

RIASSUNTO ESTESO

Towards customisable fully composite bone fracture fixators



Tutors

prof. Marco Sangermano¹
prof. Michael Malkoch²

Supervisors

Daniel J. Hutchinson¹
Jorge San Jacinto Garcia¹

Candidate

Lorenzo Papini

¹*Department of Applied Science and Technology, Politecnico di Torino*

²*Division of Coating Technology, KTH Royal Institute of Technology*

July 2023

I. Introduzione e background

I.i Fissazione di fratture ossee e fratture della mano

La prime notizie sull' utilizzo di dispositivi metallici per la fissazione di fratture ossee si hanno già alla fine del XVIII secolo [4]. Da allora, la ricerca nel campo della chirurgia e della scienza dei materiali ha portato a enormi miglioramenti nelle tecniche chirurgiche e nelle proprietà delle leghe metalliche, anche per usi biomedicali. Perni, fili, placche e viti sono oggi disponibili in un'ampia gamma di forme, dimensioni e leghe, generalmente a base di titanio o acciaio inossidabile, che vengono selezionate in base alle specifiche necessità del caso chirurgico. Di fatto, gli impianti metallici rappresentano lo stato dell'arte per la fissazione di fratture ossee instabili che richiedono un intervento di osteosintesi con fissazione interna. Tuttavia, nonostante gli eccezionali progressi e l'ampia diffusione, questi dispositivi non sono esenti da complicazioni, che possono variare, anche significativamente, a seconda del caso di applicazione specifico.

Gli inconvenienti più comuni degli impianti metallici rientrano nella categoria delle reazioni da corpo estraneo (FBR). La FBR è innescata dall'adsorbimento competitivo e dalla successiva denaturazione delle proteine sulla superficie del materiale. Questo processo avvia una cascata di segnali che porta alla risposta immunitaria, all'infiammazione, alla formazione di granulomi e infine all'incapsulamento fibroso [5]. La FBR è modulata da una serie di diversi fattori diversi, quali la chimica superficiale, la sua rugosità, la tribologia complessiva, la geometria dell'impianto e le sue proprietà meccaniche [6]. Nelle situazioni più gravi, ciò può portare a dolore intenso, ad un'infiammazione cronica, o addirittura alla necessità di un secondo intervento con il rischio tangibile di causare danni permanenti all'area interessata. Un danneggiamento locale dei tessuti può anche essere causato dal rilascio di ioni o particelle metalliche in seguito ad usura localizzata o ad ossidazione. [7,8]

I dispositivi metallici disponibili in commercio hanno un modulo di elasticità significativamente più elevato rispetto all'osso (e.g. Ti6Al4V 116 GPa contro 5-23GPa dell'osso corticale). Questo porta, soprattutto quando sostengono carichi meccanici, a far sì che la maggior parte di questo sia sostenuto dall'impianto piuttosto che dall'osso, una situazione denominata "stress shielding" che a sua volta causa una riduzione della densità ossea circostante (osteopenia) [7,8]. Dal punto di vista chirurgico invece, lo svantaggio principale è che le placche metalliche sono intrinsecamente non personalizzabili durante l'intervento a causa della loro rigidità, rendendo complicato e meno soddisfacente il loro utilizzo quando i segmenti ossei presentano conformazioni particolari.

Si stima che nel 2019 soltanto, si siano verificate 178 milioni di fratture ossee nel mondo, in aumento di oltre il 30% dal 1990 [1]. Tra tutti le diverse tipologie, le fratture coinvolgenti le ossa falangee o metacarpali sono tra le più comuni. Sono ad esempio le più frequenti nella fascia di età compresa tra i 18 e i 35 anni negli Stati Uniti d'America, rappresentando oltre il 50% di tutte le fratture in questa fascia di età [9]. Nel 1996, nel dipartimento pronto soccorso del VU University Medical Centre di Amsterdam, le fratture delle falangi o dei metacarpi rappresentavano il 19% del totale dei casi di frattura [10]. Inoltre, queste fratture espongono i pazienti a un elevato rischio di complicazioni postoperatorie. Le stime su tali complicanze riportano valori differenti a seconda della complessità della frattura, del tipo di fissazione, e

della coorte considerata. Per dare un'idea delle dimensioni del fenomeno, l'ordine di grandezza per tutte le fratture alle mani si aggira sul 30-50% di complicanze maggiori, che salgono oltre il 60% considerando le fratture falangee fissate con placche e viti metalliche, il sistema con maggior frequenza di complicanze [2,11]. Le più comuni includono rigidità, sindrome dolorosa regionale complessa, infezione, unione ritardata, mancata unione, malunione e mobilizzazione della placca [11,12]. Questi problemi portano spesso alla necessità di un nuovo intervento, come accade fino al 42% dei casi per le fratture delle falangi trattate con la fissazione della placca[13].

1.1.a Fili di Kirschner (K-wire)

I fili di Kirschner, anche detti K-wire, sono dei fili rigidi ed appuntiti alle estremità, in acciaio inossidabile, che vengono comunemente impiegati come fissatori nelle fratture della mano. Il loro utilizzo prevede generalmente un inserimento percutaneo guidato tramite raggi-x attraverso i frammenti ossei che devono essere mantenuti allineati. Possono essere utilizzate varie geometrie e configurazioni, con fili singoli o multipli, a seconda del caso e del giudizio del chirurgo. I K-wires hanno diversi lati positivi: la procedura è generalmente breve e l'inserimento percutaneo, piuttosto che una riduzione aperta, limita il danno ai tessuti molli circostanti; la rimozione è rapida e facile poiché parte del k-wire rimane esposta; infine, sono economici. D'altro canto, sono generalmente in grado di mantenere solo l'allineamento delle ossa, ma non di mantenere la compressione tra di esse e non riescono a sopportare sollecitazioni a flessione. Per questo motivo, spesso necessitano di un'ulteriore immobilizzazione esterna, come un'ingessatura o una steccatura, che non consente una significativa mobilitazione precoce, aumentando sostanzialmente il rischio di adesione tendinea e di futura riduzione della mobilità. Altri problemi sono la migrazione del filo che causa malunioni, l'infezione del setto del filo e, occasionalmente, la sindrome da dolore regionale complesso. [14,15]

1.1.b Riduzione aperta e fissazione interna(ORIF)

La riduzione aperta con fissazione interna (ORIF) nelle fratture della mano prevede generalmente l'uso di placche e viti metalliche per fissare i pezzi ossei nella posizione desiderata. Per fratture falangee e metacarpali, l'intervento viene eseguito dal lato dorsale per la facilità di accesso alle ossa, riducendo l'entità del danno ai tessuti molli che seguirebbe ad un approccio palmare. Ciò limita significativamente lo spessore della placca, poiché la frizione esercitata sui tendini estensori può compromettere il loro scorrimento, con conseguente irritazione o formazione di borsite [16]. Ciò ha portato allo sviluppo di placche con a profilo ridotto(1,1-1,3 mm) rispetto a quelle precedentemente utilizzate, dette "placche a compressione dinamica", da 2.7 mm, maggiormente indicate in casi particolari [17,18]. Altri svantaggi dei fissaggi con placche e viti metalliche sono legati alla FBR e all'adesione tendinea, che ostacola completo il recupero della mobilità, e ai danni ai tessuti molli causati dalle viti bicorticali che sporgono dall'osso, che possono portare a danni o rotture del tendine tensore[19]. Per questi motivi, i sistemi a placca sono generalmente sottoposti a un secondo intervento chirurgico per la rimozione dopo la guarigione della frattura. La resistenza e rigidità dei sistemi a placche e viti, tuttavia, consente una fissazione più stabile, in grado di sostenere le normali sollecitazioni a flessione, permettendo quindi una precoce mobilizzazione delle articolazioni, considerata un parametro fondamentale per un recupero ottimale della mobilità.

I.ii AdhFix

Nel campo della riparazione dei tessuti ossei, il gruppo di ricerca guidato dal prof. Malkoch ha sviluppato un sistema innovativo, chiamato AdhFix, per la fissazione delle fratture basato su monomeri derivati dalla molecola 1,3,5-triazinane-2,4,6-trione (TATO). Questo metodo è adatto alle fratture che richiedono una ORIF e prevede la miscelazione di TATO-tioli e TATO-alcheni trifunzionali con un fotoiniziatore ed particelle inorganiche come rinforzanti. Si ottiene così una consistenza simile ad un dentifricio fluido che può essere modellato in base alle esigenze del chirurgo e adattato in modo paziente-specifico. Questa pasta composita viene applicata nel modo illustrato in *Figura 1* [3] e fotopolimerizzata in situ strato per strato fino all'ottenimento di un patch spesso circa 2 mm. Una descrizione dettagliata della procedura AdhFix è presentata nelle sezioni 3.2.1 e 3.2.3 della tesi, essendo parte di questa ricerca.

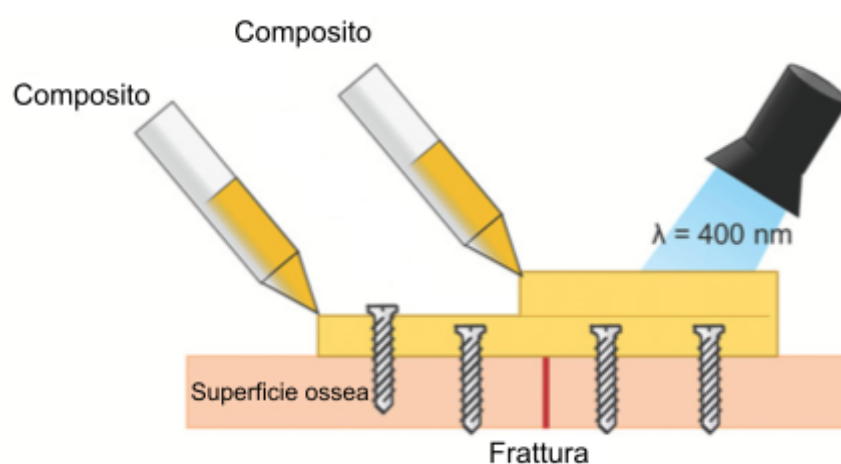


Figura I.ii: Illustrazione della tecnica strato-per strato AdhFix [3]

L'obiettivo finale del gruppo di ricerca è quello di riuscire a fissare le fratture ossee adesivamente, senza la necessità di utilizzare viti, con un sistema completamente biorassorbibile. Le sfide per lo sviluppo di un sistema così avanzato sono numerose: nonostante Granskog et al.[20] abbiano sviluppato adesivi ossei significativamente superiori a quelli commercialmente disponibili, la loro performance non è ancora ritenuta abbastanza affidabile per essere utilizzata in applicazioni cliniche e non sono biorassorbibili. Per garantire il fissaggio all'osso sottostante, è stata sviluppata il metodo AdhFix con viti corticali metalliche. Attualmente, i principali vantaggi sono la possibilità senza precedenti per i chirurghi di personalizzare la geometria del materiale in situ e le pressochè nulle adesioni tendinee, migliorando il recupero della mobilità. Tuttavia, sia per la presenza di viti metalliche sia per la natura inerte del composito, esso non è ancora biorassorbibile [3]. Inoltre, l'interfaccia tra le viti metalliche ed il materiale composito è un punto critico, nel quale, in alcuni test preliminari, il composito si frattura.

I.ii.a Reazioni Tiolo-ene

La "chimica tiolo-ene" (TE) si riferisce a una versatile classe di reazioni che è nota fin dall'inizio del XX secolo, come riportato in un articolo ampiamente citato di Theodor Posner

[21]. Grazie alla loro versatilità, all'alta efficienza ed alle blande condizioni di reazione necessarie, ha risvegliato un crescente interesse. Come suggerisce il nome, queste reazioni comportano la reazione tra alcheni e molecole contenenti tioli e sono ampiamente suddivise in due categorie in base al meccanismo di reazione: un nucleofilo (più comunemente una base) promuove le reazioni di "addizione di thia-Michael", mentre un iniziatore radicalico induce le reazioni tiolo-ene "classiche".

Questa distinzione deriva dalla reattività pressoché opposta dei diversi alcheni nei confronti dei tioli quando subiscono reazioni anioniche piuttosto che radicaliche.

Le reazioni tiolo-ene "classiche" si avvalgono di un opportuno iniziatore radicale, generalmente foto- o termo- attivato (e.g. AIBN, derivati del benzofenone, ecc.) e seguono un particolare meccanismo a "doppio anello", come illustrato nella Figura 2 [22]. Il radicale iniziatore reagisce strappando un idrogeno dal gruppo sulfidrilico, formando un radicale tiolico reattivo che si propaga tramite addizione radicalica anti-Markovnikov al legame insaturo dell'alchene per formare un radicale alchilico tioetere. Dopo questa fase, esistono due possibilità:

Omopolimerizzazione: Il radicale alchilico continua a propagarsi reagendo con altri alcheni, in modo analogo alla polimerizzazione a catena o "chain-growth".

Trasferimento di catena: Il radicale alchilico strappa un idrogeno da un tiolo disponibile, completando di fatto un ciclo dell'anello sinistro in Figura 2, formando nuovamente un radicale tiolico libero di reagire con l'alchene successivo. Questo percorso porta a una polimerizzazione di tipo step-growth.

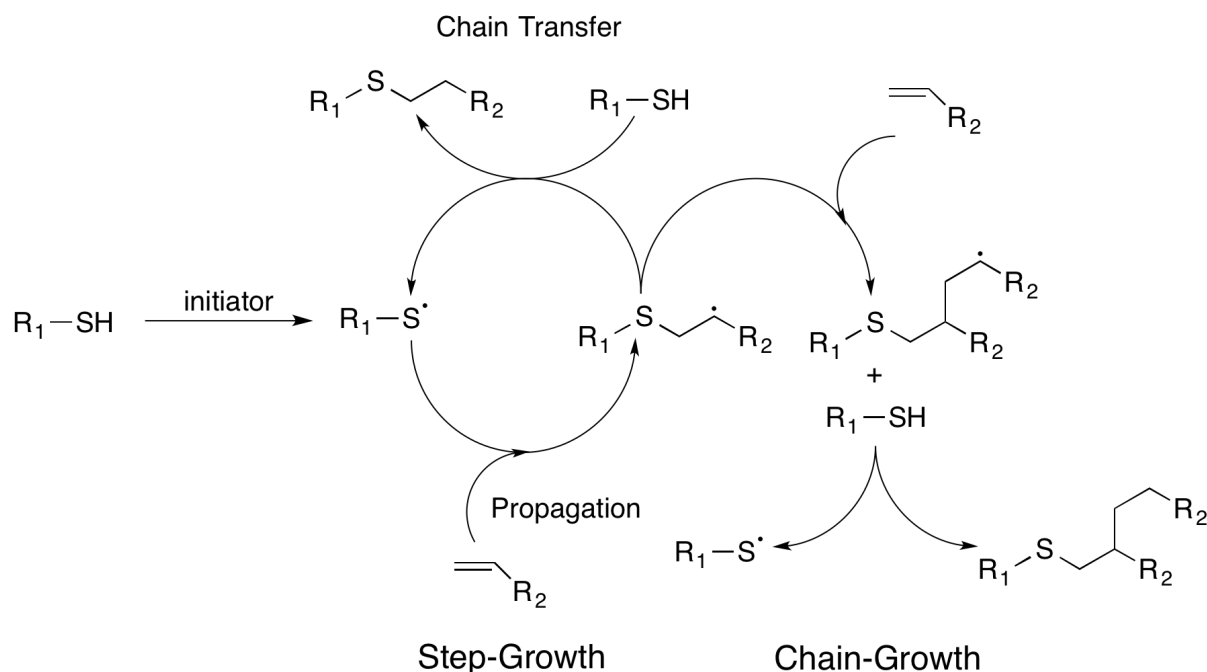


Figura I.ii.a: Meccanismo di reazione tiolo-ene [22]

II. Obiettivo e metodi

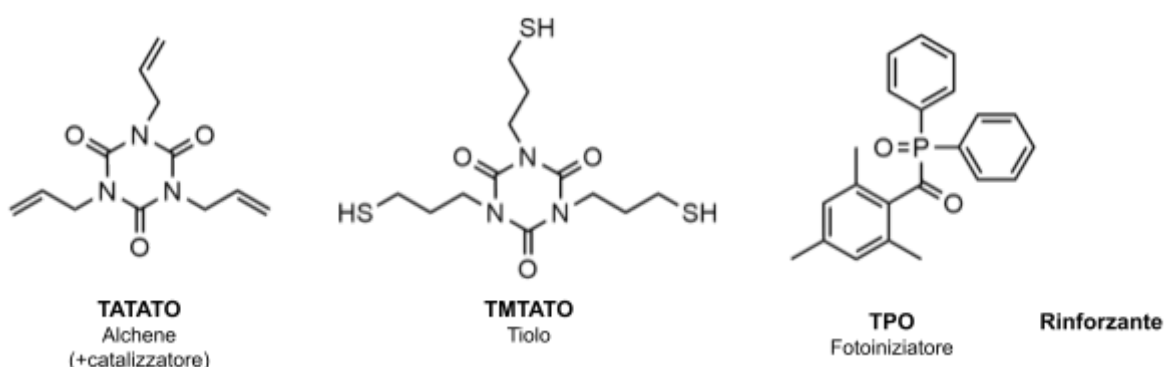
II.i Obiettivo e struttura della ricerca

Basandosi sull'attuale tecnologia AdhFix, l'obiettivo di questo progetto è quello di sostituire le viti metalliche con viti in materiale composito a matrice tiol-enica come primo passo verso la completa riassorbibilità. Per raggiungere questo obiettivo, si è reso necessario lo sviluppo di nuove formulazioni con proprietà meccaniche migliorate. Un ulteriore passo è stato fatto includendo componenti riassorbibili. Il carico di lavoro è stato strutturato secondo tre macroaree:

- 1. Formulazioni con nuovi rinforzanti:** È stato eseguito uno screening di quali filler potessero garantire il maggior rinforzo o maggior riassorbibilità al composito finale. Osservazioni al SEM sono state di supporto per la comprensione dei meccanismi di rinforzo dei diversi filler.
- 2. Riduzione della porosità del materiale:** Mediante un trattamento in vuoto il materiale è stato degasato sia per aumentarne le proprietà meccaniche sia per ridurre la presenza di difetti critici nelle viti di piccole dimensioni.
- 3. Compatibilizzazione dei rinforzanti:** I due filler più promettenti sono stati sottoposti a funzionalizzazione superficiale con agenti compatibilizzanti, nell'ottica di migliorare il trasferimento di carichi con la matrice, e di conseguenza la resistenza del composito.

In seguito, la formulazione più promettente è stata utilizzata per produrre viti in composito di diverso diametro tramite iniezione con una siringa in stampi di silicone. Queste viti sono poi state utilizzate insieme alla nuova formulazione per fissare con metodo AdhFix dei modelli di frattura trasversale su metacarpi suini e testate a flessione.

II.ii Fabbricazione del composito



La formulazione prototipo per il composito adesso in uso per AdhFix contiene gli ingredienti di cui sopra e viene preparato come segue. Una soluzione di TATATO (12.4 g) e catalizzatore (0.7 g) (TATATO+cat) è già pronta e può essere conservata a temperatura ambiente. Il TMTATO (1810 mg) e la soluzione precostituita di TATATO+cat (1310 mg) vengono miscelati in una fiala di vetro con una pipetta di vetro chiusa. La fiala viene poi avvolta in un foglio di alluminio e il fotoiniziatore, TPO (17.8 mg), viene incorporato

mescolando con la pipetta di vetro chiusa per circa 1 minuto. Infine, si mescola il riempitivo secondo la percentuale di peso desiderata. Il composito viene lasciato riposare per almeno 15 minuti, al riparo dalla luce con un foglio di alluminio.

In questa relazione, il composito contenente il 56wt% di idrossiapatite (HA) come riempitivo è indicato come *formulazione prototipo*, essendo il materiale standard attualmente utilizzato nella tecnica AdhFix.

III. Risultati

III.i Tecnologia AdhFix attuale

La formulazione prototipo è stata sottoposta a uno screening delle proprietà meccaniche mediante prove di flessione a tre punti e la superficie di frattura è stata osservata con un microscopio a scansione elettronica (SEM) da banco per valutare eventuali relazioni microstruttura-proprietà meccaniche. La nomenclatura adottata in per i compositi usati in AdhFix è la seguente:

TIOLOxALCHENE (WT%)FILLER

A titolo di esempio, la formulazione prototipo di AdhFix, riportata nel paragrafo III, viene presentata come TMTATOxTATATO 56HA, dove TMTATO è il tiolo, TATATO l'alchene ed HA il riempitivo, in una concentrazione finale del 56% in peso. Il fotoiniziatore (TPO) e il catalizzatore sono presenti in proporzione costante con i monomeri. Per semplicità, nei grafici e nelle tabelle viene espresso solo il filler e la sua quantità, in quanto la matrice polimerica è sempre a base di TMTATOxTATATO.

Ogni nuovo lotto di TMTATO utilizzato per formulare il composito deve testato meccanicamente e confrontato con i risultati precedenti. I risultati delle prove di flessione a 3 punti (3PB) su due campioni del composito prototipo sono considerati accettabili e sono presentati in Tabella III.i.a insieme a quelli della pura matrice senza rinforzanti. I valori del sistema non caricato sono stati ottenuti dal collega D. J. Hutchinson.

Tabella III.i.a: Proprietà meccaniche di sistemi TMTATOxTATATO

Campioni	E_f [GPa]	σ_f [MPa]	Deformazione [mm/mm $\cdot 10^{-3}$]	Energia a rottura [mJ]
Matrice	2.9 (0.4)	99 (6)	96 (26)	95 (9)
56HA	6.6 (0.1)	59 (1)	9.6 (0.2)	11.4 (0.2)

Dopo le prove a flessione, la superficie di frattura di questi due campioni è stata osservata con un SEM da banco. L'immagine della superficie di frattura di uno dei campioni è presentata nella Figura III.i con basso (a, b x80) ed alto (c, x800) ingrandimento. Grazie all'uso di un software open source per l'analisi d'immagini (Fiji-ImageJ [76]), la porosità del composito TMTATOxTATATO 56HA è stata stimata al $20 \pm 5\%$. Sebbene i pori più piccoli siano stati osservati a ingrandimenti più elevati, il diametro minimo equivalente per

l'individuazione dei pori è stato fissato a 5 μm , poiché quelli più piccoli avrebbero richiesto un maggiore sforzo per distinguerli dalle cavità lasciate dal distacco o dal pull-out del riempitivo. L'intervallo di dimensioni dei pori è significativamente ampio, da 5 a oltre 450 μm di diametro proiezione. Si ritiene che una porosità così elevata influisca notevolmente sulle proprietà meccaniche del materiale, riducendo il volume di materiale che sostiene il carico.

La Figura III.i (c) mostra anche interessanti caratteristiche delle particelle di HA e delle sue interazioni con la matrice polimerica. L'HA appare come una particella secondaria, cioè un aggregato di cristalli di HA primaria, analogamente all'HA non sinterizzata [60,80], con una porosità intrinsecamente elevata. Ciò implica una superficie molto ruvida che potrebbe favorire l'adesione fisica con la matrice, ma potrebbe anche comportare una minor forza coesiva dell'aggregato stesso, non garantendo il rinforzo desiderato. Oltre alla presenza di porosità, è chiaramente visibile come le particelle di HA non abbiano una buona adesione alla matrice polimerica, con uno spazio visibile tra questi ed un esteso distacco delle particelle piuttosto che un loro cedimento coesivo durante la frattura. Nel caso dei compositi rinforzati con particelle (PRC), come nel caso della formulazione prototipo di AdhFix, il pull-out non è un meccanismo di rinforzo significativo, poiché la forma sferica non consente l'attrito dissipativo con la matrice. È invece generalmente preferibile massimizzare l'adesione interfacciale per migliorare il modulo e la resistenza del materiale. [31]

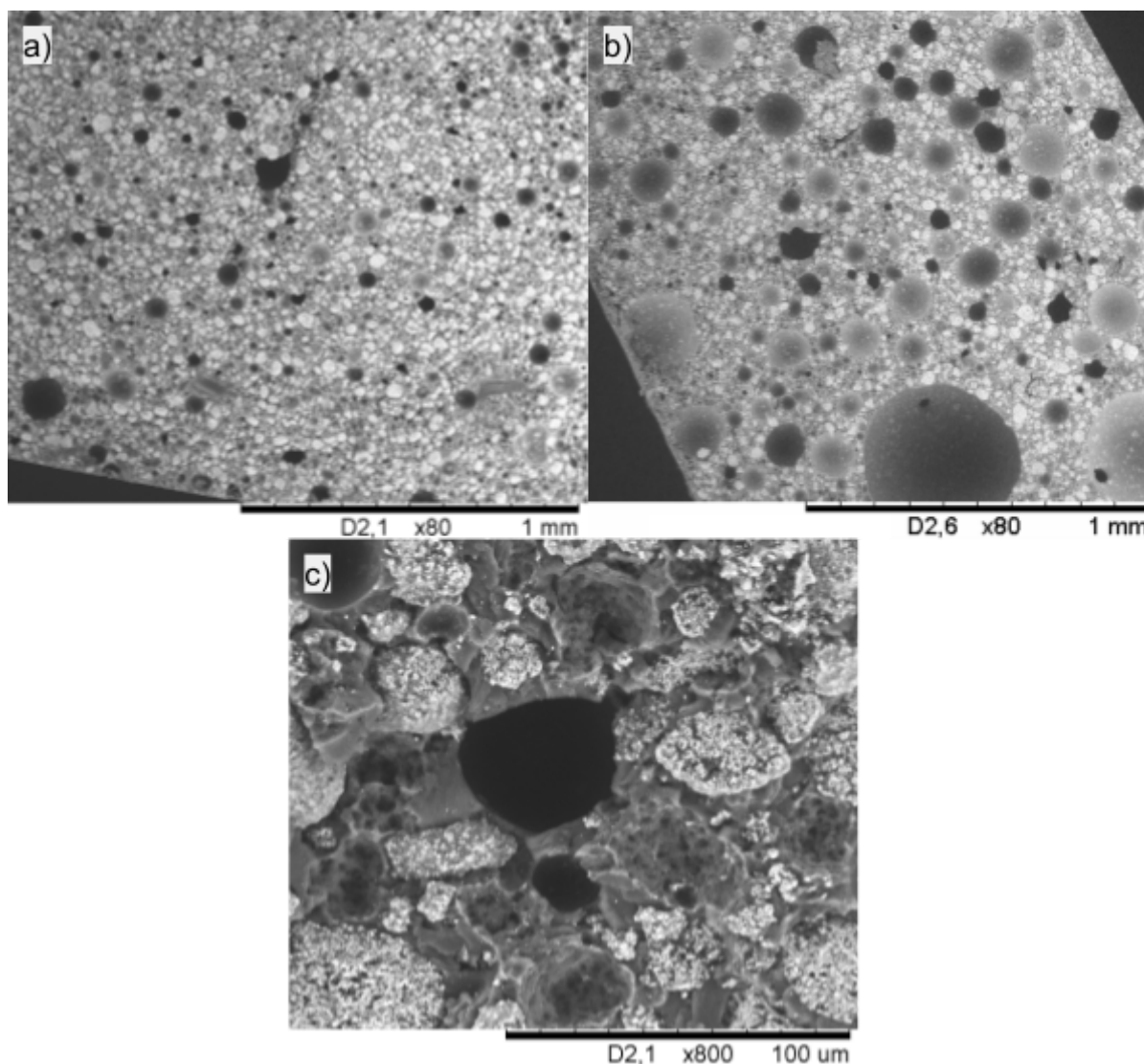


Figura III.i: Superfici di frattura di TMTATOxTATATO 56HA a 80x (a,b) e 800x (c)

La formulazione prototipo è stata utilizzata per testare la fattibilità della produzione di viti e le potenziali criticità del processo per diversi diametri di viti. Sono state realizzate viti di diverso diametro sia con il composito 56HA che con il termoindurente puro TMTATOxTATATO. Sono state poi avvitate e svitare (quando possibile) in un metacarpo suino precedentemente maschiato con una vite in acciaio della stessa geometria. La Tabella III.i.b mostra il numero di viti inserite con successo (✓) o rotte (✗) per i diversi diametri nominali delle viti; ogni segno di spunta o croce rappresenta una vite. Sebbene questi risultati presentino una scarsa significatività statistica, confermano che l'attuale formulazione è inaccettabile per viti con piccoli diametri e suggeriscono, come atteso, che le viti più grandi non richiedono proprietà meccaniche specifiche così elevate per essere utilizzate con successo.

La maggior parte delle criticità riscontrate riguarda la presenza di bolle o problemi con l'intaglio. La maggioranza delle viti si è fratturata in corrispondenza del collo e ha presentato lungo la superficie di frattura una o più bolle visibili ad occhio nudo. Queste cavità probabilmente sono riconducibili a quelle già presenti nel composito come osservato in precedenza. Sono state osservate cavità anche in due casi in cui le viti si sono fratturate nel

gambo applicando solo una minima torsione. Nel caso di campioni più grandi, come quelli sottoposti a flessione a 3 punti o le patch per fissaggio di fratture ossee (BFPs) utilizzate da Hutchinson et al. [3], la presenza di porosità può influire sulle proprietà meccaniche ma non è così critica, in quanto si possono comunque ottenere risultati soddisfacenti. Nel caso delle viti, invece, la presenza di porosità residua appare inaccettabile e particolarmente dannosa per le viti di diametro inferiore, poiché una singola cavità può ridurre significativamente l'area di resistenza lungo il gambo o nel collo, portando ad una frattura prematura.

Anche gli intagli decentrati sembrano causare alcuni problemi: l'impossibilità di imprimerli perfettamente lungo l'asse della vite provoca, durante l'inserimento, un aumento di sollecitazioni complesse che potrebbe contribuire ulteriormente a rotture premature. Si conclude che per viti corticali sono necessarie proprietà meccaniche più elevate.

Tabella III.i.b: Risultati dell'inserzione di viti in sola matrice di TMTATOxTATAO o in composito con 56HA in metacarpi suini precedentemente maschiati

Diametro [mm]	2.0	2.5	3.5	4.0
56HA	XXXXX	✓XXXXX	X✓	✓
Solo matrice	XXXXX	✓✓X	✓✓	✓

III.ii Screening di diversi rinforzanti (filler)

In un primo tentativo di migliorare le proprietà meccaniche del composito, l'HA è stata sostituita con altri riempitivi: vetro bioattivo 58S (Bgl), whisker di idrossiapatite (HA-w) e una polvere apatitica nota come "MCD abrasivo apatitico" [81]. L'MCD è stato scelto perché è un materiale apatitico sinterizzato, quindi con proprietà meccaniche superiori all'HA porosa, presumibilmente non sinterizzata. Gli HA-w (modulo elastico 70-140 GPa [82,83]) è stato scelto con un ragionamento simile, ma con l'aggiunta del fatto che le particelle con aspect ratio più elevato sono note per essere agenti di rinforzo più efficaci, grazie all'aumento del trasferimento delle sollecitazioni di taglio e flessione e alla maggiore area superficiale specifica [31]. Il Bgl, invece, è stato scelto per introdurre una componente riassorbibile nella formulazione del composito, in vista di un sistema completamente riassorbibile. Il vetro bioattivo è ampiamente studiato in campi come l'odontoiatria e specialmente nella medicina rigenerativa grazie alle sue proprietà osteoinduttive [84].

In primo luogo, è stata valutata la quantità massima di riempitivo che la resina TMTATOxTATATO poteva incorporare. Questa è stata definita come la frazione in peso di riempitivo che può essere aggiunta ai monomeri per ottenere la stessa viscosità pre-polimerizzazione della formulazione prototipo; ed è stata determinata essere 36, 58 e 62 wt.% rispettivamente per Bgl, HA-w e MCD. La determinazione della viscosità è stata eseguita visivamente.

Le proprietà meccaniche dei compositi con la massima quantità di riempitivo sono presentate in Tabella III.ii. Il riempitivo più promettente appare essere HA-w, con un aumento di modulo e di resistenza a flessione rispettivamente del 37% e del 20% rispetto al composito prototipo. La formulazione con abrasivo apatitico sinterizzato, invece, ha mostrato le peggiori prestazioni di resistenza, in quanto l'aumento del carico di particellare prive di adesione interfacciale diminuisce l'area di resistenza[32,38]. La formulazione con bioglass

ha mostrato il modulo più basso, come atteso, considerato che la frazione volumetrica ed il suo modulo sono significativamente inferiori rispetto alle cariche apatitiche.

Tabella III.ii: Proprietà meccaniche di TMTATOxTATATO a massimo carico di diversi filler

Campioni	E_f [GPa]	σ_f [MPa]	Deformazione [mm/mm $\cdot 10^{-3}$]	Energia a rottura [mJ]
56HA - prototipo	6.6 (0.1)	59 (1)	9.6 (0.2)	11.4 (0.2)
36 Bgl	4.5 (0.3)	50 (3)	11.5 (0.4)	11.5 (0.9)
58 HA-w	9.1 (0.2)	71 (3)	9.6 (0.5)	11.8 (1.1)
62 MCD	5.5 (0.3)	43 (2)	11.0 (0.1)	11.0 (0.1)

Per correlare tali risultati alla microstruttura del composito, le superfici di frattura sono state osservate con un SEM da banco. La Figura III.ii presenta alcune micrografie delle superfici di frattura del composito con MCD (a), Bgl (b) e HA-w (c,d). La distanza tra le particelle di MCD e la matrice mostra inequivocabilmente l'assenza di adesione tra i due componenti. Il motivo principale per cui la formulazione prototipo dà luogo a proprietà migliori rispetto a quella con MCD è probabilmente riconducibile all'adesione fisica ed incastro tra matrice e particelle, che appare svolgere un ruolo significativo quando si utilizzano particelle porose come HA, ma è escluso quando si utilizzano particelle dense e lisce come MCD. Poiché l'MCD presenta le peggiori proprietà meccaniche e non è riassorbibile, è stato escluso da ulteriori indagini.

L'interfaccia HA-w polimero mostrata nella Figura III.ii (d) appare scarsa tanto quanto quella dell'HA e dell'MCD. È dunque improbabile che l'adesione interfacciale sia un fattore che contribuisce alle migliori proprietà della formulazione con HA-w. Una spiegazione ragionevole risiede nella meccanica geometrica del sistema con particelle rigide ad alto aspect ratio come HA-w: poiché l'HA-w ha un modulo elastico di circa due ordini di grandezza superiore a quello della matrice polimerica, possono essere considerati come barre indeformabili immerse in una matrice deformabile. Quando al composito viene applicato un carico, la matrice si deforma, seppur leggermente, e, grazie all'elevato rapporto d'aspetto dei whisker, forma punti di contatto con questi ultimi, attraverso i quali avviene un trasferimento degli sforzi. Poiché i whisker non sono orientati in modo preferenziale, questo fenomeno può verificarsi indipendentemente dalla modalità di applicazione del carico, garantendo un rinforzo isotropico.

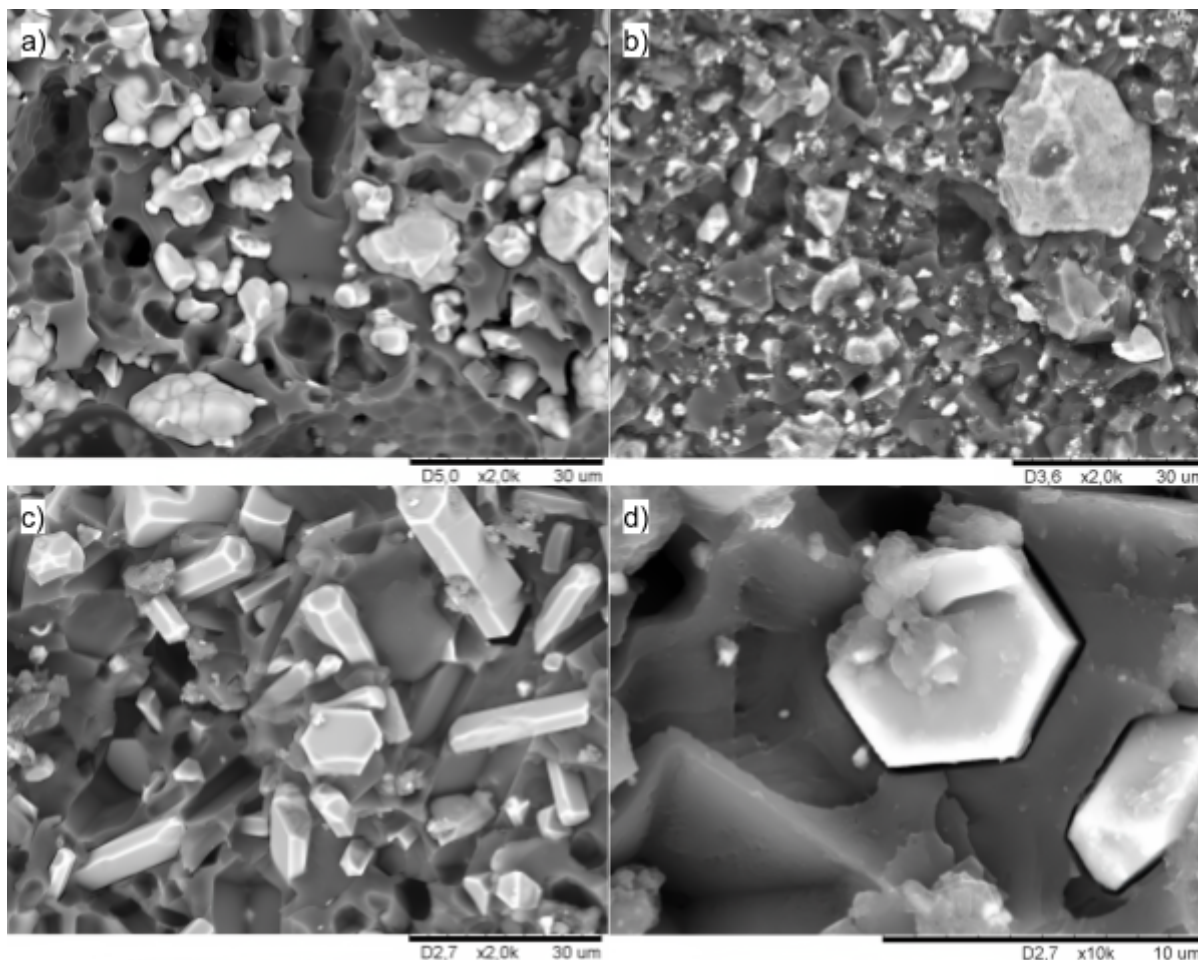


Figura III.ii: Micrografie SEM di compositi a matrice TMTATOxTATATO con diversi rinforzanti: MCD (a x2000), Bgl (b x2000), HA-w (c x2000, d x10000)

III.iii Degasaggio dei compositi a matrice tiolo-enica

Come strategia per ridurre la porosità del materiale prima della polimerizzazione, una fase di degasaggio è sembrata la più facilmente applicabile su scala di laboratorio, senza bisogno di attrezzature ad hoc. Dopo la miscelazione dei componenti e del riempitivo, il composito è stato quindi posto sotto vuoto in linea Schlenk per 1,5 ore .ca, dopodiché è stato formato e polimerizzato. I risultati dei test a flessione per i compositi degasati con 58HA-w e 56HA sono presentati nella Tabella III.iii, a confronto con le loro controparti non degasate. In entrambi i casi, il degasaggio ha permesso di ottenere proprietà meccaniche superiori ed è stato quindi aggiunto alla procedura standard di produzione dei compositi.

Tabella III.iii: Proprietà meccaniche di compositi a matrice TMTATOxTATATO con e senza un processo di degasaggio in vuoto

Campioni	E_f [GPa]	σ_f [MPa]	Deformazione [mm/mm $\cdot 10^{-3}$]	Energia a rottura [mJ]
56HA	6.6 (0.1)	59 (1)	9.6 (0.2)	12 (2)
56HA degas	7.5 (0.5)	58 (5)	9.0 (0.4)	9 (1)

58 HA-w	9.1 (0.2)	71 (3)	9.6 (0.5)	12 (1)
58 HA-w degas	9.4 (0.3)	81 (5)	10.2 (0.5)	15 (2)

È interessante notare, tuttavia, che la variazione delle proprietà meccaniche sembra essere diversa tra le formulazioni con HA e HA-w. Mentre i campioni con 56 HA hanno mostrato un aumento del modulo a flessione (.ca 14%), ma non della resistenza alla flessione, l'opposto si è verificato per i campioni con 58HA-w, dove la resistenza a flessione è aumentata di .ca 14%, ma non sono state osservate variazioni significative del modulo. Una possibile spiegazione di questo fenomeno risiede ancora una volta nelle differenze strutturali dei riempitivi. Poiché l'HA è porosa, quando si applica il vuoto, la penetrazione della matrice all'interno dei pori viene favorita, aumentando l'adesione fisica tra le due fasi. La mancanza di un aumento della resistenza può essere attribuita alla limitata forza coesiva degli aggregati, che potrebbe o essere il fattore limitante della resistenza o fornire punti di concentrazione degli sforzi.

Gli HA-w invece, non essendo porosi, non possono beneficiare dell'adesione fisica alla matrice polimerica. Il vuoto potrebbe ridurre lo spazio tra la matrice e i whisker, migliorando il trasferimento degli sforzi, che, combinato con una riduzione complessiva della porosità, potrebbe spiegare l'aumento della resistenza. Si ritiene comunque che il principale meccanismo sia la riduzione della porosità, e di conseguenza l'aumento dell'area resistente, ma sono necessarie ulteriori indagini per chiarire il punto.

La riduzione della porosità può essere chiaramente apprezzata in Figura III.iii, dove le superfici di frattura dei compositi non trattati con 58HA-w (a,b) sono confrontate con la loro controparte degasata (c).

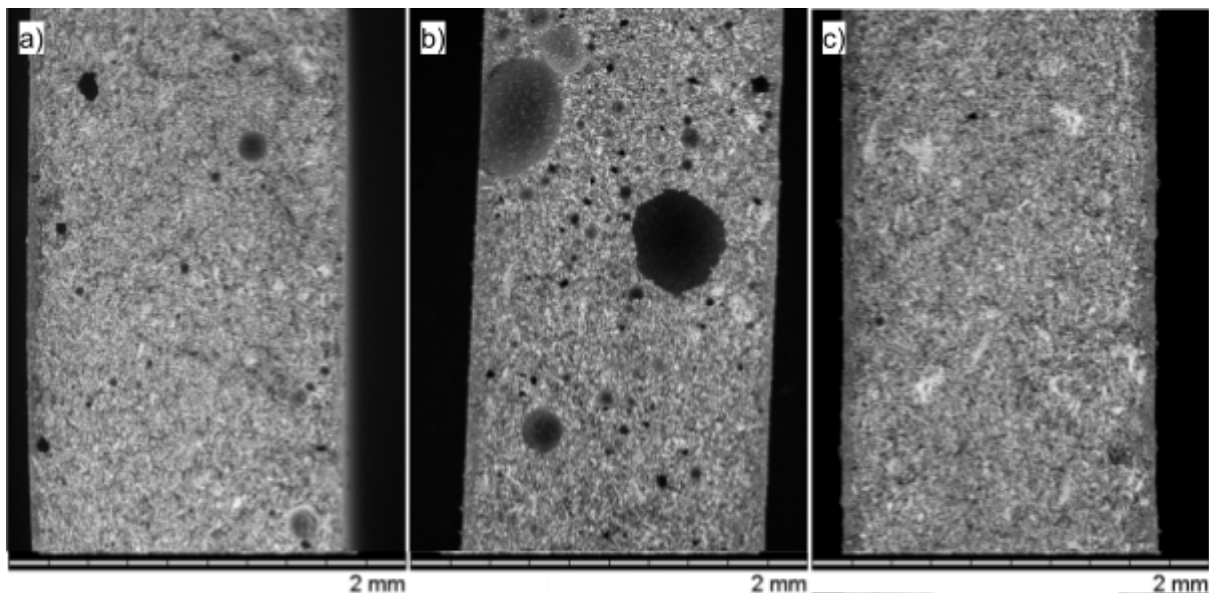


Figura III.iii: Superfici di frattura di TMTATOxTATATO 58HA-w senza (a: miglior campione, b peggior campione) e con (c) il processo di degassaggio in vuoto

III.iv Funzionalizzazione dei rinforzanti

Seguendo la logica introdotta in precedenza, sono stati scelti due diversi riempitivi per studiare l'effetto della loro funzionalizzazione sulle proprietà meccaniche del composito polimerizzato. HA-w e Bgl sono stati scelti come candidati promettenti rispettivamente per le loro proprietà meccaniche o di riassorbibilità. La Figura III.iv mostra le molecole scelte come agenti di compatibilizzazione per i riempitivi utilizzati. Il Bgl è stato silanizzato con γ -MPS, in quanto già abitualmente impiegato per la silanizzazione della silice nei compositi dentali e presenta tra le più alte proprietà di rinforzo [43]. Inoltre, la coda metacrilica fornisce un doppio legame C-C che può copolimerizzare con il TMTATO durante la fase di fotoindurimento, legando covalentemente le particelle di Bgl alla matrice polimerica.

Gli HA-w, invece, sono stati funzionalizzati con due diversi acidi fosfonici non commercialmente disponibili, PEMPA e UEMPA. Gli acidi fosfonici sono stati scelti rispetto agli organosilani perché, rispetto a questi ultimi, formano un legame più stabile con gli ossidi non a base di silice [50,51]. Il gruppo vinilico terminale è stato selezionato, per consentirne la copolimerizzazione con la matrice, analogamente al γ -MPS. Sono state selezionate anche diverse lunghezze delle code insature, poiché questo era ritenuto un parametro che ne influenza l'affinità verso la matrice, dunque, la loro efficacia compatibilizzante.

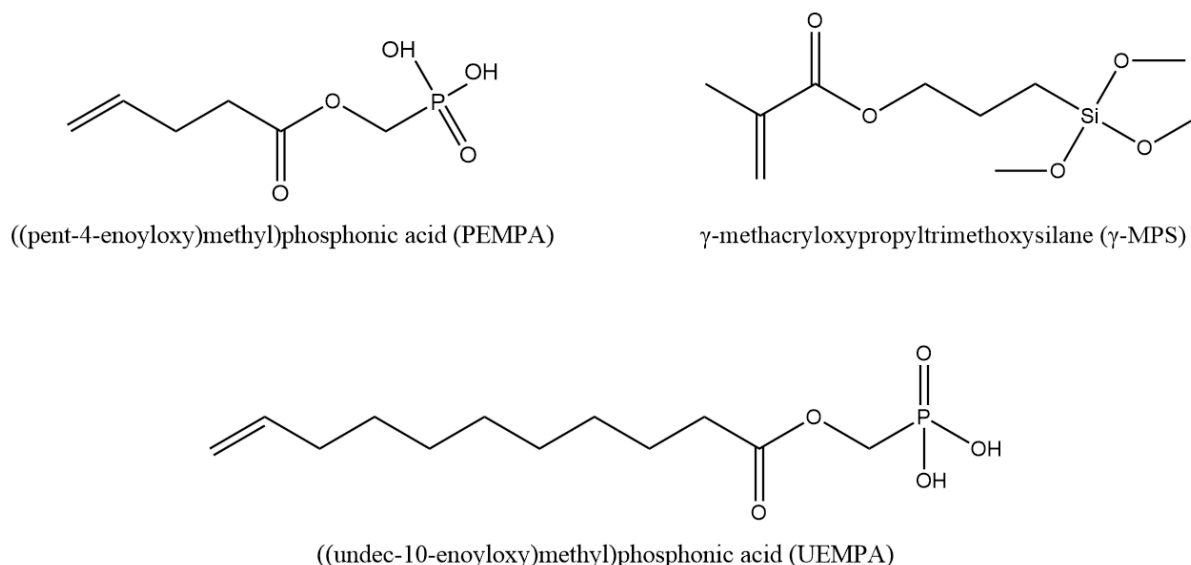


Figura III.iv: molecole compatibilizzanti usate in questo progetto

Sono state prodotti campioni di composito con il 58wt% di HA-w funzionalizzati con PEMPA e UEMPA, nonché con il 36wt% di Bgl funzionalizzato con γ -MPS. Tutti i compositi sono stati sottoposti alla procedura di degassaggio. I risultati delle prove di flessione a tre punti sono presentati nella Tabella III.iv, a confronto con le loro controparti degassate non funzionalizzate.

I compositi con HA-w funzionalizzato non hanno mostrato un miglioramento delle proprietà meccaniche. Anzi, sorprendentemente, sembrano mostrare un modulo di flessione

leggermente inferiore, significativo solo per l'UEMPA, mentre tutte le altre proprietà rimangono invariate. Le cause di questo effetto negativo non sono state indagate per motivi di tempo, ma potrebbero essere simili a quelle riscontrate da Altan et al. [85], dove alcuni compatibilizzanti hanno portato all'aggregazione delle particelle e a una dispersione meno efficiente. Altre possibilità potrebbero includere una scarsa interazione tra i compatibilizzanti ed il TMTATO, ostacolandone la copolimerizzazione.

D'altra parte, il composito con Bgl silanizzato ha mostrato notevoli miglioramenti di tutte le proprietà meccaniche. L'aumento del modulo essendo il più modesto, pari solo al 20%, la resistenza alla flessione è aumentata del 120%, la deformazione a rottura del 160% e l'energia a rottura del 500% circa. L'energia a rottura è un parametro particolarmente importante, poiché è strettamente legato alla resistenza agli urti e alla fragilità di un materiale. Sebbene non si preveda che le viti per fissazione ossea subiscano impatti significativi dopo l'impianto, un'elevata tenacità facilita notevolmente la manipolazione da parte del chirurgo, riducendo il rischio di rotture indesiderate. Confrontandola con la formulazione con HA-w, presenta solo circa il 60% del suo modulo, ma la resistenza e l'energia a rottura aumentano rispettivamente del 40% e del 400%.

Osservazioni al SEM delle superfici di frattura sarebbero state auspicabili, ma non sono state possibili a causa di un guasto allo strumento e dei limiti di tempo.

Tabella III.iv: Proprietà meccaniche di compositi degasati a matrice TMTATOxTATATO con rinforzanti funzionalizzati o meno.

Campioni	E_f [GPa]	σ_f [MPa]	Deformazione [mm/mm · 10 ⁻³]	Energia a rottura [mJ]
36Bgl-no degas	4.5 (0.3)	50 (3)	11.5 (0.4)	11.5 (0.9)
36Bgl+ γ -MPS	5.4 (0.1)	111 (8)	30 (0.4)	73(28)
58HA-w	9.4 (0.3)	81 (5)	10.2 (0.5)	15 (2)
58HA-w+PEMPA	8.5 (0.6)	81 (6)	10.3 (0.6)	15 (2)
58HA-w+UEMPA	8.1 (0.3)	79 (3)	10.7 (0.9)	16 (2)

III.v Confronto di proprietà meccaniche

L'aggiunta della degassificazione, così come l'introduzione di Bgl silanizzato o HA-w, ha esteso il confine delle proprietà meccaniche delle formulazioni AdhFix, aumentando rispettivamente la tenacità e la resistenza o il modulo elastico. La Figura III.v presenta un diagramma di Ashby resistenza-modulo a flessione delle formulazioni AdhFix contenenti 56HA con o senza degasaggio, 36BGL non degasato, 36BGL+ γ -MPS degasato, 58HA-w degasato. Sono inclusi anche i valori di un polimero tiolo-enico non caricato sviluppato in precedenza [20], di polimeri disponibili in commercio, ovvero PLA e un composito di fibre PLA/PGA 70:30 [90], nonché di PEEK [91]. I valori del più forte composito riassorbibile conosciuto (utilizzato per SuperFIXSORB-MX[®]) non sono inclusi in quanto fuori dai valori

degli assi, ma sono riportati nella tesi in sezione 2.2.3 con modulo di flessione e resistenza rispettivamente di 12 GPa e 270 MPa [53].

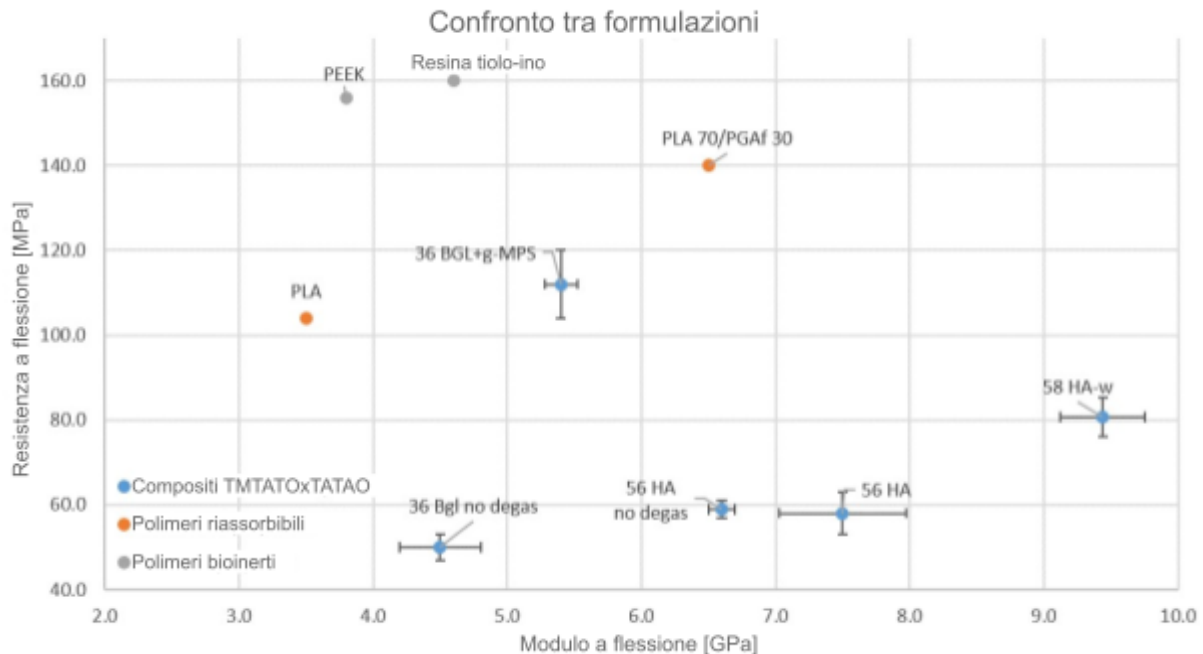


Figura III.v: Proprietà meccaniche di diverse formulazioni AdhFix, resina tiolo-ino, e materiali polimerici biomedicali commercialmente disponibili

III.vi Fissazione di fratture modello

Viti bicorticali in materiale composito sono state prodotte con diametri (\varnothing) di 1.5 e 2.5 mm utilizzando TMTATOxTATAO 36BGLs+ γ -MPS. Questa formulazione è stata scelta in quanto presentava la massima resistenza a flessione ed energia a rottura, riducendo così il rischio di rottura accidentale dovuta a una manipolazione errata durante l'inserimento. Sono state quindi utilizzate al posto delle viti metalliche per la procedura AdhFix su fratture trasversali modello su metacarpi suini. Qualitativamente, la differenza rispetto alle viti prototipo presentate in Tabella III.i.a è evidente, poiché delle quattordici viti da \varnothing 1.5 mm contenenti 36BGL+ γ -MPS, solo due si sono rotte durante l'inserimento, rispetto alla totalità delle viti con 56HA da \varnothing 2 mm di cui alla Tabella III.i.a. Di queste due, una presentava un'ampia cavità nel gambo, sulla superficie di frattura, mentre l'altra si è rotta a causa di una manipolazione errata dovuta all'applicazione di una sollecitazione di taglio tramite un movimento involontario della mano. Sebbene questi risultati mostrino un grande miglioramento rispetto alla formulazione convenzionale, la sensibilità di queste viti ai carichi involontari rappresenta uno svantaggio importante per una futura applicazione clinica. L'aumento delle dimensioni delle viti a solo \varnothing 2.5 mm, tuttavia, conferisce loro una resistenza e proprietà meccaniche di gran lunga superiori, suggerendo che il loro utilizzo potrebbe essere preso in considerazione per fratture più grandi.

La Figura III.vi (sx) presenta i risultati a flessione di fratture metacarpali suine con BFPs di TMTATOxTATAO 36BGL+ γ -MPS e fissate alle ossa con viti composite \varnothing 1.5 mm e \varnothing 2.5 mm, o con viti metalliche (Ti6Al4V) \varnothing 1.5 mm, rispettivamente la prima, seconda e terza colonna da sinistra. La quarta colonna rappresenta la tecnologia attuale, ovvero BFPs prodotte con la formulazione prototipo di AdhFix ed fissate con viti \varnothing 1.5 mm metalliche. A destra (dx), i

risultati sono normalizzati rispetto alla superficie delle fratture per ottenere valori che tengano conto, anche se in maniera molto approssimativa, dello spessore del patch.

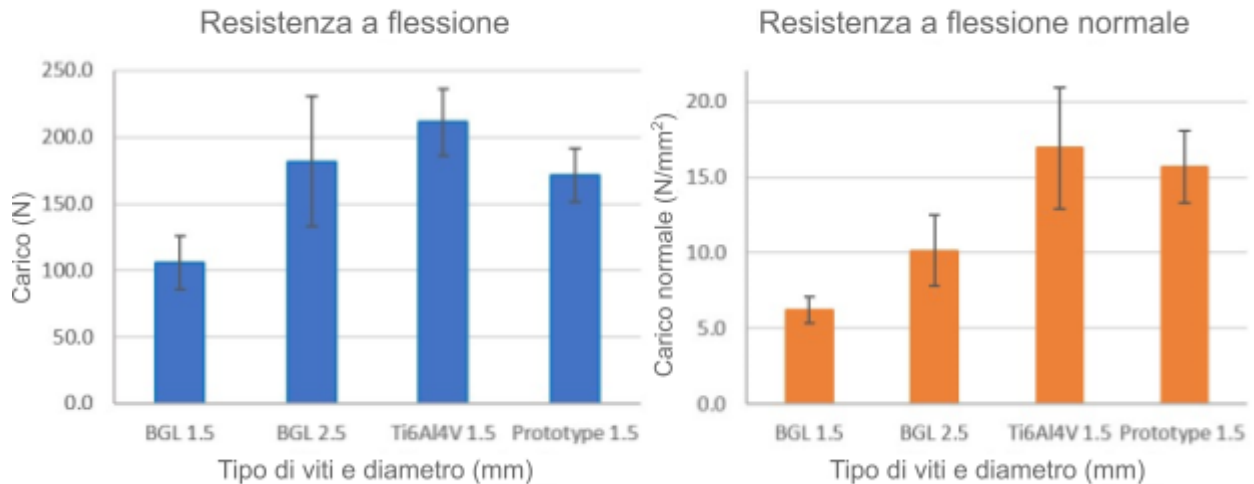


Figura III.vi: resistenza a flessione di BFPs di TMTATOxTATATO 36BGL+ γ -MPS (sx) e resistenza a flessione normalizzata (dx) con diverse viti (da sinistra a destra: \varnothing 1.5 e \varnothing 2.5 mm in composito, \varnothing 1.5 mm metal) confrontati con i BFPs di formulazione prototipo con viti \varnothing 1.5 mm metalliche.

Questi risultati mostrano chiaramente che la resistenza dei BFPs completamente in composito è limitata dalle dimensioni delle viti. I BFPs con viti da \varnothing 2.5 mm hanno mostrato un aumento significativo della resistenza, raggiungendo risultati paragonabili a quelli ottenuti con viti metalliche. La resistenza normalizzata sembra confermare questa tendenza, sebbene sia evidente una maggiore differenza tra i BFPs con viti metalliche e quelli con viti composite da \varnothing 2.5 mm. Il fatto che le viti da \varnothing 1.5 mm siano il fattore limitante della resistenza è ulteriormente supportato dal fatto che durante i test, la rottura è avvenuta al collo delle viti, con conseguente distacco del BFP. Al contrario, quelle in composito da \varnothing 2.5 mm, hanno subito la frattura del patch stesso. In quest'ultimo caso, la frattura ha riguardato l'interfase patch-testa di vite, come nel caso delle viti metalliche, suggerendo che tale regione offre una resistenza inferiore rispetto al patch massivo o agisce come regione di concentrazione degli sforzi.

Sebbene i sistemi completamente compositi appaiano meno resistenti dei BFPs prototipo, i BFPs realizzati con la nuova formulazione 36BGL+ γ -MPS mostrano una resistenza comparabile o superiore nonostante l'introduzione di componenti riassorbibili. Inoltre, pur avendo la minor resistenza tra quelli analizzati, i BFPs completamente in composito con viti da \varnothing 1.5 mm sono meccanicamente equivalenti, se non superiori, alla resistenza dei K-wire, che cedono dopo 80 (6) N [3].

IV. Conclusioni

Poiché l'attuale formulazione del prototipo AdhFix non possiede proprietà meccaniche soddisfacenti per la produzione di viti di piccole dimensioni, sono state studiate tre diverse

strade per risolvere il problema: la sostituzione del riempitivo, l'aggiunta di una fase di degasaggio e la funzionalizzazione dei riempitivi con compatibilizzanti con un gruppo allilico.

La sostituzione delle particelle porose di HA con whisker di idrossiapatite (HA-w) ha mostrato il maggior miglioramento tra i riempitivi esaminati, aumentando la resistenza ed il modulo a flessione rispettivamente del 20% e del 37%. Tutti i riempitivi hanno mostrato una scarsa adesione con la matrice di TMTATOxTATATO, ma la struttura porosa dell'HA può dare origine a adesione fisica, mentre l'elevato aspect ratio dei HA-w ha garantito più punti di contatto. La formulazione con BGL non funzionalizzato ha avuto il modulo più basso a causa della minor frazione di rinforzanti.

L'aggiunta di un degasaggio in vuoto ha ridotto significativamente la porosità del materiale, ma gli effetti sulle proprietà meccaniche finali appaiono dipendere dalla morfologia del riempitivo e non sono universali. Per i riempitivi densi e non porosi, l'effetto appare essere un aumento dell'area resistente, che a sua volta migliora la resistenza del materiale. Per filler porosi, l'applicazione di vuoto potrebbe inoltre promuovere l'incastro meccanico, favorendo il trasferimento delle sollecitazioni.

La funzionalizzazione dei filler ha dato risultati contrastanti. Il BGL funzionalizzato con γ -MPS e degassato ha migliorato notevolmente le proprietà meccaniche del composito, con un aumento del 120% della resistenza alla flessione e del 500% dell'energia a rottura. D'altra parte, i HA-w funzionalizzati con acidi fosfonici non hanno mostrato alcun miglioramento nelle capacità di rinforzo. Le cause di questo effetto non sono state investigate in questo progetto, anche se si ipotizza che possano essere legate a una bassa area superficiale specifica, a una funzionalizzazione incompleta o a un'interazione inadeguata tra il compatibilizzante e la matrice polimerica.

Infine, sono state prodotte viti di $\varnothing 1.5$ e 2.5 mm in TMTATxTATATO 36BGL+ γ -MPS per testare patch di fissazione ossea completamente composti. La loro resistenza è risultata limitata dalle viti quando sono state utilizzate quelle da $\varnothing 1.5$ mm, sebbene superassero comunque la resistenza allo snervamento dei K-wire. I BFPs completamente composti con viti da $\varnothing 2.5$ mm hanno mostrato una resistenza paragonabile, se non superiore, ai BFPs realizzati con la formulazione prototipo con viti metalliche. Nel complesso, è stato dimostrato che è possibile ottenere un sistema di fissazione ossea completamente composito e personalizzabile basato su composti a matrice tiolo-ene. Inoltre, l'introduzione di fasi riassorbibili non ha compromesso la resistenza dei BFPs.