

ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

**SECONDA FACOLTA' DI INGEGNERIA CON SEDE A CESENA
CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN INGEGNERIA BIOMEDICA**

TESI DI LAUREA

in
Meccanica dei Tessuti Biologici LM

**CARATTERIZZAZIONE BIOMECCANICA
DI
VERTEBRE UMANE**

Candidato:
FRANCESCO BERRA

Relatore:
Chiar.mo Prof LUCA CRISTOFOLINI

Correlatore:
Ing. VALENTINA DANESI

Anno Accademico 2011/2012

Sessione III

INDICE:

OBIETTIVI.....	3
CAPITOLO 1 : INTRODUZIONE.....	5
1.1 Anatomia e biomeccanica delle vertebre.....	5
1.2 Tipologie di provini: stato dell'arte.....	10
1.3 Sistemi di riferimento per test <i>in vitro</i> : stato dell'arte.....	13
1.4 Caratterizzazione meccanica delle vertebre: stato dell'arte.....	18
CAPITOLO 2 : ALLINEAMENTO VERTEBRE.....	21
2.1 Obiettivi.....	21
2.2 Materiali e Metodi.....	21
2.2.1 Provini utilizzati.....	21
2.2.2 Preparazione del provino.....	22
2.2.3 Definizione del Sistema di Riferimento.....	26
2.2.4 Procedura per l'allineamento.....	27
2.2.5 Preparazione dei riferimenti per l'applicazione degli estensimetri.....	29
2.3 Risultati.....	31
2.4 Discussione.....	33
CAPITOLO 3 : PROVE IN VITRO.....	35
3.1 Obiettivi.....	35
3.2 Materiali e Metodi.....	35
3.2.1 Provini utilizzati.....	35
3.2.2 Scelta delle configurazioni di carico.....	36
3.2.3 Applicazione degli estensimetri.....	39
3.2.4 Prove sperimentali.....	42
3.2.4.1 <i>Tuning e Setup</i>	42
3.2.4.2 Prove su vertebre umane.....	45
3.2.5 Analisi dei dati.....	49
3.3 Risultati.....	52
3.3.1 Ripetibilità intra- ed inter-provino.....	52
3.3.2 Distribuzione delle deformazioni.....	52
3.3.3 Effetto delle configurazioni di carico.....	53
3.4 Discussione.....	55
CONCLUSIONI.....	63
BIBLIOGRAFIA.....	65
RINGRAZIAMENTI.....	73

OBIETTIVI:

La presente tesi è stata realizzata presso il Laboratorio di Tecnologia Medica dell'Istituto Ortopedico Rizzoli. Il laboratorio si occupa della caratterizzazione e dello studio di biomateriali artificiali e dei tessuti appartenenti all'apparato muscolo-scheletrico. Più in generale, il Laboratorio di Tecnologia Medica effettua ricerche per lo sviluppo, la valutazione ed il trasferimento alla pratica clinica ortopedica di ogni tipo di tecnologia innovativa.

Il lavoro sperimentale ha avuto come primo obiettivo quello di riuscire a impostare un protocollo utile alla definizione di un sistema di riferimento per prove *in vitro* che potesse essere utilizzato sia per le singole vertebre sia per un segmento vertebrale visto che, allo stato attuale, non ne esiste uno standard. Per valutarne la robustezza, se ne è poi studiata la ripetibilità sia intra- che inter-operatore.

Il secondo obiettivo proposto è stato quello di caratterizzare biomeccanicamente delle triplette vertebrali, studiandone le deformazioni in diverse condizioni di carico. I dati ricavati potranno poi essere utilizzati per la validazione di modelli numerici vertebrali.

L'originalità dello studio consiste nel fatto che, per il Laboratorio di Tecnologia Medica, lo studio delle vertebre rappresenta un settore della ricerca ancora in via di sviluppo. Infatti anche in letteratura non sono presenti lavori che diano pari rilevanza allo studio delle deformazioni a diverse configurazioni di carico e neppure che definiscano i sistemi di riferimento con la loro applicazione allo studio delle proprietà dei materiali.

CAPITOLO 1

INTRODUZIONE

1.1 Anatomia e biomeccanica del rachide

Il rachide è una struttura meccanica di elevata complessità. Le sue funzioni principali funzioni sono:

- Supportare il peso corporeo.
- Trasferire le forze in gioco fra la testa, il tronco e la pelvi.
- Consentire la flessibilità del tronco.
- Consentire la flessione e la torsione del tronco.
- Proteggere il midollo spinale.



Fig. 1.1 : La colonna vertebrale

La colonna vertebrale è costituita da sette vertebre cervicali, dodici vertebre toraciche e cinque vertebre lombari (Fig. 1.1). Le regioni terminali, il sacro e il coccige, sono formate da vertebre fuse insieme (Fig. 1.1). Sul piano frontale, in condizioni non patologiche, la colonna è simmetrica. Sul piano laterale invece si possono identificare quattro curvature caratteristiche. Questa particolare geometria permette di aumentare la capacità di assorbimento degli impatti, nonché la flessibilità, mantenendo comunque una buona stabilità articolare. Le vertebre sono articolate fra loro attraverso i dischi intervertebrali, le faccette articolari e diversi legamenti. La colonna vertebrale è inoltre sede di molte inserzioni muscolari. La stabilità spinale è quindi garantita,

non solo attraverso strutture passive, ma anche grazie ai muscoli antagonisti ed ai sistemi di controllo neuromuscolare.

I dischi intervertebrali, insieme alle faccette articolari, sono responsabili del trasferimento dei carichi compressivi agenti in verticale sulla regione superiore del corpo. I dischi sono quindi soggetti a carichi notevoli, che possono comunque generare componenti anche in altre direzioni. Durante le attività quotidiane si possono infatti avere momenti flettenti tali da indurre una trazione del disco. Bisogna inoltre considerare le componenti torsionali indotte dalla rotazione assiale. Anatomicamente, il disco è composto da una regione centrale, il nucleo polposo, e dall'anello fibroso, che lo circonda, contenendolo (Fig. 1.2). Il nucleo polposo è costituito principalmente da mucopolisaccaridi, i quali determinano un elevato contenuto di acqua. Tale regione presenta quindi la possibilità di gonfiarsi, richiamando acqua, generando una pressione idrostatica fondamentale per sostenere i carichi. L'anello fibroso è una struttura organizzata in lamelle concentriche. Tali lamelle sono costituite principalmente da fibre di collagene.

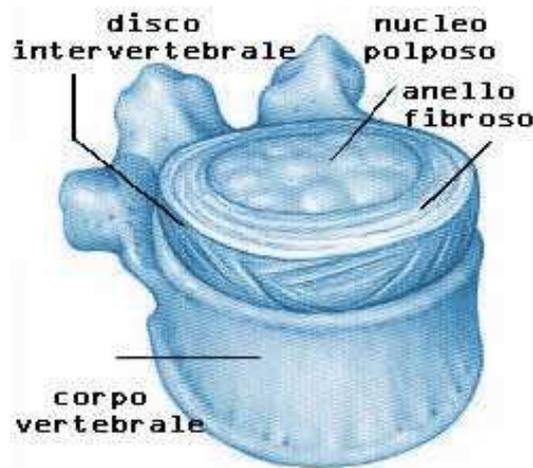


Fig. 1.2 : Immagine di un disco intervertebrale.

L'orientamento delle fibre è costante all'interno di ogni lamella, ma cambia fra una lamella e l'altra. Si ha quindi una variazione progressiva dell'orientamento delle fibre di collagene dal nucleo verso la periferia. Il disco è limitato superiormente e inferiormente da un regione di transizione, la limitante vertebrale. Tale zona è costituita da cartilagine ialina, fortemente radicata nel corpo vertebrale.

I legamenti spinali non garantiscono solo la stabilità articolare, ma proteggono anche il midollo spinale. Tale funzione protettiva si ottiene grazie alla limitazione del movimento inter-vertebrale garantita dai legamenti stessi. In situazioni in cui

la velocità di applicazione del carico è elevata, la struttura legamentosa permette inoltre di assorbire una notevole quantità di energia.

I legamenti spinali decorrono lateralmente ai dischi e connettono fra loro le vertebre (Fig. 1.3). La complessità dell'intero apparato legamentoso è elevata, tant'è che alcuni legamenti originano nella regione cervicale e si prolungano lungo tutta la colonna, terminando nel coccige.

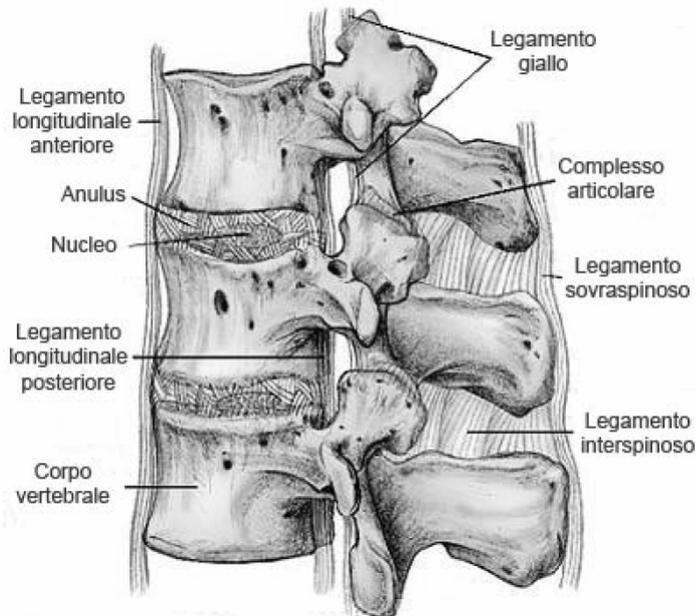


Fig. 1.3 : Tratto di colonna vertebrale.

Le vertebre sono ossa corte (Fig. 1.4-1.5). Esse sono formate dal corpo vertebrale e da un anello osseo posteriore, l'arco vertebrale. La regione cava da essi delimitata prende il nome di foro vertebrale. I peduncoli rappresentano invece la radice di tale arco. La sovrapposizione delle vertebre determina una sorta di continuità dei fori vertebrali, da cui origina il canale vertebrale. All'interno di tale canale è contenuto il midollo spinale.

Posteriormente, dall'arco vertebrale, si dipartono i processi articolari, trasversi e spinoso. Il processo trasverso ha forma laminare, si proietta orizzontalmente e lateralmente. Al contrario, i processi articolari si proiettano verticalmente. Alle loro estremità presentano delle faccette articolari piane, ricoperte di cartilagine ialina. Le faccette articolari dei processi articolari superiori si articolano con quelle dei processi articolari inferiori della vertebra adiacente. Queste diartrosi permettono lievi movimenti di traslazione nello spazio, impedendo le rotazioni.

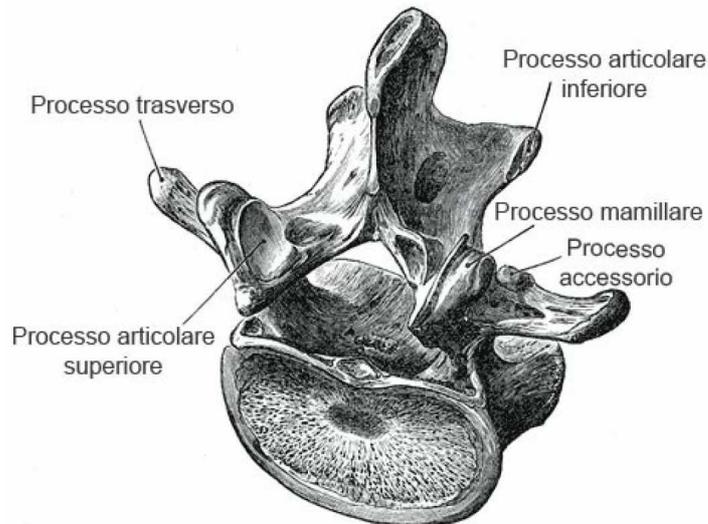


Fig. 1.4 : Vertebra lombare

Il corpo vertebrale, come tutte le ossa irregolari, è costituito principalmente da osso trabecolare, circondato da un sottile guscio di osso compatto. Le superfici superiori e inferiori, leggermente concave, costituiscono le limitanti vertebrali. Nonostante questa geometria di base si mantenga in tutte le vertebre, vi sono comunque variazioni, anche notevoli, dipendenti dal livello considerato. In particolare le dimensioni e la massa aumentano procedendo verso la regione lombare. Questo è indice di un adattamento ai maggiori carichi compressivi a cui queste vertebre sono soggette (White *et al.*, 1990). Nelle vertebre toraciche sono presenti invece ulteriori faccette, necessarie per articolarsi con le costole. Anche l'orientamento delle faccette presenti sui processi articolari cambia progressivamente in direzione caudale. In particolare, nella regione lombare, l'inclinazione sul piano sagittale aumenta da L1-L2 verso L5-S1 (White *et al.*, 1990). Nonostante le faccette trasferiscano forze, la maggiore quota di carico viene comunque supportata dal corpo vertebrale. Tale carico viene così suddiviso fra il guscio corticale esterno e il restante osso trabecolare. In particolare, sembra che il guscio corticale migliori la resistenza della vertebra alla flessione. Al contrario, la componente trabecolare è maggiormente coinvolta nei carichi compressivi (White *et al.*, 1990). Questa proprietà è intuibile anche qualitativamente osservando la struttura del corpo vertebrale (Fig. 1.5). Si può notare infatti come vi sia una direzione preferenziale nell'organizzazione della componente spongiosa. Dati i notevoli carichi compressivi, le trabecole verticali sono più spesse. Non è comunque da sottovalutare la funzione delle trabecole orizzontali. La loro presenza evita infatti che si instaurino fenomeni di instabilità elastica.

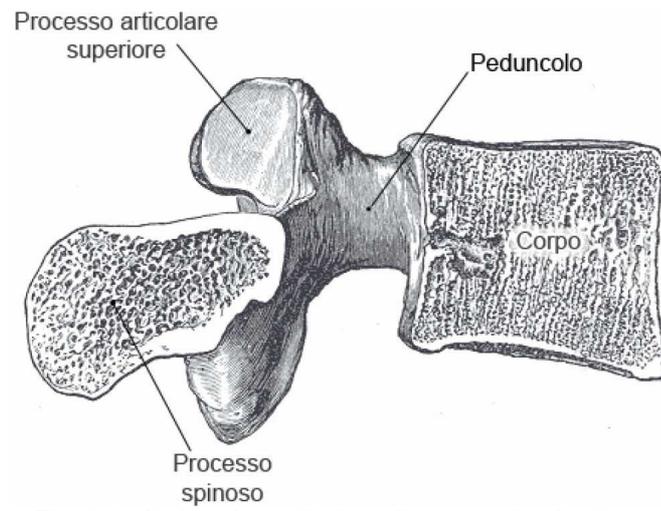


Fig. 1.5 : Sezione lungo il piano di una vertebra lombare.

1.2 Tipologie di provini: stato dell'arte

Le tipologie di provini utilizzati per le prove *in vitro* presenti in letteratura sono diverse a seconda dello studio a cui sono finalizzate. Si possono infatti usare segmenti di colonna vertebrale (due o più vertebre adiacenti) se si vuole studiare la cinematica e le proprietà meccaniche dei componenti della stessa colonna vertebrale (vertebre, legamenti e dischi tutti insieme). Altresì si possono utilizzare singole vertebre (l'intera vertebra, il corpo vertebrale isolato oppure senza gli *endplate*) con il fine di studiare le proprietà strutturali della vertebra stessa. A volte si possono anche estrarre dei campioni dalle vertebre stesse se si vogliono studiare le proprietà a livello tissutale.

1.2.1. Livello di organo: vertebre singole

Per quanto riguarda le vertebre singole bisogna prestare particolare attenzione alla loro preparazione. Infatti quando tutti i tessuti molli (dischi intervertebrali in special modo) vengono rimossi. In letteratura si osserva inoltre che non sempre la parte ossea viene lasciata indenne. Infatti si trovano generalmente tre tipologie di provini (Fig. 1.6) costituiti da vertebre singole:

- Vertebra intera.
- Vertebra privata dei peduncoli.
- Vertebra privata dei peduncoli e degli *endplate*.

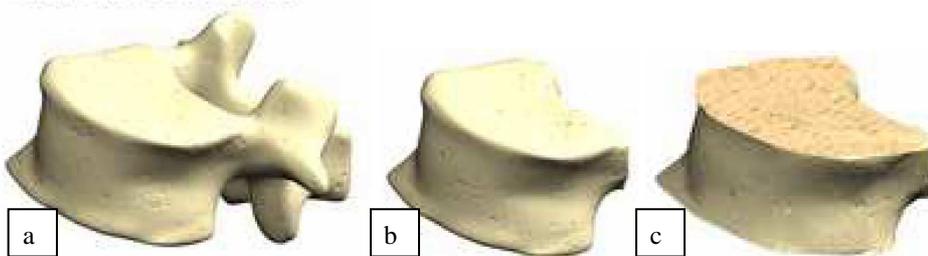


Fig. 1.6 : In questa immagine sono mostrate le tre tipologie di vertebre singole: (a) vertebra intera; (b) vertebra senza peduncoli; (c) vertebra senza peduncoli e *endplate*.

Ad un primo approccio è chiaramente visibile la progressiva semplificazione strutturale, e quindi anche di scenari di lavoro possibili, alla quale una vertebra singola può essere sottoposta. Per quanto riguarda la prima tipologia di provino, la vertebra intera, si ritrova che l'arco posteriore viene lasciato intatto. Questo infatti viene usato quando le proprietà dell'arco posteriore sono analizzate direttamente (Lamy *et al.*, 1975; Shah *et al.*, 1976) oppure quando i processi spinali vengono cementati in modo da consentire l'afferraggio del corpo

vertebrale (Teo *et al.*, 2001). La seconda tipologia di provino, invece, è caratterizzato dalla rimozione dell'arco posteriore tramite il taglio dei peduncoli. Per quanto questa azione possa sembrare una forte semplificazione delle condizioni di studio, in realtà Hongo *et al.*, 1999, ha dimostrato che, tagliando i peduncoli, si ottiene sì una riduzione significativa delle deformazioni alla loro base, mentre non si riscontrano delle differenze significative per quello che riguarda le deformazioni sul corpo vertebrale. Ciononostante questa tipologia di provini è quella maggiormente utilizzata in tutta la letteratura. Per la terza e ultima tipologia di provini, invece, ritroviamo una ulteriore semplificazione. Infatti, rispetto alla seconda tipologia di provini, qui si vanno a rimuovere anche gli *endplate*. Questa configurazione è ovviamente quella più semplificata. Nonostante sia la meno fisiologica (infatti, così facendo, l'integrità stessa del corpo vertebrale viene compromessa), questa configurazione consente un miglior controllo dei vincoli (se gli *endplate* sono fresati ben paralleli) e delle condizioni di carico migliorando, quindi, la ripetibilità stessa dei test.

1.2.2. Livello di sistema: segmenti di vertebre

Per quanto riguarda i segmenti di vertebra, invece, si trovano in letteratura con diversi nomi a seconda dell'autore che le utilizza. In particolare, possiamo trovare

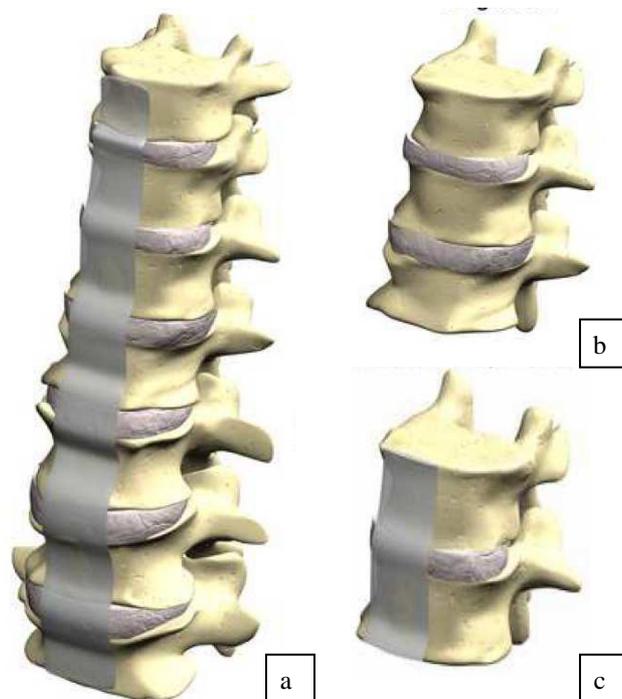


Fig. 1.7 : Nell'immagine sono riportate: (a) MSU; (b) un segmento di 3 vertebre; (c) FSU.

in letteratura che essi vengono chiamati MSU (Multisegmental Spinal Unit) da (White III and Panjabi, 1990), oppure vengono anche chiamate FSU (Functional Spinal Unit) da (Frei *et al.*, 2002; Zander *et al.*, 2004; Carriere *et al.*, 2006; Melnyk *et al.*, 2012) (Fig. 1.7). In entrambi i casi, comunque, l'attenzione viene sempre rivolta ad una sola vertebra mentre tutte le strutture che la circondano (come per

esempio legamenti, dischi e superfici articolari) vengono lasciate intatte con l'intento di riprodurre meglio le condizioni anatomiche e, quindi, anche far sì che le condizioni di carico siano le più fisiologiche possibili. Infatti, questo tipo di provino viene generalmente usato per analisi di tipo cinematico che, quindi, consente lo studio di fenomeni assai complessi come, per esempio, la stabilità della colonna vertebrale (Kifune *et al.*, 1995; Panjabi *et al.*, 1995; Oda *et al.*, 2002).

1.2.3. *Livello di Tessuto: provino di tessuto*

Mentre i test sui segmenti di vertebre e sulle vertebre singole riflettono il comportamento dell'intera struttura ossea, a livello tissutale abbiamo invece un'analisi più approfondita di quelle che sono le proprietà meccaniche dell'osso. In letteratura si fa riferimento soprattutto alle proprietà dell'osso trabecolare siccome è il tessuto che maggiormente sorregge i carichi nel corpo vertebrale (Prakash *et al.*, 2007). I provini usati per fare i test sono pertanto estratti dal centro del corpo vertebrale dei provini tramite carotaggio (Fig. 1.8) (Keaveny *et al.*, 1997; Yamamoto *et al.*, 2006; Bevill *et al.*, 2009; Wolfram *et al.*, 2011) e, spesso, sono di forma cilindrica (indicativamente di 8x18-25mm) avente l'asse principale in direzione cranio-caudale



Fig. 1.8 : Nell'immagine è mostrata l'estrazione di un provino cilindrico per l'analisi a livello tissutale.

1.3 Sistemi di riferimento per test *in vitro*: stato dell'arte

All'interno della comunità scientifica (International Society of Biomechanics, ISB) si è sollevata l'importanza della definizione e standardizzazione di un sistema di riferimento (Wu and Cavanagh, 1995; Wu *et al.*, 2002). La mancanza di standardizzazioni rende estremamente difficile se non impossibile comparare risultati di studi differenti. Facendo una ricerca sull'argomento, ho inoltre potuto constatare che tuttavia sono presenti numerose contraddizioni in letteratura. Per esempio, in un articolo trattante i test meccanici su vertebre, non veniva data alcuna importanza alla definizione di sistemi di riferimento (Adams, 1995). In altri casi, invece, venivano definiti diversi sistemi di riferimento per venire incontro alle varie necessità a seconda del tipo di applicazione (Cristofolini, 2011). In particolare, per quanto riguarda l'analisi *in vivo* (esempio: analisi del movimento), la letteratura mostra che i sistemi di riferimento si basano solitamente su punti di repere anatomici che, quindi, necessitano di essere palpabili e meno invasivi possibile. Logicamente, per lavorare *in vitro*, si può invece creare un sistema di riferimento che utilizza punti anatomici caratteristici raggiungibili anche in maniera invasiva (esempio: raggiungibili una volta eliminati i tessuti molli). Ovviamente, in generale, le misure delle dimensioni e l'identificazione di un sistema di riferimento sono più accurate quando si lavora con un approccio *in vitro* piuttosto che con un approccio *in vivo*.

Un sistema di riferimento deve soddisfare le seguenti caratteristiche (Cristofolini, 2011):

- Ripetibilità: le differenze nella definizione del sistema di riferimento da parte dello stesso operatore, sullo stesso provino, devono essere trascurabili (cioè la ripetibilità intra-operatore).
- Riproducibilità: le differenze nell'identificazione del sistema di riferimento tra diversi operatori devono essere trascurabili (cioè la ripetibilità inter-operatore).
- Robustezza: la presenza di deformità (come per esempio osteofiti, scoliosi, ecc...), inserzioni muscolari e diversità inter-provino non devono influenzare negativamente l'identificazione dei punti di repere.

CAPITOLO 1

Per quanto riguarda la definizione di un sistema di riferimento, si è visto che ciò richiede anche la formulazione di un protocollo per i test. Infatti le estremità dei provini vengono solitamente incorporate in polimeri in modo da consentire un afferraggio ed un incastro migliore per il provino stesso (Pfeiffer *et al.*, 1996). Così viene intuitivo pensare che un sistema di riferimento, avente una procedura per i test, è sensibile anche alla procedura con la quale si va a cementare un provino. Pertanto, definire un sistema di riferimento robusto consente di realizzare una prova consistente che può condurre ad un rafforzamento della ripetibilità. Tuttavia i dettagli circa la procedura di allineamento non vengono molto spesso riportati negli articoli (Pollintine *et al.*, 2009; Jiang *et al.*, 2010).

In alcuni lavori presenti in letteratura, i singoli corpi vertebrali sono stati cementati *in pot* al fine di garantire superfici di carico parallele (Kopperdahl *et al.*; Buckley *et al.*, 2007; Buckley *et al.*, 2009). In altri studi, invece, si utilizzavano dei tondini di acciaio lubrificato che venivano tenuti fermi contro la parete posteriore del corpo vertebrale in maniera da allineare sia singoli corpi vertebrali (Furtado *et al.*, 2007) sia triplette (Oakland *et al.*, 2009). Il limite di questa procedura è però che, se da un lato essa sembra essere in grado di tenere saldamente il provino, dall'altro non sembra essere in grado di garantire un allineamento anatomico consistente.

Le procedure attuate per ottenere l'allineamento della vertebra sfruttano in genere riferimenti a strutture anatomiche (come gli *endplate*, cioè la faccia superiore/inferiore del corpo vertebrale, o il canale spinale) piuttosto che punti caratteristici (detti di *repere*). In un altro studio (Hongo *et al.*, 1999) si era allineato un segmento di 3 vertebre adiacenti cercando di mettere la parete posteriore della vertebra centrale ortogonalmente al terreno per poi cementare le estremità del provino con del PMMA (polimetilmetacrilato) in maniera da garantire il parallelismo delle stesse estremità.

In Frei *et al.*, 2002, invece, viene utilizzato il più piccolo segmento di vertebre (cioè 2 vertebre) che mostra le proprietà biomeccaniche più vicine a quelle dell'intera colonna vertebrale e al quale viene dato il nome di FSU. Per quanto riguarda l'allineamento qui si era invece cercato di tenere orizzontale il disco intervertebrale prima di cementare le estremità del provino con del PMMA. Anche in questi articoli (Hongo *et al.*, 1999; Frei *et al.*, 2002) venivano comunque

fornite poche informazioni circa quale parte/piano delle vertebra/disco fosse orizzontale.

Un interessante sistema di riferimento per singole vertebre è stato anche realizzato grazie a scansioni CT (Computed Tomography), che hanno consentito il calcolo del centro di massa (COM) di ogni singola vertebra, cosicché le proiezioni dei piani frontali e sagittali (del COM) potessero essere usate per l'allineamento all'interno del protocollo di prova (Dall'Ara *et al.*, 2010). Tuttavia, siccome gli *endplate* erano stati tagliati secondo l'asse cranio-caudale, non venivano forniti dettagli né circa la sua definizione, né sulla scelta della rotazione dei due piani ortogonali.

In altri test *in vitro*, si erano usati sistemi optoelettronici per quantificare il movimento tra vertebre sotto carico (Grassmann *et al.*, 1998). Al fine di raccogliere dati cinematici, si era definito un sistema di riferimento anatomico (Fig. 1.9) per ogni vertebra del segmento testato (Ilharreborde *et al.*, 2010).

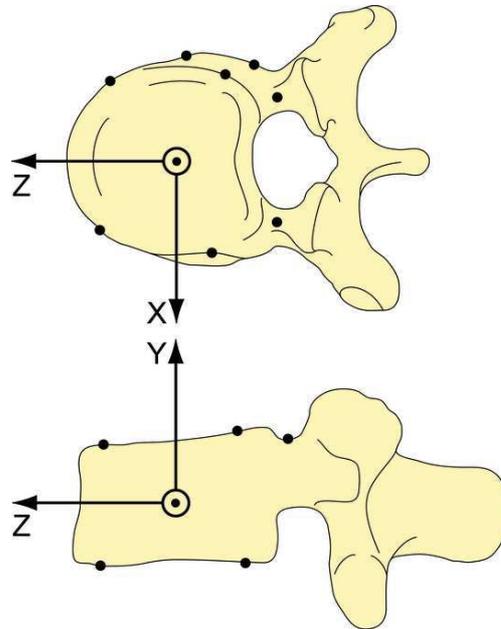


Fig. 1.9 : Vertebra singola, con un sistema di riferimento locale e i punti anatomici che erano stati digitalizzati per l'identificazione del sistema di riferimento [Ilharreborde *et al.*, 2010].

L'asse verticale passava attraverso il baricentro (calcolato computazionalmente) dei quattro punti di ogni *endplate*. Gli ulteriori punti scelti sui peduncoli erano stati usati per la determinazione dell'asse antero-posteriore. L'origine del sistema di riferimento è definito come il baricentro di tutti i punti digitalizzati. La figura è tratta da Ilharreborde *et al.*, 2010.

Considerando tutti gli articoli analizzati, la definizione più dettagliata di un sistema di riferimento per vertebra appartiene al gruppo di Panjabi. Gli autori hanno infatti fornito tre studi estesi e quantitativi dell'intera colonna vertebrale

umana (Panjabi *et al.*, 1991; Panjabi *et al.*, 1992) e, al fine di esibire la raccolta di dati e risultati, è stato loro pertanto necessario definire un sistema di riferimento *in vitro* per ogni singola vertebra (Fig. 1.10). Per fare ciò vengono utilizzati quattro punti. L'articolo mostra come i quattro punti vengono posizionati sui quattro angoli estremi della cavità vertebrale e giacciono sulla parete posteriore del corpo vertebrale. I punti sulla vertebra sono stati poi digitalizzati in modo da registrare le loro posizioni. Il piano frontale è stato definito come il piano che, ai minimi quadrati, meglio interpola i quattro punti sulla parete posteriore. Il centro del sistema di riferimento coincide con il centroide dell'*endplate* superiore. L'asse "z" è definito come l'asse ortogonale al piano. L'asse "x" come l'asse parallela ai due punti craniali e in direzione sinistra rispetto alla vertebra. L'asse "y" è definito come l'asse perpendicolare al piano "z-x".

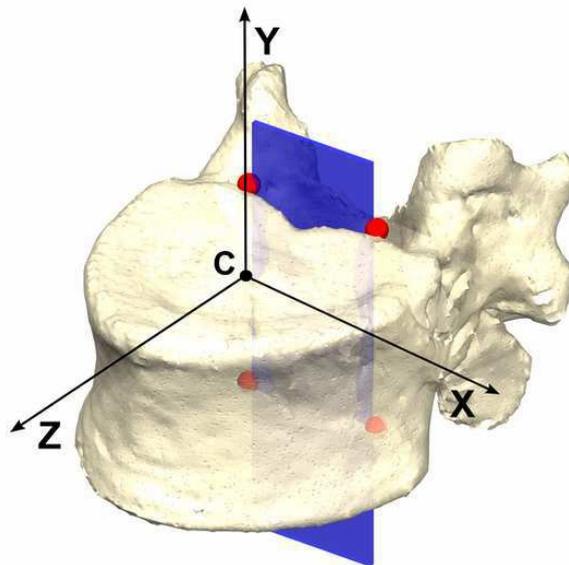


Fig. 1.10 : Il sistema di riferimento definito da (Panjabi *et al.*, 1991) dove si utilizzano quattro punti. I quattro punti vengono posizionati sui quattro angoli estremi della cavità vertebrale e giacciono sulla parete posteriore del corpo vertebrale. I punti sulla vertebra sono stati poi digitalizzati in modo da registrare le loro posizioni. Il piano frontale è stato definito come il piano che, ai minimi quadrati, meglio interpola i 4 punti sulla parete posteriore. Il centro del sistema di riferimento coincide con il centroide dell'*endplate* superiore. L'asse "z" è definito come l'asse ortogonale al piano. L'asse "x" come l'asse parallelo ai due punti craniali e in direzione sinistra rispetto alla vertebra. L'asse "y" è definito come l'asse perpendicolare al piano "z-x". La figura è tratta da Panjabi *et al.*, 1991.

Contrariamente a quanto possa sembrare, questa procedura non sembra essere fattibile per un protocollo di prove sperimentali, sia a causa dell'uso di numerosi punti, sia perché necessita della loro digitalizzazione. Inoltre si è visto che, quando si prendono in esame i segmenti di spina dorsale, i punti anatomici caratteristici usati negli studi citati non siano così facilmente accessibili a causa della presenza dell' arco posteriore o di altri tessuti molli. Ciononostante, questo

tipo di approccio può essere usato come ispirazione per lo sviluppo di un nuovo sistema di riferimento standardizzato per i corpi vertebrali.

È stata, infine, dimostrata l'importanza di un allineamento dei provini per le proprietà dell'osso trabecolare. Difatti si è visto che il modulo di Young e la tensione di rottura di un provino di osso trabecolare si riducono del 40% quando si commette un errore di disallineamento di 20° rispetto alla direzione trabecolare principale (Öhman *et al.*, 2007). Così, essendo la maggior parte del corpo vertebrale costituito da una struttura trabecolare, un corretto allineamento del provino diventa di fondamentale importanza. Tuttavia, come studiato per il complesso tibia-fibula (Conti *et al.*, 2008), la definizione adottata può far sì che piani aventi nominalmente lo stesso allineamento (es: "frontale") possano venire posizionati in maniera abbastanza diversa. Inoltre, come l'ISB (International Society of Biomechanics) raccomanda (Wu *et al.*, 2002), la standardizzazione di un sistema di riferimento (anche per test *in vitro*) utile a meglio confrontare i risultati ottenuti da studi diversi è sicuramente un obiettivo che deve essere migliorato ed è questo lo scopo del presente lavoro.

1.4 Caratterizzazione meccanica delle vertebre: stato dell'arte

In questo sottocapitolo si vuole dare una panoramica su quali siano le configurazioni di carico maggiormente utilizzate e su quali tipi di provini vengano utilizzati per test meccanici della colonna vertebrale umana.

In letteratura sono presenti numerosi risultati ma, per quanto riguarda la definizione dei protocolli sperimentali, non sembrano essere stati raggiunti standard elevati come nel caso del femore. Per quanto riguarda le modalità di carico, la compressione assiale è la tecnica più utilizzata. In un lavoro (Kopperdahl et al., 2000) il carico viene applicato attraverso una sfera posta in contatto con una delle estremità cementate del provino. Vengono inoltre proposte anche diverse definizioni per la stima delle grandezze d'interesse, come i carichi ultimi e le rigidità (Kopperdahl et al., 2000). Questo protocollo è stato poi replicato in diversi altri lavori. Applicando sempre il carico attraverso una sfera, ma posizionandola anteriormente o posteriormente, è possibile imporre anche un carico eccentrico (Furtado et al., 2007). Questa scelta permette allora di studiare il comportamento a flessione della vertebra. In questo caso una scelta alternativa è l'applicazione di un momento flettente puro (Buckley et al., 2009). Il carico eccentrico induce infatti sì una compressione, ma anche una flessione come effetto della stessa compressione fuori asse. Le parole "assiale", o "eccentrico", sono comunque fortemente dipendenti dalla definizione del centro della vertebra. A tal proposito ci tengo a sottolineare nuovamente come la definizione di un sistema di riferimento sia di vitale importanza. Infatti la determinazione accurata e ripetibile di punti notevoli nel provino è possibile solamente se anche un sistema di riferimento è stato definito. Per questa parte si rimanda comunque al paragrafo 1.3 per una sua descrizione bibliografica e al Capitolo 2 per uno suo sviluppo più approfondito.

Come descritto precedentemente, le tipologie di provini utilizzate sono strettamente correlate con le tipologie di prove meccaniche e di caratterizzazioni che si vogliono fare.

Il primo approccio che si può avere con delle vertebre, che è anche il più semplice, lo si ha quando si lavora con una singola vertebra per volta. Infatti, a differenza dei segmenti vertebrali che possono lavorare in condizioni di carico assai più fisiologiche, lavorando con vertebre singole si ha la non trascurabile possibilità di poter concentrare la propria attenzione, grazie appunto alla grande

semplificazione dello scenario di lavoro, esclusivamente sulle proprietà strutturali del corpo vertebrale stesso. Come già detto precedentemente, particolare attenzione viene rivolta alla preparazione delle vertebre singole. Infatti, in letteratura, quando si testano singole vertebre, tutti i tessuti molli circostanti (specialmente i dischi intervertebrali) vengono rimossi. In questi casi, quindi, le configurazioni di carico vengono applicate direttamente agli *endplate* che solitamente si trovano incorporati in PMMA (polimetilmetacrilato) in maniera da poter afferrare meglio il provino durante le prove.

In alcuni studi, gli autori posizionavano della gomma rigida tra gli *endplate* e le piastre della macchina di prova in maniera da simulare la presenza dei dischi intervertebrali precedentemente rimossi (Cheng *et al.*, 1997; Mirzaei *et al.*, 2009). In altri studi, invece, parte dei dischi adiacenti venivano volutamente lasciati in modo che rimanessero frapposti tra gli *endplate* e le piastre della macchina di prova (McCubbrey *et al.*, 1995). In altri studi ancora, invece, si provavano ad utilizzare direttamente delle piastre di PE (polietilene) (Lochmüller *et al.*, 1998). Tuttavia non è ben chiaro come il materiale posto a sostituire i dischi abbia influenzato i risultati ottenuti.

Quando si lavora con dei segmenti di vertebre, invece, gli obiettivi di analisi cambiano e di conseguenza anche le metodologie di prova. Sono stati infatti sviluppati vari approcci per studiare le relazioni tra il movimento e i carichi risultanti nella colonna vertebrale (Panjabi *et al.*, 1981; Schendel *et al.*, 1993; Panjabi *et al.*, 1994; Shea *et al.*, 1995; Wachowski *et al.*, 2009). In (Panjabi *et al.*, 2000) si era, per esempio, sottoposto a flessione (lungo diversi assi di rotazione) campioni costituiti da ben cinque vertebre adiacenti allo scopo di misurarne le forze e i momenti risultanti. Spesso si erano anche usati sistemi ottici per la tracciatura *in vitro* dei movimenti delle vertebre (Busscher *et al.*, 2009; Hitchon *et al.*, 2009; Al-Rawahi *et al.*, 2010). In uno studio (Ilharreborde *et al.*, 2010), un sistema ottico era stato usato in combinazione con un simulatore numerico per le colonne vertebrale al fine di analizzare segmenti di più vertebre. In generale, comunque, le configurazioni di carico più usate nelle simulazioni *in vitro* sono la compressione assiale e la flessione-estensione. In queste condizioni di carico, e in condizioni di rottura, è interessante andare a misurare le deformazioni. Lo strumento più usato per questo tipo di indagine superficiale è l'estensimetro. In

CAPITOLO 1

particolare, gli estensimetri triassiali consentono la misura sia delle deformazioni principali che delle loro direzioni.

Le distribuzioni superficiali di deformazione sono state studiate a lungo su ossa lunghe, soprattutto per quanto riguarda i femori (Cristofolini *et al.*, 2009), mentre per quello che riguarda le vertebre sono stati condotti molti meno studi (Shah *et al.*, 1978). In generale, però, si è osservato che quando si eseguono dei test su segmenti di tre vertebre sottoposte a compressioni aventi anche una componente di flessione, le deformazioni maggiori si registrano alla base dei peduncoli. Tagliando infatti questi ultimi, si ottiene sia una riduzione significativa delle deformazioni alla loro base, ma anche si riscontrano delle differenze significative per quello che riguarda le deformazioni sul corpo vertebrale (Hongo *et al.*, 1999). A tal proposito, è stato sviluppato da Brandolini (Cristofolini *et al.*, *in press*) un protocollo sperimentale per la misura delle deformazioni superficiali del corpo vertebrale. Oltre al protocollo sperimentale, Brandolini ha anche creato un *setup* che consente di indagare il *range* fisiologico delle direzioni di carico grazie al fatto che si riescono a creare differenti configurazioni di carico. In particolare, tengo a segnalare che per le mie prove *in vitro* ho fatto riferimento al suo protocollo sperimentale andando ad utilizzare anche il *setup* da lui preparato.

CAPITOLO 2

ALLINEAMENTO VERTEBRE

2.1 Obiettivi

Uno dei principali obiettivi di questa tesi di laurea è stata la definizione di un sistema di riferimento anatomico per vertebre umane per prove *in vitro*. Le caratteristiche ricercate sono state:

- Adattabilità a differenti tipologie di vertebre (cervicali, toraciche e lombari).
- Applicabilità a provini costituiti sia da una che più vertebre.
- Ripetibilità sia per un singolo operatore che per più operatori diversi.

2.2 Materiali e Metodi

In questo sotto capitolo andrò ad illustrare nelle specifico le operazioni che ho fatto per allineare il provino.

2.2.1. *Provini utilizzati*

Per il mio lavoro ho utilizzato dei segmenti di 3 vertebre che, per semplicità, d'ora in poi chiamerò triplete. Nonostante si parli di 3 vertebre, ho rivolto sempre e comunque l'intera attenzione alla sola vertebra centrale del segmento utilizzato. Le due vertebre adiacenti, infatti, sono state tenute essenzialmente per due motivi:

- Consentire la presenza dei dischi intervertebrali.
- Garantire un afferraggio solido.

La presenza dei dischi si è resa infatti necessaria dal momento che durante le prove sperimentali ho voluto far arrivare sulla vertebra centrale un carico quanto più possibile vicino a quello fisiologico.

I provini che ho utilizzato sono elencati nella tabella che segue (Tabella 2.1).

RIF LTM	Specimen ID	Donor's details					Tissue preservation
		Gender	Age at death (year)	Height (cm)	Weight (kg)	Cause of death	
#4021	L5	M	88	180	77	Congestive heart failure	Fresh-frozen
#4024	T9	M	70	168	86	Cardiac dysrhythmia	Fresh-frozen
#4024	T7	M	70	168	86	Cardiac dysrhythmia	Fresh-frozen
#4024	T5	M	70	168	86	Cardiac dysrhythmia	Fresh-frozen

Tabella 2.1 : Tabella dei provini utilizzati per l'allineamento.

2.2.2. Preparazione del provino

Seppur questa parte possa apparire di secondaria importanza rispetto alla parte di allineamento vero e proprio, questa attività assume invece una forte rilevanza a causa della non trascurabile necessità di avere la maggior visibilità possibile sia del corpo vertebrale della vertebra da allineare sia delle sue caratteristiche anatomiche affinché queste possano essere facilmente riconoscibili, facilitando quello che dovrà essere l'allineamento vero e proprio. La procedura di preparazione del provino si articola in:

- Pulizia della superficie ossea.
- Rimozione dei processi posteriori.
- (OPZIONALE) Foratura della vertebra superiore per creare una zona di ancoraggio durante la colata.
- Preparazione dell'afferraggio sul processo posteriore.
- Afferraggio nella morsa a 3 gdl (gradi di libertà).

Il primo passo fatto è stato quello di un'accurata pulizia del provino. Infatti, per riuscire ad allineare meglio il provino, la superficie dell'osso deve essere la più pulita possibile e, per fare questo, bisogna rimuovere tutti i tessuti molli che la ricoprono, fatta eccezione per i dischi intervertebrali. Anche questi, però, devono essere puliti attentamente fino a che sia possibile percepire con la palpazione i confini del corpo vertebrale. Fondamentale in questa fase è anche la pulizia delle cavità presenti tra il corpo vertebrale e i processi posteriori poiché una delle fasi di allineamento andrà ad utilizzare proprio queste cavità.

Una volta terminata un'accurata pulizia del provino, ho poi proceduto a rimuovere i processi posteriori delle due vertebre adiacenti visto che questi non solo non

sono utilizzati durante l'allineamento, ma addirittura limitano una chiara visione del processo posteriore centrale e del corpo vertebrale posteriore (Fig. 2.1).



Fig. 2.1 : Rimozione dei processi posteriori di vertebre adiacenti.

Finita questa fase preparatoria, ho praticato dei piccoli fori sulla superficie della vertebra più craniale di tutto il provino. Questi fori non sono un passaggio opzionale proprio perché hanno lo scopo di aiutare l'ancoraggio tra la superficie ossea della vertebra e quella del *pot* che si andrà a fare più avanti. Più nello specifico ho utilizzato una punta da trapano (avente un diametro compreso tra 3.5mm e 2mm) per fare quattro fori. Ho poi riempito questi buchi utilizzando del PMMA (polimetilmetacrilato), facendo attenzione di lasciare che da questi fori fuoriescano delle punte di cemento per un'altezza di un centimetro circa (una sorta di punta a forma di “meringa”). Queste sporgenze mi sono servite per migliorare l'ancoraggio tra l'osso e il PMMA che ho versato successivamente per fare il *pot*.

Il penultimo passo che ora spiego ha come obiettivo quello di andare a creare un afferraggio provvisorio per il provino. Questo afferraggio, infatti, verrà utilizzato solamente nella fase di allineamento mentre per la parte di prove meccaniche si utilizzerà qualcosa di diverso (Vedi Capitolo 3). In questo punto è richiesta particolare attenzione proprio perché esiste il rischio che il provino possa poi muoversi in fase di allineamento vanificando, così, tutti gli allineamenti in corso d'opera. Per creare l'afferraggio ho quindi cominciato con il pulire nuovamente con estrema cura la parte terminale del processo posteriore della vertebra centrale fino a che tutti gli eventuali residui di tessuto molle non siano stati accuratamente

CAPITOLO 2

rimossi. Ho poi scelto un profilato di alluminio la cui forma si avvicinasse il più possibile alla forma “avvolgente” che dovrà avere una volta posto sul processo posteriore e aiutandomi manualmente a plasmarla sulla forma desiderata.

Una volta data la forma voluta al profilato di alluminio, ho praticato due fori sulla parte del processo posteriore a cui il profilato andrà ad aderire. Questi fori (del diametro di 3.5mm-2mm) hanno lo scopo di consentire una buona presa del PMMA sull'osso. Fatti i due fori ho posizionato il profilato sul processo posteriore e, tramite l'ausilio di nastro adesivo e/o plastilina, ho chiuso tutti gli spazi rimasti aperti ad eccezione del solo lato posteriore dal quale sono andato invece a versare il PMMA (Fig. 2.2J). Una volta che il PMMA si è solidificato, si può afferrare il provino nella morsa a tre gdi (Fig. 2.3). Al fine di minimizzare la possibilità che il profilo di alluminio possa in qualche maniera tagliare l'osso sottostante, afferrare il profilato nella parte più lontana dal corpo vertebrale.



Fig. 2.2 : Colata di PMMA nel profilo di alluminio posto sul processo posteriore in modo da avere un miglior afferraggio del provino. Durante questa operazione ho utilizzato sia un altro provino di alluminio, sia della plastilina per mantenere nella corretta posizione il profilo di alluminio durante la colata..



Fig. 2.3 : L'afferraggio del provino nella morsa a 3 gdi fatto in modo da migliorare il trasferimento del carico.

2.2.3. *Definizione del Sistema di Riferimento*

Si è ora arrivati nella vera e propria procedura di allineamento. Da qui in poi verranno illustrate passo passo quelle che sono state le tecniche utilizzate per conseguire questo importante obiettivo.

Lo spunto per la definizione del sistema di riferimento è stato preso da quanto presente già in letteratura. In particolare ho visto che, in letteratura (Panjabi *et al.*, 1992), usa quattro punti nella cavità vertebrale per la definizione del suo sistema di riferimento. Con lo stesso obiettivo altri autori (Hongo *et al.*, 1999; Frei *et al.*, 2002) utilizzano gli *endplate* in maniera però abbastanza vaga. Partendo da questo, come gruppo di lavoro abbiamo scelto di utilizzare solamente i due punti più craniali, rispetto ai quattro proposti da Panjabi, unitamente però agli *endplate* per motivi che risulteranno chiari durante la spiegazione dell'allineamento vero e proprio.

In particolare, nel lavoro proposto da Panjabi (Panjabi *et al.*, 1992) il piano frontale era stato definito come quel piano che meglio interpolava, ai minimi quadrati, i quattro punti; l'origine del sistema di riferimento era coincidente con il centroide dell'*endplate* superiore; il primo asse veniva definito come l'asse ortogonale al piano frontale, il secondo asse come l'asse parallelo ai due punti craniali definiti e rivolto verso sinistra rispetto alla vertebra mentre il terzo asse come l'asse ortogonale al piano definito dal primo e secondo asse. In riferimento a questi assi si sono definite anche le rotazioni. La rotazione rispetto al primo asse è chiamata "rotazione laterale", la rotazione rispetto al secondo asse "flesso-estensione" e la rotazione rispetto al terzo asse invece "rotazione assiale" (Fig. 2.4). Per dare continuità a quanto già esistente abbiamo voluto utilizzare gli stessi nomi sia per gli assi che per le rotazioni.

Quello che, pertanto, abbiamo fatto è stato costruire un sistema di riferimento che fosse il più robusto possibile per quanto riguarda la definizione dei punti di riferimento così da rendere ripetibile tale procedura anche tra operatori diversi. Come tale sistema di riferimento viene definito operativamente risulterà chiaro nei prossimi passi.

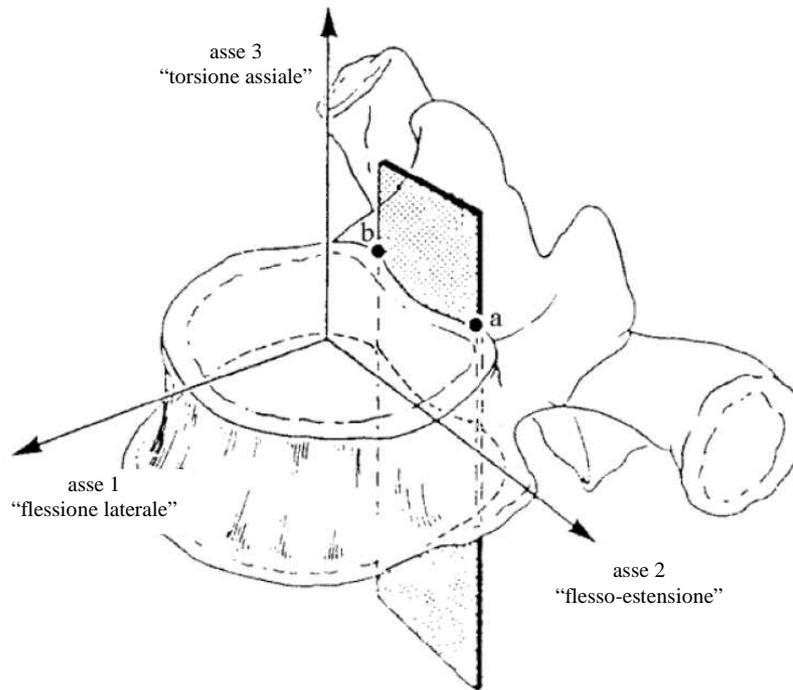


Fig. 2.4 : Sistema di assi del sistema della vertebra definito dagli *endplate* e dalla cavità vertebrale.

2.2.4. Procedura per l'allineamento

Per illustrare questa importante fase, fulcro dell'intero capitolo, si elencheranno brevemente le fasi che si sono fatte per poi approfondire in seguito ciascuno di essi:

- Allineamento grossolano.
- Allineamento fine della "flessione laterale".
- Allineamento fine della "flesso-estensione".
- Allineamento fine della "torsione assiale".
- Controllo dell'allineamento globale.

Prima di cominciare ricordo che la situazione da cui stiamo partendo è quella in cui il nostro provino è stato preparato secondo quanto descritto nel paragrafo 2.2.1. Infatti, da qui in poi, userò come riferimento globale per l'allineamento della vertebra il tavolo d'acciaio sul quale è posizionata la morsa a 3 gdl. L'allineamento qui descritto è stato fatto esclusivamente rispetto alla vertebra centrale della tripletta. Questa scelta è dovuta sia dal fatto che spesso le altre vertebre non sono intere, sia dal mio obiettivo finale che è quello di voler caratterizzare solamente il corpo vertebrale centrale. In questa fase, inoltre, ogni volta che ho cercato di correggere la posizione della vertebra ho agito solamente sul braccio a 3 gdl facendo particolare attenzione a non toccare il provino che, seppur afferrato saldamente, avrebbe potuto anche muoversi. All'inizio ho

compiuto un primo allineamento grossolano ad occhio. In particolare, in questa fase, ho cercato sia di posizionare gli *endplate* in maniera più orizzontale possibile, sia di allineare il bordo della parte posteriore del corpo vertebrale parallelamente con il bordo del nostro tavolo di acciaio. Fatto ciò ho cominciato con la parte di allineamento fine vera a propria per ognuna delle tre rotazioni possibili. Il primo allineamento è stato quello della rotazione laterale. In questa prima e delicata fase ho utilizzato due particolari righelli costruiti ad hoc che sono stati inseriti in una delle tre squadre di acciaio Inox con cappello. Infatti i due righelli montati sulla squadra più grande (dimensione 41.3x4.8x1.1 cm circa) vanno a formare due linee orizzontali che serviranno quindi per allineare i due *endplate*: posizionando la squadra in maniera da riuscire a traguardare gli *endplate* frontalmente, ho allineato i due *endplate* alle linee formate dai due righelli. Quando il lato sinistro e il lato destro degli *endplate* erano arrivati alla stessa altezza, abbiamo ritenuto conclusa questa fase e ci siamo apprestati a proseguire con la successiva fase di allineamento fine. Il secondo allineamento era volto a correggere la flessione-estensione. Similmente a quanto fatto per la rotazione laterale, anche qui ho utilizzato i due righelli fatti ad hoc montati sulla squadra di acciaio Inox. Quello che è cambiato è stato solamente da quale lato siamo andati a traguardare per allineare gli *endplate*. Infatti le squadre sono state posizionate su entrambi i punti di vista laterali della vertebra e, correggendo passo passo l'allineamento, mi sono ritenuto soddisfatto solamente quando il lato anteriore e posteriore degli *endplate* sono stati alla stessa altezza. Finito anche questo secondo allineamento, ho proceduto a correggere la rotazione assiale. Per questa fase ho utilizzato una seconda squadra di acciaio Inox di medie dimensioni (dimensione 15.6x2.5x0.6 cm circa) sulla cui sommità ho incollato un vetrino di plastica come mostrato nelle immagini (Fig.2.5). Ho poi posizionato tale squadra in modo che la parte terminale del vetrino fosse vicina al lato posteriore del corpo vertebrale, sufficiente affinché sia il vetrino sia il corpo vertebrale possano essere visti traguardando ortogonalmente al piano trasverso della vertebra (Fig.2.5).

Come passo successivo ho utilizzato la squadra di acciaio Inox piccola (dimensione 8.0x1.8x0.5 cm circa) per allineare quella di dimensioni medie con il bordo del tavolo d'acciaio (Fig. 2.5). Così facendo ho ottenuto che il bordo del vetrino avesse la stessa orientazione del bordo del tavolo d'acciaio e potesse

essere utilizzata per allineare il provino. Poi ho ruotato il provino finché il lato posteriore del corpo vertebrale avesse la stessa orientazione del bordo del vetrino di plastica, perfezionando la posizione fino a quando il lato posteriore del corpo vertebrale avesse la stessa orientazione del bordo del vetrino e, quindi, del bordo del tavolo d'acciaio. Con questa fase si sarebbe anche potuta ritenere conclusa la procedura di allineamento, se non fosse stato per la intrinseca dipendenza delle tre orientazioni. Questo, infatti, significa che, finito un primo giro di allineamento fine di ognuna delle tre rotazioni, ho dovuto rifare un controllo generale circa l'allineamento delle rotazione laterale e flessione-estensione. È per questo che ho ripercorso i passi i passi descritti nelle fasi di riallineamento fine facendo, dove necessario, le opportune correzioni di allineamento agendo sempre sul braccio a 3 gdl. Infatti ho ritenuto concluso l'allineamento solo dopo aver ricontrollato almeno due volte tutte le rotazioni ed aver raggiunto una tolleranza accettabile.



Fig. 2.5: Utilizzo delle squadre di acciaio Inox per ottenere il corretto allineamento della torsione assiale. Da sinistra a destra troviamo rispettivamente la vista frontale, la vista dall'alto e la vista laterale.

2.2.5. Preparazione dei riferimenti per l'applicazione degli estensimetri

Nell'ultima parte di questo capitolo, intendo dare le ultime indicazioni per la preparazione del provino prima della sua strumentazione vera e propria. Ovviamente, è necessario un provino già allineato.

Gli ultimi due passi sono:

- Tracciamento della linea di mezzeria sul corpo vertebrale.
- Creazione del *pot* sulla vertebra craniale.

Per tracciare la linea di mezzeria sul corpo vertebrale intendiamo il tracciamento di quella linea che corre parallelamente alla superficie di appoggio e divide il corpo vertebrale della vertebra centrale in due parti uguali. Tramite il truschino ho effettuato almeno tre misure dell'ampiezza del corpo vertebrale in tre differenti

CAPITOLO 2

punti (es: una frontale e due laterali) del corpo vertebrale. Trovata poi la metà di tale ampiezza ho utilizzato lo stesso truschino per tracciare una linea sul corpo vertebrale. Questa linea mi è servita successivamente come traccia lungo la quale posizionare gli estensimetri.

Quanto spiegherò ora è finalizzato alla creazione di un afferraggio del provino per quando lo dovrò posizionare nella macchina di prova. La creazione del *pot* sulla vertebra craniale del provino ha richiesto un po' più di attenzione rispetto al tracciamento della linea di mezzeria descritta poc'anzi. Infatti, per cementare la vertebra craniale è necessario ruotare il provino di 180°, in maniera da mettere il provino sotto-sopra. Questo perché la cementata della vertebra l'ho fatta a partire dalla superficie di appoggio sul nostro tavolo. Ho preso pertanto il *pot* da utilizzare, ne ho avvitato i grani e l'ho posizionato in maniera concorde con il sistema di riferimento globale sotto alla tripletta cercando di centrare il COM (centro di massa) del corpo vertebrale allineato con il centro del *pot* stesso. Tramite il braccio 3 gdl ho poi abbassato il provino dentro al *pot* senza farlo toccare e facendo in modo che riguardando l'osso risulti essere almeno 2 mm sotto il bordo del *pot*. Fatto questo ho preparato il PMMA (polimetilmetacrilato) e, versatolo nel *pot*, ho aspettato che si indurisse prima di svitare i grani ed estrarre la tripletta con la base cementata.

Finiti anche questi passi il provino potrà considerarsi allineato e lo si può togliere dal braccio a 3 gdl. Infatti, qualora volessimo ricostruire lo stesso allineamento a cui eravamo giunti precedentemente, basterà riafferrare il provino e riallinearlo cercando di posizionare solamente la linea di mezzeria alla stessa altezza rispetto alla superficie di appoggio per riottenere la rotazione laterale e la flessione-estensione, mentre si possono usare i bordi del cemento sulla vertebra craniale per riallineare la rotazione assiale.

2.3 Risultati

Per valutare la ripetibilità intra- ed extra-operatore ho reclutato cinque operatori (me compreso). Assieme a loro abbiamo applicato la procedura descritta in questo capitolo per allineare 3 volte ciascuno 4 triplette di origine toracica e lombare (Tabella 2.1). Per ogni allineamento sono stati poi misurati, da uno stesso operatore, i tre angoli di rotazione facendo attenzione ad utilizzare per tutti quanti le stesse superfici di appoggio presenti sia sul tavolo d'acciaio sia sul sostegno del braccio a 3 gdl. Fatto ciò ho calcolato per ogni operatore il valore medio e la deviazione standard ottenuta per ogni angolo dai tre allineamenti fatti in ogni singolo provino. È partendo da questi valori che poi ho ricavato i risultati che seguono.

Per valutare la ripetibilità intra-operatore ho guardato la deviazione standard dopo i tre allineamenti di ogni operatore e per ognuno dei tre angoli in gioco. Questa operazione l'ho ripetuta quindi per tutti gli operatori e per tutti i provini. Tutti questi valori li ho riportati nel grafico che segue (Fig.2.6).

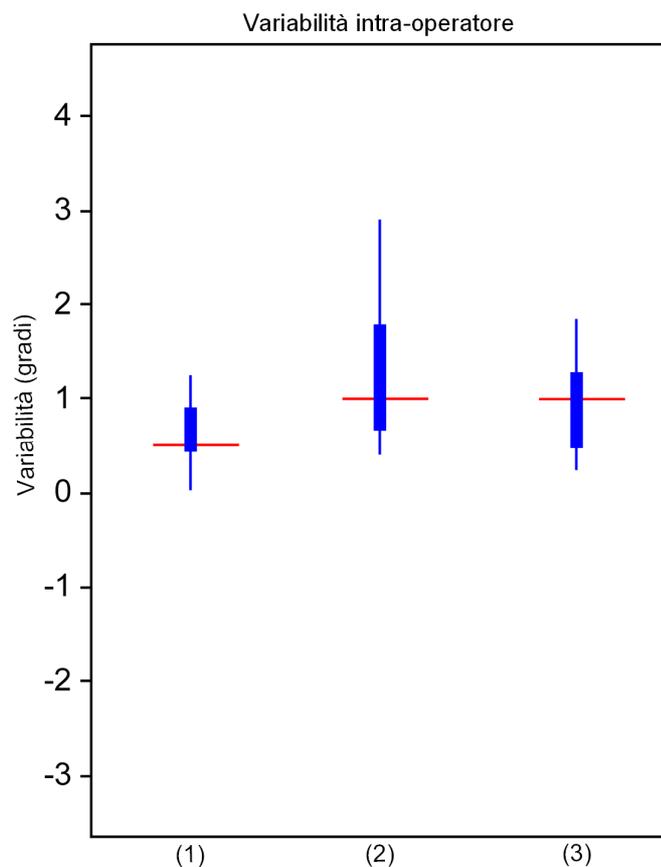


Fig. 2.6 : Ripetibilità intra-operatore per: (1) flessione laterale; (2) flesso-estensione; (3) torsione assiale. Sono riportati in rosso la mediana, con una linea verticale blu spessa la banda che va dal 25-esimo al 75-esimo percentile e con una linea verticale blu sottile i dati estremi di quei valori non ancora considerati *outlier*.

CAPITOLO 2

Per la ripetibilità inter-operatore, invece, ho fatto una operazione che mi ha consentito di confrontare le misure fatte dai vari operatori grazie all'eliminazione di quella sorta di *offset* inevitabilmente presente quando ho afferrato il provino nel braccio a 3 gdl senza seguire particolari istruzioni di pre-allineamento. In particolare, per ognuno dei tre angoli misurati, e per ognuno dei quattro provini, ho calcolato la media di tutte le medie (quelle calcolate rispetto ai tre allineamenti per ogni operatore) dei cinque operatori. Questo valore è stato preso come riferimento ed è stato poi sottratto al valore medio di ogni operatore. Questi valori li ho riportati nel grafico che segue (Fig. 2.7).

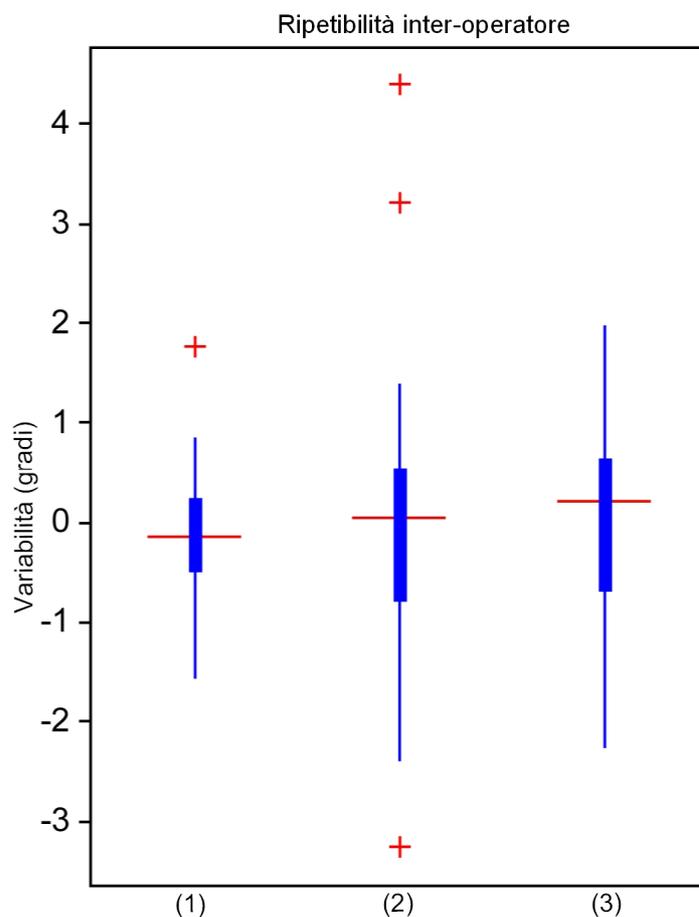


Fig.2.7 : Ripetibilità inter-operatore per: (1) flessione laterale; (2) flesso-estensione; (3) torsione assiale, in gradi. Sono riportati in rosso la mediana, con una linea verticale blu spessa la banda che va dal 25-esimo al 75-esimo percentile, con una linea verticale blu sottile i dati estremi di quei valori non ancora considerati *outlier* e, infine, con delle croci rosse gli *outlier* presenti.

2.4 Discussione

Dai grafici riportati è possibile osservare come in entrambi i casi la flessione laterale sia la rotazione maggiormente ripetibile sia inter- che intra-operatore mentre la flessione-estensione e la torsione assiale lo siano, invece, di meno. Voglio sottolineare la difficoltà che ci si trova a incontrare qualora si cercasse di sviluppare una metodologia per migliorare le rotazioni meno ripetibili senza perdere i risultati ottenuti in quelle più ripetibili proprio a causa dell'intrinseca dipendenza che queste hanno le une sulle altre. A parte questo, con la procedura di allineamento ho ottenuto che nel caso peggiore, quello della ripetibilità inter-operatore, tutti gli angoli sono comparabili all'interno dei ± 2 gradi ad eccezione di alcuni *outlier* (da imputarsi sia ad una fase iniziale di apprendimento della tecnica, sia alla differente esperienza degli operatori). Nel caso migliore, quello della ripetibilità intra-operatore, sulla flessione laterale ho ottenuto invece un intervallo di 1 grado al massimo.

Questi valori ottenuti sembrano evidenziare come gli errori commessi dipendano soprattutto da una incerta definizione dei punti caratteristici del corpo vertebrale sia a causa delle dimensioni stesse del provino (una vertebra toracica infatti è molto più problematica da gestire rispetto ad una vertebra lombare proprio a causa delle sue dimensioni ridotte), sia a causa delle differenze anatomiche intrinsecamente presenti tra soggetti diversi, sia a causa della presenza più o meno estesa di osteofiti e sia a causa della scarsa visibilità di alcune vertebre per la loro stessa forma o per la presenza di tessuti molli residui. Questi fattori, come per esempio la scarsa visibilità dell'osso e la variabilità di forma intrinseca (soprattutto a causa degli osteofiti presenti), sono anche responsabili degli errori di misura più generali che affliggono questi risultati. Ciononostante i risultati ottenuti si possono considerare comunque buoni. Infatti ho visto che anche i valori di ripetibilità inter-operatore; contenuti in un articolo studiante tre metodi di allineamento per femore (Conti *et al*, 2008); hanno una variabilità massima di ± 2 gradi. Questo dà infatti maggior rilevanza ai miei risultati perché si ottenuti della stessa entità, però lavorando con provini mediamente dieci volte più piccoli. Inoltre, visto che stiamo parlando di ± 2 gradi, posso ritenermi abbastanza al sicuro anche rispetto ai valori misurati. Infatti in uno studio (Öhman *et al*, 2007) ho trovato che il modulo di Young e la tensione di rottura di un provino di osso trabecolare si riducono del 40% quando si commette un errore di disallineamento

CAPITOLO 2

di 20° rispetto alla direzione trabecolare principale e, nel nostro caso, siamo abbastanza sicuri di essere lontani da un tale disallineamento critico.

CAPITOLO 3

PROVE IN VITRO

3.1 Obiettivi

In questo capitolo verranno illustrati i metodi che ci hanno consentito di ottenere una caratterizzazione *in vitro* dei provini allineati e preparati secondo la procedura del Capitolo 2. In particolare i provini sono stati testati in ben otto diverse configurazioni di carico in modo da poter esplorare al meglio il campo di sollecitazione delle vertebre.

In particolare i risultati ottenuti da questo lavoro hanno consentito di conoscere la risposta delle vertebre a ben otto diversi carichi. Inoltre, questi risultati avranno ricadute sia in ambito di ricerca (migliore comprensione della biomeccanica delle vertebre; integrazione tra misure sperimentali e modellazione numerica), che clinica (comprensione dei meccanismi di frattura e di patologie come l'osteoporosi), che applicativo (miglior comprensione delle tecniche di *augmentation* rispetto alle terapie conservative).

3.2 Materiali e Metodi

Questo studio si basa su un precedente lavoro di Nicola Brandolini (Brandolini, 2009).

3.2.1. *Provini utilizzati*

In questo studio ho testato 4 provini, ciascuno costituito da una tripletta di vertebre (Fig. 3.1). Nonostante abbia utilizzato delle triplete, lo studio si è focalizzato esclusivamente su quella centrale del segmento utilizzato. Le due vertebre adiacenti, infatti, sono state tenute essenzialmente per due motivi:

- Consentire la presenza dei dischi intervertebrali in modo da sollecitare la vertebra centrale nel rispetto della fisiologia.

- Garantire un afferraggio solido.

Dettagli e caratteristiche dei donatori sono elencati nella tabella che segue (Tabella 3.1).

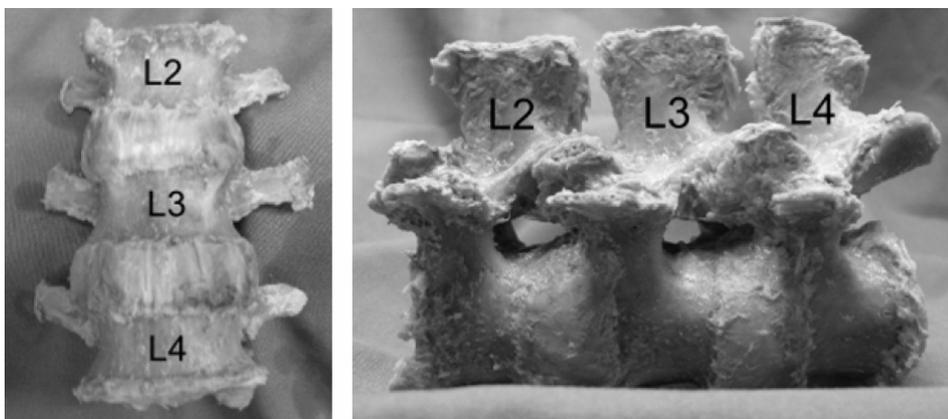


Fig. 3.1 : Esempio di tripletta utilizzata ottenuta da un provino umano successivamente alla rimozione dei tessuti molli. Rispettivamente , vista anteriore e laterale sinistra.

RIF LTM	ID Provino	Dettagli Donatore					Conservazione
		Sesso	Età alla morte (anni)	Altezza (cm)	Peso (kg)	Causa di morte	
#4021	L3	M	88	180	77	Insufficienza cardiaca congestizia	Congelato
#4024	L3	M	70	168	86	Aritmia cardiaca	Congelato
#4024	T7	M	70	168	86	Aritmia cardiaca	Congelato
#4024	T9	M	70	168	86	Aritmia cardiaca	Congelato

Tabella 3.1 : Tabella dei provini utilizzati per l'allineamento.

3.2.2. Scelta delle configurazioni di carico

Per decidere quali configurazioni di carico imporre ai provini, Brandolini ha elaborato i dati di forza e momento ottenuti tramite una protesi telemetrica di corpo vertebrale (VBR) (Rohlmann et al., 2007) impiantata su tre pazienti in seguito ad una frattura della vertebra L1. I dati di forza e momento sono disponibili *on-line* su <http://www.orthoload.com/>. Tali pazienti sono stati sottoposti a determinati atti motori ispirati al quotidiano, quali:

- Alzata da sedia.
- Elevazione delle braccia a 90° da posizione seduta.
- Trazione di un elastico alla spalliera da posizione seduta.
- Estensione del tronco da posizione seduta.
- Estensione delle braccia a 90° da posizione eretta.
- Flessione anteriore del tronco da posizione eretta.
- Flessione laterale del tronco da posizione eretta.

- Salita sulle scale.
- Cammino.
- Elevazione delle pelvi da posizione supina.

Per comodità di trattazione, questi compiti motori sono stati divisi in due gruppi: simmetrici e asimmetrici. Quindi i dati così elaborati hanno consentito a Brandolini di stimare due coni (Fig. 3.1) relativi alle direzioni delle massime forze misurate durante l'esecuzione dei compiti elencati. In particolare i risultati mostrano come il cono dei compiti simmetrici spazi in due direzioni (anteriore e posteriore) a $\pm 13^\circ$ mentre per i compiti asimmetrici si hanno invece due coni inclinati lateralmente di $\pm 12^\circ$ con una apertura trascurabile di 4° .

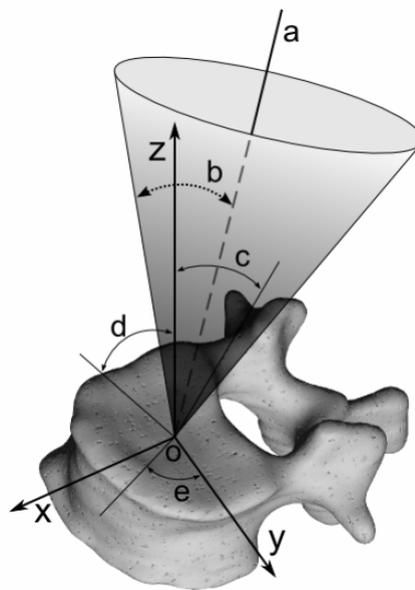


Fig. 3.2 : Illustrazione del cono di forze dove si vedono: (x) direzione antero-posteriore; (y) direzione medio-laterale; (z) direzione cranio-caudale; (O) origine del sistema di riferimento; (a) direzione media dei massimi delle forze; (b) semiangolo al vertice del cono; (c) angolo fra la proiezione della direzione media sul piano xy e l'asse y; (d) angolo fra la proiezione della direzione media sul piano yz e l'asse z; (e) angolo fra la proiezione della direzione media sul piano xz e l'asse x;

Le direzioni delle forze sono state utili per poter definire le configurazioni di carico per le prove sperimentali. Ovviamente, data la bassa numerosità dei dati disponibili, essi forniscono solo un'indicazione di quella che può essere la realtà fisiologica. Inoltre, si tratta di misurazioni effettuate su pazienti in un breve periodo postoperatorio, successivamente ad un trauma rilevante. Tenendo conto di questi fattori erano state fatte una serie di approssimazioni. È stato supposto che ai compiti simmetrici corrispondessero solo forze orientate in direzione antero-posteriore, con componenti in direzione medio-laterale nulle. Viceversa, per i compiti asimmetrici si è supposta la presenza di sole componenti in direzione medio-laterale e nulle sul piano ortogonale ad essa.

Per le approssimazioni fatte, è stato deciso di analizzare un unico cono, allineato con la verticale, con un'apertura di 15°. Al fine di aumentare la completezza degli scenari di carico sono state aggiunte altre due configurazioni. Sono state quindi effettuate sei serie di prove, con il provino nelle seguenti configurazioni:

- Inclinazione di 15° in direzione anteriore (ANT_15).
- Inclinazione di 15° in direzione posteriore (POST_15).
- Inclinazione di 15° in direzione laterale sinistra (LEFT_15).
- Inclinazione di 15° in direzione laterale destra (RIGHT_15).
- Provino allineato assialmente. Compressione assiale (AX-COMP).
- Provino allineato assialmente. Trazione assiale (AX-TRACT).

A queste configurazioni sono state considerate anche altre due configurazioni che, pur essendo di tipo para-fisiologico, ci hanno consentito di creare uno scenario di prova maggiormente completo. Le configurazioni aggiunte sono:

- Provino allineato con la verticale. Torsione destra (TORS-CW).
- Provino allineato con la verticale. Torsione sinistra (TORS-CCW).

Per semplicità di spiegazione chiameremo “Prove in Configurazione a 15°” le prime quattro prove, mentre le ultime quattro verranno chiamate “Prove in Configurazione a 0°”.

Per ognuna di queste otto configurazioni, sono state effettuate sei ripetizioni. La scelta del numero di ripetizioni è tra i fattori che influenzano maggiormente la significatività dei risultati, ma l'esperienza accumulata dal laboratorio mostra che la scelta di sei ripetizioni è una scelta ottimale.

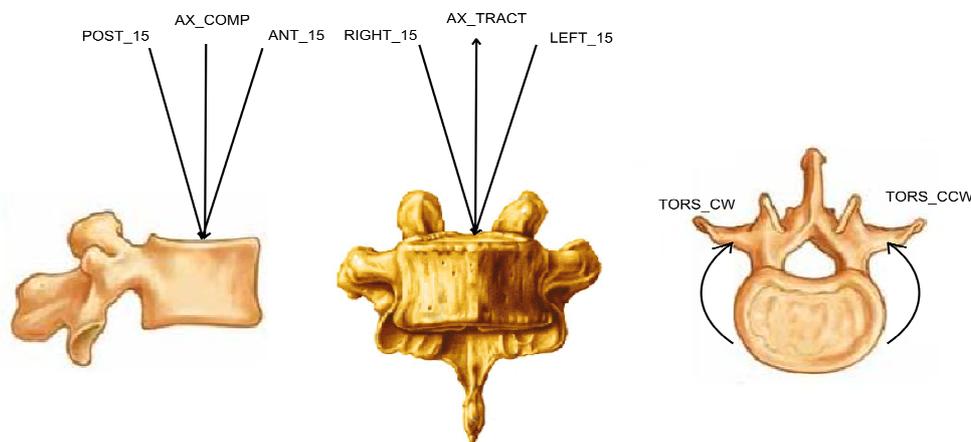


Fig. 3.3 : Configurazioni di carico applicate. Rispettivamente, vista laterale destra, vista frontale e vista superiore.

3.2.3. Applicazione degli estensimetri

Data la complessità delle deformazioni che si originano sulla superficie ossea si è scelto di utilizzare rosette triassiali e resistenza nominale di $120\ \Omega$ (FRA-1-11-3L, TML Tokyo Sokki Kenkyujo, Tokio, Japan). Diversi sono i fattori che influenzano la scelta della dimensione della griglia. Il più importante è sicuramente l'andamento dei gradienti di deformazioni che si vogliono misurare. L'irregolarità geometrica delle vertebre può essere fonte di variazioni importanti fra punti piuttosto vicini. Griglie di grandi dimensioni riporterebbero quindi misure sommarie, mediando su superfici troppo ampie. Allo stesso modo griglie troppo piccole darebbero risultati inutili visto il basso rapporto segnale-rumore. La dimensione dell'estensimetro scelto dipende anche dal fatto che la superficie a disposizione è piuttosto limitata. È stato quindi necessario cercare di ridurre gli ingombri. La griglia di 1 mm rappresenta, quindi, la soluzione di compromesso per le misure di interesse (Fig. 3.4) (FRA-1-11-3L, TML Tokyo Sokki Kenkyujo, Tokio, Japan). Nell'ambito di questo protocollo, tale scelta avvantaggia anche gli altri progetti paralleli. Infatti, avere misurazioni sperimentali su superfici ridotte rende più facile la validazione dei modelli ad elementi finiti (FEM). Questo riguarda soprattutto l'accuratezza nel confronto fra i risultati ottenuti *in-vitro* e quelli ottenuti *in-silico*.

Le deformazioni acquisite sono state campionate a 5000 Hz utilizzando un *data-logger* multicanale (System 6000, Vishay-MicroMeasurements).

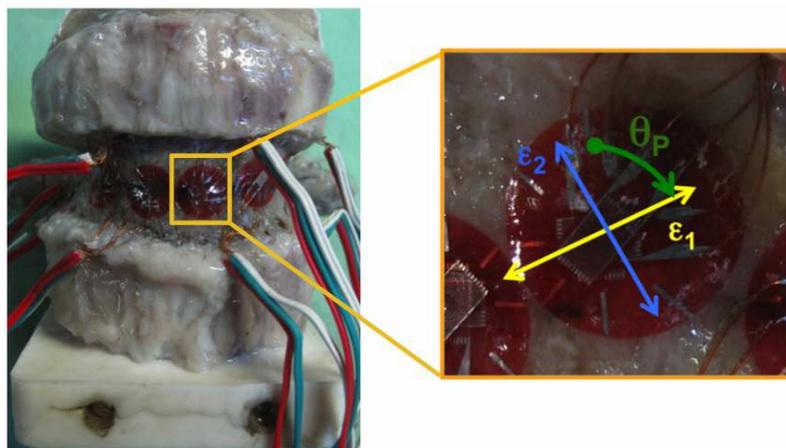


Fig. 3.4 : Immagine di un estensimetro triassiale con griglie a 45° usato per strumentare le vertebre. Vista anteriore.

Per l'applicazione degli estensimetri si è seguito un protocollo interno al laboratorio. Sono stati posizionati otto estensimetri nella parte anteriore e laterale destra e sinistra della vertebra e disposti tutti sulla linea di mezzeria del corpo

CAPITOLO 3

vertebrale centrale. La scelta di posizionare gli estensimetri solamente sulla parte anteriore e laterale della vertebra è stata fatta tenendo conto che la parte posteriore risulta estremamente.

Per decidere dove posizionare gli estensimetri, è stato pertanto necessario tracciare una linea di mezzeria sul corpo vertebrale. Per fare questo si necessita del provino già allineato e con la linea di mezzeria e il punto centrale tracciati sul corpo vertebrale. Per approfondimenti circa questi aspetti preliminari si faccia riferimento al capitolo precedente.

Per misurare la lunghezza della linea di mezzeria è necessario definire gli estremi. Questi due estremi gli ho segnati sul corpo vertebrale prendendoli sulla linea di mezzeria laddove si inseriscono i processi. Noti gli estremi ho poi misurato la lunghezza della linea di mezzeria utilizzando uno spago in modo da poter seguire senza difficoltà la superficie curva della vertebra. Su questo spago ho segnato gli estremi definiti poco prima e anche il punto centrale della vertebra che avevo definito in fase di allineamento (si veda il Capitolo 2). Segnati questi tre punti sullo spago ho considerato il più piccolo tra i due intervalli “punto medio – estremo sinistro” e “punto medio – estremo destro”. Infatti, per avere una distribuzione simmetrica degli estensimetri rispetto ad un ipotetico piano sagittale passante per il punto medio segnato sulla linea di mezzeria del corpo vertebrale, ho traslato l'estremo posteriore dell'intervallo più lungo. Ho diviso ora la nuova lunghezza sullo spago (pari a due volte la lunghezza dell'intervallo più piccolo) in otto sotto-intervalli uguali (nel caso di otto estensimetri) e ne ho marcato sullo spago il centro di ognuno di essi. Ora sarà sufficiente riappoggiare lo spago sul corpo vertebrale, facendo attenzione a far coincidere il punto medio presente sulla vertebra con quello marcato inizialmente sullo spago, per poter segnare sulla vertebra le posizioni su cui andrò a posizionare gli estensimetri.

Per l'applicazione vera e propria degli estensimetri si segue un protocollo interno al laboratorio. Le rosette vengono incollate alla superficie ossea con della colla a base di cianoacrilato specifica per estensimetri (CN adesive, TML Tokio Sokki Kenkyujo Co., LTD). Dato che gli estensimetri utilizzati non sono impermeabili, si sono applicati anche degli strati di poliuretano (PE) per impermeabilizzare i sensori. Infatti, dovendo il provino essere continuamente idratato, è indispensabile che l'acqua non venga a contatto con le griglie e i conduttori.

In totale si hanno quindi otto siti di misura, a cui corrispondono otto rosette (Fig. 3.5). A ciascun sensore viene associato un identificativo in base alla posizione in cui si trova:

- PL : posizionato in posizione *posterior* e *left* sulla vertebra.
- LL : posizionato in posizione *lateral* e *left* sulla vertebra.
- AL : posizionato in posizione *anterior* e *left* sulla vertebra.
- AAL : posizionato in posizione *anterior-anterior* e *left* sulla vertebra.
- AAR : posizionato in posizione *anterior-anterior* e *right* sulla vertebra.
- AR : posizionato in posizione *anterior* e *right* sulla vertebra.
- LR : posizionato in posizione *lateral* e *right* sulla vertebra.
- PR : posizionato in posizione *posterior* e *right* sulla vertebra.

La griglia estensimetrica a 0° viene allineata con l'asse verticale della vertebra in studio. Le posizioni assegnate risultano in questo modo essere il più possibile ripetibili.

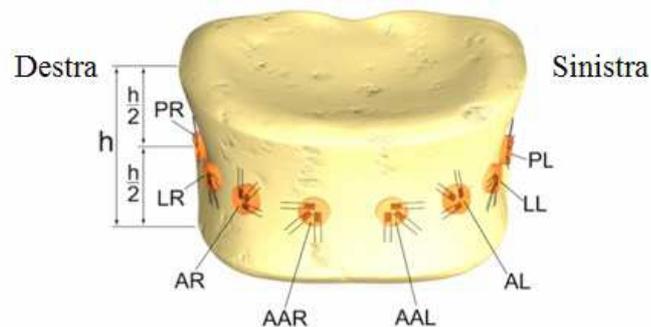


Fig. 3.5 : Disposizione degli estensimetri e loro nomenclatura sul corpo vertebrale Vista anteriore.

3.2.4. Prove sperimentali

Vado ora a illustrare quali ausili e quali approcci ho adottato per afferrare in maniera opportuna sulla macchina di prova e fissare i valori di prova dell'nostro provino.

3.2.4.1. TUNING E SETUP

Ho sottoposto il provino agli scenari di carico definiti utilizzando una macchina di prova servo idraulica biassiale (858 Mini Bionix, MTS, Minneapolis, MN, USA) (Fig. 3.6).

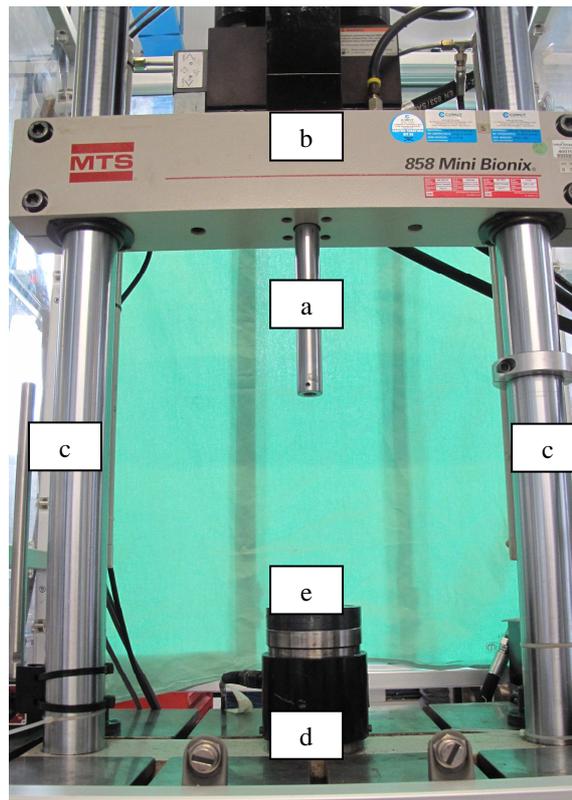


Fig. 3.6 : Macchina di prova utilizzata.

(a) Attuatore; (b) Traversa; (c) Colonna; (d) Basamento; (e) Cella biassiale della macchina.

Questa tipologia di macchine ha tipicamente delle caratteristiche comuni. La struttura portante è costituita da un basamento sul quale sono vincolate due colonne che sorreggono una traversa. Il carico viene applicato da un attuatore oleodinamico, in questo caso lo stelo di un cilindro idraulico. Tale cilindro è montato appunto sulla traversa, che ne permette il posizionamento in altezza.

Il controllo della macchina è ottenuto attraverso un sistema elettromeccanico collegato ad un computer. La retroazione sul sistema di controllo può avvenire sia in base alla posizione dell'attuatore, che al carico applicato.

Nel nostro caso le prove sono state effettuate in controllo di spostamento, cioè imponendo uno spostamento dell'attuatore ad una determinata velocità. Per

trovare lo spostamento da imporre ho fatto riferimento a due limiti che sono il carico da imporre e le deformazioni massime in gioco: 1) ho cercato di imporre come carico 1BW (Body Weight) per le prove a compressione, 0.5BW per le prove a trazione e $0.5BW \cdot 1m$ per le prove a torsione; 2) ho tenuto sotto controllo le deformazioni misurate dagli estensimetri. Infatti, noto che l'osso si rompe a $+7000$, $-10000\mu\epsilon$ (Bayraktar et al., 2004), si è deciso di porre come soglia una deformazione massima di $1000-1500\mu\epsilon$ su tutti gli estensimetri applicati. Per ottenere ciò si effettua una procedura preliminare, consolidata internamente al laboratorio, chiamata *tuning*. L'operatore impone uno spostamento dell'attuatore in controllo manuale, tenendo conto delle deformazioni misurate dagli estensimetri. Si ottiene così il valore di spostamento dell'attuatore tale da indurre una deformazione massima di $1000-1500\mu\epsilon$ su uno degli estensimetri applicati sul provino.

Nelle sei ripetizioni si va poi ad applicare al provino una rampa trapezoidale di spostamento con le seguenti caratteristiche:

- Rampa di carico, dal valore iniziale di riferimento al valore di spostamento deciso con il *tuning*. La velocità di spostamento dell'attuatore è calcolata come lo spostamento stimato (tramite il *tuning*) diviso 0.2 secondi. Questo valore di tempo è stato ottenuto guardando a quanto presente in letteratura (Cristofolini *et al.*, 2010) e tenendo sia conto che lavoriamo a bassa velocità di deformazione, sia che il nostro limite massimo di deformazione è di circa $1000\mu\epsilon$.
- Mantenimento di tale valore per 2 secondi.
- Rampa di scarico fino al valore iniziale di riferimento. Velocità di spostamento uguale a quella della rampa di salita.
- Mantenimento della posizione iniziale per 0.4 secondi.

In questa maniera si è certi di caricare il provino, senza rischiare di danneggiarlo, mantenendosi prudentemente in campo elastico.

Dato che si utilizza una macchina per prove meccaniche generiche è necessario realizzare degli apparati che le rendano "compatibili" con gli esperimenti di interesse. Tali apparati prendono il nome di *setup*. Il *setup* che ho utilizzato è stato messo a punto in modo da poter:

- Applicare il carico sia assialmente, che con un'inclinazione prefissata.
- Possibilità di variare velocemente le configurazioni di carico.

- Possibilità di allineare il provino all'interno del *setup*.
- Effettuare le misure di interesse.

Queste sono state le caratteristiche indispensabili inquisite per costruire il *setup* di cui io mi sono poi avvalso per le prove da me eseguite successivamente (Fig. 3.7).



Fig. 3.7 : Alcuni dei disegni dei *setup*.

Le forze e i momenti agenti sul provino vengono misurati attraverso una cella di carico a sei componenti (FDC 011, METIOR srl, Dongo, Italy). Le specifiche di tale strumento di misura sono:

- Fondo scala forza verticale: ± 20 kN.
- Fondo scala altre forze di taglio: ± 10 kN.
- Fondo scala momenti misurati attorno ai tre assi: ± 250 Nm.
- Sovraccarico ammissibile: 150% del fondoscala.
- Sovraccarico di rottura: 300% del fondoscala.
- Fattore di protezione: IP66 (protetto dall'acqua, ma non adatto a lavorare in immersione).
- Errore combinato: 0.08% del fondo scala.
- Interazione tra le forze: $< 1.5\%$ del fondo scala.
- Ripetibilità: $\pm 0.02\%$ del fondo scala.

I segnali di uscita della cella di carico e degli estensimetri vengono poi registrati con un sistema di acquisizione collegato ad un computer (System 6000, Vishay Intertechnology Inc., USA).

Per applicare un carico in direzione obliqua rispetto al provino è necessario inclinare il provino. Questo perché l'attuatore si può muovere solo verticalmente o al più ruotare attorno al proprio asse. La soluzione consisteva

nel modificare l'orientamento dell'asse del provino utilizzando delle zeppe. Infatti, essendo stato fissato l'angolo di interesse, esse definiscono un piano inclinato a 15° . Le zeppe sorreggono un basamento (Fig. 3.8) con un sistema di bloccaggio al centro. Tale morsa è costituita da un foro all'interno del quale viene inserito lo stelo del pot. Questo pezzo non ha solo la funzione di afferrare il pot, ma è anche necessario per cambiare le configurazioni di carico.

Il bloccaggio della morsa si ottiene attraverso due viti. Allentandole, il pot può ruotare attorno al suo stelo. In questo modo, dato che le zeppe sono fisse, si modifica l'angolo della retta d'azione del carico. Idealmente, dalla rotazione della direzione di carico attorno alla normale del centro della morsa, si otterrebbe infatti un cono con una semiapertura di 15° .

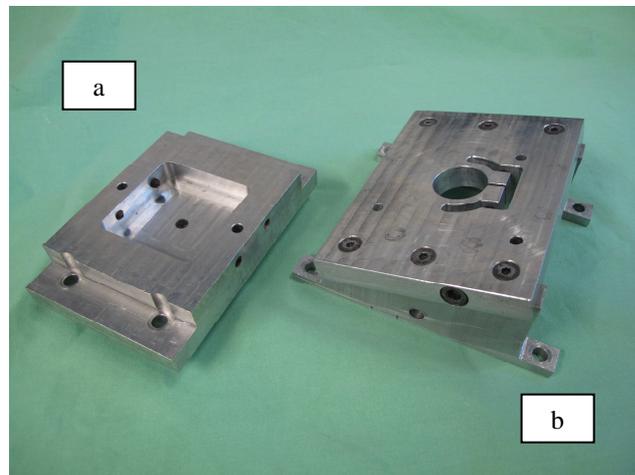


Fig. 3.8 : Esempio di pot (a) e di zeppa (b) che ho utilizzato.

3.2.4.2. PROVE SU VERTEBRE UMANE

Prima di entrare nel dettaglio di questo paragrafo voglio ricordare che il provino prima di essere messo sotto la macchina di prova è allineato, strumentato ma con una sola delle estremità cementata (quella craniale). È pertanto necessario cementare l'estremità caudale del provino sotto macchina, garantendo così la complanarietà. Per fare questo, così come per fare le prove, ho cominciato con il montare innanzitutto il *setup* sulla macchina di prova. All'attuatore viene avvitato anche un profilato su cui montare il *pot* superiore. La cella di carico a sei componenti è posizionata superiormente alla cella di carico biassiale che la macchina stessa utilizza come retroazione. Entrambe le celle sono coassiali con l'attuatore. Sulla cella di carico a sei componenti è avvitata una piastra. Tale pezzo serve al posizionamento e allineamento del provino. Infatti, dopo aver montato il *setup* per le Prove in Configurazione a 0° , ho preso il provino per cementarne l'estremità caudale. Per prima cosa ho infilato la parte già

cementata nel *pot* superiore avvitando i grani in modo da fissarlo. Per decidere la posizione del *pot* inferiore, invece, ho cercato di centrare quello che ritenevo potesse essere il COM (*Center of Mass*) della vertebra centrale con il centro del *pot* stesso. Fatto ciò, ho fissato il *pot* inferiore, ne ho avvitato i grani, ho abbassato manualmente il provino in modo che traguardando esso entrasse su tutti i lati di almeno 4mm all'interno del *pot* e, infine, ho fatto la cementata. Con questa spiegazione si esaurisce quella che è la preparazione del provino alle prove in macchina. Per completezza aggiungo ancora che, in tutte le configurazioni di carico, si è deciso che alla vertebra più craniale del segmento corrispondesse sempre il *pot* posizionato superiormente. Questa è in realtà una convenzione adottata in quanto si suppone che questo tipo di orientamento non influisca sulle proprietà meccaniche studiate.

Per quanto riguarda le prove eseguite vorrei ricordare quanto citato precedentemente.

Per la prima tipologia di prove, come descritto in precedenza, sono state effettuate quattro serie di prove in cui il provino è soggetto a Prove in Configurazione a 0°. In questi casi il *pot* inferiore viene fissato direttamente sulla piastra sovrastante la cella di carico. Per fare ciò gli steli dei *pot* devono essere svitati. Dato che l'asse verticale del provino è coincidente con la retta di applicazione del carico esso viene posizionato al centro della piastra. Un affinamento dell'allineamento del provino può essere comunque ottenuto sfruttando il profilato su cui si vincola il *pot* superiore.

Per la seconda tipologia di prove, cioè le Prove in Configurazione 15°, il posizionamento del provino richiede maggiore cura. Le zeppe vengono avvitate alla piastra soprastante la cella di carico. Su di essa si trova infatti una serie di fori distanziati di dieci millimetri. Si cerca pertanto, a meno di un passo discreto obbligato dalla posizione dei fori, di mettere il centro della vertebra estensimetrata al centro della cella di carico. Il posizionamento della zeppa superiore viene fatta lasciando lente le viti che lo fissano al profilato in modo da poter centrare i due *pot*, ed inoltre deve essere posizionato ad una altezza tale per cui si riesca ad inserire il provino in mezzo. Una volta inserito il provino, la variazione delle configurazioni di carico inclinate a 15° può essere effettuata

solo allentando le morse e facendo ruotare il provino (Fig. 3.9a; Fig. 3.9b; Fig. 3.9c; Fig. 3.9d).

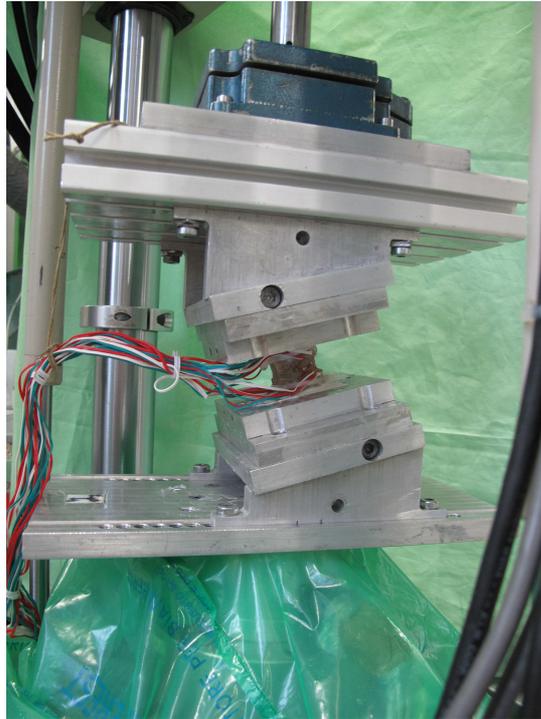


Fig. 3.9a : Configurazione di carico inclinata di 15°. Carico in direzione anteriore. Vista laterale destra.



Fig. 3.9b : Configurazione di carico inclinata di 15°. Carico in direzione laterale destra. Vista anteriore.

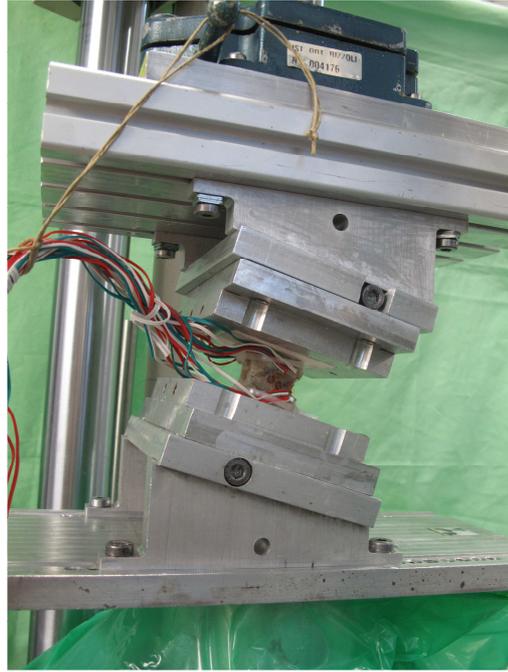


Fig. 3.9c : Configurazione di carico inclinata di 15° . Carico in direzione posteriore. Vista laterale destra.



Fig. 3.9d : Configurazione di carico inclinata di 15° . Carico in direzione laterale sinistra. Vista anteriore.

3.2.5. *Analisi dei dati*

I risultati riportati di seguito sono stati ricavati dai dati acquisiti su quattro triplette strumentate (con 8 estensimetri ciascuno) sottoposte ciascuna a sei ripetizioni di ognuna delle otto configurazioni descritte nei paragrafi precedenti. Le deformazioni principali (ε_1 : deformazione principale massima; ε_2 : deformazione principale minima) e l'angolo θ_p (positivo in senso orario) dei piani principali sono stati calcolati basandosi sulla lettura delle tre griglie di ogni estensimetro (Dally *et al*, 2005).

In questa parte di lavoro ho avuto la possibilità di automatizzare l'elaborazione dei dati che, prima di me, veniva svolta manualmente. In pratica ho sviluppato un codice (Matlab, The MathWorks Inc., USA) che ha permesso di velocizzare l'intera elaborazione (riducendo di circa l'80% il tempo necessario per una singola elaborazione) e consentendo soprattutto l'eliminazione di possibili errori umani in fase di elaborazione. Nonostante l'automazione ricercata, ho comunque ritenuto prudente mantenere un certo grado di controllo da parte dell'operatore nei passaggi più critici dell'intera fase di elaborazione.

I dati elaborati sono stati quindi i segnali acquisiti dagli estensimetri, dalla cella a sei componenti e dalla cella della macchina di prova per un totale di 35 canali utili, acquisiti sincroni, che per ogni ripetizione si trovano in un singolo *file*. Da questi ho cominciato la mia elaborazione.

Il lavoro è stato sviluppato creando 16 file (*m-file* per l'ambiente di lavoro Matlab) di cui 1 *file* principale e altre 16 *function* (cioè *file* secondari che ho utilizzato per far funzionare e rendere facilmente leggibile il *file* principale). Brevemente voglio dire che attraverso questo codice i dati subiscono innanzitutto una pre-elaborazione consistente in due filtri: elimina banda (*Notch*) a 50Hz e in media mobile (Passa Basso) contro il rumore. Solo dopo aver ricevuto l'approvazione da parte dell'operatore (con un controllo puramente visivo delle curve Forza-Spostamento, Forza-Deformazione e Forze, Deformazione, Momenti e Momenti in funzione del Tempo) parte l'effettiva elaborazione dei dati. Per ogni ripetizione, di ogni provino e per ogni configurazione il codice calcola:

- I valori di offset iniziale.
- I valori a pieno carico.
- Le velocità di deformazione.

CAPITOLO 3

- La linearità carico-deformazione per vedere se tutto funziona correttamente.
- Le linearità spostamento-deformazione o la rotazione-deformazione, a seconda della configurazione analizzata, per avere un controllo sulla qualità dei dati.
- La rigidezza.

Per poter riuscire a fare dei confronti ho quindi normalizzato tutti i dati rispetto al BW (*Body Weight*) del donatore.

Vista la mole di risultati ottenuti ho implementato anche una parte di codice dedicata al controllo degli stessi risultati ottenuti. La fase successiva è stata pertanto quella di controllare che le linearità di carico e di spostamento stessero sempre sopra una certa soglia (cioè che il coefficiente di determinazione fosse, per esempio, sempre sopra a 0.9), che le deformazioni avessero tutte un coefficiente di variazione basso (per esempio sotto a 5), e che gli angoli avessero una deviazione standard bassa (per esempio inferiore a 2). In chiusura del programma ho messo poi la generazione di tutti i *file.txt* relativi agli eventuali errori riscontrati sui dati e il salvataggio dei dati elaborati.

Le elaborazioni che seguono sono state fatte utilizzando Matlab (Matlab, The MathWorks Inc., USA) ed Excel (Office, Microsoft Corporation, USA).

Per cominciare ho controllato la linearità tra forza e deformazione facendo la regressione lineare per ogni estensimetro di ogni provino.

In seguito, ho fatto la media delle deformazioni principali (ϵ_1 e ϵ_2) e dell'angolo (θ_p) delle sei ripetizioni fatte per ogni configurazione di carico in maniera da ottenere un unico valore per ogni estensimetro di ogni provino. Ho calcolato il Coefficiente di Variazione (CV: la deviazione standard espressa come percentuale delle media) delle deformazioni principali (ϵ_1 e ϵ_2) facendo però attenzione ad escludere quei valori minori di 50 $\mu\epsilon$ che, a causa della loro vicinanza allo zero, generavano dei CV molto alti.

Ho utilizzato poi il criterio di Peirce per escludere gli *outliers* (Ross *et al.*, 2003). Per prima cosa ho fatto un controllo tra le ripetizioni per ogni estensimetro, per ogni provino e per ogni configurazione di carico: in questa maniera si sono eliminati l'8.5% di tutti i dati (molti dei quali a causa di un malposizionamento degli estensimetri). Come secondo passo, ho fatto un controllo sull'intero

provino: al massimo veniva eliminata una ripetizione, ma mai nessun provino è stato escluso per intero.

Tramite un *software* di statistica (StatView-5.0.1, SAS-Institute, Cary, NC, USA), ho fatto anche un'analisi statistica per interpretare i dati ottenuti. Ho infatti fatto dei test parametrici (test Anova per il confronto delle varianze) per valutare la significatività dell'effetto dei fattori che influenzano le deformazioni quali, per esempio, i punti di misura e le differenti configurazioni di carico. In particolare: (i) per ogni configurazione di carico ho valutato la significatività delle differenze tra i vari punti di misura delle deformazioni; (ii) per ogni punto di misura delle deformazioni ho valutato la significatività delle configurazioni di carico sia sul valore sia sulla direzione delle deformazioni principali.

Per valutare l'omogeneità delle deformazioni ho fatto un F-test (per l'uguaglianza delle varianze). In questa maniera sono andato a comparare le varianze (tra i punti di misura) elaborate per le differenti configurazioni di carico e riscontrando che la differenza tra i punti di misura delle deformazioni dipende dalle configurazioni di carico.

Per quantificare le differenze tra le configurazioni di carico opposte ho fatto delle regressioni lineari. In particolare ho comparato la Compressione Assiale con la Trazione Assiale e la Torsione Destra con la Torsione Sinistra. Così sono riuscito a visualizzare l'effetto che questi carichi avevano sulla distribuzione delle deformazioni.

3.3 Risultati

Per evitare di confondere i vari risultati ottenuti dall'elaborazione dei dati ho deciso di dividere questo paragrafo in tre parti al fine di renderne più chiara la trattazione.

3.3.1. Ripetibilità Intra- ed Inter-provino

Il test di ripetibilità (variabilità intra-provino) è risultato essere buono:

- per le deformazioni principali (ε_1 , ε_2) il coefficiente di variazione (CV) tra ripetizioni ha un valore medio dell'1.0%.
- la direzione principale (θ_p) varia mediamente di 0.4° (deviazione standard) tra ripetizioni alla stessa configurazione di carico.

È invece risultata essere invece più grande la variabilità inter-provino:

- Il protocollo di carico comporta differenti valori di carico per ogni provino poiché sono stati normalizzati rispetto al BW (*Body Weight*) del donatore (Tabella 3.2).
- Tra provini sottoposti alla stessa configurazione di carico, la direzione principale (θ_p) è variata tra gli 8° e i 45° .

RIF LTM	ID Provino	Dimensioni del corpo vertebrale			Forza assiale		Torsione	
		Altezza (mm)	Profondità (mm)	Larghezza (mm)	(N)	(%BW)	(Nm)	(%BW*m)
#4021	L3	25.8	34.7	45.0	699	93	3.62	0.471
#4024	L3	24.7	32.1	42.9	807	96	4.09	0.476
#4024	T7	17.6	30.5	25.9	763	91	2.75	0.326
#4024	T9	15.5	33.2	29.8	778	92	3.72	0.441
Media	Media	20.9	32.6	35.9	762	93.0	3.55	0.429
Deviazione Standard	Deviazione Standard	5.1	1.8	9.5	46	2.2	0.57	0.070

Tabella 3.2 : Valori di carico delle prove sperimentali per i provini utilizzati.

3.3.2. Distribuzione delle deformazioni

In generale ho osservato che per la Torsione si ha che la deformazione principale in trazione (ε_1) è simile in valore assoluto e in tutti i punti di misura alla deformazione principale in compressione (ε_2). Solamente nella Compressione si ha che ε_2 è leggermente più grande di ε_1 in valore assoluto, mentre nella compressione in direzione anteriore con inclinazione 15° si ha invece che ε_1 è predominante.

Il corpo vertebrale mostra una distribuzione delle deformazioni piuttosto uniforme (Fig. 3.10-3.11). In alcune configurazioni di carico (Tabella 3.3) esistono

differenze piccole seppur statisticamente significative tra i punti di misura delle deformazioni su entrambe le componenti principali di deformazione.

Sono invece limitate la variazione nelle direzioni delle deformazioni principali (θ_p) tra diversi punti di misura. Tuttavia, a causa dell'alta ripetibilità delle misure, tale variazione risulta essere significativa per la maggior parte delle configurazioni di carico (Tabella 3.3).

	Axial-Compression	Axial-Traction	Anterior_15-Compression	Posterior_15-Compression	Left_15-Compression	Right_15-Compression	Torsion-Clockwise	Torsion-Counter clockwise
ϵ_1	p=0.49	p=0.042	p=0.53	p=0.48	p=0.40	p=0.14	p=0.0018	p=0.16
ϵ_2	p=0.72	p=0.35	P=0.85	p=0.61	p=0.66	p=0.50	p=0.39	p=0.048
θ_p	p=0.94	p=0.36	p<0.0001	p=0.0005	p=0.042	p=0.33	p=0.75	p=0.56

Tabella 3.3 : Significatività delle differenze tra i punti di misura delle deformazioni delle componenti principali massime e minime (ϵ_1 , ϵ_2), e delle direzioni dei piani principali (θ_p). La significatività è espressa in termini di *p-value* ricavati da un *test* Anova.

3.3.3. Effetto delle configurazioni di carico

Applicando delle forze di compressione in varie direzioni, ho osservato l'esistenza di differenze limitate seppur statisticamente significative per entrambe le deformazioni principali (ϵ_1 , ϵ_2 ; Fig. 3.10, Tabella 3.4). In generale la massima deformazione era più bassa quando la forza era allineata con il corpo vertebrale (Compressione assiale), mentre era più grande quando la forza era inclinata di 15°. Differiscono invece dalla configurazione di Compressione le configurazioni di Trazione assiale, Torsione destra (in direzione oraria) e Torsione sinistra (in senso antiorario) (Fig. 3.11).

	PL	LL	AL	AAL	AAR	AR	LR	PR
ϵ_1	p=0.0090	p=0.0087	p=0.34	p=0.041	p=0.063	p=0.54	p=0.84	p=0.64
ϵ_2	p=0.0073	p=0.50	p=0.24	p=0.44	p=0.51	p=0.99	p=0.99	p=0.96
θ_p	p=0.0001	p=0.054	p<0.0001	p=0.0012	p=0.0023	p<0.0001	p<0.0001	p=0.012

Tabella 3.4 : Significatività delle differenze tra 5 configurazioni di carico compressive (Axial-Compression, Anterior_15-Compression, Posterior_15-Compression, Left_15-Compression, Right_15-Compression). La significatività è espressa in termini di *p-value* ricavati da un *test* Anova per le deformazioni principali massime e minime (ϵ_1 , ϵ_2), e della direzione dei piani principali (θ_p).

Nella Compressione assiale ho osservato una distribuzione piuttosto uniforme delle deformazioni: la deformazione principale in trazione (ϵ_1 nella direzione assiale) varia del 3.7% (deviazione standard tra i punti di misura), mentre la

CAPITOLO 3

deformazione principale in compressione (ϵ_1 nella direzione circonferenziale) varia del 3.9% (Fig. 3.12). Variazioni significativamente maggiori tra i punti di misura le ho osservate sia quando la forza di compressione veniva applicata inclinata di 15° , sia in Torsione. Le variazioni tra i siti di misura erano comunque simili per le configurazioni di carico inclinate (Fig. 3.12).

La posizione del punto in cui la deformazione maggiore cambia a seconda della direzione di applicazione del carico (Fig. 3.10-3.11). Le deformazioni maggiori si trovano in compressione posteriore con inclinazione a 15° sugli estensimetri posti sul lato destro del corpo vertebrale, in compressione anteriore con inclinazione a 15° sugli estensimetri posti sul lato sinistro del corpo vertebrale e durante le configurazioni laterali (Compressioni in direzione sinistra e destra con inclinazione 15°) sugli estensimetri posti nella regione anteriore (estensimetri AAR e AAL).

La direzione principale (θ_p) varia molto a secondo della direzione di applicazione della forza (Fig. 3.13). La deformazione principale in trazione (ϵ_1) risulta essere quasi perpendicolare all'asse del corpo vertebrale, mentre risulta essere approssimativamente allineato con il corpo vertebrale durante la Trazione assiale. La direzione principale (θ_p) della Compressione assiale differisce di 8° - 27° da tutte le altre configurazioni inclinate di 15° (Fig. 3.13). Durante la Torsione le deformazioni principali sono vicine ai 45° rispetto all'asse del corpo vertebrale. Tali variazioni tra configurazioni sono statisticamente significative in tutte le regioni (Tabella 3.4).

Nel comparare le due direzioni opposte di forza assiale ho visto che la correlazione è piuttosto bassa e che la pendenza è ben diversa da -1.0: la Trazione assiale genera deformazioni più grandi in valore assoluto (e con variazioni intercampione più grandi) rispetto alla Compressione assiale (Fig. 3.14). Al contrario, le due direzioni opposte di Torsione (destra e sinistra) generano distribuzioni di deformazione abbastanza simili (Fig. 3.15).

3.4 Discussione

Per queste prove *in vitro* ho applicato configurazioni di carico che includevano non solo il cono spaziato dalla forza risultante da compiti motori fisiologici, ma anche altre componenti di carico quali torsione e trazione. La deformazione principale massima (ϵ_1) è generalmente allineata come aspettato: circonferenzialmente per tutte le configurazioni che implicavano una forza compressiva, assialmente per la trazione e approssimativamente a 45° per la torsione (Fig. 3.13). Le deformazioni sono significativamente influenzate dalle configurazioni di carico. Infatti, applicando la stessa forza compressiva, si osservano deformazioni significativamente inferiori nella Compressione assiale rispetto a tutte le altre configurazioni inclinate di 15° (Fig. 3.10). In particolare ho osservato anche una distribuzione delle deformazioni eccezionalmente uniforme per la configurazione di Compressione assiale. Allo stesso tempo ho invece osservato che in tutte le altre configurazioni esistono differenze più marcate tra i vari siti di misura (Fig. 3.12).

Confrontando i risultati ottenuti applicando la stessa forza prima in compressione (Compressione assiale) e poi in trazione (Trazione assiale), si vede che le distribuzioni di deformazione risultano essere abbastanza diverse (Fig. 3.14). Parte di questa differenza può essere imputata alla diversa risposta che il disco intervertebrale ha rispettivamente in compressione (dove, fisiologicamente, genera una pressione uniforme sull'intero *endplate*) e in trazione (il nucleo polposo ha infatti una limitata risposta alla trazione mentre è l'anello fibroso che lavora maggiormente). Infatti per la Compressione assiale le triplete sono risultate più rigide rispetto alla Trazione assiale da un minimo del 73% ad un massimo del 144%. Al contrario ho osservato deformazioni abbastanza simili per le due opposte direzioni di torsione (Fig. 3.15). La rigidità torsionale delle triplete nelle due opposte direzioni differivano infatti solamente dell'1-28%.

In questo lavoro ci sono però alcune limitazioni che devono essere considerate. Innanzitutto la misura delle deformazioni è affetta da un errore sistematico: la reale deformazione viene infatti sottostimata del 3-9% a causa dell'effetto di rinforzo degli estensimetri. Per calcolare questa percentuale sarebbe necessario misurare lo spessore di osso corticale della vertebra testata ma, non avendo io la

possibilità di misurarlo, ho fatto riferimento alle misure prese da altre triplete che il gruppo del Laboratorio di Tecnologia Medica aveva precedentemente testato a rottura (Cristofolini *et al*, *in press*).

Mentre i valori assoluti delle deformazioni sono affetti da tale errore, tale artefatto viene però eliminato quando si confrontano differenti configurazioni di carico per lo stesso sito di misura.

Una seconda limitazione si riferisce alla scarsa numerosità dei provini (solamente 4 triplete) dovuta al grande lavoro che è richiesto per la preparazione di ognuno di loro. È da notare però come la quantità di dati ricavati (8 estensimetri per ogni provino, per un totale di 96 sensori di deformazioni) e la varietà di carichi fisiologici e para-fisiologici (8 scenari in totale) facciano di questo lavoro uno tra i più completi in letteratura secondo solamente ad un altro articolo (Cristofolini *et al*, *in press*), al quale ho avuto la possibilità di contribuire, dove i provini testati sono stati 8 triplete lombari, ciascuno strumentato con 8 estensimetri.

Posso dire che i risultati di questo lavoro sembrano mostrare come la struttura del corpo vertebrale sia ottimizzata per ricevere forze compressive lungo l'asse della vertebra. Infatti:

- La distribuzione delle deformazione è più uniforme nella Compressione assiale rispetto a tutte le altre configurazioni (tensioni/deformazioni uniformi sono un criterio di ottimizzazione nell'ingegneria strutturale).
- La deformazione è minore quando la forza di compressione viene applicata perpendicolarmente al corpo vertebrale (piuttosto che inclinata a 15°).
- Quando la forza viene applicata con una inclinazione di 15° si ha che la direzione delle deformazioni principali varia di un angolo maggiore (8°-27°) che se sollecitati con una Compressione assiale. Come è noto l'osso (specialmente quello trabecolare) è più debole quando riceve un carico obliquo (Öhman *et al*, 2007), il che sembra suggerire che la struttura della vertebra sia pertanto ottimizzata (in termini di disposizione locale dei tessuti e di anisotropia) per una specifica direzione di carico.

Tale osservazione è in accordo con il fatto che la forza risultante misurata *in vitro* sul corpo vertebrale spazia angoli di ampiezza limitata (Bergmann *et al*, 2011; Rohlmann *et al*, 2008). Ciò supporta l'ipotesi che il corpo vertebrale

venga caricato tra due giunti sferici (i dischi intervertebrali). Infatti molti modelli numerici della colonna vertebrale si appoggiano a suddetta ipotesi (de Zee *et al*, 2007; Han *et al*, 2011) così come molte sostituzioni di dischi utilizzano la stessa assunzione (Taksali *et al*, 2004).

Questa è la prima volta che una distribuzione di deformazioni viene misurata nel corpo vertebrale in così tante configurazioni di carico. Le informazioni fornite in questo lavoro (gradienti di deformazioni in relazione ai vari scenari di carico) possono sia aiutare a capire meglio la biomeccanica della colonna vertebrale, sia essere utilizzate per la validazione di modelli numerici della colonna vertebrale.

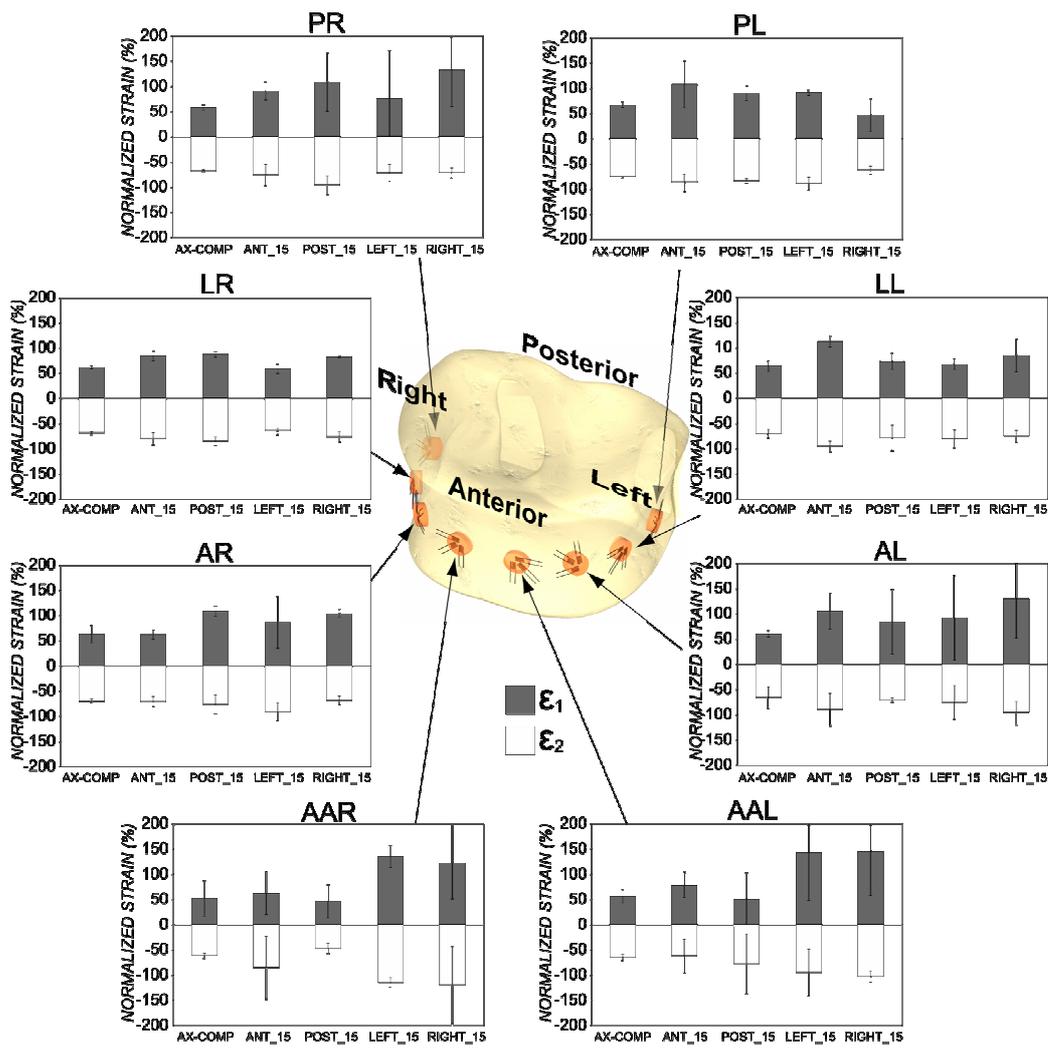


Fig. 3.10 : Rappresentazione delle deformazioni misurate.

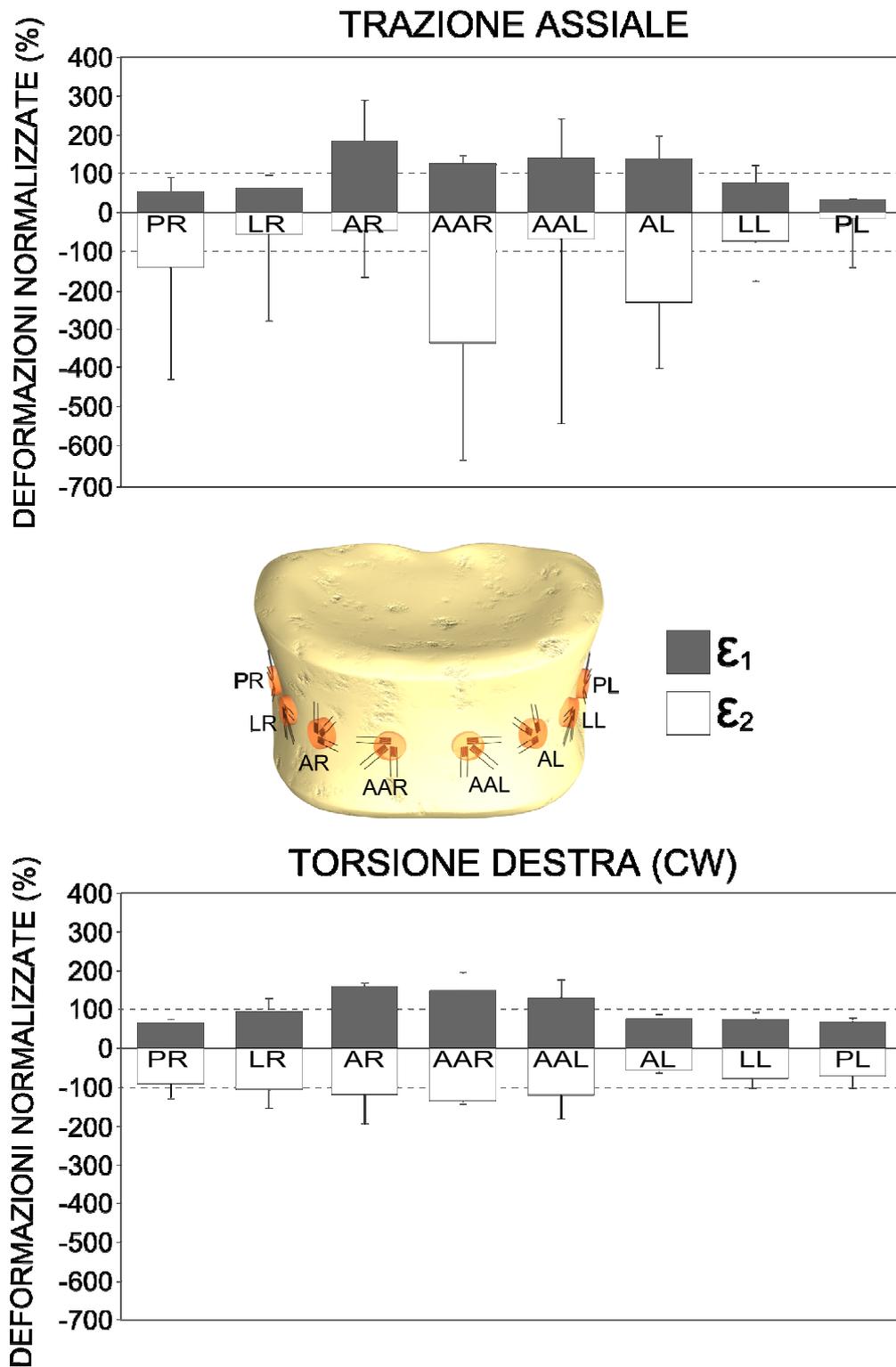
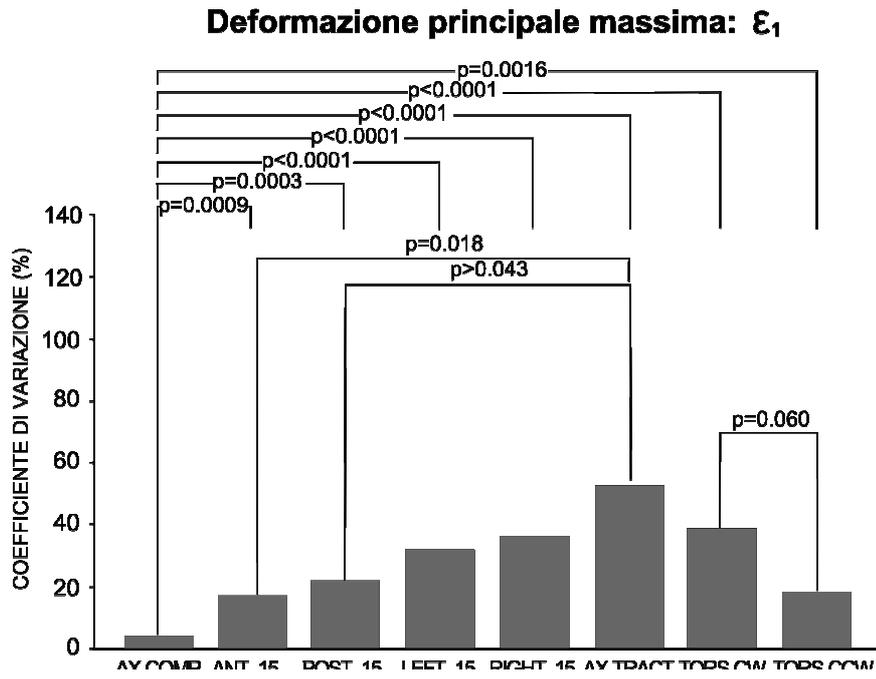


Fig. 3.11 : Rappresentazione delle deformazioni della trazione e della torsione destra.



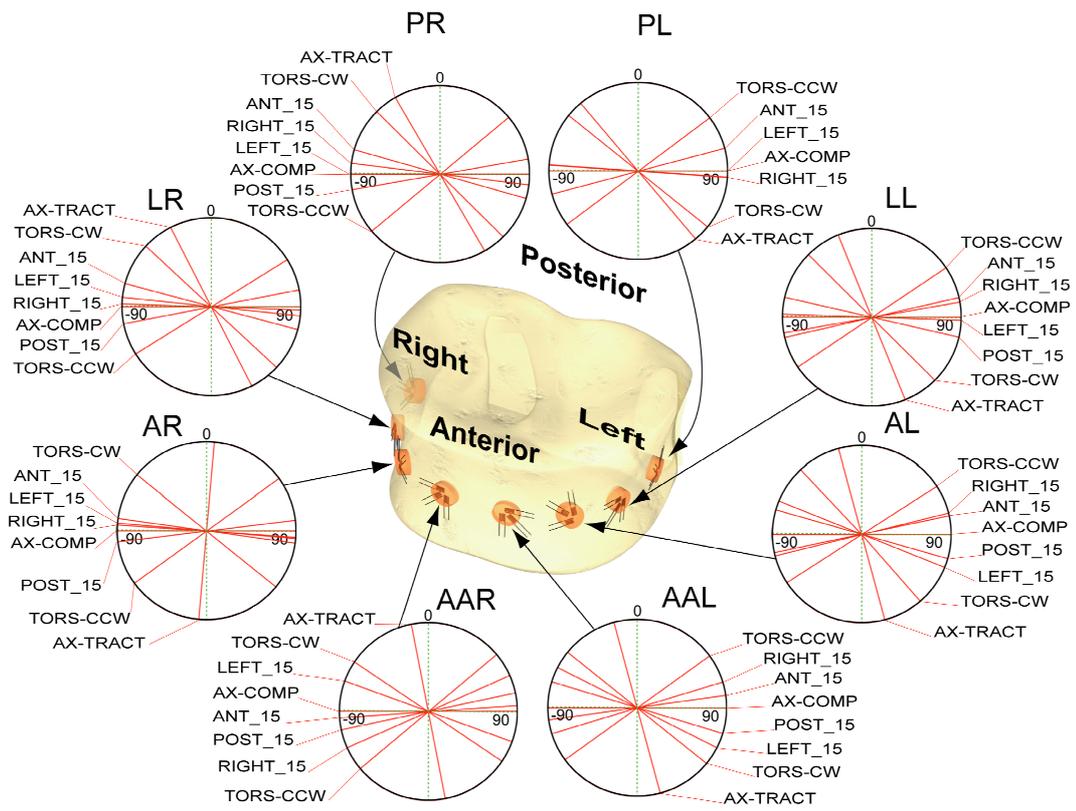


Fig. 3.13 : Rappresentazione delle direzioni dei piani principali (θ_p).

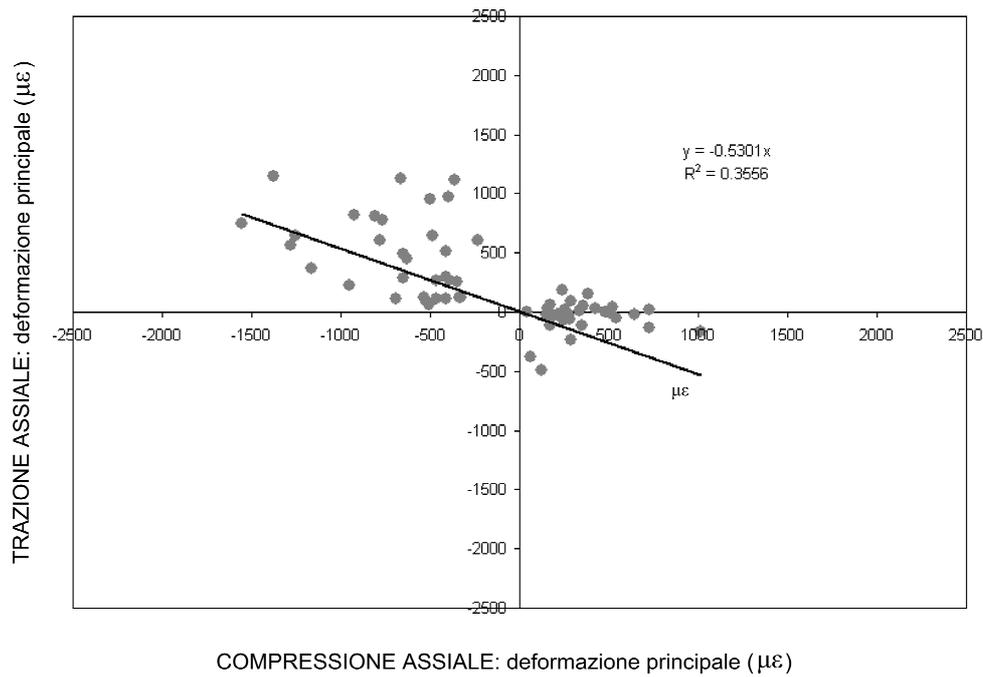


Fig. 3.14 : Grafico della correlazione tra Compressione e Trazione. Quello che mi sarei aspettato sarebbe stato avere un coefficiente angolare pari a -1 (stessa entità delle deformazioni ma ovviamente in direzioni opposte)

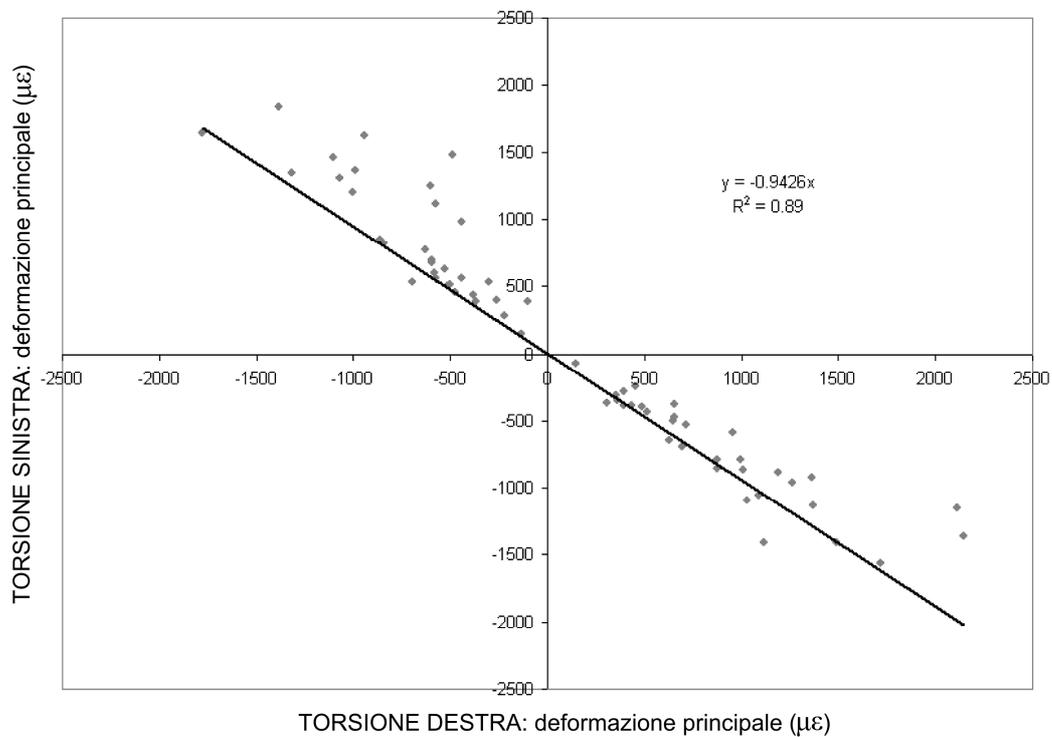


Fig. 3.15 : Grafico della correlazione tra Torsione destra (CW) e Torsione sinistra (CCW). Quello che mi sarei aspettato sarebbe stato avere un coefficiente angolare pari a -1 (stessa entità delle deformazioni ma ovviamente in direzioni opposte)

CONCLUSIONI:

Conclusioni

Gli obiettivi che mi ero prefissato sono stati portati a termine. Per quanto riguarda l'obiettivo dell'allineamento ho ottenuto una procedura che, seppur necessitando di un addestramento iniziale dell'operatore, consente comunque di ottenere buone ripetibilità sia intra- che inter-operatore. Inoltre anche le prove sperimentali sono state portate a termine con successo su 4 vertebre. Esse dimostrano come le vertebre siano strutturalmente ottimizzate per ricevere forze compressive in direzione assiale visto che l'entità delle deformazioni acquisite nelle altre configurazioni sono infatti sempre maggiori. I dati acquisiti hanno inoltre aperto la strada alla validazione di nuovi modelli numerici.

Sviluppi futuri

Per completare in maniera ottimale questo lavoro sarebbe stato interessante testare le vertebre anche con una configurazione di carico inclinata di ± 2 gradi (cioè pari al massimo errore commesso in fase di allineamento) in modo da definire numericamente quale sia la variazione risentita sulle deformazioni

BIBLIOGRAFIA:

- Adams, M.A., 1995. "Mechanical testing of the spine. An appraisal of methodology, results, and conclusions." *Spine* 20, 2151-2156.
- Al-Rawahi, M., Luo, J., Pollintine, P., Dolan, P., Adams, M.A., 2010. "Mechanical Function of Vertebral Body Osteophytes, as Revealed by Experiments on Cadaveric Spines." *Spine (Phila Pa 1976)* 30.
- Bayraktar, H. H., Morgan, E. F., Niebur, G. L., Morris, G. E., Wong, E. K., Keaveny, T. M., 2004. "Comparison of the elastic and yield properties of human femoral trabecular and cortical bone tissue." *J Biomech* 37(1): 27-35.
- Bergmann G. (ed.), Charite – Universitaetsmedizin Berlin "OrthoLoad". Retrieved July 1, 2011. <<http://www.OrthoLoad.com>>. 2011.
- Bevill, G., Farhamand, F., Keaveny, T.M., 2009. "Heterogeneity of yield strain in low-density versus high-density human trabecular bone." *Journal of Biomechanics* 42, 2165-2170.
- Brandolini, "Caratterizzazione strutturale del corpo di vertebre lombari umane." Anno Accademico 2008/2009.
- Buckley, J.M., Loo, K., Motherway, J., 2007. "Comparison of quantitative computed tomography-based measures in predicting vertebral compressive strength." *Bone* 40, 767-774.
- Buckley, J. M., Kuo, C. C., Cheng, L. C., Loo, K., Motherway, J., Slyfield, C., Deviren, V., Ames, C., 2009. "Relative strength of thoracic vertebrae in axial compression versus flexion." *Spine J* 9(6): 478-85.

- Busscher, I., van Dieen, J.H., Kingma, I., van der Veen, A.J., Verkerke, G.J., Veldhuizen, A.G., 2009. "Biomechanical characteristics of different regions of the human spine: an in vitro study on multilevel spinal segments." *Spine (Phila Pa 1976)* 34, 2858-2864.
- Charriere, E., Beutler, T., Caride, M., Mordasini, P., Orr, T., Zysset, P., 2006. "Compliance of the L5-S1 spinal unit: a comparative study between an unconstrained and a partially constrained system." *European spine journal* 15, 74-81.
- Cheng, X.G., Nicholson, P.H., Boonen, S., Lowet, G., Brys, P., Aerssens, J., Van der Perre, G., Dequeker, J., 1997. "Prediction of vertebral strength in vitro by spinal bone densitometry and calcaneal ultrasound." *J Bone Miner Res* 12, 1721-1728.
- Conti, G., Cristofolini, L., Juszczak, M., Leardini, A., Viceconti, M., 2008. "Comparison of three standard anatomical reference frames for the tibia-fibula complex." *Journal of Biomechanics* 41, 3384-3389.
- Cristofolini, L., Juszczak, M., Taddei, F., Viceconti, M., 2009. "Strain distribution in the proximal human femoral metaphysis." *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine* 223, 273-288.
- Cristofolini, L., Conti, G., Juszczak, M., Cremonini, S., Van Sint Jan, S., Viceconti, M., 2010. "Structural behaviour and strain distribution of the long bones of the human lower limbs." *J Biomech* 43: 826-35.
- Cristofolini, L., 2011. "Anatomical reference frames for long bones: biomechanical applications." In: *Handbook of Anthropometry: Physical Measures of Human Form in Health and Disease*. (Eds). Springer, New York, pp.
- Cristofolini, L., Danesi, V., Brandolini, N., Juszczak, M., Viceconti, M., in press 2013. "Strain distribution in the lumbar vertebrae under different loading directions." *Spine Journal*, in press.

- Dall'Ara, E., Schmidt, R., Pahr, D., Varga, P., Chevalier, Y., Patsch, J., Kainberger, F., Zysset, P., 2010. "A nonlinear finite element model validation study based on a novel experimental technique for inducing anterior wedge-shape fractures in human vertebral bodies in vitro." *Journal of Biomechanics* 43, 2374-2380.
- Dally JW, Riley WF. *Experimental stress analysis*. 4th Edition ed. Knoxville: College House Enterprises; 2005.
- De Zee M, Hansen L, Wong C, Rasmussen J, Simonsen EB. "A generic detailed rigid-body lumbar spine model." *J Biomech*. 2007;40(6):1219-27.
- Frei, H., Oxland, T.R., Nolte, L.P., 2002. "Thoracolumbar spine mechanics contrasted under compression and shear loading." *J Orthop Res*. 20, 1333-1338.
- Furtado, N., Oakland, R.J., Wilcox, R.K., Hall, R.M., 2007. "A Biomechanical Investigation of Vertebroplasty in Osteoporotic Compression Fractures and in Prophylactic Vertebral Reinforcement." *Spine* 32, E480-E487
410.1097/BRS.1090b1013e31811ea31812ee.
- Grassmann, S., Oxland, T.R., Gerich, U., Nolte, L.-P., 1998. "Constrained Testing Conditions Affect the Axial Rotation Response of Lumbar Functional Spinal Units." *Spine* 23, 1155-1162.
- Han KS, Zander T, Taylor WR, Rohlmann A. "An enhanced and validated generic thoraco-lumbar spine model for prediction of muscle forces." *Med Eng Phys*. 2011.
- Hitchon, P.W., Goel, V., Drake, J., Taggard, D., Brenton, M., Rogge, T., Torner, J.C., 2009. "Comparison of the biomechanics of hydroxyapatite and polymethylmethacrylate vertebroplasty in a cadaveric spinal compression fracture model." *Journal of Neurosurgery: Spine* 95, 215-220.
- Hongo, M., Abe, E., Shimada, Y., Murai, H., Ishikawa, N., Sato, K., 1999. "Surface Strain Distribution on Thoracic and Lumbar Vertebrae Under Axial Compression: The Role in Burst Fractures." *Spine* 24, 1197.

- Ilharreborde, B., Zhao, K., Boumediene, E., Gay, R., Berglund, L., An, K.N., 2010. "A dynamic method for in vitro multisegment spine testing." *Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research* 96, 456-461.
- Jiang, G., Luo, J., Pollintine, P., Dolan, P., Adams, M.A., Eastell, R., 2010. "Vertebral fractures in the elderly may not always be osteoporotic." *Bone* 47, 111-116.
- Keaveny, Tania, P.P., Crawford, R.P., David, L.K., Albert, L., 1997. "Systematic and random errors in compression testing of trabecular bone." *Journal of Orthopaedic Research* 15, 101-110.
- Kifune, M., Panjabi, M.M., Arand, M., Liu, W., 1995. "Fracture pattern and instability of thoracolumbar injuries." *Eur Spine J* 4, 98-103.
- Kopperdahl, D.L., Pearlman, J.L., Keaveny, T.M., 2000. "Biomechanical consequences of an isolated overload on the human vertebral body." *Journal of Orthopaedic Research* 18, 685-690.
- Lamy, C., Bazergui, A., Kraus, H., Farfan, H.F., 1975. "The strength of the neural arch and the etiology of spondylolysis." *Orthop Clin North Am* 6, 215-231.
- Lochmüller, E.M., Eckstein, F., Kaiser, D., Zeller, J.B., Landgraf, J., Putz, R., Stedinger, R., 1998. "Prediction of vertebral failure loads from spinal and femoral dual-energy x-ray absorptiometry, and calcaneal ultrasound: an in situ analysis with intact soft tissues." *Bone* 23, 417-424.
- Melnyk; A.D., When, T.L., Kingwell, S., Chack, J.D., Singh, V., Cripton, P.A., Fisher, C.G., Dvorak, M.F., Oxland, T.R., 2012. "Load transfer characteristics between posterior spinal implants and the lumbar spine under anterior shear loading: an in vitro investigation." *Spine (Phila Pa 1976)*, 18-22.
- McCubbrey, D.A., Cody, D.D., Peterson, E.L., Kuhn, J.L., Flynn, M.J., Goldstein, S.A., 1995. "Static and fatigue failure properties of thoracic and lumbar vertebral bodies and their relation to regional density. " *Journal of Biomechanics* 28, 891-899.

- Mirzaei, M., Zeinali, A., Razmjoo, A., Nazemi, M., 2009. "On prediction of the strength levels and failure patterns of human vertebrae using quantitative computed tomography (QCT)-based finite element method." *Journal of Biomechanics* 42, 1584-1591.
- Oakland, R.J., Furtado, N.R., Wilcox, R.K., Timothy, J., Hall, R.M., 2009. "Preliminary biomechanical evaluation of prophylactic vertebral reinforcement adjacent to vertebroplasty under cyclic loading." *The Spine Journal* 9, 174-181.
- Oda, I.M.D., Abumi, K.M.D., Cunningham, B.W.M., Kaneda, K.M.D.a., McAfee, P.C.M.D., 2002. "An In Vitro Human Cadaveric Study Investigating the Biomechanical Properties of the Thoracic Spine." *Spine* 27, E64-E70.
- Öhman, C., Baleani, M., Perilli, E., Dall'Ara, E., Tassani, S., Baruffaldi, F., Viceconti, M., 2007. "Mechanical testing of cancellous bone from the femoral head: Experimental errors due to off-axis measurements." *Journal of Biomechanics* 40, 2426-2433.
- Panjabi, M.M., Duranceau, J., Goel, V., Oxland, T., Takata, K., 1991. "Cervical human vertebrae. Quantitative three-dimensional anatomy of the middle and lower regions." *Spine (Phila Pa 1976)* 16, 861-869.
- Panjabi, M.M., Goel, V., Oxland, T., Takata, K., Duranceau, J., Krag, M., Price, M., 1992. "Human lumbar vertebrae. Quantitative three-dimensional anatomy." *Spine (Phila Pa 1976)* 17, 299-306.
- Panjabi, M.M., Kato, Y., Hoffman, H., Cholewicki, J., Krag, M., 2000. "A Study of Stiffness Protocol as Exemplified by Testing of a Burst Fracture Model in Sagittal Plane." *Spine* 25, 2748-2754.
- Panjabi, M.M., Krag, M.H., Goel, V.K., 1981. "A technique for measurement and description of three-dimensional six degree-of-freedom motion of a body joint with an application to the human spine." *Journal of Biomechanics* 14, 447-449, 451-460.

- Panjabi, M.M., Oxland, T.R., Kifune, M., Arand, M., Wen, L., Chen, A., 1995. "Validity of the three-column theory of thoracolumbar fractures. A biomechanic investigation." *Spine (Phila Pa 1976)* 20, 1122-1127.
- Panjabi, M.M., Oxland, T.R., Yamamoto, I., Crisco, J.J., 1994. "Mechanical behavior of the human lumbar and lumbosacral spine as shown by three-dimensional load-displacement curves." *J Bone Joint Surg Am* 76, 413-424.
- Pfeiffer, M., Gilbertson, L.G., Goel, V.K., Griss, P., Keller, J.C., Ryken, T.C., Hoffman, H.E., 1996. "Effect of specimen fixation method on pullout tests of pedicle screws." *Spine (Phila Pa 1976)* 21, 1037-1044.
- Pollintine, P., Luo, J., Offa-Jones, B., Dolan, P., 1005 Adams, M.A., 2009. "Bone creep can cause progressive vertebral deformity." *Bone* 45, 466-472.
- Prakash, Prabhu, L.V., Saralaya, V.V., Pai, M.M., Ranade, A.V., Singh, G., Madhyastha, S., 2007. "Vertebral body integrity: a review of various anatomical factors involved in the lumbar region." *Osteoporos Int* 18, 891-903.
- Rohlmann, A., Gabel, U., Graichen, F., Bender, A., Bergmann, G., 2007. "An instrumented implant for vertebral body replacement that measures loads in the anterior spinal column." *Med Eng & Phys* 29(5): 580-585.
- Rohlmann A, Graichen F, Kayser R, Bender A, Bergmann G. "Loads on a Telemeterized Vertebral Body Replacement Measured in Two Patients." *Spine*. 2008;33(11):1170-9.
- Ross SM. "Peirce's criterion for the elimination of suspect experimental data. *J Engineering Technology*." 2003;2003(Fall):1-12.
- Schendel, M.J., Wood, K.B., Buttermann, G.R., Lewis, J.L., Ogilvie, J.W., 1993. "Experimental measurement of ligament force, facet force, and segment motion in the human lumbar spine." *Journal of Biomechanics* 26, 427-438.
- Shea, M., Edwards, W.T., White Iii, A.A., Hayes, W.C., 1995. "Optimization Technique for the Calculation of In Vitro Three-Dimensional Vertebral Motion." *Journal of Biomechanical Engineering* 117, 366-369.

- Shah, J.S., Coggins, J., Rogers, R., Jayson, M.I., Hampson, W.G., 1976. "Surface strain distribution in isolated single lumbar vertebrae." *Ann Rheum Dis* 35, 51-55.
- Shah, J., Hampson, W., Jayson, M., 1978. "The distribution of surface strain in the cadaveric lumbar spine." *J Bone Joint Surg Br* 60-B, 246-251.
- Taksali S, Grauer JN, Vaccaro AR. "Material considerations for intervertebral disc replacement implants." *Spine J.* 2004;4(6 Suppl):231S-8S.
- Teo, E.C., Paul, J.P., Evans, J.H., Ng, H.W., 2001. "Experimental investigation of failure load and fracture patterns of C2 (axis)." *Journal of Biomechanics* 34, 1005-1010.
- Wachowski, M.M., Mansour, M., Lee, C., Ackenhausen, A., Spiering, S., Fanghänel, J., Dumont, C., Kubein-Meesenburg, D., Nägerl, H., 2009. "How do spinal segments move?" *Journal of Biomechanics* 42, 2286-2293.
- White, A. A. III, Panjabi, M. M., 1990. "Clinical Biomechanics of the Spine." Lippincott Williams & Wilkins.
- Wolfram, U., Wilke, H.J., Zysset, P.K., 2011. "Damage accumulation in vertebral trabecular bone depends on loading mode and direction." *Journal of Biomechanics* 1164-1169.
- Wu, G., Cavanagh, P.R., 1995. "ISB recommendations for standardization in the reporting of kinematic data." *Journal of Biomechanics* 28, 1257-1261.
- Wu, G., Siegler, S., Allard, P., Kirtley, C., Leardini, A., Rosenbaum, D., Whittle, M., D'Lima, D.D., Cristofolini, L., Witte, H., Schmid, O., Stokes, I., 2002. "ISB recommendation on definitions of joint coordinate system of various joints for the reporting of human joint motion--part I: ankle, hip, and spine." *Journal of Biomechanics* 35, 543-548.
- Yamamoto, E., Crawford, P.R., Chan, D.D., Keaveny, T.M., 2006. "Development of residual strains in human vertebral trabecular bone after prolonged static and cyclic loading at low load levels." *J Biomech* 39, 1812-1818.

Zander, T., Rohlmann, A., Bergmann, G., 2004. "Influence of ligament stiffness on the 1175 mechanical behavior of a functional spinal unit." *Journal of Biomechanics* 37, 1107-1111.

RINGRAZIAMENTI:

Desidero ringraziare il Laboratorio di Tecnologia Medica dell'Istituto Ortopedico Rizzoli per avermi dato la possibilità di portare a compimento questo lavoro. Un particolare ringraziamento va al mio relatore, Prof. Ing. Luca Cristofolini, e alla mia paziente correlatrice Ing. Valentina Danesi.

Ringrazio anche i ragazzi e le ragazze, di oggi e di un tempo, del laboratorio: Alessandro, Alina, Axel, Barbara, Camille, Chiara, Corentin, Dalila, Enrico, Eva, Fabio, Giacomo, Gianluca, Gigi, Giordano, Ilaria, Jacopo, Laura, Lorenzo, Luigi, Martino, Mateusz, Matteo, Mauro, Max, Nino, Paolo, Paula, Roberta, Rosaria, Sami, Sara, Saverio, Sissi e Viridiana. Grazie a voi ho trovato un ambiente sereno, armonioso, scherzoso e solidale. Continuate così e non gioite troppo per la mia partenza: infatti chissà che un giorno non possiate riavermi tra i piedi!

Un ringraziamento va anche ai miei amici, tutti: a quelli che, seppur lontani, non mi sono mai stati distanti. A quelli vicini con i quali ho condiviso il quotidiano. Ai palloni che, piangendo fame e spesso non dengandomi, hanno condiviso con me sacrifici e gioie.

Un ringraziamento particolare voglio farlo ai miei genitori. Mamma e papà: con amore mi avete sempre accompagnato, standomi vicini e spronandomi soprattutto quando, per motivi più o meno vari, mi sono sentito abbattuto. Spesso si sente che "è dovuto da un genitore". Non è così. Vi voglio bene assai per questo.

Un ringraziamento va anche alla mia seconda mamma. Sì parlo proprio di te nonna: con te ho vissuto questi anni, chiudendoti ogni tanto nella dispensa di nascosto, oppure costringendoti a ballare mentre ti trovavi seppellita in un mio abbraccio. Ti ringrazio Nonnoski anche se, con un semplice grazie, non riesco a rendere tutta la gratitudine che provo.

Fratelli belli (non gasatevi troppo però!): voglio dire grazie anche a voi. Vi suonerà strano, ma è così: se sono arrivato fin qui è anche grazie a voi. Mi rendo conto che come fratello posso essere stato (e sono) un gran rompiscatole, però posso anche dirvi che per qualunque cosa io sarò sempre presente per voi: siamo praticamente una squadra di basket e come tale dobbiamo comportarci.

Un abbraccio particolare va anche alle mie fanciulle: Valentina, Eleonora e Francesca. Mi siete state accanto, sopportandomi e condividendo con me cose belle e meno belle, lontananze, quotidianità, ma soprattutto complicità, carezze e sorrisi.

È pertanto a voi tutti e a quelli che non ho nominato, pur avendoli nei miei pensieri, che dedico questo mio primo traguardo.

Sempre sorridente...

...Fra.