



**Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino**

**Appunti universitari**

**Tesi di laurea**

**Cartoleria e cancelleria**

**Stampa file e fotocopie**

**Print on demand**

**Rilegature**

NUMERO: 1555A -

ANNO: 2015

# **A P P U N T I**

STUDENTE: Bettale

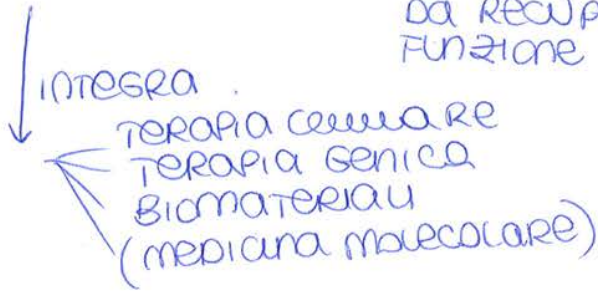
MATERIA: Medicina rigenerativa + Temi d'esame. Prof.Chiono

Il presente lavoro nasce dall'impegno dell'autore ed è distribuito in accordo con il Centro Appunti.

Tutti i diritti sono riservati. È vietata qualsiasi riproduzione, copia totale o parziale, dei contenuti inseriti nel presente volume, ivi inclusa la memorizzazione, rielaborazione, diffusione o distribuzione dei contenuti stessi mediante qualunque supporto magnetico o cartaceo, piattaforma tecnologica o rete telematica, senza previa autorizzazione scritta dell'autore.

**ATTENZIONE: QUESTI APPUNTI SONO FATTI DA STUDENTIE NON SONO STATI VISIONATI DAL DOCENTE.  
IL NOME DEL PROFESSORE, SERVE SOLO PER IDENTIFICARE IL CORSO.**

Medicina RIGENERATIVA = SOSTITUISCE O RIGENERA le cellule, i tessuti e gli organi umani, in modo da recuperare la normale funzione



cellule umane

- somatiche specializzate
- staminali adulte CSA (MULTIP<sup>AUTO</sup>)
- derivate da staminali embrionali CSE (TOTIP<sup>etero</sup>)
- somatiche riprogrammate e indotte con pluripotenza iPS (PurIP<sup>auto</sup>)

cellule staminali

alternative al T.E

- autotrapianto
- allotrapianto
- xenotrapianto
- protesi
- trapianto di organi

Ingegneria dei tessuti = campo multidisciplinare che applica i principi dell'ingegneria dei tessuti e delle scienze della vita x la realizzazione di sostituti biologici che ripristinano o migliorino le funzioni di tessuti o organi

Produzione di tessuto grazie alla crescita di cellule in scaffold porosi e assorbenti

- Fonti di cellule
- Angiogenesi
- Innervazione
- Validazione e inserimento nel mercato
- Caratt. meccaniche
- Integrazione chirurgica
- Infiammazione



Scaffold = impalcatura x mantenere nella giusta posizione le cellule

- Biodegradabile
- Attivo
- con cellule
- Comunicante
- Adesione e proliferazione cellule
- Formazione tessuto
- Struttura 3D porosa
- Prop. meccaniche
- Biodegradabilità
- Biocompatibilità
- Chimica superficiale
- Facoltà di adesione e migrazione





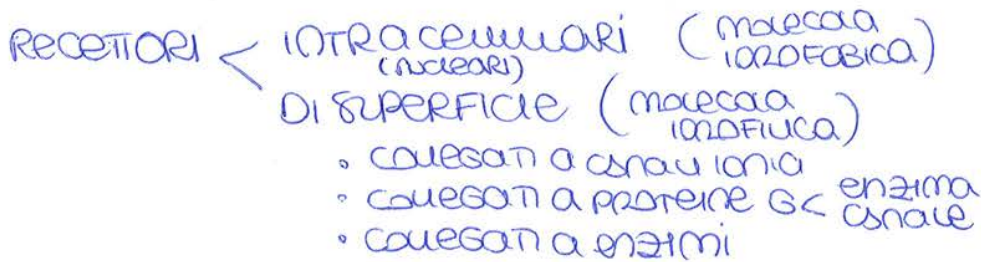
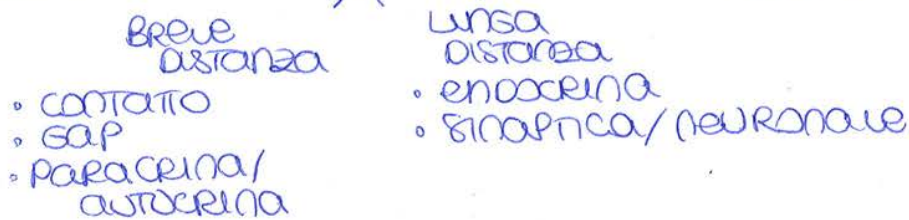
## Interazioni cell-cell

### - Recettori CAMs (Glicoproteine transmembranae)

- Cadherine < <sup>classe:</sup> act-act
- Selectine < <sup>NC:</sup> filum-
- Immunoglobuline (Integrine)



## Interazioni cell-molecole segnalazione



Impo molecole di segnalazione sono **GF** = polipeptidi rilasciati dalle cellule  
 Basse concentrazioni  
 Locali - non selettivi  
 Recettori di membrana di tirosina chinasi (RTK) che autofosforilano residui di tirosina (con attività enzimatica)

- IGF - FGF - TGF - BMP - NGF

Terapie GF =

- sistemi rilascio di GF (funzionalità scaffold)
- terapia cellulare
- terapia genica

Problemi

- dosi, [GF]
- no selettività
- vita breve
- somministrazione locale
- stabilità fisico-chimica

# DEGRADABILITÀ

BIOSTAZILI  
BIODIVERSI

vs

BIODEGRADABILI  
BIOPERDIBILI (SUP X ENZIMI)  
BIORASSORBIBILI (PRODOTTI)

- Velocità di degradazione appropriata x <sup>RISPOSTA</sup> - infiammazione x PRODOTTI

influenzata da: composizione chimica, PM, Poidi spersità, morfologia (CRIST), SITO IMPIANTO, FORMA, DIMENSIONE, TIPO DEGRADAZIONE

GRUPPI < IONOFILI PEG, ESTERI -O-, IONOFILI PCL CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>,  $\begin{matrix} O \\ || \\ C-N \\ | \\ S \end{matrix}$ ,  $\begin{matrix} O \\ || \\ C-N \\ || \\ S \end{matrix}$

modalità < omogenea, massa < (RA) IONOFILI, FILM  
eterogenea, superficiale IONOFILICI, FIBRA, ENZIMI

## MECCANISMI

- IDROLISI: POLIESTERI, POLIAMMIDI, POLICARBONATI, POLIURETANI  
(PCL) (PRODOTTO ACIDO + ALCOOL)
  - OSSIDAZIONE: DIRETTA DELL'OSSIGENO (x INFIAMMAZIONE)  
(PEG) PRODOTTA DA IONI METALLICI DA CORROSIONE AMBIENTE ESTERNO (RAGGI UV)
  - ENZIMATICA: IDROLISI < ESTERASI  
(SUPERFICIALE) < PROTEASI  
(VELOCE) < COLLAGENASI "APGL + PEG + APGL"  
(LOCALIZZ) < ELASTASI AAAA
- includere sequenze attaccate da ENZIMI

MECCANISMI

- I separazione in frammenti UNBARICATI RETICOLATI
- II SOSTITUZIONE GRUPPI WATERALI DA IONOFILICI A IONOFILI
- III DA OLIGOMERI A MONOMERI

che polimeri? < COLLAGENE, GELATINA, CHITINA, CHITOSANO, ACIDO IALURONICO  
PLLA, PGA, **PLA**, PCL, PHA, PLGA  
PEG  
PU NH-C=O

PU

- HARD + SOFT = elastomerici



# POI BISOGNA ANALIZZARE LA FUNZIONALITÀ

## analisi

### QUALITATIVA

- presenza
- TEST ANGOLO DI CONTATTO
- ANALISI INFRAROSSO

### QUANTITATIVE

- QUANTO NE È RIMASTO
- SAGGIO COLORIMETRICO

### SI VALUTANO:

TEST CELLULARI IN VITRO



- adesione cellulare (1-4h)
  - SPREADING "
  - RIORGANIZZAZIONE CITOSCHELETRO
  - FORMAZIONE ADERENZE FOCALI
  - PROLIFERAZIONE
  - MORTALITÀ
- analisi al MICROSCOPIO OTICO }  
TECNICHE MICROSCOPICHE  
SEM  
M.A.F.W.

## esempio: RGD (valutare specificità legame)

CONTROLLI:  
NEGATIVI

- NO RGD
- RGE/RAD } peptide non attivo
- RGD
- cell senza integrina

CONTROVARE:

- attività peptide → giusta conformazione con ammina di affollamento
  - sequenza → dipende da conformazione
  - accessibilità → spacer x esporsi (13 giorni)
  - densità →  + cellule aderite se + densità
  - distribuzione → meglio in cluster
  - preservazione caratteristiche → serve x la migrazione cell (gradiente x una direzione)
- ↓  
strategie anti-fouling con PEG
- ↓ dipende dal peptide ≠  si muovono verso ↑ densità ma ↓ produzione ECM

altre RGD,

KRAGDV  
CRRETAWAC  
REDV, LDV  
DGEA

X RECEPTORI  
non  
INTEGRINI  
(PROTEOGUCANICI)

{  
LAMININA  
YIGSR  
IKVAV  
α5β1  
GLUCOFID

## COMPOSIZIONE e FUNZIONALITÀ SCAFFOLD

### - PROTEINE

- |                         |   |  |                                 |
|-------------------------|---|--|---------------------------------|
| E<br>C<br>M             | • COLLAGENE   | Da Reticolare x materiale base (costa)<br>sequenze RGD   | F<br>I<br>B<br>R<br>O<br>S<br>I |
|                         | • GELATINA  | Da Reticolare x materiale base<br>Denaturazione acida / basica del collagene                   |                                 |
|                         | • FIBRONECTINA  | Molecola di funz x adesione<br>attiva - integrina - collagene                                  |                                 |
|                         | • ELASTINA  | Insolubile $\Rightarrow$ NO base<br>PEPTIDI DERIVATI x funzionalizzare                         |                                 |
|                         | • FIBRINA   | Da FIBRINOGENO + TRAMBINA x COAGULO<br>adesivo biocompatibile, idrogel x rilascio farmaci      |                                 |
|                         | • LAMININA  | Molecola x funzionalizzazione  |                                 |
|                         | • VITRONECTINA  | " "  |                                 |
|                         | • KERATINA  | sequenza LQV x adesione cell x integrine   |                                 |
|                         | • SETA  | guanina-alanina (beta sheet anti //)<br>resistente e flessibile                                |                                 |
|                         | • PROTEINE adesive dei molluschi                      | (DOPA) <sup>TIROSINA</sup><br>biobestivi, gel iniettabili e riempitivi, rivestimento x coating |                                 |
| • PROTEINE ricombinanti | (x le altre derivato da animali)<br>(tecnica DNA ric) |  |                                 |

### - POLISACCARIDI

x adesione cell mediata da recettori non integrinici

- |             |                     |                             |
|-------------|---------------------|-----------------------------|
| E<br>C<br>M | • GAGS              | AI<br>CS<br>DS<br>CHS<br>ES |
|             | • ALGHE             | agar<br>iniettabilità       |
|             | • CHITINA-CHITOSANO |                             |

invece degli SCAFFOLD:

- Gel di ECM solubilizzata
- Matrici cellularizzate integre
- MATRIGEL = substrato commerciale mimalamina basale

SCAFFOLD BIOPRINTATI < missive  
Rivestimenti superficiali

(9)

## Rigenerazione ossea

- osteoblasti
- cellule staminali osteoprogenitrici
- FIBRONECTINA →  $\alpha_5\beta_1$
- COLLAGENE →  $\alpha_2\beta_1$

1° Gen: RGD  
+ AMFOLLIN  
+ AA. AFFIANCATE

2° Gen: RGD + RCEIT PROTEO  
RGD + PHSRV  $\alpha_5\beta_1$   
≠ RGD



# RESUME T.E e REQUISITI X SCAFFOLD

FUNZIONI

- Matrice x adesione cellule
- RINFORZO STRUTTURALE
- BARRIERA
- VEICOLI DI RILASCIO

IMPORTANZA DI

- **Composizione chimica** [NH<sub>2</sub>] ← Urologi (lamina) / Chitosano
    - scelta materiale (Base/ Funzionanti)
    - Regola adesione
    - Influenza
    - approccio biomimetico
  - **Architettura/Struttura Pori**
    - Tecniche di fabbricazione
    - Porosità
    - Φ Pori (10/100 μm)
    - Interconnessione
    - Orientamento
    - Modificabili
  - **Velocità di degradazione**
    - veloce → vs struttura/INFLAMM
    - lenta → vs RIGE
  - **Proprietà meccaniche**
    - Supporto - Rigido
    - Sollecitazioni elastiche
    - miscelano polimeri ≠
    - ricolazione nei naturali
- ↳ **Adesione**  
 ↳ **Miscelazione**  
 ↳ **Morfologia**  
 ↳ **Migrazione**  
 ↳ **Rigido x fibroblasti**  
 ↳ **↓ E ↑ Calogere**  
 ↳ **Morfologia**  
 ↳ **Migrazione**

## Tecniche di fabbricazione = serie una struttura gerarchica porosa

convenzionali

- Metodi delle schiume
- Metodo degli amidi
- Metodo bruciare fase org
- Metodo spugna polimerica
- ✓ Solvent casting
  - Gas foaming
- ✓ Emulsione + liofilizzazione
- Separazione di fase: TIPS, IIPS
- Metodi di spinning: melt-dry wet
- ✓ elettrospinning
- fibre d'aria

non convenzionali

- PROTOTIPAZIONE RAPIDA
- Laser
  - SLA: stereolitografia
  - SLS: sinterizzazione laser selettiva
- UGED:
  - FDM: modellamento deposizione fuso
  - PAM: microsintesi assistita pressione
  - 3D: Bioplotter
- Stampaggio classico
  - 3D PRINTING

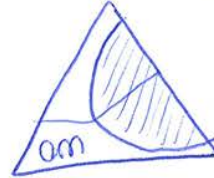
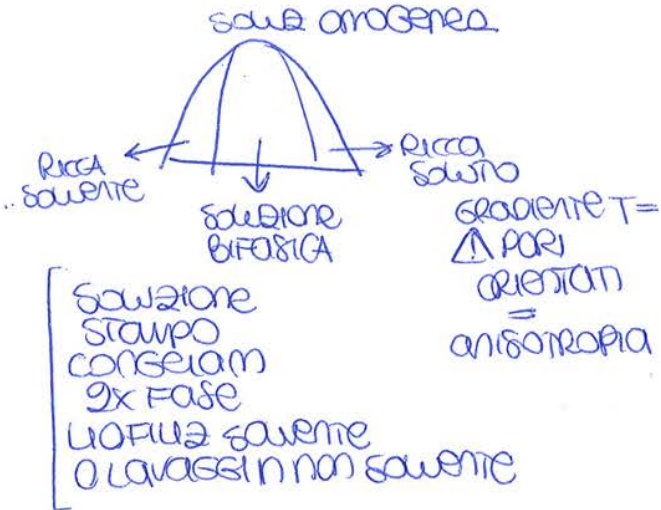
↳ ORGAN PRINTING

(13)

★ Separazione di fase = smiscelamento

- RIPS reazione
- DIPS diffusione (sp+valore)
- TIPS  $\downarrow T, \downarrow$  quantità solvente

- IIPS immersione in un bagno di non solvente



4.3

★ SPINNING

- MELT = FUSO + estrusione +  $\downarrow T$  = FIBRA
- DRY = soluzione + " +  $\uparrow T$  aria = FIBRA  
x evaporare solvente } > 10  $\mu m$
- WET = UMIDO x polimeri che non fondono e non si sciolgono  
polimeri + estrusione in BAGNO UMIDO = REAZ. FASE  
= PRECIPITA IL POLIMERO

★ ELEKTRO SPINNING

Pompa + girante + cono Taylor +  $\Delta V$  + gelato + distanza + cassetto } 100nm

$\downarrow \Phi$   $\left\{ \begin{array}{l} \uparrow \Delta V \\ \uparrow \text{distanza U-C} \text{ (3)} \\ \uparrow \text{continuità soluzione} \end{array} \right.$

$\uparrow \Phi$   $\left\{ \begin{array}{l} \uparrow \text{velocità flusso} \text{ (2)} \\ \uparrow \text{concentrazione polimerica (viscosità)} \text{ (1)} \\ \uparrow \text{quantità solvente (macropori)} \end{array} \right.$

$\neq$  dimensione fibre =  $\neq$  differenziazione < neurone  $\uparrow$  nm  
guai  $\downarrow$  nm

★ FIBRE CIVE

- DRY-JET-WET SPINNING  $\mu m$
- CO-AXIAL ELECTRO SPINNING nm

(15)



# ORGAN PRINTING

PREPROCESSING : immagine + modello  
 PROCESSING : deposizione materiale e cellule  
 POST PROCESSING : perfusione e maturazione applicazioni

imaging modello: approccio  
 - biomimetico  
 - autorganizzazione  
 - miniaturati  
 selezione materiale  
 selezione cell  
 BIOPRINTING

Δ Vascolari < GF  
 presenza di C. Endoteliali  
 Δ Materiale di supporto

# celle staminali

non differenziata  
 auto rinnovamento  
 proliferazione ∞ (asim.)  
 totipotente < Pluri (E)  
 espressione dei geni della staminalità  
 Multi (A)

Potenza = possibilità di differenziazione  
 • TOTI : zigote/morula  
 • PLURI : CSE (MCI)  
 • MULTI : CSA  
 • UNI : CARCINOGENICI

## CSE

### COLTIVAZIONE IN VITRO

Le CSE necessitano di uno strato di fibroblasti mitoticamente inattivo (feeder layer) che hanno un effetto paracrina secretando GF e segnali di non differenziamento (citochina, UF)

alimenti → corpi embrionali → pronuclei → diff. caotico

### DIMOSTRAZIONE PLURIPOTENZA

- VIVO → CSE iniettate sottocute → teratomi  
 diff. casuale
- VIVO → CSE iniettate blastocisti → chimerica  
 Teratoma al seno
- VITRO → CSE + GF = ≠ differenziamenti

### SEGNALI DELLA STAMINALITÀ

si paragona il trascrittoma → con la tecnica del microarray

### 200 geni co-espressi (CSE-C81-C8N)

Fattori trascrizionali espressi: Oct-4, Nanog, Sox3 + citochine  
 ↓ NO BLASTO NO EMBRIONE



### embrione:

↓ zigote  
 ↓ morula  
 ↓ BLASTOCISTI



CSE = embrioni in esuberanza dalla fecondazione in vitro



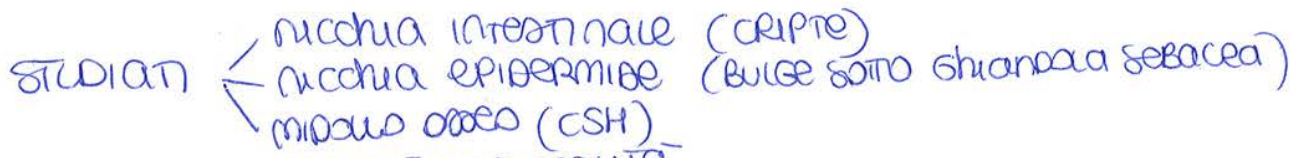
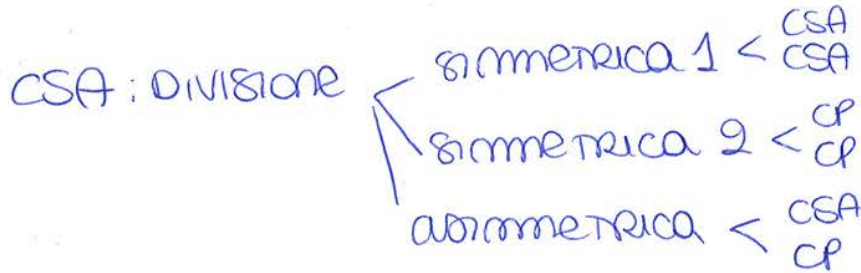
Le cellule di supporto ricevono ECM e comunicano con le ASC direttamente xk sono a contatto e indirettamente x la produzione di fattori solubili (effetto paracrina)

Le CSA sono quindi sottoposte ad un insieme di segnali

- Diretti ("") (da cellule del supporto)
- Paracrini
- Metabolici
- Fisici (dalla nicchia)
- Neurali
- Umorali (dalla circolazione sanguigna)
- Strutturali (dalla nicchia)

che bilanciano la sua attività

↓ Nicchia  
 TERROTO  
 STATO INDIVIDUO  
 FATTORI ESTERNI  
 Segnalazioni che arrivano dall'ORGANISMO



AGEING < CANCRO  
 invecchiando la nicchia, invecchiano le staminali

- ↓ CS
- CS non funzionali
- CP " "
- senescenza
- MUTAZIONI

risultato de ← microangiogenesi / circolazione giovane

**CSH** • in midollo osseo e sangue e cordone ombelicale e CSE e IPS  
 Rare - non si distinguono  
 Trapianto di midollo osseo  
 → non proliferano o differenziano in vitro  
 Fox Diff in cardiomiociti in certe condiz

**CSM** • osso - tessuto adiposo sono in fo' diverse  
 - osso - cartil - muscolo - stroma - legam - adipociti - nervoso - in vivo  
 condrociti - adipociti - osteoblasti in vitro (a seconda del substrato)  
 forse cardiomiociti

Plasticità  
 TRANSDIFFERENZIAMENTO  
 la loro urea in reattiva e dai vari segnali e dal microambiente  
 ex: ematopoietiche nel C → cardiomiociti

# APPROCCI X CS

- espanderle FEEDER layer (cse)
  - ⚠ xk bisogna mantenerle indifferenziate
  - ⚠ tempo
  - ⚠ short long feedback autorinnovamento
- materiali sintetici vs animali
  - ⚠ integrazione coi tessuti
- CLONARLE
- CAMBIARLE geneticamente
- RIMMETTERLE in organo

Poi impianto con o senza scaffold

- • DIFFERENZIARLE
- chimici
  - TOPOGRAFICI
  - meccanici
- ⚠ TERATOMI  
altri tessuti
- ≠ GF, proteine
  - Nanoparticelle con fattori bioattivi
  - si regola il rilascio
  - si proteggono
  - si risolvono problemi di sintesi
  - Gruppi chimici in superficie
- ~
- dimensione / conformazione / simmetria
- grazie a motonezi rapida
- ex >nm neuroni  
<nm cell. glia
- modulo elastico
  - canali (cell. miocardiche)
  - prop. mecc x adesione
  - stimoli chimici

- ① Biomateriali come sistemi x espansione e diff. cs
  - ② " " x espansione clonale di cells ingegnerizzate modificate geneticamente
  - ③ Biomateriali come sistemi di rilascio di stimoli in vivo
  - ④ " " x differenziare cs
- ↳ stimoli ← chimici  
topografici  
meccanici



## STRATEGIE X COATING **ANTI Trombogenico**

① RIVESTIMENTI INORGANICI  
**AL CARBONIO PIROLITICO** (ripoco x la restenosi)  
 AL Ti-Ni-ossido (barriera vs ioni metallici)  
 ↓ adesione PT ↑ adesione endotelio  
 ↓ proliferazione C.M. usce  
 ↓ restenosi

② RIVESTIMENTI ORGANICI  
 con polimeri ANTIFOUUNG  
 fosforilcolina x mimare GR

③ RIVESTIMENTI ORGANICI  
 con polimeri BIOTIVIX **simulare endotelizzazione**

- con eparina vs plastrine (vs trombo)
- x sostituire EPC ← poche
- si funzionalizza con anticorpo CD 34 → GENUS
- // // PEPTIDI x INIBIRE adesione PT / CMLISce  
 FAVORIRE adesione CE
- si funzionalizza con PEG x azione antifouling
- CRRETALWAC  
 PEOVA (PEG) ← anti fouling  
 spacer  
~~PEG~~ **CE NON FAVORITE DAL PEG**

## STRATEGIE X COATING **ANTI restenosi**

① RIVESTIMENTI INORGANICI  
 AL Ti-Ni-ossido  
 AL IrOIO-ossido - ossido = barriera al rilascio di ioni metallici che ↑ reaz infiamm  
 catalizza decomposizione H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>  
 trombo x CE

② DES STENT A RILASCIO DI FARMACI  
 ⚠ x<sup>o</sup> al farmaco che è generico  
 bucco ciclo CML ma anche C.E  
 tarda endotelizzazione → LATE thrombosis

DES = STENT con copertura polimerica che rilascia farmaci ANTIPROLIFERATIVI (tossici)

STRATI DI

- 1<sup>o</sup>G : polimeri BIOTAZIUMI ← restenosi
- 2<sup>o</sup>G : polimeri BIOTAZIUMI MACCOMPATIBILI ← CYBER TAXUS } polimeri deperdibili superfici non polimeriche
- 3<sup>o</sup>G : polimeri BIOTAZIUMI DEGRADABILI x IDROUSI (poliesteri) ~~del~~ } co-cr + Acidi emulsione fosforilcolina x usce

Al coating polimerici che danno problemi → ↑ infiammazione

1/2/3/4 si cercano farmaci selettivi (tacrolimus)  
 si usano + farmaci in combinazione  
 in usce polimeri - osare stenti BIOTAZIUMI



# RIGE - TERAPIA CELLULARE

- INFARTO:
- 1 morte cardiomiociti + necrosi
  - 2 infiammazione acuta + degrado ECM
  - 3 riformazione tessuto + endosteuai fibroblasti → ECM rigida ✓
  - 4 si perde la vascolariz
  - 5 si forma la cicatrice
- vasti sanguigni x  
→ ECM rigida ✓

- RIGE:
- ↓ infiammazione
  - ↓ degradazione ECM (inibire fibrosi)
  - ↑ vascolariz
  - ↑ reclutamento EPC
  - ↑ cardioprotezione
  - ↓ apoptosi
- } **Paracrine**

⇒ **↑ cardiomiogenesi** = rimpiazzare cardiomiociti morti

## Via endogena

- stimolare proliferazione cardiomiociti rimasti
- ⚠ bassa proliferazione (sono diff. finiti) (non)
  - vs ZEBRAFISH dove i cardiomiociti regressano al progenitori staminali che proliferano e si diff.
- reclutare staminali da circolazione sanguigna (formate nel midollo osseo)

CSematopoietiche → diff. in cardiom. in certe condizioni

CEndoteliali → non diff. in cardiom. ma vascolariz

CSmesenchimali → forse plastiche transdifferenziamento

- ⚠ poche
- ⚠ regione non ottimale ma ottive
- infamm
- ↓ vascolariz

- reclutare cellule staminali cardiache presenti nel cuore
- ⚠ stabi //

Patch  
inattivo

INSTRUMENTAZIONE INVASIVA  
MINIMALE  
TRANSENDOTELIALE  
INTRACORONARIA

## Via esogena

### TERAPIA CELLULARE (senza scaffold)

PRELIEVO CSA  
CULTURA  
IMPIANTO

### TANTE DOMANDE! (?)

- CSE diff. in vitro ma eterologhe X
- CSA, poche ma autologhe ✓
- IPS? (ricerca) ?

### TRANSDIFFERENZIAMENTO (≠ PLASTICITÀ)

- mioblastische entz. → aritmia non si integrano si contraggono cm muscoli
- dal midollo osseo  
CSH  
CSM → PLASTICITÀ  
CPE → vascolariz
- cellule staminali miocardiche

**Homing** = si integrano le cellule dopo la fase acuta dell'infarto (28gi)

**Homing** = scarsa efficienza dopo poco mioblasti  
↓ ritenzione cellulare

**Integrazione elettro-mecc**  
vs aritmia  
E=8-10 kPa ↓ 



• CONDUITIVITÀ → ECAT IN AUGINATO  
 PPTI PAUMERO INTRUSAMENTE BIOCONDOTTORE  
 POLIANILINA

PU → elastomeri termoplastici con memoria di forma data dai  
 legami fisici  
 ↓ SOFT/HARD  
 pesu estensori si mettono peptidi riconoscibili  
 dalle proteasi x ↑ degradazione

Funzionalità → preati ← Plasma con maschere  
 Layer by layer  
 ↓ RED

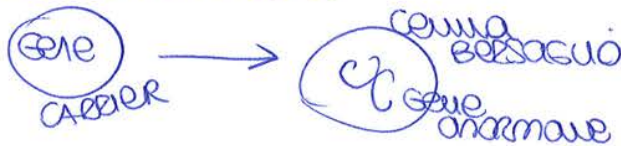
SISTEMI INERTABILI

- da l a gel sardi
- fisici con T, PH, molecole, PEPTIDI, sistemi affilici  
 PU+PEG
- + farmaci
- PU termosensibili

si affa il tessuto  
 oppure ◊ decellularizzati

## TERAPIA GENICA (GARDEN)

= inserimento di materiale genetico in cellule target  
 con la TRASFEZIONE



Tipologie < Germinale ~~∅~~ Trasfettare cellule staminali  
 Somatica ✓ Trasfettare cellule somatiche

Metodologie < ex vivo: Preleva-modifica in vitro - Reimpianto  
 in vivo: inserimento x via locale o sistemica  
 di gene in vettore

La trasfezione avviene saturamente con un apposito vettore < (rischiati efficienti)  
 virale  
 non (+ sicuri)

IL Gene può < Integrarsi nel genoma (cellule figlie)  
 Particella episomiale (no " " )  
 " " ma si annebbia

ESAME DI INGEGNERIA PER LA MEDICINA RIGENERATIVA -19 SETTEMBRE 2013

DOMANDE: 4 PUNTI CIASCUNA; TEMPO: 2 ore

N matricola \_\_\_\_\_

Nome e Cognome \_\_\_\_\_

1) Utilizzo di peptidi biomimetici per la funzionalizzazione di scaffold in medicina rigenerativa:

a) Scopo della funzionalizzazione; b) Alcuni esempi applicativi

La funzionalizzazione degli scaffold è una delle più importanti strategie biomimetiche: serve a inserire segnali biomimetici nel materiale degli scaffold (sulla base dello studio della ECM naturale) al fine di renderlo bioattivo. Lo scaffold deve infatti essere riconosciuto dalle cellule e interagire con esse attraverso interazioni specifiche al fine di:

- Recrutare
- Promuovere adesione, proliferazione e differenziamento

deve inoltre saper comunicare con l'ambiente esterno x

- Promuovere angiogenesi e crescita tessuto
- Favorire integrazione cellule tessuto
- Desiderarsi in modo controllato
- Indurre infiammazione troppo intensa

I peptidi sono inoltre preferibili alle proteine perché

- Funzione specifica
- Sintetizzati chimicamente: no reazione immunitaria, no trasmissione patologie
- Più contenuti della funzionalizzazione (ex: densità peptidi)
- Minor costo

esempi applicativi

- Funz. con peptide RGD riconosciuto da molte integrine x favorire adesione cellulare non specifica
- Funz. con peptide RGD V-CRRETAWAC x adesione specifica di cellule endoteliali (x stent)
- Funz. con specifiche sequenze riconosciute dagli enzimi x la degradazione
  - APGL x collagenasi
  - AAA x elastasi

possibili metodi di funzionalizzazione

- marca:
- superf:

+ analisi successiva della funz.



NO

3) *Illustrare come progettereste una matrice nano-fibrosa per la rigenerazione della pelle seguendo i seguenti punti:*

a) **tecnica di preparazione della matrice:**

ELETTROSPINNING

b) **polimeri utilizzati e il motivo della loro selezione:**

c) **architettura/morfologia dello scaffold**

d) **Tipi di cellule utilizzati in caso di scaffold cellularizzati**

5) Illustrare brevemente i metodi conosciuti per ottenere un rilascio locale di fattori di crescita, indicando alcuni esempi applicativi.

- sistemi (scaffold) a rilascio di GF  
 matrici che rilasciano GF o.  
 matrici che possiedono sistemi (particelle) x rilascio di GF  
 - scaffold con BMP e VEGF x Rise osso
- Terapia cellulare  
 impianto cellule con o senza sistema di supporto x produzione e rilascio GF regolato dal metabolismo  
 - Rise miocardio  
 - Schwann in guaine nervose x Rise nervo periferico
- Terapia genica  
 modifica genetica di cellule con gene x esprimere i GF tramite trasfezione in vivo o ex vivo
- trattamento al plasma  
 x attivare le piastrine che producono GF

- sistemi di rilascio di GF  $\leftarrow$  sistemi di rilascio che incorporano sistemi di rilascio (particelle)  
 • Scaffold funzionalizzati  
 • Terapia cellulare  $\Rightarrow$  Schwann in guaine x Rise nervo periferico  
 • Terapia genica  $\Rightarrow$  Rise miocardio  
 • trattamento al plasma + attivazione piastrine

↓  
 BMP  
 +  
 VEGF  
 x  
 Rise  
 osso  
 Layer by  
 layer  
 Pol



7) Completare le seguenti frasi

a) Uno scaffold per rigenerazione del tessuto cardiaco deve riprodurre 3 proprietà della ECM:

- P. Meccaniche ( $E = 10 \text{ kPa} - 1 \text{ MPa}$ )  
elastomero  
Pico
- Geometria (anisotropia)  
porosità
- Interazioni con cellule (funzionalizzazione)  
(incorporazione GF)

(b) L'elettrospinning si utilizza per fabbricare scaffold nella rigenerazione del tessuto cardiaco perchè riesce a riprodurre l'anisotropia necessaria

(c) Il trasferimento di DNA nelle cellule bersaglio segue due principali metodologie

IN VIVO; → inserimento gene con opportuno vettore

EX VIVO (Facoltativo: illustrare brevemente le 2 metodologie)

preleo → transfezione → rimpianto

EX VIVO  
IN VIVO

ESAME DI INGEGNERIA PER LA MEDICINA RIGENERATIVA -10 LUGLIO 2013

DOMANDE: 4 PUNTI CIASCUNA

TEMPO: 2 ore

N matricola \_\_\_\_\_

Nome e Cognome \_\_\_\_\_

1) *Terapia cellulare per la rigenerazione del miocardio: schematicamente* indicare in che cosa consiste, quali sono le problematiche principali allo stato attuale e quali sono le possibili soluzioni per migliorarne l'efficacia.

Terapia esogena con impianto di cellule x la rigenerazione del miocardio

problematiche principali

- quali cellule
- in quale dose
- espansione e differenziazione cellule
- quando impiantare (Timing)
- come impiantare
- ritenzione cellulare
- ambiente ostile
- integrazione elettromeccanica



soluzioni

scaffold con o senza cell x aiutarle sopratutto x integrazione elettromecc (ma è inasilo!)

- terapia esogena con
- uso di cellule x la rigenerazione del miocardio
- Quali tipi di cellule
  - ← CSE
  - ← IPS
  - ← CSA
  - ← CSH
  - ← CSM
  - ← CPE
  - ← Microbatteri
  - ← scheletrici
- Dose
- espansione e diff. cellule
- quando impiantare
- come impiantare
- ritenzione cellulare
- resistere in ambiente ostile
- integrazione elettro-meccanica
- aggiunge TE: incorporare matrice + cell + GF →

1  
del inasilo  
ma inasilo!



3) Lo stent polimerico BVS. Descrivere schematicamente i seguenti aspetti:

- La composizione (tipo di materiali e loro disposizione nello stent), spiegando i motivi per cui è stata scelta tale composizione.

superficie: PDLLA amorfo + farmaco everolimus  
degrada più in fretta  
strato sottile

interno: PLLA cristallino  
degrada in maniera irregolare  
+ lentamente

- Indicare se il farmaco incorporato è in grado di promuovere l'endotelizzazione.

NO

- Indicare se il farmaco incorporato è un anticoagulante

NO

- Indicare le differenze tra lo stent BVS e lo stent Igaki-Tamai.

↓  
NO FARMACO

216-206 coil

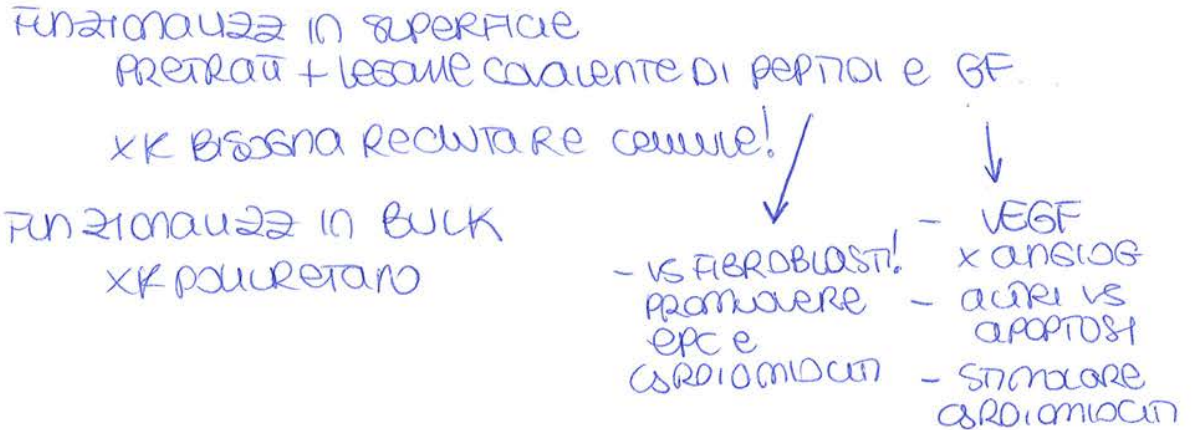
PLLA cristallino dentro < degrada lentamente  
degrada in modo irregolare → slow release  
everolimus + PDLLA < amaro degrada + veloce  
strato superficie

↓  
no empo  
anticoag

IGAKI: NO FARMACO  
7 e 2 216-206

5) Proporre strategie per raggiungere i seguenti obiettivi:

a) Rigenerazione del miocardio tramite l'impianto in vivo di uno scaffold poroso in poliuretano non cellularizzato: suggerire metodi di funzionalizzazione (in massa e/o in superficie) dello scaffold (motivandone la scelta) che possano stimolare la rigenerazione tissutale.



b) Dovendo rivestire covalentemente uno scaffold in acido polilattico (PLLA) con gelatina, quale metodologia proporreste?

Pretrattamento

- aminoalisi
- idrossi

→ Plasma + acido ascorbico + NHS/CDH

- rivestimento con BSA

(a) Funzionalizza con RGD  
Funzionalizza con GF

(b) Pretrattamento ← aminoalisi  
Plasma  
Immergere in BSA



7) Completare le seguenti frasi

a) La tecnica .....si utilizza per la fabbricazione di scaffold con struttura anisotropa.

ELETTROSPINNING  
SU COLLETTORE  
ROTANTE

(b) Il processo riparativo post infarto consta di 3 fasi, la necrosi, la fibrosi e infine .....

RIMODELLAMENTO  
VENTRICOLARE

(c) Un frammento di DNA con estremità coesive si sintetizza a partire da un frammento di DNA o vettore a cui si lega un linker decamerico mediante.....e in seguito si formano le estremità coesive mediante.....

ENZIMA DI  
RESTRIZIONE  
EcoRI

LIgasi

LIgasi/EcoRI

**ESAME DI INGEGNERIA PER LA MEDICINA RIGENERATIVA (01QHGMV; 01NZSMV)**

**8 domande obbligatorie: max 4 punti ciascuna**

**1 domanda facoltativa: max 2 punti ciascuna**

**Tempo: 2 ore**

N matricola \_\_\_\_\_

Nome e Cognome \_\_\_\_\_

- 1) *Funzionalizzazione biomimetica*: spiegare le differenze nella funzionalizzazione biomimetica con proteine e con peptidi biomimetici.

**PROTEINE**

- MULTIFUNZIONE  
non specifici
- Funzionalizza spaziale e temporale
- $\Delta$  giusta conformazione
- da animali  
Purifica COSTOSA  
Trasmettere Patologie  
Reazione immunitaria
- Degradabili FAC
- Funz poco controlla
- Denatura FAC  
Blande condizioni di Proc
- ◦ Poco Riproducibili  
Molto Variabili
- No Sintetizzabili
- Più Biomimetiche

**PEPTIDI**

- Specifici
- Facile Funzionalizza
- Sintetici  
Bassi costi  
NO  
NO
- Degradabili FAC ma  
Ovevi aduce + Res & Tenti
- Funz molto controlla  
(berso superficiale)
- Denatura - FAC
- Riproducibili



3) Descrivere brevemente le seguenti strategie di **funzionalizzazione in bulk** di idrogeli con fattori di crescita (GF) seguendo le linee guida

3.1) GF direttamente all'interno della matrice di idrogelo:

Procedura per il caricamento del fattore di crescita:

- 1) IDROGEL in soluzione con GF → RETICOLAZIONE (Prima della reticol.)
- 2) IDROGEL → soluzione con GF → swelling (Dopo reticolaz.)

Commenti sul rilascio del GF:

- PROBLEMI DI BURST RELEASE
- RILASCIO x DIFFUSIONE e x DEGRAD.

3.1) GF all'interno di particelle inserite all'interno della matrice di idrogelo:

Procedura per il caricamento del fattore di crescita:

- 1) se MP solubile in solvente non acquoso → doppia emulsione H<sub>2</sub>O in olio in H<sub>2</sub>O
- 2) se MP solubile in solvente acquoso → emulsione singola H<sub>2</sub>O in olio

Commenti sul rilascio del GF:

- NO BURST RELEASE (-)
- RILASCIO x DIFFUSIONE e x ~~degradazione materiale~~

5) *Rigenerazione del miocardio*: descrivere schematicamente le tre possibili strategie endogene per stimolare la cardiomiogenesi (cioè la ripopolazione del cuore infartuato con cardiomiociti), sottolineandone le problematiche/aspetti critici.

• Stimolare

- PROLIFERAZIONE CARDIOMIOCITI RIMASTI  
(NON PROLIFERANO)

- RECRUTAMENTO CELLULE STAMINALI DELLA CIRCOLAZIONE SANGUIGNA DAL MIDOLLO OMOE E LORO DIFF IN CARDIOMIOCITI  
(RARE)  
(AMBIENTE OSTILE)

- " " " "  
" " "  
" " "  
( " )  
( " )

• Stimolare  $\left\{ \begin{array}{l} \text{cardiomiociti} \\ \text{CS DEL SANGUE} \\ \text{CS CARDIACHE} \end{array} \right.$



7) **Scaffolds:** Indicare se i seguenti punti sono veri (V) o falsi (F). Nel caso siano falsi, indicare la corrispondente affermazione vera.

F a) La viscosità della soluzione influenza il processo dell'*elettrospinning* e può essere modificata variando il campo elettrico.

La viscosità può essere modificata cambiando la composizione chimica

V b) Nell'*organ printing* la fase di *processing* prevede la deposizione guidata di cellule o aggregati di cellule per formare la geometria tridimensionale voluta.

F c) Nelle prime fasi di espansione di cellule staminali, i biomateriali devono stimolare il differenziamento cellulare.

assolutamente no differenziare

UCL

**9) Domanda Facoltativa**

- a) Le guide per la rigenerazione del nervo periferico devono essere porose con pori di 100-200  $\mu\text{m}$ .

NO max 5-10  $\mu\text{m}$

- b) Le membrane porose per la rigenerazione ossea guidata possono avere pori di circa 100-200  $\mu\text{m}$  relativamente al lato osso.

NO  
LATO GENGIVA

F 5-10  $\mu\text{m}$

## ESEMPPIO

### ① Differenze nella funzionalizzazione Biomimetica con Proteine e con Peptidi Biomimetici

#### PROTEINE

- Derivate da animali determinano reazione immunitaria
- Derivate da " non sono riproducibili ma molto variabili
- Derivate da " devono essere depurate x la possibile trasmissione di patologie → processo costoso
- Sono multifunzionali (non determinano una specifica segnale) sia temporaneamente x spazialmente a causa della loro conformazione che può variare nel tempo
- Non sono sintetizzabili
- Degradano velocemente
- Sono molto delicate hanno bisogno di buone condizioni di funzionalizzazione / process x non denaturare
- Sono meno controllabili x non sappiamo con che conformazione avverrà la funzionalizzazione → esempio grandi porzioni rasostrutturali
- Sono più biomimetiche

#### PEPTIDI

- Sintetizzati in laboratorio non determinano R.I.
- Sintetizzati " Sono facilmente riproducibili
- Non devono subire lavorazioni particolari x non portano patologie
- Hanno una specifica funzionalizzazione
- Sono facilmente sintetizzati
- Degradano velocemente ma sono anche presenti peptidi dolci più resistenti
- La loro funzionalizzazione è più controllabile in termini di densità etc
- IDEM

### ② F matrigel ma lamina basale

V Biodeteriorabile = P<sub>oum</sub> S<sub>rit</sub> + P<sub>oum</sub> C<sub>at</sub> in superficie

F PLA-PEG > PLA  
velocità degradazione



- Reattore cellule staminali nella circolazione sanguigna provenienti dal midollo osseo

CSM → forse plastiche (studi)

CSM → differenziato in cardiomiociti in certe condizioni

CPE → solo x vascolarizzazione

→ poche  
ambiente ostile ← infiammazione  
poco vascolarizzazione  
fibrinico

## ⑥ PLLA STENT favorire integrazione

funzionalizzare in superficie covalentemente

• molecole?

• metodi?

Favorire endotelizzazione

- RGDV apertone cellule endoteliali

- amfaling PEG

- CRRETAWAC apertone all'endo e non plastiche

- anticorpi CD 34

Pretrattamento superficiale al plasma  
amminobusti  
iodusti acido/basico

in modo da mettere in superficie gruppi reattivi come COOH o NH<sub>2</sub> che reagiscono a formare un legame covalente con i peptidi

Ⓕ F la viscosità non varia col campo elettrico

V processing: persistenza materiali e cellule organ printing

F espansione stampati = no differenze azionamento

Ⓖ distribuzione poro bioporale 10  $\mu$ m - 100  $\mu$ m  
siRNA inducono degradazione mRNA

Ⓓ F rigenero periferiche: porosità max 5/10  $\mu$ m

V lato osso poro 100 - 200  $\mu$ m Rise ossea guidata da membrane  
lato sensiva

2) Indicare quali delle seguenti affermazioni sono vere e quali false, scrivendo in tal caso la corrispondente vera:

F a) La funzionalizzazione degli scaffold con proteine biomimetiche (ad esempio fibronectina) permette di trasmettere *un unico segnale specifico* alle cellule coltivate sullo scaffold  
PEPTIDI

F b) I drug eluting stent (DES) di prima generazione sono stent metallici rivestiti con ossidi metallici a rilascio di farmaco.

RIVESTITI CON POLIMERI BIODEGRADABILI A RILASCIO DI FARMACI

X  
F c) I foglietti di epidermide ottenuti per coltura in vitro di cheratinociti di derivazione autologa o eterologa sono efficaci per il trattamento di ferite cutanee profonde ("full thickness").

4) Indicare con una crocetta le affermazioni vere:

- V  I peptidi IKVAV e YIGSR derivati dalla laminina sono riconosciuti da recettori non integrinici.
- F  Farmaci come il Tacrolimus e il Paclitaxel, utilizzati nei Drug eluting stent, contrastano i fenomeni di trombosi. *RESINOSI*
- F  La sigla VEGF-R identifica un fattore di crescita, nello specifico il vascular endothelial growth factor. *RECEPTOR*
- V  La microseparazione di fase in domini soft e hard per i poliuretani è in genere responsabile delle loro proprietà elastomeriche.
- F  L'angiogenesi consiste nella formazione di nuovi vasi sanguigni a partire dalle cellule progenitrici endoteliali (EPC). *VASCULOGENESI*
- V  Nella funzionalizzazione di scaffold con peptidi biomimetici, è preferibile combinare i peptidi con molecole antifouling (ad es polietilenglicole, PEG).
- F  Nei filamenti intermedi i fenomeni di degradazione e ricostruzione del filamento sono molto frequenti grazie alla struttura del filamento stesso *ACTINA TUBULINA*
- V  L'introduzione di opportuni riempitivi all'interno della guida nervosa è consigliata per lesioni superiori a 2-3 cm



6) *Scaffolds*: si dica quali delle seguenti affermazioni sono false, scrivendo la corrispondente frase vera:

V a. La degradazione dei materiali biodegradabili/biorisorbibili deve essere un giusto compromesso tra tempi di rigenerazione del tessuto e la reazione infiammatoria indotta dai prodotti di degradazione

F b. L'elettrospinning è una tecnica convenzionale che permette di ottenere nano-fibre di diametro variabile a seconda della dimensione del collettore

Distanza ugello/collettore  
 $\Delta V$   
viscosità  
composizione chimica  
velocità flusso.

F c. Il 3D printing si basa sull'utilizzo di un laser UV  
STAMPAGGIO

**8) Domande su “Fabbricazione e certificazione dei dispositivi biomedici dalla ricerca all’industria”: Qual è l’obiettivo dell’indagine clinica? Elencare e descrivere brevemente quali sono i passi fondamentali da seguire per l’indagine clinica.**

### ③ STRATEGIE x FAVORIRE L'ENDOTELIALIZZAZIONE

• RICOPRIRE gli stent con una COPERTURA POLIMERICA funzionalizzata con PEPTIDI SPECIFICI x ADERENZA delle cellule endoteliali e la non-aderenza delle PRATINE trombotiche come

- anticorpi CD-34
- peptide REDV
- peptide CRETAVAC
- PEG antifouling

IN GRADO DI LASCIARE "UN FARMACO" CHE BLOCCA LA PROLIFERAZIONE delle cellule muscolari lisce che aumentano l'infiammazione a DISCRITO della PROLIFERAZIONE di C.E

SI, BLOCCA LA PROLIFERAZIONE "MOLTO NEGATIVA" MA PURTROPPO NON ESISTONO FARMACI MOLTO SPECIFICI BLOCCANO ANCHE LA PROLIFERAZIONE delle C.E RITORNANDO L'ENDOTELIALIZZAZIONE delle stent → VITE RIMBORSI

SI, IL PEG PURTROPPO, SE NON UTILIZZATO COME SPACE X REDV, NON FAVORISCE L'ENDOTELIALIZZAZIONE

④ V IKUAV-YIGR PEPTIDI DERIVATI DA LAMININA RICOMPRESI DA NON INTEGRINA

F FARMACI VS RESTENOSI nei DES

F VEGF-R È IL RECEPTORE x IL GF

V SOFT-HARD → PROPRIETÀ ELASTOMERICHE

F ANGIOGENESI = RAMIFICAZIONE VASI ESISTENTI  
VASCULOGENESI = DA EPC e ANGIOBLASTI

V PEPTIDI + ANTIFOULING (PEG)

F FILAM. INTERMEDI NON RIARRANNO

V RIEMPITIVI IN GUINA x LESIONI > 2/3 cm

### ⑤ METODI x RILASCIO GF

SISTEMI a. • RILASCIO DI GF (Scaffold) • TERAPIA CELLULARE

• TERAPIA GENICA • TRATTAMENTO AL PLASMA

SI: ADSORB ORETO

- ↓ DOSE
- BURST RELEASE
- BENATURAZIONE

PREFENSIONALIZ

- ↑ DOSE
- NO BR
- NO BENATURAZIONE
- GF ATTIVO

LAYER BY LAYER

- + GF condizioni non aderenti
- + DOSE NO BR
- ≠ anche TRATTAM. GENICA
- SI PERFICI ANALISI SI



ESAME DI INGEGNERIA PER LA MEDICINA RIGENERATIVA (01NZSMV) - 13-02-2013

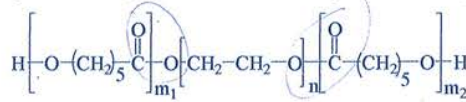
8 DOMANDE: 4 PUNTI CIASCUNA

TEMPO: 2 ore

N matricola 216142

Nome e Cognome VB

1) Illustrare schematicamente i principali meccanismi di degradazione dei biomateriali polimerici. Come vi aspettate che degradi il copolimero a tre blocchi PCL-PEG-PCL (policaprolattone-poli(etilenglicole)-policaprolattone), la cui formula è riportata in figura?



PRINCIPALI MECCANISMI DI DEGRADAZIONE

- DEGRADAZIONE x IDROLISI
  - DEGRADAZIONE x OSSIDAZIONE
  - DEGRADAZIONE ENZIMATICA
- enzimi idrolitici  
+ idrolitici  
solo per le sequenze

- MECCANISMI:
- MODALITÀ omogenea
  - MODALITÀ eterogenea

**PCL-PEG-PCL**

PEG x ossidazione  
+ accelera idrolisi del PCL

- ✓ DEGRADAZIONE IDROLITICA DEI LEGAMI ESTERI - ✓
- ✓ DEGRADAZIONE PER LA MODALITÀ omogenea PERCHÉ L'ACQUA ENTRA ALL'INTERNO DEL COPOLIMERO A CAUSA DELL'ELEVATA IDROFILICITÀ DEL PEG
- LA DEGRADAZIONE È FAVORITA PROPRIO DAL PEG PERCHÉ DI X SE IL PCL È UN MATERIALE ABBASTANZA IDROFOBO A CAUSA DELLA PRESENZA DI (CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub> E CHE QUINDI DA SOLO DEGRADEREBBE PIÙ LENTAMENTE
- ✓ ESSENDO UN POLIESTERE IL PCL PUÒ ESSERE ANCHE IDROLIZZATO DA ENZIMI COME LA ESTERASI

3) Stent. Rispondere brevemente alle seguenti domande.

a) Suggeste alcune strategie per favorire l'endotelizzazione degli stent, cioè la loro ricopertura con tessuto endoteliale.

COATINGS BIOATTIVI POLIMERICI che stimolano la riendotelizzazione con PEPTIDI SELETTIVI che attivano le EPC

- PEPTIDI:
  - PEG
  - REDV
  - CRRETAWAC
- STENT CON ANTICORPI CD-34



b) L'utilizzo di farmaci nei drug eluting stent (come Tacrolimus e Paclitaxel) influenza il processo di endotelizzazione degli stent?

SIRAMUS

FARMACI ANTIPROLIFERATIVI

SÌ, SONO FARMACI PER RIDURRE LA RESTENOSI X CUI BLOCCANO IL CICLO CELLULARE DELLE CELLULE MUSCOLARI USCE MA PURTROPPO EFFETTO GENERALE E NON SPECIFICO BLOCCANO ANCHE QUELLE DELLE CELLULE ENDOTELIALI X CUI LO STENT HA UNA ENDOTELIZZAZIONE PIÙ LENTA E PUÒ PORTARE A FENOMENI DI LATETROMBOSIS IL TACROLIMUS ...

FARMACO NON SELETTIVO AGISCE ANCHE SULLE CELLULE ENDOTELIALI

c) La funzionalizzazione dello stent con molecole emocompatibili (antitrombogeniche) come il polietilenglicole (PEG), può influenzare il processo di endotelizzazione?

Le cellule endoteliali non sono favorite dal PEG

PEG < ANTIFOUMING NO PLASTINE



RILASCIO IN SITO  
TERAPIA CELLULARE  
(EFFETTO PARACRINA)  
TERAPIA GENICA

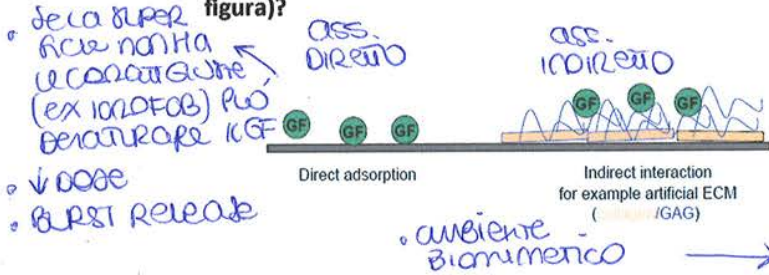
5) Rilascio di fattori di crescita

a) Elencare i metodi principali per il rilascio di fattori di crescita (growth factor, GF).

- X
- ADSORBIMENTO DI GF SU SCAFFOLD O SU MICROPARTICELLE <sup>superficie di</sup>
  - INSERIMENTO DI GF ALL'INTERNO DI SCAFFOLD O MICROPARTICELLE <sup>dispersione</sup>
  - CONIUGAZIONE DI GF AGLI SCAFFOLD O ALLI " "

b) Alcune strategie per il rilascio di fattori di crescita prevedono il loro iniziale adsorbimento su una superficie:

b.1) Può esserci differenza tra adsorbire direttamente il GF sulla superficie o prefunzionalizzare la superficie con componenti della matrice extracellulare e poi adsorbire il GF (come indicato in figura)?



Se la superficie non ha le caratteristiche (ex RGD) può denaturare il GF

↓ dose

Burst release

È utile per far sì che il GF si trovi a contatto con un ambiente a lui favorevole, in questo modo il GF non si denatura (non cambia conformazione, disattivandosi) e così aumenta anche la dose adsorbita, promuovendo anche un rilascio più prolungato

b.2) Tra le tecniche che prevedono l'adsorbimento superficiale dei GF, quali vantaggi offre la tecnica di Layer-by-Layer?

- VANTAGGI:
- ✓ ↑ dose adsorbita
  - ✓ possibilità di includere ≠ GF
  - ✓ rilascio dei ≠ GF con ≠ cinetiche, e + graduale
  - ✓ processo semplice
  - ✓ incorporazione GF su superfici di qualsiasi forma / qualsiasi substrato e dimensione
  - ✓ non si usano condizioni aggressive per i GF (non denaturano)



## CARBONI

7) Indicare quali delle seguenti affermazioni sono false, scrivendo la corrispondente vera:

a) Scaffold per la rigenerazione del miocardio devono avere proprietà elastomeriche

V

(b) Nei poliesteriuretani a blocchi la degradazione avviene unicamente per idrolisi del legame uretanico.

F

(no anche x idrolisi del legame estere)

(c) I plasmidi sono i primi vettori virale studiati per la terapia genica:

F

I PLASMIDI non sono vettori virali,  
ma biomolecole di DNA cellulare

Funzionalità scaffold con peptidi  
sperita rilascio di farmaco BES  
limiti della terapia cellulare x la  
rigenerazione del miocardio  
analisi del rischio  
tecniche non convenzionali VoF  
terapia genica

Cos'è DM = Dispositivo destinato a scopo medico / migliorare salute persone senza essere un farmaco progettato e costruito in un'industria che deve risolvere aspetti ≠

DDM legge Xpressare il mercato

Il DM deve essere sicuro ed affidabile ed è identificato dal suo scopo (deciso dal fabbricante) essendo estera e ricerca

Norme X controllo del rischio

classi speciali

- suture
- X ricerca clinica
- farmaci (farmacologici)
- tessuto animale
- sangue e derivati
- cosmetici (protesi mamm)
- macchiette (sottovest)
- accessori

X definire il rischio si assegna una categoria in base a:

- contatto con il corpo
- durata del contatto
- uso

limitazione permanente → uso inteso, durata, tipo contatto, altro contatto

inv non inv inv

ISO 10993 norme sulla biocompatibilità X dimostrare di sicurezza, efficacia

accettare interazione con corpo umano e altri dispositivi

X programmare un test appropriato e assicurare sicurezza di materiali e DM

questi test servono a provare in altri modi la sicurezza del DM

test

- citotossicità
- irritazione
- genotossicità
- tossicità sistemica
- impianto
- embocompatibilità
- cytobiosicurezza
- biodegradazione
- immunotossicità

interpretazione dei risultati locali e globali

risposta del tessuto

- us controllati
- neg work
- stato arte
- modello animale
- controllo
- solo impianto
- procedure pre-impianto
- punti temporali differenti

non irritante  
poco "  
moderato "  
molto

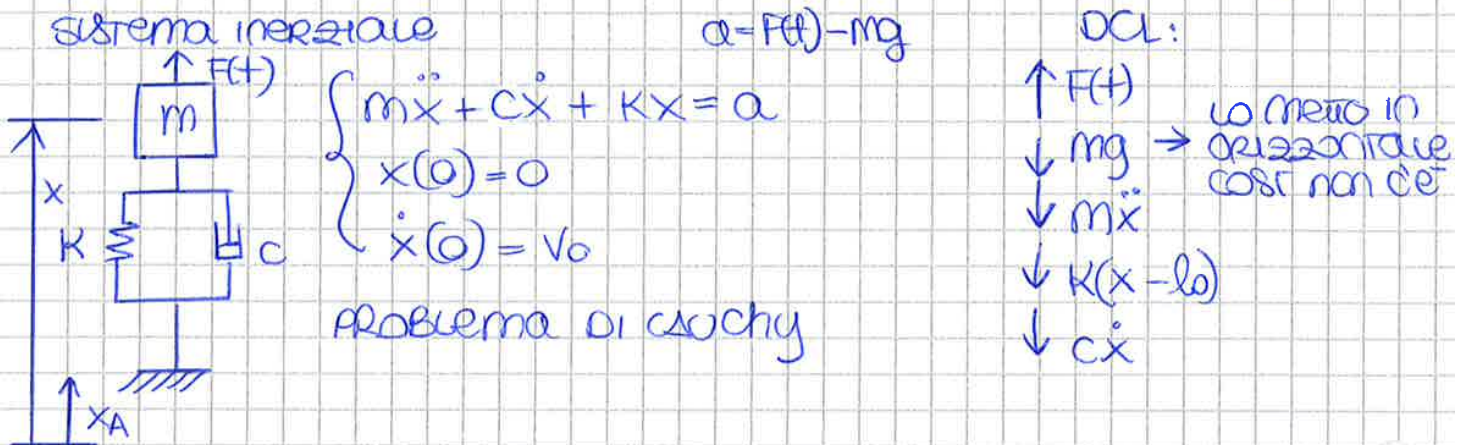


● sistema 1 GdL smorzato forzato

$$m\ddot{x} + c\dot{x} + Kx = a \quad F(t) = a = \cos t$$

Ricavare risposta  $x(0) = 0, \dot{x}(0) = v_0$

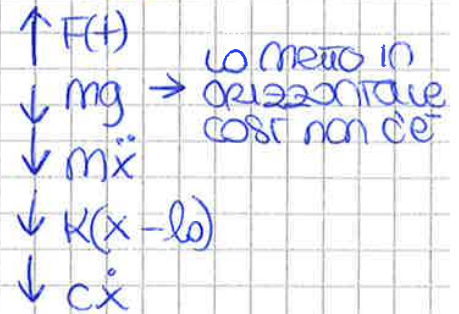
- schema modello 1 GdL da risolvere con parametri positivi scelti x la funzione indipendente e la forza esterna



$$\begin{cases} m\ddot{x} + c\dot{x} + Kx = a \\ x(0) = 0 \\ \dot{x}(0) = v_0 \end{cases}$$

Problema di Cauchy

OCL:



- Soluzione omogenea associata

$$m\ddot{x} + c\dot{x} + Kx = 0 \quad \text{se il sistema è sottosmorzato}$$

$$x_{om}(t) = e^{-\sigma t} (A \cos(\lambda_p t) + B \sin(\lambda_p t))$$

$$\sigma = \lambda_n \zeta$$

$$\lambda_p = \lambda_n \sqrt{1 - \zeta^2}$$

$A, B$  dipendono dalle condizioni iniziali, da calcolare sulla soluzione totale

- integrale particolare

$$x_p(t) = \cos t \quad \dot{x}_p(t) = \dot{x}_p(t) = 0$$

$$0 + 0 + Kx_p(t) = a \quad x_p(t) = \frac{a}{K}$$

- Soluzione completa in funzione delle C.I.

$$x(t) = e^{-\sigma t} (A \cos(\lambda_p t) + B \sin(\lambda_p t)) + \frac{a}{K}$$

$$\dot{x}(t) = e^{-\sigma t} (-A\lambda_p \sin(\lambda_p t) + B\lambda_p \cos(\lambda_p t)) - \sigma e^{-\sigma t} (A \cos(\lambda_p t) + B \sin(\lambda_p t))$$

$$x(0) = 0 = A + \frac{a}{K} \rightarrow A = -\frac{a}{K}$$

$$\dot{x}(0) = v_0 = B\lambda_p - \sigma A \rightarrow B = \frac{v_0 + \sigma A}{\lambda_p} = \frac{v_0 - \sigma \frac{a}{K}}{\lambda_p}$$

$$x(t) = e^{-\sigma t} \left( -\frac{a}{K} \cos(\lambda_p t) + \frac{v_0 - \sigma \frac{a}{K}}{\lambda_p} \sin(\lambda_p t) \right) + \frac{a}{K}$$



Modulo e Fase

$$\Phi = \arctg \left( \frac{-2 \zeta \frac{\lambda}{\lambda_n}}{1 - \left(\frac{\lambda}{\lambda_n}\right)^2} \right)$$

$$|H| = \frac{1}{\sqrt{\left(1 - \left(\frac{\lambda}{\lambda_n}\right)^2\right)^2 + \left(2 \zeta \left(\frac{\lambda}{\lambda_n}\right)\right)^2}}$$

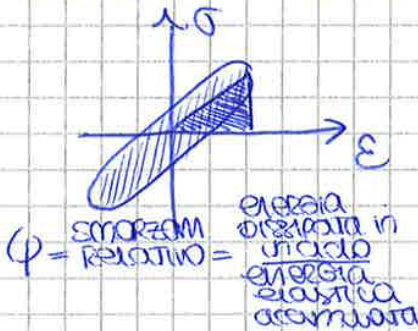


● SMORZATORE STRUTTURALE - modello  
Equazione  
Differenziale con viscoso.  
Vantaggi e svantaggi

Lo smorzatore viscoso è un modello che permette di studiare il comportamento di molti sistemi meccanici non conservativi.

Molti materiali presentano invece un comportamento descrivibile tramite uno smorzatore strutturale.

In particolare questi materiali presentano un ciclo di isteresi del grafico che riporta la curva tensione-deformazione



La caratteristica principale x questi materiali è che l'ampiezza del ciclo rimane costante al variare della frequenza, mentre no non avviene per uno smorzatore viscoso

Questo concetto è applicabile solo con se e con andamento armonico

$$\sigma = \sigma_0 \cos(\omega t)$$

$$\epsilon = \epsilon_0 \cos(\omega t - \Phi)$$

si definiscono:

- modulo elastico complesso
- rigidità complessa

$$E^* = E' + iE'' = E(1 + i\eta)$$

$$K^* = K' + iK'' = K(1 + i\eta)$$

xieta smorzamento e perdo

dove  $\eta =$  fattore di perdita costante

L'equazione del moto è quindi ( $\neq 0$ )

$$m\ddot{x} + K^* x = K^* x_A(t) + F(t)$$

$$m\ddot{x} + (K)(1 + i\eta)x = K(1 + i\eta)x_A(t) + F(t)$$

Equazione indisolubile x la scomposta parzialmente nel dominio della f

imponendo la soluzione  $x(t) = x_0 e^{st}$  x risolvere omogenea

si trova  $s \in \mathbb{C}$  e con le opportune semplificazioni ante a  $\eta \rightarrow 0$

$$\sigma = -\text{Re}(s) = \lambda_n \frac{\eta}{2}$$

$$\lambda_p = \text{Im}(s) = \lambda_n \sqrt{1 - \frac{\eta^2}{4}} \approx \lambda_n$$

la soluzione dell'omogenea sarà  $x_{om}(t) = e^{-\sigma t} (A \cos(\lambda_p t) + B \sin(\lambda_p t))$



- **FORZANTE non deterministica**  
 IMPOSTAZIONE del PROBLEMA RANDOM e LIMITI DI APPLICAZIONE  
 FUNZIONI CARATTERIZZANTI  
 SOLUZIONE PROBLEMA

La forzante non deterministica è presente in molti casi ed è esprimibile solo in termini statistici!

- eccitazione sismica
- moto ondoso
- irregolarità della strada

Per impostare il problema bisogna effettuare la registrazione della storia temporale dell'eccitazione per un periodo di tempo  $t_0$  - lungo ed eseguire un'immagine statistica su campioni significativi del fenomeno.

Dato un campione di durata  $T$  di un'eccitazione casuale, si calcolano  $x$  prima cosa:

- valore medio
- valore RMS
- varianza

Importante è che se il fenomeno è stazionario ed ergodico, queste 3 grandezze sono indipendenti dal campione scelto!

Un'eccitazione casuale è completamente definita se si conoscono 2 funzioni:

- la densità spettrale di potenza  $S(\lambda) = \int_{-\infty}^{\infty} \psi(\tau) e^{i\lambda\tau} d\tau$   
 cioè la trasformata di Fourier della funzione di autocorrelazione

- la densità di probabilità relativa all'ampiezza  
 definita  $p(y) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{y^2}{2\sigma^2}}$  se  $\mu=0$ ,  $V_{RMS} = \sigma$ ,  
 distribuzione gaussiana

Queste 2 funzioni caratterizzano totalmente la forzante random

Dato un generico sistema lineare ad 1° ordine soggetto ad una eccitazione casuale:

- stazionario
- ergodico
- $\mu=0$
- distribuzione normale

Quora il sistema è completamente caratterizzato dalla sua funzione di trasferimento  $H(\lambda)$  e la risposta ha le stesse caratteristiche della eccitazione, non restano da calcolare:

- DSP:  $S_x(\lambda) = S_f(\lambda) |H(\lambda)|^2 \cdot \frac{1}{K^2}$  concentrato intorno alla propria frequenza di risonanza
- $V_{RMS}$ :  $x_{RMS} = \sqrt{\int_0^{\infty} S_x(\lambda) d\lambda}$

La risposta è quindi una vibrazione casuale a banda stretta (più stretta meno è smorzato)

Sistema sottorisonato

$$\bar{x}^2 = \frac{8F^2 \pi \lambda_n}{4k^2 \zeta} \quad x_{RMS} = \sqrt{\bar{x}^2}$$



● SMORZAMENTO COULOMBIANO: <sup>MODELLO</sup> EQUAZIONE <sup>DIFFERENZE</sup> CON GLI ALTRI

GLI SMORZATORI COULOMBIANI SONO UTILIZZATI X LA LORO SEMPLICITÀ QUANDO SI VOLE AGLIUNGERE SMORZAMENTO, CIOÈ DISSIPAZIONE. ESSI SI BASANO SULLA FORZA DI ATRITO, CHE SECONDO LA LEGGE DI COULOMB DIPENDE SOLTANTO DALLA FORZA NORMALE AI CONTATTO DEI 2 CORPI



$F_A = \mu N$  ← costante in modulo verso opposto a velocità  
 $\mu = \text{COEFF DI ATRITO}$

L'EQUAZIONE DEL MOTO DIVENTA

$$m\ddot{x} + \mu N \text{segno}[\dot{x}(t)] + Kx = 0$$

LA SOLUZIONE

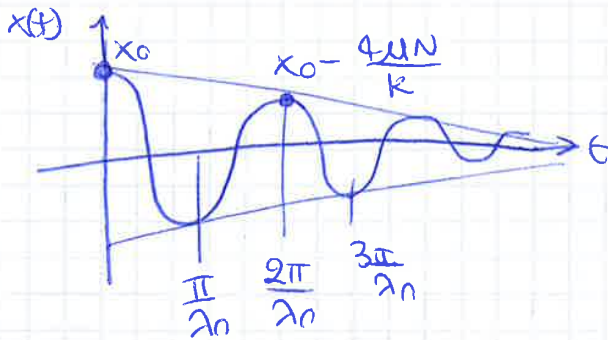
• omogenea  $m\ddot{x} + Kx = 0 \rightarrow x_{om} = C_1 \cos(\lambda_n t) + C_2 \sin(\lambda_n t)$

• particolare  $m\ddot{x} + Kx = \pm \mu N \text{segno} \dot{x}(t) = \pm \mu N \dot{x}(t)$

$x_p = \text{cost} = D$

$D = \pm \frac{\mu N}{K}$

• soluzione totale  $\begin{cases} x(t) = C_1 \cos(\lambda_n t) + C_2 \sin(\lambda_n t) + \frac{\mu N}{K} & \text{1^a metà ciclo } [0, T/2] \\ x(t) = C_3 \cos(\lambda_n t) + C_4 \sin(\lambda_n t) - \frac{\mu N}{K} & \text{2^a metà ciclo } [T/2, T] \end{cases}$



INVIUPO RETRIBUONO  
 $\pm \frac{4\mu N}{K} / \frac{2\pi}{\lambda_n} = \pm \frac{4\mu N \cdot \lambda_n}{K \cdot 2\pi}$

IL MOTO NON CONTINUA INDEFINITAMENTE MA SI ARRESTA

$\rightarrow \sigma = \frac{\lambda_n}{2\pi} \delta, \zeta = \frac{\delta}{2\pi}, \delta = \ln\left(\frac{x_1}{x_1 - \frac{4\mu N}{K}}\right)$



● TRASFORMAZIONE DA COORDINATE GEOMETRICHE A MODALI DISACCOPPIAMENTO E FORZA MOTRICE

IL DISACCOPPIAMENTO DELLE EQUAZIONI DEL MOTO DI UN SISTEMA A PIU' GDL SI EFFETTUA ATTRAVERSO UNA TRASFORMAZIONE DI COORDINATE DA GEOMETRICHE A MODALI

EQUAZIONE DEL MOTO DI UN SISTEMA NON SMORZATO  $[M]\{\ddot{x}\} + [K]\{x\} = \{F(t)\}$

E' UN SISTEMA DI n EQUAZIONI DIFFERENZIALI LINEARI OMOGENEE DEL SECONDO ORDINE ACCOPPIATE.

LA TRASFORMAZIONE DI COORDINATE SI BASA SULLA PROPRIETA' DEGLI AUTOVETTORI DI ESSERE "ORTOGONALI" GIA' RISPETTO ALLA MATRICE DI RIGIDITA' CHE A QUELLA DELLE MASSE, PER OI:

- DATI 2 AUTOVETTORI  $q_i \neq q_j$

$$\begin{cases} \{q_i\}^T [M] \{q_j\} = 0 \\ \{q_i\}^T [K] \{q_j\} = 0 \end{cases}$$

- SE INVECE I 2 AUTOVETTORI SONO UGUALI  $q_i = q_j$

$$\begin{cases} \{q_i\}^T [M] \{q_i\} = \bar{M}_i & \lambda_i = \sqrt{\frac{K_i}{M_i}} \\ \{q_i\}^T [K] \{q_i\} = K_i \end{cases}$$

CIOE' SI DEFINISCONO LA MASSA MODALE E LA RIGIDITA' MODALE RELATIVE ALL' i-ESIMO MODO E LA FREQUENZA PROPRIA  $\lambda_i$

SI CALCOLANO LE RISPETTIVE MATRICI

$$\begin{aligned} [\bar{M}] &= \text{diag} \{\bar{M}_i\} = [\Phi]^T [M] [\Phi] \\ [\bar{K}] &= \text{diag} \{K_i\} = [\Phi]^T [K] [\Phi] \end{aligned}$$

LA TRASFORMAZIONE E' QUINDI  $\{x\} = [\Phi] \{m\}$ ,  $\{m\} = [\Phi]^{-1} \{x\}$   
 $\{x\}$  E' UN VETTORE AD n DIMENSIONI CHE DEFINISCE LA CONFIGURAZIONE DEFORMATA DEL SISTEMA COME UNA COMBINAZIONE LINEARE DEGLI AUTOVETTORI x MEZZO DI n COEFF DI PROPORZIONALITA'  $m$

SI OTTENE QUINDI LA SEGUENTE EQ.

$$\left( \begin{aligned} & [M][\Phi]\{\ddot{m}\} + [K][\Phi]\{m\} = \{0\} \\ & [\bar{M}]\{\ddot{m}\} + [\bar{K}]\{m\} = \{0\} \end{aligned} \right) \cdot [\Phi]^T \xrightarrow{\text{si deve poi normalizzare}}$$

UN SISTEMA DI n EQUAZIONI DIFFERENZIALI DEL 2° ORDINE DISACCOPPIATE TRA LORO  $\bar{M}_i \ddot{m}_i + K_i m_i = 0$

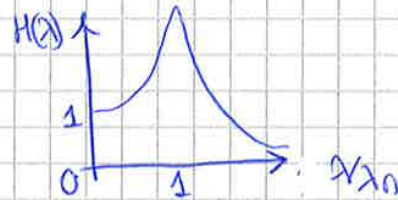
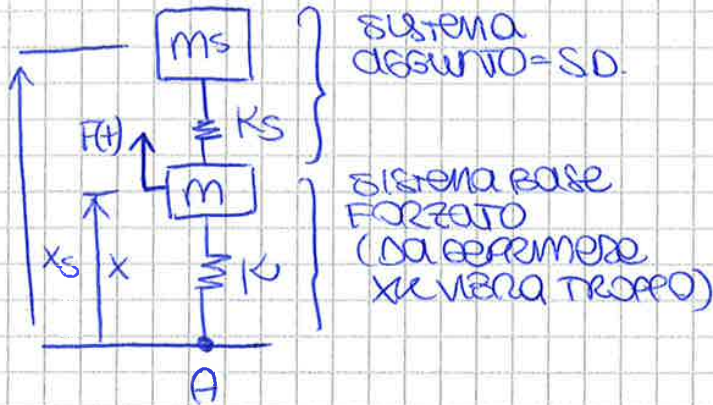
X STUDIARE LA FORZANTE  $[\bar{M}]\{\ddot{m}\} + [\bar{K}]\{m\} = [\Phi]^T \{F(t)\} = \{F\}$



# ● SMORZATORE DINAMICO: modello - equazione - grafico Risin f

Gli smorzatori dinamici sono dei sistemi costituiti da molla-massa o molla-massa-smorzatore che vengono aggiunti al sistema base al fine di ridurre l'ampiezza delle vibrazioni in particolari condizioni di funzionamento

Un esempio riportato è un SD applicato ad un sistema ad 1 GdL (cui risposta in frequenza è



L'equazione totale del moto è

$$\begin{cases} m_s \ddot{x}_s + k_s(x_s - x) = 0 \\ m \ddot{x} + k_s(x - x_s) + k(x) = F(t) = f_0 e^{i\omega t} \end{cases}$$

$$\begin{bmatrix} m_s & 0 \\ 0 & m \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \ddot{x}_s \\ \ddot{x} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} k_s & -k_s \\ -k_s & k_s + k \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x_s \\ x \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ F(t) \end{bmatrix}$$

imponendo una soluzione  $x = x_0 e^{i\omega t}$

$$\left( -\lambda^2 \begin{bmatrix} m_s & 0 \\ 0 & m \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} k_s & -k_s \\ -k_s & k_s + k \end{bmatrix} \right) \begin{bmatrix} x_{s0} \\ x_{0} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ f_0 \end{bmatrix}$$

$$\left( -\lambda^2 \mu x_{0} + -x_{0} + x_{0} + \lambda x_{0} \right) = \frac{f_0}{mk}$$

$$\frac{x_0}{f_0} = \frac{1}{mk} \frac{1}{-\frac{\lambda^2}{\mu} + \frac{1}{\lambda}}$$

si definiscono i rapporti adimensionali delle masse e delle rigidità

$$\mu = \frac{m_s}{m}, \quad \chi = \frac{k_s}{k}$$

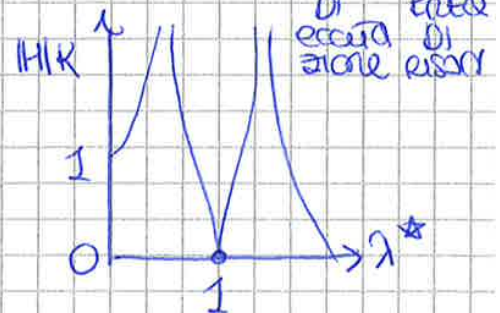
e si calcola la risposta in frequenza

$$\text{con } f(\lambda^*) = \lambda^{*4} - \lambda^{*2} \left( 1 + \chi + \frac{\chi}{\mu} \right) + \frac{\chi}{\mu}$$

$$H_{22} = \frac{x_0}{f_0} = \frac{\chi}{k f(\lambda^*)}$$

con  $\lambda^* = \lambda/\omega_n$   
 ↓  
 caso di eccitazione  
 ↓  
 caso di risonanza

ponendo il num = 0 si ottengono le antirisonanze e ponendo il den = 0 si ottengono le risonanze



si vede che dare prima era 0 ora si ha un antirisonanza x sulla molla m ora sta ferma poiché sottoposta a 2 azioni contrarie come si vede  $\chi/\mu = 1$  e  $k_s = k m_s/m$

così  $\lambda_{ms}^2 = \lambda_n^2$  rapporto di sintonizzazione

le scelte progettuali di  $k_s$  e  $m_s$  dipende dal fatto che ↑ 12 picchi di risonanze ottenute si annullano



## ● FORZANTE non DETERMINISTICA

La forzante non deterministica è presente in moltissimi casi reali  
 • equazione sismica • moto oncoso • irregolarità della strada  
 e può essere espressa solo in termini statistici

Per impostare il problema bisogna effettuare la registrazione della storia temporale  $x$  in un periodo di tempo più o meno lungo ed eseguire un'indagine statistica su campioni significativi del fenomeno

Dato un campione di durata qualsiasi, si definiscono innanzitutto  
 - valore medio  $\mu$  - valore RMS  $v_{RMS}$  e - varianza  $\sigma^2$   
 Soltanto nei problemi armonici  $\mu=0$  e quindi  $v_{RMS} = \sigma$

Nella nostra trattazione abbiamo assunto che i fenomeni forzati stazionari ed ergodici, per cui i 3 valori descritti prec erano indipendenti dal campione scelto (costanti)

Un'equazione casuale è completamente determinata se si conoscono 2 funzioni:

- la densità spettrale di potenza (DSP) definita matematicamente come la trasformata di Fourier della funzione di autocorrelazione  $S_f(\lambda) = \int_{-\infty}^{\infty} \psi(\tau) e^{i\lambda\tau} d\tau$
- la densità di probabilità relativa all'ampiezza che solitamente è una distribuzione gaussiana

Dato un generico sistema ad 1° ordine lineare soggetto ad un'equazione casuale • stazionaria • ergodica •  $\mu=0$  • distrib. gaussiana allora il sistema è completamente caratterizzato dalla sua funzione di trasferimento  $H(\lambda)$ , la risposta ha le stesse caratt. della forzante e si devono solo calcolare

• DSP  $S_x(\lambda) = S_f(\lambda) |H(\lambda)|^2 \frac{1}{K^2}$   $\rightarrow$  è concentrata intorno alla propria frequenza di risonanza

• VRMS  $x_{RMS} = \sqrt{\int_{-\infty}^{\infty} S_x(\lambda) d\lambda}$

↓  
 La risposta è quindi una vibrazione casuale a banda stretta (più stretta meno il sistema è smorzato)

## ● AUTOPROBLEMI

Equazione  $[M]\ddot{x} + [C]\dot{x} + [K]x = 0 = \{f(t)\}$   
 non smorzato  $\times$  risolvere l'omogenea anzitutto si impone  $\{x_{om}\} = \{x_0\} e^{i\lambda t}$   
 smorzato

$(-\lambda^2[M] + [K])\{x_0\} = \{0\}$

$\det(-\lambda^2[M] + [K]) = 0$  gen

$\det([K][M]^{-1} - \lambda^2[I]) = 0$  con

$\det([M][K]^{-1} - \frac{1}{\lambda^2}[I]) = 0$  con

$(-\lambda^2[M] + \lambda[C] + [K])\{x_0\} = \{0\}$

$\det(-\lambda^2[M] + \lambda[C] + [K]) = 0$  gen

$\{\dot{z}\} = [A]\{z\} + [B]\{u\}$

$\{\dot{z}\} - [A]\{z\} = 0 \quad \{z\} = \{z_0\} e^{st}$

$([I]s - [A])\{z_0\} = 0$

$([A] - s[I])\{z_0\} = 0$

$\det([A] - s[I]) = 0$  con



## ● TRASFORMAZIONE COORDINATE MODALI

IL DISACCOPPIAMENTO DELLE EQUAZIONI DEL MOTO DI UN SISTEMA A + GDL SI EFFETTUA ATTRAVERSO UNA TRASFORMAZIONE DI COORDINATE DA GEOMETRICHE A MODALI

LA TRASF SI BASA:

- SULLA PROPRIETÀ DEGLI AUTOVETTORI DI ESSERE "ORTOGONALI" RISPETTO ALLA MATRICE DELLA MASSA GIA A QUELLA DELLE RIGIDITÀ, PER CUI:

DATI 2 AUTOVETTORI  $\neq (q_i \neq q_j)$

$$\begin{cases} \{q_i\}^T [K] \{q_j\} = 0 \\ [M] = 0 \end{cases}$$

DATI 2 AUTOVETTORI  $= (q_i = q_i)$

$$\begin{cases} \{q_i\}^T [K] \{q_i\} \neq 0 = \bar{m}_i & \text{MOMENTO MODALE;} \\ [M] \neq 0 = \bar{K}_i & \text{RIGIDITÀ MODALE;} \end{cases}$$

SI DEFINISCONO LE MATRICI DELLE MASSE MODALI E DELLE RIGIDITÀ MODALI

$$[\bar{M}] = \text{diag} [\bar{m}_i] = [\Phi]^T [M] [\Phi] \quad \text{MATRICE DEGLI AUTOVETTORI}$$

$$[\bar{K}] = \text{diag} [\bar{K}_i] = [\Phi]^T [K] [\Phi]$$

- SUL FATTO CHE  $\{x\}$  PUÒ ESSERE RISCritto COME  $\{x\} = [\Phi] \{\eta\}$  dove  $\{x\}$  è un vettore di n dimensioni che definisce la configurazione deformata del sistema come una combinazione lineare degli autovettori  $\times$  mezzo di n coefficienti di proporzionalità  $\eta$

SE SI APPLICA LA TRASF ALL'EQ DEL MOTO DI UN SISTEMA A+GDL NON SMORZ

$$[M] \{\ddot{x}\} + [K] \{x\} = \{F(t)\} \rightarrow \text{SISTEMA DI N EQ DIFFERENZIALI LINEARI OMOGENEE DEL 2° ORD ACCOPPIATE}$$

$$[M] [\Phi] \{\ddot{\eta}\} + [K] [\Phi] \{\eta\} = \{F(t)\}$$

$$[\Phi]^T [M] [\Phi] \{\ddot{\eta}\} + [\Phi]^T [K] [\Phi] \{\eta\} = [\Phi]^T \{F(t)\}$$

$$[\bar{M}] \{\ddot{\eta}\} + [\bar{K}] \{\eta\} = \{\bar{F}(t)\} \rightarrow \text{FORZE MODALI}$$

$$\bar{m}_i \ddot{\eta}_i + \bar{K}_i \eta_i = \bar{F}_i(t) \rightarrow \text{SI SONO DISACCOPPIATE LE EQUAZIONI}$$

SUCCESSIVAMENTE SI NORMALIZZANO GLI AUTOVETTORI

- SI PONE = 1 IL MASSIMO ELEMENTO DI CIASCUN AUTOVETTORE
- SI DIVIDONO I SUOI AUTOVETTORI  $\times (a_{ij})^T$  DELLA SOMMA DEL 2° DEGLI ELEMENTI
- ORTONORMALIZZAZIONE  $\bar{m}_i = 1$   $[M] = [I]$  e  $[K] = [\lambda^2]$   $\bar{K}_i = \lambda_i^2$

$$\hookrightarrow \{\ddot{\eta}\} [I] + [\lambda^2] \{\eta\} = \{\bar{F}'\}$$

IL VANTAGGIO DI AVERE DISACCOPPIATO IL SISTEMA È CHE SI PUÒ PRENDERE IN CONSIDERAZIONE UN NUMERO LIMITATO DI MODI  $(1-m) \times$  OTTENERE LA RISPOSTA CON SUFFICIENTE PRECISIONE, RISPARMIANDO IN TERMINI DI TEMPO E COSTO DI CALCOLO

- CALCOLO MANOVRALE E VIBR.
- RISPOSTA SOLO M SISTEMI.
- RISPOSTA

MA  $[\Phi]^*$  NON È QUADRATA!

$$\{\eta\} = [\Phi]^{-1} \{x\}$$

$$\{\eta\} = [\bar{M}]^{-1} [\Phi]^* [M] \{x\}$$

$$\{x(t)\} = \sum^m \eta_j(t) \{q_j\}$$