



POLITECNICO
MILANO 1863

SCUOLA DI INGEGNERIA INDUSTRIALE
E DELL'INFORMAZIONE

Sviluppo di un algoritmo per la creazione di un modello digitale di osso trabecolare

TESI DI LAUREA MAGISTRALE IN
BIOMEDICAL ENGINEERING
INGEGNERIA BIOMEDICA

Author: **Giacomo Giorgetti**

Student ID: 953064

Advisor: Pasquale Vena

Co-advisor: Luca D'Andrea

Academic Year: 2022-23

Abstract

Trabecular bone or spongy bone is a porous anisotropic structure found at the end of long bones and in the middle of flat bones. This type of bone can be prone to various diseases. The most common is osteoporosis, which is estimated to affect around 5 million people in Italy only. The use of models to study the microstructure and mechanical properties of trabecular bone allow to reproduce a healthy or pathological condition and to carry out a simple, fast and repeatable study. In this study, a tool was implemented with the aim of generating a digital cubic specimen of trabecular bone. Particularly, as far as the inputs varied, it was possible to check the most important morphometric parameters (volume fraction, trabecular thickness, trabecular space, etc.) and the elastic mechanical parameters (elastic moduli and shear moduli). Healthy and osteoporotic bone models were developed and compared. From observations in the literature, the digital specimens analysed were comparable, both morphometrically and mechanically, with trabecular bone values of the femoral head.

Key-words: trabecular bone, osteoporosis, Voronoi tessellation, 3D digital model, morphometric parameters, mechanical parameters

Abstract in italiano

L'osso trabecolare o osso spugnoso è una struttura anisotropa porosa che si trova all'estremità delle ossa lunghe e nella parte centrale delle ossa piatte. Questo tipo di osso può essere soggetto a diverse malattie. La più diffusa è l'osteoporosi che si stima colpire solo in Italia circa 5 milioni di persone. L'utilizzo di modelli per lo studio della microstruttura e delle proprietà meccaniche dell'osso trabecolare permette di riprodurre una condizione sana o patologica e di effettuare uno studio semplice, veloce e ripetibile. In questo studio è stato implementato un tool con lo scopo di generare un provino cubico digitale di osso trabecolare. In particolare, al variare degli input, è stato possibile controllare i parametri morfometrici di maggiore interesse (frazione volumetrica, spessore delle trabecole, spazio trabecolare, ecc.) e i parametri meccanici elastici (moduli elastici e moduli elastici tangenziali). Sono stati sviluppati e confrontati tra loro modelli di osso sano e osteoporotico. Da osservazioni svolte in letteratura i provini digitali analizzati sono risultati confrontabili, sia da un punto di vista morfometrico che meccanico, con valori di osso trabecolare della testa femorale.

Parole chiave: osso trabecolare, osteoporosi, tassellatura di Voronoi, modello digitale 3D, parametri morfometrici, parametri meccanici

Indice

Abstract	i
Abstract in italiano	iii
Indice	v
1 Introduzione	1
1.1. Osso trabecolare	1
1.2. Patologie	2
1.3. Stato dell'arte	4
1.5 Obbiettivo.....	9
2 Materiali e metodi	11
2.1 Step di progetto	11
2.2 Modello digitale.....	11
2.3 Analisi morfometriche.....	19
2.4 Analisi meccanica elastica.....	23
2.5 Analisi statistica.....	25
3 Risultati	29
3.1 Risultati analisi morfometriche	29
3.2 Risultati analisi meccanica elastica	34
3.3 Risultati analisi statistica	36
3.3.1 Correlazione input – parametri morfometrici.....	36
3.3.2 Correlazione input – parametri meccanici	38
3.3.3 Correlazione BV/TV – parametri meccanici	41
4 Discussione	45
4.1. Discussione modello digitale.....	45
4.1.1 Analisi statistica.....	45
4.1.2 Provini con diversa anisotropia	61
4.1.3 Distribuzione casuale e ordinata dei seed	61
4.2. Confronto modello sano e osteoporotico.....	62
4.2.1 Parametri morfometrici	63
4.2.2 Parametri meccanici.....	64

4.2.3	Modelli vs osso trabecolare umano	65
5	Conclusioni	71
	Bibliografia	75
A	Appendice A	81
B	Appendice B	85
	Elenco delle figure	89
	Elenco delle tabelle	93
	Ringraziamenti	95

1 Introduzione

1.1. Osso trabecolare

L'osso trabecolare o osso spugnoso è una struttura porosa anisotropa che costituisce il 20% dello scheletro umano e si trova tipicamente a livello dell'epifisi delle ossa lunghe e nella parte interna delle ossa brevi e piatte. All'interno delle porosità sono presenti midollo rosso e giallo e vasi sanguigni. La matrice ossea è organizzata in un reticolo tridimensionale di processi ossei, chiamati trabecole, disposti lungo le linee di sforzo [1][2].

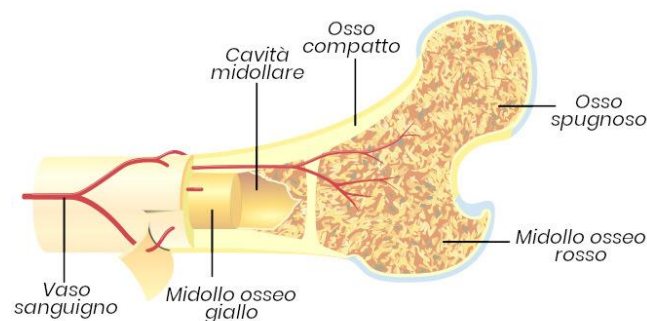


Figura 1.1: Sezione longitudinale della parte superiore del femore [67]

Inoltre, data la sua porosità, risulta più leggero e meno denso dell'osso corticale. Le trabecole che costituiscono questo tipo di osso si possono suddividere in rod-like e plate-like. Per rod-like si intende quel tipo di trabecole che hanno una morfologia simile a un'asta (due dimensioni simili e la terza molto maggiore), mentre per plate-like si intende quel tipo di trabecole che hanno una morfologia simile appunto a un piatto (due dimensioni simili e la terza molto più piccola) [3].

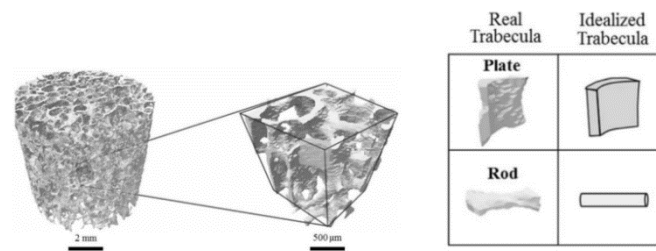


Figura 1.2: Morfologia di una trabecola rod-like e plate-like [3]

Queste strutture determinano le caratteristiche meccaniche dell'osso trabecolare. In particolare, le trabecole plate-like rappresentano la componente portante primaria, mentre le trabecole rod-like hanno la funzione di dissipare il carico e di stabilizzare la microstruttura [4]. L'osso trabecolare ha una natura altamente dinamica per cui c'è un continuo rimodellamento della microstruttura in risposta al carico applicato, all'omeostasi del calcio e del fosfato o a malattie ossee. Infatti, rispetto all'osso corticale, che ha un tasso di turnover annuale del 3% - 10%, l'osso trabecolare ha un turnover del 20% - 30%. A causa di fenomeni come invecchiamento, menopausa, perdita di osso causata da osteoporosi, avviene un deterioramento della microstruttura che porta a un aumento delle trabecole rod-like rispetto a quelle plate-like, compromettendo l'integrità dell'osso e aumentando i rischi di frattura[5].

1.2. Patologie

Esistono diverse patologie che colpiscono l'osso trabecolare. Quelle principali sono:

- osteoporosi
- osteopenia
- osteoartrite
- tumori ossei
- osteonecrosi
- osteomielite
- displasia fibrosa
- condizioni autoimmuni (diabete di tipo I, artrite reumatoide, celiachia, ecc.)
- malattia ossea di Paget [6]

La malattia più diffusa è l'osteoporosi che si stima colpire circa 5 milioni di persone in Italia, di cui l'80% sono donne in menopausa. L'osteoporosi è una malattia sistemica

dell'apparato scheletrico, caratterizzata da una bassa densità minerale e dal deterioramento della micro-architettura del tessuto osseo, con conseguente

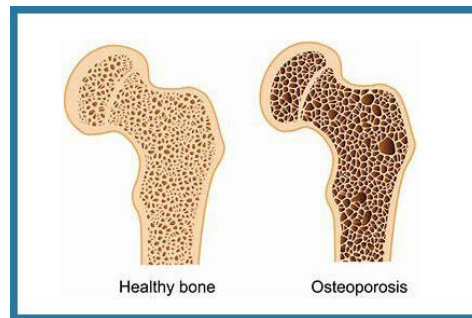


Figura 1.3: Sezione longitudinale di un osso sano (a sinistra) e di un osso osteoporotico (a destra) [68]

diminuzione della massa [6] e aumento della fragilità ossea. Questo tipo di condizione porta a un alto rischio di frattura anche per piccole sollecitazioni [7].

Esistono due tipi di osteoporosi: primaria e secondaria. Quella primaria è la più comune e include osteoporosi post-menopausa (tipo I) ed osteoporosi da vecchiaia (tipo II). Il tipo I è associato alla perdita di estrogeni e androgeni, indispensabili nel turnover, che porta a una perdita del tessuto osseo. Inoltre, è maggiore la perdita di osso trabecolare rispetto a quello corticale. Nell'osteoporosi primaria di tipo II la causa risiede nella perdita dei precursori delle cellule staminali. In questo caso si ha una maggior perdita di osso corticale rispetto a quello trabecolare [8]. L'osteoporosi secondaria si presenta quando c'è una condizione clinica o l'assunzione di un farmaco che interferiscono con la capacità dell'organismo di produrre nuovo tessuto osseo ed è una condizione patologica più grave di quella primaria[6]. Il distretto corporeo più soggetto a fratture per osteoporosi è la testa femorale. Numerosi studi hanno dimostrato un'importante correlazione tra la frazione volumetrica e le proprietà meccaniche della testa femorale quali rigidità e resistenza alla compressione. Il metodo principale per valutare la presenza o meno dell'osteoporosi è la misurazione della densità ossea. Per fare ciò si possono utilizzare diversi metodi:

- assorbimetria radiologica
- assorbimetria a raggi x a singola o doppia energia (DXA)
- tomografia computerizzata quantitativa
- densitometria ossea a ultrasuoni [8]

Tra queste, l'assorbimetria a raggi x a doppia energia è la modalità più utilizzata per la misurazione clinica del contenuto minerale dell'osso. Questa tecnica è rapida, richiede solo 3-7 minuti e fornisce una dose di radiazioni così bassa da essere equivalente a circa il 5% della dose di radiazioni di una radiografia del torace [8]. Nonostante ciò, negli ultimi anni la tecnica di micro-CT viene sempre più spesso usata. Infatti, rispetto alla DXA, esegue una valutazione 3D della struttura, restituisce i principali parametri morfometrici dell'osso trabecolare che sono soggetti a cambiamento dovuto a terapie o a malattie e consente, inoltre, una migliore valutazione dei soggetti che presentano rischi di fratture. Infine, questa tecnica consente di eseguire un'analisi in vivo o in vitro [9].

1.3. Stato dell'arte

L'osso ha una capacità limitata di rigenerazione, di conseguenza eventuali difetti non possono essere autoriparati e richiedono un intervento manuale. Inoltre, l'ingegneria tissutale ossea (BTE), che si è sviluppata negli anni '80, ha fornito una soluzione efficace al problema di riparazione di questi difetti ossei. Nel campo della BTE, gli scaffold, le cellule staminali e le molecole bioattive sono tre componenti chiave che promuovono la rigenerazione ossea. Tra questi, lo scaffold svolge un ruolo importante. Il design di uno scaffold deve soddisfare la compatibilità anatomica, meccanica, biologica e chirurgica. La compatibilità strutturale influisce direttamente sulla crescita del tessuto osseo, nonché sul tasso di sopravvivenza delle cellule del tessuto osseo. Tuttavia, è ancora difficile progettare una struttura ossea con un'architettura complessa e proprietà biomeccaniche simili a quelle dell'osso naturale. Gli scaffold progettati con una struttura porosa regolare sono facili da modellare e da produrre e le loro proprietà sono facilmente prevedibili. Quelli progettati, invece, con una struttura porosa irregolare presentano un'architettura microporosa complessa e non uniforme che simula meglio l'osso trabecolare. Tuttavia, questa proprietà è difficile da controllare. Questo nuovo tipo di progettazione ha portato a modelli che presentano proprietà strutturali e proprietà biomeccaniche molto simili all'osso trabecolare utilizzando parametri specifici in input per controllare per esempio densità dei pori, porosità e così via. Il metodo si basa sull'utilizzo di algoritmi che applicano una tassellatura di Voronoi [10].

Un primo studio di interesse in questo ambito è quello che è stato condotto da Xin Xu. L'obiettivo è quello di produrre un modello digitale in grado di riprodurre da un punto di vista morfometrico e meccanico l'osso trabecolare vertebrale. In questo modo è possibile raccogliere una grande quantità di dati utili per valutare rischi di frattura e per valutare l'utilizzo di farmaci o per monitorare una

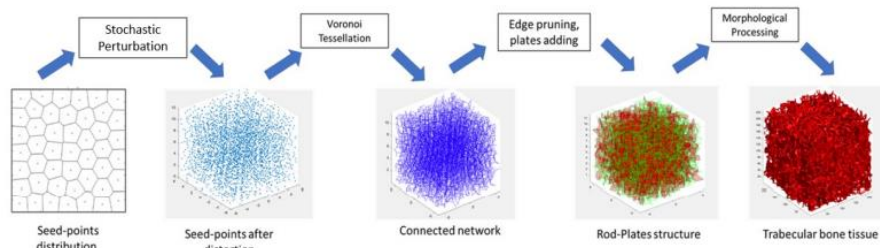


Figura 1.4: Processo di creazione del modello [3]

terapia. Per prima cosa è stato scelto un volume di interesse (VOI) nel quale distribuire seed-points in modo ordinato. Dopodiché è stata applicata una perturbazione dei punti controllata da un determinato fattore in modo tale da avere una struttura irregolare più simile a un osso trabecolare. Successivamente, è stato applicato un gradiente lungo z in modo da avere una distribuzione dei punti più concentrata verso il centro degli strati più lontani dalla faccia superiore e inferiore. Per ottenere la struttura finale è stata eseguita una tassellatura di Voronoi. Osservando l'orientamento reale delle trabecole rod-like e plate-like nell'osso trabecolare vertebrale umano, è stata effettuata un'ottimizzazione della struttura per ottenere un modello il più realistico possibile. Una volta ottenute le diverse strutture sono state eseguite delle analisi FEM su Abaqus per simulare una compressione uniassiale lungo l'asse z . Inoltre, è stata eseguita un'analisi di Pearson per valutare la correlazione tra gli input in ingresso al codice e i parametri morfometrici ottenuti. Osservando i risultati dell'analisi statistica i modelli ottenuti sono in grado di riprodurre un campione di osso trabecolare in diverse condizioni cliniche con un errore del 5% su ogni parametro morfometrico. Dall'analisi meccanica è emerso che la BV/TV ha contribuito maggiormente alla resistenza dell'osso. Per livelli simili di BV/TV , anche la densità di connettività ha svolto un ruolo importante sulla rigidità della struttura [3].

Un altro articolo di interesse è quello di Chen Jiao et al. L'obiettivo dello studio è di creare degli scaffold con un'irregolarità della struttura variabile ispirandosi alla struttura dell'osso trabecolare, utilizzando la tecnica di digital light processing. Per la realizzazione dei modelli hanno costruito una matrice ordinata di punti in un VOI. Per

ogni modello hanno poi applicato una perturbazione della posizione dei punti ordinati differente. A questo punto hanno applicato una tassellatura di Voronoi per ottenere il network finale. Il diametro degli spigoli che collegano i punti e la densità stessa dei punti sono i parametri che determinano la porosità della struttura che poi è stata ottimizzata. Infine, è stato applicato uno smoothing ai nodi. Sono stati definiti cinque gradi di irregolarità delle strutture e tre differenti livelli di porosità. Tutti i modelli sono stati sviluppati su software Rhino Grasshopper. I provini sono poi stati testati a compressione uniassiale. I risultati hanno mostrato una resistenza a compressione e una rigidità il 30% più alte nei provini ottenuti applicando una piccola perturbazione alla matrice di punti ordinata per una minor concentrazione degli sforzi e per un cambio nel percorso di trasferimento delle sollecitazioni all'interno della struttura. Inoltre, hanno notato una correlazione tra porosità e modulo elastico e resistenza a compressione con il modello di Gibson e Ashby [11].

Un altro studio di interesse è quello che è stato condotto da S. Gomez et al. nel quale è stata sempre utilizzata una tassellatura di Voronoi in un VOI di 8 mm^3 per ottenere scaffold 3D porosi e isotropi. In particolare, l'obiettivo era quello di ottenere strutture che rappresentassero da un punto di vista morfometrico l'osso trabecolare. Infine, i provini sono stati sottoposti ad analisi meccanica e di permeabilità. Per la progettazione del design dei modelli sono state utilizzate due diverse strategie. La prima consiste nel calcolo del numero medio di celle poliedriche della tassellatura di Voronoi (N) ottenute imponendo un determinato TbSp. Da questo calcolo ne consegue l'ottenimento del numero di punti che il software andrà a distribuire nel VOI. Il secondo approccio prevede, invece, l'utilizzo di immagini micro-CT di una vertebra L3 umana.

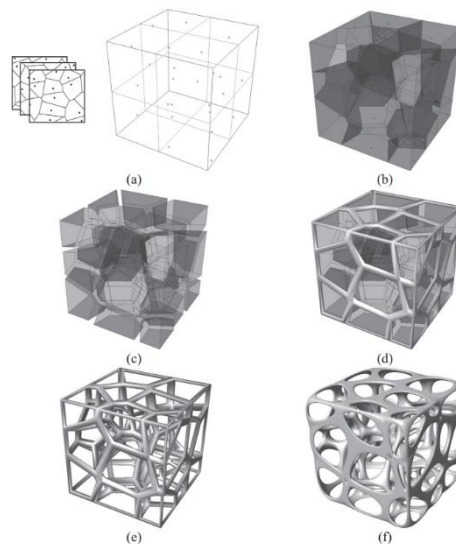


Figura 1.5: Step di creazione del modello

Attraverso il software Rhinoceros3D è stata applicata una tassellatura di Voronoi 3D e sono stati rimossi i punti e gli spigoli lasciando al posto di questi uno spazio equivalente al trabecular thickness (TbTh) imposto. A questo punto sono state eseguite delle operazioni Booleane ottenendo la struttura porosa finale a cui è stato applicato uno smoothing attraverso un plugin di Grasshopper. Jiao Chen et al. hanno generato 21 modelli utilizzando il primo approccio. Questi modelli sono stati esportati su software Comsol Multiphysics, dopo avere applicato una mesh triangolare su Rhinoceros3D, per potere eseguire le analisi meccaniche. Nello specifico è stata applicata una compressione con una deformazione dell'1%. Oltre a questo tipo di analisi è stata effettuata una caratterizzazione del flusso dei fluidi attraverso sempre Comsol Multiphysics utilizzando un modello stazionario e laminare di Navier-Stokes. Da un punto di vista morfometrico, hanno notato che mantenendo fissato il numero di punti per effettuare la tassellatura di Voronoi si possono ottenere diverse strutture in cui se la BV/TV aumenta, anche il TbTh aumenta, mentre il TbSp diminuisce. Aumentando, invece, il numero di punti disposti in modo casuale nel VOI, mantenendo al contrario quasi costante BV/TV , TbTh e TbSp diminuivano. Dalle analisi meccaniche hanno osservato una correlazione lineare tra il rapporto del modulo elastico delle strutture porose e il modulo elastico del materiale imposto per la simulazione. In particolare, il rapporto aumenta all'aumentare della BV/TV e del TbTh. Dall'analisi di fluido dinamica computazione hanno dimostrato che la permeabilità aumenta all'aumentare della porosità. In conclusione, sono riusciti a ottenere un tool

in grado di generare modelli di osso trabecolare andando a controllare i principali parametri morfometrici [12].

In un altro studio di Wei Chen et al. viene presentata una nuova tecnologia di modellazione parametrica a gradiente controllato per la progettazione di scaffold per l'ingegneria del tessuto osseo (BTE). In primo luogo, il metodo funzionalizza la distribuzione dei pori nel tessuto osseo e ricostruisce la distribuzione degli stessi in combinazione con l'analisi patologica dell'area del difetto osseo del singolo paziente. Per la costruzione del modello hanno utilizzato le immagini CT del paziente che sono state analizzate con un tool di analisi delle immagini per raccogliere diversi tipi di informazioni: numero, diametro, distribuzione dei pori e il TbTh. A questo punto, ottenuti una distribuzione di seed-points all'interno del volume è stata applicata una tassellatura di Voronoi. Lo scaffold finale è stato poi ottimizzato con delle funzioni di smoothing. Inoltre, è stato utilizzato l'algoritmo di Catmull-Clark per ottenere la mesh. Per ottenere scaffold anche di forma diversa da quella cubica sono state utilizzate operazioni Booleane. Su modelli a forma di parallelepipedo è stata condotta un'analisi FEM in cui è stata applicata una compressione lungo l'asse y (Figura 1.6).

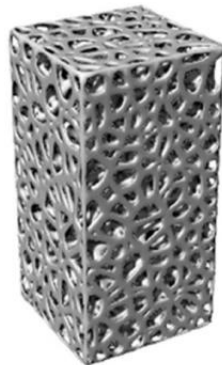


Figura 1.6: Modello su cui è stata eseguita l'analisi meccanica

Dai risultati hanno osservato che i modelli non solo riproducono fedelmente i parametri morfometrici e le caratteristiche meccaniche dell'osso, ma possono essere modificati per adattarsi al meglio al paziente e ai vincoli di produzione. Inoltre, l'anisotropia del modello può essere modificata. Il parametro n (gradiente di porosità lungo z) risulta influire sui parametri morfometrici ottenuti dai modelli e in particolare

sul TbTh e sulla BV/TV. Infine, è stata trovata una correlazione tra BV/TV e il modulo elastico ottenuto e tra n e sempre il modulo elastico. All'aumentare di BV/TV hanno notato un incremento di E con una correlazione molto marcata. Anche n ha una correlazione con il modulo, anche se inferiore. In particolare, al diminuire di n va ad aumentare il modulo elastico [10].

1.5 Obiettivo

L'obiettivo di questa tesi è lo sviluppo di un modello digitale che, da un punto di vista morfometrico e meccanico, riproduca un provino cubico di osso trabecolare umano. Il tool numerico per la creazione del modello, sviluppato in ambiente Matlab, avrà in ingresso alcuni input, al variare dei quali, si otterranno strutture con diversi parametri morfometrici (spessore delle trabecole, volume osseo/volume totale, spazio tra le trabecole, ecc.). In questo modo sarà possibile ottenere provini digitali che simulano sia un osso sano che un osso malato (es. osteoporotico). Il modello, inoltre, potrà essere utilizzato sia per la progettazione di scaffold per l'ingegneria del tessuto osseo, sia per la previsione del rischio di frattura associato alle condizioni cliniche del paziente mediante simulazioni numeriche.

2 Materiali e metodi

2.1 Step di progetto

I diversi step di questa tesi si possono suddividere in:

1. Realizzazione del modello 3D

Partendo da un numero di punti distribuiti in modo casuale all'interno di un volume definito a priori è stata effettuata una tassellatura di Voronoi cubica. Dopo la tassellatura è stato implementato un codice che portasse a una geometria che rispecchiasse l'osso trabecolare con la presenza di trabecole rod-like e plate-like. Infine, sono stati posti i pixel per creare il modello finale 3D.

2. Analisi morfometrica e analisi meccaniche elastiche

Calcolo dei parametri morfometrici ($TbSp$, $TbTh$, BV/TV , ...) di maggiore interesse per ogni struttura ottenuta e analisi meccaniche elastiche dei modelli più rappresentativi di osso sano e osteoporotico, dei modelli con direzione di anisotropia diversa dall'asse z e dei modelli con distribuzione iniziale dei seed ordinata e casuale.

3. Analisi statistiche

Ricerca di correlazioni tra parametri in input al codice e parametri morfometrici e tra input al codice e modulo elastico, tra la frazione volumetrica e i parametri meccanici e, infine, tra i parametri meccanici ottenuti e modelli trovati in letteratura che stimano il modulo elastico a partire dalla porosità.

2.2 Modello digitale

I modelli digitali sono stati sviluppati con software Matlab R2020b. Per ottenere la struttura 3D per prima cosa sono state stabilite le dimensioni di un VOI cubico in base al numero di pixel per lato da inserire (400 per lato). Sono stati poi distribuiti un determinato numero di punti (N° seed) in modo casuale all'interno del volume. Il

numero dei seed è stato scelto in base alla volontà di riprodurre un provino sano o osteoporotico. È stata utilizzata la funzione *voronoi3d_cuboid* per ottenere una tassellatura di Voronoi 3D cubica [13].

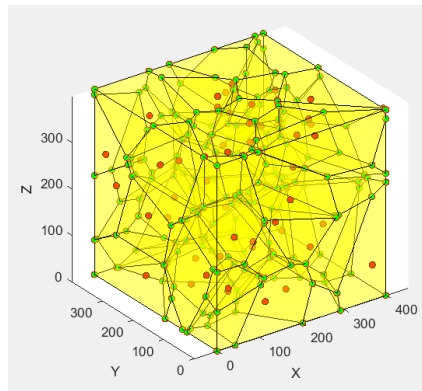


Figura 2.1: Esempio di tassellatura di Voronoi cubica con 50 seed-points

La tassellatura di Voronoi 3D consiste in una particolare partizione dello spazio. Dato un numero di seed, distribuiti all'interno di un volume, vengono costruiti attorno a ognuno di essi dei poliedri convessi in modo tale che ogni punto appartenente al poliedro sia più vicino al seed che a qualsiasi altro all'interno del volume (Figura 2.2)

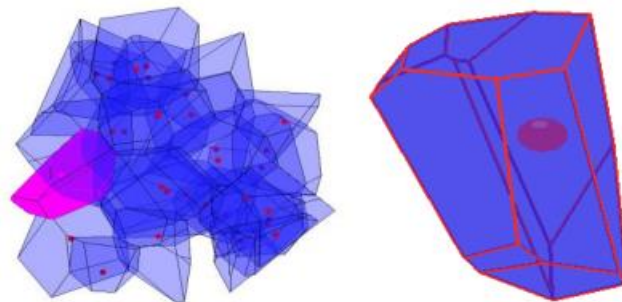


Figura 2.2: Poliedri generati dalla tassellatura di Voronoi e zoom di un poliedro con all'interno seed-point [69]

[14]. Partendo da questa struttura (Figura 2.1) è stato implementato uno script per

ottimizzarla, considerando le seguenti caratteristiche morfologiche dell'osso trabecolare:

- la maggior parte delle trabecole è allineata lungo le direzioni di carico [1]
- massimo quattro trabecole si incontrano in un punto [3]
- in un osso sano c'è una prevalenza di trabecole plate-like rispetto a quelle rod-like [15]
- le trabecole rod-like sono più assottigliate al centro e più larghe agli estremi [3]

In questa tesi per poter ottenere un provino digitale con la maggior parte delle trabecole orientate lungo una direzione di carico è stata presa come direzione di riferimento l'asse z. È stato calcolato poi l'angolo tra il versore orientamento di ogni trabecola rod-like e plate-like con l'asse. L'orientamento di una trabecola rod-like è stato individuato da un versore passante per il suo asse, mentre l'orientamento di una trabecola plate-like dal versore perpendicolare alla superficie.

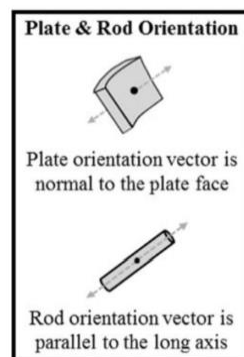


Figura 2.3: Versore orientamento per una trabecola plate-like e rod-like [3]

È stata creata una funzione di probabilità in modo tale che per angoli vicini a 90° la probabilità assegnata alla trabecola fosse massima mentre per angoli vicini a 0° o a 180° la probabilità fosse minima.

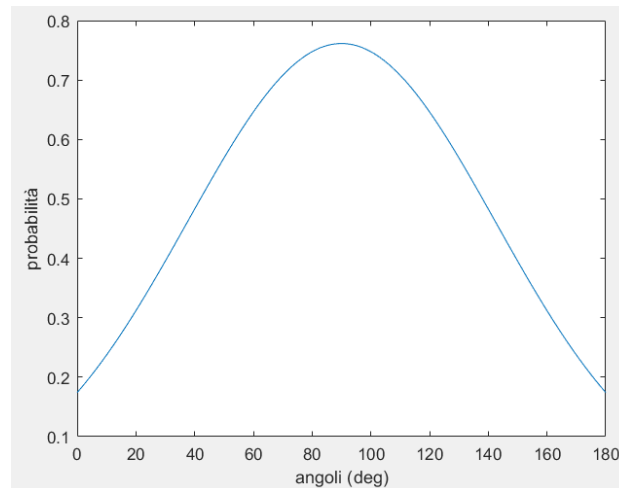


Figura 2.4: Probabilità assegnata al variare degli angoli

Per ogni faccia (candidata trabecola plate-like) e per ogni spigolo (candidato trabecola rod-like) di ogni poliedro è stato calcolato il vettore che identifica la normale (per le facce) e la direzione (per gli spigoli). La probabilità assegnata a ogni spigolo o faccia è stata confrontata con un numero casuale compreso 0 a 1. In particolare, le facce con probabilità maggiore del numero generato in modo casuale sono state salvate e in caso contrario eliminate. Per ogni segmento, invece, se la probabilità assegnatagli era minore del numero generato in modo casuale, questo veniva salvato e in caso contrario eliminato. Questo perché per gli spigoli il vettore orientamento è lungo il proprio asse per cui per angoli vicini a 180° e a 0° devono avere maggiore probabilità di essere salvati, mentre per le facce il vettore orientamento è perpendicolare alla faccia stessa, quindi è necessario che siano salvate quelle con angoli vicini a 90° . Nel momento in cui una faccia viene conservata i segmenti relativi a quest'ultima non vengono valutati e si passa direttamente alla nuova faccia. Nel momento in cui, invece, la faccia non viene conservata si vanno ad analizzare tutti gli spigoli appartenenti a quest'ultima con il criterio appena spiegato. Infine, sono stati eliminati gli spigoli e le facce dei poliedri appartenenti alle facce del VOI in modo da ottenere una struttura più realistica. Sono poi state eliminate delle facce selezionate in modo casuale per raggiungere il rapporto tra spigoli e facce impostato in input al modello. Per ogni faccia eliminata sono stati analizzati tutti i suoi segmenti con lo stesso criterio sopra spiegato, quindi andando sempre a confrontare la probabilità assegnatagli e il numero generato in modo casuale.

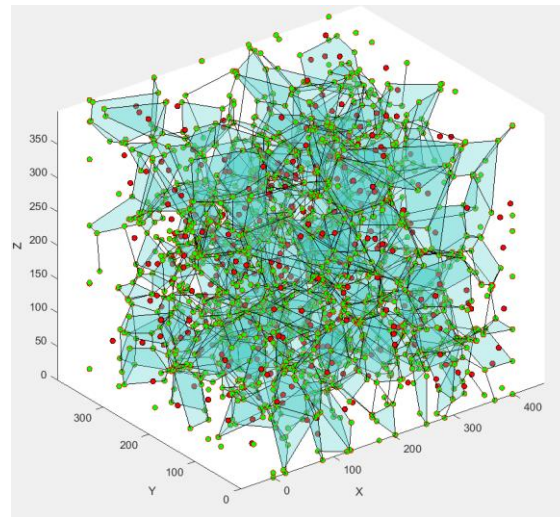


Figura 2.5: Esempio geometria finale

Ottenuta la geometria finale del modello è stato utilizzato un altro script per assegnare dei pixel alle facce e ai segmenti dei poliedri che erano stati salvati in modo da ottenere un'immagine 3D. In particolare, per i segmenti è stato assegnato un numero maggiore di pixel agli estremi rispetto al centro in modo da rispettare il carattere morfologico osservato in letteratura. La struttura finale è stata poi dilatata ed è stato applicato un filtro di Gauss in modo da smussare il modello. Infine, è stato utilizzato un breve script con il fine di eliminare parti di struttura senza connessioni.

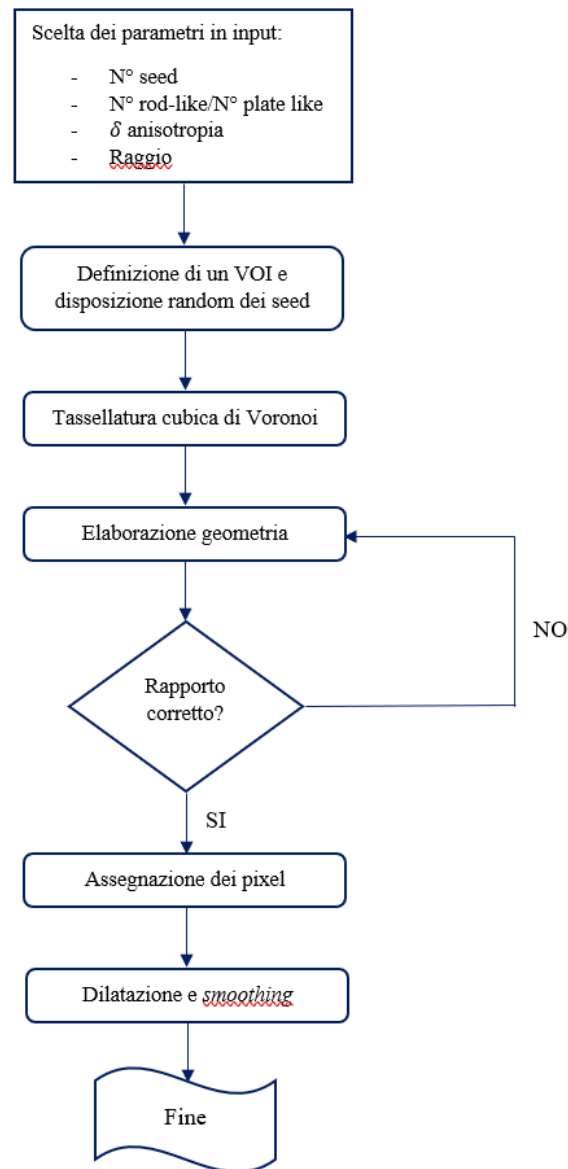


Figura 2.6: Schema a blocchi del processo di creazione dei provini digitali

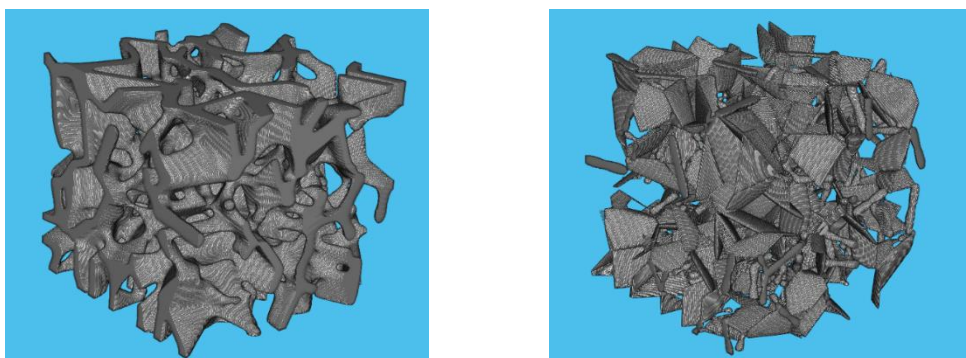


Figura 2.7: Provino digitale post-dilatazione (a sinistra) e provino digitale pre-dilatazione (a destra)

Attraverso un ultimo script sono state ottenute 400 immagini binarizzate di sezioni del modello lungo la direzione z di 8 bit in modo da ottenere simil immagini micro-CT da poter poi analizzare per valutare i parametri morfometrici di interesse.

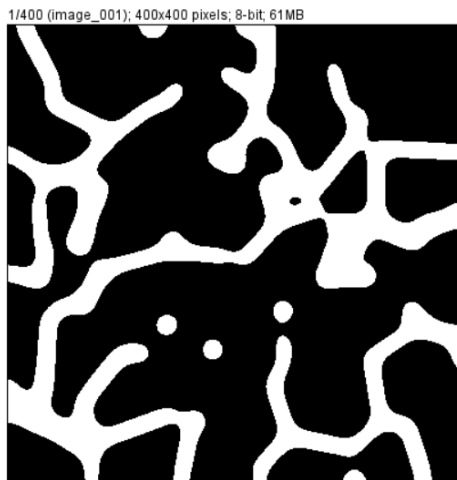


Figura 2.8: Esempio di immagine simil micro-CT

All'interno del tool per creare il modello ci sono diversi input al variare dei quali si ottengono strutture con diverse caratteristiche morfometriche e meccaniche:

- N° seed da inserire in modo casuale all'interno del VOI ("N° seed")
- rapporto tra numero di trabecole rod-like e plate-like ("N° rod-like/N° plate-like")
- dilatazione della struttura $\rightarrow strel('sphere', r)$
- δ anisotropia \rightarrow aumenta di un fattore δ la probabilità assegnata agli spigoli e alle facce con probabilità maggiore di 0.6, mentre diminuisce di un fattore δ gli elementi con probabilità minore di 0.6

"r" indica il raggio imposto nella dilatazione. Per ottenere i diversi modelli l'input " δ anisotropia" è stato sempre posto a zero. Questo perché non di particolare interesse nel tipo di strutture che si sono volute creare. Il parametro potrà essere di utilità per ottenere modelli che simulino parti di ossa trabecolare con forte anisotropia. In particolare, per un modello digitale che volesse riprodurre un osso sano sono stati presi in considerazione i seguenti range di input:

- N° seed = 400 - 600
- N° rod-like/N° plate-like = 0.2 - 1
- dilatazione $\rightarrow strel('sphere', 6)$

Per modelli che volessero riprodurre un osso osteoporotico, invece, sono stati scelti i seguenti range di input:

- N° seed = 200 - 400
- N° rod-like/N° plate-like = 1 - 20
- dilatazione → raggio = 5, 6

Come si può notare per i provini che hanno lo scopo di simulare un osso sano è stato scelto un numero maggiore di seed. Questo perché ci si aspetta che all'aumentare del numero di seed aumenti anche la densità ossea. Infatti, come descritto nel Capitolo 1 l'osso trabecolare osteoporotico presenta una densità minore. Invece, confrontando il parametro N° rod-like/N° plate-like è stato scelto un rapporto maggiore per i modelli che dovranno simulare l'osteoporosi poiché si è notato che c'è una perdita maggiore delle strutture plate-like che, come visto nel Capitolo 1, rappresentano la struttura portante dell'osso trabecolare [4]. Poiché nella struttura finale quelli che prima erano spigoli non è detto che avrebbero assunto una esatta morfologia a trave, come una possibile fusione tra più trabecole rod-like durante la dilatazione della struttura, sono stati scelti rapporti così alti nei modelli osteoporotici.

In questa tesi è stato inoltre creato un modello digitale partendo da una distribuzione ordinata di seed, per confrontarlo a livello morfometrico e meccanico con un altro modello con stessi parametri di input ma con disposizione casuale iniziale degli stessi. In particolare gli input scelti per i due modelli sono stati:

- N° seed = 559
- N° rod-like/N° plate-like = 0.5
- Dilatazione → raggio = 7

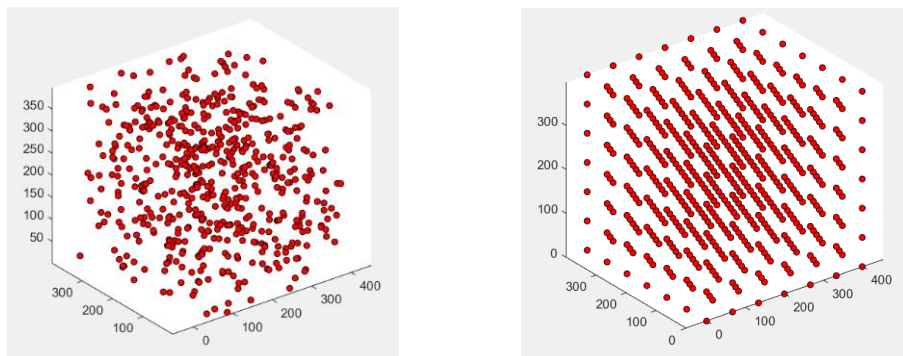


Figura 2.9: 559 seed-points distribuiti in modo casuale (a sinistra) e in modo ordinato (a destra)

Sono stati successivamente creati due provini nei quali l'asse utilizzato per il calcolo degli angoli nell'ottenimento della geometria delle strutture è stato cambiato. In particolare al posto dell'asse z sono stati utilizzati gli assi x e y. Questo per poter verificare di poter cambiare la direzione di anisotropia della struttura a seconda dell'esigenza.

2.3 Analisi morfometriche

Per poter caratterizzare da un punto di vista strutturale i modelli ottenuti, è stata svolta un'analisi morfometrica attraverso il software open-source Fiji e in particolare è stato utilizzato il plug-in BoneJ. Per i modelli è stata scelta una risoluzione di 0.01 mm/pixel. Avendo posto 400 pixel per lato del cubo nella creazione dei modelli, questi risulteranno avere un volume totale, tenendo conto anche dei vuoti, di 64 mm³. I parametri morfometrici analizzati in questa tesi sono:

- BV/TV, ovvero la frazione volumetrica data dal rapporto tra il volume di osso (BV) e il volume totale del modello (TV) espressi entrambi in pixel³. Questo parametro è indicativo della densità della struttura e può andare da un valore minimo di 0 (nessuna presenza di pixel nel volume) a 1 (volume completamente occupato da pixel) [16].
- TbTh, ovvero lo spessore delle trabecole della struttura in pixel. Esso viene misurato come il diametro massimo della sfera che meglio interpola la trabecola in quel determinato punto. Dal software si ottiene valor medio, massimo e deviazione standard [17][18][19].

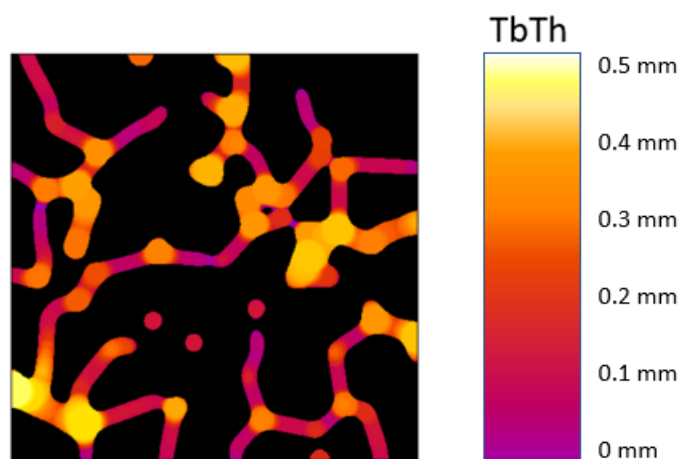


Figura 2.10: Esempio di output grafico del TbTh su plug-in BoneJ

- TbSp, ovvero lo spazio trabecolare in pixel. Viene calcolato nello stesso modo del TbTh ma negli spazi vuoti all'interno del volume. Anche in questo caso in uscita si ottiene il valor medio, massimo e deviazione standard [17][18][19].

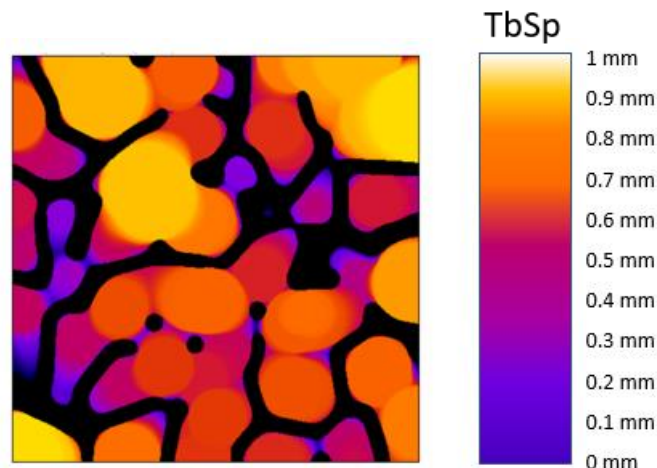


Figura 2.11: Esempio di output grafico nel calcolo del TbSp sul plug-in BoneJ

- *Degree of anisotropy (DA)*, indica se c'è un orientamento preferenziale delle sub-strutture all'interno del volume. Per determinare questo parametro il plug-in utilizza il metodo del *mean intercept length (MIL)*, cioè un'analisi in cui si prendono dei vettori paralleli tra loro con una certa inclinazione e si calcola la lunghezza di questi vettori che incontrano la parte solida nella struttura. Questo processo si ripete per ogni direzione nello spazio 3D. In questo modo sarà possibile capire in che direzione c'è una presenza maggiore di materiale e quindi di osso. Il software successivamente costruisce una nuvola di punti in cui ogni punto rappresenta il vettore per la sua MIL e nel piano 3D si presenta come un ellissoide descritto da tre raggi principali: a , b e c i quali hanno la seguente relazione (2.1):

$$a < b < c \quad (2.1)$$

Per poter calcolare il grado di anisotropia è necessario trovare l'autovalore massimo e minimo del tensore di anisotropia nel seguente modo (2.2):

$$\lambda_{min} = \frac{1}{c^2} ; \lambda_{max} = \frac{1}{a^2} \quad (2.2)$$

Il DA sarà dato poi dalla seguente relazione (2.3):

$$DA = 1 - \frac{\lambda_{min}}{\lambda_{max}} \quad (2.3)$$

Il grado di anisotropia è restituito come un numero adimensionale compreso tra 0 e 1, dove 0 indica una struttura completamente isotropa e 1 una struttura completamente anisotropa [20][21][22].

- *Ellipsoid factor* (EF), indica se c'è una predominanza di trabecole rod-like o plate-like. Per fare ciò porzioni di struttura vengono interpolate con un ellissoide. Se l'ellissoide che meglio si adatta alla struttura in quella porzione ha una dimensione molto maggiore (a) rispetto alle altre due (b,c), che invece risultano simili, viene definito prolato (trabecola rod-like). Se invece l'ellissoide presenta due dimensioni simili (b,c) e una molto più piccola (a) viene definito oblato (trabecola plate-like). L'EF finale viene calcolato quindi con la seguente relazione (2.4):

$$EF = \frac{a}{b} - \frac{b}{c} \quad (2.4)$$

Questo parametro dà in uscita un valore adimensionale che va da -1 (struttura composta solo da trabecole plate-like) a 1 (struttura composta solo da trabecole rod-like). Strutture che non hanno una predominanza di trabecole rod-like o plate-like presentano valori intermedi di questo parametro ($EF \cong 0$). Il software restituisce un valore medio, minimo e massimo.

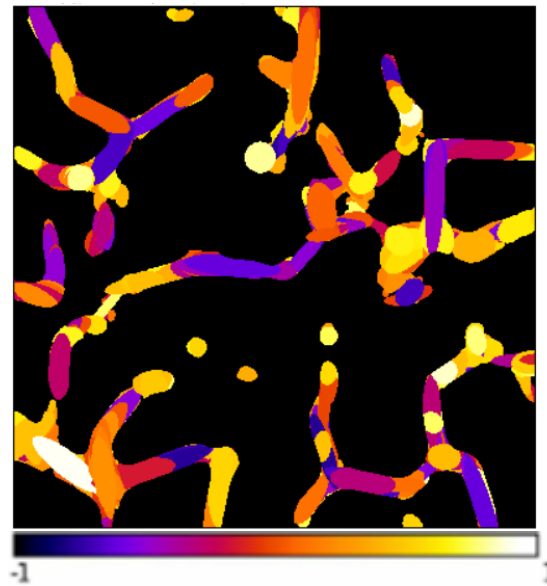


Figura 2.12: Esempio output grafico dell'EF ottenuto con plug-in BoneJ

In uscita si può ottenere anche una mappa (Figura 2.12) con tutti gli ellissoidi con una distinzione al loro interno tra ellissoidi tendenti al viola (oblati) e vicini al giallo (prolati). [23][24][25].

- Connectivity density (ConnD), descrive il numero di trabecole (connettività) su volume e viene restituito dal software in pixel^{-3} . Questo parametro viene calcolato attraverso i seguenti passaggi:
 1. “purificare” lo stack di immagini in modo tale da avere solo una parte ossea e una parte midollare interconnesse
 2. iterare lo stack per ottenere la caratteristica di Eulero per ogni voxel osseo ($\delta\chi$)
 3. calcolare la caratteristica di Eulero totale ($\chi = \sum \delta\chi$)
 4. calcolare il contributo del campione osseo alla caratteristica di Eulero dell'osso a cui è stato collegato ($\delta\chi$), controllando le intersezioni dei voxel e degli spigoli dello stack
 5. calcolare la connettività ($\beta_1 = 1 - \delta\chi$)
 6. calcolare la ConnD nel seguente modo [26][20](2.5):

$$Conn = \frac{\beta_1}{volume\ stack} \quad (2.5)$$

I parametri morfometrici non adimensionali sono stati convertiti da pixel in mm per poter poi fare confronti con i valori dell'osso trabecolare reale usando la risoluzione sopra riportata.

2.4 Analisi meccanica elastica

Una volta effettuate le analisi morfometriche su tutti i provini, alcuni di questi sono stati selezionati per essere sottoposti ad un'analisi agli elementi finiti (FEM). In particolare i provini sono stati sottoposti a una compressione uniassiale nelle tre direzioni cartesiane (x, y e z) e a tre sollecitazioni di taglio (xy, yz, xz), entrambe confinate, con la finalità di ottenere rispettivamente i moduli elastici lungo i tre assi cartesiani (E_x, E_y, E_z) e i moduli elastici di taglio (G_{xy}, G_{yz}, G_{xz}), normalizzati per il modulo elastico della fase solida posto in ingresso al risolutore. Per effettuare queste simulazioni è stato utilizzato un risolutore parallelo chiamato ParOSol che utilizza una mesh a voxel data dalla risoluzione delle immagini che prende in ingresso [27]. Questo risolutore permette di lavorare direttamente dalle immagini binarizzate di micro-CT senza dover fare conversioni in altri formati. Prima di passare al risolutore vengono definite le condizioni di vincolo e di carico tramite un apposito script in Matlab. In particolare in questa fase di pre-processamento sono stati definiti:

- **Vincoli di spostamento alle superfici**

1. Prova di compressione confinata uniassiale

Nelle prove di compressione uniassiale confinate tutte le superfici sono state vincolate nella direzione perpendicolare a queste ultime. L'esempio seguente mostra i vincoli di spostamento delle facce del provino cubico nel caso di una compressione uniassiale confinata in direzione z (2.6).

$$\begin{aligned} u_x|_{x+} = u_x|_{x-} = u_y|_{y+} = u_y|_{y-} = u_z|_{z-} = 0; \\ u_z|_{z+} = -\varepsilon * h_0 \end{aligned} \quad (2.6)$$

u indica lo spostamento, il primo pedice indica la direzione di spostamento, mentre il secondo pedice indica la faccia sulla quale è stata applicata la compressione. In particolare, le facce superiori sono indicate con un "+",

mentre quelle inferiori con un “-”. ε indica la deformazione unitaria applicata, mentre h_0 la dimensione iniziale del cubo. Per ottenere le condizioni al contorno per le restanti 2 prove basterà eseguire una permutazione degli indici.

2. Prova di taglio

Nelle prove di taglio sono stati invece posti i seguenti vincoli di spostamento. In particolare, nell'esempio seguente vengono riportati quelli relativi a una sollecitazione nel piano xy (2.7).

$$\begin{aligned}
 u_x|_{x+} &= u_x|_{x-} = u_y|_{y+} = u_y|_{y-} = u_z|_{z+} \\
 &= u_z|_{z-} = 0 \\
 u_x|_{x-} &= u_x|_{x+} = \varepsilon * l, \quad 0 \leq l \leq H \\
 u_x|_{y+} &= \varepsilon * h_0
 \end{aligned} \tag{2.7}$$

Come prima è possibile ottenere le condizioni di vincolo per gli spostamenti delle altre 2 prove permutando gli indici.

- **Modulo elastico della fase solida ($E_s = 1$ GPa)**
- **Coefficiente di Poisson ($\nu = 0.3$)**
- **Deformazione unitaria**
- **Direzione di sollecitazione**
- **Risoluzione = 0.02 mm/pixel**

In queste prove la dimensione dei pixel dei provini è stata raddoppiata in modo da velocizzare le simulazioni. Per poter calcolare i moduli elastici e i moduli di taglio è stata calcolata la matrice di rigidezza (C) dalla seguente equazione costitutiva (2.8):

$$\sigma = C\varepsilon \tag{2.8}$$

$$\begin{bmatrix} C_{11} & C_{12} & C_{13} & C_{14} & C_{15} & C_{16} \\ C_{21} & C_{22} & C_{23} & C_{24} & C_{25} & C_{26} \\ C_{31} & C_{32} & C_{33} & C_{34} & C_{35} & C_{36} \\ C_{41} & C_{42} & C_{43} & C_{44} & C_{45} & C_{46} \\ C_{51} & C_{52} & C_{53} & C_{54} & C_{55} & C_{56} \\ C_{61} & C_{62} & C_{63} & C_{64} & C_{65} & C_{66} \end{bmatrix}$$

Figura 2.13: Matrice di rigidezza

Avendo imposto una deformazione unitaria (ε) le colonne della matrice di rigidezza rappresentano i tensori degli sforzi (σ) ottenuti nelle 6 simulazioni. Calcolando l'inversa di C è stata calcolata la matrice di cedevolezza (D). Per calcolare i moduli elastici e di taglio normalizzati sono state utilizzate le seguenti relazioni (2.9)(2.10):

$$E_x/E_s = \frac{1}{D_{11}}; E_y/E_s = \frac{1}{D_{22}}; E_z/E_s = \frac{1}{D_{33}} \quad (2.9)$$

$$G_{xy}/E_s = \frac{1}{D_{44}}; G_{yz}/E_s = \frac{1}{D_{55}}; G_{xz}/E_s = \frac{1}{D_{66}} \quad (2.10)$$

2.5 Analisi statistica

Per comprendere in modo quantitativo la correlazione tra gli input in ingresso al codice e i parametri morfometrici e meccanici ottenuti, è stata eseguita un'analisi di Pearson su Excel per ottenere coefficiente di correlazione (r), r^2 e p-value effettuando un T-test. Per valutare l'effetto di un singolo input sui parametri morfometrici e meccanici dei modelli, sono stati prodotti 10 provini digitali in cui l'input analizzato è stato fatto variare, mentre gli altri sono stati mantenuti fissi. Le variabili analizzate sono quelle riportate nel Capitolo 2.2:

- N° seed
- N° rod-like/N° plate-like
- Dilatazione (raggio)
- δ anisotropia

Nelle Tabella 2.1, Tabella 2.2, Tabella 2.3, Tabella 2.4 sono riportati i valori dei parametri input dei provini che sono stati sottoposti all'analisi statistica.

Tabella 2.1: parametri in input per l'analisi di correlazione tra la variabile N° seed e i parametri morfometrici e meccanici

PROVINI	N° seed	N° rod-like/N° plate-like	Raggio	δ anisotropia
1	200	0.5	6	0
2	250	0.5	6	0
3	300	0.5	6	0
4	350	0.5	6	0
5	400	0.5	6	0
6	450	0.5	6	0
7	500	0.5	6	0
8	550	0.5	6	0
9	600	0.5	6	0
10	650	0.5	6	0

Tabella 2.2: Parametri in input per l'analisi di correlazione tra la variabile N° rod-like/N° plate-like e i parametri morfometrici e meccanici

PROVINI	N° seed	N° rod-like/N° plate-like	Raggio	δ anisotropia
11	400	0.2	6	0
12	400	0.4	6	0
13	400	0.6	6	0
14	400	0.8	6	0
15	400	1.0	6	0
16	400	1.2	6	0
17	400	1.4	6	0
18	400	1.6	6	0
19	400	1.8	6	0
20	400	2.0	6	0

Tabella 2.3: Parametri in input per l'analisi di correlazione tra la variabile Raggio e i parametri morfometrici e meccanici

PROVINI	N° seed	N° rod-like/N° plate-like	Raggio	δ anisotropia
38	200	0.5	1	0
39	200	0.5	2	0
21	200	0.5	3	0
22	200	0.5	4	0
23	200	0.5	5	0
24	200	0.5	6	0
25	200	0.5	7	0
26	200	0.5	8	0
27	200	0.5	9	0
28	200	0.5	10	0

Tabella 2.4: Parametri in input per l'analisi di correlazione tra la variabile δ anisotropia e i parametri morfometrici e meccanici

PROVINI	N° seed	N° rod-like/N° plate-like	Raggio	δ anisotropia
8	400	0.5	6	0.00
29	400	0.5	6	0.05
30	400	0.5	6	0.10
31	400	0.5	6	0.15
32	400	0.5	6	0.20
33	400	0.5	6	0.25
34	400	0.5	6	0.30
35	400	0.5	6	0.35
36	400	0.5	6	0.40
37	400	0.5	6	0.45

Sugli stessi 39 provini è stata condotta un'ulteriore analisi statistica per valutare la correlazione tra BV/TV e modulo elastico nelle tre direzioni cartesiane (E_x, E_y, E_z) dato che in letteratura è stata riscontrata una forte dipendenza tra il parametro morfometrico e le proprietà meccaniche elastiche dell'osso trabecolare [28]. Inoltre, sono stati confrontati i moduli elastici, ottenuti dall'analisi meccanica in silico, con quelli ottenuti da modelli rinvenuti in letteratura, in modo da individuare il modello che meglio approssima i valori di E ottenuti nelle analisi meccaniche elastiche. In Figura 2.14 sono presentati i differenti modelli utilizzati.

Mechanical Property	Model Name	Model Equation
Elastic modulus	Gibson–Ashby	$E = E_0 \varphi^2$
	Warren-Kraynik	$E = \frac{E_0 \varphi^2 (11 + 4\varphi)}{10 + 31\varphi + 4\varphi^2}$
	Zhu 1	$E = \frac{0.726 E_0 \varphi^2}{1 + 1.09 \varphi}$
	Zhu 2	$E = \frac{1.009 E_0 \varphi^2}{1 + 1.514 \varphi}$
	Gan	$E = \frac{E_0 \varphi^2}{1 + 6\varphi}$
	Roberts–Garboczi	$E = E_0 \left(\frac{\varphi - \varphi_0}{1 - \varphi_0} \right)^m, \varphi > 0.20$ $E = E_0 C \varphi^n, \varphi \leq 0.20$
	Nie	$E = E_0 [3.32 (1 - \varphi)^3 - 7.37 (1 - \varphi)^2 + 4.98(1 - \varphi) - 0.92]$

Figura 2.14: Equazioni dei modelli che stimano il modulo elastico di un materiale poroso a partire dalla BV/TV [29]

dove E_0 rappresenta la rigidezza della fase solida, mentre φ rappresenta la frazione volumetrica [29].

3 Risultati

3.1 Risultati analisi morfometriche

Come anticipato nel Capitolo 2.3 le analisi morfometriche sono state effettuate su tutti i provini ($N^\circ = 111$). Di seguito vengono riportati, per ogni input in ingresso al codice, i relativi range di valori utilizzati per l'ottenimento dei provini e i range di valori ottenuti per ogni parametro morfometrico in uscita dall'analisi.

Tabella 3.1: Range dei valori di input utilizzati per la creazione di 111 provini digitali

INPUT				
	N° seed	N° rod-like/N° plate-like	Raggio	δ anisotropia
Range	189 – 800	0.2 – 20	1 – 10	0 – 0.45

Tabella 3.2: Range di valori dei parametri ottenuti dall'analisi morfometrica dei 111 provini digitali sviluppati

PARAMETRI MORFOMETRICI			
	BV/TV	TbTh (mm)	TbSp (mm)
Range	0.10 – 0.51	0.11 – 0.45	0.40 – 0.95
	DA	EF	ConnD (mm ⁻³)
Range	0.16 – 0.55	-0.46 – 0.38	1.42 – 10.9

Si ricorda che l'input δ anisotropia è stato posto diverso da zero solo per l'analisi statistica. Osservando la Tabella 3.1 vediamo che per ogni input in ingresso al codice

sono stati utilizzati ampi range di valori. Questo per poter comprendere al meglio l'influenza di questi parametri sulle caratteristiche morfometriche e meccaniche del provino finale. Per il N° di seed sono stati scelti valori piccoli con l'intento di ottenere provini con bassa densità ossea, mentre sono stati scelti valori alti per ottenere provini con densità ossea elevata. Alcuni valori in input sono stati utilizzati per pochi provini poiché ci si è accorti che portavano a parametri morfometrici molto distanti da quelli di un osso trabecolare reale. Per esempio, si è notato che valori di N° di seed sopra i 500 portavano a valori troppo alti di BV/TV ($\cong 1$). Allo stesso modo, si è notato che valori di raggio inferiori a 4 e maggiori di 7 portano a provini con un TbTh molto basso (< 0.1) e a valori di TbTh e BV/TV molto elevati (> 0.45 per TbTh e $\cong 1$ per BV/TV). Se si osserva la Tabella 3.2, infatti, si può notare che i risultati non spaziano l'intero range di valori possibili, ma solo un intervallo.

Di seguito sono riportati gli input (Tabella 3.3 e Tabella 3.5) e i parametri morfometrici ottenuti da 4 provini sani e 4 provini osteoporotici selezionati (Tabella 3.4 e Tabella 3.6).

Tabella 3.3: Input impostati per la creazione di quattro provini sani

INPUT				
	N° seed	N° rod-like/N° plate-like	Raggio	δ anisotropia
Provino 72	500	0.5	7	0
Provino 40	500	0.5	6	0
Provino 50	500	0.5	6	0
Provino 57	450	1	6	0

Tabella 3.4: Parametri morfometrici ottenuti dai quattro provini sani

PARAMETRI MORFOMETRICI				
	Provino 72	Provino 40	Provino 50	Provino 57
BV/TV	0.42	0.36	0.36	0.33
TbTh (mm)	0.28 ± 0.06	0.24 ± 0.05	0.25 ± 0.06	0.25 ± 0.06
TbSp (mm)	0.51 ± 0.19	0.50 ± 0.17	0.53 ± 0.19	0.54 ± 0.19
DA	0.22	0.27	0.24	0.26
EF	0.02	-0.06	-0.07	-0.02
ConnD (mm ⁻³)	4.54	5.57	5.00	5.25

Tabella 3.5: Input impostati nel codice per ottenere i quattro provini osteoporotici

INPUT				
	N° seed	N° rod-like/N° plate-like	Raggio	δ anisotropia
Provino 108	330	15	6	0
Provino 109	400	20	5	0
Provino 110	400	20	5	0
Provino 111	380	10	5	0

Tabella 3.6: Parametri morfometrici ottenuti dai quattro provini osteoporotici

PARAMETRI MORFOMETRICI				
	Provino 108	Provino 109	Provino 110	Provino 111
BV/TV	0.16	0.11	0.15	0.15
TbTh (mm)	0.23 ± 0.04	0.18 ± 0.04	0.21 ± 0.04	0.21 ± 0.04
TbSp (mm)	0.78 ± 0.27	0.80 ± 0.34	0.72 ± 0.26	0.76 ± 0.30
DA	0.26	0.23	0.27	0.25
EF	0.27	0.28	0.28	0.18
ConnD (mm ⁻³)	2.64	3.48	3.54	3.38

Nella Tabella 3.7 e Tabella 3.8 sono riportati rispettivamente gli input e risultati delle analisi morfometriche dei due provini ottenuti cambiando la direzione di anisotropia del provino. In particolare, per la progettazione del provino 47, è stato preso come riferimento l'asse x, mentre per il provino 55 l'asse y.

Tabella 3.7: Input impostati per la creazione di due provini con anisotropia lungo asse x e y

INPUT				
	N° seed	N° rod-like/N° plate-like	Raggio	δ anisotropia
Provino 47 (x)	500	0.5	6	0
Provino 55 (y)	500	0.5	6	0

Tabella 3.8: Parametri morfometrici ottenuti dai provini con anisotropia lungo asse x e y

PARAMETRI MORFOMETRICI		
	Provino 47 (x)	Provino 55 (y)
BV/TV	0.38	0.38
TbTh (mm)	0.26 ± 0.07	0.25 ± 0.06
TbSp (mm)	0.52 ± 0.21	0.50 ± 0.17
DA	0.27	0.26
EF	-0.03	-0.02
ConnD (mm ⁻³)	5.17	5.33

In Tabella 3.9 sono riportati i risultati dell'analisi morfometrica ottenuti dai provini 82 e 83 che rappresentano rispettivamente un modello ottenuto da un'iniziale distribuzione ordinata di seed e un modello ottenuto con un'iniziale distribuzione casuale di seed. Gli input utilizzati per costruire i due modelli sono gli stessi e sono stati riportati nel Capitolo 2.2.

Tabella 3.9: Parametri morfometrici ottenuti dai due provini con distribuzione dei seed casuale (C) e ordinata (O)

PARAMETRI MORFOMETRICI		
	Provino 82 (O)	Provino 83 (C)
BV/TV	0.48	0.42
TbTh (mm)	0.25 ± 0.04	0.29 ± 0.07
TbSp (mm)	0.40 ± 0.07	0.49 ± 0.19

DA	0.18	0.26
EF	0.04	0.04
ConnD (mm ⁻³)	6.26	5.11

3.2 Risultati analisi meccanica elastica

Nel seguente Capitolo sono riportati i risultati dell'analisi meccanica elastica dei 4 provini sani e osteoporotici selezionati, del provino 55 e dei provini 82 e 83.

Tabella 3.10: Parametri meccanici elastici per i quattro provini sani (S) e osteoporotici (OP)

PARAMETRI MECCANICI						
	E_x/E_s	E_y/E_s	E_z/E_s	G_{xy}/E_s	G_{yz}/E_s	G_{xz}/E_s
Provino 72 (S)	0.129	0.140	0.169	0.030	0.036	0.035
Provino 40 (S)	0.087	0.099	0.119	0.022	0.025	0.025
Provino 50 (S)	0.093	0.097	0.124	0.021	0.025	0.027
Provino 57 (S)	0.067	0.063	0.090	0.015	0.019	0.018
Provino 108 (OP)	0.006	0.008	0.015	0.004	0.005	0.006
Provino 109 (OP)	0.002	0.001	0.004	0.001	0.002	0.002
Provino 110 (OP)	0.005	0.004	0.010	0.003	0.005	0.005
Provino 111 (OP)	0.006	0.005	0.012	0.004	0.005	0.005

In Tabella 3.10 sono riportati i risultati dell'analisi meccanica eseguita sui provini sani e osteoporotici. In particolare, sono rappresentati moduli elastici e i moduli elastici di taglio normalizzati per il modulo elastico imposto in ingresso alla prova meccanica.

Di seguito (Tabella 3.11) sono riportati i risultati dell'analisi meccanica elastica eseguita sul provino 55 per verificare se la direzione di anisotropia strutturale coincide con quella meccanica.

Tabella 3.11: Parametri meccanici elastici ottenuti dal provino con direzione di anisotropia lungo l'asse y

PARAMETRI MECCANICI						
	E_x/E_s	E_y/E_s	E_z/E_s	G_{xy}/E_s	G_{yz}/E_s	G_{xz}/E_s
Provino 55 (y)	0.109	0.139	0.105	0.026	0.028	0.024

Nel grafico in Figura 3.1 sono rappresentati i moduli elastici nelle tre direzioni cartesiane.

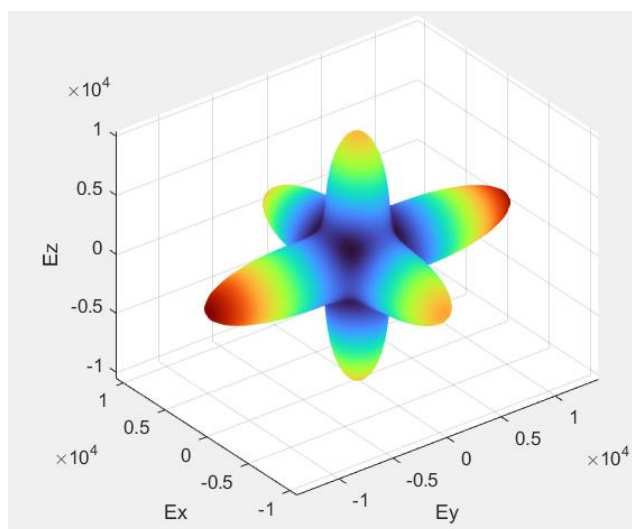


Figura 3.1: Modulo elastico del provino 55 nelle tre direzioni cartesiane

Di seguito (Tabella 3.12 e Tabella 3.13) sono riportati i risultati dell'analisi meccanica elastica eseguita sul provino 55 e il rapporto tra i moduli elastici nelle tre direzioni cartesiane per verificare se la direzione di anisotropia strutturale coincide con quella meccanica.

Tabella 3.12: Parametri meccanici elastici ottenuti dai due provini con distribuzione casuale e ordinata dei seed-points

PARAMETRI MECCANICI						
	E_x/E_s	E_y/E_s	E_z/E_s	G_{xy}/E_s	G_{yz}/E_s	G_{xz}/E_s
Provino 82 (O)	0.173	0.165	0.216	0.039	0.044	0.042
Provino 83 (C)	0.143	0.135	0.173	0.028	0.033	0.038

Tabella 3.13: Rapporto tra i moduli elastici ottenuti nelle tre direzioni cartesiane per il provino 55

	E_x/E_y	E_y/E_x	E_z/E_x	E_x/E_z	E_z/E_y	E_y/E_z
Provino 55 (y)	0.784	1.275	0.963	1.038	0.775	1.324

3.3 Risultati analisi statistica

In questo Capitolo si andranno a mostrare i risultati relativi all'analisi statistica effettuata. In particolare, verranno mostrate le correlazioni tra: gli input e i parametri morfometrici (Capitolo 3.3.1), gli input e i parametri meccanici (Capitolo 3.3.2) e la BV/TV e i parametri meccanici (Capitolo 3.3.3).

3.3.1 Correlazione input – parametri morfometrici

In appendice A sono riportati i risultati delle analisi morfometriche per tutti i provini coinvolti nell'analisi statistica. Di seguito sono mostrati i risultati di correlazione tra i parametri in input e i parametri morfometrici.

Tabella 3.14: r, r² e p-value ottenuti dall'analisi di Pearson per l'input N° seed e i parametri morfometrici

N° SEED – PARAMETRI MORFOMETRICI						
	BV/TV	TbTh	TbSp	DA	EF	ConnD
r	0.93	0.80	- 0.97	- 0.66	0.92	0.99
r ²	0.86	0.64	0.94	0.44	0.85	0.98
p-value	1.07 * 10 ⁻⁴	5.70 * 10 ⁻³	4.39 * 10 ⁻⁶	3.62 * 10 ⁻²	1.41 * 10 ⁻⁴	1.76 * 10 ⁻⁸

Tabella 3.15: r, r² e p-value ottenuti dall'analisi di Pearson per l'input N° rod-like/N° plate-like e i parametri morfometrici

N° ROD-LIKE/N° PLATE-LIKE – PARAMETRI MORFOMETRICI						
	BV/TV	TbTh	TbSp	DA	EF	ConnD
r	- 0.77	8 * 10 ⁻³	0.69	0.53	0.90	0.73
r ²	0.59	6 * 10 ⁻⁵	0.48	0.28	0.81	0.53
p-value	9.69 * 10 ⁻³	9.84 * 10 ⁻¹	2.64 * 10 ⁻²	1.18 * 10 ⁻¹	4.04 * 10 ⁻⁴	1.75 * 10 ⁻²

Tabella 3.16: r, r² e p-value ottenuti dall'analisi di Pearson per l'input Raggio e i parametri morfometrici

RAGGIO – PARAMETRI MORFOMETRICI						
	BV/TV	TbTh	TbSp	DA	EF	ConnD
r	0.99	0.995	-0.86	-0.92	-0.995	-0.89
r ²	0.98	0.990	0.74	0.85	0.992	0.79

p-value	$4.52 * 10^{-8}$	$2.50 * 10^{-9}$	$1.46 * 10^{-3}$	$1.60 * 10^{-4}$	$1.45 * 10^{-9}$	$5.80 * 10^{-4}$
---------	------------------	------------------	------------------	------------------	------------------	------------------

Tabella 3.17: r, r² e p-value ottenuti dall'analisi di Pearson per l'input δ anisotropia e i parametri morfometrici

δ ANISOTROPIA – PARAMETRI MORFOMETRICI						
	BV/TV	TbTh	TbSp	DA	EF	ConnD
r	-0.66	-0.88	-0.01	0.94	-0.42	-0.46
r ²	0.44	0.77	$2 * 10^{-4}$	0.89	0.18	0.21
p-value	$3.74 * 10^{-2}$	$8.32 * 10^{-4}$	$9.71 * 10^{-1}$	$4.96 * 10^{-5}$	$2.24 * 10^{-1}$	$1.84 * 10^{-1}$

3.3.2 Correlazione input – parametri meccanici

In appendice B sono riportati i moduli elastici e moduli elastici di taglio normalizzati ottenuti dai provini coinvolti nell'analisi statistica. Di seguito si riportano i risultati di correlazione ottenuti.

Tabella 3.18: r, r² e p-value ottenuti dall'analisi di Pearson tra l'input N° seed e i parametri meccanici

N° SEED – PARAMETRI MECCANICI						
	E_x/E_s	E_y/E_s	E_z/E_s	G_{xy}/E_s	G_{yz}/E_s	G_{xz}/E_s
r	0.88	0.81	0.88	0.87	0.86	0.86

r^2	0.78	0.66	0.78	0.75	0.75	0.73
p-value	$7.70 * 10^{-4}$	$4.14 * 10^{-3}$	$6.69 * 10^{-4}$	$1.15 * 10^{-3}$	$1.28 * 10^{-3}$	$1.58 * 10^{-3}$

Tabella 3.19: r , r^2 e p-value ottenuti dall'analisi di Pearson tra l'input N° rod-like/N° plate-like e i parametri meccanici

N° ROD-LIKE/N° PLATE-LIKE – PARAMETRI MECCANICI						
	E_x/E_s	E_y/E_s	E_z/E_s	G_{xy}/E_s	G_{yz}/E_s	G_{xz}/E_s
r	-0.65	-0.75	-0.73	-0.76	-0.74	-0.76
r^2	0.42	0.56	0.53	0.58	0.55	0.58
p-value	$4.11 * 10^{-2}$	$1.27 * 10^{-2}$	$1.72 * 10^{-2}$	$1.00 * 10^{-2}$	$1.38 * 10^{-2}$	$1.00 * 10^{-2}$

Per studiare la correlazione tra l'input "raggio" e i parametri meccanici ci si è accorti che la relazione non era lineare (Figura 3.2).

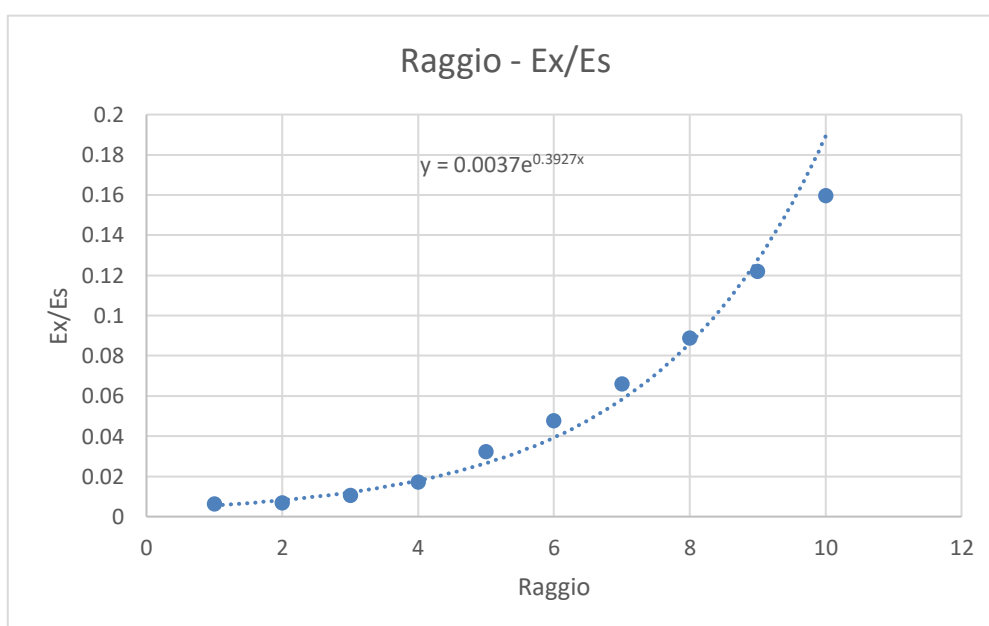


Figura 3.2: Moduli elastici in direzione x normalizzati, ottenuti per i dieci provini utilizzati nell'analisi di correlazione tra input Raggio e parametri meccanici e regressione esponenziale

Per questo motivo si è scelto di calcolare i logaritmi naturali dei moduli elastici e di taglio ottenendo una relazione lineare per poter calcolare la correlazione (Figura 3.3)

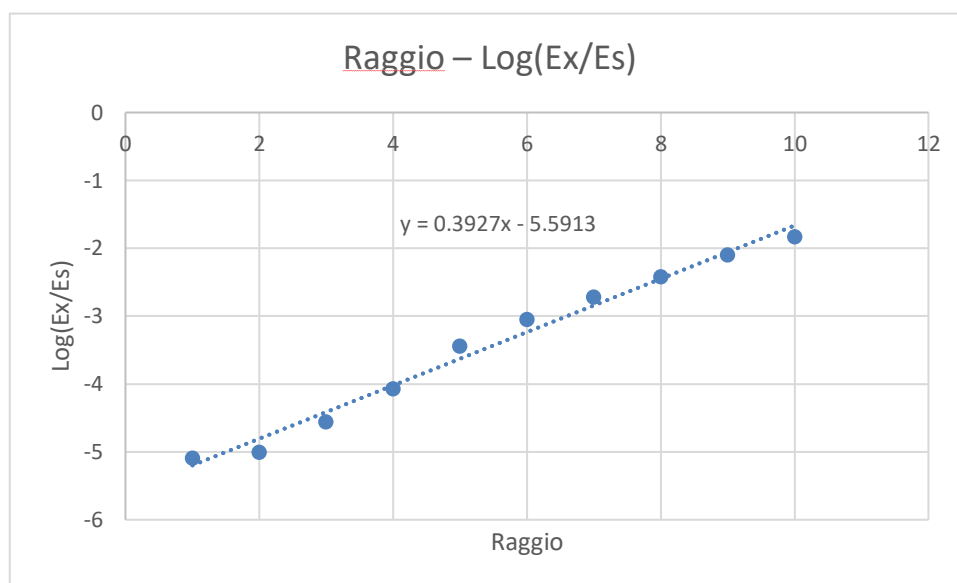


Figura 3.3: Logaritmo naturale dei moduli elastici per i dieci provini utilizzati nell'analisi di correlazione tra l'input Raggio e i parametri meccanici e regressione lineare

Di seguito sono riportati i risultati della correlazione.

Tabella 3.20: r , r^2 e p -value ottenuti dall'analisi di Pearson tra l'input Raggio e il logaritmo naturale dei parametri meccanici

RAGGIO – PARAMETRI MECCANICI						
	Log(E _x /E _s)	Log(E _y /E _s)	Log(E _z /E _s)	Log(G _{xy} /E _s)	Log(G _{yz} /E _s)	Log(G _{xz} /E _s)
r	0.992	0.993	0.988	0.993	0.993	0.991
r^2	0.985	0.986	0.976	0.989	0.986	0.982
p -value	$1.35 \cdot 10^{-8}$	$9.38 \cdot 10^{-9}$	$8.92 \cdot 10^{-8}$	$4.84 \cdot 10^{-9}$	$9.39 \cdot 10^{-9}$	$2.63 \cdot 10^{-8}$

Tabella 3.21: r , r^2 e p -value ottenuti dall'analisi di Pearson tra l'input δ anisotropia e i parametri meccanici

δ ANISOTROPIA – PARAMETRI MECCANICI						
	E_x/E_s	E_y/E_s	E_z/E_s	G_{xy}/E_s	G_{yz}/E_s	G_{xz}/E_s
r	-0.79	-0.64	0.31	-0.80	-0.65	-0.53
r^2	0.63	0.40	0.09	0.64	0.42	0.28
p -value	$6.29 * 10^{-3}$	$4.79 * 10^{-2}$	$3.88 * 10^{-1}$	$5.45 * 10^{-3}$	$4.17 * 10^{-2}$	$1.18 * 10^{-1}$

3.3.3 Correlazione BV/TV – parametri meccanici

In questo capitolo si mostrano i risultati ottenuti dalla correlazione tra la frazione volumetrica e i parametri meccanici dei provini utilizzati per le analisi statistiche ($N^\circ = 39$). Anche in questo caso si è notato che la relazione tra la BV/TV e i moduli elastici non è lineare, ma è una relazione polinomiale di secondo grado. Per questo motivo è stata effettuata una linearizzazione calcolando il logaritmo naturale dei parametri meccanici. Di seguito è riportato un esempio per il modulo normalizzato in direzione x (Figura 3.4).

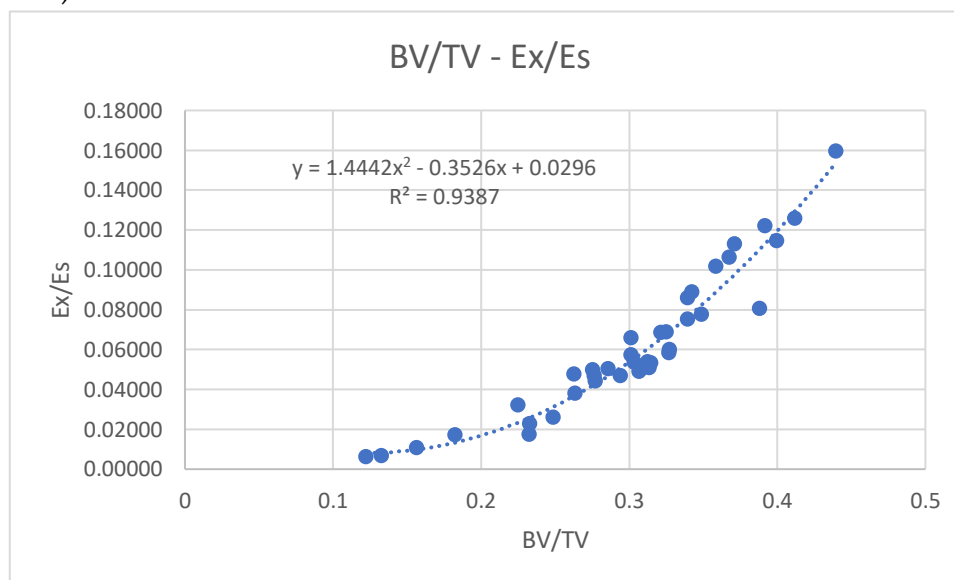


Figura 3.4: Moduli elastici in direzione x normalizzati al variare della BV/TV ottenuta per i 39 provini coinvolti nell'analisi statistica

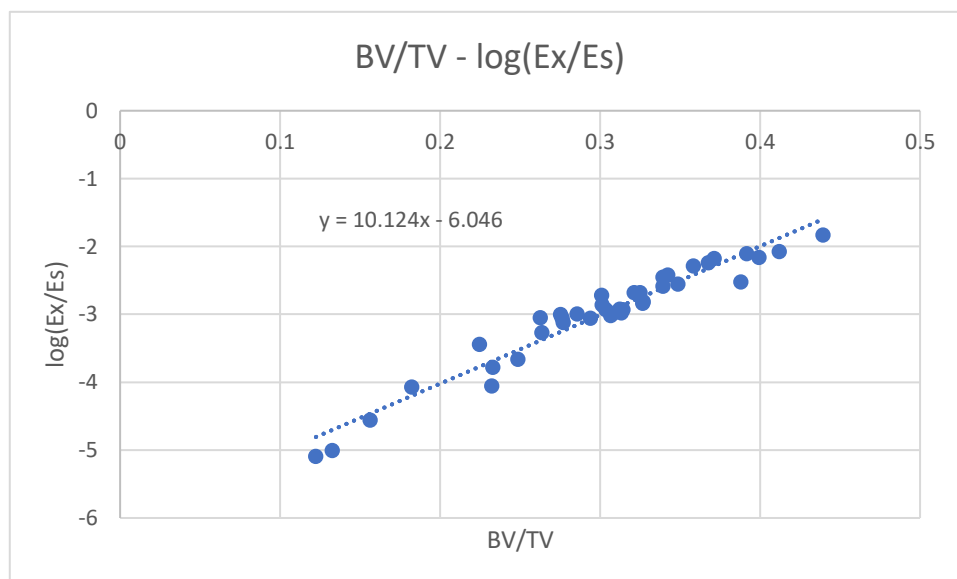


Figura 3.5: Logaritmo naturale del modulo elastico in direzione x normalizzato al variare della BV/TV ottenuta per i 39 provini coinvolti nell'analisi statistica

Tabella 3.22: r, r² e p-value ottenuti dall'analisi di Pearson tra la BV/TV e i parametri meccanici

BV/TV – PARAMETRI MECCANICI						
	Log(E _x /E _s)	Log(E _y /E _s)	Log(E _z /E _s)	Log(G _{xy} /E _s)	Log(G _{yz} /E _s)	Log(G _{xz} /E _s)
r	0.97	0.96	0.95	0.97	0.97	0.97
r ²	0.94	0.93	0.91	0.94	0.94	0.94
p-value	2.23 * 10 ⁻²⁴	1.01 * 10 ⁻²²	5.61 * 10 ⁻²¹	2.57 * 10 ⁻²⁴	4.24 * 10 ⁻²⁴	2.35 * 10 ⁻²³

Tutti i risultati relativi all'analisi meccanica in relazione alla BV/TV sono rappresentati nell'istogramma in Figura 3.6.

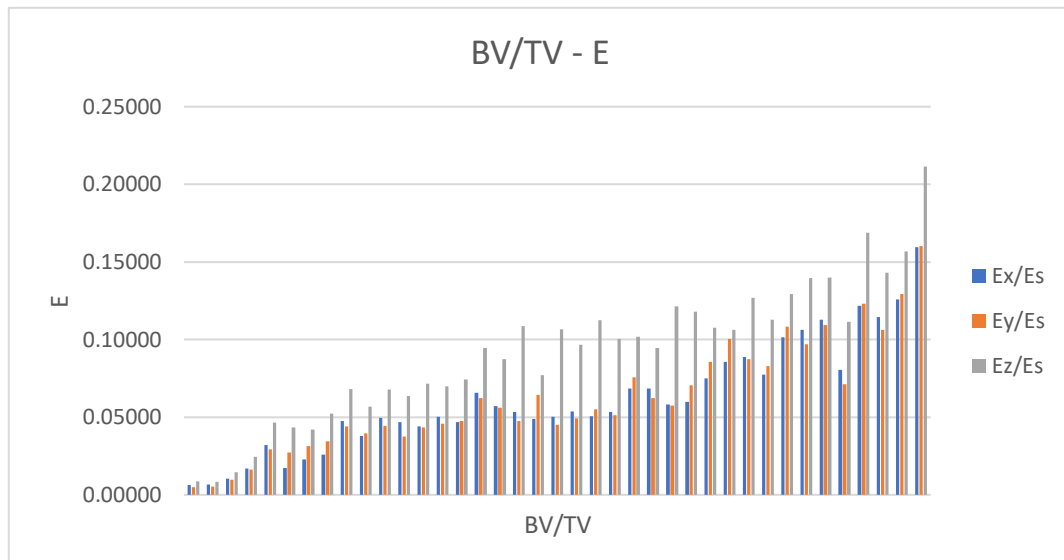


Figura 3.6: Moduli elastici nelle tre direzioni normalizzati al variare della BV/TV ottenuta per i 39 provini coinvolti nell'analisi statistica

4 Discussione

4.1. Discussione modello digitale

In questo capitolo si andranno a discutere le variazioni morfometriche e meccaniche ottenute nei risultati al variare degli input utilizzati nel codice.

4.1.1 Analisi statistica

Osservando la Tabella 3.14 le correlazioni che otteniamo tra l'input "N° seed" e BV/TV, TbSp e *connectivity density* sono quelle attese. In particolare, per quanto riguarda la BV/TV, si è ottenuta una correlazione positiva prossima a 1. Un numero di seed elevato, infatti, porta alla costruzione di più poliedri durante la tassellatura di Voronoi. Come spiegato nel Capitolo 2.2, le facce e gli spigoli dei poliedri saranno poi rispettivamente trabecole plate-like e rod-like. Per questo motivo all'aumentare del numero di seed si avrà una maggiore densità ossea e, di conseguenza, una diminuzione della porosità. Per quanto riguarda, invece, la correlazione ottenuta tra numero di seed e il TbSp si può notare che questa, infatti, è prossima a -1. La correlazione tra "N° seed" e *connectivity density* è prossima alla massima correlazione (1). Questo parametro morfometrico, come spiegato nel Capitolo 2.3, indica il numero di trabecole che si hanno sul volume considerato. Ovviamente, aumentando il numero di seed, si andrà ad aumentare il numero di trabecole che si ottengono nella struttura per cui, anche questo risultato, è in linea con i valori attesi. La correlazione ottenuta tra "N° seed" e TbTh non rispecchia, invece, i risultati attesi. Infatti, ci si aspettava una correlazione vicino allo 0 fra i due parametri dato che il numero di seed non dovrebbe influenzare lo spessore delle trabecole, ma solamente il loro numero. Andando a osservare le immagini ottenute dall'analisi eseguita su BoneJ (Figura 4.1) si è notato che provini con un alto numero di seed presentavano anche più interconnessioni.

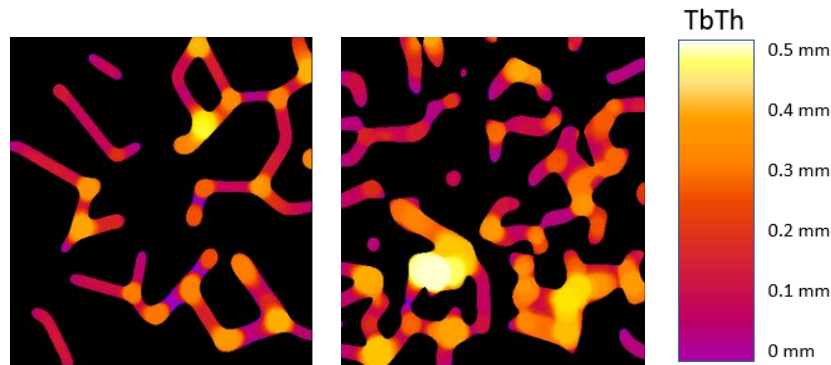


Figura 4.1: TbTh ottenuto dal plug-in BoneJ per due provini con N° seed = 200 (a sinistra) e N° seed = 650 (a destra)

Come spiegato nel Capitolo 2.3 il software calcola il TbTh medio andando a calcolare, per diverse zone della parte solida, il raggio della sfera che meglio si adatta alla porzione di struttura. Nei provini con numero di seed elevato, le zone di interconnessione sono più spesse, quindi il raggio della sfera risulterà più grande in tutti quei punti. Questo potrebbe essere il motivo dell'aumento del TbTh all'aumentare del numero di seed. Osservando la correlazione tra "N° seed" e DA si nota, anche in questo caso, una correlazione inattesa. Sicuramente la correlazione è più debole rispetto al parametro precedente, ma ci si aspettava un r prossimo a zero. Questo risultato potrebbe essere dovuto al fatto che, per numero di seed elevato, si ha anche una maggiore densità di materiale (Figura 4.2).



Figura 4.2: Immagini simil micro-CT ottenute per due provini con N° seed = 200 (a sinistra) e N° seed = 650 (a destra)

Il software BoneJ, come spiegato nel Capitolo 2.3, va a calcolare la MIL in tutte le direzioni nello spazio. Se una struttura è molto densa sarà più difficile individuare la

direzione di anisotropia perché anche nelle altre direzioni c'è una grande quantità di materiale.

Se si va a osservare l'r tra "N° seed" e EF si nota una correlazione positiva molto forte fra i due parametri. Anche in questo caso il risultato non rispecchia quello atteso dato che l'input "N° rod-like/N° plate-like", strettamente legato all' EF, è rimasto invariato per tutti i 10 provini. Per poter comprendere questo risultato si è indagato su tutto il processo di creazione del modello. Osservando la tassellatura di Voronoi ci si è accorti che, per un basso numero di seed, i poliedri ottenuti presentavano spigoli molto lunghi e facce con ampie aree, mentre per un elevato numero di seed spigoli molto corti e facce con piccole aree (Figura 4.3)

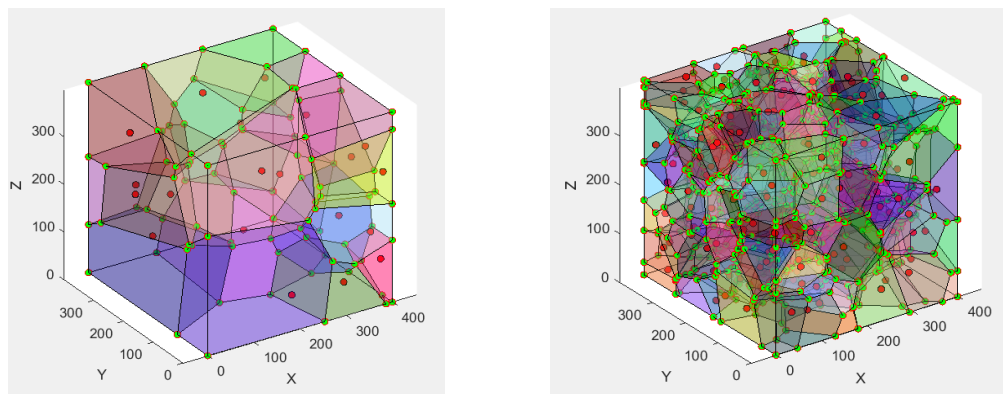


Figura 4.3: Tassellatura di Voronoi eseguita con 20 seed (a sinistra) e con 200 seed (a destra)

Questo significa che, nel caso di basso numero di seed, si otterranno trabecole rod-like molto lunghe con una dimensione molto più grande rispetto alle altre due e trabecole plate-like con una dimensione molto più piccola rispetto alle altre due. Come spiegato nel Capitolo 2.3, l'EF viene calcolato considerando l'ellissoide che meglio si adatta alla struttura in una determinata porzione. A ellissoidi con una dimensione molto maggiore rispetto alle altre due (prolati) verrà assegnato un valore vicino a 1, mentre a ellissoidi con una dimensione molto più piccola rispetto alle altre due (oblati) verrà assegnato un valore vicino a -1. Quando, invece, il numero di seed è elevato le trabecole rod-like non presenteranno più una dimensione molto maggiore rispetto alle altre due e il valore di EF che riceveranno sarà più basso. Allo stesso modo, trabecole plate-like non risulteranno più avere una dimensione molto più piccola rispetto alle altre due e, per questo motivo, il valore di EF assegnato sarà aumentato (Figura 4.4).

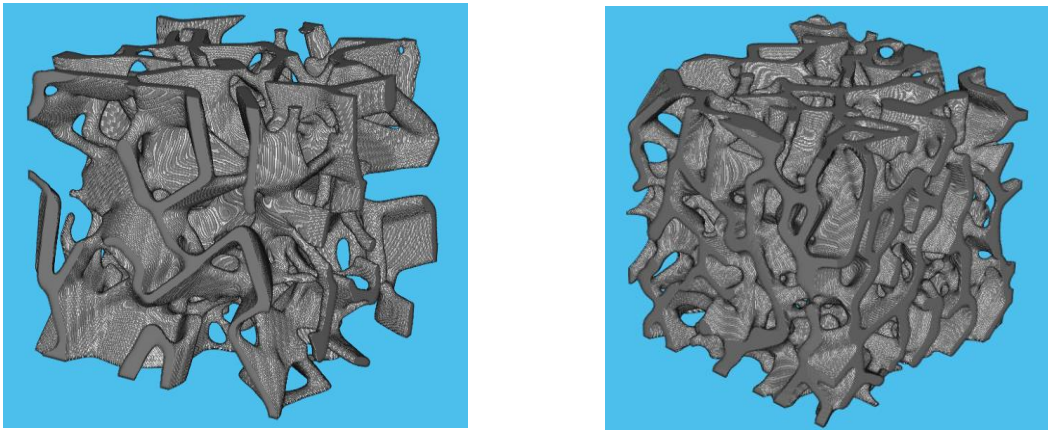


Figura 4.4: Modello digitale ottenuto con N° seed = 200 (a sinistra) e N° seed = 650 (a destra)

Ora si andranno a discutere i risultati dell'analisi di correlazione fra l'input "N° rod-like/N° plate-like" e i parametri morfometrici (Tabella 3.15). Osservando l' r ottenuto tra "N° rod-like/N° plate-like" e BV/TV si può notare una moderata correlazione negativa tra i due parametri. Questo può essere dovuto al fatto che le trabecole rod-like occupano un volume minore rispetto alle trabecole plate-like, quindi, nel momento in cui il numero di trabecole rod-like aumenta, andrà a diminuire la densità ossea e di conseguenza la BV/TV . Si può osservare, invece, che la correlazione tra "N° rod-like/N° plate-like" e $TbTh$ è quasi nulla. Questo valore è in linea con i risultati attesi poiché questo parametro non ha lo scopo di influenzare lo spessore delle trabecole. Si può notare anche una moderata correlazione tra "N° rod-like/N° plate-like" e $TbSp$. Anche in questo caso il risultato potrebbe essere dovuto al fatto che le trabecole rod-like, occupando meno spazio, creano maggiori porosità e di conseguenza la distanza tra le trabecole risulterà maggiore. Per quanto riguarda il DA , si nota un valore di r molto basso tra quest'ultimo e "N° rod-like/N° plate-like". Il risultato ottenuto è probabilmente dettato dalla casualità e, infatti, il p -value ottenuto non risulta significativo (> 0.05). Per il parametro EF otteniamo una forte correlazione positiva, in linea con i risultati attesi. Osservando i risultati ottenuti per la $ConnD$ possiamo notare una moderata correlazione positiva probabilmente dettata dalla casualità. Potrebbe anche essere data dal fatto che, dopo la dilatazione del modello, le trabecole plate-like tendono a fondersi tra loro più facilmente rispetto a quelle rod-like, portando il software a individuare un minor numero totale di trabecole all'interno del volume.

In Tabella 3.16 possiamo osservare i risultati di correlazione ottenuti per il parametro in input "Raggio". Per quanto riguarda la BV/TV e il TbTh, l'r ottenuto è assolutamente in linea con i valori attesi. Infatti, dilatando la struttura, aumenta il volume della fase solida e lo spessore delle trabecole. Il risultato ottenuto per il TbSp, invece, non rispecchia totalmente il risultato atteso. Infatti, ci si aspettava anche qui un valore prossimo a 1. Anche in questo caso per comprendere il risultato anomalo, si sono osservate le mappe del TbSp restituite dal software Fiji (Figura 4.5).

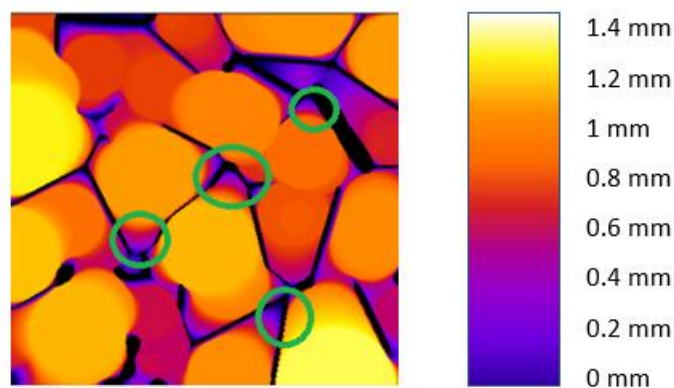


Figura 4.5: TbSp ottenuto su plug-in BoneJ dal provino con Raggio = 1

Come spiegato nel Capitolo 2.3, il TbSp viene calcolato andando a prendere, nelle zone dove non è presente la fase solida, il raggio della sfera che meglio si adatta a quella porzione. Nei provini 38 e 39 la dilatazione effettuata sul provino è stata ottenuta utilizzando rispettivamente raggio = 1 e raggio = 2 come riportato in Tabella 2.3. In questi casi, non è stato possibile utilizzare il filtro di Gauss con una deviazione standard abbastanza grande da smussare la struttura nel modo corretto. In questo modo, come si può notare in Figura 4.4, la struttura finale risulta molto squadrata e le sfere che vanno ad adattarsi alla struttura non riescono a raggiungere la prossimità degli spigoli (zone cerchiata in verde in Figura 4.5). In questo modo, lo spazio trabecolare calcolato risulta minore per questi due provini, come si può notare anche nel grafico in Figura 4.6.

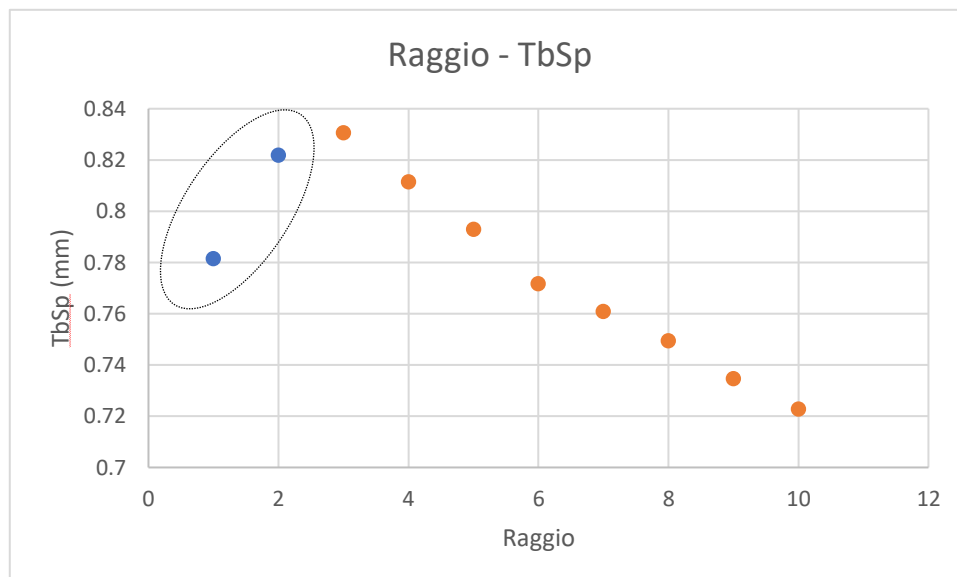


Figura 4.6: TbSp ottenuto per i 10 provini con Raggio variabile. In blu sono evidenziati i due provini rispettivamente con Raggio = 1 e Raggio = 2

Per questo motivo si è deciso di ricalcolare la correlazione tra il parametro raggio e il TbSp andando a escludere questi due provini che, per altro, presentano una morfologia molto distante da quella di un osso reale. In Tabella 4.1 si può osservare il risultato ottenuto.

Tabella 4.1: r , r^2 e p-value ottenuti dall'analisi di Pearson dopo aver escluso i provini 38 e 39

	r	r^2	p-value
Raggio - TbSp	- 0.995	0.987	$6.42 * 10^{-7}$

Questo valore di correlazione è, invece, in linea con quello atteso. Osservando l' r tra "Raggio" e DA si nota una correlazione negativa molto forte. Anche in questo caso si potrebbe pensare che, per dilatazioni molto grandi come nel caso del provino 28 (raggio = 10), la fase solida sia presente in modo più uniforme in tutte le direzioni e che, quindi, il modello risulterà maggiormente isotropo. Invece, per modelli con bassa dilatazione si otterranno strutture che mantengono più fedelmente l'anisotropia data dalla geometria iniziale prima dell'attribuzione dei pixel (Figura 4.7).

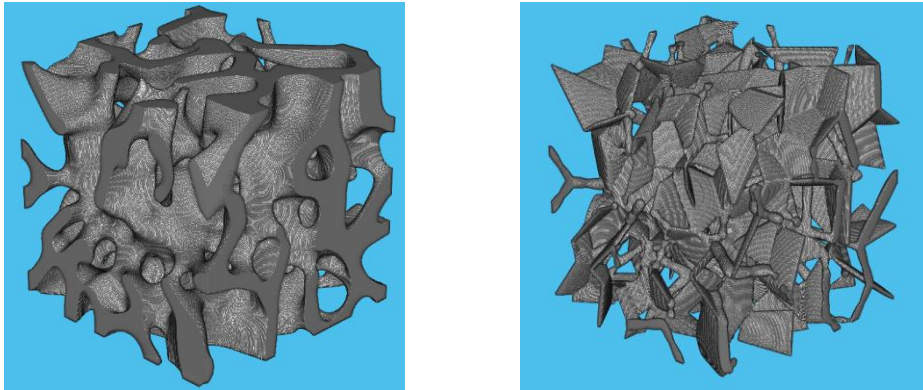


Figura 4.7: Modelli digitali ottenuti imponendo Raggio = 10 (a sinistra) e Raggio = 1 (a destra)

Anche per il parametro EF si nota una forte correlazione positiva con l'input raggio. Il motivo potrebbe essere dato dal fatto che, con grandi dilatazioni, le trabecole *plate-like* avranno la dimensione minima non più così distante dalle altre due e per questo motivo riceveranno un valore di EF maggiore. Inoltre, per questi provini è stato scelto un rapporto di 0.5 tra trabecole *rod-like* e *plate-like*, quindi la preponderanza di quest'ultime è evidente. In Figura 4.8 si può osservare il risultato di EF ottenuto con BoneJ.

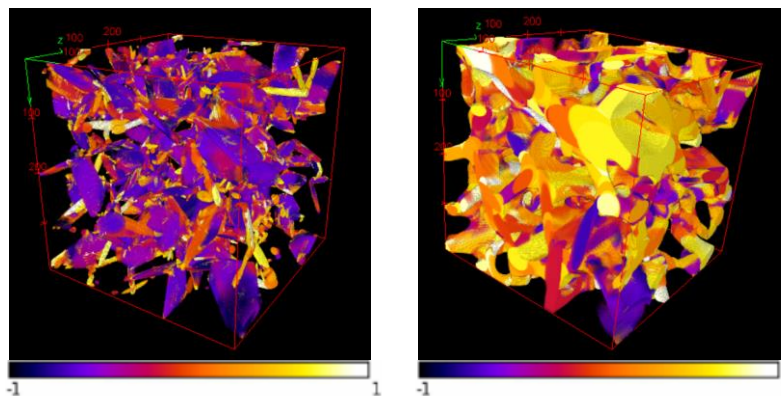


Figura 4.8: EF ottenuto dal plug-in BoneJ per provino con Raggio = 1 (a sinistra) e Raggio = 10 (a destra)

Le zone con colori tendenti al violaceo indicano porzioni di struttura di tipo *plate-like*, mentre quelle di colore tendente al giallo trabecole *rod-like*. Se si osservano i risultati ottenuti per la ConnD, si può notare, anche in questo caso, una forte correlazione negativa con l'input raggio. Il motivo di questo risultato potrebbe essere lo stesso presentato precedentemente nell'analisi dei risultati relativi alla correlazione tra N° seed e ConnD. Anche in questo caso una dilatazione porta sicuramente alla fusione di

diverse trabecole e, per questo motivo, il software andrà a calcolarne meno rispetto a un modello in cui la dilatazione apportata risulta bassa.

Ora si andranno ad analizzare i risultati dell'analisi di correlazione ottenuti per l'input " δ anisotropia" (Tabella 3.17). Per quanto riguarda la BV/TV, si nota che esiste una piccola correlazione negativa. Questo è probabilmente dovuto al fatto che, con l'input δ anisotropia, si dà una possibilità maggiore agli spigoli e alle facce dei poliedri generati dalla tassellatura di Voronoi con un orientamento vicino all'asse z di essere salvati, ma una minor possibilità a tutti gli altri elementi orientati diversamente. In questo modo, la struttura presenterà meno trabecole e, di conseguenza, una maggiore porosità. Osservando, invece, il parametro TbTh si nota una correlazione negativa. Questo potrebbe essere sempre dovuto al fatto che, avendo meno trabecole all'interno della struttura, le interconnessioni sono minori e, come visto prima, maggiori sono le interconnessioni e maggiore è il raggio della sfera che si adatta a quella porzione di provino per il calcolo della TbTh (Figura 4.9).

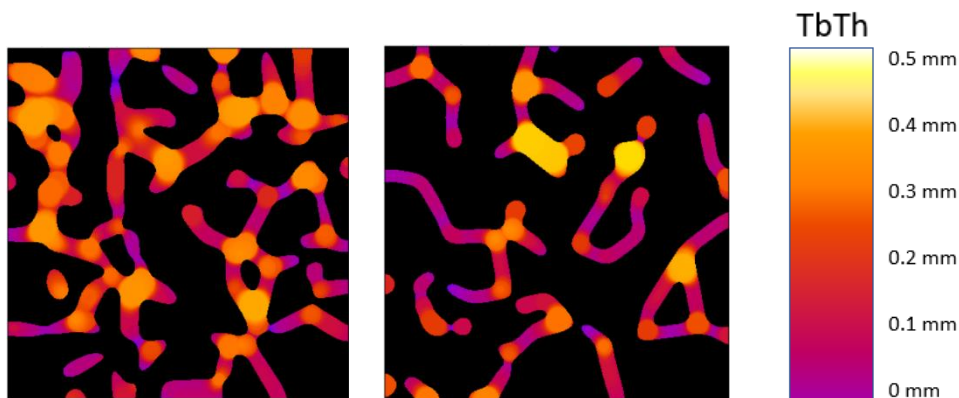


Figura 4.9: TbTh ottenuti dal plug-in Bonej per i due provini con δ anisotropia = 0 (a sinistra) e con δ anisotropia = 0.45 (a destra)

Per quanto riguarda il TbSp la correlazione è quasi nulla. Questo risultato è in linea con il valore atteso poiché l'input non è stato pensato con l'intento di andare a influenzare questo parametro morfometrico. La correlazione tra " δ anisotropia" e DA risulta in linea con il valore atteso. Infatti, osserviamo un r vicino a 1 e positivo. Per quanto riguarda l'EF e la ConnD si ottengono dei p-value non significativi (> 0.05) per cui i risultati di correlazione ottenuti non sono frutto di una reale influenza dell'input sui parametri.

Ora si andranno ad analizzare i risultati di correlazione tra i parametri in input e i parametri meccanici ottenuti sui 39 provini. La Tabella 3.18 mostra i risultati ottenuti per l'input N° seed. Osservando gli r ottenuti si nota una forte correlazione positiva

tra questo parametro e i moduli elastici assiali e tangenziali. Aumentando il numero di punti per la tassellatura di Voronoi si va ad aumentare la densità di materiale e, per questo motivo, anche la rigidità andrà ad aumentare in tutte le direzioni. Per quanto riguarda il parametro in input N° rod-like/N° plate-like (Tabella 3.19) si può notare una moderata correlazione negativa con i parametri meccanici. Se si va, però, ad osservare il grafico relativo al modulo normalizzato in direzione x si può notare la presenza di un *outlier* che va a peggiorare la correlazione.

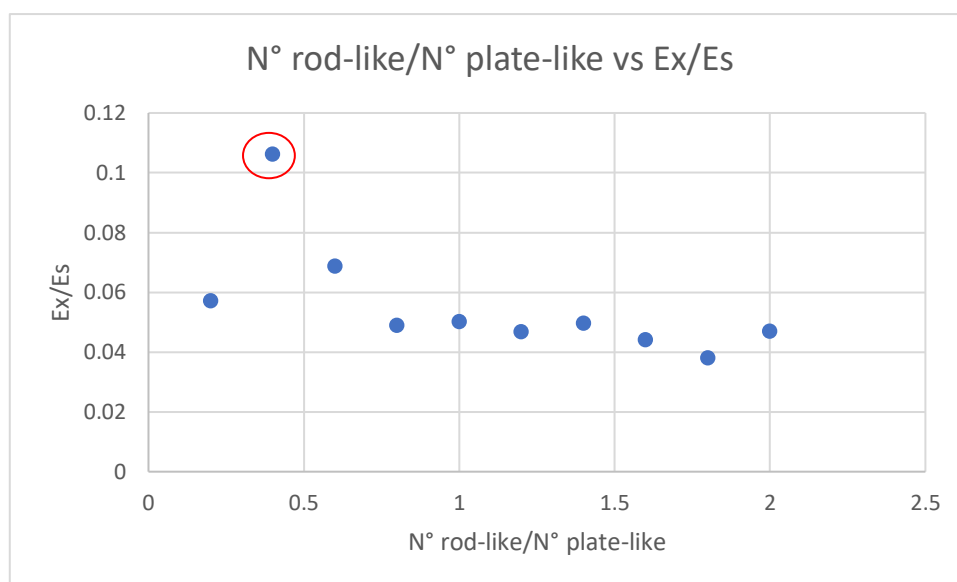


Figura 4.10: Moduli elastici normalizzati in direzione x ottenuti per i dieci provini con N° rod-like/N° plate-like variabile. In rosso è evidenziato il provino 12

Per questo motivo è stato deciso di ripetere l'analisi statistica escludendo questo provino. I risultati ottenuti sono mostrati in Tabella 4.2.

Tabella 4.2: r, r² e p-value ottenuti dall'analisi di Pearson dopo aver escluso il provino 12

N° ROD-LIKE/N° PLATE-LIKE – PARAMETRI MECCANICI						
	E_x/E_s	E_y/E_s	E_z/E_s	G_{xy}/E_s	G_{yz}/E_s	G_{xz}/E_s
r	-0.74	-0.85	-0.86	-0.86	-0.84	-0.85
r ²	0.55	0.72	0.75	0.75	0.70	0.71

p-value	$2.23 * 10^{-2}$	$3.80 * 10^{-3}$	$2.68 * 10^{-3}$	$2.62 * 10^{-3}$	$4.65 * 10^{-3}$	$4.10 * 10^{-3}$
---------	------------------	------------------	------------------	------------------	------------------	------------------

Ora si ottengono delle forti correlazioni negative, tranne che per il modulo normalizzato in direzione x dove si osserva ancora una moderata correlazione. Il risultato di questa analisi di correlazione rispecchia quello atteso poiché nelle malattie degenerative dell'osso trabecolare è presente un progressivo passaggio da trabecole plate-like a rod-like che porta a una minor rigidità del componente biologico [15][5]. Per quanto riguarda l'input "raggio", si ottengono valori di correlazione positiva quasi pari a 1 per tutti i moduli elastici e tangenziali. Questo risultato è sicuramente in linea con valori attesi poiché, aumentando la dilatazione la fase solida sarà sempre più preponderante e porterà a una maggiore rigidità della struttura.

Osservando l'input " δ anisotropia" (Tabella 3.21) si può notare che ci sono delle correlazioni negative significative solo per il modulo normalizzato in direzione x e per il modulo tangenziale normalizzato in direzione xy. Per gli altri parametri meccanici si ottengono correlazioni che non hanno significatività statistica ($p\text{-value} > 0.05$). Osserviamo in generale che l'andamento è quello previsto. È presente una diminuzione di ogni parametro meccanico all'aumentare dell'input, tranne che per il modulo elastico in direzione z. Infatti, nell'elaborazione della geometria della struttura, gli spigoli e le facce dei poliedri con orientamento non parallele all'asse z sono stati rimossi con una probabilità maggiore. Per questo motivo la diminuzione dei diversi parametri meccanici è in linea con questa azione. Per quanto riguarda il modulo elastico normalizzato in direzione z, ci si aspettava una correlazione positiva maggiore di quella ottenuta. Probabilmente questo è dovuto al fatto che, nonostante le trabecole in direzione z siano state salvate con maggiore probabilità, una perdita di quelle nelle altre direzioni ha portato, in ogni caso, a una diminuzione della rigidità anche per l'asse verticale. In conclusione, il modulo lungo z rimane pressoché invariato.

Dopo aver indagato la correlazione tra gli input utilizzati nel codice e i parametri morfometrici e meccanici ottenuti, si andranno ad osservare le correlazioni ottenute tra BV/TV e moduli elastici e tangenziali (Tabella 3.22). Si può notare una forte correlazione positiva tra la frazione volumetrica e i parametri meccanici. Questo risultato è coerente con quello che è stato osservato in letteratura. Infatti, è stato dimostrato che la BV/TV è il parametro che più influenza la rigidità dell'osso trabecolare [30].

Come anticipato nel Capitolo 2.5 è stata fatta un'analisi per verificare se ci fosse un modello in letteratura capace di predire i moduli elastici ottenuti dall'analisi FEM utilizzando la BV/TV. In Figura 4.11 sono riportati i risultati ottenuti. In particolare, sono rappresentati i moduli elastici normalizzati nelle tre direzioni cartesiane ottenuti per i 39 provini e i moduli elastici ottenuti dai diversi modelli.

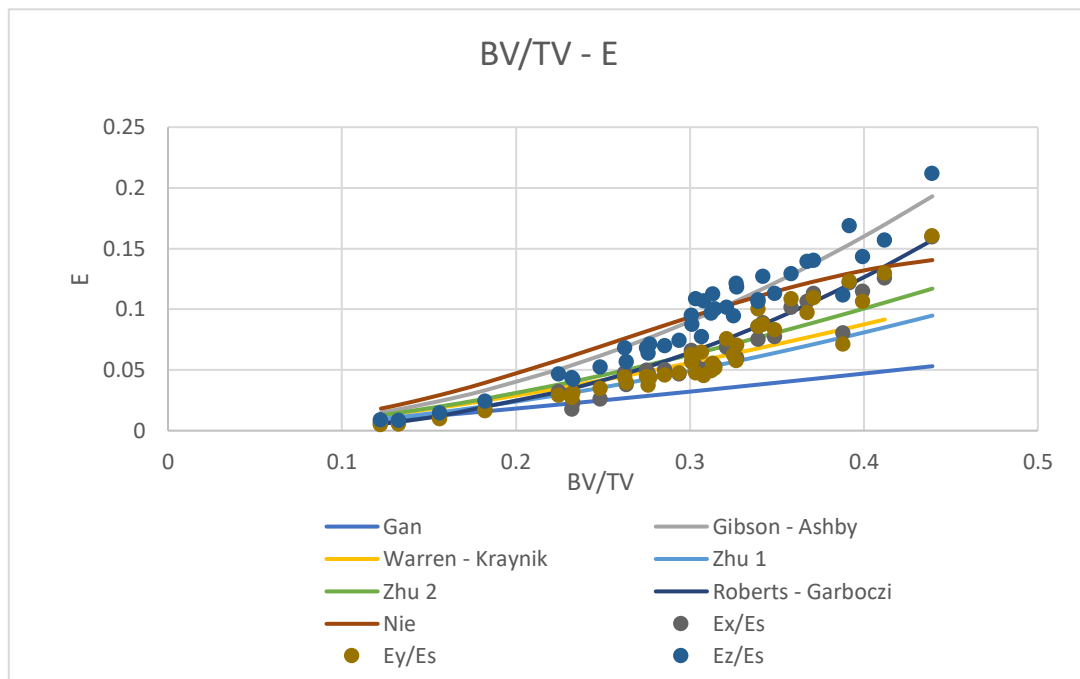


Figura 4.11: Confronto tra i moduli elastici nelle tre direzioni cartesiane stimati dai modelli e ottenuti dall'analisi FEM dai 39 provini

Osservando i risultati si è osservato che per i moduli normalizzati in direzione x e y il modello di Roberts – Garboczi è quello che interpola meglio i dati (Figura 4.12 e Figura 4.13), mentre per il modulo normalizzato in direzione z, il modello più accurato risulta quello di Gibson – Ashby (Figura 4.14).

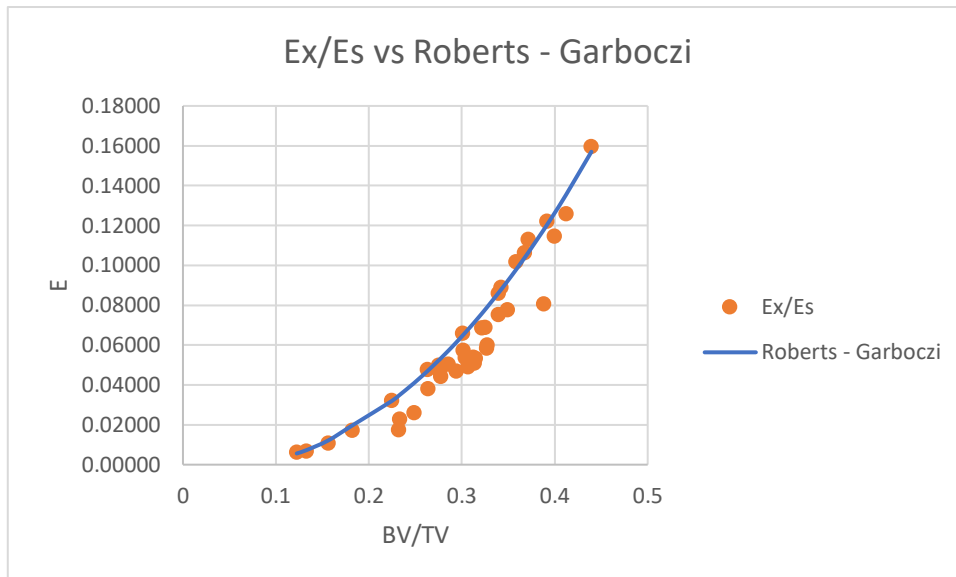


Figura 4.12: Moduli elastici in direzione x stimati dal modello di Roberts – Garboczi e calcolati nell’analisi FEM sui 39 provini

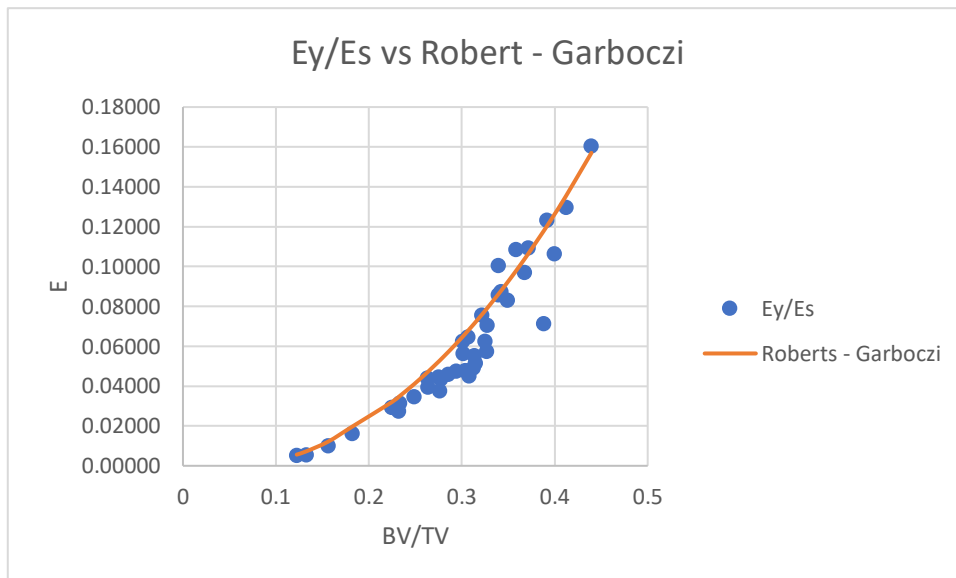


Figura 4.13: Moduli elastici in direzione y stimati dal modello di Roberts – Garboczi e calcolati nell’analisi FEM sui 39 provini

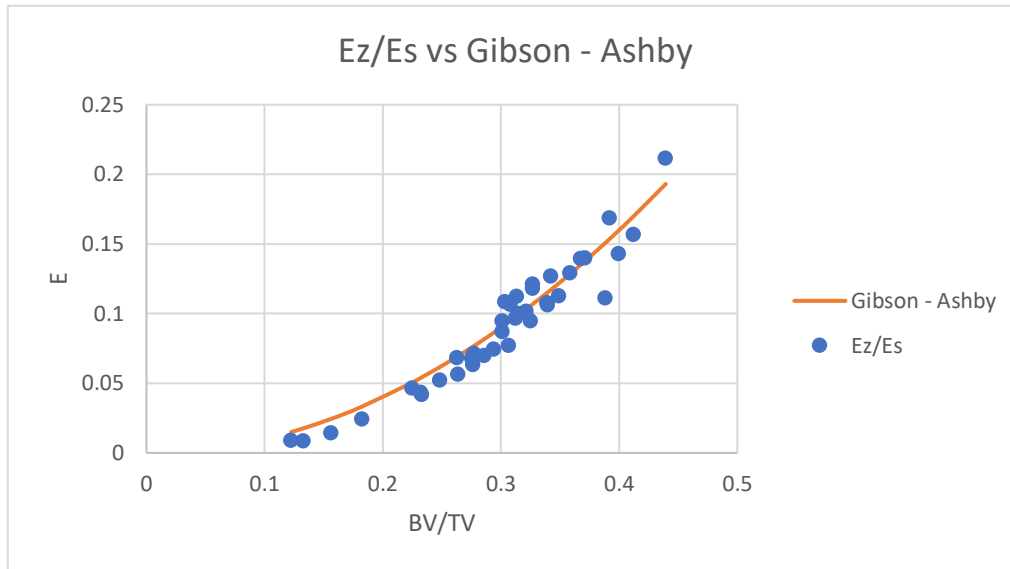


Figura 4.14: Moduli elastici in direzione z stimati dal modello di Gibson – Ashby e calcolati nell’analisi FEM sui 39 provini

Per valutare in modo quantitativo la bontà dei modelli, è stato calcolato l’errore relativo medio percentuale (ERMP). Tale valore è stato calcolato utilizzando i moduli elastici normalizzati, a loro volta ottenuti grazie ai modelli dall’analisi FEM, e calcolato come media degli errori relativi percentuali (ERP) di ogni singolo provino (Tabella 4.3)

$$ERP = \frac{|E_{FEM} - E_{modello}|}{E_{modello}} * 100 \quad (4.1)$$

$$ERMP = \frac{\sum_i^n ERP_i}{n} \quad (4.2)$$

$i = i - \text{esimo provino}$

Tabella 4.3: ERMP ottenuti per i moduli elastici nelle tre direzioni cartesiane. G = Gan, WK = Warren – Kraynik, Z2 = Zhu 2, N = Nie, GA = Gibson – Ashby, Z1 = Zhu 1, RG = Roberts - Garboczi

E – MODELLI			
	E_x/E_s	E_y/E_s	E_z/E_s
ERMP – G (%)	78.5	80.4	164.0
ERMP – WK (%)	22.2	23.6	55.28
ERMP – Z2 (%)	21.9	22.5	39.8
ERMP – N (%)	39.4	40.0	18.5
ERMP – GA (%)	39.6	39.2	13.3
ERMP – Z1 (%)	23.7	23.5	71.8
ERMP – RG (%)	15.1	15.2	32.3

Negli istogrammi in Figura 4.15, Figura 4.16 e Figura 4.17 sono rappresentati rispettivamente gli ERMP dei modelli per i moduli elastici nelle tre direzioni cartesiane.

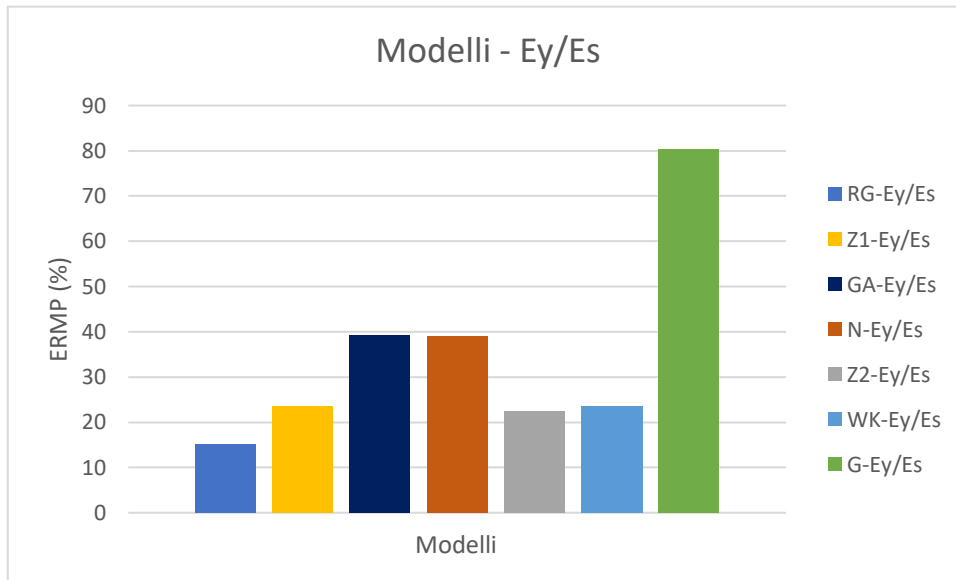


Figura 4.16: Istogramma degli ERMP ottenuti per il modulo normalizzato in direzione y

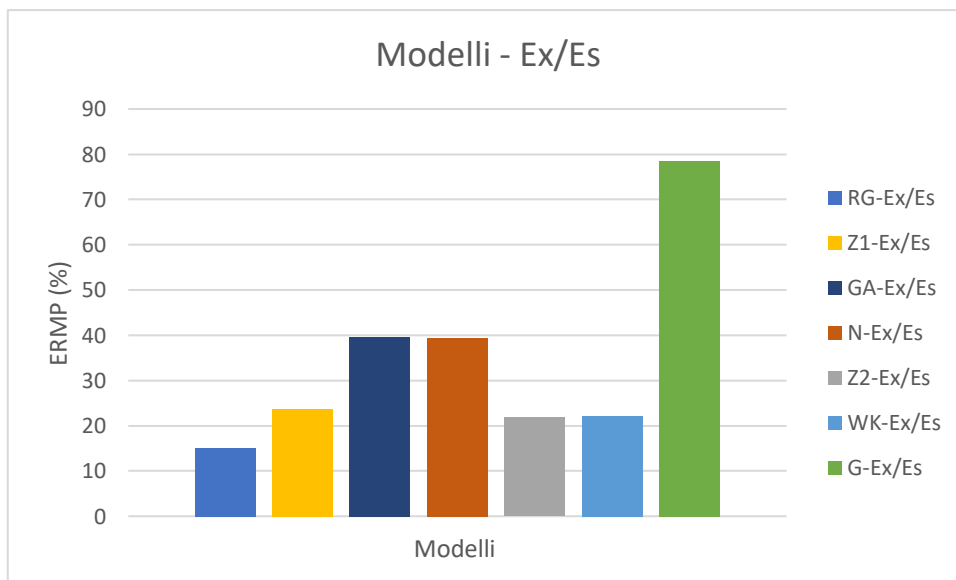


Figura 4.15: Istogramma degli ERMP ottenuti per il modulo normalizzato in direzione x

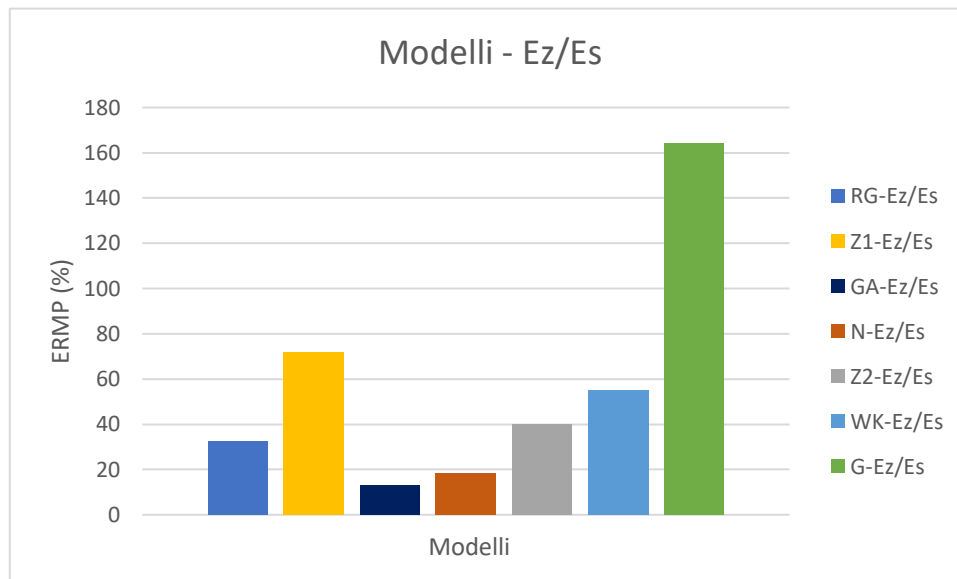


Figura 4.17: Istogramma degli ERMP ottenuti per il modulo normalizzato in direzione z

Nell'istogramma in Figura 4.11 si può notare che per tutti i provini coinvolti nell'analisi statistica il modulo in direzione z risulta il maggiore. Questo risultato è dovuto al fatto che come spiegato nel Capitolo 2.2 c'è stata l'intenzione di dare una direzione di anisotropia lungo l'asse z salvando con più probabilità le facce e gli spigoli dei poliedri di Voronoi che avessero un orientamento vicino all'asse verticale. I moduli elastici in direzione x e y, invece, risultano simili per tutti i provini. Osservando, invece, la Tabella 4.3 e gli istogrammi in Figura 4.15, Figura 4.16 e Figura 4.17 si può notare che per quanto riguarda il modulo elastico in direzione z, il modello che meglio si adatta ai dati è quello di Gibson – Ashby con un ERMP del 13.3%, mentre il peggiore risulta il modello di Gan con un errore del 164%. Per quanto riguarda, invece, i moduli elastici in direzione x e y, il modello di Roberts – Garboczi è quello che si adatta meglio ai risultati con un ERMP rispettivamente del 15.1% per il modulo in direzione x e del 15.2% per il modulo in direzione y. Osservando anche gli altri modelli, si può notare come gli ERMP per la direzione x e y risultino molto simili. Questo risultato dimostra nuovamente che i modelli ottenuti hanno un modulo elastico molto simile in direzione x e y. Il modello che si adatta peggio ai moduli elastici in direzione x e y è sempre il modello di Gan con un ERMP rispettivamente del 78.5% e dell'80.4%.

4.1.2 Provini con diversa anisotropia

Osservando la Tabella 3.8 si può notare come i risultati dell'analisi morfometrica per i provini 47 e 55 risultino molto simili. Questo è dovuto al fatto che, nonostante il cambiamento della direzione di anisotropia, gli input del codice sono stati posti uguali per entrambi i provini.

Andando invece a osservare i risultati dell'analisi meccanica condotti sul provino 55 (Tabella 3.11) si può notare come quest'ultimo effettivamente mostri una rigidità maggiore nella direzione y rispetto alle altre due direzioni cartesiane (Figura 3.1). Si può, quindi, affermare che la direzione di anisotropia strutturale coincide con quella meccanica. In particolare, si può notare come nelle altre due direzioni, x e z in questo caso, i moduli elastici si mantengono molto simili tra loro (Tabella 3.11). Per quanto riguarda i moduli elastici tangenziali, quello in direzione xz risulta il minore; ciò è probabilmente dovuto al fatto che la sollecitazione non è lungo l'asse y e non è applicata a una faccia del provino (y^+ o y^-).

4.1.3 Distribuzione casuale e ordinata dei seed

Osservando la Tabella 3.9 si può notare qualche differenza tra i due provini, nonostante gli input in ingresso siano stati posti uguali per entrambi. In particolare, si può osservare come, per il provino con seed disposti in modo ordinato, la BV/TV sia di poco maggiore. Questo potrebbe essere dovuto al fatto che, ponendo i seed in modo ordinato, i pixel vanno ad occupare in maniera più uniforme il volume cubico avendo una distanza costante tra i seed posti (Figura 2.9). Il $TbTh$ risulta, invece, superiore per il provino 83 poiché probabilmente nella disposizione casuale di seed si creano delle zone con una densità elevata di punti che porta ad avere fusioni tra trabecole dopo la dilatazione. Come visto nel capitolo 4.1.1, il $TbTh$ viene calcolato prendendo il raggio della sfera che si adatta meglio alla struttura per cui è probabile che, nelle zone ad alta densità di punti, si siano raggiunti valori molto alti che hanno portato a un valore medio maggiore per il provino 83. Per quanto riguarda invece il $TbSp$ troviamo un valore minore per il provino 82. Questo risultato potrebbe sempre essere dato per i motivi citati per la frazione volumetrica. Osservando il DA si può notare che, nel provino con seed disposti in modo ordinato, esso risulta inferiore. Questo potrebbe essere dato dal fatto che i seed essendo disposti in modo ordinato, portino ad avere un modello finale con trabecole allineate lungo i tre assi diminuendo il grado di anisotropia lungo l'asse z (Figura 4.18).

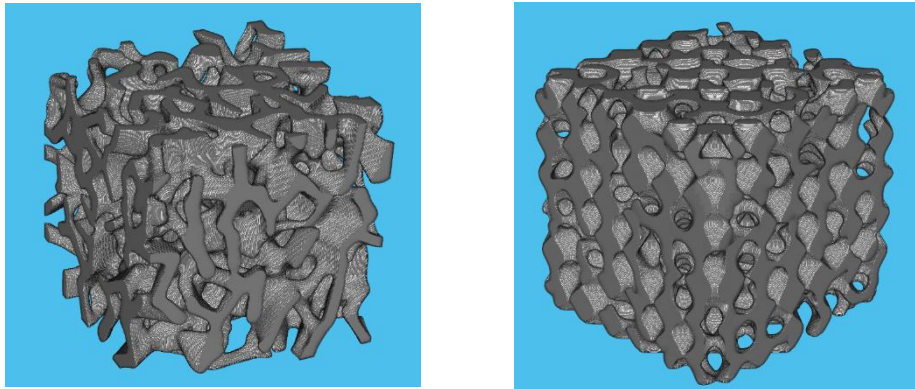


Figura 4.18: Provino 82 (a destra) e 83 (a sinistra)

Per quanto riguarda l'EF notiamo un valore identico per entrambi i provini. La ConnD del provino 82 risulta maggiore. Questo fenomeno può essere dato dal fatto che, avendo appunto seed disposti in modo ordinato, la struttura finale ha presentato meno parti non connesse, come per la maggior parte dei provini generati in modo casuale. Si ricorda che queste porzioni di struttura sono state eliminate in modo da non avere delle parti "volanti" nel modello. Nella Tabella 3.12 si possono osservare i risultati dell'analisi meccanica elastica condotta sui due provini. Si può notare come sia i moduli elastici assiali che tangenziali risultano maggiori per il provino 82. Sicuramente la disposizione ordinata dei seed porta ad avere una struttura più compatta e uniforme che risulta essere più rigida. È interessante notare che, nonostante l'anisotropia strutturale risulti inferiore per il provino 82, l'anisotropia meccanica in direzione z si presenta ugualmente.

4.2. Confronto modello sano e osteoporotico

In questo Capitolo si andranno a confrontare i risultati delle analisi morfometriche e meccaniche dei 4 provini sani e osteoporotici selezionati. Inoltre, questi provini saranno poi confrontati con i parametri morfometrici e meccanici dell'osso trabecolare rinvenuti in letteratura.

4.2.1 Parametri morfometrici

Osservando i parametri morfometrici ottenuti (Tabella 3.4 e Tabella 3.6) si può notare che i provini sani presentano una BV/TV superiore ai provini osteoporotici. Questo risultato è coerente con studi in letteratura che affermano che la frazione volumetrica è un marker molto importante della presenza di osteoporosi [31][30][32]. Per quanto riguarda il TbTh, si osserva, anche in questo caso, un valore maggiore per i provini sani, sebbene questa differenza non sia così marcata come per la frazione volumetrica. Dalla letteratura si è notato che nei soggetti osteoporotici, soprattutto in stato avanzato, c'è un leggero assottigliamento delle trabecole [33][34][35]. Si nota che per i provini osteoporotici il TbSp risulta maggiore. Anche in questo caso, il risultato è in linea con le osservazioni presenti in letteratura. Infatti, l'osteoporosi è una malattia che porta a una graduale perdita di massa ossea con un conseguente aumento della porosità e quindi dello spazio tra le trabecole [35][32]. Per quanto riguarda il DA, non si notano differenze fra i modelli sani e quelli osteoporotici. Infatti, per entrambe le patologie di modello l'input "δ anisotropia" è stato posto uguale a zero per il fatto che non è stata riscontrata una correlazione tra DA e osteoporosi [36]. Andando a confrontare i valori di EF ottenuti per i due gruppi, si nota una differenza tra i due tipi di modello. In particolare, i provini osteoporotici risultano avere un EF maggiore. Infatti, in input il rapporto tra le trabecole rod-like e plate-like risulta essere molto maggiore per questo tipo di provini. Questa scelta è stata dettata dal fatto che in letteratura si è osservato una diminuzione del numero di trabecole plate-like nei pazienti osteoporotici [15][4][5]. Infine, per quanto riguarda la ConnD si notano valori maggiori per i provini sani. Questo risultato è coerente con i precedenti e in linea con gli studi trovati in letteratura che mostrano una diminuzione importante del numero delle trabecole nei pazienti osteoporotici [37][32]. Ancora, si può notare che per i provini 40 e 50, che presentano gli stessi input, si ottengono dei parametri morfometrici molto simili. Osservando, invece, i risultati del provino 57 si può notare che, nonostante abbia in input un rapporto doppio tra trabecole rod-like e plate-like rispetto agli altri provini, presenta un valore simile agli altri provini. Questo risultato potrebbe essere sempre determinato dall'influenza che "Raggio" e "N° seed" hanno su questo parametro morfometrico. Per rapporti, invece, molto elevati, come per i provini osteoporotici, si può notare che i valori di EF seguono in maniera più veritiera l'aumento o la diminuzione del rapporto impostato in input. In Figura 4.19 è possibile apprezzare anche qualitativamente le differenze strutturali appena analizzate tra un provino sano e un osteoporotico.

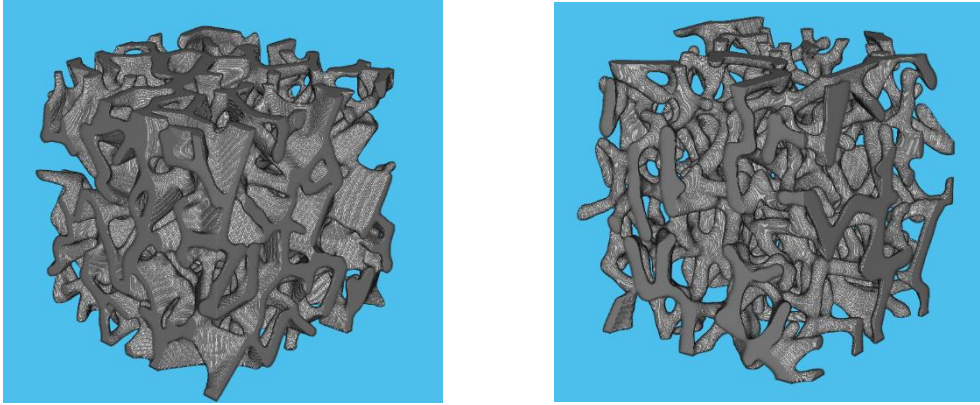


Figura 4.19: Provino 40 (a sinistra) e provino 108 (a destra)

4.2.2 Parametri meccanici

Osservando, invece, i risultati dall'analisi meccanica elastica (Tabella 3.10) i modelli sani mostrano rigidzze superiori a quelle dei provini osteoporotici. Anche in questo caso, i risultati sono coerenti con quanto dimostrato in letteratura. Infatti, il passaggio da trabecole plate-like a rod-like e una forte diminuzione della BV/TV , portano a una fragilit  superiore dell'osso [38]. Si pu  notare come l'anisotropia meccanica sia sempre presente nella direzione z e in egual misura tra i due gruppi di provini. Come gi  sottolineato nella discussione dell'analisi statistica, la dilatazione apportata alla struttura va influenzare molto le propriet  meccaniche elastiche dei modelli. Infatti, se si osserva il provino 72 si ottengono delle propriet  molto elevate anche rispetto agli altri provini sani. Inoltre, si notano sempre dei valori di modulo elastico simili lungo l'asse x e l'asse y . Dai risultati di questi provini si osserva anche come l'input N° rod-like/ N° plate-like vada ad influenzare la rigidzza dei provini. Infatti, se si osservano i provini 110 e 111, si nota una rigidzza maggiore nel secondo, nonostante quest'ultimo abbia meno seed del primo. Osservando, invece, il provino 108 si pu  notare come l'input raggio sia correlato alla rigidzza del provino, come gi  dimostrato dall'analisi statistica. Infatti, per questo provino si ottengono i valori massimi di rigidzza tra i provini osteoporotici. Un altro aspetto interessante   che, anche da un punto di vista meccanico, i provini 40 e 50 che presentano gli stessi input hanno dei moduli elastici e di taglio molto simili tra loro. Questo sottolinea che, a parit  di input,   possibile avere una ripetibilit  dei modelli.

4.2.3 Modelli vs osso trabecolare umano

La Tabella 4.4 riporta i parametri morfometrici trovati in letteratura provenienti da diversi distretti corporei ottenuti da soggetti sani e osteoporotici, con sesso ed età variabili, calcolati principalmente con scanner micro-CT. Si può notare come l'osso trabecolare presenti una grandissima variabilità nelle proprietà strutturali anche all'interno di uno stesso distretto corporeo. Ovviamente i dati presentati per uno stesso tipo di osso trabecolare arrivano da provini prelevati in punti anatomici differenti. Infatti, si può notare come, per esempio, la BV/TV trovata nell'osso trabecolare vertebrale presenti una grandissima variabilità.

Tabella 4.4: Parametri morfometrici trovati in letteratura per diversi distretti corporei

PARAMETRI MORFOMETRICI						
OSSO TRABECOLARE SANO						
Distretto	BV/TV	TbTh (mm)	TbSp (mm)	DA	EF	ConnD (mm ⁻³)
Testa femorale	0.26 – 0.35 [39][40][41][42][43]	0.13 – 0.2 [39] [40] [41]	0.4 – 0.6 [39] [40] [41]	1.5 – 1.86 [39] [40]	–	–
Vertebre (da T9 a L5)	0.083 – 0.43 [40][39][44][45][46]	0.13 – 0.22 [40] [39] [44] [45] [46]	0.17 – 1.1 [40] [39] [44] [45] [46]	1.36 – 1.51 [40] [39]	–	–
Calcagno	0.07 – 0.16 [40] [39][47]	0.1 – 0.15 [40] [39] [47]	0.58 – 1.17 [40] [39] [47]	1.49 ± 0.18 [40]	–	3.74 ± 1.24 [47]
Cresta iliaca	0.10 – 0.26 [39][48]	0.12 – 0.32 [39] [48]	0.6 – 1 [39] [47]	1.24 – 1.97 [39]	–	3 – 6 [49]

Tibia prossimale	0.23 – 0.29 [50]	0.28 – 0.30 [50]	0.82 – 0.86 [50]	0.62 – 0.68 [50]	–	2.5 – 4.1 [50]
Tibia distale	0.12 ± 0.02 [40]	0.07 ± 0.01 [40]	0.57 ± 0.16 [40]	–	–	–
Omero prossimale	–	0.12 ± 0.02 [40]	0.75 ± 0.07 [40]	–	–	5.97 ± 2.45 [40]
Radio distale	0.11 ± 0.03 [40]	0.06 ± 0.011 [40]	0.55 ± 0.15 [40]	–	–	–
OSSO TRABECOLARE OSTEOPOROTICO						
Testa femorale	0.06 – 0.24 [32][37][51][52]	0.13 – 0.26 [32] [37] [51] [52]	0.23 – 0.77 [32] [37] [51] [52]	1.62 – 1.66 [37] [51]	- 0.07 – 0.01 [32]	0.43 – 5.79 [51] [52]
Vertebre (da L1 a L5)	0.13 ± 0.02 [53]	0.26 ± 0.03 [53]	0.98 ± 0.13 [53]	0.55 ± 0.07 [53]	0.06 ± 0.03 [53]	1.5 ± 0.5 [53]
Calcagno	0.092 ± 0.022 [54]	127 ± 16 [54]	1.01 ± 0.17 [54]	1.64 ± 0.11 [54]	–	3.74 ± 1.24 [54]
Cresta iliaca	16.1 ± 1.4 [55]	159 ± 11 [55]	771 ± 23 [55]	–	–	3.93 ± 0.52 [55]

Per quanto riguarda il grado di anisotropia, nella maggior parte degli studi, è stato calcolato come il rapporto tra il massimo e il minimo MIL calcolati. In questi casi, un rapporto uguale a 1 indica una totale isotropia, mentre per valori maggiori di 1 c'è la presenza di anisotropia [56]. Se si vanno a confrontare i range di parametri morfometrici ottenuti per i 111 provini analizzati (Tabella 3.2) con i dati ottenuti in letteratura, si può notare che i provini ottenuti presentano range che spaziano tutti i distretti corporei sia nella condizione sana che osteoporotica. Per quanto riguarda la

BV/TV, non si sono prodotti provini con una frazione volumetrica più bassa di 0.1. Questo potrebbe essere risolto utilizzando un numero minore di seed che si è visto essere correlato fortemente alla BV/TV. Un altro aspetto che si è notato è una difficoltà nell'ottenere un TbSp molto elevato nei provini digitali. Infatti, il valore massimo ottenuto è di 0.95 mm, ma si è visto che, nei diversi studi presentati in Tabella 4.4, per molti provini si superano valori di 1 mm anche in casi non patologici. Se si osservano i valori di TbSp ottenuti per vertebre sane, si può notare una grandissima variabilità. Anche in questo caso il modello sviluppato non permette di raggiungere valori così bassi di TbSp senza andare ad ottenere una BV/TV e una TbTh fuori dal range fisiologico. Purtroppo, non è stato possibile trovare valori di EF per soggetti sani. Questo probabilmente perché è un'analisi di maggior interesse in provini osteoporotici, dove si può valutare il progressivo passaggio da trabecole plate-like a rod-like. Osservando i valori di DA calcolati con il metodo utilizzato in questa tesi, si può osservare che, rispetto ai valori ottenuti dai 111 modelli digitali, si hanno valori più alti almeno per quanto riguarda la tibia prossimale. Andando a osservare la Tabella 3.4 e la Tabella 3.6 si può notare come questi presentano dei valori morfometrici per quanto riguarda BV/TV, TbTh e TbSp che rientrano nei range trovati per la testa femorale in letteratura. L'unica differenza risulta nel valore di EF trovato nei modelli osteoporotici che, però, potrebbe essere diminuito utilizzando in input al codice un N° rod-like/N° plate-like più basso.

In Tabella 4.5 sono riportati i moduli elastici dell'osso trabecolare sano e osteoporotico trovati in letteratura appartenenti a diversi distretti corporei. I dati riportati sono stati ottenuti considerando come direzione di carico quella lungo l'allineamento principale delle trabecole per quel determinato punto anatomico. Per poter fare un confronto fra questi dati e i modelli sani e osteoporotici si è deciso, quindi, di considerare solamente il modulo elastico ottenuto in direzione z per i provini digitali. Dato che a livello morfometrico si è notata una somiglianza tra i modelli e l'osso trabecolare della testa femorale, il modulo normalizzato in direzione z, ottenuto nei modelli selezionati, è stato moltiplicato per 18 GPa che si è visto essere la rigidità media della fase ossea nel distretto corporeo considerato [57].

Tabella 4.5: Moduli elastici di osso trabecolare umano appartenenti a diversi distretti corporei

E (GPa)					
OSSO TRABECOLARE SANO					
Collo femorale	Grande trocantere	Vertebre (toraciche e lombari)	Tibia prossimale	Calcagno	Testa femorale
0.4 – 3.2 [40][42][58]	0.06 – 0.6 [40][42] [58] [59]	0.06 – 0.4 [40] [60][59][61]	0.8 – 1.1 [40][58]	0.04 – 0.07 [40] [59]	0.4 – 2.5 [42][62]
OSSO TRABECOLARE OSTEOPOROTICO					
Vertebre (L1)			Testa femorale		
0.35 – 0.41 [3]			0.06 – 1.55 [63][64][65][66]		

In Tabella 4.6 sono riportati i nuovi valori per gli 8 modelli selezionati.

Tabella 4.6: Modulo elastico in direzione z per provini sani e osteoporotici assumendo una rigidità della fase solida di 18 GPa

Ez (GPa)			
MODELLI SANI			
Provino 72	Provino 40	Provino 50	Provino 57
3.04	2.14	2.23	1.62

MODELLI OSTEOPOROTICI			
Provino 108	Provino 109	Provino 110	Provino 111
0.27	0.07	0.18	0.22

Confrontando i valori ottenuti in Tabella 4.6 con i valori trovati in letteratura in Tabella 4.5, si può notare che, anche da un punto di vista meccanico, i provini sembrano simulare abbastanza bene le caratteristiche meccaniche elastiche di un osso trabecolare appartenente a una testa femorale. Ovviamente nei due gruppi di modelli sviluppati sono state estremizzate alcune caratteristiche in modo da rendere netta la differenza fra modelli sani e osteoporotici. Si può, quindi, pensare di poter raggiungere dei valori di modulo elastico intermedi a quelli ottenuti e compatibili anche con gli altri distretti corporei. Osservando la Tabella 4.4 e la Tabella 4.5 si può notare che non esiste una soglia di passaggio da osso trabecolare sano e osteoporotico, ma che, in base alla porzione di osso considerato e in base allo stato di avanzamento della malattia, si possono avere parametri morfometrici e rigidzze simili in soggetti malati e sani.

5 Conclusioni

L'obiettivo di questa tesi è di riprodurre un provino digitale di osso trabecolare che riesca a rispecchiarne le caratteristiche strutturali e meccaniche. Il codice creato permette un controllo di tutti i parametri morfometrici. In particolare, gli input raggio e N° seed sembrano essere quelli che meglio influenzano i risultati in uscita. L'input N° rod-like/N° plate-like ha permesso un controllo mirato della tipologia di trabecole presenti nel modello finale. Infatti, non presenta forti correlazioni a livello morfometrico, se non con l'EF. Si è notato, però, che, per avere cambiamenti significativi in questo parametro, c'è bisogno di aumentare molto il rapporto. Questo perché, come si è visto nei risultati nel Capitolo 3, l'EF presenta correlazioni più forti con gli input raggio e N° seed. Per poter controllare meglio questo parametro morfometrico si potrebbe fare un'analisi di correlazione tra i diversi input per capire al meglio l'influenza che hanno l'uno sugli altri. In questo modo, si potrebbe avere un controllo migliore dell'EF. Anche a livello meccanico l'input N° rod-like/N° plate-like mostra un risultato in linea con ciò visto in letteratura. Infatti, si è notato come l'aumento del numero di trabecole rod-like porti a una minor rigidità complessiva del modello [4][5][15]. L'input δ anisotropia a livello morfometrico ha correlazione solo con il DA. A livello meccanico però non porta ai risultati attesi. Infatti, ci si aspettava una correlazione maggiore con il modulo normalizzato in direzione z. Questo risultato, come spiegato nel Capitolo 4.1.1, probabilmente è dovuto al fatto che le trabecole in direzione x e y sono state eliminate con più probabilità portando la struttura ad essere meno rigida anche in direzione z. Questo parametro potrebbe essere migliorato tenendo sempre più alta la probabilità che le trabecole lungo l'asse z vengano salvate, senza però diminuire quella delle trabecole allineate in direzioni distanti dall'asse z. Il codice creato dà anche la possibilità di allineare le trabecole in qualsiasi direzione desiderata. Per semplicità nello svolgimento della tesi sono stati scelti gli assi cartesiani, ma questi potrebbero essere sostituiti facilmente con qualsiasi altro vettore nello spazio. Un altro aspetto interessante è rappresentato dal fatto che i modelli sembrano avere una buona ripetibilità a parità di input, come osservato per i provini 40 e 50.

Nonostante gli input in ingresso riescano a controllare i parametri morfometrici dei provini creati, sarebbe utile, per parametri come TbSp, TbTh e BV/TV che risultano essere quelli più indagati a livello clinico, poter imporre il valore a priori nel codice. Per quanto riguarda il TbSp, si potrebbe andare a controllare la distanza disponendo i seed a una distanza fissa. Infatti, per il provino ottenuto con spazio fissato tra i seed si è ottenuta una deviazione standard molto piccola per lo spazio trabecolare rispetto agli altri provini (Tabella 3.9). Allo stesso tempo il controllo di questo parametro in input porterebbe a modelli con una variabilità intra-provino bassa. Per ottenere uno spessore trabecolare desiderato, si potrebbe utilizzare lo stesso come parametro di dilatazione della struttura, quindi implementando un codice che attribuisca i pixel alla geometria fino al raggiungimento del TbTh desiderato. Questi due parametri potrebbero poi essere posti all'interno di un'equazione in modo da poter ottenere da questi la BV/TV finale del provino. Per quanto riguarda i parametri meccanici elastici, risulta difficile poterli impostare a priori per una variabilità intrinseca del provino creato. Sicuramente dalle analisi statistiche eseguite i parametri in input al codice hanno quasi tutti una correlazione molto forte con i moduli elastici e di taglio. Per avere una migliore comprensione delle proprietà meccaniche dei modelli sarebbe interessante eseguire delle prove a frattura con sollecitazioni paragonabili a quelle in vivo; ciò al fine, per esempio, di studiare la propagazione di cricche nei modelli con input N° rod-like/N° plate-like elevato per verificare se risultano meno tenaci rispetto a quelli con rapporto basso, come visto in letteratura. In questa tesi sono sempre stati sviluppati solo modelli cubici, ma potrebbe essere interessante creare provini digitali in cui è possibile controllare la posizione dei seed in modo da ottenere diverse forme in base alla zona anatomica da voler riprodurre, come fatto nello studio di XU [3]. In questo modo, poi, si potrebbero imporre gli input nel codice in base al distretto osseo di interesse. Un'altra analisi interessante potrebbe essere quella di analizzare delle micro-CT di un provino di osso reale; ciò al fine di poterle analizzare a livello strutturale e di tentare di riprodurre con il codice un modello che presenti la stessa architettura, andando, inoltre, a studiare gli errori su ogni singolo parametro morfometrico ottenuto. Ancora, per valutare, anche da un punto di vista meccanico, la bontà del modello si potrebbe ricostruire il provino osseo reale dalle micro-CT ed effettuare delle analisi FEM in modo da avere un confronto anche delle proprietà meccaniche.

Come spiegato nell'obbiettivo nel Capitolo 1.4, il modello sviluppato potrebbe essere utilizzato in futuro sia per la progettazione di scaffold per l'ingegneria del tessuto osseo, sia per la previsione del rischio di frattura associato alle condizioni cliniche del

paziente mediante simulazioni numeriche. L'utilizzo di modelli per lo studio della microstruttura e delle proprietà meccaniche dell'osso trabecolare permette di riprodurre una condizione sana o patologica e di effettuare uno studio semplice, veloce e ripetibile.

Bibliografia

- [1] D. Chappard, M. F. Baslé, E. Legrand, and M. Audran, "Trabecular bone microarchitecture: A review," *Morphologie*, vol. 92, no. 299, pp. 162–170, Dec. 2008.
- [2] Maciej Serda *et al.*, "Synteza i aktywność biologiczna nowych analogów tiosemikarbazonowych chelatorów żelaza," *Uniw. śląski*, vol. 7, no. 1, pp. 343–354, 2013.
- [3] X. Xu, "3D DIGITAL METHODS FOR QUANTITATIVE CT-BASED TRABECULAR VERTEBRAL BONE TEXTURE AND MICROARCHITECTURE ANALYSIS FOR FRACTURE RISK," 2020.
- [4] Y. E. Yu, Y. J. Hu, B. Zhou, J. Wang, and X. E. Guo, "Microstructure Determines Apparent-Level Mechanics Despite Tissue-Level Anisotropy and Heterogeneity of Individual Plates and Rods in Normal Human Trabecular Bone," *J. Bone Miner. Res.*, vol. 36, no. 9, pp. 1796–1807, Sep. 2021.
- [5] M. Schorr *et al.*, "Differences in Trabecular Plate and Rod Structure in Premenopausal Women Across the Weight Spectrum," *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 104, no. 10, pp. 4501–4510, 2019.
- [6] L. Colangelo, F. Biamonte, J. Pepe, C. Cipriani, and S. Minisola, "Understanding and managing secondary osteoporosis," *Expert Rev. Endocrinol. Metab.*, vol. 14, no. 2, pp. 111–122, Mar. 2019.
- [7] "Osteoporosi." [Online]. Available: <https://www.salute.gov.it/portale/donna/dettaglioContenutiDonna.jsp?area=Salute+donna&id=4491&menu=patologie>. [Accessed: 19-Oct-2022].
- [8] M. B. Dobbs, J. Buckwalter, and C. Saltzman, "(No Title)."
- [9] N. Effendy, M. Khamis, and A. Shuid, "Micro-CT assessments of potential anti-osteoporotic agents," *Curr. Drug Targets*, vol. 14, no. 13, pp. 1542–1551, Dec. 2013.
- [10] W. Chen, N. Dai, J. Wang, H. Liu, D. Li, and L. Liu, "Personalized design of functional gradient bone tissue engineering scaffold," *J. Biomech. Eng.*, vol. 141, no. 11, pp. 1–11, 2019.

- [11] C. Jiao *et al.*, “Additive manufacturing of Bio-inspired ceramic bone Scaffolds: Structural Design, mechanical properties and biocompatibility,” *Mater. Des.*, vol. 217, 2022.
- [12] S. Gómez, M. D. Vlad, J. López, and E. Fernández, “Design and properties of 3D scaffolds for bone tissue engineering,” *Acta Biomater.*, vol. 42, pp. 341–350, 2016.
- [13] “3D_voronoi_cuboid_bounded - File Exchange - MATLAB Central.” [Online]. Available: https://it.mathworks.com/matlabcentral/fileexchange/74742-3d_voronoi_cuboid_bounded. [Accessed: 14-Nov-2022].
- [14] D.-M. Yan, W. Wang, B. Lévy, and Y. Liu, “Efficient Computation of 3D Clipped Voronoi Diagram.”
- [15] M. Ding and S. Overgaard, “3-D microarchitectural properties and rod- and plate-like trabecular morphometric properties of femur head cancellous bones in patients with rheumatoid arthritis, osteoarthritis, and osteoporosis,” *J. Orthop. Transl.*, vol. 28, pp. 159–168, May 2021.
- [16] “bonej.org :: User Guide - Volume Fraction.” [Online]. Available: <https://bonej.org/volumefraction>. [Accessed: 16-Nov-2022].
- [17] R. Dougherty and K.-H. Kunzelmann, “Computing Local Thickness of 3D Structures with ImageJ,” *Microsc. Microanal.*, vol. 13, no. S02, Aug. 2007.
- [18] T. Hildebrand and P. Rüegsegger, “A new method for the model-independent assessment of thickness in three-dimensional images,” *J. Microsc.*, vol. 185, no. 1, pp. 67–75, 1997.
- [19] “bonej.org :: User Guide - Thickness.” [Online]. Available: <https://bonej.org/thickness>. [Accessed: 16-Nov-2022].
- [20] A. Odgaard, “Three-dimensional methods for quantification of cancellous bone architecture,” *Bone*, vol. 20, no. 4, pp. 315–328, Apr. 1997.
- [21] T. P. Harrigan and R. W. Mann, “Characterization of microstructural anisotropy in orthotropic materials using a second rank tensor,” *J. Mater. Sci.*, vol. 19, no. 3, pp. 761–767, Mar. 1984.
- [22] “bonej.org :: User Guide - Anisotropy.” [Online]. Available: <https://bonej.org/anisotropy>. [Accessed: 31-Oct-2022].
- [23] P. L. Salmon, C. Ohlsson, S. J. Shefelbine, and M. Doube, “Structure model index does not measure rods and plates in trabecular bone,” *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, vol. 6, no. OCT, 2015.
- [24] M. Doube, “The ellipsoid factor for quantification of rods, plates, and intermediate forms in 3D geometries,” *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, vol. 6, no.

FEB, 2015.

- [25] "bonej.org :: Ellipsoid Factor." [Online]. Available: <https://bonej.org/ef>. [Accessed: 16-Nov-2022].
- [26] "bonej.org :: User Guide - Connectivity." [Online]. Available: <https://bonej.org/connectivity>. [Accessed: 16-Nov-2022].
- [27] C. Flaig and P. Arbenz, "A scalable memory efficient multigrid solver for micro-finite element analyses based on CT images," *Parallel Comput.*, vol. 37, no. 12, pp. 846–854, Dec. 2011.
- [28] S. Judex *et al.*, "Adaptations of trabecular bone to low magnitude vibrations result in more uniform stress and strain under load," *Ann. Biomed. Eng.*, vol. 31, no. 1, pp. 12–20, 2003.
- [29] F. Baino, M. Schwentenwein, and E. Verné, "Modelling the Mechanical Properties of Hydroxyapatite Scaffolds Produced by Digital Light Processing-Based Vat Photopolymerization †," *Ceramics*, vol. 5, no. 3, pp. 593–600, 2022.
- [30] A. A. Nazarian Dietrich von Stechow AE David Zurakowski AE Ralph Müller AE Brian D Snyder, A. D. Nazarian Á von Stechow Á B D Snyder, A. Nazarian, R. Müller, D. B. Zurakowski Á D Snyder, and B. D. Snyder, "Bone Volume Fraction Explains the Variation in Strength and Stiffness of Cancellous Bone Affected by Metastatic Cancer and Osteoporosis."
- [31] "Osteoporosis Overview | NIH Osteoporosis and Related Bone Diseases National Resource Center." [Online]. Available: <https://www.bones.nih.gov/health-info/bone/osteoporosis/overview>. [Accessed: 11-Nov-2022].
- [32] D. Porrelli *et al.*, "Trabecular bone porosity and pore size distribution in osteoporotic patients – A low field nuclear magnetic resonance and microcomputed tomography investigation," *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 125, Jan. 2022.
- [33] A. M. Parfitt, C. H. E. Mathews, A. R. Villanueva, M. Kleerekoper, B. Frame, and D. S. Rao, "Relationships between Surface, Volume, and Thickness of Iliac Trabecular Bone in Aging and in Osteoporosis IMPLICATIONS FOR THE MICROANATOMIC AND CELLULAR MECHANISMS OF BONE LOSS."
- [34] G. Osterhoff, E. F. Morgan, S. J. Shefelbine, L. Karim, L. M. Mcnamara, and P. Augat, "Bone mechanical properties and changes with osteoporosis."
- [35] "Bone Microstructure in Osteoporosis: Transilial Biopsy and H... : Topics in Magnetic Resonance Imaging." [Online]. Available: https://journals.lww.com/topicsinmri/Fulltext/2002/10000/Bone_Microstructure_in_Osteoporosis__Transilial.2.aspx. [Accessed: 11-Nov-2022].

- [36] M. Frank, A. G. Reisinger, D. H. Pahr, and P. J. Thurner, "Effects of Osteoporosis on Bone Morphometry and Material Properties of Individual Human Trabeculae in the Femoral Head," *JBMR Plus*, vol. 5, no. 6, Jun. 2021.
- [37] M. Frank, A. G. Reisinger, D. techn Karl Landsteiner, D. H. Pahr, P. J. Thurner, and D. rernat, "Face Page Effects of osteoporosis on bone morphometry and material properties of individual human trabeculae in the femoral head Running title: Osteoporosis influence structure and material."
- [38] G. Kim *et al.*, "Reduced Tissue-Level Stiffness and Mineralization in Osteoporotic Cancellous Bone."
- [39] T. Hildebrand, A. Laib, R. Müller, J. Dequeker, and P. Rüeeggsegger, "Direct three-dimensional morphometric analysis of human cancellous bone: Microstructural data from spine, femur, iliac crest, and calcaneus," *J. Bone Miner. Res.*, vol. 14, no. 7, pp. 1167–1174, 1999.
- [40] S. Klinger, M. Greinwald, P. Augat, and M. Hollensteiner, "Mechanical and morphometric characterization of custom-made trabecular bone surrogates," *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 129, May 2022.
- [41] E. Perilli, M. Baleani, C. Öhman, R. Fognani, F. Baruffaldi, and M. Viceconti, "Dependence of mechanical compressive strength on local variations in microarchitecture in cancellous bone of proximal human femur," *J. Biomech.*, vol. 41, no. 2, pp. 438–446, 2008.
- [42] Y. Chevalier, D. Pahr, H. Allmer, M. Charlebois, and P. Zysset, "Validation of a voxel-based FE method for prediction of the uniaxial apparent modulus of human trabecular bone using macroscopic mechanical tests and nanoindentation," *J. Biomech.*, vol. 40, no. 15, pp. 3333–3340, 2007.
- [43] Y. Ruimin, W. Wenzheng, Z. Yongze, and Z. Xiaohui, "Finite element analysis of the effect of different cancellous bone volume fraction on the apparent mechanical response of proximal femur," *Chinese J. Tissue Eng. Res.*, pp. 36–2021.
- [44] X. Banse, J. P. Devogelaer, E. Munting, C. Delloye, O. Cornu, and M. Gryn timer, "Inhomogeneity of human vertebral cancellous bone: Systematic density and structure patterns inside the vertebral body," *Bone*, vol. 28, no. 5, pp. 563–571, 2001.
- [45] X. Banse, J. P. Devogelaer, and M. Gryn timer, "Patient-specific microarchitecture of vertebral cancellous bone: A peripheral quantitative computed tomographic and histological study," *Bone*, vol. 30, no. 6, pp. 829–835, 2002.
- [46] S. A. Goldstein, R. Goulet, and D. Mccubbrey, "Calcified Tissue International Measurement and Significance of Three-Dimensional Architecture to the Mechanical Integrity of Trabecular Bone," *Calcif Tissue Int*, no. 1, pp. 127–133,

- 1993.
- [47] K. A. Wear, S. Nagaraja, M. L. Dreher, S. Sadoughi, S. Zhu, and T. M. Keaveny, "Relationships among ultrasonic and mechanical properties of cancellous bone in human calcaneus in vitro," *Bone*, vol. 103, pp. 93–101, Oct. 2017.
 - [48] C. Deguette, A. Ramond-Roquin, and C. Rougé-Maillart, "Relation entre l'âge et les paramètres micro-architecturaux de l'os trabéculaire de l'os iliaque, déterminés par microCT," *Morphologie*, vol. 101, no. 333, pp. 64–70, Jun. 2017.
 - [49] J. S. Thomsen, J. Barlach, and L. Mosekilde, "Determination of connectivity density in human iliac crest bone biopsies assessed by a computerized method," *Bone*, vol. 18, no. 5, pp. 459–465, 1996.
 - [50] J. R. Goliath, J. H. Gosman, S. D. Stout, and T. M. Ryan, "Ontogenetic Patterning of Human Subchondral Bone Microarchitecture in the Proximal Tibia," *Biol. 2022, Vol. 11, Page 1002*, vol. 11, no. 7, p. 1002, Jul. 2022.
 - [51] M. Ding and S. Overgaard, "Degenerations in Global Morphometry of Cancellous Bone in Rheumatoid Arthritis, Osteoarthritis and Osteoporosis of Femoral Heads are Similar but More Severe than in Ageing Controls," *Calcif. Tissue Int.*, vol. 110, pp. 57–64, 2022.
 - [52] K. Chiba, A. J. Burghardt, M. Osaki, and S. Majumdar, "Heterogeneity of bone microstructure in the femoral head in patients with osteoporosis: An ex vivo HR-pQCT study," *Bone*, vol. 56, no. 1, pp. 139–146, Sep. 2013.
 - [53] C. Oefner, E. Riemer, K. Funke, M. Werner, C.-E. Heyde, and S. Schoenfelder, "Determination of anisotropic elastic parameters from morphological parameters of cancellous bone for osteoporotic lumbar spine."
 - [54] M. Rupprecht, P. Pogoda, M. Mumme, J. M. Rueger, K. Püschel, and M. Amling, "Bone microarchitecture of the calcaneus and its changes in aging: A histomorphometric analysis of 60 human specimens," *J. Orthop. Res.*, vol. 24, no. 4, pp. 664–674, Apr. 2006.
 - [55] R. R. Recker *et al.*, "Cancellous and cortical bone architecture and turnover at the iliac crest of postmenopausal osteoporotic women treated with parathyroid hormone 1-84," *Bone*, vol. 44, no. 1, pp. 113–119, Jan. 2009.
 - [56] M. L. Bouxsein, S. K. Boyd, B. A. Christiansen, R. E. Guldberg, K. J. Jepsen, and R. Müller, "Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography," *J. Bone Miner. Res.*, vol. 25, no. 7, pp. 1468–1486, Jul. 2010.
 - [57] H. H. Bayraktar, E. F. Morgan, G. L. Niebur, G. E. Morris, E. K. Wong, and T. M. Keaveny, "Comparison of the elastic and yield properties of human femoral trabecular and cortical bone tissue," *J. Biomech.*, vol. 37, no. 1, pp. 27–35, 2004.

- [58] J. Wang *et al.*, "Trabecular plates and rods determine elastic modulus and yield strength of human trabecular bone," *Bone*, vol. 72, pp. 71–80, Mar. 2015.
- [59] P. Augat, T. Link, T. F. Lang, J. C. Lin, S. Majumdar, and H. K. Genant, "Anisotropy of the elastic modulus of trabecular bone specimens from different anatomical locations," *Med. Eng. Phys.*, vol. 20, no. 2, pp. 124–131, Mar. 1998.
- [60] C. Öhman-Mägi, O. Holub, D. Wu, R. M. Hall, and C. Persson, "Density and mechanical properties of vertebral trabecular bone—A review," *JOR Spine*, vol. 4, no. 4, Dec. 2021.
- [61] G.-M. Liu, C.-J. Xu, N. Kong, X.-M. Zhu, X.-Y. Zhang, and Y. Yao, "The Aging Male Age-related differences in microstructure, density and biomechanics of vertebral cancellous bone of Chinese males," *Aging Male*, vol. 15, no. 4, pp. 233–239, 2012.
- [62] J. F. Bergmann Verlag, A. Rohlmann, H. Zilch, G. Bergmann, and R. Kolbel, "Archives of Orthopaedic and Traumatic Surgery Material Properties of Femoral Cancellous Bone in Axial Loading Part I: Time Independent Properties," *Arch Orthop Traumat Surg*, vol. 97, pp. 95–102, 1980.
- [63] M. Pekedis, F. Ozan, and H. Yildiz, "Biomechanics of the Femoral Head Cartilage and Subchondral Trabecular Bone in Osteoporotic and Osteopenic Fractures," *Ann. Biomed. Eng.*, vol. 49.
- [64] R. Rieger, J. C. Auregan, and T. Hoc, "Micro-finite-element method to assess elastic properties of trabecular bone at micro- and macroscopic level," *Morphologie*, vol. 102, no. 336, pp. 12–20, Mar. 2018.
- [65] F. Ozan, M. Pekedis, S. , Emmi Koyuncu, T. T. Altay, H. Yıldız, and C. Kayalı, "Micro-computed tomography and mechanical evaluation of trabecular bone structure in osteopenic and osteoporotic fractures."
- [66] S. S. Sun, H. L. Ma, C. L. Liu, C. H. Huang, C. K. Cheng, and H. W. Wei, "Difference in femoral head and neck material properties between osteoarthritis and osteoporosis," *Clin. Biomech.*, vol. 23, no. SUPPL.1, 2008.
- [67] "Midollo osseo: suddivisione e funzione | Osteolab." [Online]. Available: <https://www.osteolab.net/midollo-osseo/>. [Accessed: 27-Oct-2022].
- [68] "Osteoporosi: Le 5 mosse per mantenere le ossa sane - Fisiomed Ambulatori." [Online]. Available: <https://www.fisiomedambulatori.it/osteoporosi-ossa-sane-fisioterapia-trieste/>. [Accessed: 16-Nov-2022].
- [69] S. Ying, G. Xu, C. Li, and Z. Mao, "Point Cluster Analysis Using a 3D Voronoi Diagram with Applications in Point Cloud Segmentation," *ISPRS Int. J. Geo-Information* 2015, Vol. 4, Pages 1480-1499, vol. 4, no. 3, pp. 1480–1499, Aug. 2015.

A Appendice A

Tabella A 1: risultati parametri morfometrici per provini con N° di seed variabile e input restanti fissi

PARAMETRI MORFOMETRICI						
PROVINI	BV/TV	TbTh (mm)	TbSp (mm)	DA	EF	ConnD (mm ⁻³)
Provino 1	0.23	0.22	0.77	0.32	- 0.24	2.50
Provino 2	0.23	0.22	0.73	0.29	- 0.18	2.81
Provino 3	0.32	0.25	0.63	0.31	- 0.12	3.61
Provino 4	0.25	0.22	0.66	0.27	- 0.17	4.04
Provino 5	0.34	0.25	0.58	0.33	- 0.09	4.44
Provino 6	0.36	0.25	0.54	0.24	- 0.07	4.96
Provino 7	0.37	0.26	0.55	0.28	- 0.08	5.27
Provino 8	0.39	0.26	0.50	0.28	- 0.02	5.54
Provino 9	0.40	0.26	0.48	0.27	- 0.05	5.88
Provino 10	0.41	0.26	0.46	0.20	- 0.02	6.26

Tabella A 2: risultati parametri morfometrici per provini con N° rod-like/N° plate-like variabile e input restanti fissi

PARAMETRI MORFOMETRICI						
PROVINI	BV/TV	TbTh (mm)	TbSp (mm)	DA	EF	ConnD (mm ⁻³)
Provino 11	0.30	0.22	0.59	0.29	- 0.16	4.37
Provino 12	0.37	0.26	0.56	0.26	- 0.09	4.33
Provino 13	0.33	0.24	0.57	0.28	- 0.07	4.61
Provino 14	0.31	0.24	0.58	0.27	- 0.08	4.28
Provino 15	0.29	0.24	0.61	0.26	- 0.007	4.89
Provino 16	0.29	0.24	0.60	0.28	- 0.03	4.74
Provino 17	0.28	0.24	0.61	0.31	- 0.03	4.50
Provino 18	0.28	0.24	0.62	0.28	0.01	4.53
Provino 19	0.26	0.23	0.62	0.29	- 0.001	4.96
Provino 20	0.28	0.24	0.59	0.30	0.013	5.15

Tabella A 3: risultati parametri morfometrici per provini con "Raggio" variabile e input restanti fissi

PARAMETRI MORFOMETRICI						
PROVINI	BV/TV	TbTh (mm)	TbSp (mm)	DA	EF	ConnD (mm ⁻³)
Provino 38	0.12	0.11	0.78	0.352	-0.46	3.09
Provino 39	0.13	0.14	0.82	0.348	-0.41	2.58
Provino 21	0.16	0.17	0.83	0.346	-0.32	2.10
Provino 22	0.18	0.20	0.81	0.340	-0.27	1.99
Provino 23	0.22	0.24	0.79	0.336	-0.23	2.09
Provino 24	0.26	0.27	0.77	0.336	-0.13	2.07
Provino 25	0.30	0.31	0.76	0.338	-0.05	1.97
Provino 26	0.34	0.35	0.75	0.335	0.08	1.90
Provino 27	0.39	0.40	0.73	0.333	0.07	1.69
Provino 28	0.44	0.45	0.72	0.334	0.09	1.42

Tabella A 4: risultati parametri morfometrici per provini con " δ anisotropia" variabile e input restanti fissi

PARAMETRI MORFOMETRICI						
PROVINI	BV/TV	TbTh (mm)	TbSp (mm)	DA	EF	ConnD (mm ⁻³)
Provino 8	0.34	0.250	0.58	0.33	-0.09	4.44
Provino 29	0.34	0.248	0.58	0.35	-0.09	4.60
Provino 30	0.35	0.248	0.56	0.33	-0.10	3.99
Provino 31	0.31	0.241	0.59	0.42	-0.11	4.12
Provino 32	0.31	0.244	0.61	0.48	-0.10	3.99
Provino 33	0.33	0.242	0.59	0.46	-0.14	4.10
Provino 34	0.31	0.237	0.61	0.53	-0.11	4.00
Provino 35	0.30	0.235	0.59	0.52	-0.11	4.03
Provino 36	0.33	0.241	0.56	0.52	-0.11	4.23
Provino 37	0.31	0.237	0.58	0.55	-0.10	4.16

B Appendice B

Tabella B 1: risultati parametri meccanici per provini con N° seed variabile e input restanti fissi

PARAMETRI MECCANICI						
PROVINI	E_x/E_s	E_y/E_s	E_z/E_s	G_{xy}/E_s	G_{yz}/E_s	G_{xz}/E_s
Provino 1	0.017	0.027	0.043	0.014	0.020	0.021
Provino 2	0.023	0.031	0.042	0.016	0.016	0.019
Provino 3	0.068	0.076	0.102	0.033	0.041	0.042
Provino 4	0.026	0.035	0.052	0.015	0.020	0.022
Provino 5	0.086	0.100	0.106	0.043	0.047	0.049
Provino 6	0.102	0.108	0.129	0.047	0.053	0.053
Provino 7	0.113	0.109	0.140	0.051	0.058	0.057
Provino 8	0.080	0.071	0.111	0.036	0.044	0.042
Provino 9	0.115	0.106	0.143	0.054	0.060	0.060
Provino 10	0.126	0.129	0.157	0.059	0.063	0.065

Tabella B 2: risultati parametri meccanici per provini con N° rod-like/N° plate-like variabile e input restanti fissi

PARAMETRI MECCANICI						
PROVINI	E_x/E_s	E_y/E_s	E_z/E_s	G_{xy}/E_s	G_{yz}/E_s	G_{xz}/E_s
Provino 11	0.057	0.056	0.087	0.029	0.034	0.034
Provino 12	0.106	0.097	0.139	0.045	0.053	0.054
Provino 13	0.069	0.062	0.095	0.033	0.039	0.040
Provino 14	0.049	0.064	0.077	0.028	0.033	0.033
Provino 15	0.050	0.046	0.070	0.025	0.028	0.028
Provino 16	0.047	0.047	0.074	0.024	0.029	0.030
Provino 17	0.050	0.044	0.068	0.022	0.027	0.025
Provino 18	0.044	0.043	0.071	0.023	0.027	0.027
Provino 19	0.038	0.039	0.057	0.018	0.023	0.024
Provino 20	0.047	0.038	0.064	0.022	0.026	0.025

Tabella B 3: risultati parametri meccanici per provini con "Raggio" variabile e input restanti fissi

PARAMETRI MECCANICI						
PROVINI	E_x/E_s	E_y/E_s	E_z/E_s	G_{xy}/E_s	G_{yz}/E_s	G_{xz}/E_s
Provino 38	0.006	0.005	0.009	0.003	0.004	0.004
Provino 39	0.007	0.005	0.008	0.004	0.004	0.005
Provino 21	0.010	0.010	0.014	0.006	0.007	0.009
Provino 22	0.017	0.016	0.024	0.010	0.010	0.013
Provino 23	0.032	0.029	0.046	0.016	0.017	0.021
Provino 24	0.047	0.044	0.068	0.022	0.025	0.029
Provino 25	0.066	0.062	0.095	0.030	0.034	0.038
Provino 26	0.089	0.087	0.127	0.039	0.045	0.050
Provino 27	0.122	0.123	0.169	0.053	0.060	0.065
Provino 28	0.159	0.160	0.212	0.067	0.076	0.081

Tabella B 4: risultati parametri meccanici per provini con " δ anisotropia" variabile e input restanti fissi

PARAMETRI MECCANICI						
PROVINI	E_x/E_s	E_y/E_s	E_z/E_s	G_{xy}/E_s	G_{yz}/E_s	G_{xz}/E_s
Provino 8	0.080	0.071	0.111	0.036	0.044	0.042
Provino 29	0.075	0.086	0.108	0.036	0.044	0.045
Provino 30	0.077	0.083	0.113	0.039	0.044	0.047
Provino 31	0.053	0.051	0.100	0.029	0.037	0.035
Provino 32	0.054	0.049	0.097	0.025	0.036	0.036
Provino 33	0.060	0.070	0.118	0.030	0.040	0.043
Provino 34	0.050	0.045	0.107	0.024	0.036	0.035
Provino 35	0.053	0.048	0.109	0.024	0.035	0.034
Provino 36	0.058	0.057	0.121	0.028	0.041	0.041
Provino 37	0.051	0.055	0.113	0.025	0.037	0.038

Elenco delle figure

Figura 1.1: Sezione longitudinale della parte superiore del femore [67].....	1
Figura 1.2: Morfologia di una trabecola rod-like e plate-like [3].....	2
Figura 1.3: Sezione longitudinale di un osso sano (a sinistra) e di un osso osteoporotico (a destra) [68].....	3
Figura 1.4: Processo di creazione del modello [3].....	5
Figura 1.5: Step di creazione del modello	7
Figura 1.6: Modello su cui è stata eseguita l'analisi meccanica	8
Figura 2.1: Esempio di tassellatura di Voronoi cubica con 50 seed-points	12
Figura 2.2: Poliedri generati dalla tassellatura di Voronoi e zoom di un poliedro con all'interno seed-point [69].....	12
Figura 2.3: Versore orientamento per una trabecola plate-like e rod-like [3].....	13
Figura 2.4: Probabilità assegnata al variare degli angoli	14
Figura 2.5: Esempio geometria finale	15
Figura 2.6: Schema a blocchi del processo di creazione dei provini digitali	16
Figura 2.7: Provino digitale post-dilatazione (a sinistra) e provino digitale pre-dilatazione (a destra).....	16
Figura 2.8: Esempio di immagine simil micro-CT	17
Figura 2.9: 559 seed-points distribuiti in modo casuale (a sinistra) e in modo ordinato (a destra)	18
Figura 2.10: Esempio di output grafico del TbTh su plug-in BoneJ.....	19
Figura 2.11: Esempio di output grafico nel calcolo del TbSp sul plug-in BoneJ	20
Figura 2.12: Esempio output grafico dell'EF ottenuto con plug-in BoneJ	22
Figura 2.13: Matrice di rigidità.....	25
Figura 2.14: Equazioni dei modelli che stimano il modulo elastico di un materiale poroso a partire dalla BV/TV [29]	28
Figura 3.1: Modulo elastico del provino 55 nelle tre direzioni cartesiane	35

Figura 3.2: Moduli elastici in direzione x normalizzati, ottenuti per i dieci provini utilizzati nell'analisi di correlazione tra input Raggio e parametri meccanici e regressione esponenziale.....	39
Figura 3.3: Logaritmo naturale dei moduli elastici per i dieci provini utilizzati nell'analisi di correlazione tra l'input Raggio e i parametri meccanici e regressione lineare.....	40
Figura 3.4: Moduli elastici in direzione x normalizzati al variare della BV/TV ottenuta per i 39 provini coinvolti nell'analisi statistica.....	41
Figura 3.5: Logaritmo naturale del modulo elastico in direzione x normalizzato al variare della BV/TV ottenuta per i 39 provini coinvolti nell'analisi statistica.....	42
Figura 3.6: Moduli elastici nelle tre direzioni normalizzati al variare della BV/TV ottenuta per i 39 provini coinvolti nell'analisi statistica.....	43
Figura 4.1: TbTh ottenuto dal plug-in BoneJ per due provini con N° seed = 200 (a sinistra) e N° seed = 650 (a destra)	46
Figura 4.2: Immagini simil micro-CT ottenute per due provini con N° seed = 200 (a sinistra) e N° seed = 650 (a destra)	46
Figura 4.3: Tassellatura di Voronoi eseguita con 20 seed (a sinistra) e con 200 seed (a destra).....	47
Figura 4.4: Modello digitale ottenuto con N° seed = 200 (a sinistra) e N° seed = 650 (a destra).....	48
Figura 4.5: TbSp ottenuto su plug-in BoneJ dal provino con Raggio = 1	49
Figura 4.6: TbSp ottenuto per i 10 provini con Raggio variabile. In blu sono evidenziati i due provini rispettivamente con Raggio = 1 e Raggio = 2.....	50
Figura 4.7: Modelli digitali ottenuti imponendo Raggio = 10 (a sinistra) e Raggio = 1 (a destra).....	51
Figura 4.8: EF ottenuto dal plug-in BoneJ per provino con Raggio = 1 (a sinistra) e Raggio = 10 (a destra).....	51
Figura 4.9: TbTh ottenuti dal plug-in Bonej per i due provini con δ anisotropia = 0 (a sinistra) e con δ anisotropia = 0.45 (a destra).....	52
Figura 4.10: Moduli elastici normalizzati in direzione x ottenuti per i dieci provini con N° rod-like/N° plate-like variabile. In rosso è evidenziato il provino 12.....	53
Figura 4.11: Confronto tra i moduli elastici nelle tre direzioni cartesiane stimati dai modelli e ottenuti dall'analisi FEM dai 39 provini	55
Figura 4.12: Moduli elastici in direzione x stimati dal modello di Roberts – Garboczi e calcolati nell'analisi FEM sui 39 provini	56

Figura 4.13: Moduli elastici in direzione y stimati dal modello di Roberts – Garboczi e calcolati nell’analisi FEM sui 39 provini 56

Figura 4.14: Moduli elastici in direzione z stimati dal modello di Gibson – Ashby e calcolati nell’analisi FEM sui 39 provini 57

Figura 4.15: Istogramma degli ERMP ottenuti per il modulo normalizzato in direzione x..... 59

Figura 4.16: Istogramma degli ERMP ottenuti per il modulo normalizzato in direzione y..... 59

Figura 4.17: Istogramma degli ERMP ottenuti per il modulo normalizzato in direzione z..... 60

Figura 4.18: Provino 82 (a destra) e 83 (a sinistra) 62

Figura 4.19: Provino 40 (a sinistra) e provino 108 (a destra) 64

Elenco delle tabelle

Tabella 2.1: parametri in input per l'analisi di correlazione tra la variabile N° seed e i parametri morfometrici e meccanici.....	26
Tabella 2.2: Parametri in input per l'analisi di correlazione tra la variabile N° rod-like/N° plate-like e i parametri morfometrici e meccanici	26
Tabella 2.3: Parametri in input per l'analisi di correlazione tra la variabile Raggio e i parametri morfometrici e meccanici.....	27
Tabella 2.4: Parametri in input per l'analisi di correlazione tra la variabile δ anisotropia e i parametri morfometrici e meccanici.....	27
Tabella 3.1: Range dei valori di input utilizzati per la creazione di 111 provini digitali	29
Tabella 3.2: Range di valori dei parametri ottenuti dall'analisi morfometrica dei 111 provini digitali sviluppati	29
Tabella 3.3: Input impostati per la creazione di quattro provini sani.....	30
Tabella 3.4: Parametri morfometrici ottenuti dai quattro provini sani	31
Tabella 3.5: Input impostati nel codice per ottenere i quattro provini osteoporotici ..	31
Tabella 3.6: Parametri morfometrici ottenuti dai quattro provini osteoporotici.....	32
Tabella 3.7: Input impostati per la creazione di due provini con anisotropia lungo asse x e y.....	32
Tabella 3.8: Parametri morfometrici ottenuti dai provini con anisotropia lungo asse x e y.....	33
Tabella 3.9: Parametri morfometrici ottenuti dai due provini con distribuzione dei seed casual e ordinata.....	33
Tabella 3.10: Parametri meccanici elastici per i quattro provini sani e osteoporotici..	34
Tabella 3.11: Parametri meccanici elastici ottenuti dal provino con direzione di anisotropia lungo l'asse y.....	35
Tabella 3.12: Parametri meccanici elastici ottenuti dai due provini con distribuzione casuale e ordinata dei seed-points	36
Tabella 3.13: Rapporto tra i moduli elastici ottenuti nelle tre direzioni cartesiane per il provino 55.....	36

Tabella 3.14: r , r^2 e p-value ottenuti dall'analisi di Pearson per l'input N° seed e i parametri morfometrici	37
Tabella 3.15: r , r^2 e p-value ottenuti dall'analisi di Pearson per l'input N° rod-like/N° plate-like e i parametri morfometrici.....	37
Tabella 3.16: r , r^2 e p-value ottenuti dall'analisi di Pearson per l'input Raggio e i parametri morfometrici	37
Tabella 3.17: r , r^2 e p-value ottenuti dall'analisi di Pearson per l'input δ anisotropia e i parametri morfometrici	38
Tabella 3.18: r , r^2 e p-value ottenuti dall'analisi di Pearson tra l'input N° seed e i parametri meccanici.....	38
Tabella 3.19: r , r^2 e p-value ottenuti dall'analisi di Pearson tra l'input N° rod-like/N° plate-like e i parametri meccanici	39
Tabella 3.20: r , r^2 e p-value ottenuti dall'analisi di Pearson tra l'input Raggio e il logaritmo naturale dei parametri meccanici	40
Tabella 3.21: r , r^2 e p-value ottenuti dall'analisi di Pearson tra l'input δ anisotropia e i parametri meccanici.....	41
Tabella 3.22: r , r^2 e p-value ottenuti dall'analisi di Pearson tra la BV/TV e i parametri meccanici.....	42
Tabella 4.1: r , r^2 e p-value ottenuti dall'analisi di Pearson dopo aver escluso i provini 38 e 39.....	50
Tabella 4.2: r , r^2 e p-value ottenuti dall'analisi di Pearson dopo aver escluso il provino 12.....	53
Tabella 4.3: ERMP ottenuti per i moduli elastici nelle tre direzioni cartesiane. G = Gan, WK = Warren – Kraynik, Z2 = Zhu 2, N = Nie, GA = Gibson – Ashby, Z1 = Zhu 1, RG = Roberts - Garboczi.....	58
Tabella 4.4: Parametri morfometrici trovati in letteratura per diversi distretti corporei	65
Tabella 4.5: Moduli elastici di osso trabecolare umano appartenenti a diversi distretti corporei.....	68
Tabella 4.6: Modulo elastico in direzione z per provini sani e osteoporotici assumendo una rigidità della fase solida di 18 GPa	68

Ringraziamenti

Voglio ringraziare il professore Pasquale Vena per avermi assegnato un progetto molto interessante e per essere stato sempre disponibile e presente nel lavoro di tesi svolto. Inoltre, desidero ringraziare il ricercatore Luca D'Andrea per avermi seguito nella fase finale del lavoro dandomi preziosi consigli. Entrambi sono stati sempre tempestivi nel rispondere a domande e a chiarire qualsiasi mio dubbio.

Voglio ringraziare, inoltre, i miei genitori e mia sorella per avermi sempre supportato nelle mie scelte e per essere stati sempre presenti. Infine, voglio ringraziare la mia ragazza con la quale ho condiviso questo percorso che mi è sempre stata accanto nei momenti più difficili.

