

FACOLTÀ DI INGEGNERIA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE
In Ingegneria Meccanica

SVILUPPO DI UN MODELLO STOCASTICO
PER LA SIMULAZIONE DI
SPERIMENTAZIONI CLINICHE DI NUOVI
TRATTAMENTI PER L'OSTEOPOROSI

Tesi in Biomeccanica Computazionale

Relatore

Prof. Marco Viceconti

Candidato

Giacomo Savelli

Correlatore

Dott. Antonino Amedeo La Mattina

Anno accademico 2020/2021

Sessione VI

Sommario

INTRODUZIONE.....	4
1 Fratture fragili del femore prossimale.....	6
1.1 Cenni di citologia, istologia e anatomia del femore.....	6
1.1.1 Citologia.....	7
1.1.2 Istologia.....	8
1.1.3 Anatomia.....	9
1.2 Osteoporosi ed infragilimento del femore.....	11
1.2.1 Eziologia e fattori di rischio.....	11
1.2.2 Sintomatologia e mortalità.....	12
1.2.3 Diagnosi dell'osteoporosi.....	13
1.2.4 Stima del rischio di frattura.....	15
1.2.5 Trattamento.....	17
1.3 Cadute laterali.....	19
1.3.1 Analisi Biomeccanica.....	20
1.4 Trial Clinici.....	21
1.4.1 Fasi di un <i>clinical trial</i>	22
1.4.2 Trial clinici per farmaci contro l'osteoporosi.....	24
1.5 Conclusione.....	25
2 Predizione del rischio di fratture e <i>in silico trials</i>	27
2.1 Predizione del rischio di frattura basata su modelli FEM.....	27
2.1.1 Metodo degli elementi finiti.....	27
2.1.2 Modelli agli elementi finiti del femore prossimale da dati CT.....	29
2.1.3 Stima della resistenza meccanica del femore attraverso modelli agli elementi finiti ed implementazione di tale dato come parametro clinico.....	32
2.1.4 Atlanti statistici del femore prossimale per la generazione di modelli.....	34
2.1.5 Modelli agli elementi finiti del femore prossimale da dati DEXA.....	36

2.2 In silico trial	36
2.2.1 Concezione e sviluppo	37
2.2.2 Prospettive: <i>Replace, Reduce & Refine</i>	38
2.2.2 Limiti e vantaggi degli <i>In Silico Clinical Trial</i>	39
2.3 Conclusione	40
3 Materiali e metodi	42
3.1 Modello di caduta	42
3.3.1 Determinazione delle cadute all'interno della popolazione	44
3.3.2 Determinazione stocastica delle condizioni di carico e della forza applicata al grande trocantere	45
3.3.3 Analisi agli elementi finiti	47
3.2 Sviluppo ed implementazione della coorte virtuale	48
3.2.1 Stima dell'aBMD da modelli FE	48
3.2.1 Generazione della coorte virtuale	49
3.2.2 Modello di invecchiamento	53
3.3 Simulazione della sperimentazione clinica	56
3.3.1 Analisi di stabilità	56
3.3.2 Confronto retrospettivo	58
4 Risultati e discussione	60
4.1 Analisi di convergenza sulla discretizzazione dell'invecchiamento	60
4.1.1 Generazione della coorte ed effetti del modello di riassorbimento osseo	60
4.1.2 Studio di convergenza sul <i>time-step</i> di invecchiamento	62
4.2 Analisi di stabilità del rischio di frattura calcolato attraverso il modello stocastico e stima del costo computazionale	65
4.2.1 Stabilità del rischio di frattura	66
4.2.2 Stima del costo computazionale	69
4.3 Simulazione della sperimentazione clinica	69
4.4 Limiti dello studio ed opportune implementazioni	74

5 Conclusioni.....	76
Bibliografia.....	78

INTRODUZIONE

Il miglioramento di sostenibilità ed efficienza in ambito medico-sanitario, a fronte dell'aumento demografico e della crescita dell'aspettativa di vita, rappresenta una delle maggiori sfide globali e richiederà il massimo impegno ed accordo di comunità scientifica, enti regolatori ed industria. In questa prospettiva si colloca la diffusione di *In Silico Clinical Trials*, ovvero l'utilizzo di tecniche computazionali di simulazione al calcolatore per lo sviluppo e/o la valutazione regolatoria di prodotti, dispositivi ed interventi medici. La sperimentazione *in vivo*, infatti, comporta la maggior parte dell'onere finanziario relativo allo sviluppo di un nuovo dispositivo medico o trattamento, nonché una parte cospicua del *time to market* del progetto; con l'ausilio di metodi computazionali si persegue l'obiettivo di ridurre, affinare e parzialmente sostituire tale fase con prove virtuali.

Nel presente studio sono state condotte analisi al fine di sviluppare un modello stocastico in grado di simulare *in silico* un processo di sperimentazione clinica relativa al trattamento dell'osteoporosi.

In un primo momento, preso in considerazione un modello discreto di riassorbimento osseo nel tempo, è stata condotta un'analisi di convergenza per verificare se e quanto l'ampiezza dell'intervallo di discretizzazione influisse sull'*endpoint* del *trial* clinico, ovvero le fratture fragili del collo del femore in seguito a caduta laterale.

Successivamente si è stimato il costo computazionale relativo alla simulazione in silico di studi clinici sull'osteoporosi di durata variabile, verificando il numero di ripetizioni dell'intera campagna di simulazione necessarie alla stabilizzazione della media dei risultati.

Infine è stata indagata la possibilità di validare i modelli stocastici in questione rispetto a dati provenienti dalla letteratura: in particolare è stato accoppiato un modello di riassorbimento osseo relativo a donne osteopeniche ed osteoporotiche in presenza e in assenza di trattamento al modello multi-scala relativo al rischio di frattura. È stata inoltre condotta una campagna di simulazione apportando delle modifiche alla definizione dei parametri che definiscono la severità dell'impatto tra il grande trocantere ed il suolo.

È stato utilizzato un modello agli elementi finiti del femore prossimale di ogni paziente per simulare le cadute attraverso il software *ANSYS Mechanical APDL*, ed è stato

possibile sostenere il grande onere computazionale grazie alle risorse di *high-performance computing* messe a disposizione dal centro computazionale CINECA.

Nel primo capitolo viene brevemente descritto il fenomeno delle fratture fragili del femore prossimale dal punto di vista clinico, sociale e biomeccanico; inoltre viene fatta una breve panoramica dei trattamenti possibili. In seguito, vengono brevemente esposti alcuni concetti fondamentali nel campo degli studi clinici, in particolare a quelli relativi al trattamento dell'osteoporosi.

Il secondo capitolo riassume brevemente l'attuale stato dell'arte dello sviluppo e diffusione di tecniche computazionali per stimare il rischio di fratture osteoporotiche. Particolare attenzione è stata riservata a quei modelli agli elementi finiti che intendono determinare la resistenza meccanica delle ossa, i quali potrebbero essere implementati nella progettazione e conduzione di "*in silico trials*".

Nel terzo capitolo si illustrano i materiali e metodi utilizzati nel presente lavoro, in particolare i modelli stocastici utilizzati per rappresentare virtualmente la caduta laterale cercando di rappresentare il caso reale. Si espongono inoltre le strategie adottate al fine di limitare il costo computazionale del processo.

Infine, nel quarto capitolo vengono analizzati i risultati ottenuti, mettendo in luce i limiti relativi all'approccio tentato e proponendo possibili sviluppi futuri.

1 Fratture fragili del femore prossimale

Si definisce frattura fragile un evento di rottura del tessuto osseo in seguito all'applicazione di forze meccaniche la cui intensità, normalmente, non provocherebbe tale effetto. Il fatto che le forze coinvolte nel fenomeno siano uguali o inferiori a quelle prodotte da una caduta che abbia origine da posizione eretta e ferma è stato scelto dall'Organizzazione Mondiale di Sanità come criterio al fine di identificare il fenomeno². In EU6 (Germania, Francia, Italia, Regno Unito, Spagna e Svezia) nel 2017 si sono verificate oltre 500000 fratture fragili al femore, cifra destinata ad aumentare con il progressivo aumento dell'aspettativa di vita e dell'età media della popolazione³. Il rischio di subire una frattura fragile e le conseguenze che ne derivano è maggiore per le donne rispetto agli uomini, ed è confrontabile con quello relativo a patologie comuni come *ictus* cerebrali e malattie cardiovascolari. Il costo economico annuo del fenomeno (anch'esso in crescita) è stato stimato superiore a diciannove miliardi di euro³; ad esso va associato, ogni anno, un elevatissimo costo sociale in *Quality Adjusted Life Years* (QALY) e *Disability Adjusted Life Years* (DALY), nell'ordine delle centinaia di migliaia di anni di vita in salute perduti³.

La perdita di competenza strutturale del tessuto osseo associata all'invecchiamento può rivelarsi catastrofica e causare una frattura, specialmente nel contesto di sollecitazione, opposta a quella fisiologica, provocata da una caduta⁴. Va inoltre preso in considerazione un generale peggioramento della qualità del controllo neuromotorio tipico dell'invecchiamento, che comporta un'aumentata probabilità di caduta⁵. La combinazione di osteoporosi e degrado neuromotorio estremamente severi può provocare una frattura spontanea, ovvero non associata ad una caduta⁶, benché quest'eventualità si verifichi molto più raramente⁷.

1.1 Cenni di citologia, istologia e anatomia del femore

Il femore è un osso lungo collocato nella parte superiore degli arti inferiori, la coscia; dal lato prossimale esso si articola con le ossa del bacino, formando l'anca, mentre l'estremità distale, insieme a tibia e patella, compone l'articolazione del ginocchio. Il femore è l'osso più lungo dello scheletro ed è sede di numerosi tendini e legamenti, nonché di origine ed

inserzione di ventidue muscoli, responsabili dei movimenti di flessione-estensione, intra-extra rotazione e ad-abduzione⁸.

1.1.1 Citologia

Il tessuto osseo è costituito da una matrice extra-cellulare, per un terzo organica e per due terzi inorganica, e da un numero, relativamente ridotto, di cellule di quattro tipi diversi:

- **Cellule osteogeniche:** Cellule piatte e fusiformi, sostanzialmente indistinguibili dalle cellule che si occupano della sintesi del collagene, i fibroblasti, fintanto che non assumano la funzione di sintesi ossea. Le osteogeniche appartengono alla linea delle cellule staminali mesenchimali e si differenziano in osteoblasti ed osteociti⁹.
- **Osteoblasti:** Cellule mononucleate di dimensioni molto ridotte, si trovano sulla superficie dell'osso e assumono una forma cuboidale quando attivi. La funzione degli osteoblasti è la sintesi di collagene e la secrezione di proteine necessarie a sviluppare e mineralizzare la matrice extracellulare. I meccanismi biochimici di regolazione dell'attività osteoblastica sono numerosi, tra cui il fattore di crescita trasformante (TGF- β), che induce la sintesi di matrice⁹.
- **Osteociti:** Cellule di forma appiattita, situati in cave dalla matrice ossea, dette lacune osteocitarie, da cui protrudono prolungamenti citoplasmatici, i quali, diffondendosi all'interno di canalicoli attraverso il tessuto mineralizzato, formano tra loro una rete, che garantisce la comunicazione tra gli osteociti e lo svolgimento delle funzioni metaboliche. Gli osteociti, che derivano da osteoblasti rimasti intrappolati nella matrice extracellulare, sono deputati al mantenimento dell'equilibrio tra l'attività di apposizione e di rimozione di tessuto osseo mineralizzato⁹.
- **Osteoclasti:** Cellule di forma poliedrica, polinucleate e di notevoli dimensioni che si trovano sulla superficie del tessuto osseo, sono deputate al riassorbimento del tessuto calcificato. La nascita e proliferazione degli osteoclasti è regolata dal legarsi della proteina RANK al recettore RANKL di cellule progenitrici; l'attività di queste cellule sembra invece essere favorita da un ormone secreto dalle ghiandole paratiroidi, il paratormone, ed inibita da uno tiroideo, la citochina⁹.

La parte organica della matrice extracellulare è costituita per il novanta per cento da fibre di collagene, composti proteici in grado di conferire tenacità e deformabilità al tessuto. La parte inorganica, invece, contiene principalmente idrossiapatite, un minerale a base di calcio e fosforo che precipita tra le fibre di collagene formando cristalli esagonali. L'idrossiapatite ossea presenta una composizione non stechiometrica, risultando perciò chimicamente instabile e relativamente semplice da rimuovere, facilitando l'azione osteoclastica ed il rimodellamento osseo⁹.

1.1.2 Istologia

La struttura dell'osso maturo, in assenza di fratture in via di guarigione, è formata da tessuto osseo lamellare, nel quale fibre di collagene disposte con forte direzionalità si dispongono in strati, detti appunto lamelle, secondo schemi che possono rendere l'osso più o meno denso, resistente o meccanicamente anisotropo.

Quando le lamelle si dispongono in maniera fitta e concentrica a formare gli osteoni, longitudinalmente allineati con l'osso, il tessuto prende il nome di osso corticale. Il cilindro così ottenuto costituisce l'unità strutturale dell'osso corticale, può avere un diametro tra i 150 ed i 250 μm ed essere lungo fino a qualche millimetro (Figura 1.1); la struttura presenta un canale centrale (canale di *Havers*) deputato alla vascolarizzazione del tessuto, che comunica con le lacune osteocitarie attraverso i canali di *Volkman*. Gli spazi tra gli osteoni cilindrici sono riempiti da pacchetti di lamelle chiamate lamelle interstiziali e l'intera struttura è tenuta insieme, all'interno e all'esterno, da un terzo tipo di lamelle dette circonferenziali^{9,10}.

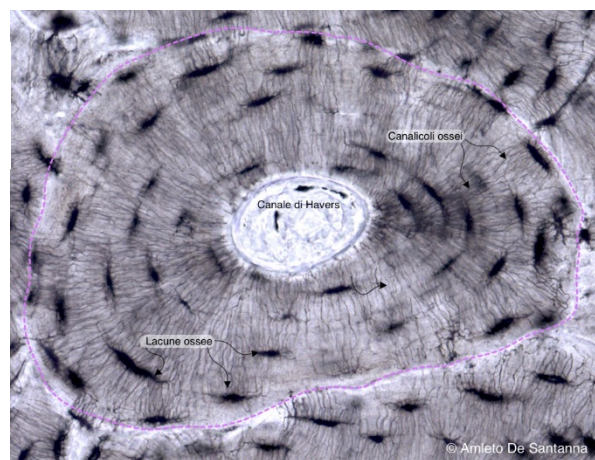


Fig1.1 Sezione istologica trasversale di osso corticale. Immagine da [10]

Alternativamente le lamelle possono organizzarsi parallelamente a formare le trabecole, strutture di dimensione variabile che costituiscono un reticolo di densità anch'essa variabile; questo tipo di tessuto osseo è chiamato spugnoso o trabecolare (Figura 1.2). Gli spazi tra le trabecole sono riempiti di midollo rosso, il quale, nonostante non possieda proprietà resistenziali dal punto di vista meccanico, fornisce una certa viscoelasticità all'osso, smorzando le deformazioni ad alta velocità. Le trabecole si dispongono in modo tale da assecondare le linee di carico associate alle attività fisiologiche; pertanto, le capacità resistenziali dell'osso risulteranno dipendenti dalla direzione delle sollecitazioni a cui esso viene sottoposto⁹.

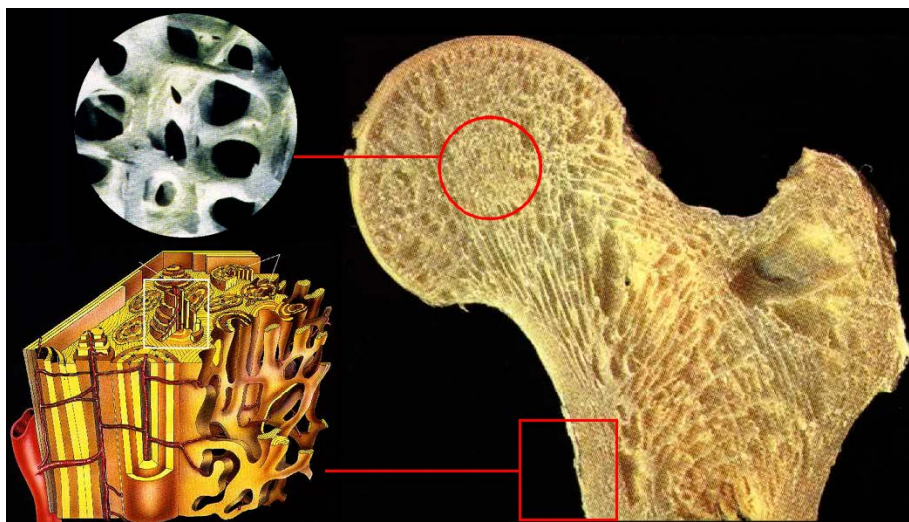


Fig. 1.2 Sezione femore prossimale in cui sono evidenziate le trabecole (in alto) e lo strato corticale (in basso).

1.1.3 Anatomia

Facendo parte della categoria delle ossa lunghe, il femore si divide in tre parti: un lungo corpo centrale, la diafisi, e le due estremità prossimali e distali, le epifisi (Figura 1.3)¹¹.

La diafisi del femore si sviluppa in direzione mediale dall'alto verso il basso ed è attraversata dal canale midollare, che contiene il midollo giallo ed è circondato da osso corticale. Come tutte le ossa, membrana esterna, che avvolge l'intero organo, è detta periostio; quella interna invece, che delimita le cavità midollari, è detta endostio.

L'epifisi distale, cioè la parte dell'osso che si articola con tibia e patella, presenta delle prominenze ossee, condilo ed epicondilo mediali e laterali, e una piccola depressione centrale che prende il nome di cavità patellare. Questa è costituita prevalentemente da osso trabecolare, e presenta al suo interno midollo rosso.

L'epifisi prossimale costituisce, insieme al bacino, l'articolazione coxo-femorale, o anca, e comprende¹¹:

- **Testa del femore:** porzione di sfera (circa due terzi) con una superficie relativamente liscia e una piccola depressione in sommità; la funzione di questa parte è articolarsi con l'acetabolo dell'anca, garantendo stabilità e al contempo un'ampia possibilità di movimento.
- **Collo del femore:** struttura snella che collega testa e corpo dell'organo, l'angolo che si forma tra collo e corpo è variabile, entro certi limiti, all'interno della popolazione e garantisce la grande mobilità degli arti inferiori.
- **Grande e piccolo trocantere:** due prominenze ossee presenti rispettivamente in posizione laterale ed in posizione mediale. Il grande trocantere è di forma quadrangolare, lateralmente arrotondato e presenta una cresta accentuata superiormente; il piccolo invece è di forma tozza e tondeggiante e si trova proprio sotto la giunzione tra collo e corpo del femore.

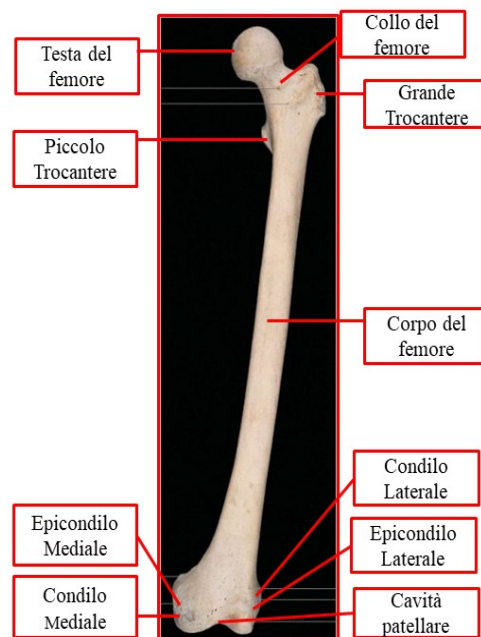


Fig. 1.3 Immagine frontale del femore.

1.2 Osteoporosi ed infragilimento del femore

L'osteoporosi rappresenta un disordine metabolico del tessuto osseo, estremamente diffuso nella popolazione mondiale, che provoca la parziale diminuzione delle proprietà meccaniche ad esso associate¹².

In condizioni non patologiche l'equilibrio del contenuto minerale nel tessuto osseo è mantenuto dall'attività bilanciata di osteoblasti ed osteoclasti¹³, popolazioni cellulari deputate, rispettivamente, alla deposizione ed alla rimozione e smaltimento di tessuto calcificato. Un'anomala riduzione dell'attività osteoblastica, come un aumento dell'azione osteoclastica, porta alla progressiva diminuzione della densità minerale ossea (*Bone Mineral Density*, BMD), il che si traduce nell'assottigliamento delle trabecole, nella riduzione dello spessore dell'osso corticale e nell'aumento generale della porosità ossea, da cui il nome della patologia.¹²

La probabilità che un individuo sia osteoporotico è strettamente collegata a sesso ed età. Si è stimato che nel 2015 in EU6 il 22.5% delle donne oltre i cinquant'anni fosse affetto da questa patologia, a fronte del 6.8% degli uomini nella stessa fascia d'età; ciò significa 15.8 milioni di donne e 4.2 milioni di uomini con un aumentato rischio di subire una frattura fragile³.

1.2.1 Eziologia e fattori di rischio

L'osteoporosi può insorgere in seguito al verificarsi di cause primarie e secondarie¹². Il raggiungimento della menopausa o, più in generale, qualsiasi drastica diminuzione del livello di estrogeni, può essere definito una causa primaria; parimenti il naturale processo di invecchiamento porta alla progressiva diminuzione del contenuto minerale dello scheletro, talvolta fino al raggiungimento di una condizione osteoporotica legata alla senilità¹². Numerose possono inoltre essere le cause secondarie: disordini ematopoietici, del sistema endocrino, dell'apparato gastrointestinale e dei tessuti connettivi, ma anche assunzione di farmaci, immobilità prolungata e processi infiammatori legati all'artrosi¹². Sono stati inoltre individuati numerosi fattori di rischio individuale, di diversa gravità, legati più o meno fortemente ad aspetti comportamentali: fumo, bassi livelli di vitamina D, alimentazione povera in calcio, stile di vita sedentario, iponutrizione e basso valore di picco della densità minerale ossea raggiunto in vita (tipicamente dopo l'adolescenza tra i venti e i trent'anni di età)^{12,14}.

1.2.2 Sintomatologia e mortalità

La totale assenza di sintomi percettibili è una delle caratteristiche che rende l'osteoporosi insidiosa e che comporta la necessità di esami regolari; questa patologia infatti rimane sostanzialmente silente e clinicamente irrilevante fintanto che non concorra nel verificarsi di una frattura fragile¹².

Prendendo in considerazione la frattura del femore prossimale, la più disastrosa tra quelle tipicamente indotte dall'infragilimento dello scheletro¹⁴, il danneggiamento si verifica solitamente in due diverse regioni: quella corrispondente al collo del femore e quella trocanterica¹⁵.

Le fratture fragili del collo del femore possono essere ulteriormente classificate basandosi sulla specifica regione fratturata in: sub-capitali (le più comuni), trans-cervicali e basi-cervicali; allo stesso modo quelle che si verificano in corrispondenza dei trocanteri si classificano in intertrocanteriche e petrocanteriche².

Qualora si fosse in grado di trattare tempestivamente la frattura dal punto di vista chirurgico e che questa sia di tipo composto è possibile prendere in considerazione un intervento di fissazione interna o intramidollare, dimostratosi l'alternativa meno invasiva e più funzionale dal punto di vista biomeccanico; tuttavia, al cospetto di fratture scomposte, è necessario avvalersi di apparati di fissazione esterni, strutture più complesse e maggiormente soggette a malfunzionamenti, o intervenire direttamente con un intervento di artoplastica, che prevede la sostituzione della parte danneggiata di tessuto con una protesi (Figure 1.4 e 4.5)².

La riabilitazione dopo un danno di tale intensità, specialmente considerando l'età avanzata dei soggetti, è estremamente gravosa e non esente dal rischio di complicazioni come necrosi, fenomeni infiammatori estesi e mobilitazione dell'impianto di fissazione².

Tenendo presente queste considerazioni, l'esito di una frattura femorale è, come precedentemente accennato, tipicamente gravissimo: il tasso di mortalità a un anno da una frattura all'anca è stimato tra il 20% ed il 25%; tale evento, inoltre, anche qualora non porti al decesso o a gravi forme di disabilità, provoca comunque una sensibile perdita di autosufficienza^{6,16}.

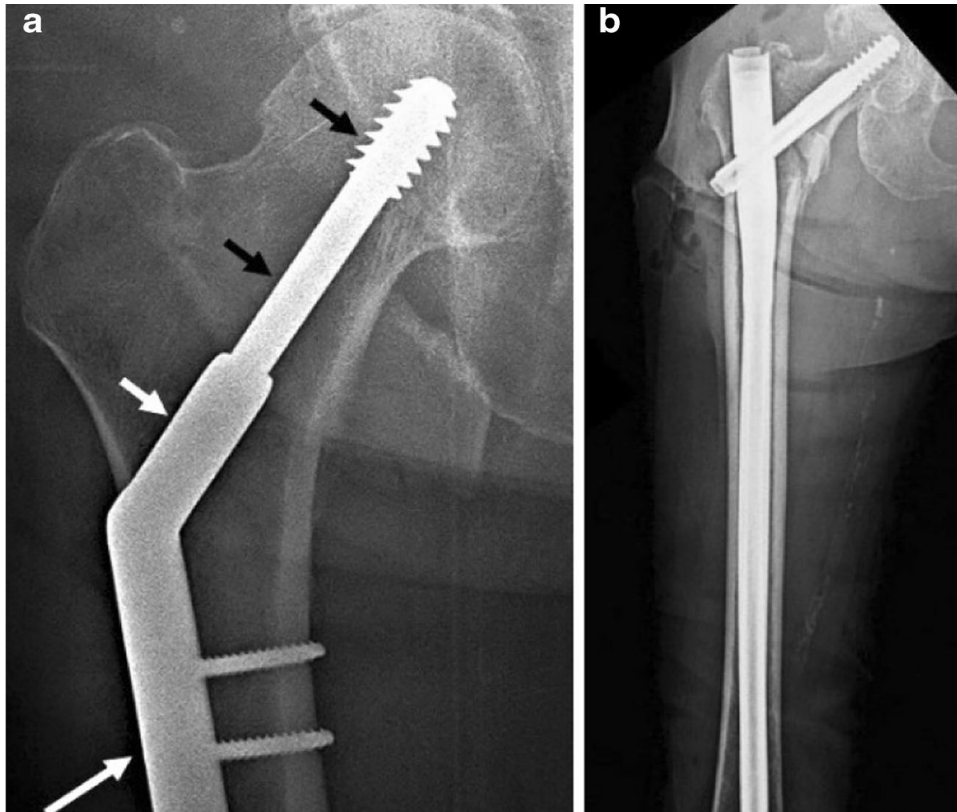


Fig. 1.4 Intervento di fissazione su frattura trocanterica con apparato esterno (a) e intramidollare (b). Immagine da [2]

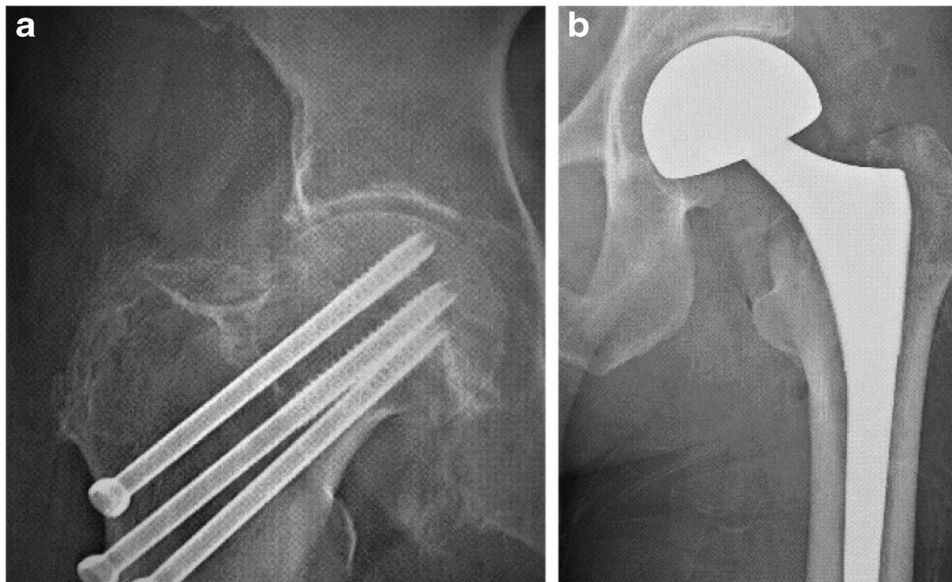


Fig. 1.5 Intervento di fissazione su frattura del collo del femore con viti di fissazione (a) e sostituzione con protesi (b). Immagine da [2]

1.2.3 Diagnosi dell'osteoporosi

L'Organizzazione Mondiale della Sanità ha identificato come parametro diagnostico per l'osteoporosi il valore della densità minerale per unità di area (*areal bone mineral density*,

aBMD) misurata tramite assorbimetria a raggi X a doppia energia (*dual-energy X-ray absorptiometry*, DXA). Tale tecnica, che rappresenta l'attuale *gold standard* del settore¹⁴, si basa sul principio fisico per il quale radiazioni di diversa energia vengono attenuate in modo diverso da tessuti di diversa densità e composizione chimica: note le proprietà attenuanti dei tessuti si vanno dunque a confrontare i profili di assorbimento relativi ai due fasci energetici utilizzati, determinando la composizione percentuale relativa della massa corporea¹⁷. I vantaggi principali di questa tecnica sono l'elevata precisione, la breve durata dell'esame e la ridotta quantità di radiazioni coinvolte (1-50 μSv , il 90% in meno di una radiografia tradizionale)^{14,17}.

D'altra parte, poiché la misurazione avviene attraverso una sola proiezione del piano frontale lungo l'asse sagittale, questa risulta fortemente influenzata dall'orientazione del femore; in particolare è stato osservato come un'eccessiva intra o extra rotazione del femore provochi, rispettivamente, una diminuzione o un aumento non trascurabili del valore di aBMD misurato^{18,19}. Inoltre, occorre considerare come l'inomogeneità intrinseca dei tessuti molli attorno allo scheletro e l'eventuale presenza di tessuti calcificati, ad esempio di origine traumatica o infiammatoria, possano rappresentare fonti di imprecisione²⁰.

Pur tenendo conto di tutti gli svantaggi, la DXA è considerata la tecnica preferibile nel monitoraggio individuale periodico al fine di quantificare con precisione soddisfacente la perdita di densità minerale ossea, evidenziando un possibile aumento del rischio di frattura.

Una volta ottenuto il valore, in g/cm^2 , dell'aBMD del paziente, questa viene parametrizzata, al fine di renderne più agevole l'interpretazione clinica, come *T-score*¹². Questo è un numero puro, che corrisponde al numero di deviazioni standard di differenza, in positivo o in negativo, tra la proiezione bi-dimensionale della densità minerale ossea del paziente e quella media^{14,21,22} caratteristica degli adulti del proprio sesso di età compresa tra i venti e i ventinove anni.

$$T = \frac{aBMD - \mu_{aBMD}}{\sigma_{aBMD}} \quad (1)$$

Sono considerate valide le misurazioni effettuate in corrispondenza di vertebre lombari e/o femore prossimale, prendendo poi in considerazione i relativi valori di riferimento per media e deviazione standard per il calcolo del *T-score*²¹. La soglia al di sotto della quale si identifica un paziente come osteoporotico è uguale a -2.5; i valori compresi tra -1 e -

2.5 sono classificati come una condizione non patologica di ridotto contenuto minerale del tessuto osseo, che prende il nome di osteopenia²¹.

Un parametro alternativo, lo *Z-score*, confronta la densità minerale ossea del soggetto con quella media degli individui della stessa popolazione, età e sesso¹⁴.

Entrambi i parametri richiedono dunque la precedente misurazione di una quantità in una popolazione di riferimento.

La *Quantitative Computed Tomography* (QCT) è una seconda tecnica utilizzabile al fine di misurare aBMD e *T-score*¹⁴. Tale misurazione è ottenuta a partire dai normali scanner per tomografia computerizzata (CT) con l'ausilio di un fantoccio di calibrazione e di software dedicati²³: il paziente viene sottoposto ad una consueta procedura tomografica insieme al fantoccio, la cui composizione è nota, e la scansione del fantoccio è utilizzata per calibrare la relazione tra i coefficienti di attenuazione in *Hounsfield Units* (HU) e la densità di idrossiapatite calcica²³, il componente strutturale del tessuto minerale osseo. I principali vantaggi della QCT rispetto alla DXA sono la misurazione volumetrica del contenuto minerale (g/cm^3) e la capacità di discriminare tra tessuto osseo corticale e trabecolare; tenendo presente che il metabolismo del tessuto minerale è accelerato in corrispondenza delle trabecole ciò garantisce a questa tecnica una maggiore suscettibilità alla perdita di BMD²³. D'altra parte, la tomografia computerizzata sottopone il paziente a una dose più elevata di radiazioni, garantisce una precisione meno elevata²³ e, soprattutto, non produce un risultato immediatamente traducibile in parametro clinico; le linee guida dell'Organizzazione Mondiale della Sanità in merito alla diagnosi dell'osteoporosi, infatti, sono relative al *T-score* calcolato a partire dai dati di densità minerale ossea areale prodotti dalla DXA, ma non a quelli volumetrici prodotti dalla QCT^{23,24}.

La presenza di fratture vertebrali preesistenti, indipendentemente dal valore di BMD misurato, rappresenta un valido criterio diagnostico per l'osteoporosi e per identificare soggetti a rischio elevato di recidiva²⁵.

1.2.4 Stima del rischio di frattura.

Pur essendo l'osteoporosi senza dubbio una causa primaria, circa la metà delle fratture del femore prossimale si verificano in pazienti classificati in base al *T-score* come osteopenici, dunque caratterizzati da bassa densità minerale ossea, considerata tuttavia fisiologica in relazione all'età avanzata²⁶. Da tale considerazione scaturisce la necessità

di sviluppare protocolli che, pur tenendone conto, non si basino unicamente sulla aBMD al fine di stratificare la popolazione nelle varie classi di rischio²⁷.

A tale scopo è stato proposto di tenere in considerazione nella stima del rischio di frattura, oltre che la aBMD, anche altri fattori di rischio clinico al fine di ottenere un aumento del potere predittivo^{28,29}. Il più importante fattore di rischio clinico è la presenza di una frattura fragile nell'anamnesi del paziente; tuttavia, sono numerosi gli elementi che contribuiscono alla stima finale: età, sesso, indice di massa corporea (*Body Mass Index*, BMI), osteoporosi secondaria, artrite reumatoide, presenza di fratture fragili nella storia clinica dei genitori, fumo e consumo eccessivo di alcool²⁸.

L'Organizzazione Mondiale della Sanità ha promosso lo sviluppo dell'algoritmo FRAX[®] (*Fracture Risk Assessment Tool*), che tiene conto dei fattori appena citati al fine di stimare il rischio di incorrere in una cosiddetta frattura osteoporotica maggiore (anca, omero, colonna vertebrale e polso) e quello relativo alla sola frattura del femore²⁸. La costruzione dell'algoritmo si è basata su dati primari estrapolati da studi epidemiologici di vasta portata: sono stati presi in considerazione nove popolazioni, ognuna composta da oltre mille individui, tra Nord America, Europa, Asia ed Australia, e le relazioni ottenute sono state in seguito validate, usando misurazioni di aBMD del collo del femore, sfruttando undici coorti con una distribuzione geografica coerente con le precedenti³⁰. Due importanti vantaggi del modello FRAX[®] sono la possibilità di calibrazione in alcuni paesi per i quali si ha abbondanza di dati (Austria, Cina, Germania, Francia, Italia, Giappone, Regno Unito, Spagna, Stati Uniti, Svezia, Svizzera e Turchia) e l'uso di tecniche di regressione al fine di ottenere funzioni di rischio di morte sulla base di quei fattori clinici che sono associati ad un calo dell'aspettativa di vita oltre che ad un aumento del rischio di frattura³⁰. Strumenti di predizione simili sono diffusi in molti paesi, con differenze sui parametri presi in considerazione e la loro incidenza, ma non sul principio di funzionamento.

Negli ultimi anni sono stati inoltre sviluppati numerosi protocolli di stima del rischio di frattura che tengono conto delle proprietà meccaniche del tessuto osseo calcolate attraverso tecniche ingegneristiche³¹, in particolare il metodo degli elementi finiti³²; tali tecniche saranno oggetto del secondo capitolo di questa tesi.

1.2.5 Trattamento

Una prima strategia per ridurre il rischio di subire una frattura fragile è quella di contrastare la diminuzione di densità minerale ossea, contribuendo al mantenimento delle proprietà meccaniche fisiologiche del tessuto osseo.

Esistono percorsi non farmacologici di trattamento dell'osteoporosi, che si basano su un approccio comportamentale incentrato su diversi aspetti dello stile di vita individuale³³. Dal punto di vista alimentare è raccomandato un adeguato apporto di vitamina D e di calcio, prestando particolare attenzione alla quota di quest'ultimo eventualmente introdotto tramite integratori alimentari (per complementare un'eventuale apporto insufficiente derivante dalla dieta): sembra infatti che le due modalità di assunzione abbiano effetti opposti sulla probabilità di sviluppare calcoli renali, aumentata da un'elevata quantità di calcio introdotta tramite supplementi alimentari³³. Si raccomanda inoltre di limitare o eliminare il consumo di alcool e tabacco, di praticare esercizio fisico con sovraccarichi e di adottare strategie atte a ridurre a monte il rischio di cadere³³ o in alternativa di proteggere le zone a rischio attraverso dispositivi di protezione come gli *hip protectors*³⁴.

I possibili farmaci elegibili per il trattamento dell'osteoporosi si dividono in due gruppi, in base all'azione sul tessuto minerale osseo: quelli appartenenti al primo gruppo si inseriscono nel contesto di una terapia anti-riassorbente, ovvero mirata a frenare il processo di riassorbimento osseo, mentre gli altri, ad azione anabolica, cercano di aumentare il tasso di apposizione di nuovo tessuto osseo³³.

Della prima categoria fanno parte i bifosfonati: alendronato, risedronato, acido zolendronico e ibandronato; questi farmaci, presentando grande affinità con la matrice ossea, si legano ad essa ed inibiscono l'azione osteoclastica, producendo un guadagno netto in termini di massa ossea; tra i quattro elencati l'ibandronato è l'unico che non si è dimostrato in grado di ridurre il rischio generale di frattura del femore in modo inequivocabile, sebbene si sia mostrato efficace per la prevenzione delle fratture osteoporotiche vertebrali³³.

Poiché i bifosfonati vengono metabolizzati dai reni, questi non sono indicati in quei pazienti affetti da problemi nefrologici; essi inoltre possono concorrere, pur raramente, all'insorgenza di due rare patologie scheletriche: osteonecrosi mandibolare (*OsteoNecrosis of the Jaw*, ONJ) e fratture fragili atipiche del femore subtrocanteriche e diafisiarie (*Atypical Femur Fractures*, AFFs)³³. Poiché i bifosfonati presentano la capacità

di accumularsi nel tessuto osseo per poi venir rilasciati per mesi o anni dall'interruzione del periodo di assunzione costante, questa è spesso interrotta dopo un certo periodo di tempo onde limitare il rischio di complicazioni ad essa associate³³. L'estensione a lungo termine del *Fracture Intervention Trial* (FIT), un trial clinico statunitense relativo agli effetti dell'alendronato condotto su una coorte di donne a rischio di frattura fragile, non ha rilevato nessun vantaggio evidente nel continuare la terapia per dieci anni, rispetto all'interromperla dopo cinque, per la maggior parte delle partecipanti allo studio, con l'eccezione di chi presentasse una densità minerale ossea particolarmente bassa e un rischio di frattura ad esso associata particolarmente elevato^{33,35}.

Della categoria dei farmaci anti-riassorbimento fa parte anche il denosumab, un anticorpo monoclonale umano. Questo anticorpo inibisce la proteina transmembrana RANKL, necessaria allo sviluppo ed alla sopravvivenza degli osteoclasti³³. Il programma FREEDOM (*Fracture REduction Evaluation of Denosumab in Osteoporosis*) ha messo in luce una riduzione sostanziale del rischio di frattura in donne in menopausa con un *T-score* minore di -2.5, di età superiore ai 75 anni o con preesistenti fratture vertebrali³⁶. Come per i bifosfonati, sono emersi rari casi di ONJ e AFF, ed occorre cautela nella somministrazione a soggetti con problemi renali³³. Qualsiasi interruzione di questa terapia è sconsigliata: sono stati infatti registrati effetti indesiderati di aumentato tasso di riassorbimento osseo dopo un periodo di tempo compreso tra uno e due anni dall'interruzione dell'assunzione³⁷.

Un'altra strategia clinica prevede l'utilizzo di farmaci con attività agonistica/antagonista del recettore tessuto-specifico degli estrogeni (SERM, *Selective Estrogen Receptor Modulators*). Questi provocano un'azione inibitoria del processo di riassorbimento osseo, e possono essere di conseguenza classificati come anti-riassorbitivi. I SERM agiscono come agonisti del recettore estrogenico in corrispondenza di tessuto osseo; l'effetto opposto è invece ottenuto al seno e all'utero, rendendo il farmaco adatto al trattamento di quelle pazienti in cui coesistano alti rischi di frattura e di sviluppo di cancro al seno³³. Gli effetti avversi mostrati comprendono: colpi di calore, peggioramento di ipertrigliceridemia, sanguinamento vaginale, tromboembolia venosa (*Venous ThromboEmbolicism* VTE)³³; la terapia in questione è inoltre controindicata per donne in gravidanza premenopausa, allattamento al seno e con la presenza di VTE nella propria anamnesi³³. Dal punto di vista della durata della terapia è stato osservato come, a differenza dei bifosfonati, l'azione di questi farmaci si estingua in concomitanza di una sospensione o interruzione del trattamento³⁸.

Della categoria anabolizzante fanno invece parte i farmaci analoghi di ormoni paratiroidei (*Parathyroid Hormone Analogues*, PTH). Un dosaggio basso e periodico di tali molecole aumenta infatti l'attività osteoblastica, stimolando la deposizione di nuovo materiale calcificato, in particolare sulla superficie dell'osso, inducendo un aumento della densità minerale ossea³³. Questa classe di farmaci può causare effetti collaterali in soggetti affetti da ipercalcemia; sono stati inoltre registrati i seguenti effetti collaterali: affaticamento, nausea, palpitazioni, dolori addominali e vertigini³³. Proprio come per i SERM, non è possibile interrompere o sospendere l'assunzione di ormoni paratiroidei senza correre il rischio di un peggioramento del quadro clinico relativo allo stato di salute dello scheletro³⁸.

1.3 Cadute laterali

La World Health Organization fornisce la seguente definizione di caduta: “*an event which results in a person coming to rest inadvertently on the ground or floor or other lower level*”³⁹. Come precedentemente indicato, la maggior parte (95%) delle fratture fragili del femore si verificano in seguito ad una caduta⁴⁰, in particolare quando questa ha luogo lateralmente⁴¹.

Analizzando la diffusione del fenomeno non è possibile definire univocamente una frequenza con la quale si verifichi una caduta; volendo costruire un modello descrittivo occorre infatti distinguere, in primis, tra rischio di caduta e tasso di caduta: mentre il primo è un parametro soggettivo che misura la probabilità, per un individuo, di incorrere in una o più cadute in un dato periodo di tempo, il secondo è un dato di popolazione medio che esprime quante cadute si verificano all'interno della popolazione nello stesso periodo. Poiché il fenomeno è caratterizzato da forte variabilità individuale e poiché le conseguenze si manifestano sul lungo periodo ed in modo imprevedibile, è opportuno che si analizzino le dinamiche di popolazione associate alle cadute prendendo in considerazione popolazioni numerose e osservandole per un periodo di tempo elevato⁴². In letteratura sono descritti diversi approcci possibili alla predizione del rischio di frattura, basati sulla compilazione di questionari, l'esecuzione di test o sull'utilizzo di dati clinici del paziente di cui si risulti già in possesso; il tasso di caduta individuale, in ogni caso, riportato a seguito di studi clinici varia in un range mediamente inferiore ad una caduta all'anno ma maggiore di una ogni due.

In letteratura viene riportata la grande difficoltà nel determinare l'affidabilità dei risultati degli studi osservazionali effettuati, a causa della lunga durata, della grande numerosità del campione e della sostanziale impossibilità di monitoraggio continuo nel caso di studi che coinvolgano individui esterni a residenze speciali per anziani e/o ospedali⁴².

1.3.1 Analisi Biomeccanica

Un modello diffusamente adottato per descrivere il corpo umano durante la postura eretta ferma e la fase di deambulazione piana è il pendolo inverso^{43,44}: il centro di massa (*Center Of Mass*, COM) rimane approssimativamente stabile rispetto al piano trasverso e oscilla sui piani sagittale e frontale; tale configurazione risulta intrinsecamente instabile⁴⁴. Il mantenimento dell'equilibrio è ottenuto tramite il concorso di meccanismi diversi: dal punto di vista puramente biomeccanico, infatti, la rigidità muscolare aiuta a mantenere la proiezione del COM entro una certa area vicina ai piedi, contrastando l'instabilità meccanica; dal punto di vista neuromotorio il sistema nervoso centrale integra segnali retroattivi sensoriali e propriocettivi con meccanismi anticipativi basati sulla fusione sensoriale e sull'esperienza⁴⁵. L'avanzare della perdita di tessuto muscolare ed il progressivo indebolimento neurologico, dunque, ostacolano la corretta azione dei meccanismi sopracitati, provocando un aumento del rischio di caduta associato all'invecchiamento.

Il rischio di frattura del femore associato ad una caduta è fortemente legato alle forze che si generano in seguito all'impatto tra grande trocantere e terreno⁴⁰; quando l'estremità laterale dell'osso esercita una forza contro il suolo si genera uno stato tensionale compressivo nella parte superiore e di trazione in quella inferiore del collo del femore, la porzione di osso tra il grande trocantere e la testa femorale⁴. Questa distribuzione delle tensioni è particolarmente pericolosa per questo sito anatomico, nel quale il carico fisiologico associato alla postura eretta e alla deambulazione piana provoca uno stato tensionale opposto, con la parte superiore della struttura è sollecitata a trazione e quella inferiore a compressione (Figura 1.6).

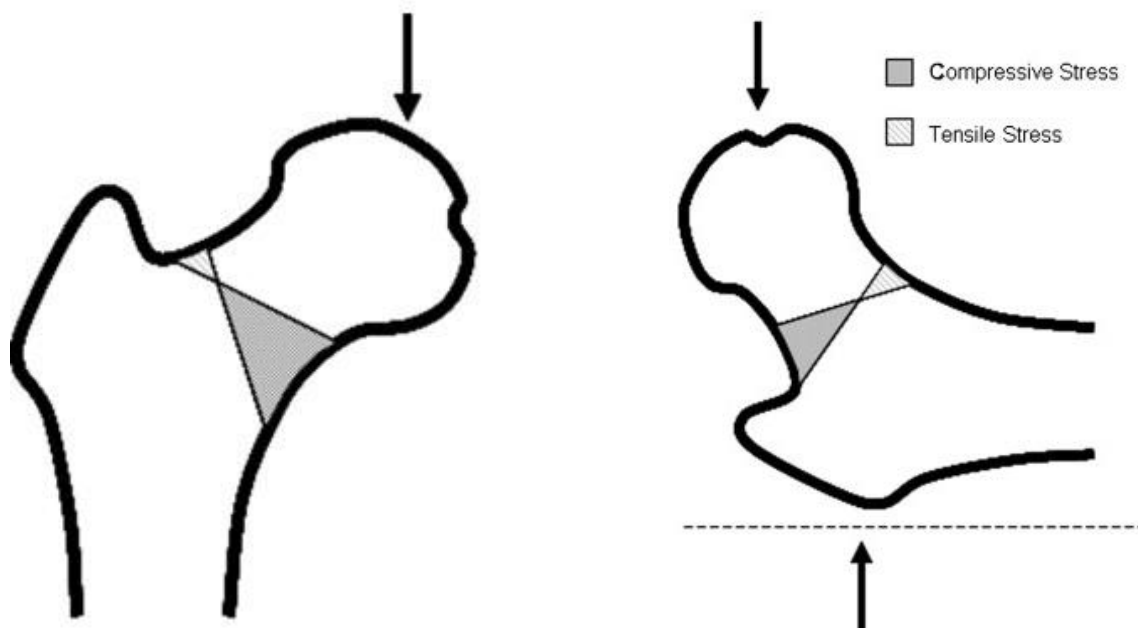


Fig. 1.6 Stato tensionale associato a carichi fisiologici (sinistra) e all'impatto del grande trocantere col terreno (destra).

Al rischio di frattura sono ovviamente associate le sopracitate forze di impatto tra grande trocantere e terreno, la cui determinazione risulta non banale. La caduta, infatti, è un evento meccanicamente complesso la cui trattazione impone di tener conto di un gran numero di parametri: dati biometrici del soggetto (peso, altezza), caratteristiche del terreno, posizione, velocità ed accelerazioni angolari del COM, eventuali strategie di riduzione del danno adottate, eventuali dispositivi di protezione indossati, fattori di attenuazione dovuti alla presenza di tessuti molli e angoli di impatto^{1,46}.

1.4 Trial Clinici

L'AIFA definisce la sperimentazione di un farmaco come “qualsiasi studio sull'uomo finalizzato a scoprire o verificare gli effetti di un nuovo farmaco o di un farmaco già esistente testato per nuove modalità di impiego terapeutico, con l'obiettivo di accertarne la sicurezza o l'efficacia. La sperimentazione si articola in diverse fasi e viene effettuata prima in laboratorio e in modelli animali (sperimentazione preclinica) e poi sull'uomo (sperimentazione clinica).”⁴⁷ Tale definizione può essere estesa per comprendere altri possibili interventi clinici quali utilizzo di dispositivi e procedure medicali, ma anche cambiamenti comportamentali e dello stile di vita⁴⁸; spesso, riferendosi a tali studi, si adotta il termine inglese “*clinical trials*”.

Di particolare importanza nella progettazione di un *clinical trial* è la definizione degli “*end points*”, ovvero i parametri presi in considerazione per giudicare l’effetto dell’intervento in esame, come ad esempio il numero di fratture osservate nella popolazione o la variazione della pressione sanguigna.

Qualora la sperimentazione arrivasse al punto di coinvolgere esseri umani è di fondamentale importanza ottenere dai volontari un consenso informato e rispettare il principio del “*safety-first*”, che implica il concedere la massima priorità alla tutela dell’integrità fisica e psicologica dei partecipanti⁴⁹; una volta scelti i criteri di arruolamento e ricevute le sottoscrizioni si determina quali soggetti includere e quali escludere, tenendo presente che nella fase finale l’insieme di volontari su cui si esegue la sperimentazione dovrebbe rispecchiare quanto più possibile le caratteristiche e la variabilità della popolazione a cui si dovrebbe esser destinato il nuovo trattamento⁴⁹.

Nella progettazione di un trial clinico va inoltre posta particolare attenzione ai costi, che possono raggiungere cifre considerevoli, nell’ordine dei milioni di dollari⁵⁰. Inoltre, la probabilità che un nuovo farmaco superi tutti i passaggi previsti dal processo di indagine degli sviluppatori e venga poi approvato dagli enti regolatori è di appena l’11.83%, a fronte di ingenti flussi di cassa in uscita e ancor maggiori costi legati all’immobilizzazione del capitale per lunghi periodi⁵⁰.

1.4.1 Fasi di un *clinical trial*

I *clinical trials* relativi all’introduzione di un nuovo farmaco consistono di più fasi chiaramente distinte (Figura 1.7).

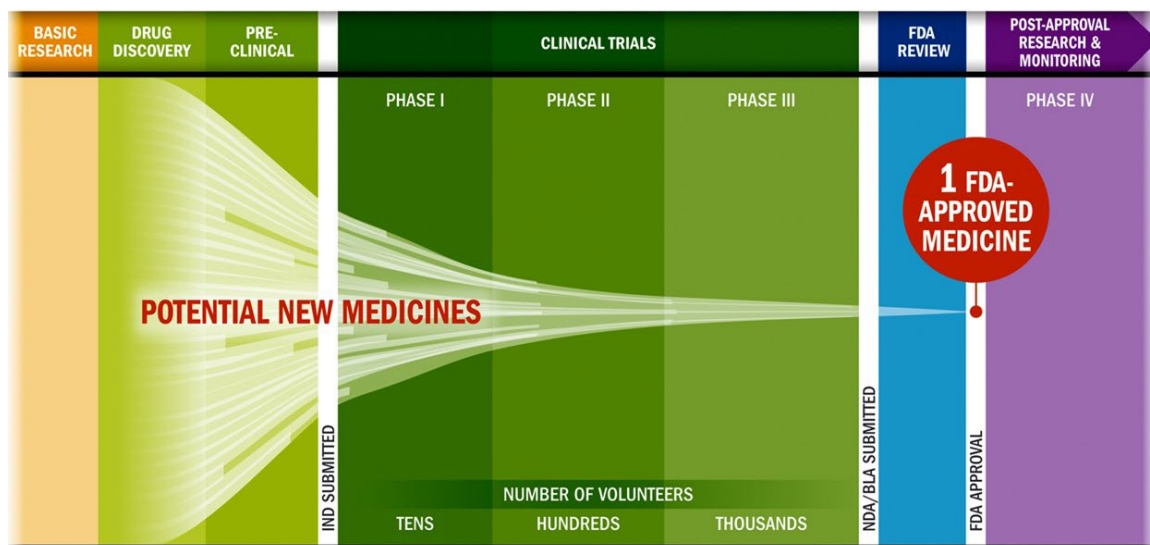
Nella fase zero, preclinica, una nuova molecola viene testata *in vitro* e *in vivo* su colture cellulari ed animali. In questa fase si identificano potenziali fattori di rischio per gli esseri umani e si analizzano la farmacocinetica e la farmacodinamica; i dati relativi a queste analisi devono essere sottoposti all’approvazione del regolatore perché sia autorizzato il passaggio agli studi clinici⁴⁹.

Nella fase uno della sperimentazione clinica, la sicurezza del trattamento è testata su un ristretto numero di individui, sani e non, e viene definita la massima dose tollerata^{49,51}.

Successivamente viene condotta l’esplorazione terapeutica, ovvero la fase due, che richiede volontari affetti dalla patologia oggetto del trattamento. Si cerca di stabilire la dose ottimale e la frequenza delle somministrazioni, e si producono le prime evidenze relative al trattamento con sufficiente sicurezza^{48,49}.

L'avvio di una eventuale fase tre viene autorizzato in presenza di evidenze relative a sicurezza ed efficacia⁴⁹. In questa fase viene reclutato un gruppo più numeroso e spesso più diversificato di volontari, al fine di aumentare il potere statistico delle analisi e rilevare effetti collaterali più rari non ancora riscontrati nelle sperimentazioni precedenti. Solitamente uno studio clinico di fase tre è definito “test di efficacia comparata”, poiché si basa sulla rilevazione di eventuali differenze dell'*end point* di interesse tra un gruppo di pazienti sottoposto al trattamento in esame e un gruppo trattato con un placebo o con lo standard clinico corrente^{49,51}. Quando si confronta un gruppo trattato con un gruppo placebo, non è raro osservare in quest'ultimo miglioramenti inaspettati; tale effetto potrebbe essere di origine psicologica, o legato a maggiori cure ricevute nel periodo dello studio, oppure ancora dovuto al fatto che tipicamente i partecipanti alla sperimentazione presentano una sintomatologia ben al di sopra della media, che potrebbe stabilizzarsi su livelli più comuni nel corso dello studio⁴⁹. Un altro possibile obiettivo di una sperimentazione clinica di fase tre è la dimostrazione che i benefici ottenuti attraverso la somministrazione del trattamento sperimentale siano equivalenti o non inferiori, entro un certo margine, a quelli derivanti da una procedura esistente, possibilmente a fronte di una diminuzione degli effetti avversi per il paziente⁴⁹. La casualità dell'assegnazione del trattamento ai volontari, un corretto bilanciamento ed un'appropriata stratificazione delle possibili variabili di rilevanza clinica sono di fondamentale importanza al fine di ottenere un risultato credibile. Dove e quando possibile risulta inoltre preferibile condurre lo studio in cieco: si parla di cieco singolo quando solo il soggetto è tenuto all'oscuro del fatto di appartenere al gruppo di trattamento o a quello di controllo, di doppio cieco quando anche il somministratore non conosce il gruppo di appartenenza dei soggetti, ed infine di triplo cieco nel caso in cui soggetto, somministratore ed analista siano completamente ignari dell'assegnazione dei pazienti. Uno studio di controllo randomizzato, come quello appena descritto, viene chiamato *Randomized Control Trial* (RCT), e rappresenta l'attuale *gold standard* della sperimentazione clinica⁵²; ci si riferisce all'intera platea dei partecipanti come coorte (si parla anche di studio di coorte) ed ai gruppi che ricevono trattamenti diversi (che siano due o più) come bracci dello studio⁴⁹. Sebbene non sia possibile definire assegnare univocamente una durata temporale per ognuna delle tre fasi cliniche, queste richiedono mediamente più anni (fino a otto) e la terza è tipicamente quella di durata maggiore⁵³; dal punto di vista dei soggetti coinvolti, invece, è possibile affermare che le fasi uno, due e tre prevedano l'impiego, rispettivamente, di decine, centinaia e migliaia di volontari^{53,54}.

Dopo la fase tre (se positiva) gli enti regolatori autorizzano la commercializzazione del farmaco, ma continuano a raccogliere e analizzare dati sulla sua efficacia sul campo e sugli effetti collaterali. Infatti l'ultimo passo, ovvero la fase quattro, consiste nel monitoraggio *post-marketing*: la farmacovigilanza permette di individuare potenziali ulteriori effetti avversi rari, analizzare la sostenibilità economica del prodotto ed in generale di ottenere dati più completi, garantendo una maggiore sicurezza grazie all'ampliamento della platea di soggetti^{48,51,55}.



Source: Pharmaceutical research and manufacturer of America

Fig.1.7 Processo di scoperta ed approvazione di un nuovo trattamento farmaceutico.

1.4.2 Trial clinici per farmaci contro l'osteoporosi

L'osteoporosi assume rilevanza clinica nella misura in cui l'infragilimento del tessuto osseo concorre in maniera più o meno determinante al verificarsi di una frattura, perciò il tipico *end point* per un *clinical trial* di un farmaco che contrasti tale patologia è il verificarsi della frattura stessa^{25,36,56,57}.

È necessario che la coorte sia adeguatamente numerosa, nell'ordine delle migliaia di individui^{25,36,49,57}, e quanto più possibile rappresentativa della popolazione alla quale il trattamento sia destinato; pertanto, nel condurre un trial clinico farmacologico con il verificarsi di fratture fragili come end-point, numerosi studi riportano i seguenti criteri selettivi: il sesso (femminile), l'età (variabile ma comunque superiore a cinquant'anni), l'essere in post-menopausa (da almeno due anni), densità minerale ossea inferiore a una certa soglia (in ogni caso più bassa del limite superiore dell'osteopenia) e/o la presenza di preesistenti fratture vertebrali^{25,36,57}.

L'obiettivo finale della ricerca medica relativa alla prevenzione delle fratture fragili è quello di ridurre il rischio associato a tali eventi negli anni, aumentando di conseguenza la durata e la qualità della vita dei pazienti; inoltre, l'infragilimento dovuto all'osteoporosi, oltre a non verificarsi (né risolversi) istantaneamente, non si concretizza in una frattura fintanto che non si verifichi una caduta. Per questi motivi è necessario che la sperimentazione vada avanti per un periodo di tempo prolungato, tipicamente anni^{25,35,36,57}; ciò comporta delle evidenti difficoltà nel mantenere il monitoraggio costante ed accurato, e implica il rischio di morte, per altre patologie o per comorbidità, di alcuni pazienti, o comunque la possibilità di fuoriuscita di soggetti dal campione iniziale per altri motivi, aumentando la difficoltà nel rilevamento e nell'analisi dei risultati ottenuti⁴⁹.

1.5 Conclusione

Il rischio associato alla frattura di femore prossimale è caratterizzato da una forte multifattorialità (rischio di caduta, fragilimento da osteoporosi, sesso, età, peso, livello di controllo neuro-motorio e autosufficienza, ecc.) e da una altrettanto marcata variabilità individuale. Questo ovviamente implica una molteplicità di possibili trattamenti (farmaceutici, ambientali, comportamentali), i quali tuttavia richiedono per esser testati il coinvolgimento di grandissime platee di volontari per molti anni, il che comporta un ingente investimento di risorse.

Volendo affrontare il tema di tali fratture dal punto di vista ingegneristico occorre tener presente che si deve analizzare un oggetto di forma complessa ed irregolare, caratterizzato da una marcatissima anisotropia e per il quale non è possibile definire una separazione di scala dimensionale tra i componenti strutturali (ordine dei millimetri) e l'intero organo (decimetri o comunque non più di un metro); quest'ultimo fatto in particolare rende difficile definirne le proprietà meccaniche, le quali peraltro variano nel tempo. Inoltre, geometria, composizione e proprietà meccaniche del femore sono estremamente variabili all'interno della popolazione e altrettanto lo saranno i carichi a cui questo è sottoposto, rendendo ancor più complessa l'analisi biomeccanica.

D'altra parte, preso atto dell'elevato costo umano, sociale ed economico associato al verificarsi di fratture del femore in popolazioni sempre più numerose di anziani a rischio, negli ultimi anni la comunità scientifica si è fortemente impegnata nella produzione di

strategie innovative al fine di sviluppare strumenti di analisi, previsione e simulazione, i quali verranno trattati nel prossimo capitolo.

2 Predizione del rischio di fratture e *in silico trials*

In questo capitolo, per prima cosa si presenteranno brevemente le tecniche per stimare la resistenza meccanica ed il carico di rottura di rottura del femore prossimale basate sul metodo degli elementi finiti, i cui fondamenti verranno descritti nel primo paragrafo.

Secondariamente sarà brevemente introdotto il concetto di “*in silico trial*” di cui verrà brevemente raccontata la storia passata ed il processo di diffusione, prima di parlare delle attuali prospettive e di come questo approccio possa essere integrato nella sperimentazione clinica per il trattamento dell’osteoporosi.

2.1 Predizione del rischio di frattura basata su modelli FEM

La frattura del femore prossimale è un evento biomeccanico complesso ma concettualmente non differente da qualsiasi cedimento di una struttura meccanica che subisca un urto tale da generare una forza maggiore alla propria resistenza. Pertanto, in questo sotto-capitolo, verranno descritte tecniche di stima della resistenza meccaniche basate sul metodo degli elementi finiti, diffusissimo nel campo dell’ingegneria meccanica.

2.1.1 Metodo degli elementi finiti

Il metodo degli elementi finiti (*Finite Element Method*, FEM) è una tecnica numerica sviluppata per far fronte alla necessità di risolvere quelle equazioni differenziali alle derivate parziali (*Partial Differential Equation*, PDE) che tipicamente descrivono fenomeni naturali complessi. basata sulla decomposizione del dominio del problema in un insieme di sottodomini con geometria semplice e volume finito (elementi) in cui approssimare la soluzione delle PDE con semplici funzioni analitiche (solitamente polinomi di grado 1 o 2), più facilmente trattabili matematicamente.

Tale metodo nasce negli anni '30 del secolo scorso ad opera di A. R. Collar e W. J. Duncan⁵⁸ in campo aeronautico e civile, per poi vedere una grande diffusione in tutti i settori interessati dalla meccanica strutturale.

Al 1972 risale la prima applicazione bioingegneristica del metodo degli elementi finiti⁵⁹, dove un modello FEM è stato sviluppato al fine di stimare lo stato tensionale di un femore umano. Negli anni successivi numerosi studi hanno riproposto lo stesso tema adottando

vari approcci metodologici, mantenendo sempre, tuttavia, un'inclinazione accademica piuttosto che una incentrata sull'indagine di problemi clinici.

Nel 1980 Brown et al. hanno riportato l'applicazione di un modello 2D del femore prossimale per l'analisi biomeccanica in presenza di necrosi; questo studio è stato il primo nel quale l'adozione del metodo degli elementi finiti abbia trovato rilevanza clinica⁵⁹ ed ha aperto la strada, già negli anni '80 ad un'ampia diffusione di tale tecnica nell'ambito ortopedico e protesico⁵⁹.

Oggi, oltre all'utilizzo del metodo degli elementi finiti nella ricerca medica inerente all'apparato scheletrico, è possibile apprezzarne la diffusione in altri ambiti; ad esempio quello vascolare, per il quale è stato sviluppato un modello che si avvale del metodo degli elementi finiti al fine di stimare il rischio di rottura di aneurismi aortici addominali⁶⁰.

Tali applicazioni, di fondamentale importanza in particolare nel ramo della biomeccanica, presentano delle grandi difficoltà intrinseche il cui superamento ha rappresentato e rappresenta tutt'ora un'importante sfida per la comunità scientifica. Ad esempio, a differenza delle strutture artificiali, i sistemi biologici non sono stati progettati, e di conseguenza su di essi non si possiedono informazioni a priori, bensì questi richiedono un'attenta indagine di caratterizzazione; inoltre, nella rappresentazione di strutture biologiche, occorre sempre tener conto di non linearità, disomogeneità, difficoltà di separazione di scala ecc.

Dal punto di vista procedurale, il metodo degli elementi finiti si basa sulla decomposizione del dominio in cui è definito il problema in un insieme di sottodomini con geometria semplice e volume finito (elementi) in cui approssimare la soluzione delle PDE con semplici funzioni analitiche (solitamente polinomi di grado 1 o 2), più facilmente trattabili matematicamente.

Ogni sistema di equazioni viene dunque risolto localmente e l'approssimazione della soluzione complessiva, che risulta definita su tutto il dominio, converge alla soluzione esatta al diminuire della dimensione degli elementi. Inoltre, non è necessario che tale dimensione sia costante su tutto il dominio in cui si risolve il sistema di PDE: ciò permette, ad esempio, di utilizzare elementi più piccoli in una determinata regione di interesse (*Region Of Interest*, ROI) per rendere localmente più precisa la soluzione, e di utilizzare elementi più grossi in regioni con bassi gradienti della quantità di interesse. Questa caratteristica del metodo degli elementi finiti risulta molto utile nella soluzione di problemi di meccanica strutturale in cui sia nota la zona a maggior rischio di danneggiamento.

L'analisi condotta attraverso questo metodo viene chiamata analisi agli elementi finiti (*Finite Element Analysis*, FEA) e si articola in quattro fasi:

1. Per prima cosa occorre definire il dominio di integrazione; ciò può essere fatto eseguendo operazioni booleane su solidi primitivi, formalizzati in equazioni in forma chiusa (*Constructive Set Geometry*, CST), oppure definendo matematicamente le superfici che circondano il solido e considerare come dominio lo spazio interno (*Boundary Representation*, BRep).
2. Nella fase successiva il dominio viene discretizzato in una griglia (chiamata *mesh*) di elementi di forma semplice e dimensione finita, solitamente tetraedri o esaedri; all'interno di ogni elemento l'andamento delle quantità di interesse è approssimato da funzioni di forma polinomiali ed il sistema di equazioni assume forme più facilmente risolvibili. Quest'ultimo viene dunque risolto in punti particolari, chiamati nodi, e la soluzione viene interpolata all'interno di ogni elemento a partire dai valori ai nodi che gli appartengono. In questa fase occorre trovare un bilanciamento tra onere computazionale ed accuratezza: una *mesh* più fitta fornisce una migliore approssimazione ma implica uno sforzo maggiore per la soluzione del sistema; simili considerazioni valgono per la scelta tra elementi lineari (nodi solo ai vertici) e quadratici (nodi su vertici e spigoli). È inoltre necessario tener conto del livello di distorsione degli elementi, ovvero a quanto questi differiscano dalla loro forma ideale (triangoli e quadrati per elementi bidimensionali, tetraedri ed esaedri per elementi tridimensionali); elementi maggiormente distorti forniscono un'approssimazione peggiore, dunque soluzioni meno accurate, potenzialmente non accettabili⁴⁵.
3. A questo vanno definite le proprietà dei materiali che compongono il modello, e le equazioni costitutive che ne descrivono fenomenologicamente il comportamento fisico nella scala dimensionale di interesse.
4. Similmente, al sistema sono applicati carichi e condizioni al contorno, che formalizzano l'effetto del mondo esterno sul sistema fisico in esame.

2.1.2 Modelli agli elementi finiti del femore prossimale da dati CT

L'utilizzo di modelli FEM del femore prossimale per calcolarne le proprietà meccaniche ed utilizzarle nella stima il rischio di frattura è stato concepito al fine di superare i limiti

diagnostici del T-score; si ricordi infatti che ben il 50% delle fratture fragili si verifica in pazienti con valori di BMD tali da identificarli come osteopenici¹⁹.

Sono stati sviluppati dei processi che, a partire dai dati di tomografia computerizzata quantitativa, rendano possibile ottenere modelli FEM (Figura 2.1) che riproducano il femore del paziente (Figura 2.1); tali modelli vengono definiti *Quantitative Computed Tomography Subject Specific Finite Element* (QCT-SSFE).

Tali procedure prevedono che la geometria 3D del femore, che rappresenterà il dominio del modello agli elementi finiti, venga ottenuta a partire da immagini CT attraverso il processo della segmentazione, che consiste nell'identificazione dei voxel appartenenti al femore all'interno di un'immagine CT. Tale processo può prevedere un intervento manuale più o meno pesante da parte dell'operatore, tuttavia esistono algoritmi che facilitano la discriminazione dei diversi tessuti e migliorano la definizione dell'immagine ottenuta, semplificando e accelerando l'operazione attraverso l'automatizzazione⁶¹; è stato dimostrato come tale processo permetta di ottenere risultati soddisfacenti se applicato al tessuto osseo, benché affetto da variabilità inter ed intra operatore; la componente minerale dell'organo infatti è caratterizzata da coefficienti d'attenuazione molto più alti dei tessuti che lo circondano, garantendo (salvo in certi casi gravemente patologici) l'ottenimento di un'immagine dai contorni ben definiti⁶².

Una volta ottenuta una rappresentazione della geometria tridimensionale del femore, viene prodotta una *mesh*^{63,64}; nel caso del femore prossimale ha dato buoni risultati la scelta di elementi tetraedrici quadratici, ben adatti alla modellazione di geometrie complesse e irregolari⁶⁵, tuttavia si sono mostrate valide anche soluzioni basate sull'utilizzo di elementi esaedrici⁶⁶.

È inoltre presente in letteratura la descrizione di una procedura che, sulla base di un'immagine QCT ad alta risoluzione, costruisce la *mesh* del modello FEM convertendo, attraverso un apposito algoritmo, i voxel in elementi finiti⁶⁷.

Poiché un modello agli elementi finiti che debba essere impiegato in analisi strutturali necessita di essere informato tanto riguardo la geometria quanto riguardo le proprietà meccaniche, si pone il problema di determinare queste ultime a partire dai dati CT.

Una tecnica molto diffusa prevede l'assegnazione delle proprietà meccaniche al modello basata su una serie di relazioni tra il coefficiente di attenuazione misurato dalla QCT, la densità minerale e il modulo di Young. Nel corso degli anni sono state proposte e validate varie relazioni tra tali quantità^{68,69}, a seconda anche del distretto anatomico in esame⁷⁰.

Poiché con tale tecnica ogni elemento è meccanicamente caratterizzato, l'anisotropia del tessuto osseo in un modello FEM è rappresentata con una risoluzione spaziale uguale alla dimensione dell'elemento stesso; sebbene ovviamente l'osso sia tutt'altro che isotropo in una regione spaziale dell'ordine di grandezza dei millimetri; tenendo presente le difficoltà associate alla stima del livello di anisotropia ad una scala tanto ridotta e considerandole buone prestazioni dei modelli all'attuale livello di anisotropia, porta a pensare che questa sia un'approssimazione accettabile^{1,65}.

Un approccio differente descrive il modulo di Young non come una proprietà costante all'interno di un elemento, ma come una funzione continua nello spazio, ottenuta interpolando i valori di densità minerale locale⁶⁹.

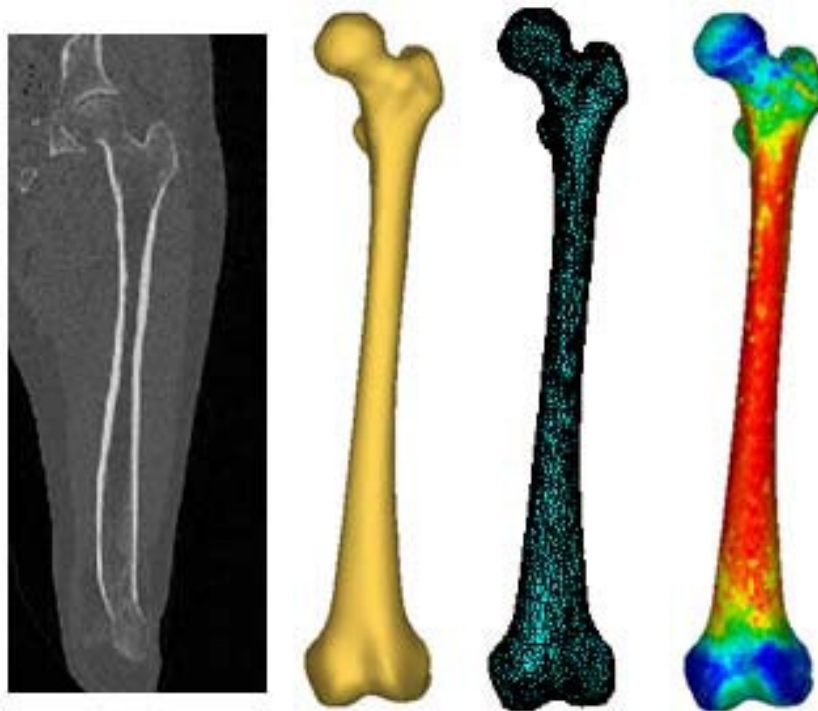


Fig. 2.1 Da sinistra verso destra: passaggio da dati CT ad un modello agli elementi finiti (rispettivamente, scansione CT, modello 3D, mesh 3D, assegnazione proprietà dei materiali). Immagine da [62].

Il processo di validazione relativo alla capacità di questi modelli di predire spostamenti, deformazioni, tensioni e carichi di rottura è stato condotto principalmente confrontando i risultati delle simulazioni con esperimenti condotti *ex-vivo* su ossa di cadavere.

Già nel 2001 è stato mostrato come l'analisi condotta attraverso modelli agli elementi finiti di femore prossimale potesse esser usata per ottenere una stima del carico di rottura in due configurazioni: appoggio monopodalico e caduta laterale. Questo studio ha mostrato una netta correlazione tra i carichi di rottura misurati *in vitro* e quelli stimati

computazionalmente (appoggio monopodalico, $R^2 = 0.867$; caduta laterale, $R^2 = 0.949$), suggerendo la grande potenzialità di questi modelli nell'indagine sul rischio di frattura del femore⁷¹.

Negli anni successivi diversi studi^{65,66,69} hanno riportato un ottimo accordo tra modelli FEM del femore prossimale ed esperimenti di laboratorio riproducenti un appoggio monopodalico, con coefficienti di correlazione maggiori di 0.9; risultati simili sono stati ottenuti in altri studi simulando una caduta laterale^{4,72}. L'utilizzo dell'ipotesi di frattura fragile, che rende più semplice la simulazione, e l'implementazione di un criterio di rottura basato sulle deformazioni massime principali si sono inoltre rivelati efficaci nella predizione della posizione e del carico critico della frattura di collo di femore^{73,74}.

La principale criticità di questi modelli riguarda la sostenibilità del loro impiego clinico; la produzione di un modello QCT-SSFE, infatti, comporta per il paziente un rischio, seppur minimo, legato all'esposizione radiologica, ed un grande onere economico, da parte del privato o del sistema sanitario, principalmente relativo al lungo lavoro di segmentazione^{75,76}.

2.1.3 Stima della resistenza meccanica del femore attraverso modelli agli elementi finiti ed implementazione di tale dato come parametro clinico

Negli ultimi anni si è cercato di definire un protocollo basato su modelli FEM ottenuti a partire da dati CT per individuare i pazienti a maggior rischio di frattura fragili, dunque con necessità di trattamento farmacologico; lo sviluppo di uno strumento predittivo più potente ed accurato di quelli attualmente in uso (DXA, FRAX), infatti, potrebbe ridurre il numero di soggetti erroneamente non trattati, ed evitare, ove non necessario, di sottoporre pazienti a terapie economicamente onerose e non esenti da effetti collaterali.

Uno dei predittori proposti è stato il carico di rottura del femore stimato con un modello FEM informato da scansioni CT. Tra le varie implementazioni, ricordiamo CT2S (*Computed Tomography to Strength*), offerta dall'istituto INSIGNEO (*Institute for In Silico Medicine*) per scopi di ricerca, e VirtuOst dell'azienda statunitense O. N. Diagnostics Inc, recentemente approvata dalla *Food and Drug Administration* (FDA).

L'accuratezza di stratificazione di un modello consiste nella capacità dello stesso di discriminare all'interno di una coorte quali pazienti abbiano già subito una frattura e quali no. Numerosi studi presenti in letteratura^{1,32,75,77} hanno preso in considerazione la "coorte di *Sheffield*", una coorte di 100 pazienti di cui 50 con una recente (<90 giorni) frattura

fragile del femore prossimale e 50, corrispondenti per età, peso e altezza, usate come controllo⁴⁶, reclutata a Sheffield, UK.

Tra le strategie di miglioramento della capacità di discriminazione e predizione delle fratture da citare è l'utilizzo di configurazioni di carico multiple per esplorare in modo più esaustivo le possibili sollecitazioni in seguito alla caduta. In uno studio del 2014 di Falcinelli et al., infatti, è stato mostrato come il carico minimo di rottura del femore, calcolato utilizzando un modello agli elementi finiti sotto diverse condizioni di carico, possedesse maggiori capacità di stratificazione dei pazienti fratturati e non rispetto alla densità minerale ossea misurata tramite DXA⁷⁸. Tale risultato è confermato da Qasim et al. 2016, che suggerisce inoltre come sia opportuno l'utilizzo di dati CT comprendenti l'intero organo, invece che la sola parte prossimale, e che se da un lato il rischio di frattura è senza dubbio associato al carico minimo del femore, questo dovrebbe tener conto anche della frequenza con cui si verificano stati di carico fuori dall'ordinario, come le cadute³². L'approccio basato su più condizioni di carico, applicato su due gruppi appaiati di pazienti fratturati e non, ha mostrato un miglioramento di quattro punti percentuali rispetto alla DXA con un valore di "Area Under the ROC Curve" (AUC) di 0.79 e 0.75 rispettivamente; tale parametro esprime le capacità diagnostiche di un modello tenendo conto di specificità e sensibilità, ovvero dell'abilità nell'individuare i veri positivi e nel erroneamente classificare i falsi negativi.

Altai et al. ha presentato, nel 2019, un lavoro nel quale venivano confrontate diverse condizioni di carico e al contorno, nell'ottica di migliorare le capacità di predizione del rischio di frattura effettuando un'analisi agli elementi finiti della caduta laterale sul femore; secondo questo studio è stato possibile, adottando un modello non lineare che prevedesse la rotazione attorno al centro dell'articolazione del ginocchio e il contatto tra il grande trocantere ed un piano infinitamente rigido e considerando 28 diverse condizioni di carico, raggiungere un valore di $AUC = 0.82$ per la stessa coorte⁷⁷.

Nel 2019 è stato presentato da Bhattacharya et al. uno studio in cui si esponeva lo sviluppo di un modello multiscala per la quantificazione del rischio assoluto di frattura ad un anno (*Absolute Risk of Fracture at time 0*, ARF0)¹. Nel modello di Bhattacharya tale rischio viene calcolato tenendo conto di vari fattori: frequenza media individuale di cadute per anno, resistenza del femore in varie configurazioni di caduta possibili e forza d'impatto trasmessa al grande trocantere in funzione di parametri *subject-specific*, ambientali e stocastici¹. Il parametro ARF0 ha raggiunto un valore di AUC di 0.852, che rappresenta

un aumento non irrilevante di dieci punti percentuali rispetto al sopracitato standard clinico della DXA.

L'*International Society for Clinical Densitometry* riconosce ai modelli FEM un potere predittivo paragonabile all'aBMD misurato con la DXA⁷⁵. È attualmente in corso una sottomissione alla *European Medicine Agency* (EMA) per l'approvazione dell'uso di una tecnologia QCT-SSFE (la "*Bologna Biomechanical Computed Tomography*") per uso clinico.

2.1.4 Atlanti statistici del femore prossimale per la generazione di modelli

Negli ultimi anni è stata esplorata la possibilità di generare modelli agli elementi finiti a partire da atlanti statistici⁷⁹⁻⁸²; poter ottenere facilmente un gran numero di modelli FE a partire da un numero molto inferiore di geometrie analizzate, ridurrebbe infatti significativamente il costo associato al singolo modello, rendendo più economicamente sostenibile utilizzare tali modelli nella simulazione di *clinical trials*, in particolare di fase II e III. In questa sezione, facendo riferimento in particolare a tre studi da letteratura, verrà brevemente esposta una tecnica, basata sull'analisi delle componenti principali, utile a costruire degli atlanti statistici da cui estrarre le informazioni per la generazione di coorti virtuali

Come precedentemente esposto, il tipico modello FE di un solido ne rappresenta tanto la geometria quanto le proprietà meccaniche, e nel caso del femore è possibile estrarre queste informazioni a partire da immagini cliniche.

In letteratura sono presenti studi nei quali si utilizzano procedure atte ad analizzare le immagini, in particolare originate da tomografia computerizzata, attraverso "Active Shape & Appearance Models (ASM e AAM)"⁷⁹⁻⁸¹, modelli statistici basati su algoritmi in grado di analizzare e sintetizzare in un caso i contorni e nell'altro l'aspetto complessivo di un campione di immagini 2D o 3D^{59,60}.

Al fine di ridurre la dimensionalità dello spazio dei parametri necessari a descrivere la variabilità interna al campione preso in considerazione si utilizza un potente strumento statistico, ovvero l'analisi delle componenti principali (*Principal Component Analysis*, PCA). Tale tecnica si basa sull'analisi della matrice di covarianza, ed in particolare dei suoi autovalori ed autovettori associati, per definire le direzioni di massima variabilità del campione⁸³. Attraverso l'analisi delle componenti principali si individuano i modi di variazione maggiormente esplicativi del sistema che si sta considerando.

Queste tecniche necessitano di *database* sufficientemente ampi e rappresentativi della popolazione che si ha intenzione di generare sinteticamente; nei recenti studi di Pascoletti⁸⁰ e di Taylor⁸¹, ad esempio, sono state considerate coorti di 98 e 94 donne, appartenenti alla già citata “coorte di *Sheffield*”; un lavoro di qualche anno precedente di Bryan et al. è invece basato su una coorte mista e meno numerosa (46 individui)⁷⁹.

Tutti e tre gli studi sopracitati costruiscono i rispettivi modelli di forma e distribuzione della densità minerale a partire da *mesh* isotopologiche^{80,81}, in cui ogni nodo possa essere considerato come *landmark*. Le *mesh* isotopologiche sono caratterizzate dall’aver lo stesso numero di nodi ed elementi, la stessa matrice di connettività, e dalla corrispondenza tra nodi di *mesh* diverse collocati in punti corrispondenti delle geometrie; la procedura che permette di ottenere questo tipo di modello è chiamata “*mesh morphing*”, e consiste nella creazione di una *mesh template* che viene successivamente deformata per descrivere i vari modelli.

Sembra esserci accordo sulla compattezza delle informazioni descrittive della geometria femorale: per Pascoletti et al.⁸⁰, in particolare, il 90% della variazione di forma per i 98 femori analizzati è risultata attribuibile ai primi 9 modi di variazione; similmente in Taylor et al.⁸¹ ai primi 12 modi ASM ne è stata associata il 95%, mentre Bryan et al. attribuisce una variazione del 75% ai primi 8⁷⁹. I modi AAM hanno invece mostrato una minore compattezza dell’informazione, richiedendo l’utilizzo delle prime 62 componenti principali per spiegare il 95% della variazione⁸¹ della distribuzione di densità minerale ossea.

Le tecniche appena descritte prevedono dunque la produzione atlanti statistici a partire dai quali estrarre i dati necessari alla generazione di modelli agli elementi finiti la cui variabilità interna risulti coerente con quella della popolazione di riferimento, a partire dalle informazioni sul femore “medio” e su come la popolazione reale tenda a variare rispetto ad esso.

Benché siano descritte in letteratura procedure in grado di produrre risultati robusti ed accurati⁶², la principale criticità di questi modelli risiede nel fatto che il processo di *mesh morphing* provoca inevitabilmente la distorsione degli elementi e, conseguentemente, il rischio di ottenere una soluzione localmente inaccettabile in fase di analisi.

2.1.5 Modelli agli elementi finiti del femore prossimale da dati DXA

Come descritto nel paragrafo 2.1.3, è stato riscontrato che la resistenza meccanica del femore prossimale rappresenta un miglior indicatore del rischio di frattura rispetto all'attuale standard clinico rappresentato dall'aBMD; tuttavia, ricordando quanto affermato nel paragrafo 1.2.3, la QCT rappresenta un esame più rischioso per il paziente e non è previsto dal monitoraggio "di routine" del decorso dell'osteoporosi. Poiché la disponibilità di risultati di esami DXA risulta essere di gran lunga maggiore di quella di dati CT, è stata valutata dagli studiosi la possibilità di produrre modelli FE basati su tali dati da utilizzare nella stima della proprietà meccaniche dell'organo⁸⁴.

Nello scorso decennio è stato mostrato come l'utilizzo dei risultati ottenuti simulando una caduta laterale attraverso modelli agli elementi finiti ottenuti da dati DXA, insieme alle informazioni sull'aBMD del collo del femore, comporti un miglioramento del potere predittivo rispetto all'utilizzo del solo dato di densità minerale⁸⁴. Uno studio di validazione sperimentale svolto su un set di 72 coppie di femori ottenuti da cadaveri ha confrontato i risultati ottenuti da modelli agli elementi finiti 2D da DXA e 3D da QCT con i valori di aBMD relativi allo stesso femore al fine di valutarne il potere predittivo⁸⁵; in generale tale studio ha mostrato come tali modelli garantiscano prestazioni molto migliori di quelle ottenute basandosi sui valori di densità minerale ossea, risultando tuttavia inferiori agli omologhi ottenuti da QCT⁸⁵.

Negli ultimi anni sono stati presentati studi che propongono la costruzione, avvalendosi delle informazioni contenute in atlanti statistici come quelli descritti nel paragrafo precedente, di modelli 3D del femore prossimale che risultino compatibili per geometria e distribuzione di BMD con le immagini DXA⁸⁶⁻⁸⁸; tali studi concordano nel miglioramento del potere predittivo di questo approccio rispetto al parametro densitometrico e suggeriscono, data la grande disponibilità clinica di dati DXA, di approfondirne l'analisi di precisione ed affidabilità di questo metodo rispetto a quello basato sulla modellazione 3D a partire da dati QCT⁸⁶⁻⁸⁸.

2.2 In silico trial

Si definisce "*in silico trial*" una procedura che si avvalga di strumenti di modellazione e simulazione computazionali al fine di asserire la sicurezza ed efficacia di un prodotto medicale, intendendo con questo termine farmaci, terapie, procedure e strumentazioni

cliniche⁶⁵; le fasi sperimentali dello studio clinico, tradizionalmente distinte tra “*in vitro*” ed “*in vivo*”, vengono eseguite “*in silico*”.

Negli ultimi decenni la grande maggioranza, se non la totalità, dei settori produttivi e commerciali, è stata fortemente influenzata e talvolta rivoluzionata dall'introduzione e sviluppo di metodi computazionali; tuttavia questo progresso ha avuto un impatto meno rapido e incisivo in campo biomedicale, settore in cui l'aumento dell'efficienza e l'abbattimento di costi temporali e finanziari sarà di importanza strategica al fine di far fronte all'aumento demografico e alla crescita dell'aspettativa di vita^{89,90}.

Il fatto che la funzionalità e l'affidabilità di ogni genere di prodotto, dalle centrali di produzione energetica ai mezzi di trasporto pubblico, vengano determinate attraverso tecniche di simulazione al computer è universalmente accettato; lo stesso non può dirsi per il settore sanitario, storicamente refrattario all'introduzione di nuove tecnologie⁶⁸, benché negli ultimi anni lo sforzo di industria e comunità scientifica abbia portato ad un adeguamento regolatorio.

2.2.1 Concezione e sviluppo

La prima branca delle scienze biomediche in cui sia stato impiegato un computer è la farmacocinetica; nel 1961, infatti è stato ideato un progetto che prevedeva la misurazione e successiva elaborazione di dati farmacocinetici al fine di produrre modelli basati su tecniche di regressione; nel corso del decennio successivo l'utilizzo di tali modelli, basati unicamente sul *data fitting*, divenne diffusamente riconosciuto come pratica clinica accettabile.

Gli anni '80 e '90 del secolo scorso hanno visto l'introduzione dei primi modelli meccanicistici del settore farmacologico; il sistema biologico, al momento su scala tissutale, non era più schematizzato come scatola nera, bensì parzialmente descritto in base alla formalizzazione matematica e quantitativa delle nozioni sul suo funzionamento. La potenza di tali modelli, in quegli anni, crebbe notevolmente grazie all'utilizzo di tecniche statistiche e computazionali⁶⁸.

Nei primi anni del nuovo millennio si è assistito ad uno sforzo, da parte della comunità scientifica, teso alla modellizzazione, tramite nozioni biofisiche e biochimiche, di tessuti, organi ed interi organismi⁹¹. Un evento di fondamentale importanza è stato lo sviluppo, nel 2005, del progetto *Virtual Physiological Human* (VPH), sostenuto dalla commissione europea, che si pone come obiettivo la costruzione di un modello integrato che

ricostruisca, senza soluzione di continuità, il corpo umano come insieme dal livello molecolare a quello di organismo. Si tratta dunque un modello “multiscala”, che adotta un approccio non gerarchico definito “*middle-out*”: non c’è una gerarchia descrittiva del tipo cellula-tessuto-organo-organismo, bensì ogni processo viene rappresentato nella scala spazio-temporale in cui lo si osserva^{92,93}.

In un documento pubblicato nel 2011 dall’Istituto VPH e dalla commissione europea venne per la prima volta introdotto e definito il concetto di “*In Silico Trial*” (IST) come potenziale utilizzo dei modelli *patient-specific* non come strumento di gestione clinica del paziente, ma di progettazione e sviluppo di nuovi prodotti biomedicali^{91,93}. Nel 2013 la commissione europea ha promosso la fondazione dell’iniziativa Avicenna, con lo scopo di definire una tabella di marcia sullo sviluppo degli IST e portare avanti un processo di consenso che coinvolgesse ricercatori, settore produttivo ed enti regolatori. Tale sforzo ha portato sia il congresso degli Stati Uniti sia il parlamento Europeo ad esprimere negli anni successivi (2015 e 2016, rispettivamente) raccomandazioni rivolte ai relativi enti regolatori affinché attuassero degli adeguamenti in merito alla possibilità di condurre studi clinici *in silico*^{91,93}.

2.2.2 Prospettive: *Replace, Reduce & Refine*

Mutuando il lessico delle “3R” dalla sperimentazione animale, le tecnologie di *in silico trials* (IST) potrebbero essere utilizzate per sostituire (*Replace*), ridurre (*Reduce*) o perfezionare (*Refine*) una o più fasi della sperimentazione preclinica e clinica.

Il primo orizzonte del percorso di diffusione degli IST è la sostituzione (*Replace*) degli esperimenti con modelli computazionali. Questa via è stata resa percorribile dal grande sviluppo delle scienze computazionali degli ultimi anni, che ha permesso di ottenere modelli che, in alcuni casi, forniscono una rappresentazione equivalente, se non addirittura più realistica della realtà rispetto a un esperimento. Tale sostituzione può essere concepita come totale in fase preclinica, mentre non è realistico aspettarsi che sarà possibile superare del tutto il vincolo legislativo che impone in fase clinica la sperimentazione, eventualmente ridotta, sugli esseri umani^{52,92,94}. Ad esempio, oggi può accadere che la sperimentazione umana “*in silico*” sostituisca, dove si dimostrasse più descrittiva, la sperimentazione animale⁹⁵.

Un obiettivo alternativo è rappresentato dal “*reduce*”, cioè la riduzione del numero di esperimenti da condurre, sfruttando i modelli computazionali per predeterminare gli

esperimenti da condurre in modo da ottenere le informazioni necessarie e per aumentare il potenziale informativo degli esperimenti stessi. Avvalendosi delle informazioni derivate dalla modellazione *in silico*, ad esempio, è possibile decidere in fase di progettazione quali popolazioni utilizzare, ridurre i tempi di *follow-up*, interpolare i risultati ed esplorare in modo più efficace i parametri rilevanti; ciò permette di coinvolgere un numero minore di animali o soggetti nell'indagine (pre)clinica^{91,92}.

Con “*refine*”, invece, si intende l'adozione di simulazioni in silico al fine di mantenere la precisione e l'efficienza degli esperimenti limitando il più possibile la sofferenza e il rischio di decesso. Ad esempio conducendo la sperimentazione clinica solo sul gruppo trattato in fase clinica, quando il non trattamento costituisca un pericolo, ed in fase preclinica, quando il controllo preveda una sofferenza eccessiva per gli animali⁹⁶, adottando poi un modello *in silico* per il confronto dei risultati⁹⁴.

2.2.2 Limiti e vantaggi degli *In Silico Clinical Trial*

Fino a tempi molto recenti la sperimentazione fisica era l'unico approccio che si potesse prendere in considerazione nel testare la sicurezza ed efficacia di una nuova pratica medica; benché gli studi clinici, in particolare i RCT condotti su numeri di partecipanti molto elevati ed ottimizzando la variabilità delle coorti, possano rilevare e quantificare eventi avversi efficacemente, essi difficilmente sono in grado di fornire indizi sul meccanismo causale che provoca tale effetto indesiderato⁹¹. Inoltre, il fallimento di un farmaco o dispositivo medico durante la fase II o III della sperimentazione clinica produce gravi danni economici all'azienda che ha investito fino a quel momento nel suo sviluppo^{52,92,94}. Tali perdite economiche potrebbero scoraggiare le imprese a finanziare nuove campagne di ricerca; avvalendosi di modelli computazionali, tuttavia, potrebbe essere possibile indagare le cause del fallimento della sperimentazione⁹², magari scoprendo una soluzione facilmente implementabile ed economica al problema.

L'utilizzo degli *in silico trials* nella ricerca biomedica rappresenta una strategia per superare un problema intrinseco di tale branca: ogni volta che si conduce un esperimento fisico si deve affrontare un *trade-off* tra il grado di controllo di cui si necessita al fine di condurre l'osservazione e il grado di idealizzazione che comporta un allontanamento della prova dalle condizioni reali, al contrario il grado di controllo su una simulazione virtuale è uguale per qualsiasi esperimento e la qualità della rappresentazione del processo

dipende unicamente dalle conoscenze del fenomeno reale, dalla corretta modellazione dello stesso e dalle risorse computazionali messe in campo⁹¹.

D'altra parte, benché sia del tutto possibile rilevare e quantificare efficacemente il verificarsi di eventi avversi durante un IST, questa tecnica non permette di scoprire nuove potenziali fonti di pericolo relative a un trattamento; è infatti impossibile che un modello matematico possa prevedere qualcosa che non faccia parte del bagaglio informativo utilizzato per la sua formalizzazione⁹¹. Tra i limiti degli studi clinici in silico occorre inoltre annoverare la difficoltà nel tradurre con soddisfacente accuratezza fenomeni biologici complessi in termini matematici e la resistenza culturale da parte della comunità clinica, con una base culturale tradizionalmente biologica piuttosto che matematico-fisico-ingegneristica^{52,91,92}. Mentre la soluzione per le due criticità appena elencate si accompagna al normale progresso scientifico, tecnologico e culturale, il limite relativo all'incapacità dei modelli computazionale di predire fattori di rischio inediti rappresenta ad oggi il maggior ostacolo nell'adozione degli in silico *clinical trial*; motivo per cui si prospetta un approccio integrato tra esperimenti e simulazioni al fine di compensare gli svantaggi e al contempo sfruttare i vantaggi di entrambi gli approcci⁹⁷.

2.3 Conclusione

Riprendendo il contenuto del capitolo precedente, lo svolgimento di studi clinici inerenti al trattamento dell'osteoporosi risulta particolarmente problematico a causa dell'alta numerosità di soggetti richiesti e della durata di questi *trials*, nonché dell'alto rischio di non riuscire a portare a termine il monitoraggio per cospicuo gruppo di partecipanti.

In quest'ottica l'adozione di IST nell'ottica di valutare possibili trattamenti a questa patologia sembra rappresentare una più che valida alternativa; ciò, infatti, permetterebbe di ridurre moltissimo il numero di partecipanti e di simulare, alla luce delle importanti risorse computazionali di cui si dispone al giorno d'oggi, anni di sperimentazione in un breve lasso di tempo. A tale scopo potrebbe risultare di fondamentale importanza la capacità di produrre grandi numeri di modelli agli elementi finiti del femore, attraverso tecnologie mature e validate, in grado di simulare virtualmente in modo affidabile il comportamento meccanico dell'osso in numerose condizioni, in particolare il verificarsi di una caduta, ed eventualmente predire correttamente l'insorgere di una frattura.

L'adozione di un approccio basato sull'implementazione di modelli FEM del femore in IST per il trattamento dell'osteoporosi sembra rappresentare una promettente opportunità

al fine di valutare e confrontare in modo rapido e economicamente sostenibile i numerosi trattamenti proposti per il trattamento di questa patologia e in generale per la riduzione del rischio di frattura fragile femorale.

3 Materiali e metodi

Come precedentemente indicato, questo progetto di tesi si inserisce all'interno del processo di sviluppo di un modello stocastico per la simulazione di sperimentazioni cliniche, in particolare relative a possibili trattamenti per la riduzione del rischio di frattura fragile del femore in soggetti ad alto rischio, come una popolazione di donne in menopausa.

Al fine di compiere le analisi riguardo efficienza, riproducibilità e di confronto retrospettivo sono stati utilizzati dati ottenuti nel contesto della ricerca clinica sul rischio di frattura fragile tramite QCT, DXA e misurazioni biometriche; a questi sono stati applicati vari modelli computazionali. L'algoritmo su cui si basa il modello di generazione della coorte virtuale a partire da dati statistici, come quello di stima dell'aBMD da modelli FE, è implementato attraverso il software MATLAB (R2021a, *MathWorks, Massachusetts, USA*), il modello di invecchiamento si basa su un algoritmo sviluppato in ambiente Python e quello di caduta sfrutta algoritmi sviluppati in entrambi gli ambienti.

Come accennato nell'introduzione all'elaborato, le analisi agli elementi finiti necessarie per il calcolo delle deformazioni indotte nel femore prossimale dall'impatto tra suolo e grande trocantere sono state condotte attraverso il software ANSYS Mechanical APDL (2019R3, *ANSYS Inc., Pennsylvania, USA*); per condurre le campagne di sperimentazione virtuali si sono sfruttate tecniche e risorse di *High Performance Computing*, cercando di ottimizzare l'efficienza computazionale.

3.1 Modello di caduta

Attenendosi alla definizione di caduta fornita nel paragrafo 1.2, è stato costruito un modello computazionale che simulasse il verificarsi di cadute laterali e delle relative conseguenze all'interno di una popolazione in un determinato arco temporale; esso, a tale scopo, prevede:

- Definizione deterministica degli eventi-caduta.
- Calcolo stocastico dei parametri descrittivi ad essi associati.
- Analisi agli elementi finiti al fine di determinarne gli effetti biomeccanici.

Si è deciso di adottare un modello multiscala ispirato a quello proposto nel 2019 da Bhattacharya¹, il quale si articola in tre sotto-modelli:

1. Modello a scala d'organo: il più piccolo dei sotto-modelli è a scala d'organo, e consiste in un modello FE di femore, costituito da elementi tetraedrici quadratici isotropi e linearmente elastici, con una dimensione media della *mesh* di 3 mm. Il contatto, privo di attrito, col suolo è simulato da un piano rigido e fisso orientato perpendicolarmente alla direzione della forza concentrata che agisce al centro della testa del femore con un'inclinazione descritta dagli angoli di ad-abduzione e intra-extrarotazione; la porzione distale dell'organo è opportunamente vincolata onde prevenire spostamenti indesiderati. All'interno dell'area di interesse del modello, escluse dunque zona di contatto e zona vincolata, e per ogni coppia di angoli viene dunque calcolata la forza minima in grado di produrre una frattura, in base al criterio di massima deformazione principale descritto nel paragrafo 2.1.2 e sotto l'ipotesi di frattura fragile.
2. Modello a scala d'organismo: la caduta è descritta attraverso una dinamica di pendolo inverso, la cui estremità superiore coincide con il COM, che avviene su un piano facente parte del fascio passante per l'asse verticale. Questo modello permette di calcolare la forza con cui avviene lo scontro tra grande trocantere e suolo a partire dall'energia cinetica disponibile nell'istante prima dell'impatto, passando per il calcolo della velocità in quello stesso istante.
3. Modello intermedio organo-organismo: un modello di trasferimento che permette di calcolare, nota la forza d'impatto, la forza che effettivamente agisce sul grande trocantere in seguito alla caduta (Eq 2.8), permettendo il confronto diretto con le proprietà meccaniche dell'organo. Questo modello esprime i vari fenomeni di smorzamento che si verificano durante una caduta attraverso due coefficienti, il primo tiene conto dell'azione di fattori estrinseci (tappeti, dispositivi di protezione indossabili) e della muscolatura, il secondo rappresenta l'attenuazione dovuta alla presenza di tessuti molli.

In questo studio, tale modello è stato applicato al fine ottenere meccanicisticamente un valore unico della forza provocata dall'impatto sul grande trocantere a partire da dati ambientali, personali, e implementando parametri stocastici.

3.3.1 Determinazione delle cadute all'interno della popolazione

In una prima fase di questo studio si è considerato l'avvenimento o meno di una caduta in un certo intervallo temporale come l'esito di una estrazione tra due possibili risultati con diverse probabilità associate, ovvero si è adottato un modello basato sulla distribuzione binomiale¹.

Subito, tuttavia, è stato riscontrato il limite di non poter rappresentare cadute multiple in un singolo intervallo temporale, il che avrebbe reso necessario discretizzare l'orizzonte temporale della simulazione in un numero elevato di sotto-intervalli brevi, per i quali risultasse accettabile l'approssimazione di singola caduta.

Al fine di superare questo limite si è deciso di rappresentare all'interno del modello l'evento caduta basandosi sulla distribuzione di Poisson, o legge degli eventi rari, la quale si basa sulle seguenti ipotesi:

- Equiprobabilità del verificarsi di un evento per tutti i sotto-intervalli.
- Possibilità che un evento si verifichi più volte nello stesso sotto-intervallo.
- Indipendenza degli eventi che si verificano in sotto-intervalli diversi.

Sotto queste ipotesi, la probabilità che un evento con probabilità media di verificarsi λ si verifichi esattamente n volte è espressa dall'equazione 2:

$$P_{\lambda}(n) = \frac{\lambda^n}{n!} e^{-\lambda} \quad (2)$$

Si è dunque determinato stocasticamente il numero di cadute per ogni paziente (Figura 3.1) per ogni sotto-intervallo considerato, adottando da letteratura un valore di λ pari a 0.65 cadute annue^{1,98}.

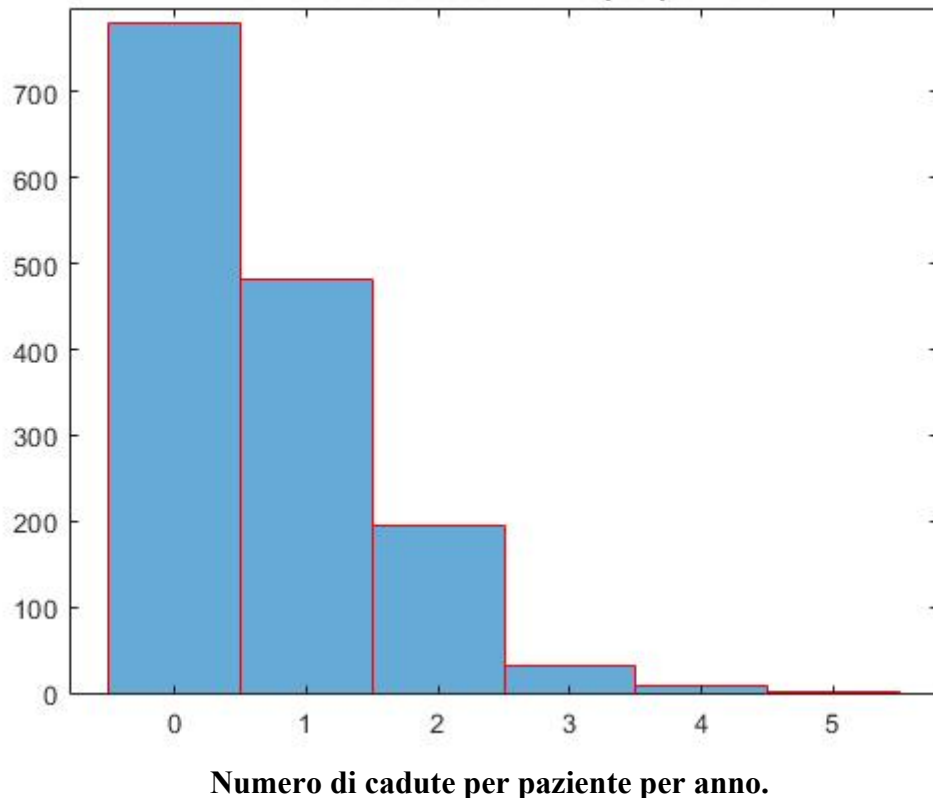


Fig. 3.1 Istogramma del numero di cadute all'anno per paziente per una coorte di 150 individui monitorata per 10 anni, generate a partire da una distribuzione di Poisson con $\lambda = 0.65$

Avendo assegnato le cadute ai pazienti per l'intervallo di tempo considerato, ricavandole da una distribuzione per la quale si è definito un unico tasso di cadute, si è implicitamente imposta la forte ipotesi di non variabilità del rischio di caduta all'interno della popolazione, tra i vari intervalli temporali ed all'interno degli intervalli stessi.

3.3.2 Determinazione stocastica delle condizioni di carico e della forza applicata al grande trocantere.

Dopo aver definito per ogni anno di campagna quali soggetti sarebbero incorsi in una caduta e quante volte, è stato necessario determinare le condizioni al contorno con le quali informare il modello per determinare le conseguenze biomeccaniche dell'evento.

Per prima cosa, sono stati assegnati ad ogni caduta gli angoli di impatto tra grande trocantere e suolo, ovvero gli angoli di intra-extrarotazione (angolo α) e di ad-abduzione (angolo β) del femore; sono stati considerati gli intervalli $\alpha = [-30^\circ, 30^\circ]$ e $\beta = [-30^\circ, 0^\circ]$

discretizzati a passo di 1° , ottenendo un fascio di 1891 possibili direzioni di applicazione della forza. Sono state imposte le ipotesi:

- Equiprobabilità tra i possibili valori di α e β .
- Indipendenza reciproca dei valori di α e β .
- Indipendenza di α e β da tempo, fattori *subject-specific* e numero di cadute.

In seguito, si definiscono come segue i parametri legati alla dinamica della caduta e *subject-specific*:

- Altezza del COM in funzione dell'altezza del soggetto - $H_{COM} = 0.554H_{TOT}$.
- Durata impatto - $\Delta t = 0.09$ s.
- Coefficiente di attenuazione legato alla presenza di tessuti molli passivi attorno al grande trocantere¹ - $\eta_{ST} = 0.0231BMI - 0.330$. (Se il BMI è tanto basso da ottenere un coefficiente negativo questo è posto uguale a zero)

A seguire vengono determinati stocasticamente altri sei parametri, estraendo un valore per ognuno a partire dalle distribuzioni normali le cui caratteristiche sono riportate in tabella 3.1:

1. θ_i – Angolo da cui inizia la dinamica di pendolo inverso descrittiva della caduta.
2. θ_f – Angolo finale.
3. $\dot{\theta}_{COM}$ – Velocità iniziale del COM.
4. $\ddot{\theta}_{COM}$ – Accelerazione iniziale del COM
5. η_I – Coefficiente di attenuazione legato a tutti i fattori che non siano la presenza di tessuti molli passivi attorno al grande trocantere: durezza/morbidezza del suolo, presenza di *hip protectors*, contrazione dei tessuti molli attivi vicini all'area dell'impatto.
6. η_P – Coefficiente di attenuazione esplicitivo di meccanismi di difesa posturale.

Parametro	Minimo	Massimo	Media	Deviazione standard
θ_i	0°	30°	15°	5°
θ_f	60°	120°	90°	10°
$\dot{\theta}_{COM}$	0 rad/s	1.40 rad/s	0.70 rad/s	0.23 rad/s
$\ddot{\theta}_{COM}$	0 rad/s ²	5.10 rad/s ²	2.55 rad/s ²	0.85 rad/s ²
η_I	-2.55	0.914	-0.82	0.58

η_P	0.5	0.8	0.65	0.05
----------	-----	-----	------	------

Tab. 3.1 Limiti inferiore e superiore, media e deviazione standard delle distribuzioni di probabilità associate ai parametri stocastici.

Noti tutti i parametri, si calcola per prima l'energia che il corpo possiede all'istante dell'impatto come¹:

$$e = H_{COM}^2 \ddot{\theta}(\theta_f - \theta_i) + \frac{1}{2} H_{COM}^2 \dot{\theta}^2 + g H_{COM} (\cos \theta_f - \cos \theta_i) \quad (3)$$

Da questa viene ricavata la velocità d'impatto¹:

$$u = \sqrt{2(1 - \eta_P)e} \quad (4)$$

La forza d'impatto viene dunque calcolata tenendo conto della massa e della durata dello stesso:

$$F^* = \frac{mu}{\Delta t} \quad (5)$$

Ed infine, tenendo conto dei fattori di attenuazione, si ottiene la forza che agisce sul grande trocantere a causa della caduta:

$$F = F^*(1 - \eta_I)(1 - \eta_P) \quad (6)$$

In sintesi, il modello appena descritto permette di ottenere, per una coorte di qualsiasi numerosità, un numero ben definito di cadute, delle quali siano note la collocazione temporale, le condizioni di carico (angoli α e β) e valore in Newton della forza agente sul grande trocantere.

3.3.3 Analisi agli elementi finiti

Il primo passo dell'analisi agli elementi finiti è l'importazione della *mesh* in ambiente ANSYS Mechanical APDL.

Il modello utilizzato in questo studio prevede inoltre l'aggiunta di un nodo pilota in corrispondenza del centro di rotazione dell'articolazione del ginocchio: ad esso vengono connessi attraverso un'equazione di vincolo lineare tutti i gradi di libertà dei nodi posti all'estremità distale della *mesh*; al nodo pilota vengono poi bloccati tutti i gradi di libertà ad eccezione della rotazione attorno all'asse perpendicolare a quello di applicazione del carico, definito dagli angoli α e β ; l'effetto è che i nodi distali del modello siano liberi di ruotare intorno al centro di rotazione del ginocchio lungo un asse perpendicolare alla forza applicata. Il vincolo lineare è implementato con elementi di tipo CONTA174 *beam* nella parte distale del femore ed un elemento TARGE170 al centro di rotazione.

Il contatto tra grande trocantere e suolo, rappresentato un piano esterno infinitamente rigido sul quale il grande trocantere sia libero di scorrere e ruotare, viene simulato avvalendosi di elementi di tipo TARGE170 per il piano e CONTA174 per la superficie del grande trocantere.

È stato attivato il solutore non lineare necessario in caso di grandi spostamenti, impostato come algoritmo di contatto “*Augmented Method*” ed infine risolto la simulazione avvalendosi di un solutore *preconditioned conjugate gradient-iterative*, con un’approssimazione massima di 10^{-8} .

La ROI considerata è la superficie del femore, esclusa la zona di contatto e l’estremità distale del modello. Per determinare se le deformazioni calcolate dal solutore fossero tali da provocare una frattura è stato adottato il criterio di massima deformazione principale indicato da Schileo et al. 2008⁷³: massima deformazione a trazione $\varepsilon_{lim}^T = 0.0073$ e massima deformazione a compressione $\varepsilon_{lim}^C = 0.0104$.

La maggior parte delle simulazioni sono state condotte sul supercomputer “Galileo100”, ospitato dal centro di supercalcolo del CINECA.

3.2 Sviluppo ed implementazione della coorte virtuale

3.2.1 Stima dell’aBMD da modelli FE

I dati relativi alla *mesh* dei modelli agli elementi finiti trattati in questa tesi sono contenuti in files CDB; all’interno di questi si trovano informazioni su nodi ed elementi, elenco dei materiali e proprietà meccaniche associate.

Essendo noto quali nodi siano associati ad ogni elemento e conoscendo le coordinate nodali, è possibile calcolare per ogni elemento posizione del centroide e volume. La densità minerale (in g/cm^3) può essere dunque ottenuta attraverso la relazione che la lega, all’interno del femore prossimale, al modulo di Young (in MPa) (Equazione 7)⁷⁰; moltiplicando il valore della densità per il volume dell’elemento viene quindi definita la massa minerale.

$$E = 14664\rho_{ash}^{1.49} \quad (7)$$

A questo punto viene ricostruita un’immagine virtuale estrapolata dai dati geometrici dei nodi e si crea una griglia di voxel cubici di lato 1 mm; la massa minerale associata ad ogni elemento viene interamente attribuita al voxel che ne include il centroide.

Per *mesh* isotopologiche è possibile distinguere gli elementi sulla base dell'appartenenza a particolari zone anatomiche: infatti, pur appartenendo a modelli differenti, gli elementi con lo stesso identificativo saranno localizzati sulla testa o collo del femore, sul grande trocantere ecc. Sfruttando questa proprietà si considerano separatamente tre gruppi di elementi: quelli compresi nella zona classificata clinicamente come “*total hip*”, quelli situati sul collo del femore e quelli della zona intertrocanterica; per ciascuna area viene calcolato il contenuto minerale complessivo.

L'immagine 3D viene poi proiettata sul piano frontale, ottenendo una distribuzione bidimensionale del contenuto minerale; a questo punto, calcolata la superficie delle tre aree, si può ricavare il valore di *areal bone mineral density* dividendo il contenuto minerale in g per la superficie in cm².

Riassumendo, questo algoritmo riproduce virtualmente l'esame clinico DXA descritto nel paragrafo 1.2.3, fornendo come risultato i valori di aBMD al collo del femore, nella zona intertrocanterica e per il femore prossimale, dai quali è banalmente ricavabile il *T-score* in base al riferimento adottato. Tale algoritmo è stato utilizzato per valutare l'idoneità di includere o meno un modello FE in determinate analisi e per monitorare l'evoluzione temporale dell'aBMD.

3.2.1 Generazione della coorte virtuale

L'algoritmo utilizzato in questo studio per la creazione di una coorte sintetica è basato sull'atlante statistico sviluppato dal prof. Taylor⁸¹ a partire della già citata coorte di Sheffield (Tabella 3.2). Questa è una popolazione di studio composta da 100 donne caucasiche, che prende il nome dalla città inglese in cui è avvenuto il reclutamento. Metà delle partecipanti era reduce da non più di novanta giorni da una frattura fragile del femore prossimale; per ognuna delle fratturate è stata individuata, durante il processo di selezione, una donna analoga per età, peso ed altezza, entro i seguenti limiti:

- BMI della paziente fratturata compreso tra 16 e 34 kg/m²: età ± 5 anni, peso ± 5 kg ed altezza ± 5 cm.
- BMI della paziente fratturata inferiore a 16 e superiore a 34 kg/m²: età ± 5 anni e BMI ± 5 kg/m².

Per entrambi i gruppi sono state scelte donne in menopausa da almeno 5 anni ma di età inferiore o uguale a 90 anni. Sono stati adottati numerosi criteri di esclusione, tra i quali iperparatiroidismo, presenza di metastasi ossee nella storia clinica, ostacoli di qualunque

genere alla corretta esecuzione di DXA e QCT, partecipazione ad altri studi clinici d'intervento nel trimestre precedente, anomalità dei parametri clinici laboratoriali e documentati stati confusionali e/o episodi di demenza^{77,99}.

Con uno scanner a 64 sezioni (*LightSpeed 64 VCT*, GE Medical Systems, Milwaukee, WI, USA) sono state quindi eseguite le acquisizioni QCT del bacino delle donne selezionate⁹⁹ ed un fantoccio di calibrazione *European Spine Phantom* (ESP)^{32,81}. Il test è stato eseguito in modo tale da registrare il femore da poco sopra la testa fino al di sotto del grande trocantere; per il gruppo di controllo sono state acquisite immagini di tutti i femori sinistri, mentre per le fratturate è stata eseguita la QCT contro-lateralmente al sito della frattura. Le volontarie sono state sottoposte all'esame DXA nello stesso giorno della QCT, al femore contro-laterale alla frattura per le pazienti fratturate e allo stesso per quelle ad esse appaiate⁹⁹.

	Controllo	Fratturate
Età (anni), media (SD)	75.1 (9.0)	75.0 (8.2)
Altezza (m), media (SD)	1.58 (0.06)	1.58 (0.07)
Peso (kg), media (SD)	63.9 (12.4)	62.9 (13.9)
BMI (kg/m²), media (SD)	25.6 (4,5)	25.1 (5.0)
aBMD collo del femore (g/cm²), media (SD)	0.660 (0.105)	0.568 (0.100)

Tab 3.2 Caratteristiche della coorte di Sheffield⁹⁹.

Nel lavoro di Taylor et al. del 2021 sono state escluse tre coppie di femori, la prima per la forte presenza di zone calcificate ad alta densità sulla superficie del campione contro-laterale al fratturato³² e le altre due poiché la scansione si interrompeva a meno di 3.5 mm al di sotto del grande trocantere⁸¹; pertanto, anche nel presente studio è stato utilizzato un set di 94 femori appaiati.

Brevemente, le *mesh* isotopologiche relative a 94 donne della coorte di Sheffield (410 359 nodi e 295 589 elementi tetraedrici di tipo SOLID 187, dimensione media 3 mm) sono state analizzate con la tecnica PCA, accoppiando la variazione di geometria e di modulo di elasticità locale. Per la sintesi della popolazione virtuale di questo lavoro di tesi sono stati presi in considerazione tutti i 93 modi di variazione, campionando distribuzioni gaussiane con media e deviazione standard corrispondenti ad ogni modo. Le coordinate del centro della testa del femore, del centro di rotazione stimato del ginocchio

e della direzione del grande trocantere sono state inserite nell'analisi PCA in coda ai nodi del modello FE.

Nella sintesi di una popolazione virtuale è utile definire a priori distribuzioni e limiti associati a determinate grandezze caratteristiche. In questo lavoro di tesi l'algoritmo di generazione di coorti virtuali è stato utilizzato per riprodurre uno studio di intervento condotto in passato e riportato in letteratura, in modo da poter eventualmente attuare un confronto retrospettivo dei dati ottenuti. In particolare, si è scelto di prendere come riferimento il gruppo placebo di uno studio sugli effetti dell'alendronato, un farmaco anti-riassorbitivo facente parte della famiglia dei bifosfonati, sulla riduzione del rischio di frattura per donne post menopausa senza preesistenti fratture vertebrali, svolto nel contesto del *Fracture Intervention Trial* negli Stati Uniti e descritto da Cummings et al. nel 1998⁵⁷.

In questo studio clinico⁵⁷ erano state coinvolte donne in menopausa da almeno due anni, le quali presentassero un valore di aBMD al collo del femore minore di 0.68 g/cm²; i valori di media e deviazione standard relativi ad aBMD, BMI, altezza ed età sono riportati in seguito (Tabella 3.3); tali dati, ottenuti dall'analisi statistica del campione post-reclutamento, sono stati adottati come parametri in questo studio per generare la coorte virtuale.

Età (anni), media (SD)	67.7 (6.1)
aBMD collo del femore (g/cm ²), media (SD)	0.593 (0.06)
Altezza (m), media (SD)	1.60 (0.06)
BMI (kg/m ²), media (SD)	25.0 (4.0)

Tab. 3.3 Caratteristiche della popolazione coinvolta nel *Fracture Intervention Trial*⁵⁷.

L'algoritmo parte dalla definizione della dimensione desiderata per la popolazione virtuale e di uno o più criteri di reclutamento: nel caso di questo studio è stata generata una coorte virtuale di 160 individui, con aBMD al collo del femore medio di 0.593 g/cm² ed una deviazione standard di 0.06 g/cm², ma comunque inferiore a 0.68 g/cm²; viene dunque effettuato un campionamento della distribuzione appena definita andando a considerare tanti punti quanti saranno i soggetti inclusi nella coorte virtuale.

L'algoritmo procede quindi alla generazione dei modelli di femore prossimale utilizzando i 93 modi di variazione; per fare ciò ad ognuno di essi viene attribuito un coefficiente chiamato "peso", determinato stocasticamente a partire da una distribuzione gaussiana con media e deviazione standard pari a quelli della popolazione utilizzata per la creazione dell'atlante statistico.

Per ogni modello viene dunque determinata la distribuzione di aBMD attraverso il metodo descritto nel precedente paragrafo, ottenendo i valori relativi al femore intero, al collo femorale e alla zona intertrocanterica; poiché in questo studio le caratteristiche della popolazione generate erano vincolate ad una precisa distribuzione della densità minerale al collo del femore, per tale valore si è andato a verificare se per tutti i modelli il fatto che questo riestrasse o meno nella campionatura precedentemente effettuata, andando ad includere tale modello nella coorte in caso positivo ed escludendolo in caso negativo.

Raggiunta la numerosità desiderata per la popolazione virtuale, le informazioni relative alla distribuzione delle proprietà meccaniche di ogni modello vengono elaborate in modo tale da definire una lista di materiali da assegnare agli elementi del modello FE, definendo una differenza minima tra i moduli elastici di 50 MPa.

Note le coordinate del centro della testa del femore e del centro di rotazione del ginocchio (il punto intermedio tra le estremità mediale e laterale degli epicondili distali del femore), per generare i dati biometrici della popolazione virtuale si è calcolata per ogni modello selezionato il valore della lunghezza biomeccanica del femore, come distanza euclidea tra i due punti. A partire da questa lunghezza, vengono cercati i due femori della coorte di Sheffield immediatamente più lungo e più corto, e al paziente generato viene assegnata un'altezza casuale intermedia (distribuzione uniforme) tra le altezze delle due pazienti della coorte reale.

Ad ogni soggetto viene inoltre associato un valore di BMI secondo una gaussiana con media 25 e deviazione standard 4, e la sua massa viene calcolata con l'equazione 8:

$$m = BMI \cdot h^2 \quad (8)$$

Riassumendo, attraverso il flusso di lavoro descritto in questo paragrafo (Figura 3.2) è stata generata una popolazione virtuale di 160 modelli FE isotopologici di femore prossimale, in seguito chiamata "coorte OsteoArt", completi di geometria, distribuzione delle proprietà meccaniche e coordinate di *landmarks* anatomici; ad ognuno di questi modelli sono stati inoltre associati dati biometrici relativi ad altezza e peso.

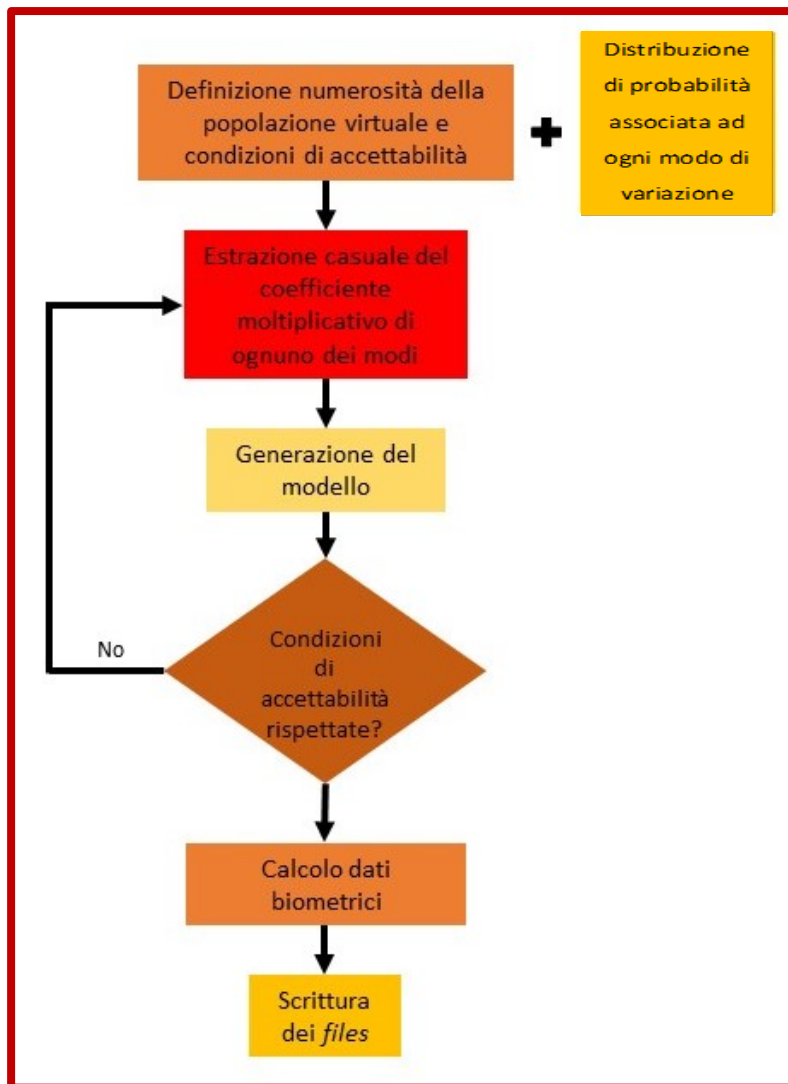


Fig. 3.2 Flusso di lavoro per la generazione della coorte virtuale

3.2.2 Modello di invecchiamento

In questo lavoro di tesi, è stato utilizzato un modello di invecchiamento che prevede la definizione di un determinato cambiamento nella densità minerale ossea del soggetto, sulla base del quale aggiornare la lista dei materiali associata al modello FE e di conseguenza le proprietà meccaniche.

L'algoritmo richiede che sia noto il valore di aBMD associato a tutto il femore prossimale, per poi definire sulla base di questo una variazione, tipicamente negativa, nel caso ad esempio di pazienti osteoporotici non trattati, ma che può assumere valori positivi, come nel caso di soggetti trattati con bifosfonati³³.

È stato osservato come il fenomeno di riassorbimento osseo non sia indipendente dalla densità minerale volumetrica locale¹⁰⁰; pertanto in questo modello, vengono definiti tre diversi intervalli per questa grandezza: basso, medio ed alto, separati da due valori soglia, $\tau_{LM} = 0.297 \text{ g/cm}^3$ e $\tau_{MH} = 0.676 \text{ g/cm}^3$, i cui pedici indicano appunto la separazione tra il livello *low* e il livello *medium* e tra quest'ultimo ed il livello *high* espressi in termini di ρ_{ash} .

In seguito dalla *mesh* vengono estrapolate le informazioni sul materiale associato ad ogni elemento, in particolare il modulo di Young in MPa; tale dato viene usato per ottenere il corrispondente valore di densità minerale attraverso l'equazione 9, ottenuta invertendo la relazione tra modulo elastico e ρ_{ash} espressa dall'equazione 7:

$$\rho_{ash} = \frac{1.49\sqrt{E}}{14664} \quad (9)$$

Dati i valori soglia e la densità di ogni elemento è quindi possibile dividere questi ultimi in tre gruppi in base al grado di mineralizzazione ed attribuire ad ognuno di essi un diverso cambiamento in termini di densità minerale ossea. Per gli elementi classificati a media e alta densità tale cambiamento dipende dalla variazione di aBMD definita all'inizio del processo, moltiplicata per un coefficiente che vale, rispettivamente, 0.216 e 0.147 cm^{-1} ; per gli elementi a bassa densità, oltre alla variazione predefinita, viene inoltre considerato il rapporto tra densità minerale volumetrica ed areale iniziali, moltiplicato per un fattore di invecchiamento soggettivo adimensionale descritto dall'equazione 10:

$$Subj_F = \frac{M_{TOT}}{M_{LowDens}} - \frac{aBMD_{TOT}}{M_{LowDens}} (0.216Vol_{MedDens} + 0.147Vol_{HighDens}) \quad (10)$$

dove M_{TOT} indica la massa minerale totale, $M_{LowDens}$ è la massa minerale complessiva degli elementi a bassa densità, $aBMD_{TOT}$ è la densità areale di partenza del modello, $Vol_{MedDens}$ è il volume complessivo degli elementi con densità minerale intermedia, e $Vol_{HighDens}$ è il volume complessivo degli elementi ad elevata densità minerale.

Le densità del modello aggiornato, rispettivamente per gli elementi ad alta, media e bassa densità sono quindi calcolate con le seguenti equazioni:

$$\rho_{ash,f} = \rho_{ash,i} + 0.147 \Delta aBMD \quad (11)$$

$$\rho_{ash,f} = \rho_{ash,i} + 0.216 \Delta aBMD \quad (12)$$

$$\rho_{ash,f} = \rho_{ash,i} + Subj_F \frac{\Delta aBMD}{aBMD} \rho_{ash,i} \quad (13)$$

Nelle quali con i pedici "i" e "f" si indicano rispettivamente i valori iniziali e finali della densità minerale ossea di ciascun elemento.

Avendo calcolato i nuovi valori di ρ_{ash} è possibile definire una nuova lista dei materiali, calcolandone i moduli di Young con l'equazione 7.

L'algoritmo di invecchiamento può essere accoppiato all'algoritmo di stima dell'aBMD da modelli FE descritto nel paragrafo 3.2.1 in un processo ciclico (Figura 3.3) che calcoli la densità minerale ossea a partire da un file CDB, aggiorni la lista dei materiali, ricavi la nuova densità ecc

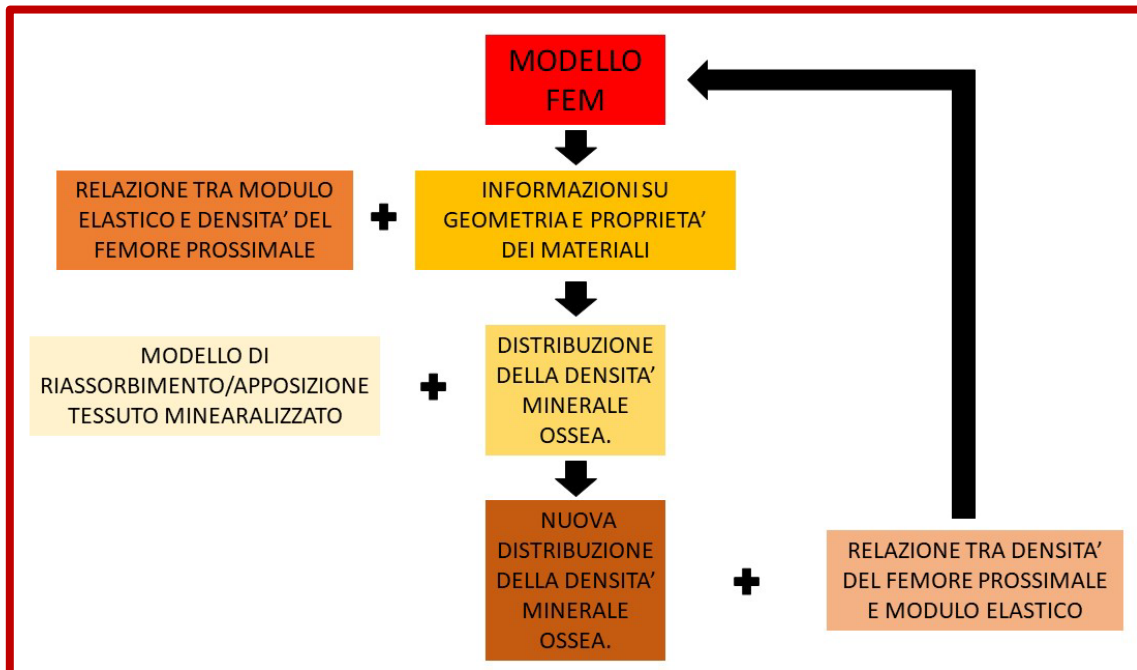


Fig.3.3 Flusso di lavoro per la simulazione dell'evoluzione temporale della densità minerale ossea.

Il flusso di lavoro appena descritto è stato applicato alla “coorte OsteoArt” imponendo le seguenti variazioni temporali di aBMD^{103,104}:

-1% annualmente.

-0.5% semestralmente.

-0.33% quadrimestralmente.

-0.1667% bimestralmente.

-0.0833% mensilmente.

Si sono dunque ottenute cinque coorti composte dagli stessi soggetti, ovvero i 134 della coorte “OsteoArt” che non presentassero problemi gravi di distorsione della *mesh*; identici per dati biometrici, nonché per forma e dimensioni del femore, ma per i quali il processo di invecchiamento è stato discretizzato più o meno fittamente. Questi sono stati sottoposti allo stesso set di cadute, al fine di studiare la convergenza del numero di fratture

osservate in un orizzonte temporale di 1, 5, e 10 anni, al variare della frequenza di aggiornamento delle proprietà dei materiali.

3.3 Simulazione della sperimentazione clinica

Al netto delle semplificazioni introdotte e degli errori rappresentativi, il modello adottato, schematizzato in figura 3.4, cerca di riprodurre il reale svolgimento di una sperimentazione clinica inerente al trattamento dell'osteoporosi, che preveda il monitoraggio periodico dell'evoluzione dello stato di salute di una popolazione per un fissato periodo di tempo, registrando in particolare il verificarsi di *end-points*, in questo caso la frattura fragile del femore prossimale.

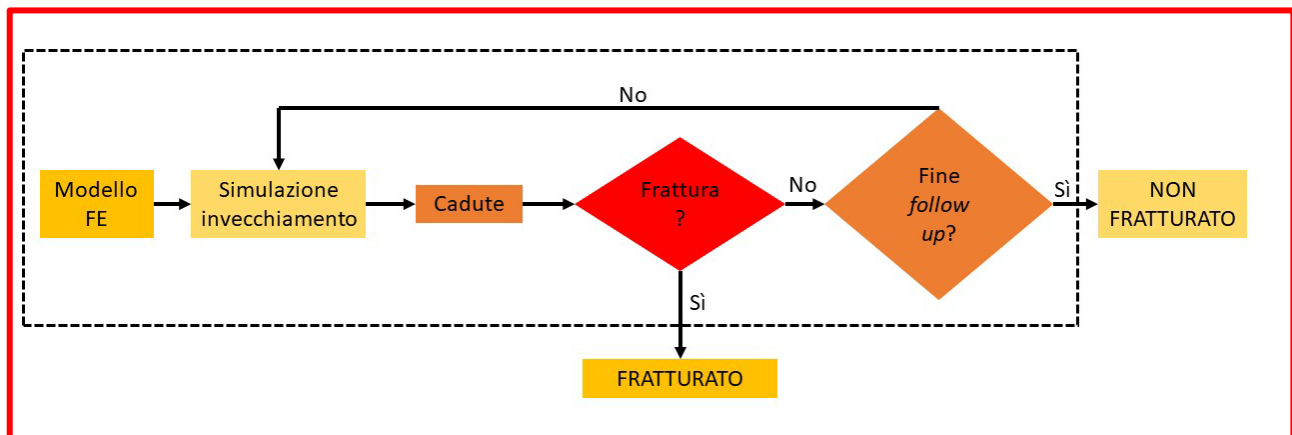


Fig. 3.4 Schema di simulazione sperimentazione clinica per ogni paziente.

Il modello, in ogni campagna di simulazioni portata avanti, prevede che venga eseguita un'analisi agli elementi finiti di una caduta alla volta per ogni paziente, in modo da registrare l'eventuale verificarsi dell'*end-point* predefinito ed escludere di conseguenza il paziente dal monitoraggio futuro; ciò ha permesso di abbassare in modo considerevole il costo computazionale, evitando di svolgere tutte le simulazioni relative a quei soggetti che avessero già sostenuto una frattura.

3.3.1 Analisi di stabilità

Ogni realizzazione della simulazione prevede la generazione di numeri casuali per la definizione delle cadute e dei loro parametri per ogni paziente, per cui il numero di fratture (e l'anno in cui si sono verificate) non sarà mai esattamente lo stesso in due diverse realizzazioni del processo. È utile quindi mediare i risultati di diverse

realizzazioni al fine di ottenere un risultato più stabile, non influenzato dai particolari numeri casuali generati nelle singole realizzazioni.

Per valutare quante ripetizioni dell'intero processo di simulazione fossero necessarie al fine di ottenere un risultato medio affidabile è stata condotta un'analisi di stabilità sul valore assunto dal rischio assoluto di frattura (FR) in 25 campagne di simulazione. Per il rischio assoluto è stata tenuta in considerazione la seguente definizione, diffusa in campo epidemiologico, è definito come “*La probabilità che un evento accada in un gruppo chiuso in un certo intervallo di tempo. Il numero di eventi nel gruppo diviso per il numero di soggetto all'interno del gruppo*”¹⁰⁵.

Le 25 campagne di simulazione sono state condotte sui modelli FE ricavati dai 94 femori della coorte di *Sheffield*, applicando il modello di caduta descritto ad inizio capitolo su un orizzonte temporale di 10 anni, anche nell'ottica di stimare il costo computazionale associato ad un eventuale *in silico clinical trial* svolto utilizzando questo approccio.

Al fine di quantificare la stabilità dei risultati ed identificare il numero minimo di realizzazioni necessarie per ottenerla è stato utilizzato un indice di stabilità (IS)¹⁰⁶, la cui espressione matematica è riportata nell'equazione 15; questo è definito come la differenza relativa del valore del coefficiente di variazione cumulativo (ovvero il rapporto tra deviazione standard e media cumulative) della quantità di interesse, al crescere della dimensione del campione considerato:

$$\text{CoV}_s = \frac{\sigma_s}{\mu_s} \quad (14)$$

$$\text{IS}_s = \left| \frac{\text{CoV}_s - \text{CoV}_{s-1}}{\text{CoV}_{s-1}} \right| \quad (15)$$

dove μ_s e σ_s indicano rispettivamente la media e la deviazione standard dei risultati calcolate sulle prime s realizzazioni. In questa analisi si è scelto come criterio di stabilità dei risultati che i valori dell'indice di stabilità associati al rischio di frattura risultassero inferiori a 0.01 per almeno cinque iterazioni consecutive.

Per valutare la somiglianza tra i gruppi di fratturati e non fratturati all'interno delle varie campagne di simulazione è stato considerato l'indice di Jaccard, ovvero il rapporto delle dimensioni di intersezione ed unione di due insiemi, descritto nell'equazione 16. Il valore di questo indice rappresenta propriamente la percentuale di similitudine tra due insieme ed è stato calcolato e mediato sulle liste dei fratturati per le 25 iterazioni sui tre orizzonti temporali di uno, cinque e dieci anni.

$$J(A, B) = \frac{|\dim(A \cap B)|}{|\dim(A \cup B)|} \quad (16)$$

3.3.2 Confronto retrospettivo

Nella fase finale di questo lavoro di tesi per confrontare retrospettivamente il modello con il già citato studio sugli effetti dell'alendronato⁵⁷, si è cercato di riprodurre, attraverso il modello precedentemente descritto, un'evoluzione della densità minerale ossea dei soggetti coinvolti nello stesso clinico, trattati e non, per i quali si conoscevano da letteratura⁵⁷ i valori medi.

La coorte “OsteoArt” è stata dunque “invecchiata” per 4 anni in due modi diversi:

1. Nel primo, a riprodurre il braccio di controllo dello studio reale, è stato applicato un tasso di riassorbimento osseo coerente con quello registrato nel *clinical trial*⁵⁷ (Tabella 3.4).
2. Nel secondo si è rappresentato l'effetto dell'assunzione di alendronato, imponendo un aumento della densità minerale ossea, coerente con quella riportata dallo studio⁵⁷ (Tabella 3.4).

	1° Anno	2° Anno	3° Anno	4° Anno
Placebo	-0.03%	-0.43%	-1.15%	-1.57%
Alendronato	+1.9%	+2.6%	+3.1%	+3.4%

Tab. 3.4 Cambiamento percentuale di aBMD per i due bracci rispetto al valore iniziale⁵⁷.

Data la buona stabilità dei risultati, sono state generate 30 sequenze di cadute su un orizzonte temporale di 4 anni, di cui 15 assegnate al braccio “Placebo” ed altrettante al gruppo “Alendronato”.

In seguito, al fine di definire una procedura che permetta di variare agevolmente i singoli parametri del modello stocastico su cui è possibile intervenire, ottenendo i risultati di tale variazione in modo rapido e computazionalmente efficiente, è stata apportata la seguente modifica al set di parametri considerato: η_I è stato infatti scomposto in tre termini, $\eta_{I, \text{floor}}$, $\eta_{I, \text{ext}}$ ed $\eta_{I, \text{act}}$, ognuno dei quali esprime uno degli effetti originariamente rappresentati complessivamente dal parametro singolo, che si ricordano essere attenuazione dovuta rispettivamente a effetti di pavimento, presenza di *hip protectors* e contrazione dei tessuti molli attivi che circondano il grande trocantere¹.

$\eta_{I, \text{floor}}$	0	0.870	0.435	0.145
$\eta_{I, \text{ext}}$	0	0.338	0.169	0.056
$\eta_{I, \text{act}}$	-2.55	0	-1.275	0.425

Tab. 3.5 Limiti inferiore e superiore, media e deviazione standard delle distribuzioni di probabilità associate ai parametri stocastici.

Il numero di fratture è stato tradotto in termini di rischio associato ai due gruppi e di riduzione relativa dello stesso (RRR), ovvero la percentuale che descrive la riduzione proporzionale del rischio associato all'evento nel gruppo che riceve il trattamento rispetto a quello sottoposto al placebo¹⁰⁵, calcolata come la differenza tra il numero di eventi nei due gruppi diviso il numero di eventi verificatori nel gruppo placebo¹⁰⁵. I risultati ottenuti attraverso il modello stocastico sono stati infine confrontati con quelli riportati in letteratura⁵⁷.

4 Risultati e discussione

Nel seguente capitolo verranno presentati e discussi i principali risultati ottenuti in questo lavoro di tesi. La prima sezione sarà incentrata sull'analisi di convergenza della lunghezza degli intervalli di tempo considerati per il modello di invecchiamento, la seconda riporterà invece i risultati relativi all'analisi di stabilità del rischio assoluto di frattura femorale stimato dal modello stocastico, ed infine la terza descriverà l'esito della simulazione di una sperimentazione clinica, basata sul già citato studio di efficacia dell'alendronato⁵⁷.

4.1 Analisi di convergenza sulla discretizzazione

dell'invecchiamento

Per prima cosa si è verificato che l'algoritmo di generazione della coorte virtuale abbia permesso di ottenere una popolazione con caratteristiche conformi a quelle desiderate ed in seguito sono state analizzate le differenze in termini di calo di densità minerale ossea provocate dall'implementazione di intervalli più brevi e numerosi o più lunghi ed in numero minore. Infine, si è verificato se tali differenze portassero ad un diverso risultato in termini di numero di fratture e/o dell'intervallo di tempo all'interno del quale tali fratture si fossero verificate.

4.1.1 Generazione della coorte ed effetti del modello di riassorbimento

osseo

Sono stati presi in considerazione aBMD al collo del femore, altezza ed indice di massa corporea della popolazione generata virtualmente, per effettuare un confronto con quelle relative alla coorte placebo dello studio clinico di riferimento (Tabella 4.1 e Figura 4.1)⁵⁷.

	Coorte OsteoArt	Valori di riferimento
aBMD collo femorale, media (deviazione standard), g/cm²	0.59 (0.05)	0.59 (0.06)

Altezza, media (deviazione standard), cm	158 (5.9)	160 (6.0)
BMI, media (deviazione standard), kg/m²	25.4 (4.4)	25.0 (4.0)

Tab. 4.1 Confronto tra media e deviazione standard di BMI, altezza e aBMD della coorte virtuale e del trial di riferimento

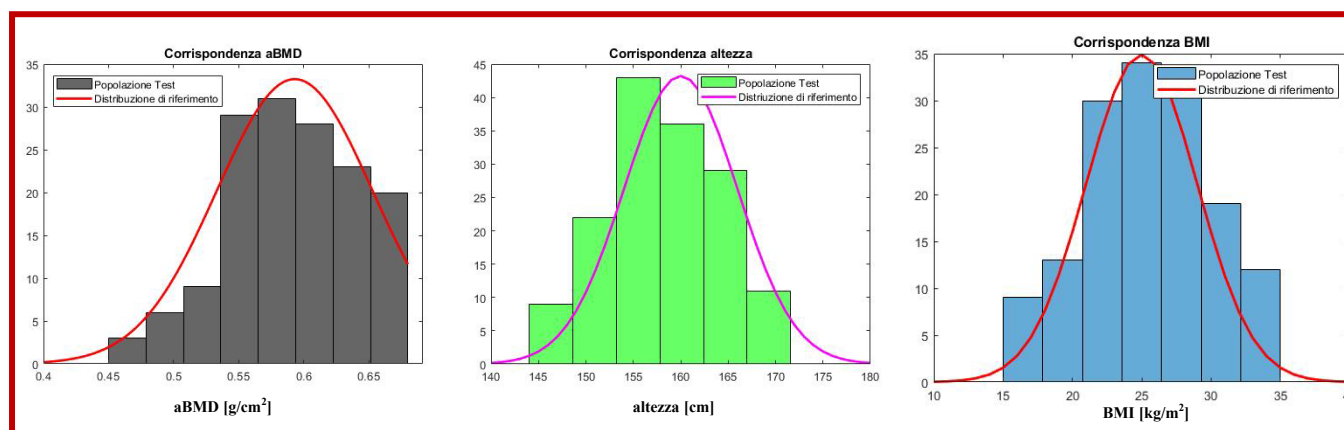


Fig. 4.1 Istogramma di BMI, altezza ed aBMD e confronto con la distribuzione di riferimento.

Gli *z-test* condotti per verificare la corrispondenza tra aBMD, altezza e BMI della coorte virtuale con la popolazione di riferimento hanno confermato l'assenza di differenze statisticamente significative ad un *p-value* di 0.05 nel caso di aBMD e BMI; non è possibile affermare lo stesso per l'altezza, nonostante il buon accordo tra i valori mostrati in tabella, poiché questo parametro è stato generato a partire dalle informazioni sulla coorte di Sheffield e non su dati di popolazione imposti a priori.

Le prime simulazioni hanno permesso di rilevare come 16 modelli presentassero un eccessivo grado di distorsione della *mesh*, tale da renderli inadeguati allo svolgimento di un'analisi agli elementi finiti, pertanto questi sono stati esclusi. Data la rimozione di oltre un decimo del campione iniziale, è stato verificato che le caratteristiche medie della popolazione fossero ancora coerenti con quelle riportate nell'articolo⁵⁷, ottenendo una conferma dei livelli di somiglianza tra le due popolazioni (Tabella 4.2).

	Coorte OsteoArt	Valori di riferimento
--	------------------------	------------------------------

aBMD collo femorale, media (deviazione standard) g/cm²	0.59 (0.05)	0.59 (0.06)
Altezza, media (deviazione standard), cm	158 (5.9)	160 (6.0)
BMI, media (deviazione standard), kg/m²	25.4 (4.5)	25.0 (4.0)

Tab. 4.2 Confronto tra media e deviazione standard di BMI, altezza e aBMD della coorte virtuale, dopo la rimozione di 16 individui, e del trial di riferimento.

4.1.2 Studio di convergenza sul *time-step* di invecchiamento.

Sono stati confrontati i cambiamenti relativi di aBMD al collo del femore ottenuti applicando le cinque diverse discretizzazioni (mensile, bimestrale, quadrimestrale, semestrale, annuale) dell'invecchiamento virtuale (Figura 4.2 e Tabella 4.3): la discretizzazione dell'intervallo di tempo in un numero minore di intervalli di maggior durata ha comportato una perdita di aBMD meno severa, il tasso di riassorbimento

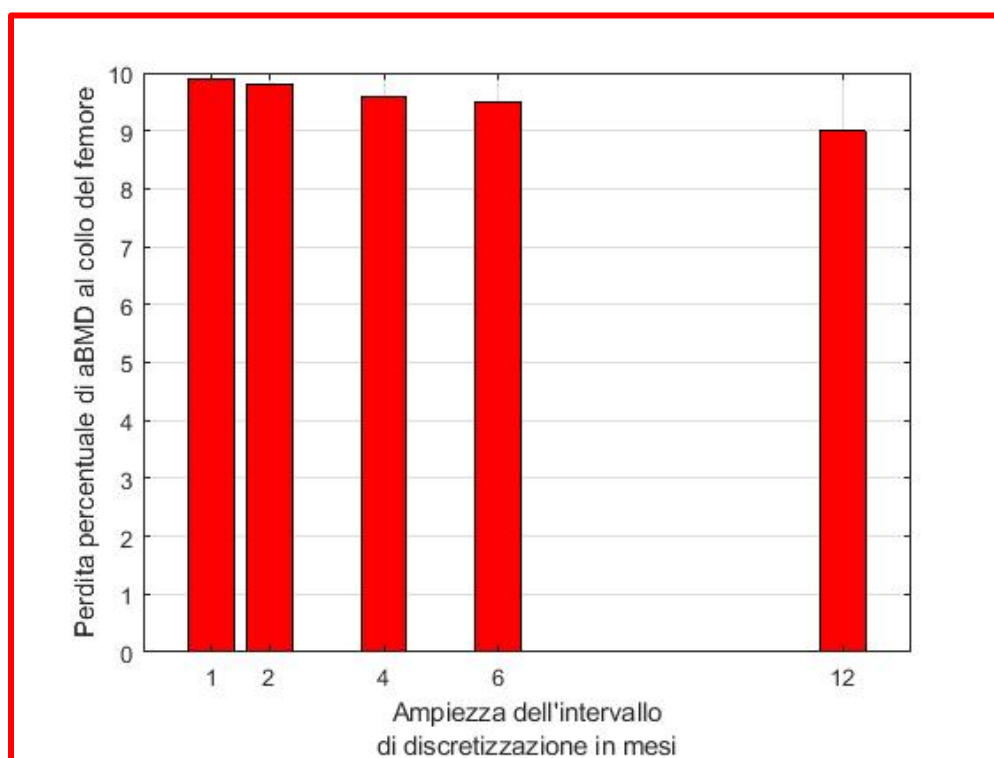


Fig. 4.2 Calo percentuale di aBMD al collo femorale associata ai cinque diversi intervalli di discretizzazione.

percentuale sembra dunque diminuire all'aumentare della durata del tempo di discretizzazione. Questo fatto potrebbe assumere rilevanza clinica in quanto ad una maggiore densità minerale è associata una maggiore resistenza meccanica, per cui è stata valutata l'entità della differenza tra i risultati delle simulazioni svolte con i differenti *time-step* di invecchiamento.

Durata dell'intervallo di discretizzazione	Perdita percentuale aBMD
12 mesi	9.0 %
6 mesi	9.5 %
4 mesi	9.6 %
2 mesi	9.8 %
1 mese	9.9 %

Tab. 4.3 Perdite percentuali di aBMD associate alle cinque discretizzazioni.

Per valutare se tali differenze in termini di densità minerale implicassero un cambiamento non trascurabile del rischio di frattura all'interno della popolazione, è stato simulato un totale di 841 cadute in un periodo di 10 anni, ognuna delle quali associata ad uno dei 134 soggetti e caratterizzata da angoli α e β e forza d'impatto sul grande trocantere. Le simulazioni hanno portato in tutti i casi allo stesso numero di fratture relative agli stessi soggetti (130) e, ovviamente, allo stesso numero di non fratturati (4).

Le differenze dal punto di vista dell'anno di frattura sono state valutate confrontando ogni set di fratture ottenute per una certa discretizzazione con quello ottenuto con la discretizzazione mensile. Si è osservato un solo anno di frattura diverso: un soggetto, infatti, è risultato fratturatosi in anni diversi a seconda dell'intervallo di discretizzazione adottato, rispettivamente al settimo anno nel caso di discretizzazione mensile e bimestrale, o al nono anno da quadrimestrale in poi (Figura 4.3). Ciò è stato dovuto al fatto che la forza d'impatto agente sul femore rientrava nel pur ridotto intervallo tra i valori di resistenza del modello associati ai cinque passi di invecchiamento: in particolare, a tale configurazione di caduta era associata una forza di 2275 N, mentre i carichi di

rottura rientravano in un intervallo compreso tra i 2271 N (discretizzazione mensile) ed i 2285 N (discretizzazione annuale) (Tabella 4.4).

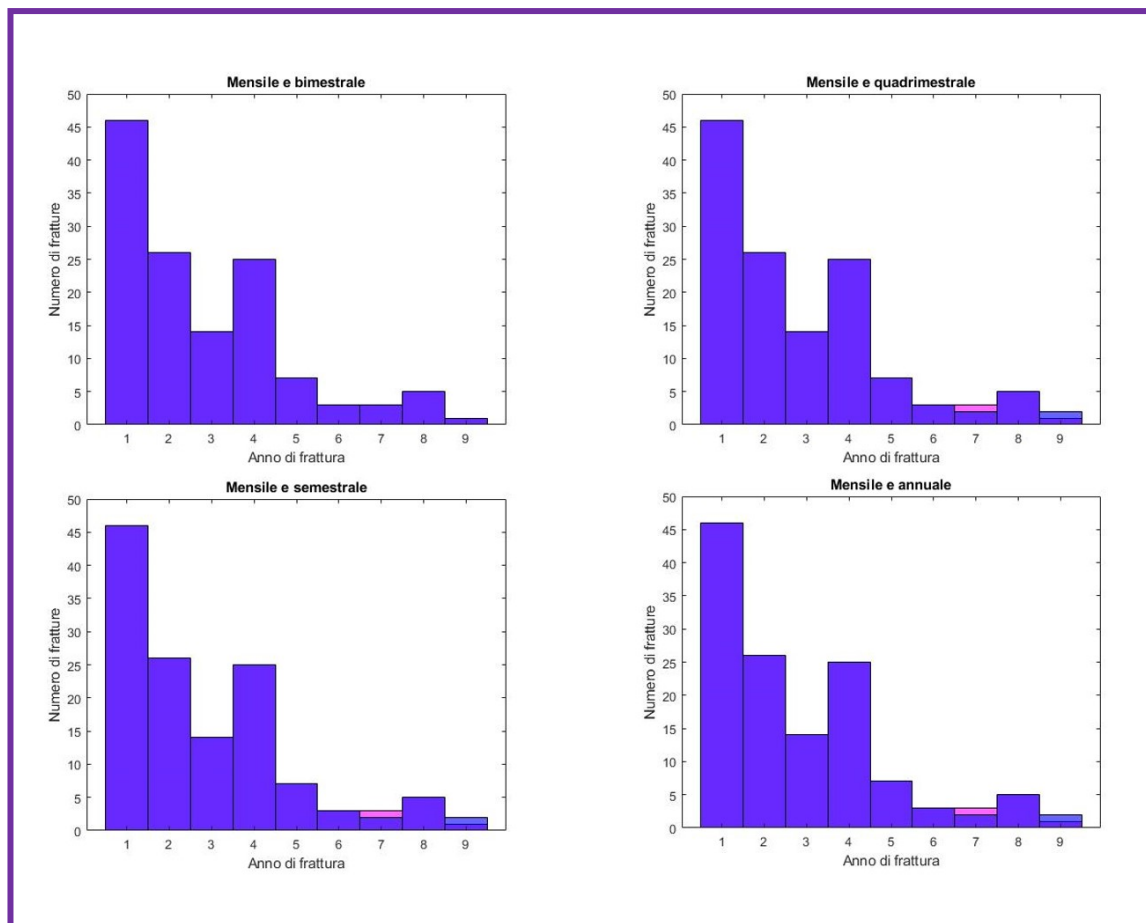


Fig. 4.3 Confronto fra gli istogrammi dei tempi di caduta ottenuti per le diverse discretizzazioni (rosa) rispetto alla più fitta (viola).

Durata dell'intervallo di discretizzazione	Carico di rottura (N)
12 mesi	2285
6 mesi	2281
4 mesi	2277
2 mesi	2274

1 mese	2271
---------------	-------------

Tab. 4.4 Carichi di rottura associati alle cinque discretizzazioni per l'unico paziente con differente anno di frattura (carico applicato al femore pari a 2275 N).

Sono stati svolti due test statistici al fine di valutare l'entità di tale differenza comportata dall'adozione dei diversi livelli di discretizzazione: il test dei ranghi con segno di Wilcoxon¹⁰⁷ ed il test di Kolmogorov-Smirnov¹⁰⁸.

In entrambi i casi e per tutti i gruppi di dati i test hanno fallito nel respingere l'ipotesi nulla di assenza di differenze statisticamente significative; per il test di Kolmogorov Smirnov, il calcolo della statistica test, definita come l'estremo superiore del valore assoluto delle differenze tra le distribuzioni di frequenza empirica associate ai due gruppi, ha riportato un valore di $KS = 0.0077$ per il confronto tra la discretizzazione mensile e quelle annuale, semestrale e quadrimestrale e, ovviamente, un valore nullo per il confronto con quella bimestrale¹⁰⁸.

Questa analisi ha permesso di osservare come un numero minore di iterazioni dell'algoritmo di invecchiamento, pur imponendo inizialmente lo stesso riassorbimento osseo principale, porti ad un tasso di diminuzione dell'aBMD leggermente minore; ciononostante, tale intensificazione non si è rivelata tale da provocare una differenza statisticamente significativa sul rischio assoluto di frattura per nessun orizzonte temporale all'interno del periodo di dieci anni considerato, pertanto si è scelto di adottare per le successive analisi la discretizzazione annuale.

4.2 Analisi di stabilità del rischio di frattura e stima del costo computazionale

L'utilizzo di un modello stocastico che preveda l'utilizzo massiccio di analisi agli elementi finiti per determinare il verificarsi di una frattura femorale comporta un grande onere computazionale; inoltre, verificare la stabilità del risultato di un test basato su un modello del genere fornisce utili indicazioni metodologiche e relative alla corretta interpretazione dei risultati ottenuti. Pertanto, in questa sezione verranno presentate le

analisi svolte sui risultati ottenuti iterando il processo di simulazione condotto attraverso il modello stocastico presentato in questo lavoro di tesi.

4.2.1 Stabilità del rischio di frattura

Essendo simulazioni basate sull'estrazione di numeri casuali, ogni realizzazione fornirà risultati diversi dalle altre; la media dei risultati ottenuti per numerose realizzazioni tenderà però a convergere verso il valore atteso dei parametri in esame. Per valutare quante realizzazioni fossero necessarie al fine di ottenere un risultato affidabile è stata condotta un'analisi di stabilità sul valore assunto dal rischio di frattura (FR) in 25 campagne di simulazione dei 94 soggetti della coorte di Sheffield utilizzati per informare l'atlante statistico.

Sono stati calcolati tre diversi rischi assoluti, rispettivamente rischio di frattura entro uno, cinque o dieci anni (FR1, FR5, FR10) (Figura 4.4); in tabella 4.5 sono riportati i valori di media e deviazione standard relativi alle tre grandezze, calcolati sulle venticinque realizzazioni del processo stocastico.

	Media	Deviazione Standard
FR1	27.8 %	5.0 %
FR5	78.8 %	4.3 %
FR10	93.8 %	2.7 %

Tab. 4.5 Valori di media e deviazione standard cumulative per i tre valori di rischio assoluto alla venticinquesima ripetizione.

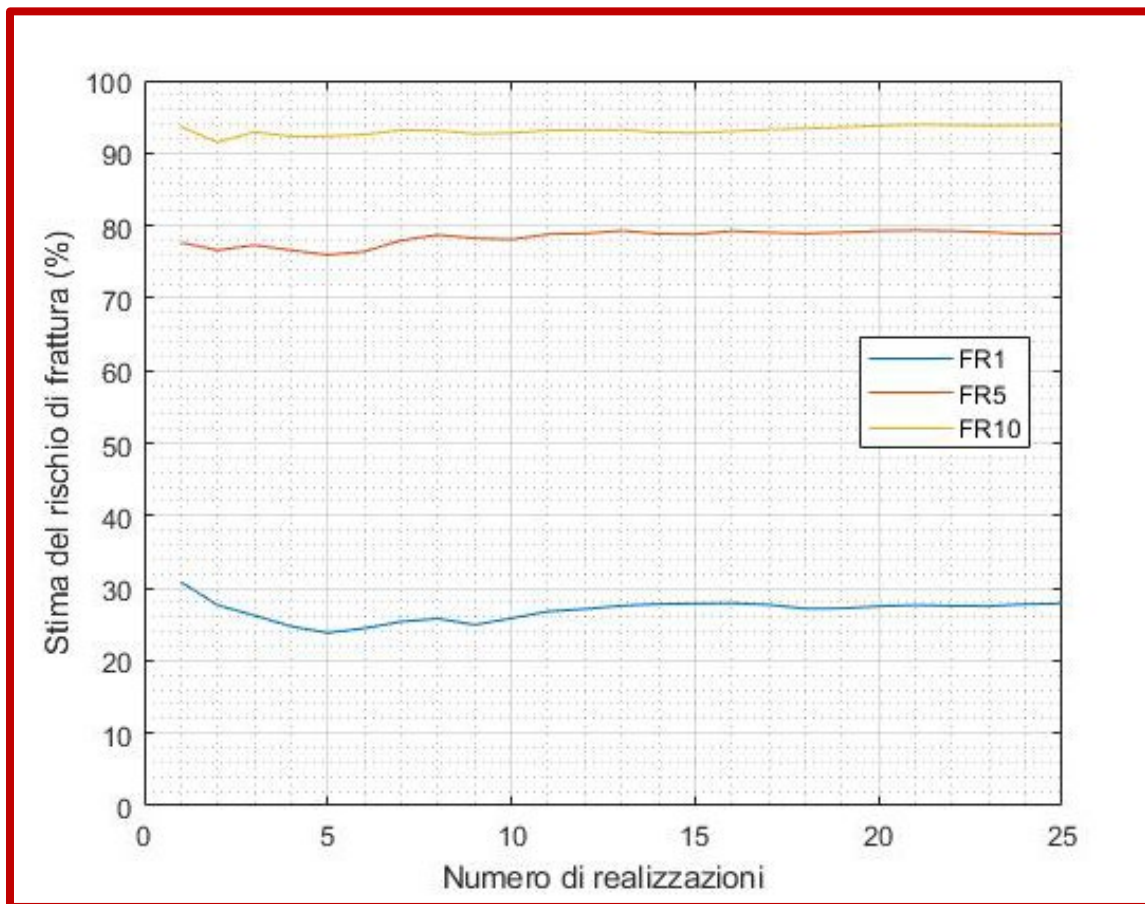


Fig. 4.4 Andamento della media cumulativa del rischio assoluto in funzione del numero di realizzazioni simulate.

Si ricorda la definizione del parametro utilizzato per quantificare la stabilità di tale risultato, ovvero la differenza percentuale del coefficiente di variazione cumulativo del rischio di frattura, al crescere della dimensione del campione considerato. Il valore soglia, rispetto al quale si richiedeva che l'indice di stabilità rimanesse inferiore per almeno cinque passaggi consecutivi, è stato imposto uguale a 0.01 (Figura 4.5).

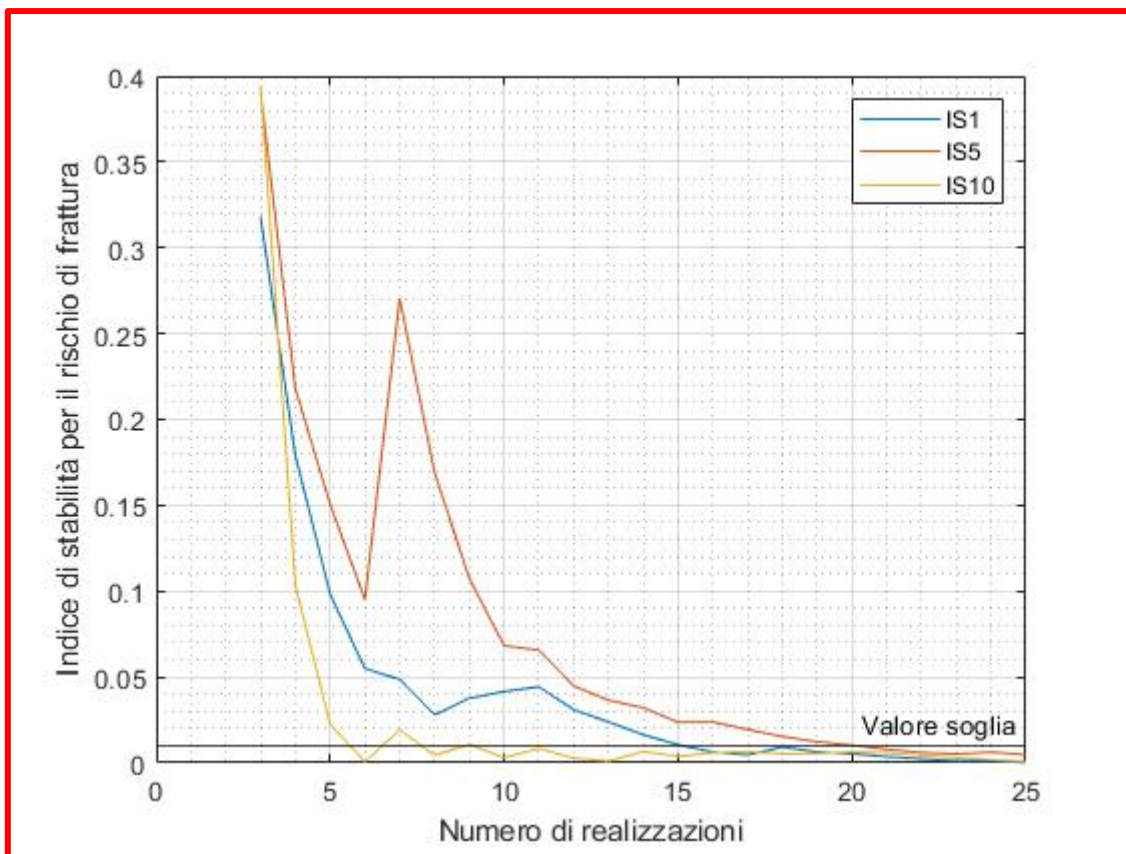


Fig. 4.5 Indice di stabilità in funzione del numero di realizzazioni simulate.

In tabella 4.6 sono riportati i valori dell'indice di Jaccard ottenuti per gli insiemi dei fratturati considerando i tre orizzonti temporali di uno, cinque e dieci anni; tale indice, si ricorda, quantifica la percentuale di somiglianza tra due insiemi.

	Media	Deviazione Standard
J1	18.4	5.8
J5	66.8	13.5
J10	90.5	2.8

Tab.4.6 Media e deviazione standard dell'indice di Jaccard per 25 campagne di simulazione relativo alle liste di fratturati a uno, cinque e dieci anni.

I risultati ottenuti suggeriscono come inizialmente i risultati siano dominati dall'aleatorietà delle cadute all'interno della coorte, mentre, già dal quinto anno, aumenti l'influenza della resistenza meccanica soggettiva di ognuno dei modelli.

4.2.2 Stima del costo computazionale

Il modello presentato in questo studio prevede che si simuli, per ogni soggetto, una caduta alla volta; in tal modo, qualora questo subisca una frattura, può essere escluso dalle successive simulazioni previste dalla campagna, diminuendo il costo computazionale effettivo della campagna di simulazione.

Per ognuno dei fratturati si sono dunque quantificate le cadute che erano state previste per gli anni successivi e che sono state evitate per ogni realizzazione, considerando anche in questo caso i tre orizzonti temporali di uno, cinque e dieci anni (Tabella 4.7).

	Media	Deviazione standard	Simulazioni totali previste	Simulazioni risparmiate
Un anno	0.0006%	0.003%	1492	1
Cinque anni	41.0%	3.8%	7523	3084
Dieci anni	63.4%	3.4%	15135	9606

Tab. 4.7 Simulazioni previste e risparmiate per l'intera campagna di simulazione.

Ovviamente il risparmio aumenta se si osserva un orizzonte temporale più lungo e, più in generale, se aumenta il rischio di frattura per caduta dei soggetti.

4.3 Simulazione della sperimentazione clinica

Al fine di validare il simulatore di sperimentazione clinica realizzato si è tentato di replicare lo studio clinico sull'alendronato, precedentemente descritto⁵⁷. Per far ciò, alla stessa coorte OsteoArt di 134 soggetti sono stati imposti due diversi scenari di evoluzione dell'aBMD del femore, simulando in un caso l'invecchiamento spontaneo (braccio placebo) e nell'altro un aumento della densità dovuto all'assunzione di alendronato (braccio trattato) (Figura 4.6).

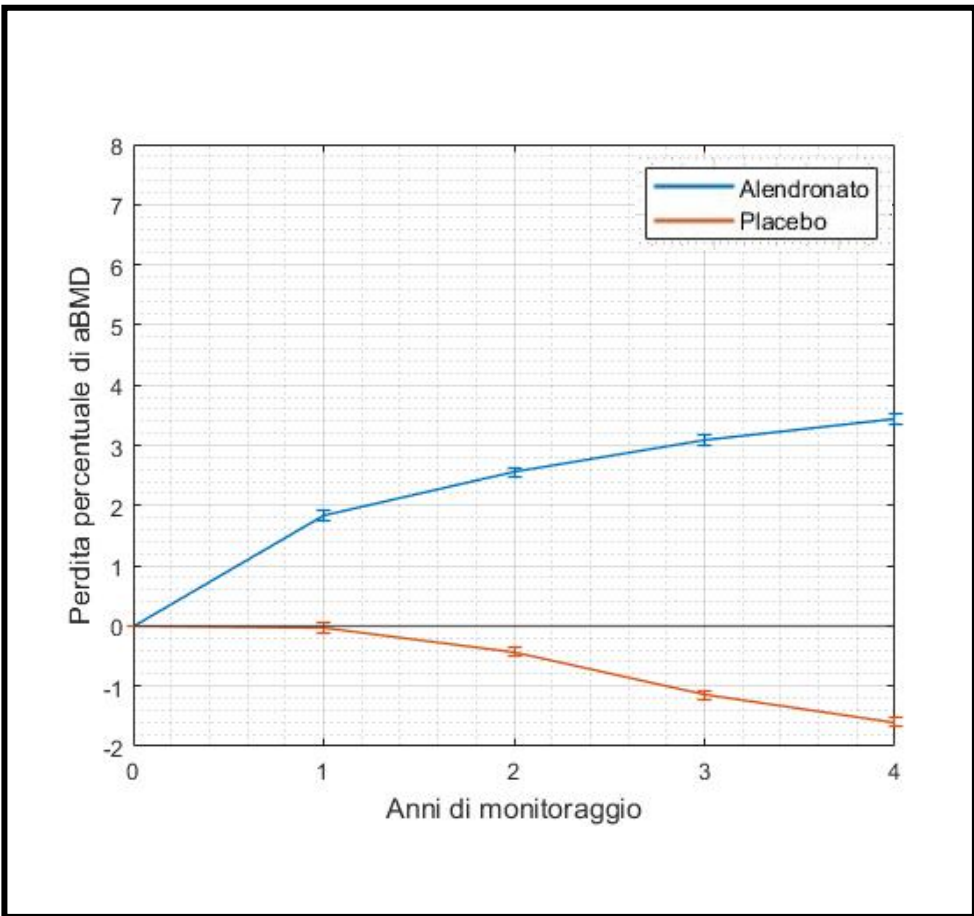
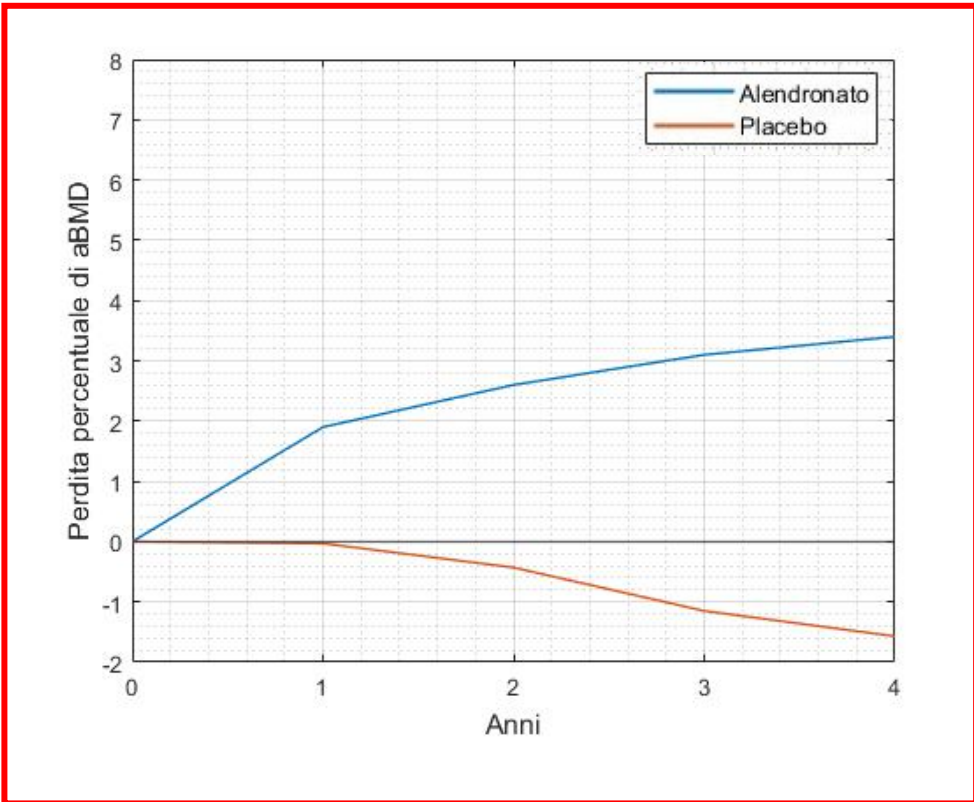


Fig.4.6 Cambiamento percentuale dell'aBMD riportato dall'articolo (in alto) ed ottenuto per la coorte virtuale attraverso il modello di invecchiamento opportunamente informato.

In queste simulazioni altri 3 modelli hanno mostrato problemi di convergenza per alcuni angoli di impatto simulati, e sono stati pertanto esclusi dalle simulazioni: la coorte finale risulta quindi composta da 131 soggetti; anche in questo caso, le caratteristiche (aBMD, altezza, BMI) della coorte virtuale sono sovrapponibili a quelli della popolazione di riferimento (Tabella 4.8).

	Coorte OsteoArt	Valori di riferimento
aBMD collo femorale.		
Media (deviazione standard) g/cm²	0.59 (0.05)	0.59 (0.06)
Altezza, media (deviazione standard), cm	158 (5.9)	160 (6.0)
BMI, media (deviazione standard) (kg/m²)	25.4 (4.5)	25.0 (4.0)

Tab. 4.8 Confronto tra media e deviazione standard di aBMD, altezza e BMI della coorte virtuale, esclusi 19 modelli problematici, e del trial di riferimento.

Dati i buoni risultati in termini di stabilità dei risultati ottenuti per il modello stocastico, in questa fase sono state simulate 15 realizzazioni del braccio “Placebo” e 15 del braccio “Alendronato”, ed è stato registrato il numero di fratture verificatosi in ognuno, per stimare il rischio assoluto di frattura e la riduzione relativa del rischio, espressa dalla differenza relativa del numero di eventi nei due gruppi (Tabella 4.9 e Figura 4.7).

	Simulazione	Trial di riferimento
FR (Placebo)	81.2 %	1.1 %
FR (Alendronato)	81.9 %	0.9 %
RRR	-0.9 %	28.2 %

Tab. 4.9 Rischio assoluto per le due coorti e riduzione del rischio relativo di frattura con sei parametri ottenuti tramite modello stocastico e riportati nell'articolo di riferimento.

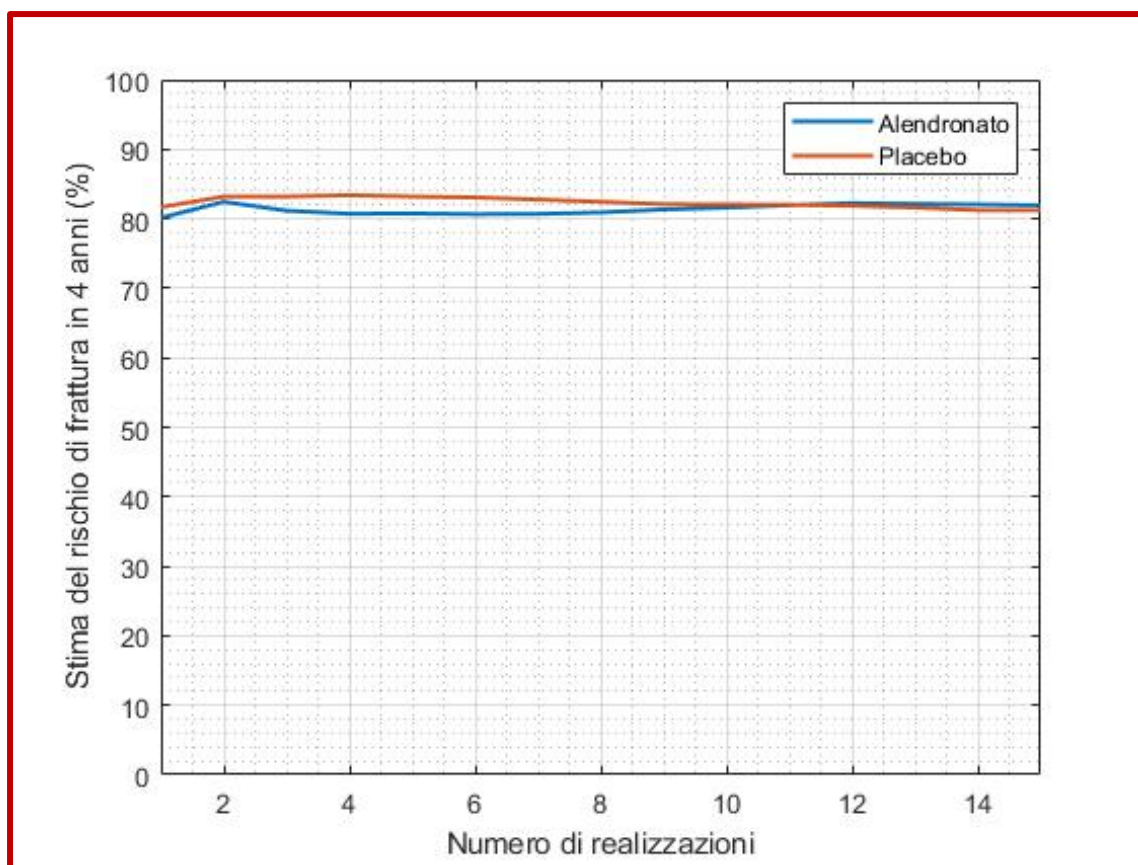


Fig. 4.7 Media cumulativa del rischio assoluto di frattura per la coorte placebo(arancione) e la coorte trattata con l'alendronato (azzurro).

Considerando separatamente i tre contributi attenuativi espressi dal parametro η_1 si sono ottenuti valori più bassi del rischio di frattura, ed un aumento della riduzione del rischio relativo, riuscendo inoltre a notare una leggera riduzione del rischio di frattura nella coorte trattata con alendronato (Tabella 4.10 e Figura 4.8).

	<i>Simulazione virtuale</i>	<i>Trial di riferimento</i>
FR (Placebo)	56.0 %	1.1 %
FR (Alendronato)	54.1 %	0.9 %
RRR	3.5 %	28.2 %

Tab. 4.10 Rischio assoluto per le due coorti e riduzione del rischio relativo di frattura con sei parametri ottenuti tramite modello stocastico e riportati nell'articolo di riferimento.

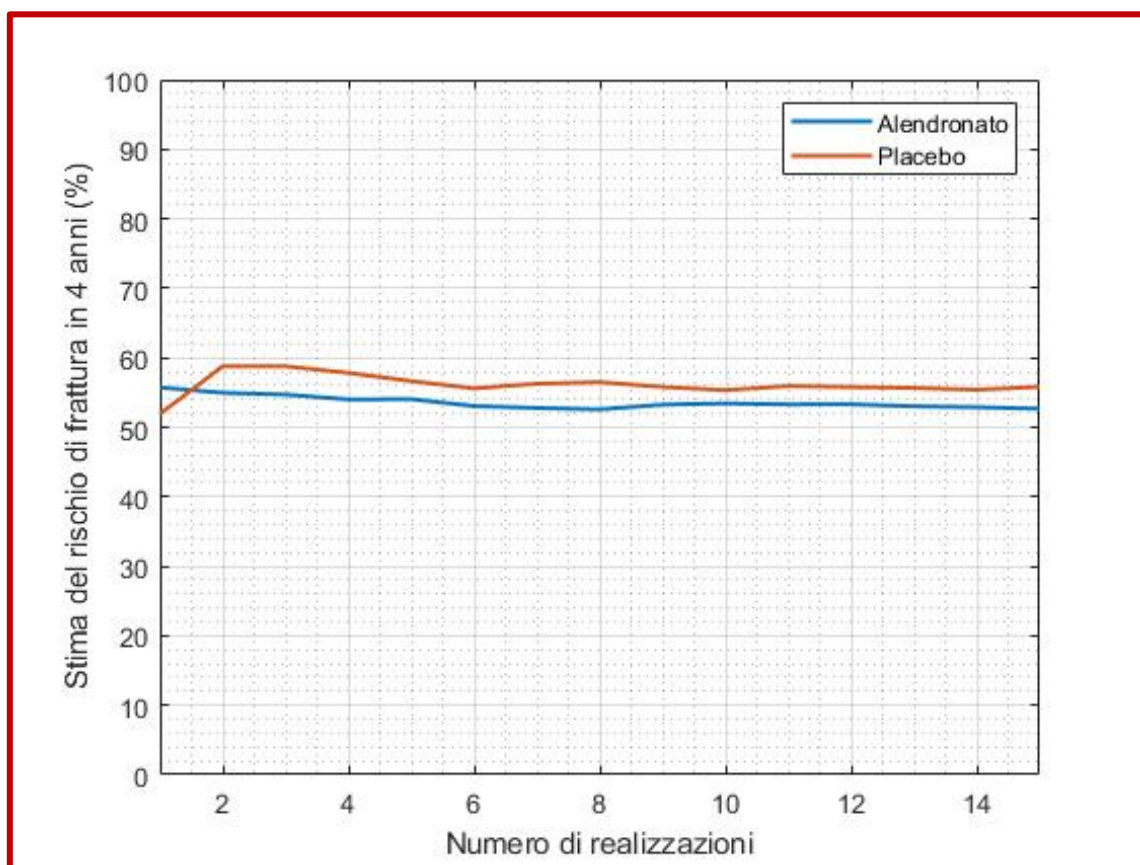


Fig. 4.8 Media cumulativa del rischio assoluto di frattura con otto parametri stocastici per la coorte placebo (arancione) e la coorte trattata con l'alendronato (azzurro).

Si nota come il rischio assoluto di frattura stimato dal modello per entrambi i gruppi sia enormemente superiore rispetto a quello osservato nello studio clinico, sia adottando il modello stocastico a sei parametri sia adottando quello ad otto; inoltre il modello non è stato in grado in grado di registrare alcuna riduzione del rischio di frattura provocata dall'assunzione dell'alendronato e dal miglioramento delle proprietà meccaniche, contrariamente a quanto ottenuto dalla sperimentazione clinica di riferimento⁵⁷. Ciò è probabilmente collegato alla sovrastima del rischio di frattura già osservata e suggerisce di approfondire l'indagine sull'epidemiologia della caduta all'interno della popolazione di riferimento e sulle caratteristiche attribuite ai parametri stocastici, i quali sembrano sovrastimare mediamente la gravità di tali eventi.

4.4 Limiti dello studio e sviluppi futuri

Come precedentemente accennato, la coorte generata attraverso l'algoritmo descritto nel capitolo precedente presenta problemi di distorsione della *mesh*; benché nel corso delle analisi si sia avuto la cura di escludere quei modelli per i quali tali criticità fossero risultate particolarmente gravi, rimane il fatto che tale problema sia comune a tutti i modelli, riducendo la qualità dei risultati ottenuti dalle analisi agli elementi finiti effettuate. Il perfezionamento dell'atlante statistico utilizzato per generare la coorte virtuale migliorerebbe la qualità delle *mesh* ottenute, ed eviterebbe inoltre l'incertezza sulle caratteristiche globali della popolazione, legata all'esclusione in corso d'opera di modelli con problemi di convergenza.

Poiché ci si è concentrati sulla costruzione del modello e sullo sviluppo metodologico, si è preso in considerazione un campione molto piccolo: lavorare su una coorte di poco più di cento soggetti ha in generale reso più pratici i processi di elaborazione ed analisi dei dati e ha limitato le risorse computazionali richieste. Sebbene questo di per sé non abbia rappresentato un vero e proprio limite, per ciò su cui si voleva lavorare, in prospettiva è bene temere a mente che la simulazione realistica di una sperimentazione clinica richiederà l'utilizzo di coorti virtuali di qualche migliaio di soggetti^{29,35,36,57}.

Il modello di invecchiamento sfruttato in questo studio per simulare il cambiamento della densità minerale ossea nel corso degli anni rappresenta un altro limite fondamentale. In particolare, questo non tiene conto della biologia di fondo che regola il processo di invecchiamento naturale, patologico o associato a trattamenti farmacologici, ed inoltre, cosa altrettanto importante, viene ignorata la variabilità individuale associata a questo fenomeno. Lo sviluppo e l'implementazione di un modello meccanicistico in grado di prevedere la variazione di densità minerale a partire da dati paziente-specifici contribuirà ad una più accurata descrizione della sperimentazione clinica.

Dal punto di vista del modello di caduta, inoltre, occorre notare che la generazione delle cadute a partire da una distribuzione di Poisson introduce la forte ipotesi di indipendenza di eventi che accadono in diversi intervalli di tempo. In letteratura, però, è ben documentato⁹⁸ come il rischio di caduta individuale, specialmente in età avanzata, sia fortemente associato alla paura che tipicamente insorge dopo che tale evento si è verificato in passato⁹⁸. Un'altra ipotesi del modello di Poisson è l'equiprobabilità del verificarsi degli eventi per tutti gli intervalli, mentre è stato osservato come il degrado

neuromotorio tipico dell'invecchiamento aumenti il rischio di cadere⁹⁸. Sarebbe dunque opportuno includere nell'algoritmo dei fattori che tengano conto di tali effetti ed introdurre una variabilità intersoggettiva del rischio, ad esempio considerando un valore di popolazione per il *fall rate* ed assegnando un fattore di rischio *subject-specific*, basato su dati biometrici e parametri stocastici, del quale potrebbe esser simulato un progressivo aggiornamento legato all'invecchiamento e alle cadute subite.

Infine, sebbene il modello multiscala adottato abbia mostrato ottime prestazioni in termini di capacità di stratificazione tra soggetti non fratturati e fratturati¹, ciò non implica necessariamente che riproduca con precisione la dinamica della caduta, tenendo presente in particolare tutti gli effetti di attenuazione che caratterizzano un evento tanto complesso. Ad esempio, considerando il parametro che esprime la presenza di *hip protectors*, risulta difficile pensare che questo effetto di presenza/assenza possa esser ben rappresentato da una distribuzione normale e, inoltre, in letteratura è riportato come l'utilizzo di *hip protectors* influisce sulla dinamica della caduta¹⁰⁹. Questo, unitamente alla forte ipotesi di gaussianità ed indipendenza reciproca dei parametri stocastici considerati, suggerisce di approfondire la descrizione dell'effetto della caduta sul grande trocantere fornita dal modello multiscala con ulteriori analisi e lo studio sistematico della vasta letteratura disponibile⁹⁸.

5 Conclusioni

L'obiettivo di questo progetto di tesi era contribuire allo sviluppo di un modello stocastico per la simulazione di sperimentazioni cliniche inerenti al trattamento dell'osteoporosi.

Ci si è incentrati in particolare sull'aspetto metodologico, ovvero nell'integrazione ed adattamento di modelli preesistenti, relativi ad invecchiamento e simulazione delle cadute, e nella costruzione di una procedura che risultasse robusta, computazionalmente efficiente e facilmente ripetibile.

Il modello sviluppato si basa su tecnologie di modellazione e analisi della biomeccanica del femore, in particolare durante una caduta, la cui maturità ed efficacia è stata descritta nel secondo capitolo di questo elaborato. Lo sviluppo del modello ha evidenziato come un approccio stocastico alla simulazione della sperimentazione clinica sia metodologicamente fattibile e computazionalmente pratico e sostenibile.

È stato osservato come il modello sia relativamente insensibile alla lunghezza dell'intervallo di discretizzazione temporale; in particolare, benché la discretizzazione con aggiornamento annuale ad un cambiamento percentuale della densità minerale ossea ridotto rispetto alla discretizzazione mensile, ciò non determina una diversità in termini di competenza meccanica dell'organo tale da creare differenze statisticamente significative nella determinazione delle fratture.

Applicando il modello stocastico sulla stessa coorte per 25 volte si è potuto notare come questo numero sia più che sufficiente per la stabilizzazione della stima del rischio di frattura, con un'oscillazione del coefficiente di variazione inferiore all'1%; ciò, inoltre, ha permesso di apprezzare e quantificare gli effetti delle strategie messe in atto al fine di limitare l'eccessivo consumo di risorse computazionali.

Il confronto retrospettivo con una sperimentazione clinica vera e propria ha mostrato come il modello non sia ancora in grado di predire i risultati effettivi di un *clinical trial*; ciò non sorprende, considerando che questo modello stocastico è ancora in fase di sviluppo e necessita un'attenta calibrazione dei suoi parametri. Ciononostante, questo primo lavoro ha permesso di esplorare la possibilità di variare singoli parametri del modello al fine di valutarne gli effetti sui risultati delle campagne di simulazione.

Gli sforzi futuri, tenendo presente quanto affermato riguardo limiti ed aggiornamenti necessari, dovranno concentrarsi sul perfezionamento della rappresentatività di tale modello rispetto alla realtà, calibrandone i parametri e riducendone le approssimazioni, al fine di ottenere uno strumento credibile da poter utilizzare nella costruzione di “*in silico trials*” di fase II e III.

Bibliografia

1. Bhattacharya, P., Altai, Z., Qasim, M. & Viceconti, M. A multiscale model to predict current absolute risk of femoral fracture in a postmenopausal population. *Biomech. Model. Mechanobiol.* **18**, 301–318 (2019).
2. Kani, K. K., Porrino, J. A. & Mulcahy, H. Fragility fractures of the proximal femur: review and update for radiologists. *Skeletal Radiol.* **48**, 29–45 (2019).
3. Borgström, F. *et al.* Fragility fractures in Europe: burden, management and opportunities. *Arch. Osteoporos.* **15**, 59 (2020).
4. Zani, L., Erani, P., Grassi, L., Taddei, F. & Cristofolini, L. Strain distribution in the proximal Human femur during in vitro simulated sideways fall. *J. Biomech.* **48**, 2130–2143 (2015).
5. Roos, P. E. & Dingwell, J. B. Influence of simulated neuromuscular noise on movement variability and fall risk in a 3D dynamic walking model. *J. Biomech.* **43**, 2929–2935 (2010).
6. Viceconti, M. *et al.* Are spontaneous fractures possible? An example of clinical application for personalised, multiscale neuro-musculo-skeletal modelling. *J. Biomech.* **45**, 421–426 (2012).
7. Parker, M. J. & Twemlow, T. R. Spontaneous hip fractures 44/872 in a prospective study. *Acta Orthop. Scand.* **68**, 325–326 (1997).
8. femur | Definition, Function, Diagram, & Facts | Britannica.
<https://www.britannica.com/science/femur>.
9. Dalle Donne, I. *Citologia e Istologia*. (Edises, 2019).
10. *Atlante di Istologia*.
11. Martini, F. H., Tallitsch, R. B. & Nath, J. L. *Anatomia Umana*. (Edises, 2019).

12. Lin, J. T. & Lane, J. M. Osteoporosis: A Review. *Clin. Orthop.* **425**, 126–134 (2004).
13. Florencio-Silva, R., Sasso, G. R. da S., Sasso-Cerri, E., Simões, M. J. & Cerri, P. S. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. *BioMed Res. Int.* **2015**, e421746 (2015).
9. Nancy E. Lane, MD. Epidemiology, etiology and diagnosis of osteoporosis, *American Journal of Obstetrics and Gynecology* (2006) 194, S3-11.
15. Nieves, J. W. *et al.* Fragility fractures of the hip and femur: incidence and patient characteristics. *Osteoporos. Int.* **21**, 399–408 (2010).
16. Magaziner, J., Chiles, N. & Orwig, D. Recovery after Hip Fracture: Interventions and Their Timing to Address Deficits and Desired Outcomes - Evidence from the Baltimore Hip Studies. *Frailty Pathophysiol. Phenotype Patient Care* **83**, 71–82 (2015).
17. Link, T. M. & Majumdar, S. Osteoporosis imaging. *Radiol. Clin. North Am.* **41**, 813–839 (2003).
18. Lekamwasam, S. & Lenora, R. S. J. Effect of leg rotation on hip bone mineral density measurements. *J. Clin. Densitom. Off. J. Int. Soc. Clin. Densitom.* **6**, 331–336 (2003).
19. Messina, C. *et al.* Prevalence and type of errors in dual-energy x-ray absorptiometry. *Eur. Radiol.* **25**, 1504–1511 (2015).
20. Lochmüller, E. M., Krefting, N., Bürklein, D. & Eckstein, F. Effect of fixation, soft-tissues, and scan projection on bone mineral measurements with dual energy X-ray absorptiometry (DXA). *Calcif. Tissue Int.* **68**, 140–145 (2001).
21. Cosman, F. *et al.* Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis. *Osteoporos. Int.* **25**, 2359–2381 (2014).

22. Looker, A. C. *et al.* Updated Data on Proximal Femur Bone Mineral Levels of US Adults. *Osteoporos. Int.* **8**, 468–490 (1998).
23. Link, T. M. & Lang, T. F. Axial QCT: Clinical Applications and New Developments. *J. Clin. Densitom.* **17**, 438–448 (2014).
24. Engelke, K. Quantitative Computed Tomography—Current Status and New Developments. *J. Clin. Densitom.* **20**, 309–321 (2017).
25. Black, D. M. *et al.* Fracture Risk Reduction with Alendronate in Women with Osteoporosis: The Fracture Intervention Trial. **85**, 7 (2000).
26. Wainwright, S. A. *et al.* Hip Fracture in Women without Osteoporosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **90**, 2787–2793 (2005).
27. Siris, E. S. *et al.* Bone Mineral Density Thresholds for Pharmacological Intervention to Prevent Fractures. *Arch. Intern. Med.* **164**, 1108–1112 (2004).
20. William D. Leslie and Suzanne Morin, Fracture Burden in Relation to Low Bone Mineral Density and FRAX® Probability, *Journal of Clinical Densitometry: Assessment of Skeletal Health*, vol. 14, no. 3, 279-285, 2011.
29. Kanis, J. A. *et al.* The use of clinical risk factors enhances the performance of BMD in the prediction of hip and osteoporotic fractures in men and women. *Osteoporos. Int. J. Establ. Result Coop. Eur. Found. Osteoporos. Natl. Osteoporos. Found. USA* **18**, 1033–1046 (2007).
30. Kanis, J. A. *et al.* FRAX® and its applications to clinical practice. *Bone* **44**, 734–743 (2009).
23. Keyak, J. H., Kaneko, T. S., Tehranzadeh, J. & Skinner, H. B. Predicting proximal femoral strength using structural engineering models. *Clin. Orthop.* 219–228 (2005).

32. Qasim, M. *et al.* Patient-specific finite element estimated femur strength as a predictor of the risk of hip fracture: the effect of methodological determinants. *Osteoporos. Int.* **27**, 2815–2822 (2016).
33. Tu, K. N. *et al.* Osteoporosis: A Review of Treatment Options. *Pharm. Ther.* **43**, 92–104 (2018).
34. The Force Attenuation Provided by Hip Protectors Depends on Impact Velocity, Pelvic Size, and Soft Tissue Stiffness | J. Biomech Eng. | ASME Digital Collection. <https://asmedigitalcollection.asme.org/biomechanical/article-abstract/130/6/061005/456030/The-Force-Attenuation-Provided-by-Hip-Protectors?redirectedFrom=fulltext>.
35. Black, D. M. *et al.* Effects of Continuing or Stopping Alendronate After 5 Years of Treatment: The Fracture Intervention Trial Long-term Extension (FLEX): A Randomized Trial. *JAMA* **296**, 2927 (2006).
36. Boonen, S. *et al.* Treatment with Denosumab Reduces the Incidence of New Vertebral and Hip Fractures in Postmenopausal Women at High Risk. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **96**, 1727–1736 (2011).
37. Camacho, P. M. *et al.* American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Postmenopausal Osteoporosis — 2016. *Endocr. Pract.* **22**, 1–42 (2016).
38. Farahmand, P. & Cassens, J. [Osteoporosis: long-term treatment versus drug holiday-what is the evidence? *Z. Rheumatol.* **78**, 904–909 (2019).
39. Axer, H., Axer, M., Sauer, H., Witte, O. W. & Hagemann, G. Falls and gait disorders in geriatric neurology. *Clin. Neurol. Neurosurg.* **112**, 265–274 (2010).

40. Parkkari, J. *et al.* Majority of hip fractures occur as a result of a fall and impact on the greater trochanter of the femur: a prospective controlled hip fracture study with 206 consecutive patients. *Calcif. Tissue Int.* **65**, 183–187 (1999).
41. Hayes, W. C. *et al.* Impact near the hip dominates fracture risk in elderly nursing home residents who fall. *Calcif. Tissue Int.* **52**, 192–198 (1993).
42. Cochrane Library Special Collection: Preventing falls and fall-related injuries in older people. <https://www.cochrane.org/news/cochrane-library-special-collection-preventing-falls-and-fall-related-injuries-older-people>.
43. Kot, A. & Nawrocka, A. Modeling of human balance as an inverted pendulum. in *Proceedings of the 2014 15th International Carpathian Control Conference (ICCC)* 254–257 (2014). doi:10.1109/CarpathianCC.2014.6843607.
44. Kuo, A. D., Donelan, J. M. & Ruina, A. Energetic Consequences of Walking Like an Inverted Pendulum: Step-to-Step Transitions. *Exerc. Sport Sci. Rev.* **33**, 88–97 (2005).
45. Morasso, P. & Sanguineti, V. Paradigmi di Controllo Motorio. (2003).
46. Yang, Y. *et al.* The Effect of Fall Biomechanics on Risk for Hip Fracture in Older Adults: A Cohort Study of Video-Captured Falls in Long-Term Care. *J. Bone Miner. Res.* **35**, 1914–1922 (2020).
47. Sperimentazione clinica dei farmaci. <https://aifa.gov.it/sperimentazione-clinica-dei-farmaci>.
48. Learn About Clinical Studies - ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/about-studies/learn#WhatIs>.
49. Umscheid, C. A., Margolis, D. J. & Grossman, C. E. Key Concepts of Clinical Trials: A Narrative Review. *Postgrad. Med.* **123**, 194–204 (2011).

50. DiMasi, J. A., Hansen, R. W. & Grabowski, H. G. The price of innovation: new estimates of drug development costs. *J. Health Econ.* **22**, 151–185 (2003).
51. Sedgwick, P. Phases of clinical trials. *BMJ* **343**, d6068 (2011).
52. LaCaze, A. & Osimani, B. *Uncertainty in Pharmacology: Epistemology, Methods, and Decisions*. (Springer Nature, 2020).
53. DiMasi, J. A., Grabowski, H. G. & Hansen, R. W. Innovation in the pharmaceutical industry: New estimates of R&D costs. *J. Health Econ.* **47**, 20–33 (2016).
54. Research, C. for D. E. and. Development & Approval Process | Drugs. *FDA* <https://www.fda.gov/drugs/development-approval-process-drugs> (2021).
55. Commissioner, O. of the. The Drug Development Process. *FDA* <https://www.fda.gov/patients/learn-about-drug-and-device-approvals/drug-development-process> (2020).
56. Adami, G., Saag, K. G. & Danila, M. I. Pragmatic Clinical Trials in Osteoporosis. *Curr. Osteoporos. Rep.* **17**, 521–526 (2019).
57. Cummings, S. R. Effect of Alendronate on Risk of Fracture in Women With Low Bone Density but Without Vertebral Fractures Results From the Fracture Intervention Trial. *JAMA* **280**, 2077 (1998).
58. Felippa, C. A historical outline of matrix structural analysis: a play in three acts. *Comput. Struct.* 1313–1324 (2001).
59. Huiskes, R. & Chao, E. Y. S. A survey of finite element analysis in orthopedic biomechanics: The first decade. *J. Biomech.* **16**, 385–409 (1983).
60. Gasser, T. C. Biomechanical Rupture Risk Assessment. *AORTA J.* **4**, 42–60 (2016).

61. Taddei, F., Schileo, E., Helgason, B., Cristofolini, L. & Viceconti, M. The material mapping strategy influences the accuracy of CT-based finite element models of bones: An evaluation against experimental measurements. *Med. Eng. Phys.* **29**, 973–979 (2007).
62. Taddei, F., Pancanti, A. & Viceconti, M. An improved method for the automatic mapping of computed tomography numbers onto finite element models. *Med. Eng. Phys.* **26**, 61–69 (2004).
63. Kheirollahi Bisheh, H. & Luo, Y. Identification of High Stress Regions in Proximal Femur during Single-Leg Stance and Sideways Fall Using QCT-Based Finite Element Model. *Int. J. Biomed. Biol. Eng.* **2**, (2015).
64. Taddei, F., Martelli, S., Reggiani, B., Cristofolini, L. & Viceconti, M. Finite-Element Modeling of Bones From CT Data: Sensitivity to Geometry and Material Uncertainties. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **53**, 2194–2200 (2006).
65. Schileo, E. *et al.* An accurate estimation of bone density improves the accuracy of subject-specific finite element models. *J. Biomech.* **41**, 2483–2491 (2008).
66. Yosibash, Z., Trabelsi, N. & Milgrom, C. Reliable simulations of the human proximal femur by high-order finite element analysis validated by experimental observations. *J. Biomech.* **40**, 3688–3699 (2007).
67. Shefelbine, S. J. *et al.* Prediction of fracture callus mechanical properties using micro-CT images and voxel-based finite element analysis. *Bone* **36**, 480–488 (2005).
68. Ford, C. M., Keaveny, T. M. & Hayes, W. C. The effect of impact direction on the structural capacity of the proximal femur during falls. *J. Bone Miner. Res.* **11**, 377–383 (1996).

69. Yosibash, Z., Padan, R., Joskowicz, L. & Milgrom, C. A CT-Based High-Order Finite Element Analysis of the Human Proximal Femur Compared to In-vitro Experiments. *J. Biomech. Eng.* **129**, 297–309 (2006).
70. Morgan, E. F., Bayraktar, H. H. & Keaveny, T. M. Trabecular bone modulus–density relationships depend on anatomic site. *J. Biomech.* **36**, 897–904 (2003).
71. Keyak, J. H. Improved prediction of proximal femoral fracture load using nonlinear finite element models. *Med. Eng. Phys.* **23**, 165–173 (2001).
72. Grassi, L. *et al.* Accuracy of finite element predictions in sideways load configurations for the proximal human femur. *J. Biomech.* **45**, 394–399 (2012).
73. Schileo, E., Taddei, F., Cristofolini, L. & Viceconti, M. Subject-specific finite element models implementing a maximum principal strain criterion are able to estimate failure risk and fracture location on human femurs tested in vitro. *J. Biomech.* **41**, 356–367 (2008).
74. Schileo, E., Balistreri, L., Grassi, L., Cristofolini, L. & Taddei, F. To what extent can linear finite element models of human femora predict failure under stance and fall loading configurations? *J. Biomech.* **47**, 3531–3538 (2014).
75. Viceconti, M., Qasim, M., Bhattacharya, P. & Li, X. Are CT-Based Finite Element Model Predictions of Femoral Bone Strengthening Clinically Useful? *Curr. Osteoporos. Rep.* **16**, 216–223 (2018).
76. Agten, C. A., Ramme, A. J., Kang, S., Honig, S. & Chang, G. Cost-effectiveness of Virtual Bone Strength Testing in Osteoporosis Screening Programs for Postmenopausal Women in the United States. *Radiology* **285**, 506–517 (2017).
77. Altai, Z., Qasim, M., Li, X. & Viceconti, M. The effect of boundary and loading conditions on patient classification using finite element predicted risk of fracture. *Clin. Biomech.* **68**, 137–143 (2019).

78. Falcinelli, C. *et al.* Multiple loading conditions analysis can improve the association between finite element bone strength estimates and proximal femur fractures: A preliminary study in elderly women. *Bone* **67**, 71–80 (2014).
79. Bryan, R. *et al.* Statistical modelling of the whole human femur incorporating geometric and material properties. *Med. Eng. Phys.* **32**, 57–65 (2010).
80. Pascoletti, G. *et al.* Stochastic PCA-Based Bone Models from Inverse Transform Sampling: Proof of Concept for Mandibles and Proximal Femurs. *Appl. Sci.* **11**, 5204 (2021).
81. Taylor, M., Viceconti, M., Bhattacharya, P. & Li, X. Finite element analysis informed variable selection for femoral fracture risk prediction. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **118**, 104434 (2021).
82. Klein, K. F., Hu, J., Reed, M. P., Hoff, C. N. & Rupp, J. D. Development and Validation of Statistical Models of Femur Geometry for Use with Parametric Finite Element Models. *Ann. Biomed. Eng.* **43**, 2503–2514 (2015).
83. Tufféry, S. *Data Mining and Statistics for Decision Making*. (John Wiley & Sons, 2011).
84. Naylor, K. E., McCloskey, E. V., Eastell, R. & Yang, L. Use of DXA-based finite element analysis of the proximal femur in a longitudinal study of hip fracture. *J. Bone Miner. Res.* **28**, 1014–1021 (2013).
85. Dall’Ara, E., Eastell, R., Viceconti, M., Pahr, D. & Yang, L. Experimental validation of DXA-based finite element models for prediction of femoral strength. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **63**, 17–25 (2016).
86. Grassi, L. Femoral Strength Prediction using Finite Element Models: Validation of models based on CT and reconstructed DXA images against full-field strain measurements. (LTH Tryckeriet E-huset, 2016). doi:10.13140/RG.2.2.26512.00000.

87. Grassi, L. *et al.* Validation of 3D finite element models from simulated DXA images for biofidelic simulations of sideways fall impact to the hip. *Bone* **142**, 115678 (2021).
88. Ruiz Wills, C. *et al.* 3D patient-specific finite element models of the proximal femur based on DXA towards the classification of fracture and non-fracture cases. *Bone* **121**, 89–99 (2019).
89. Stubbs, E. *The Health of the Nation: Averting the demise of universal healthcare.*
90. Chase, J. G. *et al.* Next-generation, personalised, model-based critical care medicine: a state-of-the art review of in silico virtual patient models, methods, and cohorts, and how to validation them. *Biomed. Eng. OnLine* **17**, 24 (2018).
91. Pappalardo, F., Russo, G., Tshinanu, F. M. & Viceconti, M. In silico clinical trials: concepts and early adoptions. *Brief. Bioinform.* **20**, 1699–1708 (2019).
92. Viceconti, M., Henney, A. & Morley-Fletcher, E. In silico clinical trials: how computer simulation will transform the biomedical industry. *Int. J. Clin. Trials* **3**, 37–46 (2016).
93. Viceconti, M., Clapworthy, G. & Van Sint Jan, S. The Virtual Physiological Human - a European initiative for in silico human modelling -. *J. Physiol. Sci. JPS* **58**, 441–446 (2008).
94. Viceconti, M. *et al.* Possible Contexts of Use for In Silico trials methodologies: a consensus-based review. *IEEE J. Biomed. Health Inform.* **25**, 3977–3982 (2021).
95. Passini, E. *et al.* Human In Silico Drug Trials Demonstrate Higher Accuracy than Animal Models in Predicting Clinical Pro-Arrhythmic Cardiotoxicity. *Front. Physiol.* **8**, 668 (2017).

96. Switchenko, J. M., Heeke, A. L., Pan, T. C. & Read, W. L. The use of a predictive statistical model to make a virtual control arm for a clinical trial. *PLOS ONE* **14**, e0221336 (2019).
97. Carusi, A., Burrage, K. & Rodríguez, B. Bridging experiments, models and simulations: an integrative approach to validation in computational cardiac electrophysiology. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **303**, H144-155 (2012).
98. Gillespie, L. D. *et al.* Interventions for preventing falls in older people living in the community. *Cochrane Database Syst. Rev.* (2012)
doi:10.1002/14651858.CD007146.pub3.
99. Yang, L., Udall, W. J. M., McCloskey, E. V. & Eastell, R. Distribution of bone density and cortical thickness in the proximal femur and their association with hip fracture in postmenopausal women: a quantitative computed tomography study. *Osteoporos. Int.* **25**, 251–263 (2014).
100. Ott, S. M. Cortical or Trabecular Bone: What's the Difference? *Am. J. Nephrol.* **47**, 373–375 (2018).
101. Winsor, C. *et al.* Evaluation of patient tissue selection methods for deriving equivalent density calibration for femoral bone quantitative CT analyses. *Bone* **143**, 115759 (2021).
102. Schileo, E. *et al.* An accurate estimation of bone density improves the accuracy of subject-specific finite element models. *J. Biomech.* **41**, 2483–2491 (2008).
103. Rezaei, A. & Dragomir-Daescu, D. Femoral Strength Changes Faster With Age Than BMD in Both Women and Men: A Biomechanical Study. *J. Bone Miner. Res.* **30**, 2200–2206 (2015).

104. Paggiosi, M. *et al.* International variation in proximal femur bone mineral density. *Osteoporos. Int. J. Establ. Result Coop. Eur. Found. Osteoporos. Natl. Osteoporos. Found. USA* **22**, 721–9 (2011).
105. Porta, M. *A Dictionary of Epidemiology. A Dictionary of Epidemiology* (Oxford University Press, 2016).
106. Curreli, C. *et al.* Verification of an agent-based disease model of human Mycobacterium tuberculosis infection. *Int. J. Numer. Methods Biomed. Eng.* **37**, e3470 (2021).
107. Siegel, S. *Nonparametric Statistics for the Behavioral Sciences.* (McGraw-Hill, 1956).
108. Marsaglia, G., Tsang, W. W. & Wang, J. Evaluating Kolmogorov's Distribution. *J. Stat. Softw.* **8**, 1–4 (2003).
109. Laing, A. C. & Robinovitch, S. N. The force attenuation provided by hip protectors depends on impact velocity, pelvic size, and soft tissue stiffness. *J. Biomech. Eng.* **130**, 061005 (2008).

Ringraziamenti

Un ringraziamento speciale al Professor Viceconti, per l'opportunità concessami di sviluppare il lavoro di testi con questo appassionante progetto e, soprattutto, per avermi introdotto al mondo inedito, sfaccettato e complesso della medicina *in silico*.

Ringrazio Nino (anche noto come il Dottor Antonino Amedeo La Mattina) per i mille insegnamenti pratici e teorici, per le discussioni, per la disponibilità, la simpatia e più di tutto il resto per aver strenuamente assecondato e stimolato la mia curiosità.

Non mi dilungo a citare ogni singolo membro della squadra del Laboratorio di Tecnologia Medica; tuttavia, ognuno meriterebbe una menzione speciale per l'eccezionale merito di contribuire alla costruzione di un gruppo stimolante ma leggero, informale ma rispettoso.

Ringrazio tutte le amiche e gli amici vecchie e nuove, vicine e lontane e le compagne e i compagni di Bolognina Boxe.

Non potrei non ringraziare la mia famiglia: Daniele, Ilaria, Ale e Richi, Mattia, Alan e Rebecca, Stefano e Orietta; le mie nonne Miriam, Marisa e mio nonno Silvio, mia madre Serena, mio padre Luca, Vanessa, Lorenzo e la piccola Vittoria.

Più che a chiunque altro, grazie ad Antonia,

PS: (Grazie Mari)