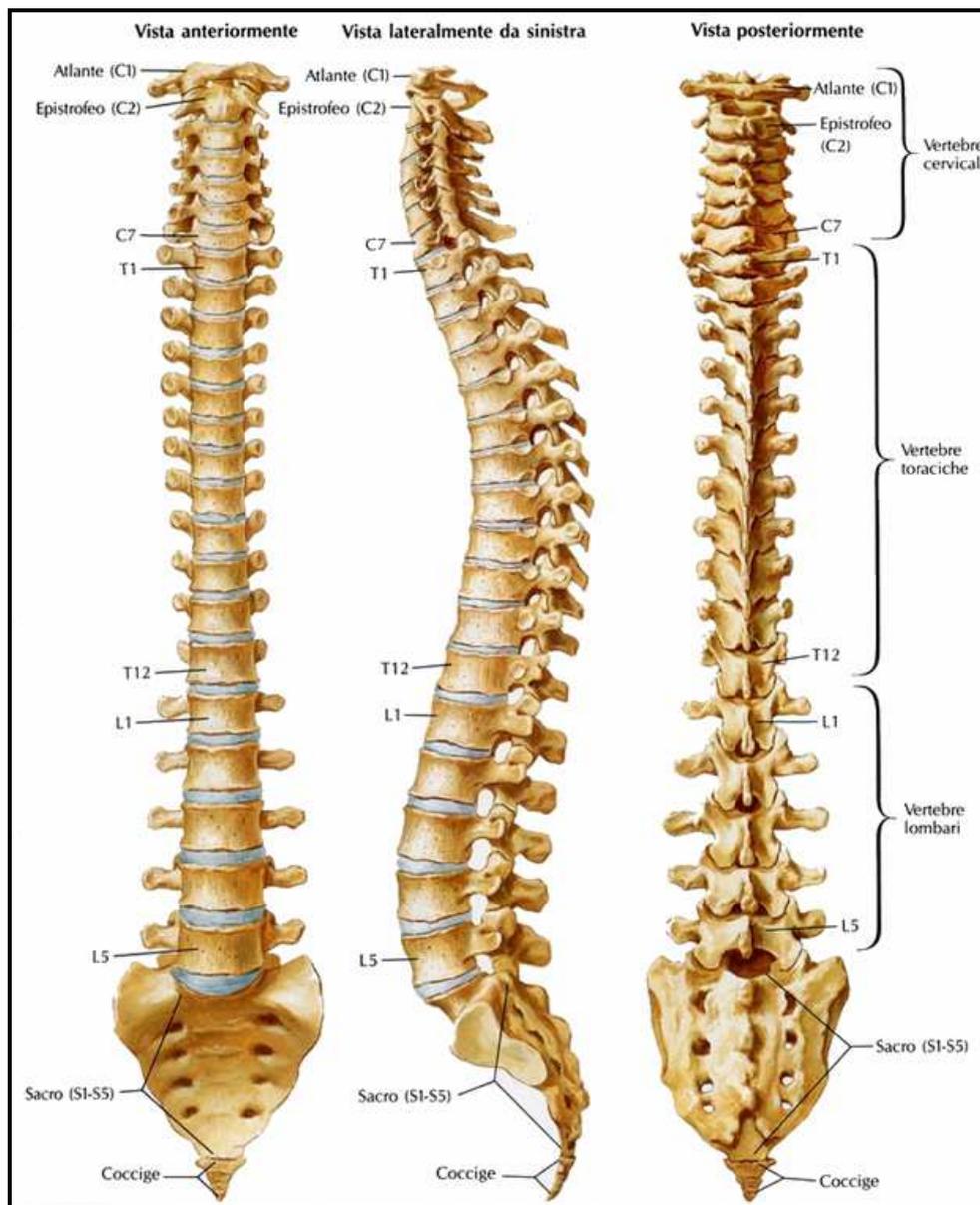


Figura 1.8: La colonna vertebrale.

1.2.1 LE VERTEBRE

La struttura della vertebra è quella caratteristica delle ossa brevi, cioè costituita da tessuto osseo spugnoso rivestito esternamente da una lamina di tessuto osseo compatto (Figura 1.9).

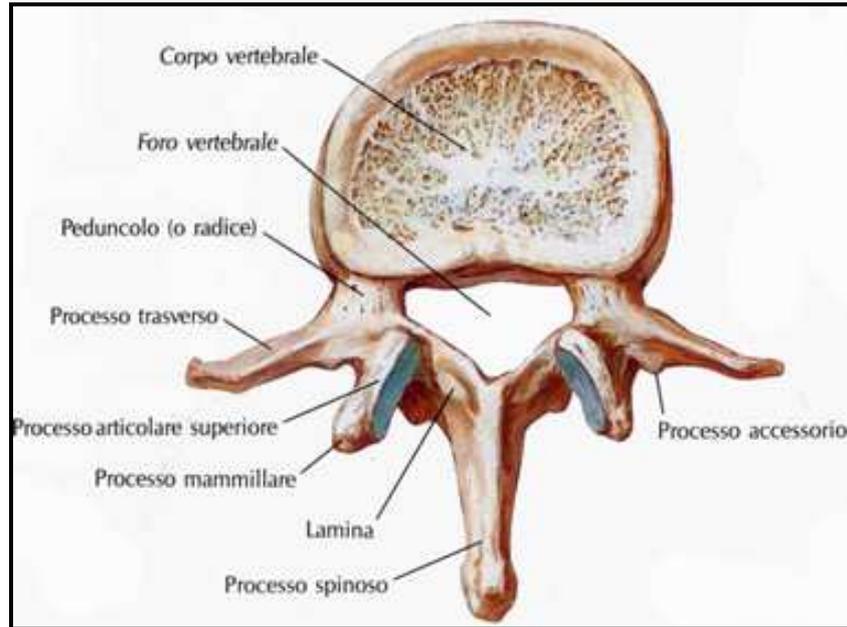


Figura 1.9: Struttura della vertebra.

Le vertebre non sono tutte uguali tra loro ma presentano diverse caratteristiche comuni che consentono di farne una descrizione generale. Sono costituite da un corpo vertebrale che insieme all'arco vertebrale delimita il foro vertebrale. La sovrapposizione dei fori, porta alla formazione del canale vertebrale all'interno del quale è contenuto il midollo spinale, porzione extracranica del sistema nervoso centrale che collega tramite i nervi spinali il sistema nervoso centrale con il sistema nervoso periferico.

Il corpo vertebrale è la parte più grande e resistente della vertebra. Questo presenta tre facce, una superiore, una inferiore e una di contorno (detta anche circonferenza). L'arco vertebrale costituisce la parte posteriore della vertebra ed è composto da varie porzioni: due peduncoli, due masse apofisarie, due lamine e un processo spinoso.

In ogni vertebra si distinguono poi dei processi che servono all'articolazione con le vertebre adiacenti.

1.3 BIOLOGIA DEL TESSUTO OSSEO

L'osso è una struttura dinamica costantemente rimodellata grazie all'azione delle cellule ossee: osteoblasti, osteoclasti e osteociti (Figura 1.10).

Gli osteoblasti sono cellule mononucleate che, sintetizzando le varie componenti tessutali, sia fibrose che amorfe, si rendono responsabili della formazione dell'osso mediante un processo di mineralizzazione della matrice ossea. Quando il processo di formazione di nuovo tessuto osseo si è esaurito, alcuni osteoblasti cessano la loro attività mentre altri si trasformano in cellule meno attive dette osteociti.

Gli osteociti sono cellule ossee mature coinvolte nel mantenimento della matrice ossea in risposta a stimoli di varia natura.

Gli osteoclasti, infine, sono cellule polinucleate responsabili del riassorbimento osseo. L'azione di riassorbimento avviene erodendo la matrice ossea mediante enzimi di esocitosi e pH acido.

Osteoblasti e osteociti possiedono sulla membrana cellulare recettori per il paratormone (PTH) il quale è sintetizzato dalle ghiandole paratiroidi ed esercita il controllo del metabolismo del calcio regolandone l'assorbimento. Riconosciuto l'ormone da parte dei recettori, le cellule ossee liberano fattori di attivazione per gli osteoclasti che iniziano il processo di riassorbimento.

L'ormone calcitonina, invece, inibisce l'attività degli osteoclasti agendo direttamente su di essi. La principale funzione di questo ormone prodotto dalla tiroide è l'abbassamento della concentrazione di calcio nel sangue, contrastando gli effetti del PTH.

Il tessuto osseo risponde attivamente ai cambiamenti di sollecitazione meccanica, adattandosi e rimodellandosi di conseguenza. L'architettura interna si adatta in termini di cambio della densità e della disposizione delle trabecole mentre la conformazione esterna in termini di forma e dimensioni.

Il riassorbimento e la "deposizione" ossea sono processi sempre attivi nell'osso.

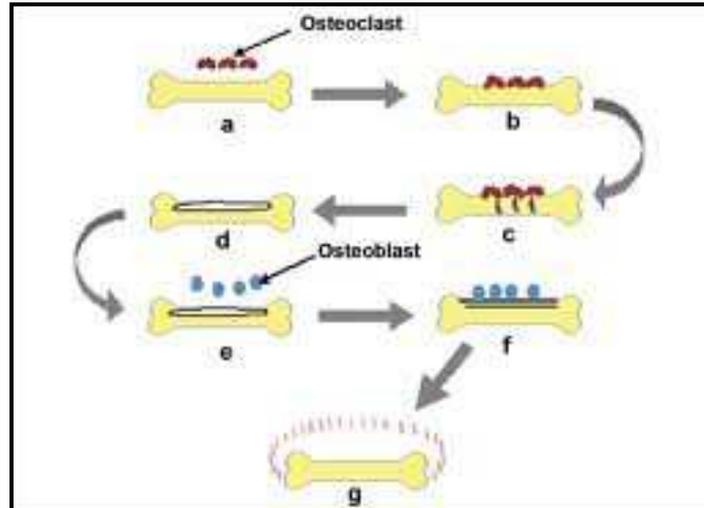


Figura 1.10: Attività di osteoclasti e osteoblasti.

Quando le sollecitazioni meccaniche aumentano si forma nuovo osso, viceversa quando le sollecitazioni diminuiscono si avvia il processo di riassorbimento. Quando il cambio di sollecitazione è dovuto ad un cambio di direzione del carico vi è un riarrangiamento della struttura delle trabecole e degli osteoni e, in scala microscopica, può verificarsi un cambio di configurazione ossea. Uno stato di equilibrio esiste solamente quando le due attività sono perfettamente bilanciate.

1.4 OSTEOPOROSI

L'osteoporosi è una malattia sistemica, non sintomatica, dello scheletro caratterizzata da una diminuzione della massa ossea e da un deterioramento della microarchitettura del tessuto osseo che porta ad un maggior rischio di fratture^[15]. La diminuzione della densità ossea è un processo che inizia tra i trenta ed i quarant'anni sia negli uomini che nelle donne, a causa di una maggiore attività osteoclastica. Nella maggior parte dei casi questo fenomeno è legato principalmente a fattori endocrini e metabolici in grado di influenzare l'attività delle cellule ossee. È infatti il prevalere dell'azione degli osteoclasti su quella degli osteoblasti a determinare la graduale demineralizzazione e la conseguente fragilità ossea^[16] (Figura 1.11).



Figura 1.11: Differenza tra un osso osteoporotico e un osso sano.

Conseguenza di questo indebolimento osseo è la facilità con cui si può incorrere in fratture anche in conseguenza a traumi minimi o in assenza di trauma.

Le ossa della colonna vertebrale indebolite dall'osteoporosi possono causare il collasso osseo che può portare ad una perdita dell'altezza e ad una curvatura in avanti della colonna vertebrale (Figura 1.12).

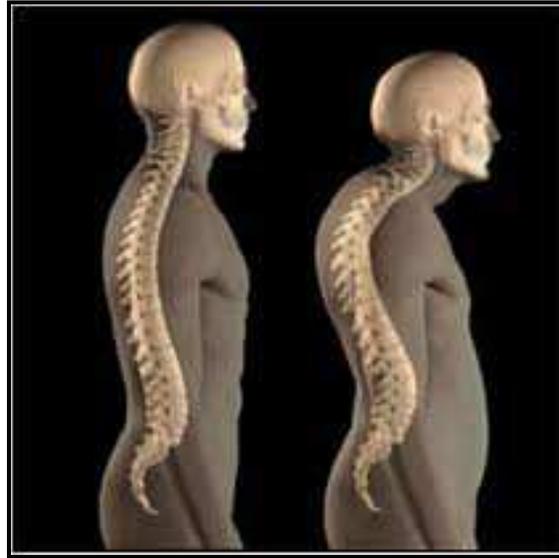


Figura 1.12: Colonna vertebrale sana e colonna vertebrale indebolita da osteoporosi.

Le fratture costituiscono l'evento clinico più rilevante dell'osteoporosi che interessano con maggiore frequenza il polso, le vertebre ed il femore (Figura 1.13). È evidente come queste abbiano un grosso impatto sulla qualità di vita.

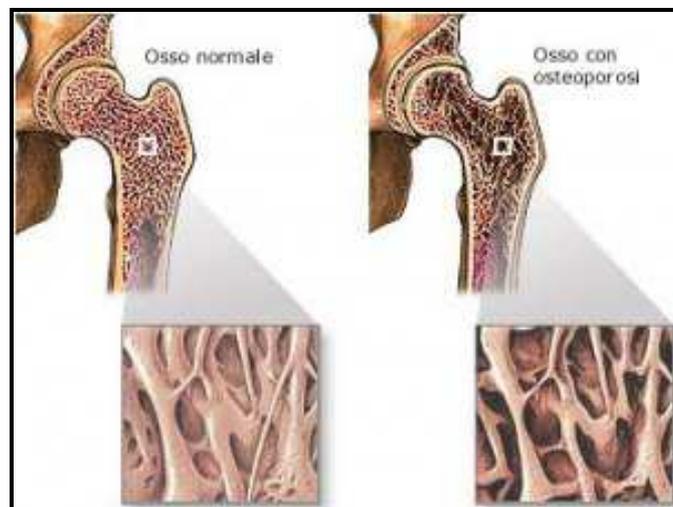


Figura 1.13: Esempio: ossa del femore osteoporotiche.

Le fratture vertebrali, specie se le vertebre fratturate sono due o più, possono portare ad un dolore continuo alla schiena, riduzione della motilità, cifosi (incurvamento in avanti della colonna vertebrale), riduzione della statura, difficoltà respiratorie.

1.5 VERTEBROPLASTICA E CIFOPLASTICA

Vertebroplastica e cifoplastica sono procedure chirurgiche minimamente invasive che sono state recentemente introdotte per la risoluzione delle fratture a carico della regione vertebrale avvenute per osteoporosi. Entrambe le procedure comportano un'iniezione di un cemento osseo iniettabile nel corpo vertebrale danneggiato^[14].

Lo scopo della vertebroplastica è quello di stabilizzare il corpo vertebrale fratturato (Figura 1.14).

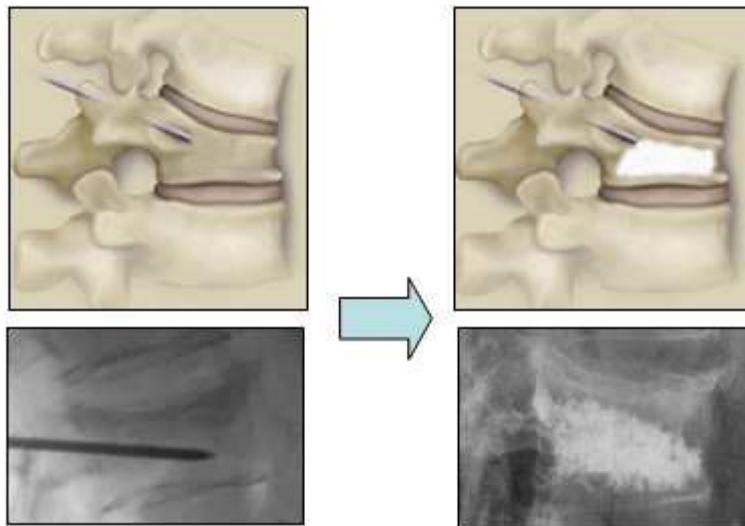


Figura 1.14: Vertebroplastica.

L'obiettivo della cifoplastica, invece, è quello di stabilizzare il corpo vertebrale fratturato e ripristinare la sua altezza portandola il più possibile vicino al livello di prefrattura (Figura 1.15).

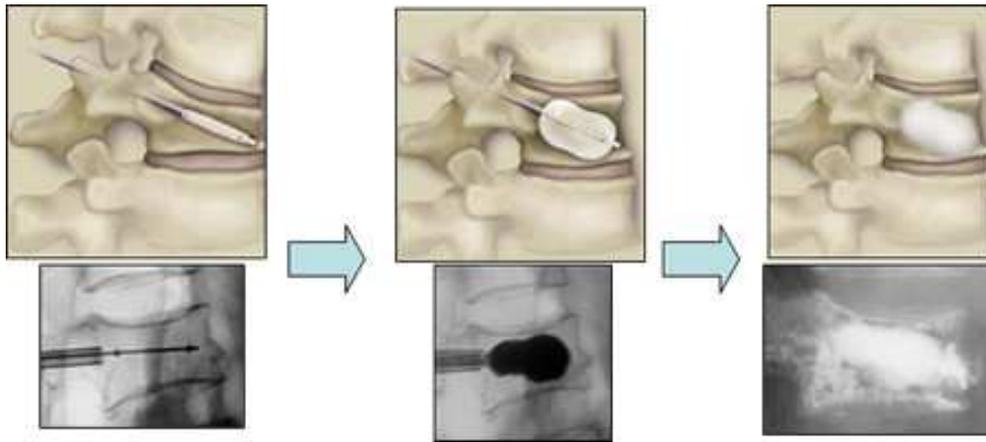


Figura 1.15: Cifoplastica.

La cifoplastica è l'evoluzione della vertebroplastica: prima della cementazione del corpo vertebrale fratturato si tenta di correggerne la deformità. Con questa tecnica è possibile ridurre la deformità cifotica vertebrale con un palloncino che, espandendosi nel corpo vertebrale, ne solleva lo schiacciamento; dopo la rimozione del palloncino si inietta una sostanza a presa rapida che riempie il volume creato dal palloncino stesso e stabilizza immediatamente la vertebra che sarà in grado di sostenere nuovamente il carico.

Nonostante si tratti di metodiche simili, la vertebroplastica e la cifoplastica non sono da considerare metodiche alternative bensì complementari: esistono infatti indicazioni specifiche per l'una o per l'altra procedura.

I risultati ottenuti con le due metodiche sono eccellenti, considerata la bassa incidenza di complicanze (0,5% circa) ed il miglioramento significativo del dolore vertebrale che si ottiene in oltre il 90% dei pazienti. La veloce solidificazione del cemento permette al paziente di mettersi in piedi poche ore dopo l'intervento ed essere dimesso anche il giorno stesso.

Il miglioramento della qualità di vita consente anche una maggior attività motoria del paziente che a sua volta comporta una miglior conservazione della massa ossea e quindi il contenimento del rischio di fratture, non solo vertebrali.

1.6 I CEMENTI OSSEI ACRILICI

I cementi acrilici oggi in uso sono a base di PMMA (polimetilmetacrilato), un materiale che viene commercializzato in forma di polvere, da miscelare al momento dell'uso con metacrilato di metile (MMA) liquido per formare una pasta che indurisce gradualmente. Benché il PMMA sia biocompatibile, l'MMA è una sostanza irritante. Essendo questo tipo di cemento più rigido delle ossa e non biorassorbibile esso può portare alla frattura delle vertebre circostanti comportando così ulteriori disagi.

I cementi ossei acrilici sono cementi molto utilizzati in vertebroplastica e cifoplastica ma presentano diverse problematiche. In primo luogo la polimerizzazione esotermica può causare un aumento della temperatura fino a 100 °C che quindi può portare, in vivo, a necrosi termica dei tessuti molli circostanti ed anche dell'osso. La seconda preoccupazione è data dal monomero residuo della reazione che causa necrosi chimica del tessuto. Inoltre l'esposizione ai fumi del monomero liquido può causare reazioni asmatiche e/o lacrimazione al personale medico^[5].

A causa di queste problematiche l'utilizzo dei cementi acrilici è indicato per pazienti in età avanzata (> 75 anni) in cui l'attività motoria è comunque limitata e dove il basso potenziale rigenerativo rende inutili terapie di ricostruzione dell'osso originale. Al contrario, in pazienti più giovani, la necessità di restituire loro la mobilità originale, evitando tali effetti collaterali, spinge la ricerca scientifica verso nuovi materiali funzionanti in vivo come cementi ossei bioattivi in grado di favorire la rigenerazione dei tessuti danneggiati.

CAPITOLO 2:

MATERIALI STUDIATI

2.1 TRICALCIO FOSFATO (TCP)

Il tricalcio fosfato (Figura 2.1) è un sale di calcio con acido fosforico con la seguente formula chimica:

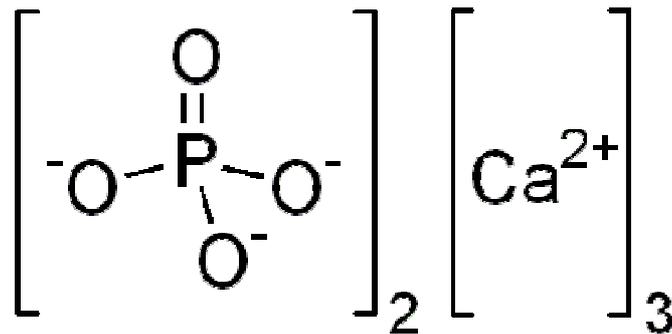


Figura 2.1: Struttura chimica tricalcio fosfato.

È anche noto come fosfato di calcio tribasico. Ha due differenti forme cristalline: l' α -TCP e il β -TCP entrambe utilizzate per la preparazione di cementi di calcio fosfato.

2.1.1 β -TCP

Ha esattamente la stessa composizione chimica dell' α -TCP, è la fase allotropica stabile sotto i 1180 °C, ma possiede una differente struttura cristallografica. La forma β può essere stabilizzata da alcune impurità ioniche, come ioni magnesio. È un materiale biorassorbibile non presente nei tessuti biologici.

2.1.2 α -TCP

La differente struttura cristallografica rende l' α -TCP piú biodegradabile del β -TCP.

L' α -TCP puó essere convertita in apatite in soluzione acquosa grazie ad una reazione di idrolisi^[7]; questa conversione porta alla formazione di apatite non stechiometrica scarsamente cristallina, che assomiglia molto alla parte minerale dell'osso, con un rapporto molare Ca:P variabile in un range tra 1,50 e 1,67.

2.2 IDROSSIAPATITE

L'idrossiapatite è un minerale che fa parte del gruppo delle apatiti.

Nel singolo cristallo di idrossiapatite gli ioni Ca^{2+} e PO_4^{3-} sono disposti in struttura a simmetria esagonale, attorno a colonne di OH^- (Figura 2.2). La formula dell'idrossiapatite risulta pertanto:

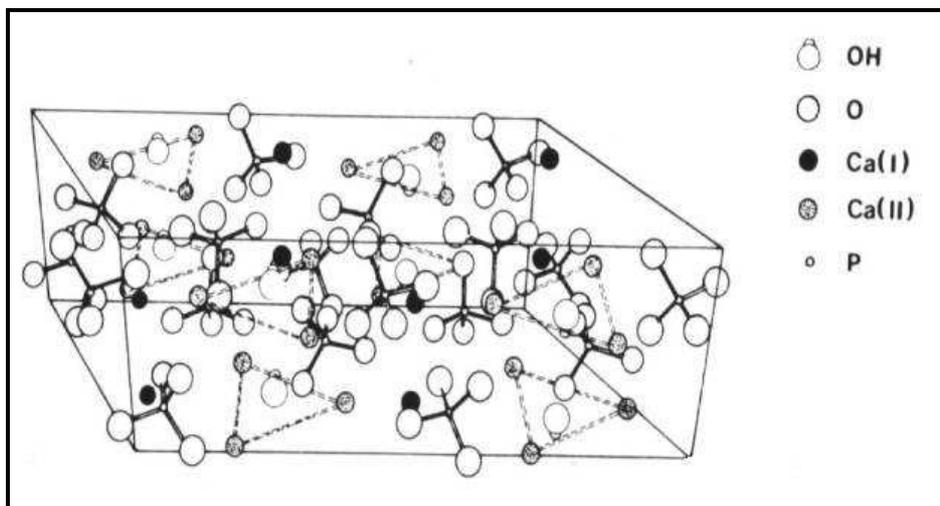


Figura 2.2: Struttura chimica dell'idrossiapatite.

L'idrossiapatite stechiometrica (HA) ha una struttura piuttosto stabile. Riuscendo a creare legami chimici direttamente con l'osso, risulta essere un materiale biocompatibile, non tossico e con proprietà molto simili a quelle del tessuto osseo. Le proprietà meccaniche sono migliori in compressione rispetto che in trazione, caratteristica che accomuna tutti i materiali ceramici; inoltre l'HA è intrinsecamente fragile e questo limita l'applicazione in impianti che hanno la funzione di sostenere delle sollecitazioni meccaniche complesse.

Nei tessuti biologici la composizione chimica è molto più complessa date le molteplici sostituzioni: queste modificano la struttura cristallina, riducendone l'ordine a lungo raggio, e conferiscono maggiore solubilità e bioattività all'apatite biologica. Ne consegue che l'apatite biologica non è un materiale stabile ma è soggetta a continui cambiamenti. Tra le sostituzioni più importanti da un punto di vista biologico, gli ioni Ca^{2+} possono essere sostituiti da altri cationi bivalenti come Mg^{2+} e Sr^{2+} e ioni monovalenti come Na^+ e K^+ ; gli ioni OH^- , invece, possono essere sostituiti da ioni monovalenti quali F^- , Cl^- e Br^- . Sono presenti anche sostituzioni nella struttura cristallina degli ioni tetraedrici PO_4^{3-} : queste sostituzioni possono avvenire con CO_3^{3-} , SiO_4^{4-} , HPO_4^{2-} , HCO_3^- .

2.3 I CEMENTI OSSEI A BASE DI CALCIO FOSFATO

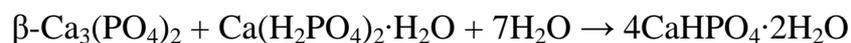
A metà del 1980 Brown e Chow inventarono il primo cemento a base di calcio fosfato (CaP), un mix di polveri di calcio fosfato e acqua che induriva col tempo a temperatura ambiente^[4].

Per ottenere un cemento osseo sono possibili due tipi di impostazione della reazione.

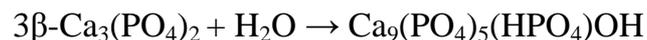
Il primo consiste in una reazione acido-base, dove una fase calcio-fosfatica relativamente acida reagisce con una relativamente basica. Un tipico esempio è il cemento di Brown e Chow^[4], dove il tetracalciofosfato (basico) reagisce con una fase neutra (dicalcio fosfato) per ottenere idrossiapatite (leggermente basica):



Un altro esempio è il cemento di Lemaître^[4] in cui β -TCP (leggermente basico) reagisce con una fase acida (monocalcio fosfato monoidrato) per ottenere dicalcio fosfato diidrato (neutro):



Il secondo tipo di reazione si basa sulla trasformazione di una fase calcio-fosfatica metastabile in idrossiapatite, mediante un processo di idrolisi a temperatura ambiente. Tipici esempi sono dati da calcio fosfato amorfo e α -TCP che formano idrossiapatite calcio deficiente:



Nel presente lavoro si è deciso di procedere sfruttando il secondo tipo di approccio, partendo da alfa-TCP. Infatti in questo modo è possibile evitare variazioni locali di pH che potrebbero comportare effetti indesiderati come, ad esempio, processi infiammatori. Inoltre, in questo modo, è possibile partire da

fasi di alfa-TCP con differenti sostituzioni ioniche specifiche per promuovere i processi rigenerativi. In particolare, in questa attività di ricerca si sono sintetizzate fasi di alfa-TCP contenenti stronzio, che ha una specifica azione anti-osteoporotica^[12].

I cementi ossei, in particolare i calcio fosfatici, induriscono attraverso una reazione isotermica: un notevole vantaggio rispetto all'esotermia caratteristica dei cementi acrilici.

Per la realizzazione di questi cementi sono necessari diversi step in cui vari parametri devono essere ottimizzati; spesso una piccola variazione di uno di questi parametri può portare a dover intervenire anche sugli altri, per ottenere adeguate proprietà di iniettabilità e tempi di indurimento opportuni.

2.3.1 CARATTERISTICHE IMPORTANTI DI UN CEMENTO OSSEO INIETTABILE

Affinché la pasta di cemento possa essere iniettata in vivo deve avere diverse caratteristiche:

- biocompatibilità: sia il cemento iniettato che i prodotti delle reazioni che avvengono in vivo devono interagire con l'organismo senza procurare effetti tossici o dannosi;
- iniettabilità: il cemento deve poter essere estruso, senza smiscelarsi, con un piccolo e lungo ago;
- coesione: il cemento non si deve disgregare anche se posto in un liquido. La mancata coesione può portare a reazioni infiammatorie;
- alta radiopacità: consente di individuare il cemento mediante tecniche radiografiche;
- velocità di riassorbimento adeguata ai processi di rigenerazione ossea;
- buone proprietà meccaniche: devono consentire il carico meccanico entro breve tempo dall'intervento.

2.3.2 ADDITIVI

Nei cementi possono, inoltre, essere inseriti additivi^[5] come :

- fluidificanti: possono essere utilizzati per ridurre il tempo di miscelazione dei cementi;
- agenti areanti: comunemente utilizzati per creare una macroporosità indotta all'interno del cemento senza influenzare il tempo d'indurimento della pasta (setting). Questa macroporosità permetterebbe una crescita più veloce dell'osso e una migliore osteointegrazione dell'impianto;
- agenti per il miglioramento della lavorabilità: ad esempio polisaccaridi o gelatina. I polisaccaridi aumentano in modo significativo l'iniettabilità della pasta mentre la gelatina porta ad un aumento del tempo di setting;
- agenti rinforzanti: vengono aggiunti per rafforzare le proprietà meccaniche del cemento. Ad esempio, se vengono aggiunte fibre di nylon la tenacità aumenta;
- antibiotici: vengono inseriti con il principale scopo di ridurre le infezioni nel corpo. Dopo il setting i farmaci riescono ad essere rilasciati lentamente attraverso i pori del cemento. La possibilità di utilizzare sostituti ossei come un sistema di rilascio di farmaci offre un'alternativa e un'efficiente soluzione per il trattamento di malattie ossee come tumori, osteoporosi o osteomielite.

2.3.3 TEMPI DI INDURIMENTO (SETTING)

Il metodo tradizionale per caratterizzare la reazione di setting di un cemento utilizza un approccio meccanico. Si dice che un cemento “ha settato” quando può resistere ad un dato carico meccanico applicato alla sua superficie. Si effettuano due misure corrispondenti al “setting time” iniziale e finale. Per effettuare queste prove sono necessari gli aghi di Gillmore (Figura 2.3).



Figura 2.3: Aghi di Gillmore.

Lo strumento è costituito da due aghi: il primo ago ha un diametro di 2,12 mm e un peso pari a 113 g; il secondo, invece, ha un diametro minore (1,06 mm) e un peso superiore (453 g).

Il tempo di indurimento iniziale si ha quando il primo ago non riesce più a penetrare nel cemento mentre quello finale si ha quando non entra più il secondo ago.

Il tempo di setting può essere modificato^[6]:

- variando le dimensioni della polvere di alfa-TCP: minori sono le dimensioni della polvere, più breve sarà il tempo di setting;
- variando il rapporto tra la frazione solida e la quantità del liquido di miscelazione: minore è la quantità di liquido utilizzata, più breve sarà il tempo di setting;
- aggiungendo ioni calcio disponibili: maggiore è la concentrazione di ioni disponibili, minore sarà il tempo di setting;
- aggiungendo nuclei di calcio-fosfati che fungano da catalizzatori della nucleazione della fase apatite: maggiore è la quantità aggiunta, minore sarà il tempo di setting;
- aggiungendo inibitori di crescita cristallina: più inibitori vengono aggiunti, maggiore sarà il tempo di setting.

2.4 II RUOLO DELLO STRONZIO

Il processo di formazione e riassorbimento osseo è strettamente governato da una varietà di agenti regolanti sistemici e locali^[13] (Figura 2.4). Inoltre, minerali ed elementi in tracce influenzano questi meccanismi attraverso effetti diretti o indiretti sulle cellule ossee. Alcuni elementi chimicamente legati al calcio, come lo stronzio (Sr), se presenti in grandi quantità rispetto a quelle richieste dalla fisiologia delle cellule, hanno interessanti effetti farmacologici.

Evidenze sperimentali mostrano che la somministrazione dello stronzio porta ad una riduzione del riassorbimento osseo e ad un incremento della formazione ossea. Pare che la presenza dello stronzio sulla superficie dell'osso blocchi gli osteoclasti, e quindi il riassorbimento osseo, senza apparenti effetti citotossici sugli osteoclasti stessi^[13].

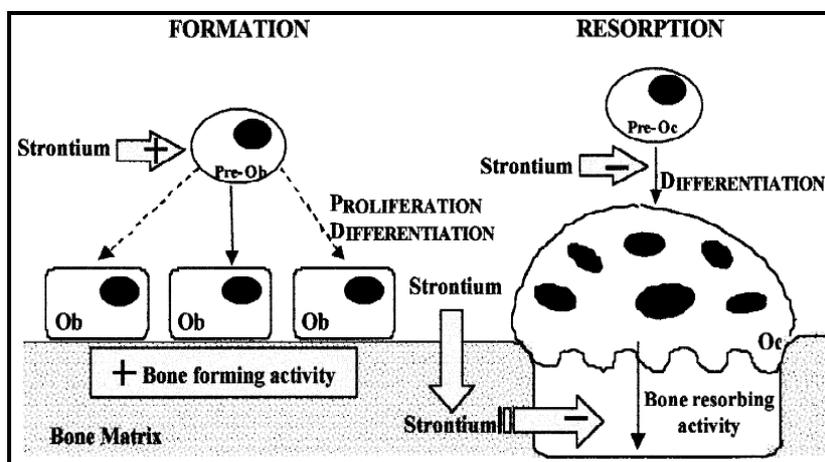


Figura 2.4: Potenziale meccanismo d'azione dello stronzio sulle cellule ossee.

Il preciso meccanismo cellulare e molecolare dell'azione dello stronzio sulle cellule ossee deve ancora essere determinato. In questo momento sono state proposte diverse ipotesi: è infatti possibile che lo stronzio regoli i meccanismi cellulari portando ad una differenziazione delle cellule ossee, ma anche che questo possa attivare percorsi di segnalazione attraverso recettori sensibili ai

cationi; un altro probabile meccanismo include l'ipotesi che lo stronzio possa indurre apoptosi nelle cellule ossee.

Grazie all'azione di riduzione del riassorbimento osseo lo stronzio può essere utilizzato in trattamenti contro l'osteoporosi.

Report mostrano che lo stronzio ranelato abbatte il riassorbimento osseo e mantiene la formazione in vivo, inoltre fa incrementare il volume osseo vertebrale senza indurre difetti di mineralizzazione e migliora la replicazione delle cellule ossee e la formazione ossea in vitro^[12].

2.5 ALGINATO

La coesione del cemento può essere notevolmente migliorata sostituendo la soluzione di miscelazione con una soluzione viscosa polimerica.

Grazie alla sua biocompatibilità e alle sue proprietà reologiche, l'alginato è un polimero utilizzato per aumentare la viscosità del cemento.

L'alginato è un polisaccaride lineare costituito dalla ripetizione di due unità monometriche: acido D-mannuronico (M) e acido L-gluronic (G) legate attraverso legami -b 1,4 e -a 1,4 glicosidici, presenti in proporzioni differenti all'interno della catena polimerica.

L'alginato è un sale che deriva dalla parte cellulare delle alghe brune Laminaria e Ascophillum, diffuse in Europa e negli Stati Uniti. In ambiente acido forma acido alginico insolubile mentre in forma di sale sodico dà luogo, in acqua, a soluzioni viscosi simili a gel.

È, inoltre, in grado di formare gel densi in presenza di ioni bivalenti (Ca^{2+} , Ba^{2+} , Sr^{2+}) per effetto della formazione di sali insolubili. Si utilizza per produrre biomateriali compositi in associazione con il collagene attraverso la reticolazione chimica. Esistono vari tipi di alginato in funzione del rapporto G/M e della lunghezza delle catene polimeriche.

In particolare, quello utilizzato in questo caso, è alginato di sodio il quale grazie alla sua buona elasticità, biodegradabilità ed eccellente biocompatibilità, è stato utilizzato nella realizzazione di sistemi per il trasporto di farmaci e per scaffold per la rigenerazione di diversi tessuti quali pelle, ossa, cartilagine, tessuto cardiaco e fegato^[18].

2.6 CALCIO CLORURO

L'utilizzo di bio-polimeri come gli alginati deriva dalla proprietà di gelificare in ambiente acquoso e di reticolare, come detto, in presenza di cationi divalenti, come per esempio gli ioni calcio.

Numerosi studi sono stati condotti in passato per caratterizzare le proprietà chimico-fisiche di questi composti, utili per una più approfondita comprensione delle reazioni coinvolte nella gelificazione e successiva reticolazione.

Morris et al. scoprirono che gli ioni calcio inducono un'associazione catenacatena: questa associazione costituirebbe la zona di giunzione responsabile della reticolazione del gel. Dagli stessi autori è stato inoltre proposto un modello fisico della zona di giunzione, conosciuto come “egg box model” (vedi Figura 2.5).

Questo modello è basato su analisi di diffrazione a raggi X delle fibre; tuttavia, data la complessità del sistema, risulta ancora molto difficile ricavare la precisa struttura cristallina del composto finale^[19].

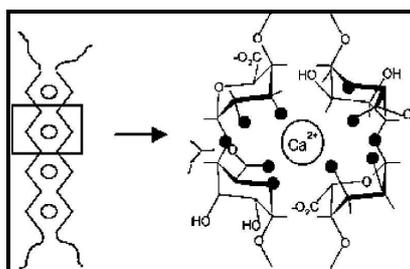


Figura 2.5: Immagine schematica rappresentante il modello Egg-box nel Ca-alginato proposto da Morris.

2.7 ATTIVITÀ SVOLTA

Nell'attività sperimentale svolta, per la realizzazione di cementi ossei, ho utilizzato polveri di MONETITE (calcio fosfato difasico), CARBONATO DI CALCIO e CARBONATO DI STRONZIO.

Sono state realizzate polveri con diversi quantitativi di stronzio (0% mol , 2% mol e 5% mol).

Di ogni miscela sono state realizzate 9 pasticche che hanno subito diversi trattamenti termici in cui è stata variata la temperatura finale (1300 °C e 1400 °C) e la permanenza alla temperatura (15 minuti, 30 minuti e 60 minuti). I diversi processi termici sono riassunti in Tabella 2.1.

TRATTAMENTO TERMICO		POLVERI SOTTOPOSTE A TRATTAMENTO	
1300 °C	15 min	α -TCP	
	30 min		
	60 min		
1400 °C	15 min		Sr 2% α -TCP
	30 min		Sr 5% α -TCP
	60 min		

Tabella 2.1: Riassunto dei trattamenti termici effettuati.

Le polveri ottenute, dopo il trattamento termico, sono state miscelate con soluzione acquosa al fine di ottenere cementi a base di calcio fosfato.

Di ognuno di questi cementi è stato valutato il tempo di setting (utilizzando gli aghi di Gillmore), la densità (attraverso il metodo geometrico) e la composizione di fase prima della miscelazione con la soluzione acquosa e dopo la reazione d'idrolisi (mediante diffrazione a raggi X); successivamente sono state determinate le proprietà meccaniche a compressione ed è stata esaminata la

morfologia superficiale dei campioni mediante microscopia elettronica a scansione (SEM).

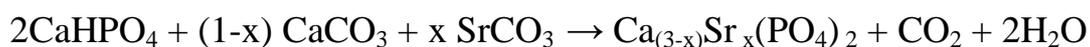
CAPITOLO 3:

REALIZZAZIONE PROVINI

3.1 MISCELAZIONE POLVERI

A seconda del quantitativo di stronzio desiderato nelle polveri finali ho calcolato il dosaggio dei diversi componenti partendo da un quantitativo di CaCO_3 pari a 20 g.

Considerando la seguente reazione:



e conoscendo i pesi molecolari delle varie sostanze:

$\text{CaCO}_3 = 100,1 \text{ g/mol}$;

$\text{CaHPO}_4 = 135,4 \text{ g/mol}$;

$\text{SrCO}_3 = 147,6 \text{ g/mol}$.

è possibile determinare le dosi dei vari reagenti per ottenere, in seguito al processo termico, TCP (Tabella 3.1).

	CaCO_3	CaHPO_4	SrCO_3
α -TCP	20 g	54,4 g	-
Sr 2% α -TCP	20 g	57,24 g	1,85 g
Sr 5% α -TCP	20 g	63,44 g	4,92 g

Tabella 3.1: Quantitativi polveri di reazione.

Prima di poter mescolare i vari reagenti, il carbonato di stronzio deve essere macinato in mulino planetario per 30 minuti, in modo da ottenere una granulometria più fine e favorire così l'ottenimento di miscele omogenee.

Ho inserito le polveri, opportunamente pesate (BILANCIA TECNICA, modello 1507, SARTORIUS), in bottigliette di polietilene: ogni singola bottiglietta viene poi inserite in turbula per 30 minuti.

La turbula (Figura 3.1) è utilizzata per ottenere una miscelazione omogenea di polveri con differenti pesi specifici e dimensione delle particelle. L'omogeneità risulta eccellente grazie ai movimenti di rotazione, traslazione e inversione.



Figura 3.1: Turbula, T2C, WAB: miscelazione polveri.

3.2 REALIZZAZIONE PASTICCHE

Per ogni polvere ho realizzato 9 pasticche. Queste sono state ottenute mediante pressatura uniassiale (Figura 3.2).



Figura 3.2: Macchina uni assiale per pressatura, PL800, NANNINI.

La pressatura uniassiale consiste nell'applicazione di una pressione unidirezionale alla polvere contenuta in uno stampo rigido; la pressione viene esercitata mediante un pistone mobile (Figura 3.3).

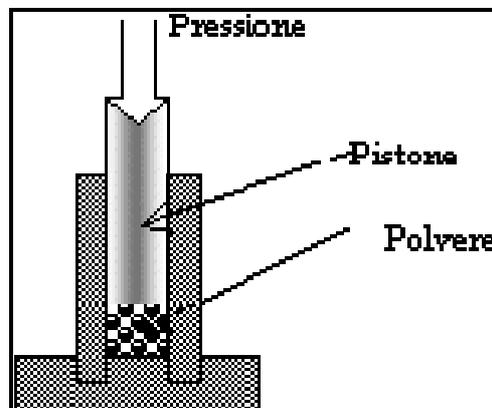


Figura 3.3: Pressatura uni assiale.

La forza applicata è uniassiale ma la presenza del vincolo, dato dal cilindro nel quale è contenuta la polvere, porta ad avere forze radiali e di conseguenza la pressatura risulta essere idrostatica.

Ho sottoposto le diverse polveri ad una pressione di circa 160 bar, per un minuto, ottenendo così pasticche compatte: ogni pasticca risulta essere di circa 25 g con un diametro di 45 mm (Figura 3.4).



Figura 3.4: Pasticche realizzate per ogni miscela per ogni processo termico.

3.3 TRATTAMENTO TERMICO

Ho inserito le pasticche, poste su un sostegno di platino, in un forno a pozzo preriscaldato (Figura 3.5): la temperatura durante il trattamento deve rimanere costante.



Figura 3.5: Forno a pozzo, NANNETTI (Faenza, RA).

Il supporto utilizzato, in questo caso, è di platino: la resistenza alla corrosione e l'inerzia chimica alle alte temperature rendono questo materiale adatto a questa applicazione.

Nel forno può essere inserita una pasticca per volta quindi lo stesso processo termico è stato ripetuto tre volte per ogni tipo di polvere.

Dopo aver sostenuto il processo termico, le pasticche vengono estratte dal forno e posate su supporti di allumina a temperatura ambiente (Figura 3.6).

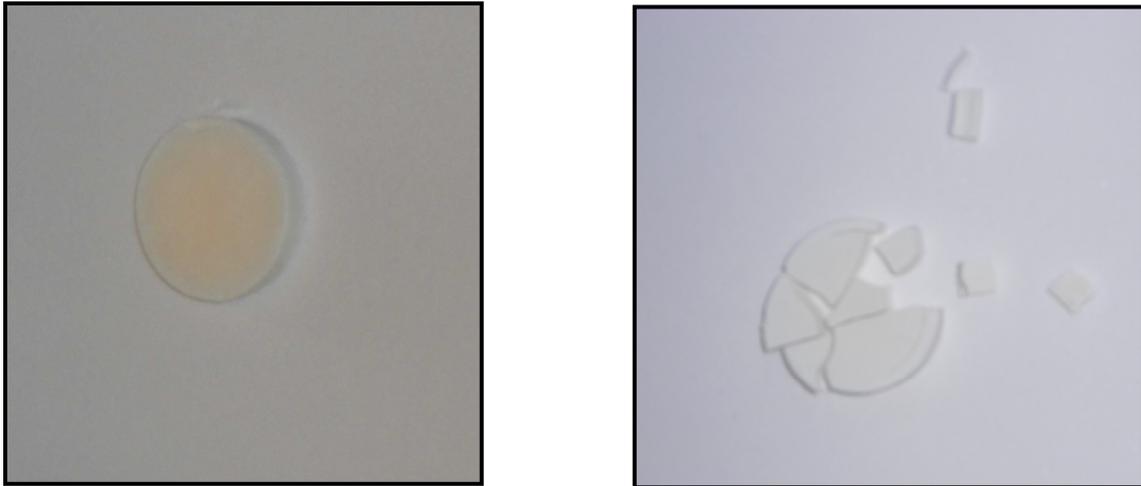


Figura 3.6: Pastiche dopo il processo termico.

Il brusco raffreddamento, ottenuto portando il materiale considerato da una temperatura elevata alla temperatura ambiente, viene chiamato tempra (quenching); in questo processo è fondamentale la temperatura iniziale, il tempo di permanenza a tale temperatura e la variazione di temperatura, cioè il ΔT .

Grazie a questo processo termico si ha la formazione di TCP; variando i parametri del quenching è possibile ottenere composizioni differenti del materiale finale, in termini di fasi alfa e beta.

Per verificare quanto il tempo di raffreddamento incidesse sulla quantità di β -TCP presente nella polvere finale, si è deciso di operare in due modi differenti:

1. in un caso ho fatto raffreddare le pasticche senza intervenire in alcun modo dopo averle estratte dal forno;
2. nell'altro caso sono intervenuta rompendo la pasticca in pezzetti con l'aiuto di un martello, in modo che il calore potesse dissiparsi più velocemente.

Dopo aver effettuato l'analisi di diffrazione a raggi X, si è constatato che nel primo caso il quantitativo di β -TCP è superiore al doppio rispetto al secondo caso: la velocità di raffreddamento, quindi, incide notevolmente sulla composizione finale delle polveri.

Affinché la modalità di raffreddamento fosse uguale per ogni pasticca, e per poter valutare quanto incidesse la maggior quantità di β -TCP nella composizione della polvere sulle proprietà meccaniche del cemento finale, si è deciso di adottare la prima modalità di raffreddamento per tutte le pasticche.

3.4 SETACCIATURA

Le pasticche, dopo rapido raffreddamento, sono state macinate in un mortaio di agata mediante vibrovaglio (“FRITSCH”) (Figura 3.7). La polvere così ottenuta è stata setacciata manualmente fino alla dimensione di $150\ \mu\text{m}$.



Figura 3.7: Strumenti utilizzati per la setacciatura.

3.5 MACINAZIONE

È necessario che le polveri raggiungano dimensioni ancor più ridotte rispetto ai $150\ \mu\text{m}$ (circa $5\ \mu\text{m}$) in modo da essere più reattive: per effettuare una macinazione più efficiente ho utilizzato un mulino planetario. I mulini a sfere

ruotano attorno ad un asse orizzontale, parzialmente riempiti con il materiale da tritare più i mezzi di macinazione (Figura 3.8).



Figura 3.8: Macinazione polveri.

Il mulino (Figura 3.9) è potenzialmente in grado di macinare le particelle della miscela fino a 5 nm, aumentando l'area superficiale e la velocità di reazione.

Nel contenitore cilindrico ho inserito 25 g della polvere da macinare, 50 g di palline di Zirconia (ZrO_2), con diametro di 5 mm, e 60 ml di etanolo puro (C_2H_6O).



Figura 3.9: Mulino planetario, PULVERISETTE, FRITSCH (Germany).

Ho impostato la velocità di rotazione a 400 rpm con permanenza di 50 minuti. La macchina ogni 10 minuti di rotazione arresta il movimento per 5 minuti, per evitare surriscaldamento delle polveri sottoposte a stress. Alla fine del processo di miscelamento le particelle del materiale macinato risultano essere disperse in etanolo.

3.6 ESSICAZIONE MEDIANTE ROTAVAPOR

Per eliminare l'etanolo dalla soluzione ho utilizzato il rotavapor (Figura 3.10), che è in grado di allontanare i solventi da una soluzione di un composto d'interesse mediante evaporazione a bassa pressione. Esso è costituito da cinque elementi principali:

- un pallone di evaporazione contenente la soluzione da evaporare;
- un bagno termostatico, in cui si immerge e si fa ruotare il pallone per mantenere la soluzione alla temperatura opportuna;
- un meccanismo motorizzato in grado di mettere in rotazione il pallone;
- un condensatore che provvede ad abbattere i vapori sviluppati;
- un pallone di raccolta per i solventi condensati.

I palloni, il condensatore e gli elementi di raccordo sono realizzati in vetro e tutto il sistema montato deve garantire una perfetta tenuta al vuoto.



Figura 3.10: Rotavapor, R-124, BÜCHI.

Infatti, l'evaporazione del solvente viene favorita dall'applicazione all'evaporatore rotante di un'opportuna depressione (vuoto) che abbassa la temperatura di ebollizione del solvente: sotto vuoto tutti i solventi arrivano ad ebollizione a temperature più basse rispetto a quelle necessarie lavorando a pressione atmosferica.

Dopo l'evaporazione dell'etanolo il pallone viene tenuto per una notte in stufa a 80 °C in modo da eliminare ogni residuo del solvente, essendo la temperatura di ebollizione dell'etanolo 78,4 °C.

3.7 REALIZZAZIONE CEMENTI

Con la polvere ottenuta dalla macinazione in mulino, e successivamente privata del solvente mediante rotavapor, è possibile realizzare cementi mediante reazione di idrolisi di α -TCP.

Si può affermare che non è un singolo meccanismo a controllare la cinetica di reazione dell'idrolisi dell' α -TCP ma la reazione è controllata nelle fasi iniziali dall'area superficiale specifica a contatto col liquido e successivamente dalla diffusione attraverso gli strati idratati. La velocità di crescita degli strati idratati risulta essere inversamente proporzionale allo spessore degli strati stessi.

Ho utilizzato due metodi per ottenere cementi: in un caso, ho miscelato le polveri con una soluzione acquosa; nell'altro, con un polimero (sodio-alginato).

Nel primo caso aiutandomi con una pipetta (Figura 3.11) ho prelevato pochi ml di soluzione e l'ho versata in un mortaio in agata dove avevo preventivamente inserito 12 g di polvere (Figura 3.12).



Figura 3.11: Soluzione di setting.

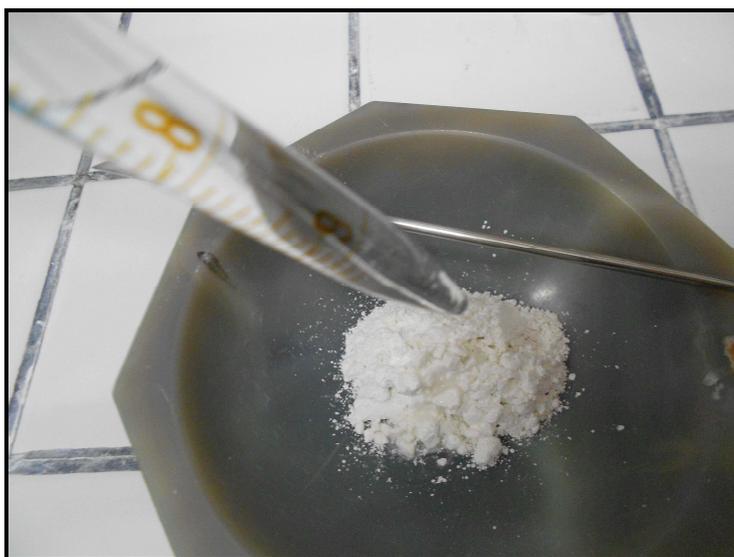


Figura 3.12: Polvere e soluzione di setting.

Ho introdotto la soluzione di setting fino a che la polvere non assume la densità di una pasta di dentifricio (Figura 3.13); la quantità di soluzione da inserire è un parametro molto importante per il processo. Dal rapporto solido/liquido dipendono i tempi di setting: più liquido è presente maggiore sarà il tempo di indurimento della pasta. Se però viene inserito poco liquido nella fase di miscelazione, durante l'estrusione della pasta può verificarsi de-miscelazione: la

separazione di fasi che avviene durante l'iniezione di un prodotto poco coeso fa sì che il liquido venga estruso senza la frazione solida, che è il cemento vero e proprio.



Figura 3.13: Aspetto del cemento prima di essere iniettato.

Quando il cemento raggiunge la consistenza desiderata può essere inserito in una siringa e successivamente estruso in cilindretti tenuti sospesi in un bagno termostatico a 37 °C (Figura 3.14), temperatura scelta per simulare il più possibile il comportamento del cemento in vivo.



Figura 3.14: Bagno termostatico, SB24, FALK INSTRUMENTS S.r.l, con cilindretti in sospensione.

Dopo un determinato tempo, chiamato tempo di setting, il cemento indurisce. Per verificare se il cemento “ha settato” ho utilizzato gli aghi di Gillmore (vedi paragrafo 2.3.3) (Figura 3.15).

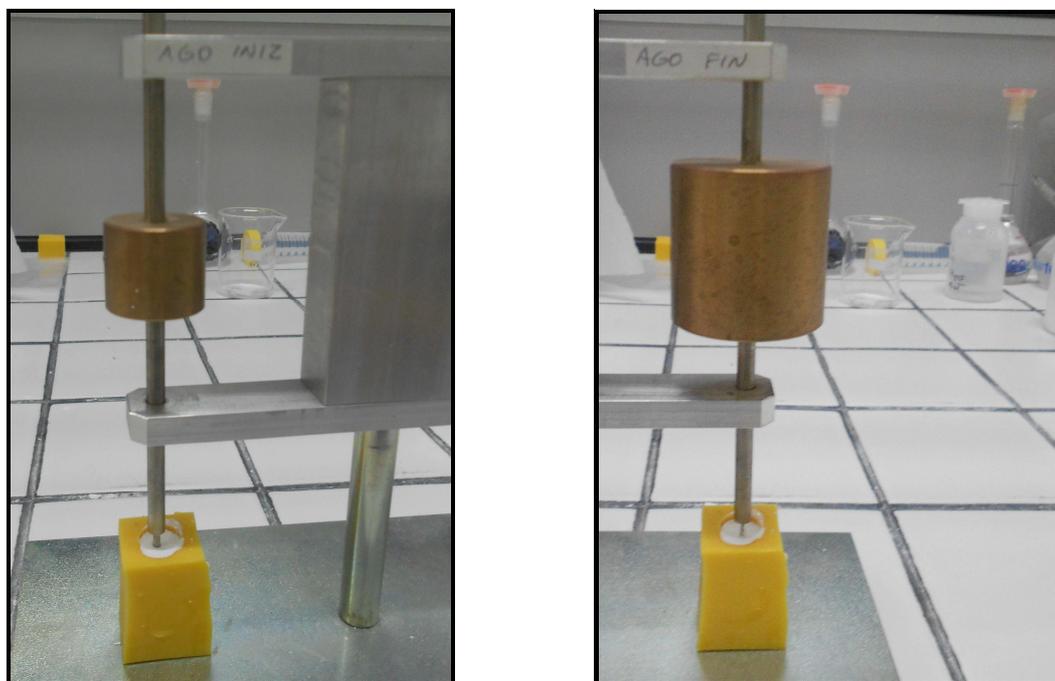


Figura 3.15: Setting iniziale e finale.

Per quanto riguarda la seconda modalità di realizzazione del cemento, ho miscelato 12 g di polvere con circa 8 ml di sodio alginato; con questa modalità ho realizzato cementi con polvere iniziale di α -TCP e Sr 2% α -TCP.

Per ottenere il sodio alginato 3,5 wt% ho inserito in un beker 4,38 g di sodio fosfato diidrato, 2 g di alginato e 100 ml di acqua distillata. La soluzione così realizzata viene mantenuta in agitazione grazie ad un agitatore magnetico affinché la miscelazione dei reagenti risulti essere omogenea (Figura 3.16).



**Figura 3.16: Sodio alginato mantenuto in agitazione:
AGITATORE MAGNETICO, F60, FALC.**

Ho eseguito, inoltre, due diverse procedure: nella prima ho miscelato solamente la polvere con il sodio alginato; nella seconda ho inserito anche una piccola percentuale in peso di cloruro di calcio (CaCl_2) che ha azione di cross linkante e quindi dovrebbe favorire il setting velocizzandolo (vedi paragrafo 2.6). L'accelerazione dell'indurimento ad opera del calcio cloruro non è legata ad un aumento della cinetica di idrolisi, da cui è completamente indipendente, ma dal fatto che l'alginato, reticolando, forma un supporto più consistente. Il processo di miscelazione, e di estrusione, è lo stesso seguito per i cementi realizzati con soluzione acquosa.

Tutti i cementi, ottenuti seguendo le diverse procedure, sono stati lasciati nel bagno termostato per 72 ore dopo l'estrusione; successivamente, sono stati tolti dal bagno e fatti riposare in una stufa a 40 °C per altre 72 ore.

Dopo questo processo i cilindretti vengono rettificati e sono pronti per le diverse analisi del campione.

CAPITOLO 4:

METODI: TECNICHE ANALITICHE E DI MISURA

4.1 DIFFRATTOMETRIA A RAGGI X (XRD)

La diffrazione a raggi X (XRD) è utilizzata come analisi strutturale massiva e non distruttiva di sostanze cristalline organiche e inorganiche. È in grado di identificare la distanza tra i piani reticolari di un materiale che è un parametro diagnostico per ogni sostanza cristallina. È una tecnica analitica che riesce a fornire informazioni qualitative e quantitative sulla sostanze cristalline in esame. Essa si basa sulla diffrazione cioè il fenomeno di interazione costruttiva della radiazione uscente dal solido cristallino colpito da raggi X. Quando un fascio di raggi X colpisce il reticolo mette in vibrazione gli elettroni che incontra lungo il suo percorso con una frequenza uguale a quella della radiazione incidente. Gli elettroni posti in vibrazione assorbono una parte dell'energia dei raggi X e si comportano come una nuova sorgente; per alcune direzioni queste radiazioni interferiscono positivamente rafforzandosi reciprocamente e producono un effetto di diffusione chiamato diffrazione. Il fenomeno macroscopico della diffrazione nasce dalla somma coerente di tutte le onde elettromagnetiche diffuse dagli atomi che si trovano lungo la stessa famiglia di piani reticolari. Per manifestarsi richiede necessariamente la presenza di un ordine a lungo raggio, caratteristico dei cristalli.

Il risultato dell'analisi diffrattometrica è un grafico detto spettro di diffrazione che raffigura la posizione angolare e l'intensità dei picchi misurati relativi ai piani del reticolo cristallino.

4.1.1 PRINCIPIO DI FUNZIONAMENTO

Il diffrattometro è costituito da un tubo radiogeno che emette raggi X che vengono collimati fino ad arrivare al campione. I raggi uscenti, dopo lo scontro col campione, saranno nuovamente collimati per poi arrivare al monocromatore, che scompone un singolo fascio di luce policromatica in più fasci di luce monocromatica che arrivano al detector (Figura 4.1).

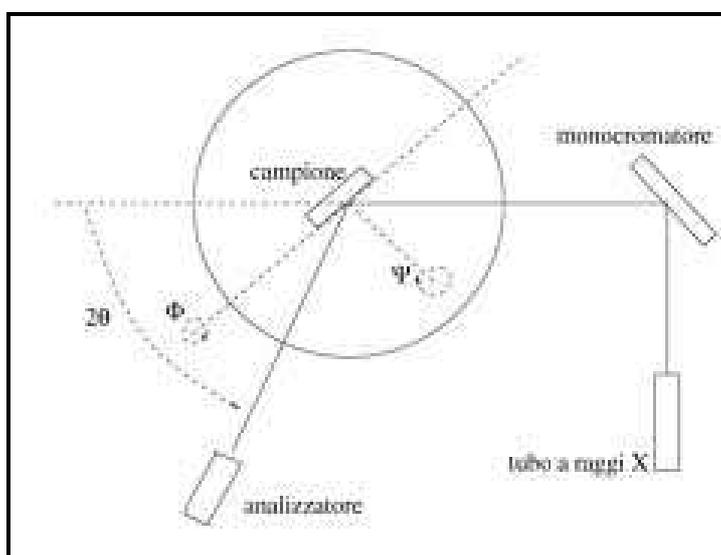


Figura 4.1: Principio di funzionamento diffrattometria.

Il tubo radiogeno ha il compito di generare raggi X ed è costituito da un anodo e un catodo. Il catodo è composto dal filamento riscaldatore alimentato a bassa tensione e dal catodo vero e proprio che è collegato al circuito ad alta tensione. L'anodo è situato al polo opposto dell'ampolla ed è costituito da un disco di metallo pesante (tungsteno).

Il filamento riscaldatore riscalda il catodo che inizia ad emettere elettroni per effetto termoionico. La nube elettronica così creata risulta essere accelerata dall'alta tensione e gli elettroni sono proiettati verso l'anodo dove colpiscono il disco metallico. Nell'impatto l'energia cinetica che avevano acquisito si

trasforma in calore (99%) e in radiazione X (1%). Questa piccola porzione di raggi X, derivante dall'urto, colpisce il campione.

La radiazione emessa è caratteristica dell'elemento che l'ha generata e può essere identificata da due picchi ($K\alpha$ e $K\beta$) e da una radiazione di fondo dovuta all'interazione tra il fascio incidente e il campo elettrico prodotto dai nuclei atomici dell'anticatodo.

Ogni sostanza cristallina è caratterizzata da una peculiare simmetria di reticolo e da una determinata organizzazione atomica, pertanto uno spettro XRD definisce univocamente una specifica fase cristallina o una miscela. Le intensità dei picchi sono proporzionali alla quantità di fase diffrangente, infatti un'analisi di uno spettro XRD consente di ottenere sia la composizione in fasi che le quantità relative dei costituenti una miscela. Nel diffrattogramma è contenuto il risultato della diffrazione dove l'intensità di diffrazione è espressa in funzione dell'angolo di scattering.

La condizione geometrica che porta ad un'interferenza positiva, considerando un fascio di raggi X incidenti con angolo θ , è espressa dalla legge di Bragg (Figura 4.2):

$$n\lambda = 2d \sin(\theta)$$

dove:

- θ è l'angolo che il fascio incidente forma col piano cristallino;
- λ è la lunghezza d'onda della radiazione;
- d è la distanza tra due piani adiacenti;
- n indica l'ordine della diffrazione (tipicamente solo quello per $n=1$ è apprezzabile).

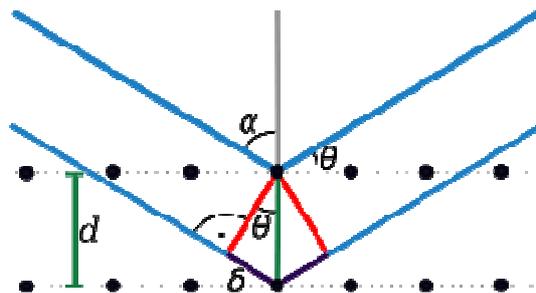


Figura 4.2: Rappresentazione della Legge di Bragg.

Il risultato dell'analisi diffrattometrica è un grafico, detto spettro di diffrazione, contenente posizione angolare e intensità dei picchi relativi ai diversi piani del reticolo cristallino (Figura 4.3).

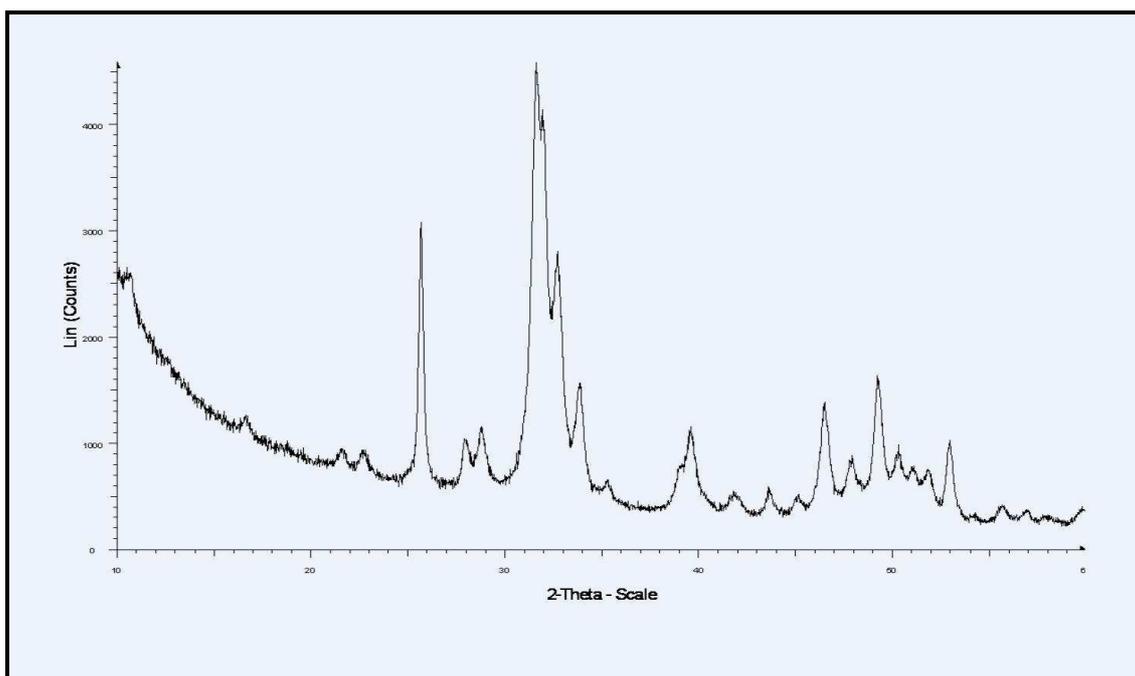


Figura 4.3: Diffrattometria idrossiapatite.

La posizione angolare (2θ) dei picchi dipende dalle distanze interplanari (d).
L'intensità dei picchi (area del picco) dipende dagli atomi presenti nella cella elementare, dalle loro posizioni, dalla concentrazione del materiale e

dall'orientazione dei piani cristallini; l'allargamento dei picchi, invece, dipende dalla microstruttura e dalle imperfezioni del materiale.

I dati di diffrazione a raggi X di un campione policristallino permettono di determinare:

- la composizione delle fasi cristalline (analisi qualitativa e quantitativa);
- gli indici dei picchi di Bragg, le loro intensità integrate e parametri di cella molto precisi;
- la distribuzione degli atomi in cella, ovvero la struttura cristallina;
- diverse caratteristiche microstrutturali.

Lo spettro di diffrazione di una fase cristallina è univoco e permette di riconoscere una fase se se ne conosce già lo spettro.

Per poter effettuare un'analisi qualitativa è necessario avere a disposizione fasi pure di riferimento o banche dati di coordinate cristallografiche.

4.1.2 METODO RIR

Il metodo RIR (Reference Intensity Ratio) consente di operare l'analisi semiquantitativa di una miscela mediante diffrattometria a raggi X.

Questa tecnica prevede la misura (in mm) nel diffrattogramma del picco più intenso di ogni fase presente.

Viene poi calcolato il rapporto tra l'intensità di questo picco e il coefficiente di scattering del composto considerato.

Il coefficiente di scattering è l'intensità del riflesso più intenso di una fase: spesso viene riportato in riferimento al coefficiente di scattering del corindone (Al_2O_3), scelto generalmente come standard.

Riporto di seguito i coefficienti di scattering dei composti utilizzati nel lavoro di tesi:

IDROSSIAPATITE (HA) = 0,5

α -TRICALCIOFOSFATO (α -TCP) = 0,44

β -TRICALCIOFOSFATO (β -TCP) = 0,46

ESEMPIO:

$$X_{HA} = \frac{\text{intensità del picco più intenso di HA (mm)}}{0,5}$$

$$X_{\alpha - TCP} = \frac{\text{intensità del picco più intenso di } \alpha - \text{TCP (mm)}}{0,44}$$

$$X_{\beta - TCP} = \frac{\text{intensità del picco più intenso di } \beta - \text{TCP (mm)}}{0,46}$$

Individuate tutte le fasi della miscela, si assume che la sommatoria delle relative concentrazioni sia unitaria:

$$X_{HA} + X_{\alpha-TCP} + X_{\beta-TCP} = 1$$

Svolto il calcolo si normalizza al 100% la somma dei vari termini ottenuti e si ricava quindi la % (in volume) di ogni fase all'interno della miscela.

4.1.3 METODO RIETVELD

Il metodo Rietveld permette di effettuare un'analisi quantitativa della composizione di una miscela composta da più fasi, nota la struttura delle fasi componenti.

Si procede trattando separatamente gli spettri di ogni fase presente, calcolando di ognuna lo spettro teorico, successivamente si sommano i contributi dei diversi spettri e viene variata la percentuale relativa di ognuna delle fasi presenti fino a minimizzare le differenze tra lo spettro teorico e spettro sperimentale ottenuto dalla diffrazione del campione in polvere.

Questa tecnica si basa quindi sulla minimizzazione, con un metodo di minimi quadrati, di una funzione che rappresenta la differenza tra il profilo calcolato e quello sperimentale, raffinando una serie di parametri fisici tra i quali i parametri di cella delle fasi cristalline, le coordinate degli atomi costituenti e la morfologia dei picchi.

4.1.4 CAMPIONI ANALIZZATI

La diffrazione a raggi X è stata utilizzata per analizzare le diverse polveri a seguito del processo di macinazione. Grazie a questa analisi è stato possibile valutare la composizione delle polveri stesse, in termini di quantità di α -TCP e β -TCP presenti nella struttura, e trarre delle conclusioni riguardo l'effetto della quantità di stronzio presente nella struttura e del processo termico a cui la polvere è stata sottoposta.

Successivamente sono state effettuate analisi di diffrazione a raggi X per tutti i tipi di polvere dopo idrolisi; in questo modo è stato possibile valutare quantitativamente la trasformazione di α -TCP in idrossiapatite.

Tutte le analisi sono state effettuate con diffrattometro BRUKER (Figura 4.4).



Figura 4.4: Diffrattometro BRUKER, D8 ADVANCED.

4.2 DENSITÀ DEI CAMPIONI

Per la misura della densità dei campioni è stato utilizzato il metodo geometrico. Questo metodo consiste nel calcolo della massa, utilizzando una bilancia sensibile al centesimo di grammo, e del volume del campione. Per il calcolo dell'altezza e del diametro è stato utilizzato un calibro digitale con la precisione del centesimo di millimetro (Figura 4.5).



Figura 4.5: Utilizzo del calibro.

È stato necessario approssimare, per i campioni non perfettamente cilindrici, il diametro con il diametro medio. Per calcolare l'altezza correttamente è stato necessario rettificare i campioni, in modo tale da rendere le facce piane parallele, eliminando così le imperfezioni della superficie. Per fare ciò è stata utilizzata carta vetrata con diversa grana (Figura 4.6).

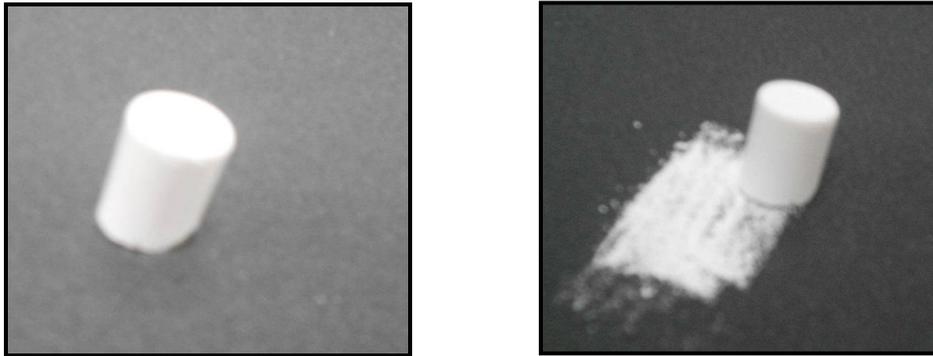


Figura 4.6: Levigatura provini.

4.2.1 CAMPIONI ANALIZZATI

Il calcolo della densità è stato effettuato in modo geometrico (ρ_G) per tutti i tipi di cementi (diverse quantità di stronzio e diverso processo termico) dopo il setting. Per ognuno di questi il calcolo è stato effettuato dopo aver lasciato riposare i cilindretti 72 ore nel bagno termostato e 72 ore in stufa a 40 °C.

Sono stati analizzati sia i cementi realizzati miscelando la polvere di partenza con soluzione acquosa di setting sia quelli realizzati miscelando la polvere con sodio alginato (solo α -TCP e Sr- α -TCP 2% 1400 °C - 60 min).

Di ognuno di questi, nota la composizione in fasi, è stata calcolata la densità teorica (ρ_T) e così la densità relativa (ρ_R) del singolo campione:

$$\rho_R = \frac{\rho_G}{\rho_T}$$

4.3 ANALISI GRANULOMETRICA

La distribuzione granulometrica delle polveri viene determinata, utilizzando la legge di Stokes, sfruttando la velocità di sedimentazione delle particelle disperse in un mezzo liquido. La concentrazione delle diverse frazioni granulometriche viene rilevata determinando l'opacità della finestra della cella contenente la sospensione. Nel presente lavoro di tesi è stata utilizzata la macchina MICROMERITIS SediGraph 5100 (Figura 4.6) per svolgere tali analisi.



Figura 4.6: MICROMERITICS SediGraph 5100.

4.3.1 LEGGE DI STOKES

Una sfera immersa in un fluido è sottoposta alla forza di gravità (F_G), alla forza di attrito viscoso caratteristica del fluido (F_D) e alla spinta di Archimede (F_A): la forza gravitazionale spinge il corpo verso il basso mentre le altre due forze spingono il corpo verso l'alto.

Nella condizione di equilibrio, la risultante di queste forze deve essere nulla:

$$\mathbf{F}_G + \mathbf{F}_D + \mathbf{F}_A = \mathbf{0}$$

La legge di Stokes si basa sul fatto che più un liquido è viscoso più è bassa la velocità di una sfera lasciata cadere liberamente nel liquido stesso.

Le dimensioni delle particelle analizzate sono importanti: più piccole sono, minore è la velocità di sedimentazione.

4.3.2 METODO DI ANALISI

La velocità delle particelle può essere determinata valutando l'assorbimento di raggi X da parte delle particelle stesse a differenti altezze.

Il dispositivo di analisi è inizialmente tarato introducendo nella cella porta campione un liquido noto, nel nostro caso esametafosfato di sodio ("CALGON" allo 0,05% in peso).

Il materiale che vuole essere analizzato deve essere disperso in soluzione nel liquido usato per la taratura. La soluzione così ottenuta viene inserita nella camera di miscelazione dell'analizzatore dove un agitatore magnetico mantiene le particelle in sospensione. La sospensione viene poi trasferita alla cella di analisi grazie ad un sistema di pompe peristaltiche. L'agitazione viene così bloccata e le particelle iniziano a sedimentare sotto l'effetto della forza di gravità. All'interno dell'analizzatore viene prodotto un fascio di raggi X che attraversa la cella di analisi e quindi le particelle, durante la sedimentazione, passano attraverso questo fascio. Valutando l'assorbimento dei raggi X alle diverse altezze della cella è possibile ricavare la concentrazione di particelle con dimensioni differenti. In questo modo è possibile graficare la variazione di concentrazione in funzione della dimensione delle particelle.

La cella portacampione durante l'analisi è in movimento al fine di velocizzare il processo: si ha una scansione della cella dal basso verso l'alto. Lo spostamento

della cella verso il basso viene effettuato alla velocità determinata dalla legge di Stokes.

Affinchè l'analisi possa essere affidabile, è importante che le particelle siano ben disperse nella soluzione in modo da evitare che particelle aggregate tra loro si comportino come un'unica particella aumentando così la velocità di caduta.

4.3.3 CAMPIONI ANALIZZATI

Grazie all'analisi di granulometria è stato possibile esaminare polveri di Sr- α -TCP 5% 1400 °C – 60 min prima della macinazione in mulino, dopo la macinazione in mulino per 50 minuti e dopo un'ulteriore macinazione in mulino di 50 minuti.

Questa analisi permette di valutare la diminuzione delle dimensioni delle particelle dovute alla macinazione, caratteristica importante per il tempo di indurimento del cemento.

4.4 MICROSCOPIO ELETTRONICO A SCANSIONE (SEM)

Il microscopio elettronico a scansione è un tipo di microscopio che sfrutta un fascio di elettroni come sorgente di radiazioni permettendo così l'osservazione di campioni con ingrandimenti e risoluzioni 1000 volte superiori alla microscopia ottica. Questo fascio di elettroni, ad alta energia nel vuoto, colpisce il campione che si vuole osservare scandendolo, riga per riga. Dal campione vengono emesse numerose particelle (Figura 4.7), fra le quali gli elettroni secondari, che vengono acquisite da opportuni detectors, convertite in impulsi elettrici e successivamente elaborate fino a formare un'immagine a livelli di grigio.

Il fascio di elettroni che interagisce con il materiale subisce due tipi di fenomeni differenti: diffusione elastica e diffusione anelastica.

La diffusione elastica è dovuta all'urto elastico con il nucleo degli atomi bombardati e porta ad una variazione della direzione della propagazione senza che ci sia una considerevole variazione energetica.

La diffusione anelastica, invece, è dovuta ad urti anelastici sia con il nucleo degli atomi che con gli elettroni dell'atomo stesso e comporta una considerevole diminuzione dell'energia senza però modificare la direzione di propagazione.

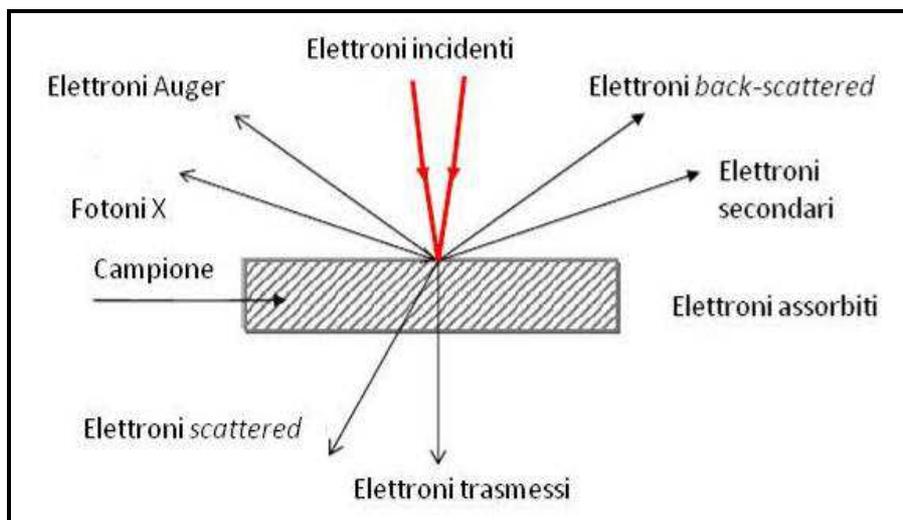


Figura 4.7: Segnali prodotti dall'interazione del fascio con il campione.

Quando una superficie è investita da elettroni ad elevata energia produce diversi tipi di segnali; per quanto riguarda la microscopia elettronica a scansione sono principalmente due i segnali che interessano: gli elettroni secondari e quelli retrodiffusi (back-scattered).

Gli elettroni secondari, o segnale SE (Secondary Electron), sono definiti convenzionalmente come gli elettroni uscenti dal campione con energia minore o uguale a 50 eV. Essi provengono da una profondità di pochi nm (nanometri) e scaturiscono dal fascio primario e dall'interazione degli elettroni retrodiffusi con gli elettroni di valenza del campione. Gli elettroni secondari forniscono informazioni sulla topografia delle superfici e sulla presenza e distribuzione di campi magnetici o elettrici; per rilevarli si fa uso di uno scintillatore/fototubo preceduto da uno stadio acceleratore. L'immagine fornita da tali elettroni appare in rilievo, come se l'osservatore fosse allo stesso livello del diaframma interno e guardasse l'oggetto illuminato da un'ipotetica sorgente situata in corrispondenza del rivelatore.

Gli elettroni retrodiffusi, o segnale BSE (Back-Scattered Electron), sono elettroni di energia maggiore di 50 eV che derivano principalmente dalle interazioni del fascio primario con i nuclei degli atomi del campione. Gli elettroni retrodiffusi forniscono informazioni riguardo al numero atomico medio della zona di provenienza (circa qualche μm), alla topografia e alla struttura cristallina del campione. I prodotti dell'interazione vengono raccolti da opportuni rivelatori ed i segnali ottenuti modulano l'intensità del fascio del tubo a raggi catodici.

Il movimento di scansione della sonda e del pennello elettronico del tubo è controllato unicamente da un generatore, che ad ogni posizione della sonda sul preparato ne fa corrispondere una definita del pennello sullo schermo del tubo, la cui luminosità dipende quindi dall'intensità del segnale raccolto.

Il sistema ottico dello strumento è costituito da due tipi di lenti magnetiche: le lenti condensatrici e le lenti obiettivo. Le prime (costituite a loro volta da una o più lenti) servono per il controllo del fascio elettronico che raggiunge l'obiettivo;

le seconde determinano il fascio di elettroni incidente sulla superficie del campione.

La scansione è eseguita per mezzo di due coppie di bobine elettromagnetiche poste internamente alle lenti dell'obiettivo, queste muovono il pennello elettronico sulle coordinate cartesiane X e Y della superficie del campione tramite il segnale elettrico che gli viene inviato. Questi segnali possono essere sia analogici che digitali; gli ultimi hanno il vantaggio di consentire un migliore movimento ed un eccellente posizionamento del fascio elettronico.

La progettazione delle camere porta campioni è realizzata in modo da facilitare lo scambio dei campioni facendo variare di poco la pressione da quella ambientale a quella di esercizio. Il porta campioni, inoltre, può variare nelle direzioni X, Y e Z, in modo da poter esaminare il campione in ogni punto.

Per i campioni conduttori di elettricità lo studio risulta essere più facile, poiché il flusso di elettroni a terra non è ostacolato, riducendo al minimo gli inconvenienti dovuti all'accumulo di cariche. Inoltre, essendo dei buoni conduttori di calore, la degradazione termica è minima.

La tecnica più diffusa per ottenere immagini SEM da campioni non conduttori consiste nel rivestire la superficie del campione di un sottile film metallico, nel nostro caso oro, prodotto per sputtering o per evaporazione sotto vuoto.

Le analisi sono state effettuate utilizzando il microscopio a scansione in figura 4.8.

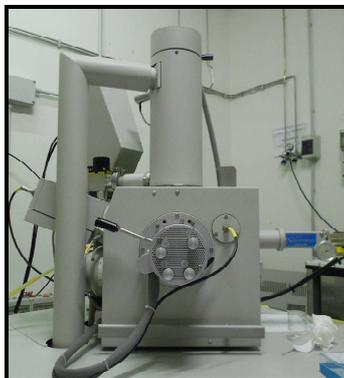


Figura 4.8: Microscopio elettronico a scansione, ESEM, FEI Company, The QUANTA 200.

4.4.1 EDS

È una tecnica analitica utilizzata per la caratterizzazione chimica del campione. Si basa sull'interazione fra una sorgente di raggi X e il campione: si rilevano i raggi X emessi dal oggetto d'indagine in seguito all'interazione col fascio.

Questa tecnica si basa sul principio che ogni elemento della tavola periodica ha una struttura atomica tipica: i raggi X caratteristici di un particolare elemento potranno quindi essere distinti da tutti gli altri. Se gli elettroni che costituiscono il fascio incidente hanno un'energia sufficiente possono ionizzare i livelli energetici più interni degli atomi del materiale. Emettendo un fotone X o un elettrone Auger gli atomi possono tornare allo stato fondamentale.

Per convertire i raggi X in segnali elettrici è utilizzato un detector: i raggi X entrano nel detector attraverso una finestra di Berilio e producono coppie elettroni-lacune in un cristallo semiconduttore polarizzato (silicio drogato litio Si(Li)). Queste coppie che si vengono a creare portano un'ulteriore polarizzazione del semiconduttore che è proporzionale all'energia del raggio X incidente.

Per mantenere i disturbi limitati sarebbe necessario un cristallo semiconduttore in Silicio ad alta resistività ma solitamente nel semiconduttore sono presenti impurità di Boro che porta livelli accettori appena sopra la banda di valenza (Figura 4.9).

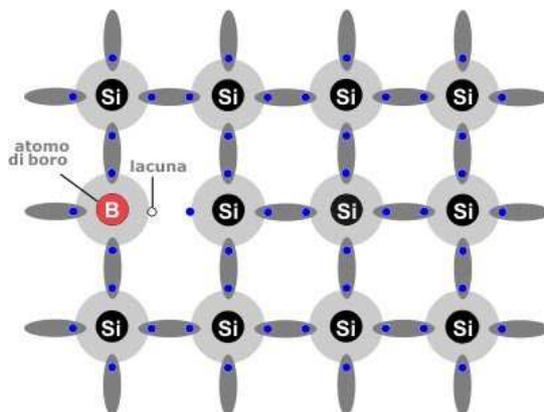


Figura 4.9: Silicio con impurità di Boro.

A causa di questa impurità solitamente il Silicio viene drogato con Litio, atomo donatore, in modo da neutralizzare i livelli accettori introdotti nel Silicio dalla presenza del Boro.

Per evitare effetti spuri dati da disturbi tecnici si pone il rilevatore a contatto con azoto liquido.

4.4.2 CAMPIONI ANALIZZATI

Mediante microscopia elettronica sono stati analizzati diversi campioni ottenuti miscelando la polvere di partenza con alginato in modo da poter studiare la differente porosità e la microstruttura del provino al variare del quantitativo di stronzio introdotto nella struttura.

Durante quest'analisi si è cercato di distinguere la fase α dalla fase β nella struttura individuando la presenza di stronzio.

I campioni, resi conduttivi, sono stati inseriti nel porta campioni ed esaminati in condizioni di alto vuoto (Figura 4.10).

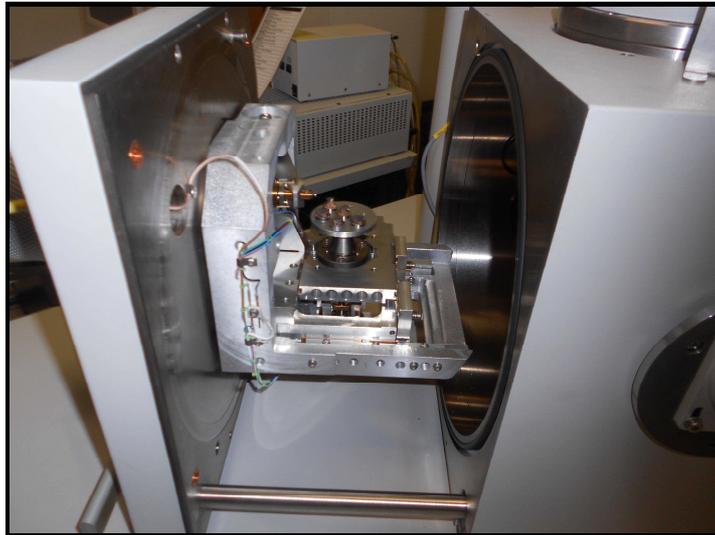


Figura 4.10: Campioni caricati sul porta campione.

4.5 PROVE MECCANICHE

Sono state effettuate sul campione prove meccaniche per valutarne il modulo elastico e la resistenza a compressione.

4.5.1 PROVE A COMPRESSIONE

La resistenza alla compressione porta all'individuazione del carico a rottura di un determinato provino, sottoposto a schiacciamento. Questa si misura applicando una forza, mediante una macchina di prova, su provini cilindrici del materiale in esame. La forza applicata è idealmente uniforme sulla superficie della sezione del cilindro.

Per un corpo caricato assialmente si ha:

$$\sigma = - \frac{F}{A}$$

Un materiale è sottoposto a compressione quando su di esso agiscono forze dirette verso il centro.

Il valore σ in un punto specifico della sezione può essere differente dal valore medio e può variare da punto a punto ma, nella pratica, si accetta l'ipotesi di distribuzione uniforme delle tensioni normali, in un elemento caricato assialmente.

Sono stati analizzati 3 provini, idealmente cilindrici, per ogni materiale.

Le sollecitazioni sono avvenute a temperatura ambiente utilizzando la macchina Zwick-Roell Z050 (Figura 4.11) nella quale, durante la prova, è stata impostata la velocità di scorrimento della traversa a 2 mm/min.

Non esistendo per le prove a compressione una specifica normativa, i campioni sono stati analizzati senza effettuare lavorazioni aggiuntive alla rettifica del provino (Figura 4.12).



Figura 4.11: Macchina per prove meccaniche Zwick-Roell Z050.

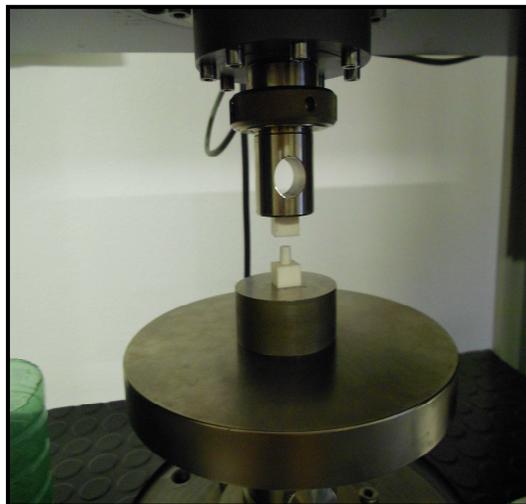


Figura 4.12: Campione sottoposto a prova di compressione.

I materiali testati, essendo materiali ceramici, tendono ad avere un andamento lineare nella curva tensione-deformazione fino alla tensione di rottura quindi sono caratterizzati dall'assenza di snervamento (Figura 4.13).

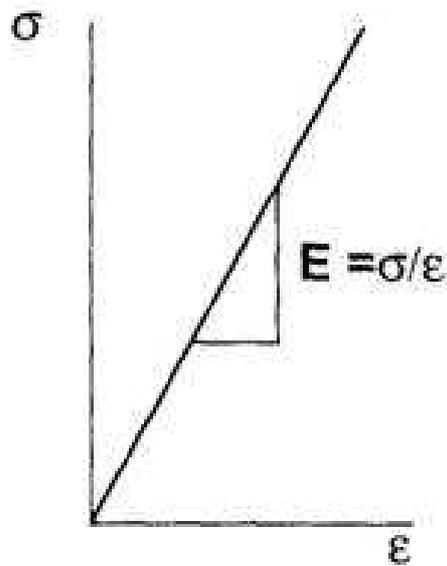


Figura 4.13: Grafico sforzo-deformazione di un materiale ceramico sottoposto a compressione.

4.5.2 CAMPIONI ANALIZZATI

Sono state effettuate le prove meccaniche a compressione su tre cilindretti per ogni tipo di materiale realizzato. Sono stati analizzati cementi ottenuti miscelando la polvere di partenza (con diverse percentuali di stronzio e con diverso trattamento termico) con soluzione acquosa e cementi ottenuti miscelando la polvere con sodio alginato.

In questo modo è stato possibile fare una stima su quanto possano influire la quantità di stronzio, il processo termico e la conseguente composizione in fasi sulle proprietà meccaniche del cemento stesso.

CAPITOLO 5:

RISULTATI E DISCUSSIONE

5.1 CARATTERIZZAZIONE CHIMICO-FISICA

5.1.1 ANALISI DELLE POLVERI PRIMA DEL SETTING

In seguito al processo di macinazione ho valutato mediante diffrattometria a raggi X la composizione in fasi delle varie polveri realizzate.

Le percentuali in volume delle fasi presenti nel campione sono state ottenute mediante l'applicazione del metodo RIR (vedi paragrafo 4.1.2) e del metodo Rietveld (vedi paragrafo 4.1.2).

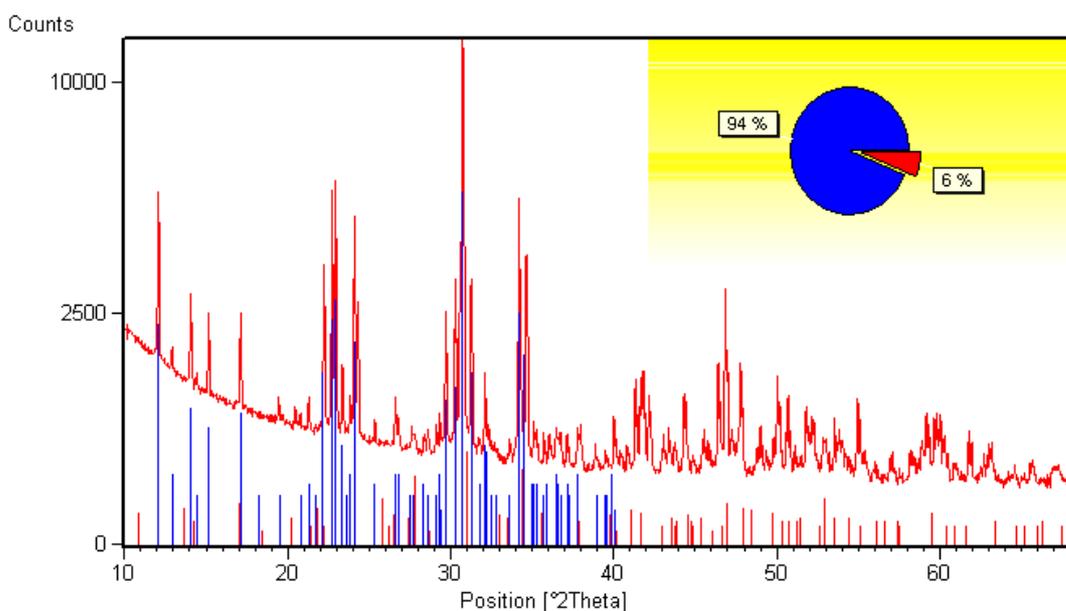


Figura 5.1: Spettro di diffrazione α -TCP 1400 °C - 60 min. I picchi caratteristici delle fasi α sono rappresentati in blu mentre in rosso sono rappresentati i picchi della fase β .

Mediante il raffinamento con metodo di Rietveld è possibile stimare i parametri di cella dell' α -TCP (Figura 5.2) e del β -TCP (Figura 5.3) che crescono all'aumentare dello stronzio introdotto nel sistema:

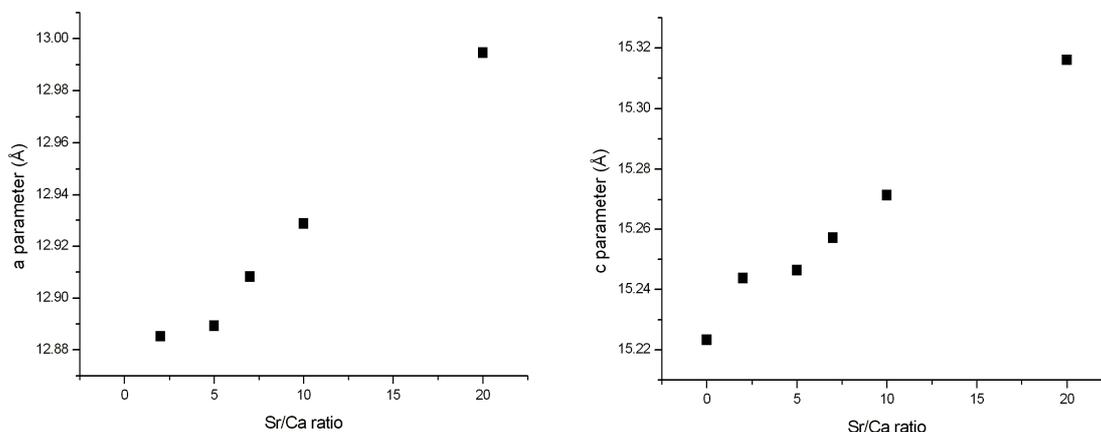


Figura 5.2: Parametri di cella dell' α -TCP al variare dello stronzio.

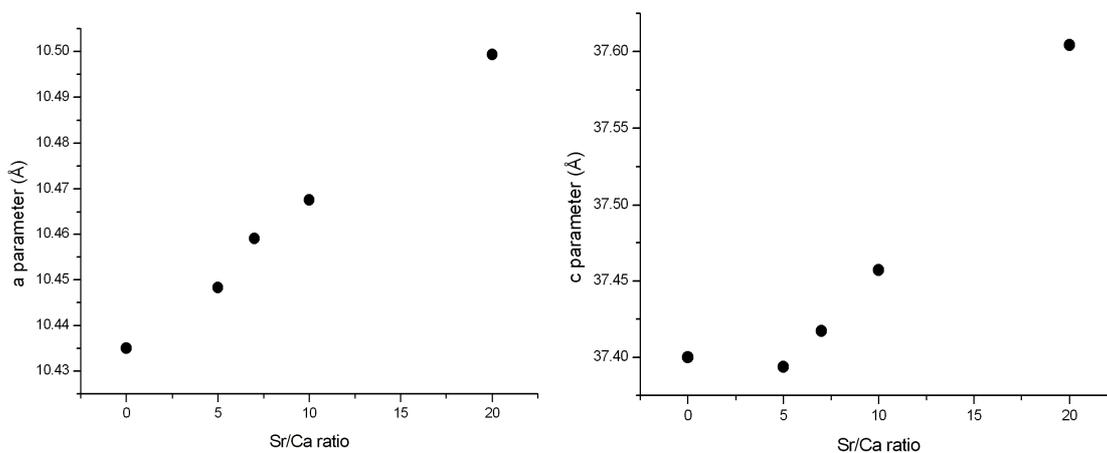


Figura 5.3: Parametri di cella del β -TCP al variare dello stronzio.

Ho ottenuto le percentuali in peso di fase α -TCP e β -TCP presenti nella struttura, riassunte nei grafici seguenti (Figura 5.4).

I risultati ottenuti hanno un'incertezza del $\pm 5\%$ dovuta anche al fatto che per effettuare l'analisi con il metodo Rietveld (paragrafo 4.1.2) è necessario avere un modello accurato delle diverse fasi costituenti il composto ma non esistono modelli per l' α -TCP, e per il β -TCP, sostituiti con stronzio.

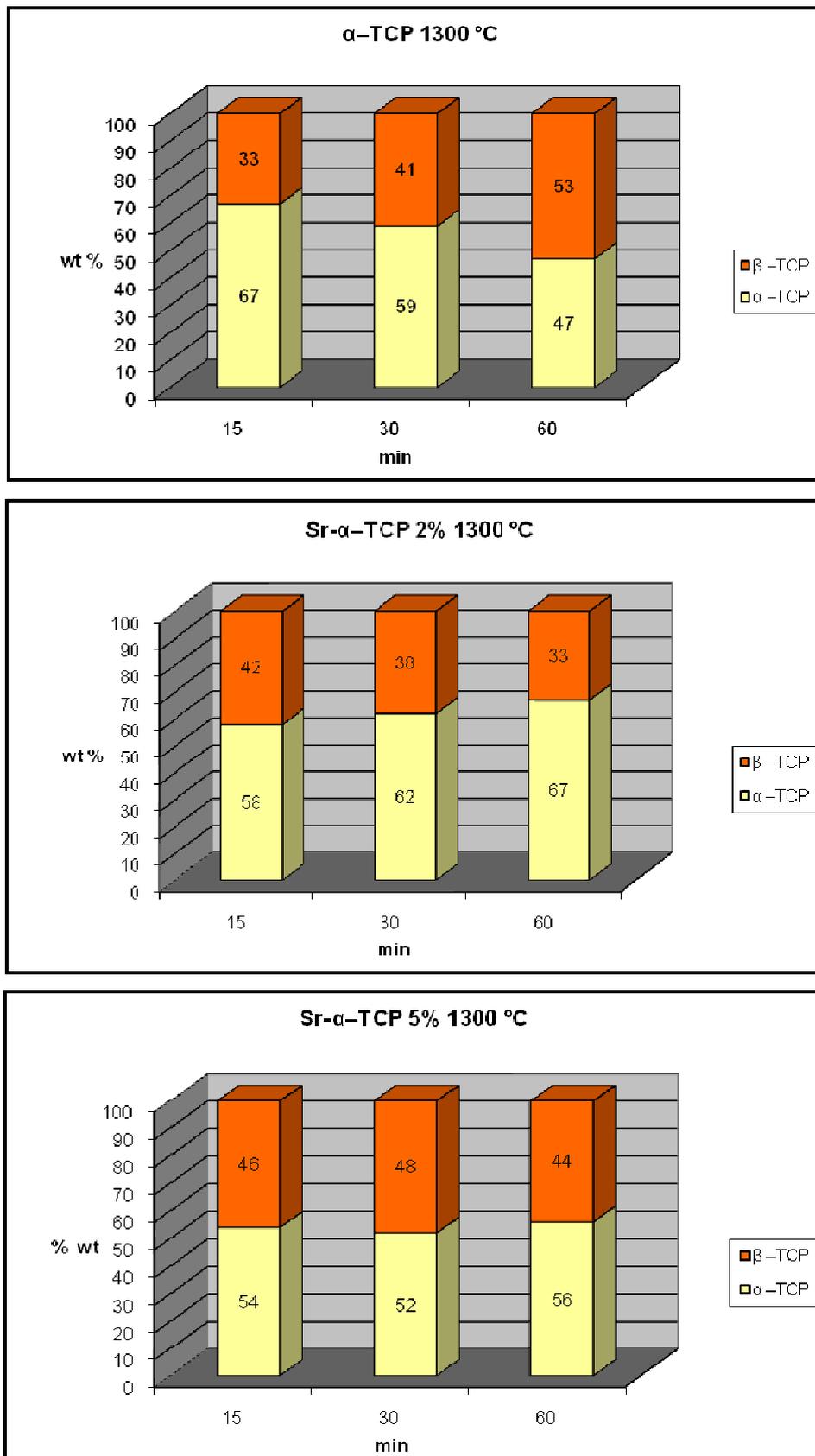


Figura 5.4: Diffrazione polveri trattate a 1300 °C.

Riporto, in Figura 5.5, i risultati ottenuti dalla diffrazione delle polveri che hanno sostenuto un processo termico a 1400 °C:

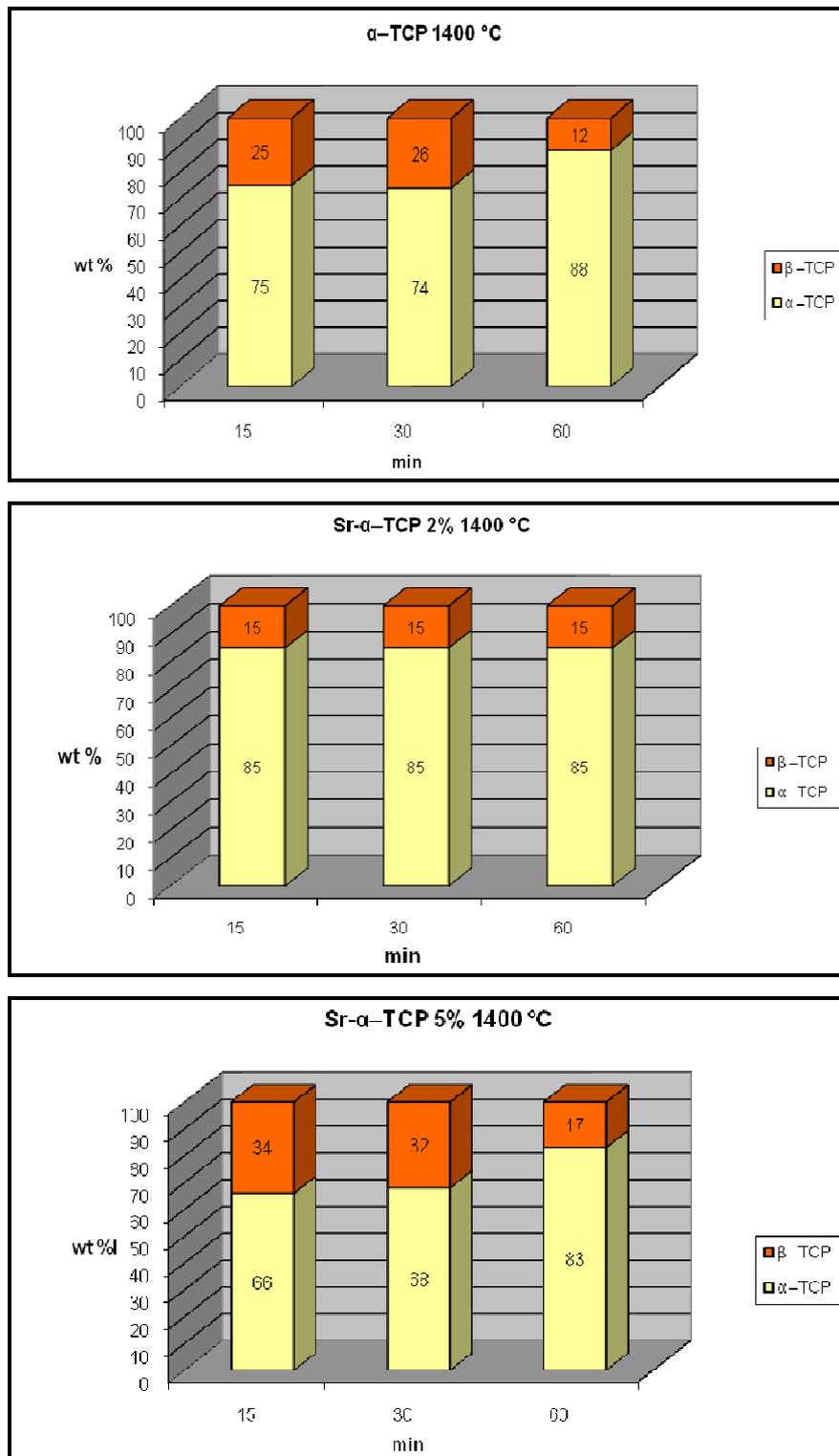


Figura 5.5: Diffrazione polveri trattate a 1400 °C.

Dopo trattamento termico a temperatura più elevata, 1400°C, si nota che al crescere del tempo di permanenza alla temperatura si ha un aumento del α -TCP presente nella struttura.

La presenza di un ridotto quantitativo di fase β -TCP nella struttura conferma che la formazione di α -TCP è favorita all'aumentare della temperatura del processo termico.

Riporto, inoltre, le analisi di diffrazione delle polveri che hanno subito un raffreddamento più veloce causato da una rapida frantumazione della pasticca in seguito all'estrazione dal forno (Figura 5.6):

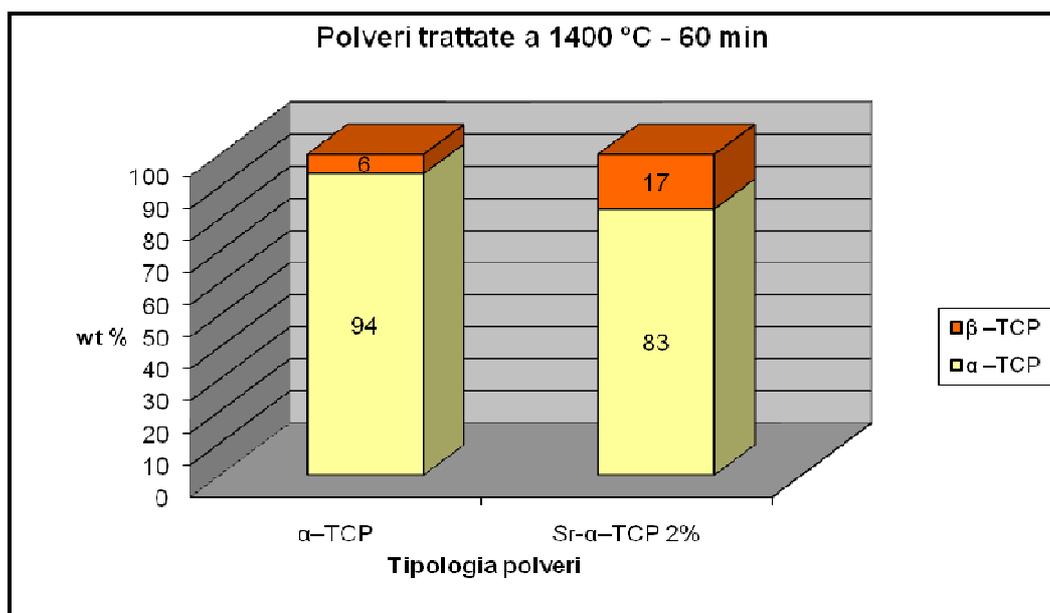


Figura 5.6: Diffrazione polveri raffreddate velocemente 1400 °C – 60 min.

Come si può notare il quantitativo di β -TCP risulta essere inferiore se il raffreddamento è più veloce ed ha un andamento crescente all'aumentare della percentuale di stronzio.

Si può quindi pensare ad un'azione stabilizzante della fase β da parte dello stronzio (caratteristica “betagenica” dello stronzio^[20]) ed anche che un

raffreddamento velocizzato ostacoli la formazione di questa fase mentre stabilizzi la fase α .

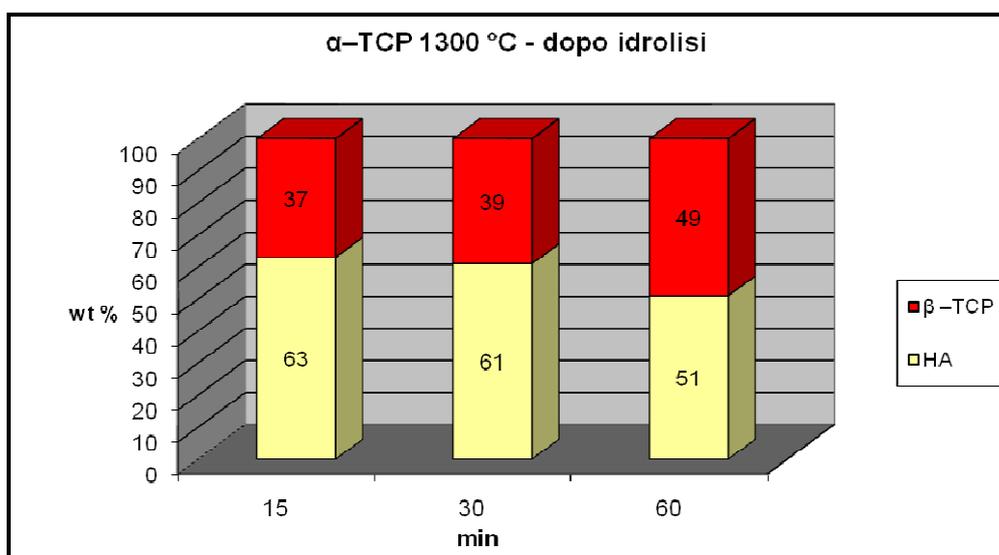
Questo risultato ci porta ad affermare che la cinetica di raffreddamento è un fattore determinante per la composizione in fasi della polvere finale.

5.1.2 ANALISI DELLE POLVERI DOPO IL SETTING

Dopo la miscelazione della polvere con il liquido di setting si ha una reazione di idrolisi che porta alla dissoluzione degli agglomerati di α -TCP e alla successiva precipitazione di cristalli di idrossiapatite calcio deficiente (CHA) sulla loro superficie. Mediante diffrattometria a raggi X è stata valutata l'entità della trasformazione in fasi.

Sono stati analizzati i diversi cementi ottenuti dopo la permanenza di 72 ore in bagno termostato a 37 °C e 72 ore in stufa a 40 °C.

In Figura 5.7 è riportata la composizione dei cementi realizzati con le polveri trattate termicamente a 1300 °C:



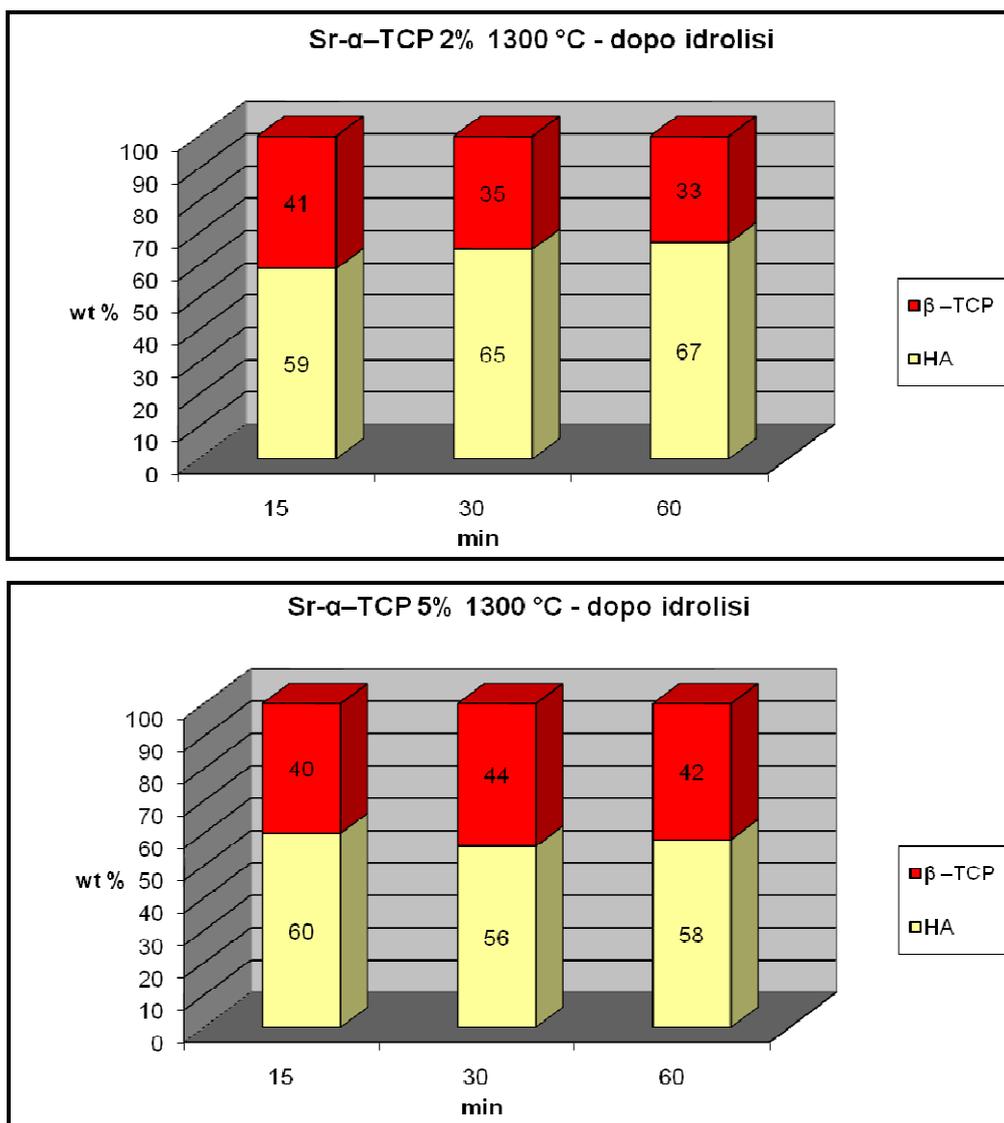


Figura 5.7: Diffrazione polveri trattate a 1300 °C – dopo idrolisi.

La trasformazione di α -TCP in idrossiapatite non è istantanea ma segue una cinetica di trasformazione controllata dalla diffusione del liquido di idrolisi; si può affermare che questo “tempo d’invecchiamento” del cemento porta ad una completa trasformazione di α -TCP in HA.

In Figura 5.8 si riassume la composizione dei cementi realizzati con polveri precedentemente trattate a 1400 °C. Anche in questo caso successivamente al processo di idrolisi i cementi sono stati lasciati riposare 72 ore nel bagno termostato e 72 ore in stufa.

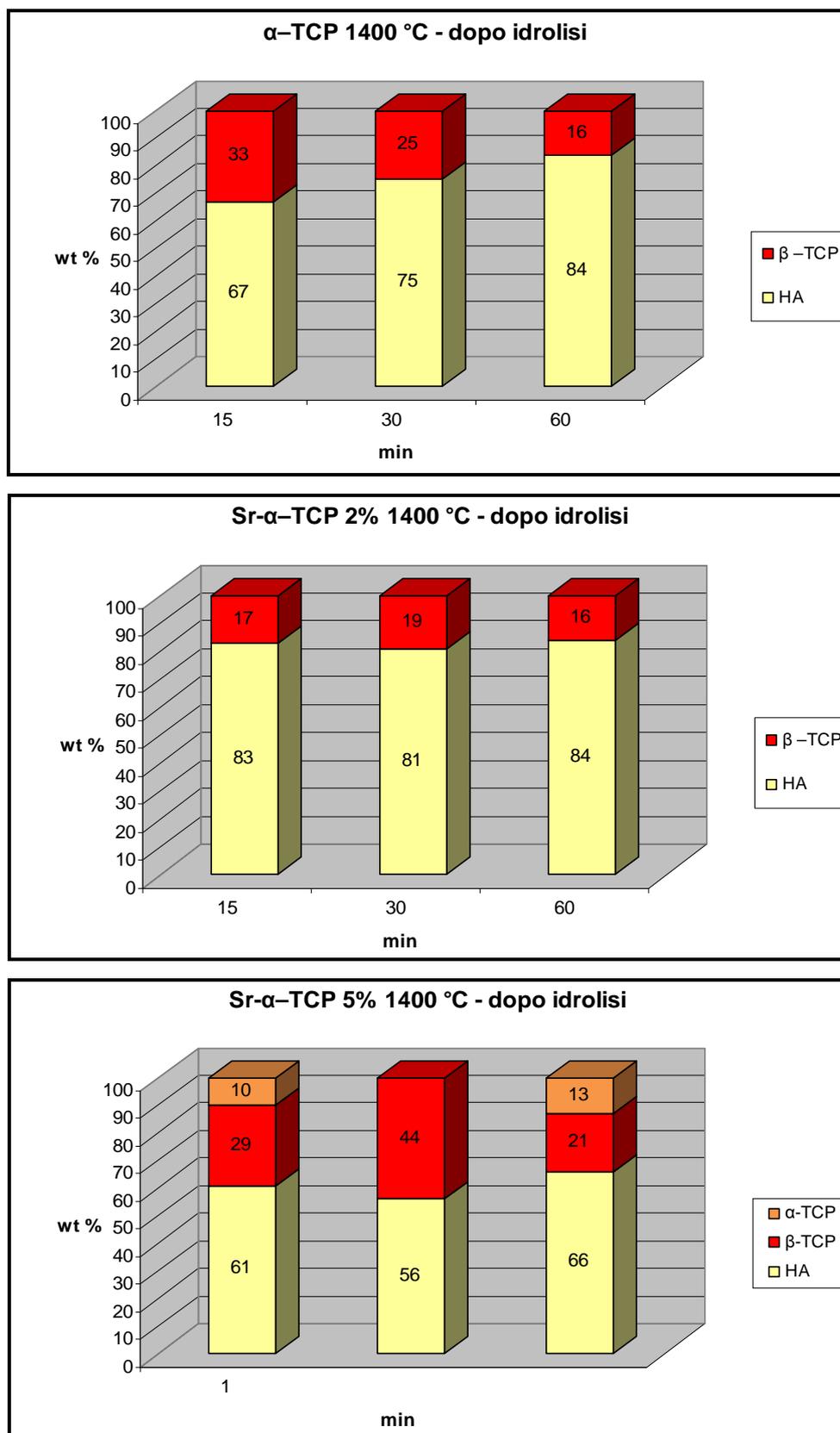


Figura 5.8: Diffrazione polveri trattate a 1400 °C – dopo idrolisi.

La presenza di una percentuale residua della fase alfa può essere giustificata sulla base di fenomeni microstrutturali legati alle transizioni di fase indipendentemente dal trattamento termico e dal contenuto di stronzio. È infatti ipotizzabile, data la disomogeneità della distribuzione granulometrica, una configurazione di sistema come mostrato in Figura 5.9.

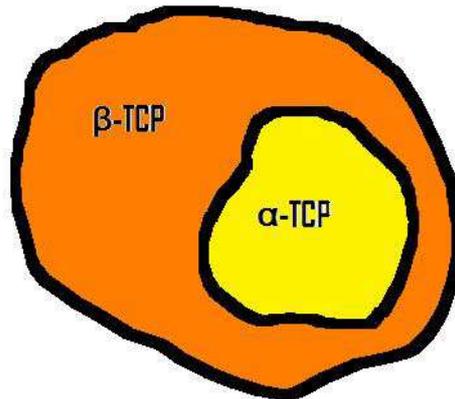


Figura 5.9: Struttura ipotetica di un grano di α -TCP circondato da uno strato di fase β -TCP.

Alcuni grani di α -TCP possono non idrolizzare in presenza di fase acquosa per interposizione di uno strato di fase β -TCP.

In Figura 5.10 si mostra il comportamento dei cementi ottenuti con polveri contenenti nella struttura una scarsa quantità di β -TCP e miscelati con alginato.

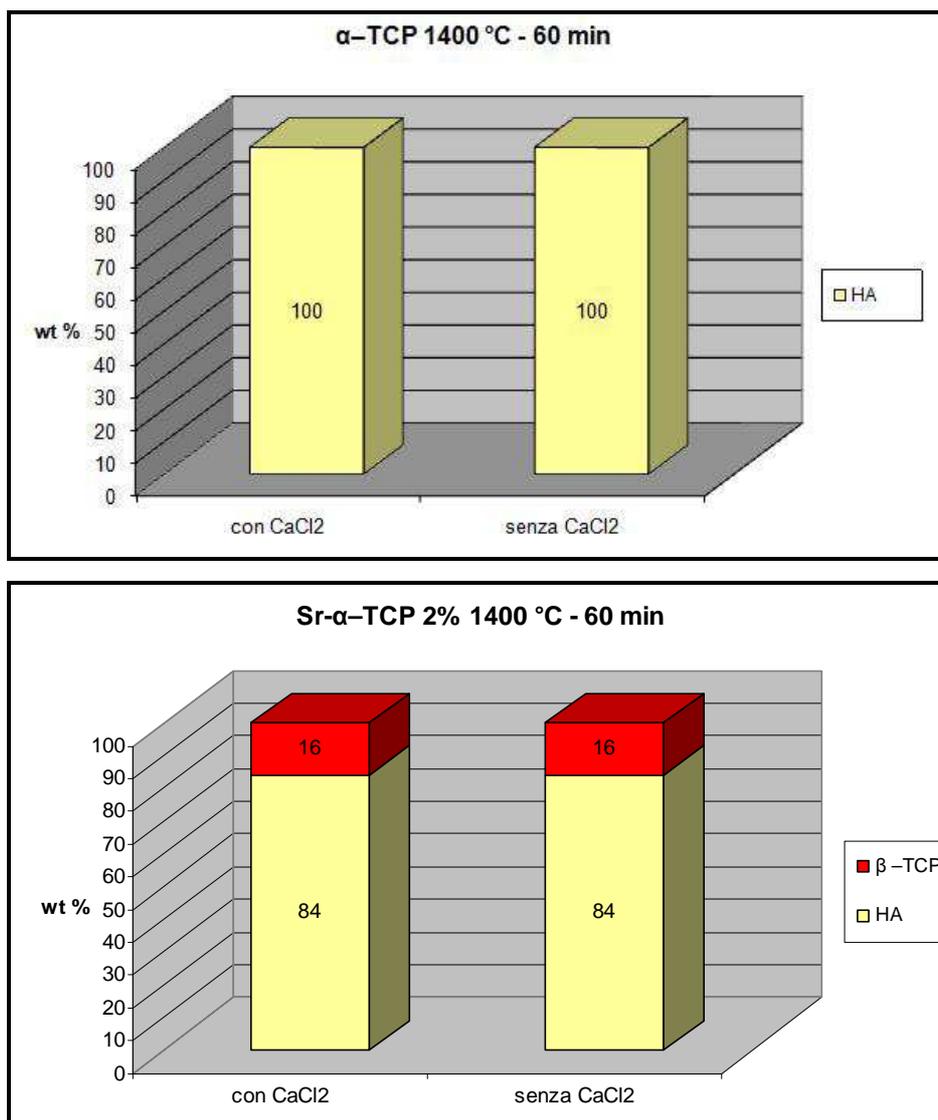


Figura 5.10: Diffraattometria polveri raffreddate velocemente (1400 °C – 60 min) – dopo idrolisi del cemento realizzato miscelando la polvere di partenza con sodio alginato.

Anche in questo caso si vede che tutto l'α-TCP idrolizza trasformandosi in HA e che la quantità di β-TCP resta all'incirca invariata rispetto a quella presente nelle polveri prima del setting.

In Figura 5.11 si può notare il diffrattogramma delle polveri utilizzate nella realizzazione dei cementi al variare della percentuale di stronzio prima e dopo idrolisi:

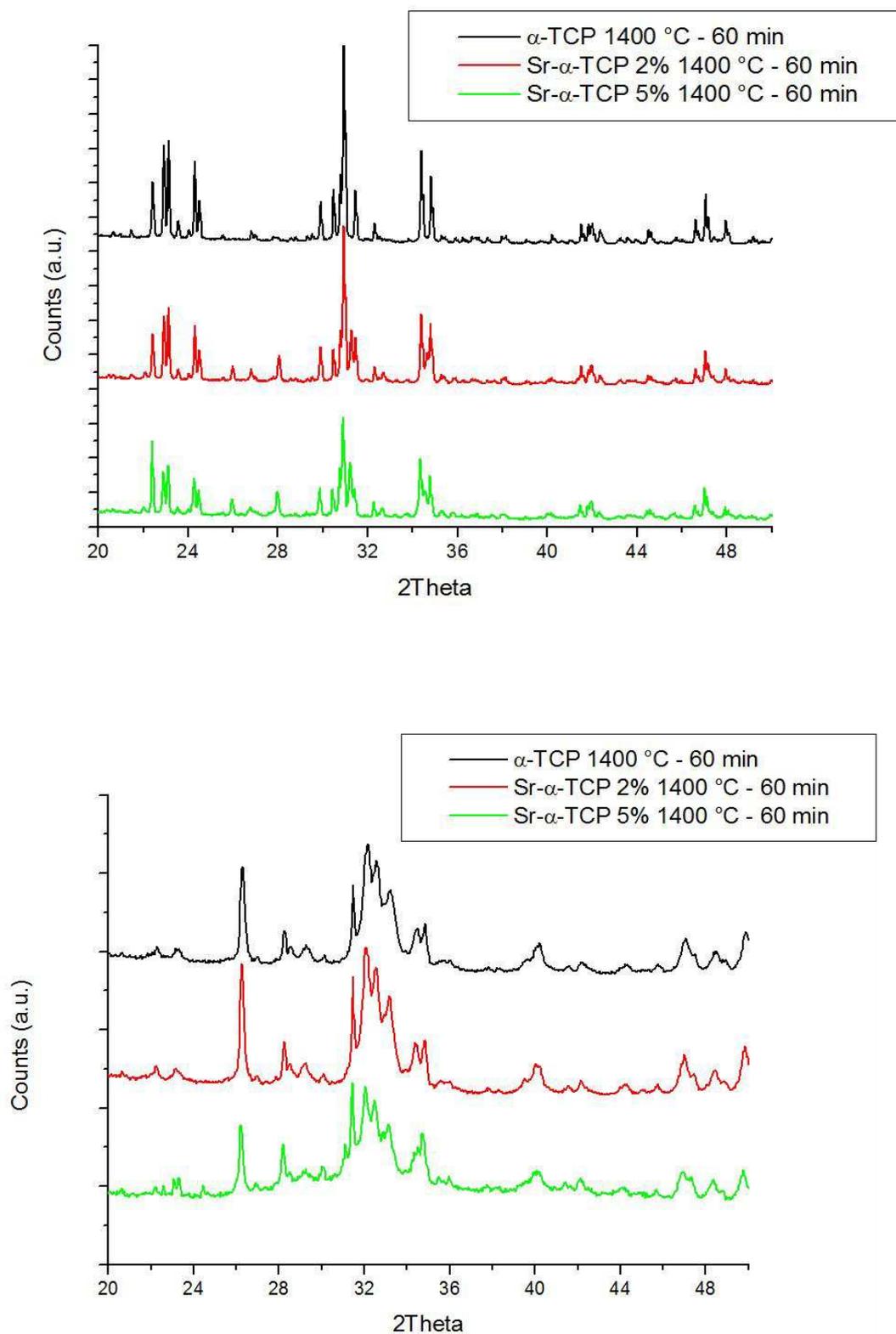


Figura 5.11: Diffraattometria polveri prima e dopo il setting.

5.1.3 DISCUSSIONE RISULTATI OTTENUTI DALL'ANALISI CHIMICO-FISICA

Mediante le diverse analisi diffrattometriche è stato possibile analizzare la composizione in fase delle diverse polveri pre e post idrolisi che hanno subito differenti processi termici con due temperature di permanenza: 1300 °C e 1400 °C e con una permanenza di 15', 30' e 60'.

Si sono analizzate anche polveri che hanno subito un raffreddamento velocizzato e che nel processo di idrolisi sono state miscelate ad alginato con la presenza o meno di calcio cloruro.

Dopo queste analisi, è possibile affermare che una cinetica di raffreddamento velocizzata porta ad una stabilizzazione della fase alfa; da ciò si può dire che le modalità di quenching influiscono in modo importante sulla composizione finale del campione. La formazione della fase β è, invece, favorita da una cinetica di raffreddamento lenta, legata al processo di quenching, e dalla presenza di stronzio. Questo risultato conferma i dati presenti in letteratura in merito alle caratteristiche "betageniche" dello stronzio^[20]. Il β -TCP, a sua volta, potrebbe aver incorporato parte dello stronzio introdotto nel sistema, confermato dalle analisi di Rietveld che evidenziano un progressivo aumento dei parametri di cella. Questo lascia intuire che esiste un limite di solubilità dello stronzio nella matrice cristallina dell' α -TCP, così che parte dello stronzio venga incorporato nella fase β .

Si è potuto inoltre verificare che la fase β resta costante tra il campione prima e dopo idrolisi; questo conferma il fatto che questa fase resta inerte nel processo di idrolisi e quindi non porta alla formazione di cristalli di HA.

La presenza di stronzio nella struttura di α -TCP è mostrata da un progressivo aumento dei parametri di cella, ottenuti mediante analisi di Rietveld. L'analisi ha anche mostrato che non sono presenti fasi secondarie indesiderate.

In merito al processo di sintesi dell' α -TCP la temperatura e il tempo di permanenza risultano determinanti per le proprietà finali del cemento.

In particolare la fase α risulta più stabile se sintetizzata ad una temperatura più elevata (1400 °C) e la frazione di fase β residua diminuisce all'aumentare del tempo di permanenza, come probabile effetto di una progressiva stabilizzazione della fase e di un aumentato ordine cristallino.

5.2 ANALISI DENSITÀ DEI CAMPIONI

Ho calcolato la densità relativa dei campioni mediante il rapporto tra la densità geometrica e la densità teorica.

Noti la massa e il volume è possibile determinare la densità geometrica utilizzando la formula:

$$\rho = \frac{M}{V}$$

Ho determinato successivamente la densità teorica del campione, mediante considerazioni sullo spettro di diffrazione ai raggi X (vedi metodo RIR 4.1.2 e metodo Rietveld 4.1.3).

Dai valori di densità relativa è possibile ricavare il valore di porosità (φ) del materiale studiato:

$$\varphi = 1 - \rho$$

Per calcolare la porosità dei cementi il contributo della fase polimerica, presente in percentuale limitata (2% wt), risulta trascurabile quindi non è stato considerato.

I valori di densità così ottenuti sono riassunti in Tabella 5.1.

MATERIALE	TEMPERATURA	PERMANENZA	ρGEOMETRICA	ρTEORICA	POROSITÀ
α -TCP	1300 °C	15 min	1,24	3,05	0,59
		30 min	1,09	3,05	0,64
		60 min	1,12	3,05	0,63
Sr- α -TCP 2%	1300 °C	15 min	1,13	3,05	0,63
		30 min	1,06	3,05	0,65
		60 min	1,14	3,05	0,63
Sr- α -TCP 5%	1300 °C	15 min	1,18	3,05	0,61
		30 min	1,00	3,05	0,67
		60 min	1,18	3,04	0,61
α -TCP	1400 °C	15 min	1,17	3,05	0,62
		30 min	1,12	3,06	0,63
		60 min	1,07	3,07	0,65
Sr- α -TCP 2%	1400 °C	15 min	1,15	3,06	0,62
		30 min	1,07	3,06	0,65
		60 min	1,13	3,06	0,63
Sr- α -TCP 5%	1400 °C	15 min	1,05	3,02	0,65
		30 min	1,05	3,03	0,65
		60 min	1,15	3,06	0,62
Sr- α -TCP 5% (MAC 100')	1400 °C	60 min	1,07	3,06	0,65

Tabella 5.1: Porosità dei diversi materiali analizzati.

In Tabella 5.2 è riassunta la porosità dei campioni realizzati miscelando la polvere con sodio alginato.

MATERIALE	TEMPERATURA	PERMANENZA		ρ GEOMETRICA	ρ TEORICA	POROSITÀ
α -TCP	1400 °C	60 min	+ CaCl ₂	0,99	3,06	0,68
	1400 °C	60 min		1,02	3,06	0,67
Sr- α -TCP 2%	1400 °C	60 min	+ CaCl ₂	0,97	3,02	0,68
	1400 °C	60 min		1,02	3,06	0,67

Tabella 5.2: Densità relativa dei diversi cementi realizzati con sodio alginato.

5.2.1 DISCUSSIONE RISULTATI OTTENUTI DALL'ANALISI DELLA DENSITÀ DEI CAMPIONI

I valori di porosità ottenuti sono altamente riproducibili. Ciò è ragionevole poiché la microstruttura è generata dal processo di idrolisi che non risulta essere influenzato dalle differenti condizioni come la presenza o meno di stronzio, l'alginato o i parametri del processo termico.

5.3 ANALISI GRANULOMETRICA

Per valutare l'effetto della macinazione sulle dimensioni della polvere abbiamo effettuato un'analisi granulometrica su polvere di Sr- α TCP 5% 1400 °C – 60 min prima della macinazione in mulino planetario, dopo una macinazione di 50 minuti e dopo una macinazione di 100 minuti (Figura 5.12).

La macinazione riduce la dimensione delle particelle, aumenta la superficie specifica della polvere e ne favorisce un incremento della reattività superficiale. Per quanto riguarda le polveri che ho sintetizzato in questo studio, ad una maggiore reattività superficiale corrisponde una più rapida cinetica di idrolisi dell' α -TCP e dunque una riduzione dei tempi di indurimento della pasta.

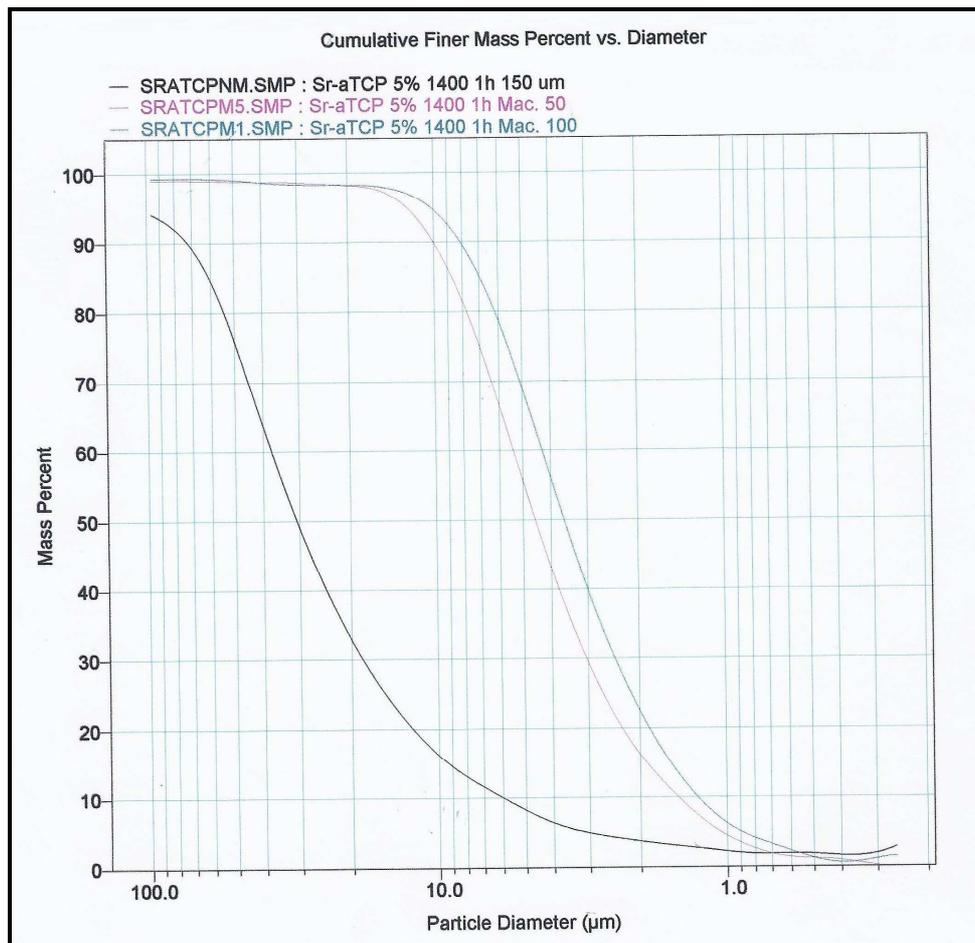


Figura 5.12: Risultati dell'analisi granulometrica.

5.3.1 DISCUSSIONE RISULTATI OTTENUTI DALL'ANALISI GRANULOMETRICA

Nel grafico si nota come le dimensioni delle particelle diminuiscano significativamente macinando la polvere: gli effetti di tale fenomeno diminuiscono all'aumentare del tempo di macinazione (Figura 5.12). In particolare si può notare che per tempi di macinazione superiori a 50 minuti la diminuzione della granulometria della polvere è sempre meno sensibile; per questo motivo ci si è limitati ad una macinazione di 50 minuti.

5.4 ANALISI AL SEM

Mediante microscopia elettronica sono stati analizzati i campioni dopo idrolisi con alginato e con differenti quantitativi di stronzio nella struttura. Sono stati studiati campioni di α -TCP e di Sr- α -TCP 2%.

In Figura 5.13 è possibile vedere la microstruttura della polvere di α -TCP pre-idrolisi.

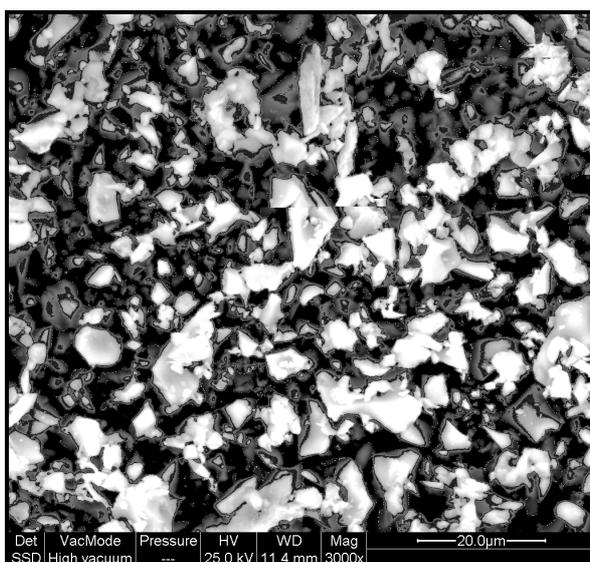


Figura 5.13 :Analisi SEM di polvere di α -TCP pre-idrolisi.

Mentre in Figura 5.14 si può notare la struttura di α -TCP dopo idrolisi.

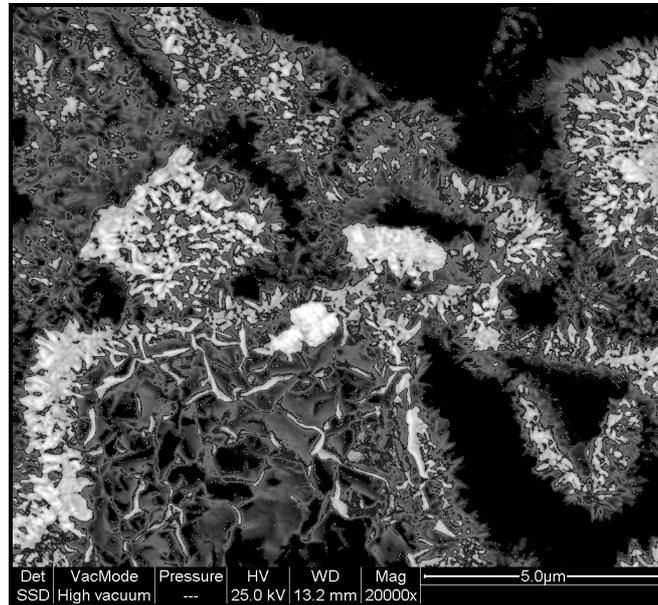


Figura 5.14: Analisi SEM pasta di α -TCP dopo 72 ore di idrolisi, 20000x.

In Figura 5.15 è possibile vedere la struttura di α -TCP dopo idrolisi con ingrandimento doppio rispetto alla figura precedente.

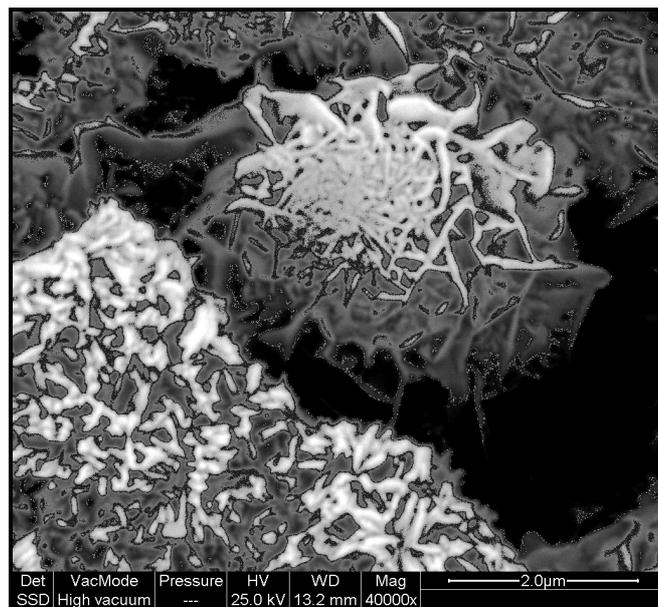


Figura 5.15: Analisi SEM pasta di α -TCP dopo 72 ore di idrolisi, 40000x.

Nelle Figure 5.14 e 5.15 è possibile notare la presenza di idrossiapatite rappresentata dalla conformazione *needle-like* cioè da cristalli con la conformazione di aghetti.

In Figura 5.16 e in Figura 5.17 è rappresentata la microstruttura di Sr- α -TCP 2% con diversi ingrandimenti.

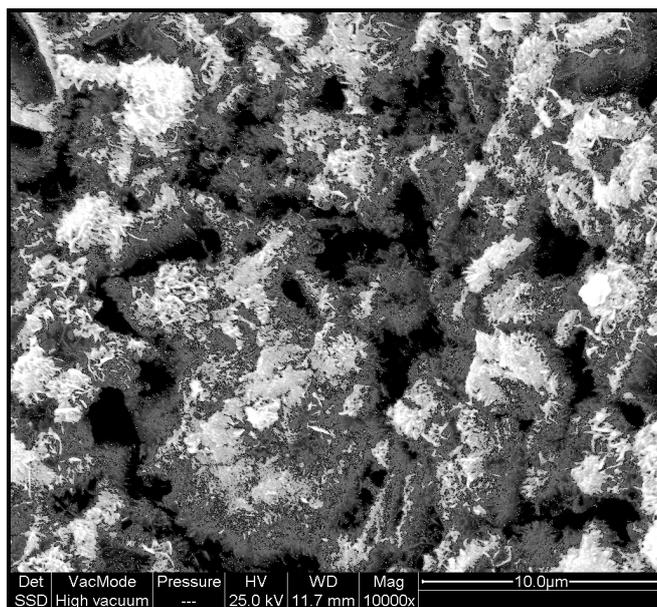


Figura 5.16: Analisi SEM pasta di Sr- α -TCP 2% dopo 72 ore di idrolisi, 10000x.

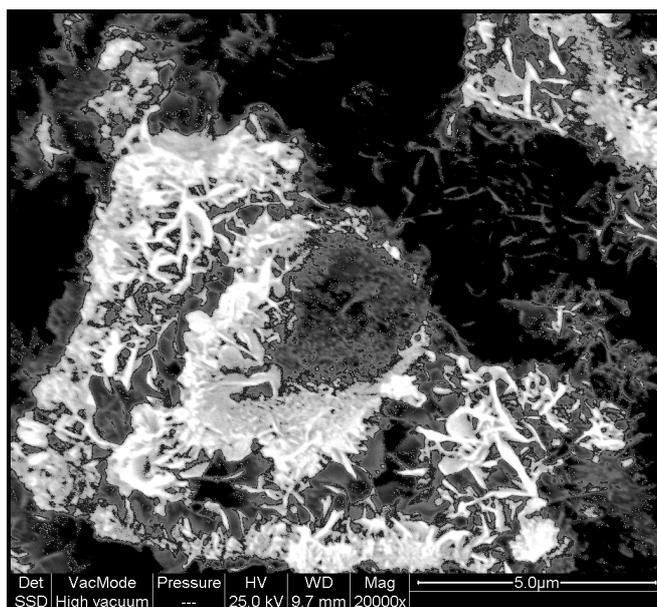


Figura 5.17: Analisi SEM pasta di Sr- α -TCP 2% dopo 72 ore di idrolisi, 20000x.

5.4.1 ANALISI EDS

È stato inoltre realizzato un altro cemento con percentuale di stronzio pari al 5% miscelato con alginato. Le polveri iniziali hanno subito un trattamento termico a 1400 °C con permanenza a temperatura di 60 minuti.

Successivamente è stato analizzato al microscopio elettronico e si è eseguita, su questo campione l'analisi EDS che riporto in Figura 5.18:

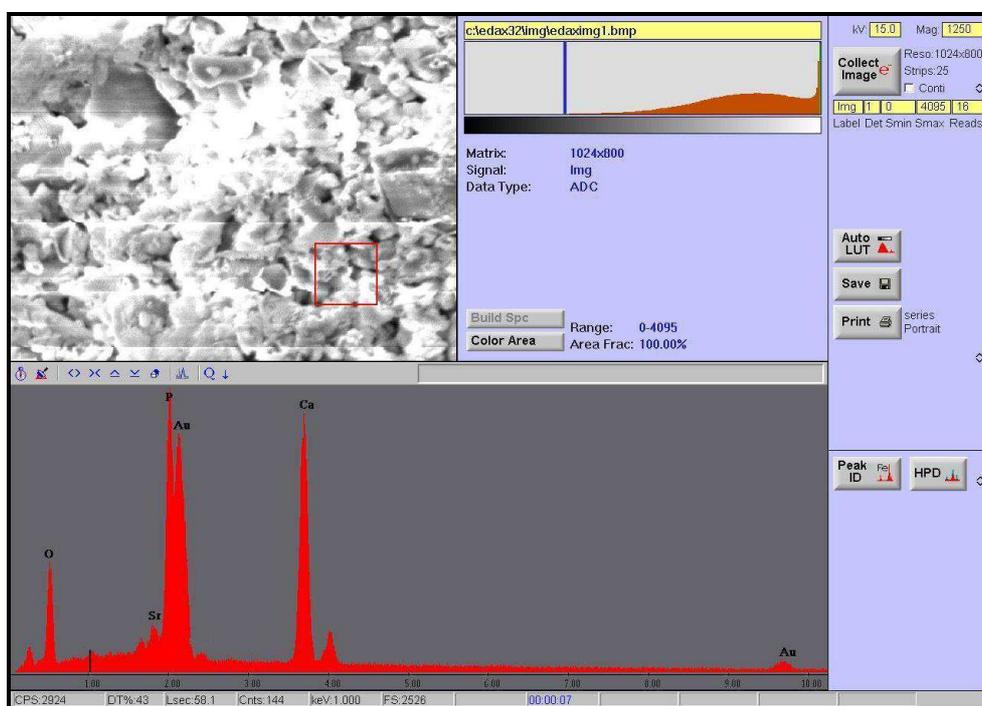


Figura 5.18: Analisi EDS - Sr- α -TCP 5% 1400 °C - 60 min.

L'analisi quantitativa EDS (Figura 5.19) conferma l'assenza di dispersione dello stronzio.

Elem	wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	27.68	47.49	0.0485	1.0662	0.1642	1.0002
SrL	5.48	1.72	0.0442	0.7936	1.0003	1.0156
P K	25.02	22.17	0.2135	0.9817	0.8630	1.0072
CaK	41.82	28.63	0.3923	0.9835	0.9540	1.0000
Total	100.00	100.00				

Figura 5.19: Analisi quantitativa EDS.

5.4.2 DISCUSSIONE RISULTATI OTTENUTI DALL'ANALISI SEM

Nei campioni pre-idrolisi nei quali vi è l'assenza di fase apatitica e la morfologia della struttura appare completamente diversa rispetto alla struttura dei campioni dopo idrolisi (Figura 5.13).

È possibile notare, nei campioni che hanno subito il processo di idrolisi, la morfologia *needle-like* dei cristalli di HA originati dalla dissoluzione grani di α -TCP; tali grani tendono a dissolversi progressivamente lasciando caratteristiche cavità vuote. Questi aghetti di HA tendono a coalescere in strutture lamellari (*platelet-like*) (Figura 5.14 e Figura 5.15).

In particolare la formazione di grani di forma acicolare o di piattine, che dà luogo al consolidamento del cemento mediante *entanglement* fisico, non risulta influenzata dalla presenza di stronzio né dal quantitativo di fase beta presente nella struttura.

5.5 VALUTAZIONE DEI TEMPI DI SETTING

Come è stato detto i tempi di setting, quindi d'indurimento della pasta, sono un parametro molto importante per il cemento: tutto il processo di sintesi è finalizzato ad avere tempi di setting iniziali inferiori ai 30 minuti, per necessità cliniche.

Tempi d'indurimento troppo elevati possono essere causati dalla grande quantità di β -TCP presente nelle polveri di partenza che non partecipa alla reazione di idrolisi e che quindi, restando inerte, non contribuisce all'indurimento della pasta. Inoltre la presenza della fase β può prevenire un contatto ottimale dell' α -TCP con la soluzione di setting e quindi ridurre la continuità strutturale della pasta inficiando tempi di setting e proprietà meccaniche.

Si nota inoltre che i tempi di setting aumentano notevolmente all'aumentare della percentuale di stronzio presente nelle polveri di partenza.

In Tabella 5.3 si può notare l'andamento del tempo di setting all'aumentare dello stronzio nella polvere, lasciando invariati gli altri parametri.

MATERIALE	TEMPO DI SETTING INIZIALE
α -TCP 1300 °C 60'	40 minuti
Sr- α -TCP 2% 1300 °C 60'	>60 minuti
Sr- α -TCP 2% 1300 °C 60'	>60 minuti

Tabella 5.3: Tempi di setting all'aumentare dello stronzio.

Si osserva che al crescere della percentuale di stronzio i tempi di setting iniziale aumentano, arrivando anche oltre i 60 minuti.

In Tabella 5.4 è riassunto il comportamento dell' α -TCP a 1300 °C. Il parametro che varia è il tempo di permanenza alla temperatura e si nota che maggiore è la permanenza a temperatura fissa della polvere iniziale maggiore è il tempo di setting.

MATERIALE	TEMPO DI SETTING INIZIALE
α -TCP 1300 °C 15'	15 minuti
α -TCP 1300 °C 30'	30 minuti
α -TCP 1300 °C 60'	40 minuti

Tabella 5.4: Tempi di setting all'aumentare della permanenza alla temperatura.

5.5.1 DISCUSSIONE RISULTATI OTTENUTI NELLA VALUTAZIONE DEI TEMPI DI SETTING

Dai risultati ottenuti è possibile affermare che i tempi di setting aumentano all'aumentare della percentuale di stronzio presente nel sistema e all'aumentare del tempo di permanenza alla temperatura durante il processo termico al quale viene sottoposta la polvere.

È possibile giustificare questo comportamento in quanto la polvere, restando più tempo ad una temperatura elevata, tende a creare grossi grani; i grani accrescono per coalescenza infatti i più piccoli tendono ad essere inclusi in quelli più grandi a seguito di processi di dissoluzione e diffusione superficiale innescati dalla temperatura. In questo modo la polvere risulta essere meno reattiva poiché ha una superficie specifica minore (Figura 5.20).

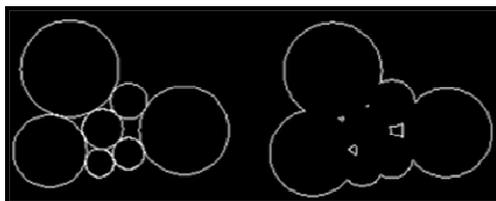


Figura 5.20: Tendenza della polvere alle alte temperature a formare grossi grani.

Inoltre si è notato che tempi di macinazione superiori ai 50 minuti, mantenendo costante la dimensione, il numero e la distribuzione dei mezzi macinanti, non influiscono in modo rilevante sulla cinetica di setting. Si può definire dunque un limite inferiore per quanto riguarda la dimensione delle particelle di polvere, in relazione alle condizioni di macinazione (Figura 5.12).

Nelle nostre prove non si è verificato un calo dei tempi d'indurimento dovuti ad una minore dimensione delle particelle: i tempi di setting per polveri di Sr- α -TCP 5% sono sempre superiori all'ora.

L'analisi microstrutturale e l'EDS non consentono di discriminare la fasi α -TCP e β -TCP. La configurazione delle due fasi dipende molto dalla cinetica di

trasformazione $\alpha \rightarrow \beta$ a sua volta mediata dalla cinetica di raffreddamento. In ogni caso l'occorrenza del processo di idrolisi indica che la fase α rimane in contatto con il mezzo acquoso. In particolare il completamento del processo di idrolisi, caratterizzato dalla completa scomparsa di α -TCP, indica che la fase α non rimane confinata in configurazioni del tipo mostrato in Figura 5.21.

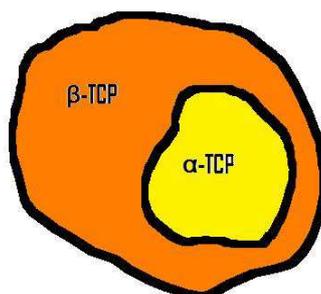


Figura 5.21: Configurazione che non può essere assunta dai grani di α -TCP se il processo di idrolisi è completato.

Infatti è plausibile che, in conseguenza del raffreddamento rapido, le particelle di α -TCP siano soggette ad un gradiente termico che può portare alla stabilizzazione di un nucleo di fase β , che ha subito un raffreddamento più lento; anche in considerazione del carattere refrattario dei ceramici (Figura 5.22).

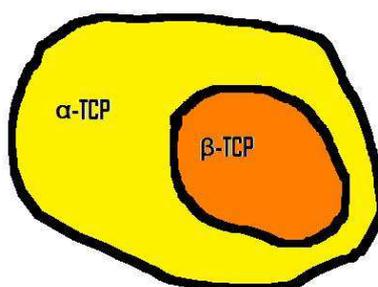


Figura 5.22: Possibile configurazione assunta di α -TCP e β -TCP presenti nella struttura.

La cinetica di questo processo dipende, oltre che dal processo di quenching, anche dalla dimensione delle particelle di α -TCP e del loro intorno, inteso come densità locale (ovvero l'eventuale impacchettamento delle particelle).

5.6 PROVE MECCANICHE A COMPRESSIONE

Sono state effettuate prove meccaniche a compressione su 3 cilindretti per ogni materiale.

I provini analizzati, essendo materiali ceramici, tendono ad avere un andamento lineare nella curva sforzo deformazione fino alla tensione di rottura quindi sono caratterizzati da assenza di snervamento (Figura 5.23 e Figura 5.24).

Dalla macchina si rilevano forza e spostamenti applicati al provino.

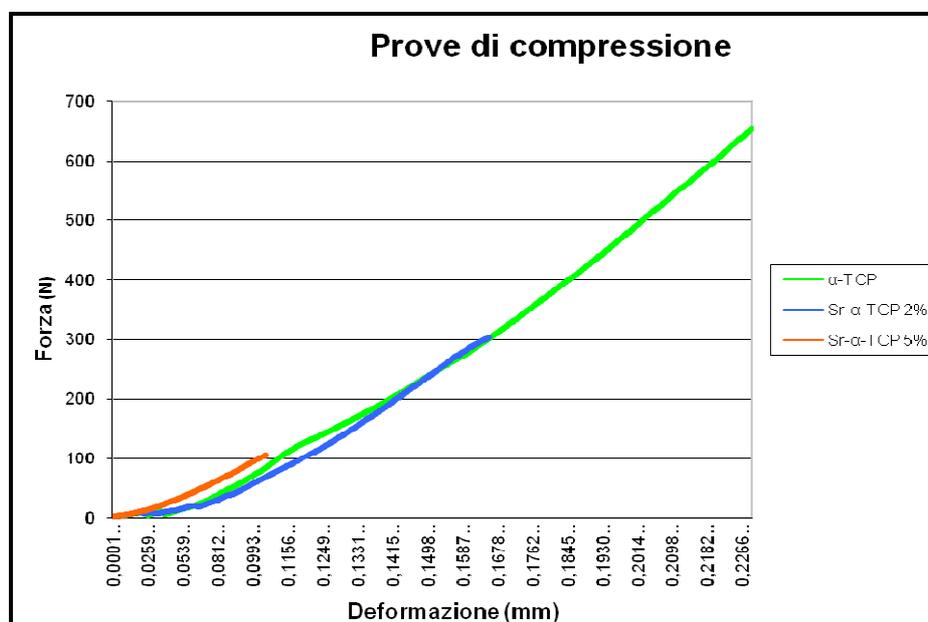


Figura 5.23: Curve riassuntive di compressione - cementi realizzati con soluzione di setting.

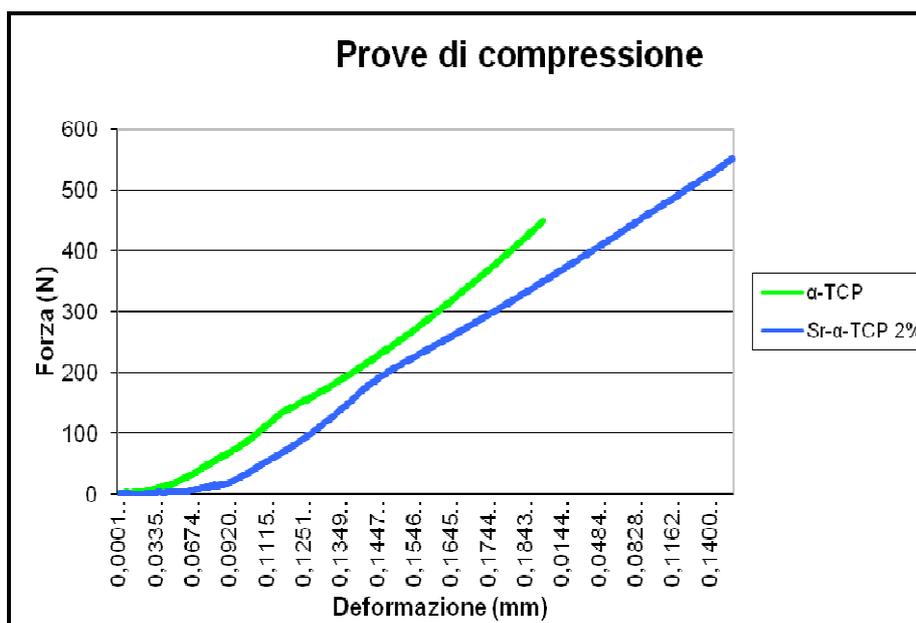


Figura 5.24: Curve riassuntive di compressione – cementi realizzati con alginato.

Elaborando questi dati è possibile ottenere il modulo elastico e la σ di compressione come in Figura 5.25 e in Figura 5.26.

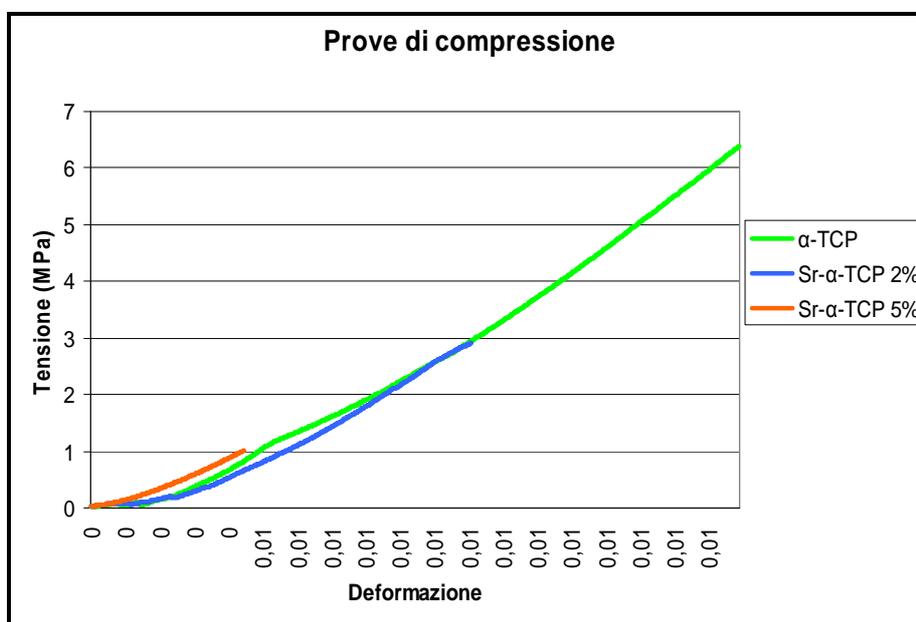


Figura 5.25: Curve riassuntive di compressione - cementi realizzati con soluzione di setting.

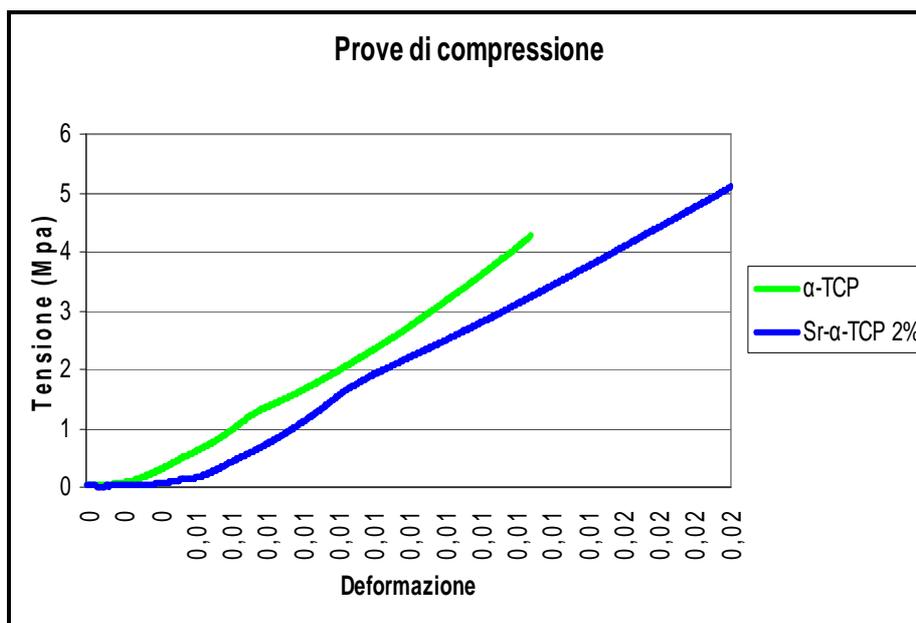
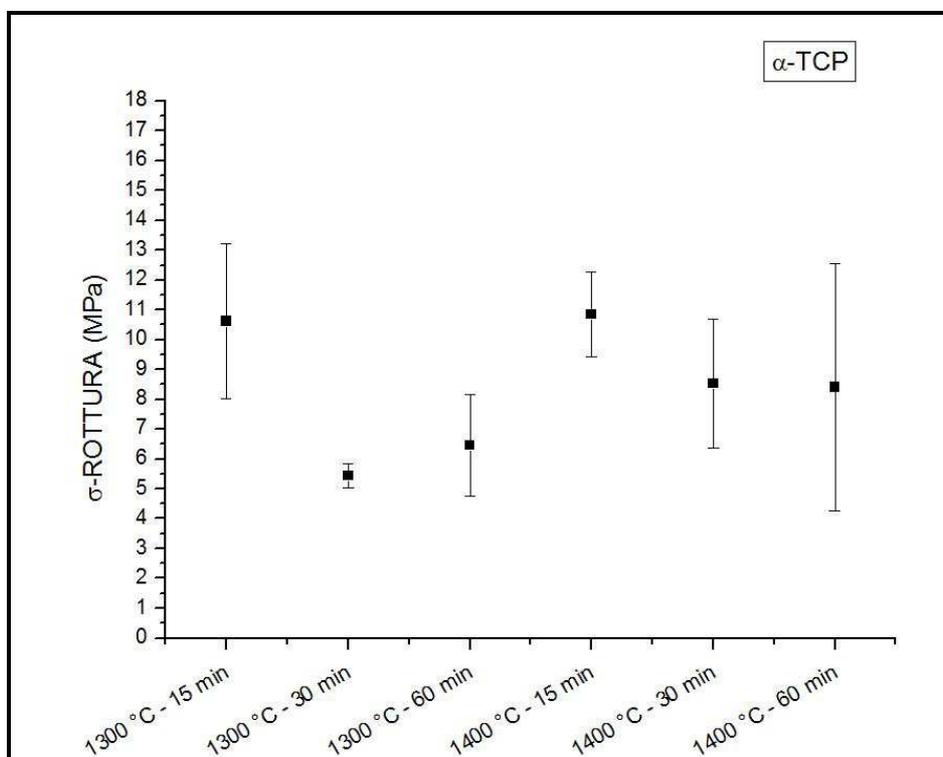


Figura 5.26: Curve riassuntive di compressione – cementi realizzati con alginato.

In Figura 5.27 sono riassunte queste grandezze (medie) per ogni materiale, con la relativa barra d'errore, che rappresenta la deviazione standard.



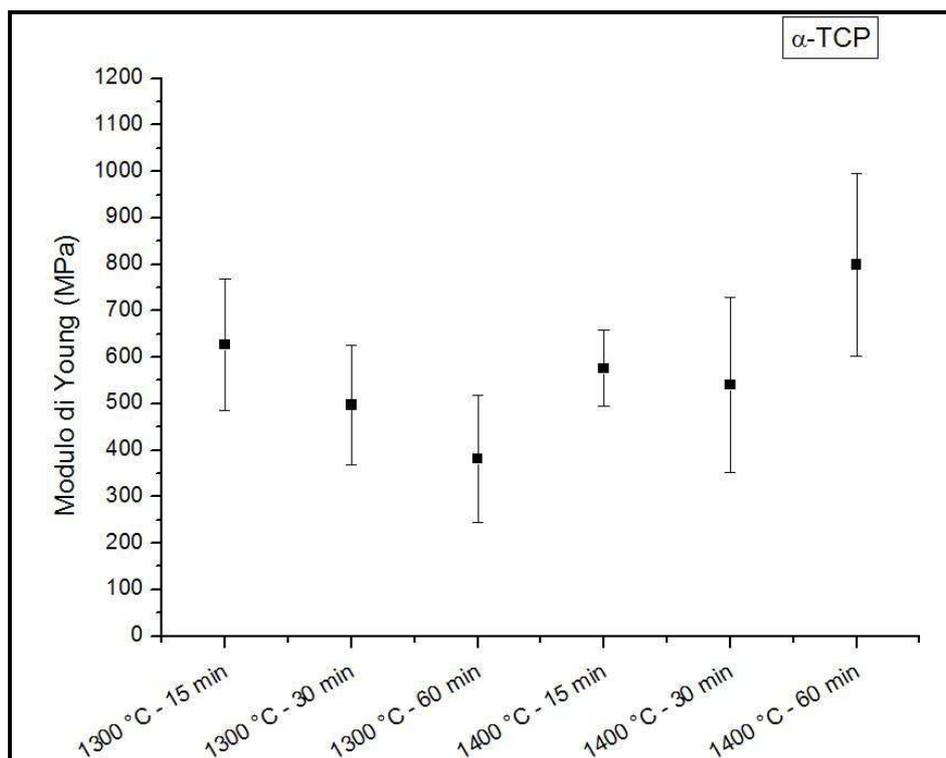


Figura 5.27: σ -compressione e modulo elastico di α -TCP nei diversi processi termici.

Dai grafici è possibile notare che una maggiore permanenza alla temperatura porta ad una lieve diminuzione della σ -compressione. Per quanto riguarda il modulo elastico (E) è possibile osservare che, se il trattamento è avvenuto a 1300 °C esso tende a calare all'aumentare della permanenza alla temperatura. Non è possibile affermare ciò anche per trattamenti avvenuti a temperatura più elevata (1400 °C); in questo caso, infatti, non vi è un preciso andamento del modulo di Young.

In Figura 5.28 sono riportate le grandezze medie del materiale Sr- α -TCP 2% nei diversi processi termici a cui è stato sottoposto.

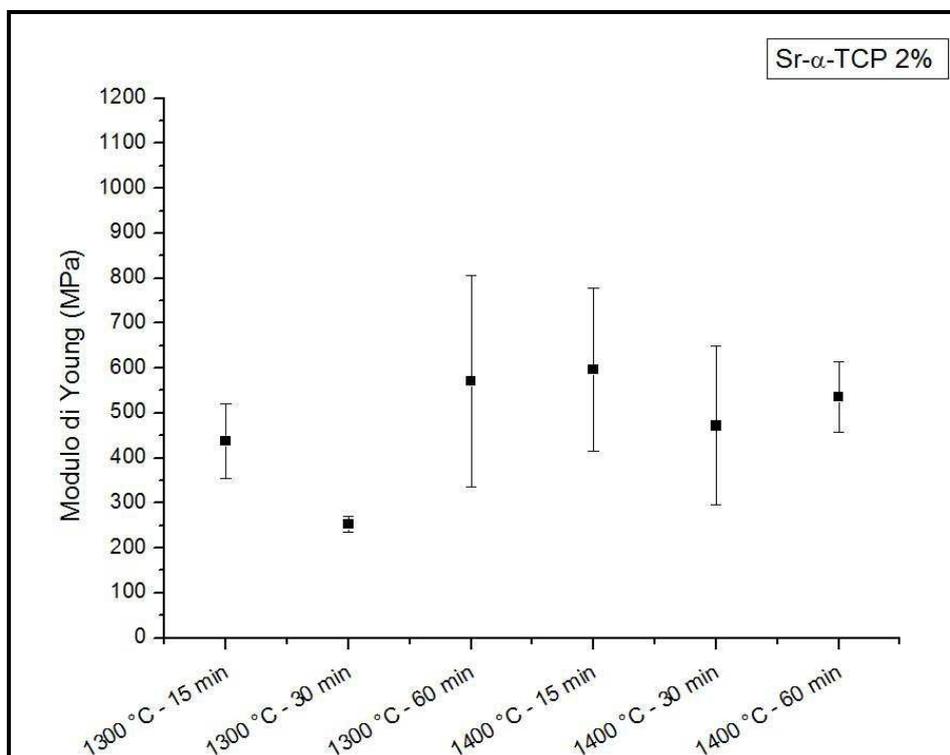
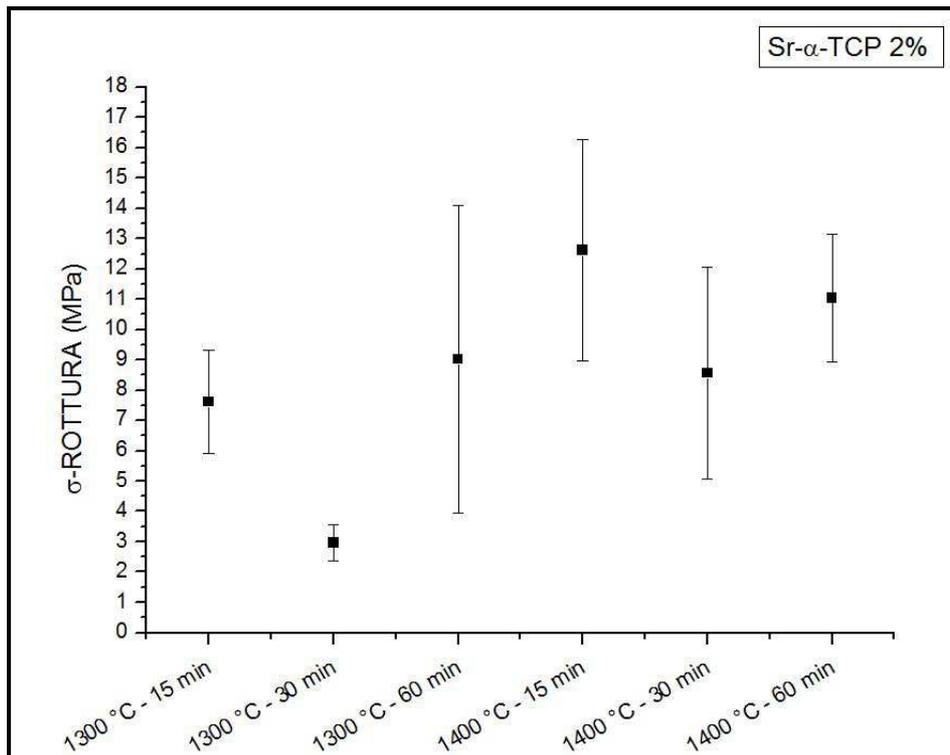
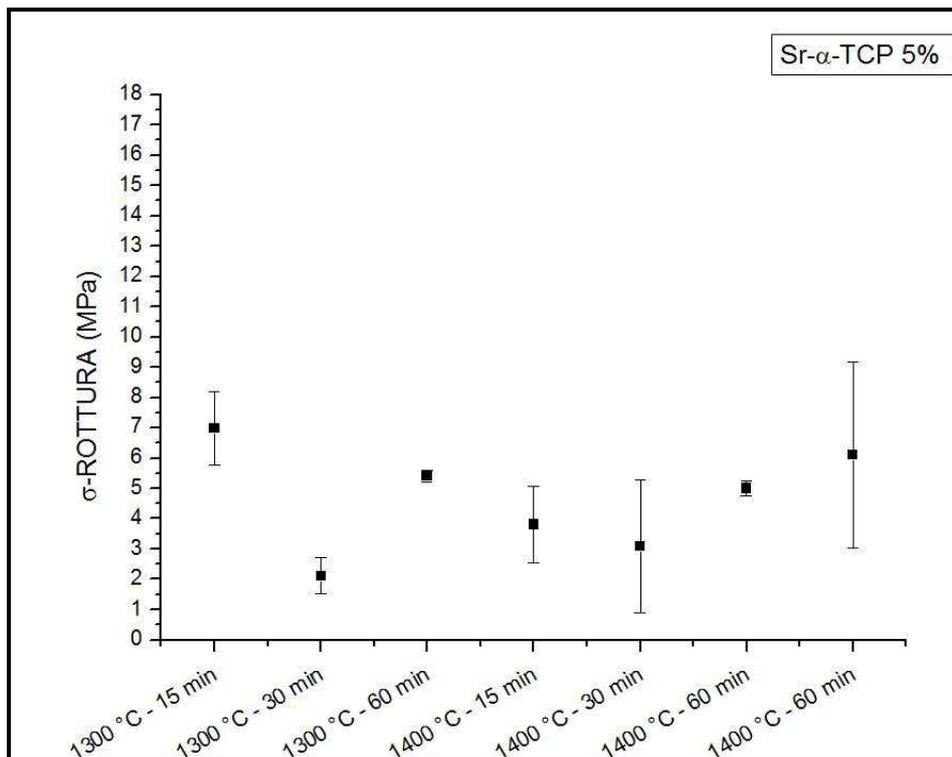


Figura 5.28: σ -compressione e modulo elastico di Sr- α -TCP 2% nei diversi processi termici.

Dai grafici è possibile notare che la tensione di compressione rimane pressoché costante nei trattamenti a 1300 °C, fatta eccezione per la permanenza di 30 min. Per quanto riguarda i trattamenti a 1400 °C la σ -compressione sembra decrescere all'aumentare della permanenza alla temperatura.

Per quanto riguarda il modulo elastico nei trattamenti a 1400 °C risulta essere circa costante mentre, escludendo sempre i 30 min di permanenza, sembra avere un andamento crescente per i trattamenti a 1300 °C.

In Figura 5.29 sono riportate le grandezze medie del materiale Sr- α -TCP 5% nei diversi processi termici a cui è stato sottoposto.



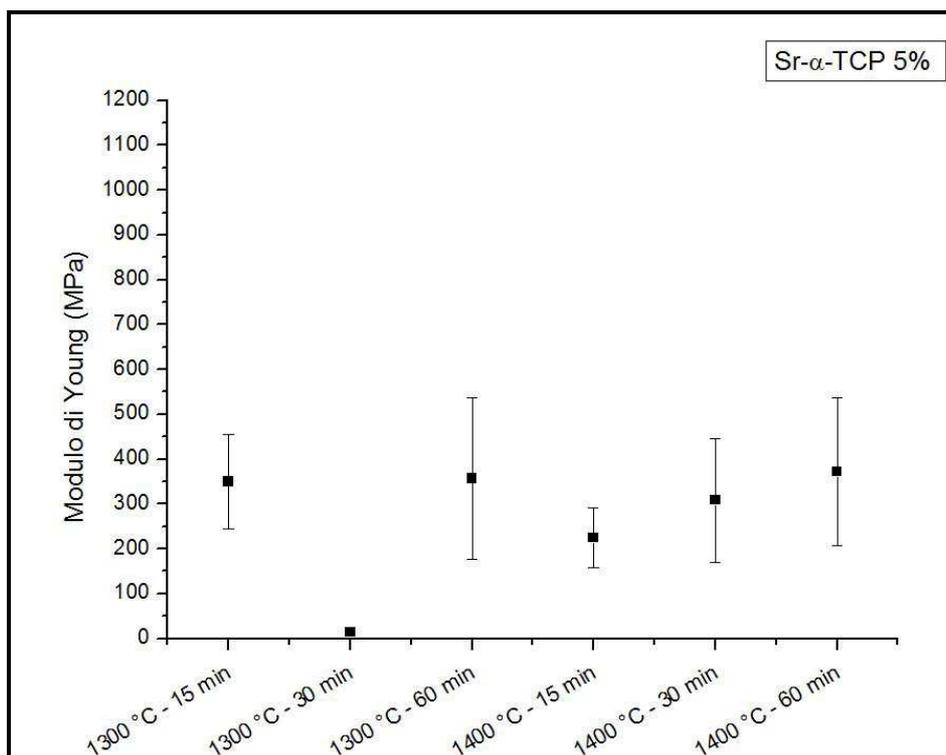


Figura 5.29: σ - compressione e modulo elastico di Sr- α -TCP 5% nei diversi processi termici.

Come è possibile notare dai grafici la tensione di compressione nei trattamenti a 1300 °C diminuisce con la permanenza a 30 min e a 60 min rispetto ad un permanenza di 15 min, seguendo un andamento non lineare. Per quanto riguarda i trattamenti a 1400 °C, invece, la σ è all'incirca costante. Si noti la grande dispersione dei valori per il materiale Sr- α -TCP 5% (mac 100').

Il modulo di Young nei trattamenti a 1300 °C, escludendo la permanenza per 30 min, risulta essere circa costante mentre ha un andamento mediamente lineare crescente nei trattamenti a 1400 °C. Anche in questo caso si nota una grande dispersione dei dati, soprattutto nel materiale macinato più a lungo.

In Figura 5.30 sono riportate le grandezze medie dei materiali α -TCP e Sr- α -TCP 2% nei diversi processi termici a cui è stato sottoposto. I materiali sono stati ottenuti miscelando le polveri di partenza (raffreddate velocemente e quindi con scarso quantitativo di β -TCP) con sodio alginato. In alcune di queste è stato anche introdotto CaCl_2 .

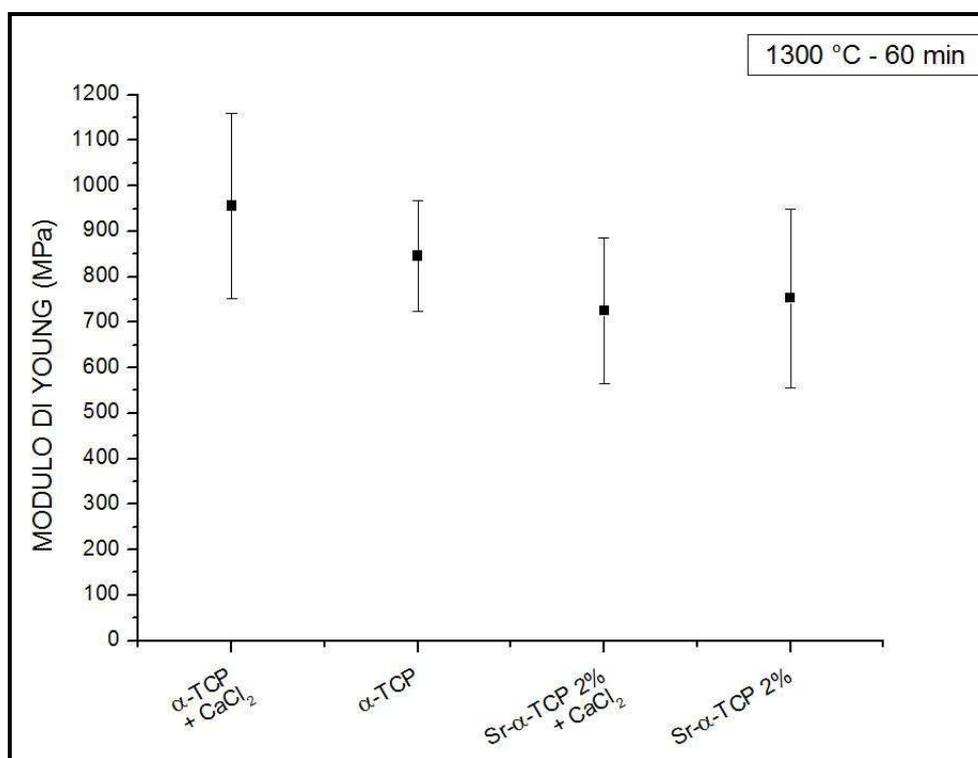
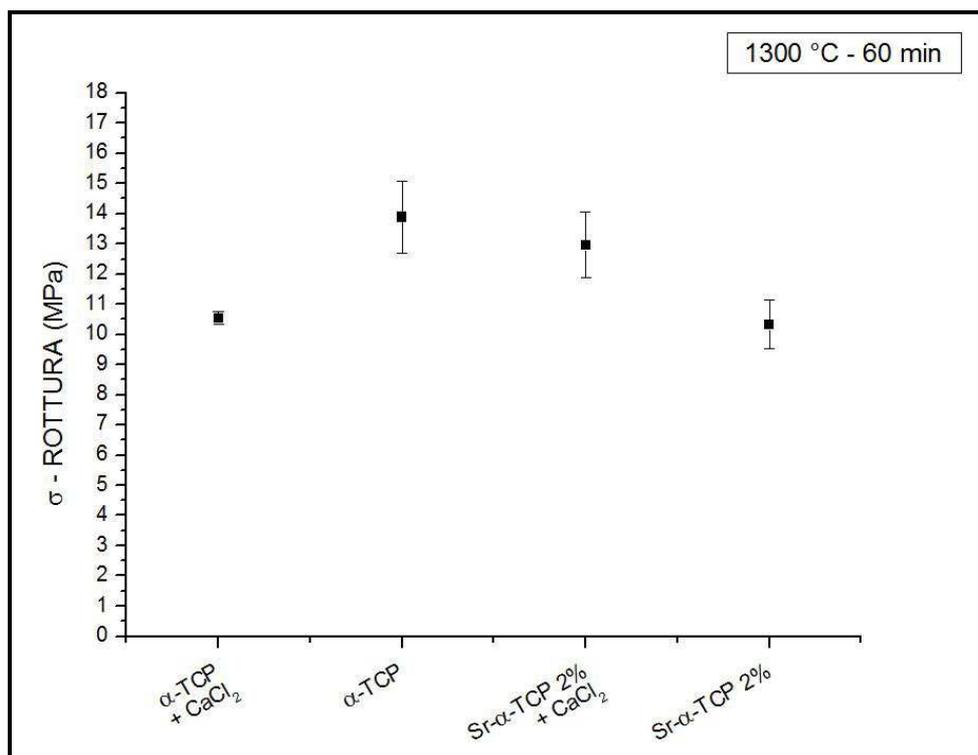


Figura 5.30: σ - compressione e modulo elastico di α -TCP e Sr- α -TCP 2% realizzati con alginato.

5.6.1 DISCUSSIONE RISULTATI OTTENUTI DALLE PROVE MECCANICHE A COMPRESSIONE

Tutti i cementi hanno una diffusa porosità e un ridotto modulo elastico. Quest'ultima caratteristica è molto importante per non introdurre nel sito d'impianto rilevanti discontinuità nei campi di stress che possono portare a fratture nei corpi vertebrali adiacenti.

Le proprietà meccaniche dei cementi ottenuti mostrano una notevole dispersione dei dati, qualità legata alla microstruttura porosa non organizzata. Questa caratteristica è tipica dei cementi apatitici in cui il processo di setting, correlato alla trasformazione di fase α -TCP \rightarrow HA, è strettamente dipendente dalla cinetica d'idrolisi che può essere differente tra particelle di α -TCP di diverse dimensioni. La presenza di β -TCP complica ancora di più il quadro poiché da un lato interferisce con il processo di idrolisi e dall'altro può costituire un motivo di infragilimento della struttura, non essendo strutturalmente connesso alla matrice. A questo proposito l'introduzione di alginato, con conseguente reticolazione, consente una migliore stabilizzazione meccanica del cemento.

Le proprietà di resistenza a compressione raggiungono in molti casi valori che consentono l'applicazione del cemento in siti portanti (*load-bearing*) anche se la resistenza meccanica non è ancora sufficiente per assicurare un'adeguata fissazione primaria senza l'ausilio di mezzi fissatori esterni.

CAPITOLO 6:

CONCLUSIONI E SVILUPPI FUTURI

L'attività di ricerca condotta nel presente lavoro ha esplorato alcuni dei parametri critici nella preparazione di cementi ossei bioattivi e biorisorbibili, che rappresentano una novità assoluta nel campo dei biomateriali per rigenerazione ossea.

Alla luce dei risultati ottenuti si possono trarre alcune importanti conclusioni:

1. È possibile sintetizzare con successo cementi apatitici porosi contenenti stronzio ottenendone l'indurimento in tempi adeguati per le applicazioni cliniche quali la vertebroplastica rigenerativa;
2. La sintesi di α -TCP a temperature più elevate consente un controllo maggiore delle proprietà e della composizione del cemento;
3. È stato confermato l'importante effetto della cinetica di raffreddamento nel controllo della formazione di fase secondaria β -TCP;
4. Comunque, la presenza di fase β può essere positiva per le sue proprietà di bio-riassorbibilità, a questo proposito l'incorporazione di stronzio nella fase β può risultare un ulteriore miglioramento delle proprietà biologiche. Studi specifici di coltura cellulare in vitro saranno necessari per confermare questa ipotesi;

5. È stato dimostrato che sia la presenza di stronzio che di fase β hanno distinti effetti ritardanti il processo di idrolisi;
6. Le proprietà meccaniche dei cementi ottenuti possono consentire l'applicazione di carichi moderati in vivo dopo impianto, considerando che la maggiore potenziale bioattività e la presenza di una diffusa porosità potrà consentire la rapida formazione di nuovo osso e una progressiva stabilizzazione dell'impianto;
7. L'aggiunta di alginato, eventualmente reticolato, consente di stabilizzare la matrice calcio-fosforica favorendo l'indurimento in tempi brevi e riducendo la dispersione dei dati di resistenza a frattura.

Nonostante l'ampio spettro di parametri esplorati (ad esempio temperatura di sintesi, concentrazione di stronzio, cinetica di raffreddamento) un'ulteriore attività di ricerca è necessaria per poter ottimizzare i cementi sviluppati per uso in chirurgia spinale rigenerativa.

Lo sviluppo di cementi ossei bioattivi e biorisorbibili è ancora agli albori e non esistono ancora cementi commerciali basati su apatite stronzio-sostituita; si possono pertanto identificare alcuni rilevanti punti critici che dovrebbero essere investigati in future attività di ricerca tra cui:

1. L'eventuale effetto della quantità di stronzio sostituito il calcio nell'apatite sui processi di osteoinduzione e di rigenerazione ossea;
2. Possibili approcci per creare porosità in grado di favorire l'osteoconduzione;

3. La resistenza a compressione, in associazione con una porosità aperta ed interconnessa, che può essere raggiunta da cementi apatitici ottenuti mediante processi di idrolisi;
4. L'effetto di sostituzioni ioniche multiple sulla bioattività del cemento finale.

Tutti questi fattori dovranno essere investigati in relazione alle proprietà tecnologiche che un cemento osseo per vertebroplastica deve esibire, ovvero tempi limitati di setting, iniettabilità e coesione in fase di iniezione.

Ovviamente, a seguito del presente lavoro e dei possibili futuri sviluppi, si renderà necessaria una robusta caratterizzazione cellulare in vitro per valutare la citotossicità in funzione della quantità di stronzio, la capacità proliferativa e osteogenica dei cementi sviluppati. Saranno altresì necessarie validazioni in vivo su animale che serviranno per valutare le capacità rigenerative dei cementi sviluppati, in termini di tempo, di qualità dell'osso neo-formato e di capacità di progressivo bio-riassorbimento.

BIBLIOGRAFIA

- ❖ [1] F. P. Beer, E.R. Johnston, J.T. DeWolf. (2002), *Meccanica dei solidi: Elementi di scienza delle costruzioni*, McGraw-Hill;
- ❖ [2] R. Pietrabissa, *Biomateriali per protesi e organi artificiali*, Pàtron Editore, Bologna;
- ❖ [3] R. A. Michelin, A. Munari, *Fondamenti di chimica per le tecnologie*, CEDAM;
- ❖ [4] M. Bohner, *Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements*, International journal of the care of the injured Vol. 31 (2000), pp. S-D37-47;
- ❖ [5] G. Lewis, *Injectable Bone Cement for Use in Vertebroplasty and Kyphoplasty: State-of-the-Art Review*, Wiley InterScience (29 September 2005);
- ❖ [6] M. Bohner, U. Gbureck, J. E. Barralet, *Technological issues for the development of more efficient calcium phosphate bone cement: A critical assessment*, Biomaterials Vol. 26 (2005), pp. 6423-6429;
- ❖ [7] U. Gbureck, J. E. Barralet, L. Radu, H. G. Klinger, R. Thull, *Amorphous α -Tricalcium Phosphate: Preparation and Aqueous Setting Reaction*, Journal Vol. 87, pp. 1126-1132;
- ❖ [8] O. V. Sinitsyna, A. G. Veresov, E. S. Kovaleva, Yu. V.Kolenko, V. I. Putlyayev, Yu. D. Tretyakov, *Syntesis of hydroxyapatite by hydrolysis of α - $Ca_3(PO_4)_2$* , Russian Chemical Bulletin, International Edition, Vol.54 (January 2005), pp. 79-86;

- ❖ [9] M. Ginebra, E. Fernández, F. C. M. Driessens, J. A. Planell, *Modelling of the Hydrolysis of α -Tricalcium Phosphate*, Journal, Vol. 82 (1999), pp. 2808-2812;
- ❖ [10] Y. Huang, W. Huang, L. Sun, Q. Wang, *Phase Transition from α -TCP into β -TCP/HA Composites*, International journal of Applied Ceramic Tecnology, Vol. 7 (2010), pp. 184-188;
- ❖ [11] L. Yubao, Z. Xingdong, K. de Groot, *Hydrolysis and phase transition of alpha-tricalcium phosphate*, Biomaterials, Vol. 18 (1997), pp. 737-741;
- ❖ [12] S. Pors Nielsen, *The biological role of strontium*, Bone, Vol. 35 (2004), pp.583-588;
- ❖ [13] P. J. Marie, P. Ammann, G. Boivin, C. Rey, *Mechanism of Action and Therapeutic Potential of Strontium in Bone*, Calcified Tissue International, Vol. 69 (2001), pp.121-129;
- ❖ [14] D. Peroni, A. Acerbi, L. S. Giarratana, G. A. La Maida, G. Fava and B. Misaggi, *Vertebropolastica e cifoplastica per il trattamento delle fratture toraco-lombari da osteoporosi*, Volume di ortopedia e reumatologia, Vol. 122 (2011), pp.18-19;
- ❖ [15] R. Rizzoli, J-P Bonjour, S. L. Ferrari, *Osteoporosis, genetics and hormones*; Journal of Molecular Endocrinology, Vol. 26 (2001), pp.79-94;
- ❖ [16] Roy Yuen-chi Lau and Xia Guo, *A Review on Current Osteoporosis Research: With Special Focus on Disuse Bone Loss*, Journal of Osteoporosis, 2011, pp.1-6;
- ❖ [17] J. Ando, *Tricalcium phosphate and its variation*, B Chem Soc Japan, Vol. 31(1958), pp.196-201;

- ❖ [18] L. Li, Y. Fang, R. Vreeker, I. Appelqvist, *Reexamining the Egg-Box Model in Calcium-Alginate Gels with X-ray Diffraction*, *Biomacromolecules*, Vol.8 (2007), pp.464-468;
- ❖ [19] I. Braccini, S. Pérez, *Molecular Basis of Ca²⁺ - Induced Gelation in Alginate and Pectins: The Egg-Box Model Revisited*, *Biomacromolecules*, Vol. 2 (2001), pp. 1089-1096;
- ❖ [20] S. Jegou Saint-Jean, CL Camire, P. Nevstein, S. Hansen, MP Ginebra, *Study of the reactivity and in vitro bioactivity of Sr-substituted α -TCP cements*, *Journal Material Science: Material in Medicine*, Vol.16 (2005), pp.993-1001;
- ❖ [21] S. Sprio, *Synthesis and characterization of implants for bone substitution made of biomedical apatites containing silicon*, Tesi di Dottorato di Ricerca in Scienze Chimiche;
- ❖ [22] M. Dapporto, *Progettazione e caratterizzazione di compositi biomimetici rinforzati a base apatitica per la realizzazione di impianti per sostituti ossei*, Tesi di Laurea in Comportamento Meccanico dei Materiali.

SITOGRAFIA

- ❖ www.wikipedia.org
- ❖ <http://scienceserver.cilea.it>
- ❖ <http://medicinapertutti.altervista.org/argomento/vertebre>
- ❖ http://www.albanesi.it/Notizie/colonna_vertebrale.htm

RINGRAZIAMENTI

Ringrazio il Prof. Luca Cristofolini senza il quale non avrei potuto svolgere questo lavoro di tesi.

Ringrazio il Dott. Simone Sprio per avermi dato la possibilità di svolgere questa esperienza all'interno dell'ISTEC-CNR e per avermi insegnato cosa significa fare ricerca.

Ringrazio il Dott. Massimiliano Dapporto per avermi seguita nella mia attività di laboratorio e per essere sempre stato disponibile a chiarire ogni mio dubbio.

Ringrazio la mia famiglia per avermi sempre supportata e per non aver mai messo in dubbio la mia scelta.

Ringrazio mia mamma perché mi è sempre stata accanto e perché ha sempre trovato il modo di farmi sorridere.

Ringrazio mio papà perché ogni mia piccola vittoria è sempre stata una sua grande vittoria.

Ringrazio mio fratello per avermi sempre tenuta aggiornata su ciò che succedeva nel mondo mentre ero sui libri, per essere sempre stato presente e per volermi bene.

Ringrazio mia nonna perché ogni venerdì mi ha ricordato che studiare è il mio lavoro e che dovevo cercare di fare in fretta.

Ringrazio Ferdinando perché c'è, perché qualsiasi problema io abbia è disposto a risolverlo con me e perché ha il dono di riuscire a tranquillizzarmi.

Ringrazio mia zia Emanuela perché da quando il nonno le ha detto di stare attenta ai bambini si è sentita responsabile anche del nostro rendimento scolastico: non ti preoccupare zia, il nonno sarebbe contento.

Ringrazio mia cugina Francesca per i mille consigli utili che è riuscita a darmi negli anni e perché riesce a starmi vicino anche da lontano.

Ringrazio Gabriella e Luciana per tutto: per le serate di studio intensivo e per quelle sul divano a guardare un film, per le mille risate, per essermi state accanto nei momenti divertenti e anche in quelli difficili. Senza loro sarebbe stato tutto più complicato!

Ringrazio i miei amici perché nonostante i miei “non posso uscire, devo studiare” e “non riesco: ho un esame” sono ancora miei amici.

Ringrazio Sara per gli aggiornamenti necessari del week end e per i discorsi infiniti fatti al tavolo del bar che mi riportano alla realtà.

Ringrazio i miei ragazzi del Reparto perché riescono a portare della spensieratezza nella mia vita; le due ore del sabato pomeriggio sono per me le più belle della settimana.

E, infine, ringrazio me stessa per averci creduto, per non aver mai mollato e non aver mai pensato di farlo.