centro appunti
www.centroappunti.it
Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino

Appunti universitari
Tesi di laurea
Cartoleria e cancelleria
Stampa file e fotocopie
Print on demand
Rilegature

NUMERO: 1770A - ANNO: 2015

# A P P U N T I

STUDENTE: Tortorici Martina

MATERIA: Bionanotecnologie + Sistemi biomimetici, Elaborazione segnali biomedici + Progettazione protesi e organi artificiali - prof. Ciardelli, Tonda, Molinari, Bignardi

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 STUDENTI E NON SONO STATI VISIONATI DAL DOCENTE.
IL NOME DEL PROFESSORE, SERVE SOLO PER IDENTIFICARE IL CORSO.

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 3 di 90

# POLIMERI

Sono sostanze formate da un gran numero di unità ripetitive (CRU o monomeri) unite tra loro da legami chimici. I polimeri sono costituiti da macromolecole formate da numerose unità strutturali tra loro concatenate e da un ristretto numero di gruppi terminali, limitanti il concatenamento.
Vi sono polimeri organici, inorganici o misti.
Si distinguono:

| | |
|---|---|
| ≤ 10 CRU | → OLIGOMERI |
| 10 - 100 CRU | → BASSI POLIMERI |
| 100 - 1000 CRU | → MEDI POLIMERI |
| > 1000 CRU | → ALTI POLIMERI |

I polimeri possono avere struttura lineare, ramificata o reticolata.
Si distinguono:

omopolimeri = polimerizzazione di un unico tipo di monomero
copolimeri = polimerizzazione di 2 o più monomeri diversi:
- alternati
- statistici
- a blocchi
- a innesto

Nomenclatura:
- comune → nomi commerciali
- corrente → si definisce il polimero in base al monomero di origine
- IUPAC → si definisce il polimero in base all'unità che si ripete

| MONOMERO | CRU | CORRENTE | IUPAC |
|---|---|---|---|
| $CH_2 = CH_2$ ETILENE | $\{CH_2 - CH_2\}_n$ DIMETILENE | polietilene | poli (dimetilene) |
| $CH_2 = CH$ (C₆H₅) STIRENE | $\{CH_2 - CH\}_n$ (C₆H₅) 1-FENIL-ETILENE | polistirene | poli (1-Fenil-etilene) |

I polimeri sono polidispersi, cioè le catene hanno diverso PM.

→ Curva di distribuzione dei PM.
Le proprietà del polimero dipendono da PM medio e da distribuzione.

$\overline{M}_w > \overline{M}_n$

**PM medio numerale**

$$\overline{M}_n = \frac{\sum N_i M_i}{\sum N_i}$$

**PM medio ponderale**

$$\overline{M}_w = \frac{\sum N_i M_i^2}{\sum N_i M_i} = \frac{\sum w_i M_i}{\sum w_i}$$

Grado di polidispersità: $\alpha = \frac{\overline{M}_w}{\overline{M}_n}$ (di solito $1,5 \leq \alpha \leq 2,5$)

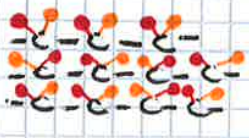
Grado di polimerizzazione: $x_n = \frac{\overline{M}_n}{M_0}$ oppure $x_w = \frac{\overline{M}_w}{M_0}$ $M_0$ → PM unità ripetente

Il PM medio influenza:
- PROPRIETÀ MECCANICHE: ↑ PM ⇒ ↑ forza
- LAVORABILITÀ MATERIALE: ↑ PM ⇒ ↓ lavorabilità
- CINETICA DI CRISTALLIZZAZIONE: ↑ PM → ↑ difficoltà di cristallizzazione

COSTITUZIONE = chimica del polimero (successione degli atomi in catena)

CONFORMAZIONE = disposizione delle catene per rotazioni lungo gli assi del legame singolo covalente. Definibile per tutti i polimeri.

CONFIGURAZIONE = disposizione dei sostituenti nei C chirali. Definibile solo per polimeri con C chirali.
- isotattica
- sindiotattica
- atattica



} possibile cristallizzazione
} amorfi

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 3 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 5 di 90

ESEMPIO POLICONDENSAZIONE: poliammidi

$$H_2N-R-NH_2 + HOOC-R'-COOH \rightarrow \left(\underset{H}{N}-R-\underset{H}{N}-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-R'-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-\right)_n + (2n-1)\,H_2O$$

diammina — diacido carbossilico — poliammide

ESEMPI POLIADDIZIONE:

lattami → poliammidi
lattoni → poliesteri
diisocianati + dioli → poliuretani
diisocianati + diammine → poliuree

Possono reagire monomeri con funzionalità diverse: AA/BB. Oppure può reagire un solo monomero che presenta 2 funzionalità: AB (autocondensazione).

Equazione di Carothers: esprime il grado di polimerizzazione $x_n$ come rapporto tra le moli totali iniziali delle specie reattive e le moli totali finali.

ECCESSO DI B RISPETTO AD A: $r = \frac{[BB]_0}{[AA]_0} \geq 1$ CONVERSIONE: $p = \frac{[AA]_0 - [AA]}{[AA]_0}$ $0 \leq p \leq 1$

- caso AA/BB: $\boxed{x_n = \frac{1+r}{1+r-2p}}$
- caso AB: $\boxed{x_n = \frac{r}{r-p}}$

Per avere elevato $x_n$: { alte conversioni ($p \cong 1$) / rapporti equimolari tra funzionalità reagenti ($r \cong 1$)

$r=1 \Rightarrow$ forte sensibilità del sistema a p
$p=1 \Rightarrow$ forte sensibilità del sistema a r

Di solito non si usano quantità di monomeri esattamente dosate perché la pratica è difficile e aleatoria e perché durante la polimerizzazione alcuni gruppi funzionali si possono disattivare.
Si usa un eccesso di uno dei due monomeri, che poi viene allontanato.

Se p cresce, le curve di distribuzione numerale e ponderale si allargano ⇒ la distribuzione dei PM diventa più ampia.

RICORDARE! →

per $r=1$:

$$x_n = \frac{1}{1-p} \Rightarrow \bar{M}_n = M_0 \cdot x_n$$

$$x_w = \frac{1+p}{1-p} \Rightarrow \bar{M}_w = M_0 x_w$$

$$\Rightarrow \alpha = \frac{\bar{M}_w}{\bar{M}_n} = 1+p \cong 2$$

## POLIMERIZZAZIONE A CATENA

Non ci sono reazioni casuali: un monomero attivato (radicale o ione) lega un altro monomero.
La reazione è veloce e avviene tipicamente per monomeri insaturi (vinilici: $CH_2=CH-R$).
Lo step iniziale può essere uno stimolo di T o un reagente chimico (iniziatore).
Processo:

1. inizio: generazione del sito attivo sul monomero $M \rightarrow M^*$
2. propagazione: addizione di monomeri, sito attivo al terminale di catena. $M + M^* \rightarrow (M)_n M^*$
3. terminazione: distruzione del sito attivo
4. trasferimento: trasferimento del sito attivo a un'altra molecola

Meccanismo radicalico: avviene se il gruppo R del monomero stabilizza un radicale mediante risonanza.
RADICALE LIBERO: specie atomica o molecolare il cui normale sistema di legame è stato modificato, per cui contiene un elettrone spaiato.
L'iniziatore deve avere legami labili che possono essere rotti tramite decomposizione termica o fotolisi:
$-O-O-$ (perossidi)
$-N=N-$

Si mettono piccole quantità di iniziatore, se no reagiscono tra loro ⇒ basso PM.
L'iniziatore può subire reazioni secondarie:

- ricombinazione primaria: $\dot{I} + \dot{I} \rightarrow I-I$
- attacco a un altro iniziatore: $\dot{I} + I-I \rightarrow I-I + \dot{I}$
- attacco al solvente: $\dot{I} + HS \rightarrow I-H + \dot{S}$

⇒ EFFICIENZA: 30 - 80 %

Inizio: $\dot{I} + M \rightarrow I-\dot{M}$

Crescita: $I-\dot{M}_n + M \rightarrow I-\dot{M}_{n+1}$

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 5 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 7 di 90

**ANIONICO**
- iniziatore anionico
- terminazione per trasferimento (solvente protico), possibilità di polimerizzazione vivente
- in solvente

**CATIONICO**
- iniziatore cationico
- terminazione per riarrangiamento unimolecolare o trasferimento bimolecolare
- in solvente

**RADICALICO**
- iniziatore radicalico
- terminazione per combinazione, disproporzionamento o trasferimento
- in fase liquida, solida o gassosa

**A STADI**
- PM basso fino a conversione prossima al 100% e cresce con il tempo di polimerizzazione
- PM cresce con il tempo di polimerizzazione
- possono reagire monomeri o oligomeri

**A CATENA**
- veloce, il PM sale rapidamente
- PM legato a rapporto tra le varie vel del processo (inizio, propagazione, termine, trasferimento)
- catena in crescita per attacco di una nuova unità
- si possono avere catene già terminate all'inizio o può rimanere monomero che non ha reagito

# PROPRIETÀ MECCANICHE POLIMERI

Le proprietà meccaniche sono determinate dalle relazioni tra carichi applicati e deformazioni misurate.

## RESISTENZA A TRAZIONE

I provini hanno forma a osso di cane. La prova avviene in condizioni controllate (T, umidità)

Sforzo nominale: $\sigma = \frac{F}{A_0}$ → $F$ forza misurata; $A_0$ area iniziale

deformazione %: $\varepsilon = \frac{L - L_0}{L_0} \cdot 100$ → $L_0$ lunghezza iniziale

Si costruiscono curve $\sigma$-$\varepsilon$: nel tratto rettilineo si calcola il modulo elastico: $\sigma = E\varepsilon$

Area sottesa = tenacità (energia necessaria a rompere materiale).

| | MATERIALE FRAGILE | MATERIALE TENACE |
|---|---|---|
| SFORZO | $\sigma_R < \sigma_S$ | cedimento a $\sigma_S$ |
| ENERGIA PER ROTTURA | bassa | alta |
| PROPAGAZIONE ROTTURA | rapida | lenta |

Le caratteristiche meccaniche dei polimeri dipendono da:
- vel applicazione carico
- T
- morfologia
- PM

I polimeri sono caratterizzati da viscoelasticità → comportamento intermedio tra: solidi elastici: $\sigma = E\varepsilon$; liquidi: $\sigma = \mu \frac{d\varepsilon}{dt}$

bassa T / alta vel → prevale comportamento da solido elastico. Se no da liquido

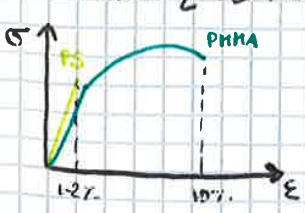
$$\varepsilon_{TOT} = \varepsilon_I + \varepsilon_{VEO}\left[1 - e^{-\frac{t}{\tau}}\right] + \frac{Kt}{\eta}$$

① ② ③

① deformazione elastica istantanea. Dovuta a variazione degli angoli di legame delle catene. No dissipazione energetica.

② deformazione viscoelastica. Dipende dallo scivolamento delle catene polimeriche (variazioni conformazionali). Viene recuperata con ritardo. La costante di tempo $\tau$ dipende da T e chimica. C'è dissipazione energetica dovuta agli attriti.

③ deformazione viscoplastica. È dovuta a scivolamenti delle catene ed è irrecuperabile. L'energia di deformazione viene persa in calore. Dipende da t applicazione e da T (tramite $\eta$, viscosità).
↑ T ⇒ ↓ $\eta$ ⇒ ↑ deformazione.




Polimeri amorfi: testati a $T < T_g$
Prevale deformazione elastica istantanea → comportamento lineare
Generalmente sono rigidi e fragili (polistirene, PS), ma ci sono delle eccezioni (PMMA).

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 7 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 9 di 90

# BioMEMs

I BioMEMs (Biological Micro Electro Mechanical Systems) sono sistemi o dispositivi realizzati utilizzando tecniche ispirate alla fabbricazione su μ e n scala e che sono usate per lavorazione, trasporto, manipolazione, analisi o costruzione di entità chimiche o biologiche.
Se hanno applicazioni diagnostiche si parla di Bio Chips.

Materiali: silicio, polimeri (silicone), materiali biologici (come sensori)

Vantaggi n scala:
- maggior sensibilità del probe
- riduzione volume dei reagenti e dei costi associati
- riduzione tempi di analisi
- portabilità e miniaturizzazione del sistema di analisi.

Elementi BioMEMs:
- elemento sensibile (deve essere selettivo)
- trasduttore
- elettronica di supporto

**Biosensore**: dispositivo analitico che combina un elemento biologicamente sensibile con un trasduttore chimico o fisico allo scopo di determinare selettivamente e quantitativamente la presenza di composti specifici in un dato ambiente esterno.
Il mediatore biologico (elemento di riconoscimento molecolare) è responsabile della selettività.
Il trasduttore è l'elemento che traduce il segnale di riconoscimento biologico in un segnale elettrico.

## PCR (Reazione a Catena della Polimerasi)

È una tecnica che consente di ottenere rapidamente milioni di molecole identiche di DNA a partire da quantità estremamente ridotte dell'acido nucleico.
Si basa sull'esecuzione ciclica di:
1. denaturazione: da DNA a doppia elica a DNA a singola elica (95°C)
2. ibridazione (annealing): aggiunta primer per DNA-polimerasi (50-70°C)
3. sintesi: replicazione DNA (68-72°C)

La denaturazione viene monitorata misurando l'assorbanza: la conformazione nativa assorbe meno perché le basi azotate si fanno ombra a vicenda.
La temperatura di fusione ($T_m$) è la T alla quale il 50% di una certa sequenza nucleotidica è ibridizzata al suo filamento complementare. Caratterizza la stabilità tra sonda (primer) e filamento complementare, quindi è utile per determinare la T di annealing.
$T_m$ dipende da:
- lunghezza sonda
- composizione in basi (↑ G-C → ↑ $T_m$)
- grado di omologia
- ambiente chimico → cationi monovalenti stabilizzano doppia elica
  → denaturanti chimici destabilizzano doppia elica

Da curve di assorbanza in funzione di T si vede che: 70 ≤ $T_m$ ≤ 100 °C

Per l'annealing di solito si opera a $T_a = T_m - 5°C$. Si possono seguire 2 metodi diversi:
- $T_a$ costante durante i cicli
- approccio touch-down: $T_a$ diminuisce ciclo dopo ciclo (serve sempre meno selettività)

Il tempo di annealing è di circa 30 s: non deve essere troppo lungo per non consentire appaiamenti tra stampi a bassa complementarietà (riduce selettività).

La DNA-polimerasi usa i primer per sintetizzare i filamenti complementari.

Il ciclo può essere ripetuto anche 60 volte.
Replicazione perfetta: $2^n$ copie ($n \to n^2$ cicli)
In realtà: $(1+\varepsilon)^n$ copie con $\varepsilon = 0{,}7 - 0{,}8$

Usi PCR:
- identificare un individuo (medicina legale)
- identificare presenza di un determinato microorganismo
- individuare eventuali mutazioni
- clonare regioni genomiche

**RT-PCR**: amplifica solo i geni che vengono trascritti (esoni). Si parte da mRNA, che viene retrotrascritto in cDNA (complementare), che è l'unione degli esoni. Il cDNA viene amplificato.

**PCR Real Time**: consente di monitorare il processo di amplificazione in tempo reale. Si usano molecular beacons, porzioni di DNA con un fluoroforo e un quencher.

→ conformazione a forcina → spenta.
All'inizio è ibridizzata con DNA (accesa), la DNA-polimerasi la scalza.
Fluorescenza si spegne

→ conformazione estesa → spenta.
All'inizio è ibridizzata con DNA (spenta), la DNA-polimerasi la rompe.
Fluorescenza si accende

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 9 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 11 di 90

# BioMEMs: CASI APPLICATIVI

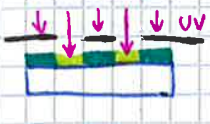
## MISURAZIONE DEL GLUCOSIO

Si vuole misurare il contenuto di glucosio in real time dalle lacrime tramite sensore amperometrico.
Sensore:
- membrana permeabile ai gas in polipropilene flessibile
- enzima glucosio ossidasi (fissato con legame covalente tramite UV)
- anodo in Pt
- catodo in Ag/AgCl

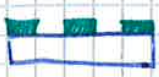
La glucosio ossidasi catalizza una redox: si misura una corrente proporzionale alla concentrazione di glucosio.
Fabbricazione:

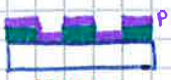
1.

deposizione del fotoresist positivo mediante spin coating.

2. 

esposizione ai raggi UV con apposita maschera. Dove viene colpito dagli UV, il fotoresist rammollisce.

3. 
sviluppo: si porta via il resist rammollito. Si ottiene la forma della maschera sul substrato.

4. 

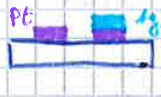
si deposita il platino sul fotoresist mediante sputtering.

5.

le zone di interesse sono ricoperte con un altro resist positivo.

6.

si deposita Ag/AgCl mediante sputtering

7. 

tramite lift off si eliminano: fotoresist residui e si ottiene la struttura finale dell'elettrodo.

Calibrazione: si misura la corrente generata da una soluzione di glucosio a concentrazione nota.
C'è proporzionalità diretta tra concentrazione di glucosio e corrente.

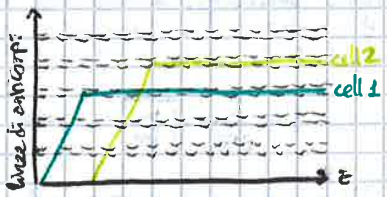
Validazione: si confronta misura dell'elettrodo con la classica misura del sangue. Si vede che la risposta dell'elettrodo è più lenta, ma ha lo stesso andamento dell'altra. Inoltre il sensore consente di avere una risposta continua.

## SAGGI IMMUNOLOGICI

Si vogliono intercettare cellule tumorali sfruttando il fatto che esprimono proteine extramembranali diverse dalle cellule sane.

Chip microfluidico con 11 percorsi di flusso: le cell si muovono su 11 linee di superfici funzionalizzate con anticorpi. Sia le cell che gli anticorpi sono marcati, quindi è possibile vedere dove si fermano.
Si costruiscono grafici con 3 zone:
- FLOWING: la cell fluisce nel dispositivo
- BINDING: la cell si lega a un anticorpo
- IMMOBILISED: la cell è immobilizzata

Linee che non hanno cell immobilizzate → le cell che fluivano su di esse non presentavano il recettore per l'anticorpo di quelle linee.




Chip per riconoscimento cell del carcinoma mammario: device microfluidico basato su anticorpi.
Si confrontano gli anticorpi: EMA e EGFR: il primo risulta più specifico.
Si confrontano vel di flusso diverse: i risultati migliori si ottengono con alta vel (15 μL/min).
Il chip è in silicone (PDMS).

Nanovelcro: chip che permette la rilevazione delle CTC (Circulating Tumor Cells) nel sangue tramite immobilizzazione con anticorpo. Il dispositivo è composto da:
- mixer caotico a serpentina in PDMS
- substrato a pattern con coating di anticorpo (anti-EpCAM) (nanowires in Si)
- contenitore.

Si fa fluire il sangue del paziente nel chip: le CTC si legano selettivamente all'anticorpo, quindi possono essere immobilizzate e contate.
Il chip ha un'elevata efficienza di rilevamento, che consente:
- diagnosi più rapida
- miglior scelta della terapia.

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 11 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 13 di 90

## RILEVAZIONE OTTICA

La presenza della biomolecola dà un segnale luminoso. È il metodo più usato. Bisogna marcare ciò che si vuole misurare.
L'entità da rilevare viene marcata, poi viene fatta aderire alla superficie del chip mediante capture probe (DNA a singolo filamento o anticorpi). Il DNA o le proteine marcati si ibridizzano ai probe, dando un segnale luminoso.
Si può anche rilevare la presenza di cell: vengono immobilizzate tramite anticorpi selettivi per proteine extramembranali e vengono individuate tramite anticorpi marcati che si legano ad altre proteine di membrana (non si marcano direttamente le cellule).

FLUORESCENZA: assorbimento molecolare di en. luminosa (fotone) ad una certa lunghezza d'onda e sua riemissione a una lunghezza d'onda maggiore (perché parte dell'en. ricevuta viene persa in transizioni non radioattive). È dovuta a proprietà elettroniche: in certe molecole la differenza di en. tra orbitali di legame e di antilegame è pari a una λ del visibile.
Variando la struttura della molecola si può variare il colore dell'emissione (si fa con le cianine).

Direct labeling: si sintetizza DNA marcato (per es usando primer marcati nella RT-PCR).
Post labeling: DNA marcato dopo la sintesi (per es legando covalentemente i coloranti a gruppi amminici o allilici modificati).

## RILEVAZIONE ELETTRICA

La presenza della biomolecola dà una variazione di proprietà elettriche. È spesso usata nei BioNEMS perché consente di usare sensori di piccole dimensioni.
- amperometrici (misurano corrente associata a redox)
- potenziometrici (misurano ddp associata a ioni o reazioni chimiche)
- conduttometrici (misurano Δconduttanza associata a variazioni del mezzo ionico interposto tra gli elettrodi)

Per es: RILEVAZIONE AMPEROMETRICA DEL GLUCOSIO.
Si basa sulla redox catalizzata dalla glucosio ossidasi:

$$\text{glucosio} + O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{glucosio ossidasi}} \text{acido gluconico} + H_2O_2 \xrightarrow{Ag/AgCl\ -600mV} \text{riduzione}$$

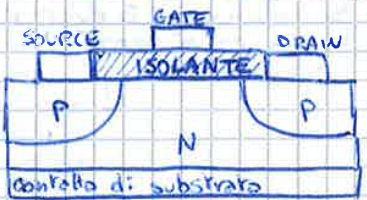
TRANSISTOR: tecnologia che sta alla base dei sensori potenziometrici. Sono dispositivi allo stato solido formati da semiconduttori.
- Silicio drogato → e⁻ facilitati a passare in banda di conduzione

Giunzione p-n: dal Si p (povero di e⁻) è a contatto con del Si n (ricco di e⁻). All'interfaccia si genera una ddp costante (tensione di built-in).
Si possono realizzare diversi tipi di transistor.

BJT: Transistor a giunzione bipolare. Una corrente elettrica è inviata nella base (B) e modula (controlla) la corrente che scorre tra gli altri due terminali, emettitore (E) e collettore (C). Il transistor sfrutta la vicinanza di 2 giunzioni p-n opposte. Quando la giunzione B-E viene polarizzata direttamente, i portatori di carica che transitano attraverso di essa vengono catturati dal campo elettrico interno alla giunzione ~~stessa~~ C-B, che in questo modo viene percorsa da corrente.

FET: Transistor a effetto di campo. A un substrato (bulk) di semiconduttore drogato sono applicati 3 terminali: porta (gate), sorgente (source), pozzo (drain).
Il principio di funzionamento si fonda sulla possibilità di controllare la conduttività elettrica del dispositivo (e quindi la corrente che lo attraversa) mediante la formazione di un campo elettrico al suo interno. Il processo di conduzione coinvolge solo i portatori di carica maggioritari → transistor unipolare.
Si distinguono 3 principali famiglie di FET:

- MOSFET: transistor a effetto di campo metallo ossido conduttore. Ha uno strato di ossido isolante (silice) tra gate e substrato, cosa che riduce le perdite di potenza. La tensione applicata sul gate non solo crea una zona svuotata priva di portatori, ma se supera una tensione di soglia provoca anche una inversione di popolazione nel silicio a ridosso dello strato di ossido.




- JFET: è costituito da un sandwich di semiconduttori drogati in modo diverso (P-N-P o viceversa). La corrente transita in un canale che collega source e drain; il gate è una giunzione che, essendo polarizzata inversamente, ostruisce il passaggio di carica nel canale (c'è una zona di svuotamento). A seconda della tensione applicata al gate, la zona di svuotamento può estendersi, strozzando o chiudendo il canale.
- ISFET: Transistor a effetto di campo sensibile agli ioni. Misura la concentrazione di ioni H+ in soluzione. Ha la stessa struttura di un MOSFET, ma senza metallizzazione del gate (espone l'isolante alla soluzione elettrolitica da analizzare).
- ChemFET: transistor a effetto di campo chimico. Sopra l'isolante di gate è depositata una sostanza in

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 13 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 15 di 90

- CVD: deposizione chimica per evaporazione. Parte da gas (per es CO). È l'unico metodo continuo. La sorgente gassosa è inviata in un reattore a 600-1200°C in presenza di un opportuno catalizzatore. Il gas si decompone, il C viene adsorbito dalle particelle di catalizzatore e trasformato in nanotubi.
  Vantaggi: - resa: 20-100%
  - SWNT o MWNT di taglia e morfologia desiderate
  - nanotubi più lunghi
  Svantaggi: - per lo più MWNT
  - alta % di difetti
  - diametro tubo legato a diametro catalizzatore metallico
  - lunghezza tubi proporzionale a t di reazione, ma vel di crescita diminuisce col t. Se il t di reazione è troppo lungo si forma tanto C amorfo.

Crescita nanotubi:
- base-growth: la particella metallica sta ferma e fa da base per la crescita del nanotubo
- tip-growth: la particella si allontana dal supporto, al quale resta legata tramite il nanotubo.

Formazione di SWNT vs MWNT:
- C diffonde nel catalizzatore ⇒ MWNT
- alimentazione di C alla particella → SWNT

Esistono diversi sistemi di purificazione dei nanotubi, ma tutti li danneggiano: bisogna trovare un compromesso tra quantità e purezza.
- eliminazione particelle di catalizzatore: metodi chimici o fisici. Si distrugge il 30% del materiale prodotto.
- eliminazione particelle di supporto (solo CVD): trattamento con soluzioni acide, poi filtrazione ed essiccazione.
- eliminazione altre forme di C: filtrazione, centrifugazione, cromatografia, ossidazione ossidazione (C amorfo e fullereni sono più reattivi dei nanotubi).

I nanotubi possono essere resi più solubili tramite funzionalizzazione. Tramite ossidazione acida si espongono gruppi carbossilici: si eliminano le cariche che chiudono i nanotubi mediante $H_2SO_4/H_2O_2$ o $H_2SO_4/HNO_3$. I gruppi carbossilici possono essere usati per legare molecole organiche.
Per es: glucosio ossidasi legata a nanotubi mediante una molecola bifunzionale (estere attivo e pirene). Il pirene (4 anelli di benzene) interagisce con i nanotubi tramite e⁻ delocalizzati di tipo π (interazione idrofobica π-stacking). L'estere attivo si lega all'enzima.
Si può anche sfruttare l'interazione streptavidina-biotina (biotina si lega a nanotubo).

I nanotubi di C possono essere tossici per alcuni tipi di cell. La tossicità dipende da dose e tempo di contatto. Tuttavia i nanotubi sono meno tossici delle altre forme di C. La funzionalizzazione superficiale aumenta la tossicità dei nanotubi.

Esempi:
→ scaffold in MWNT e chitosano + BMP → mioblasti differenziano in osteoblasti
→ patch biodegradabili con nanotubi: per zone infartuate → conducibilità nanotubi ha effetto benefico
→ superficie di nanotubi rivestita da film cellulari + 4HNE → differenziamento stem cell in neuroni
→ nanotubi tossici anche a basse dosi per cell renali

## MEMs MICROFLUIDICI

Dispositivi che trasportano, erogano, combinano e/o separano fluidi a livello microscopico (canali < 1 mm). La loro applicazione consente di:
- ridurre quantità di liquidi impiegati
- minimizzare scarti
- operare in serie o in parallelo su dispositivi multipli
- bassi costi anche per device elaborati

Nei MEMs microfluidici il flusso è laminare (Reynolds: 1-200).

## MICROARRAYS

Ogni sensore può essere sviluppato in un formato array per rilevare entità multiple simultaneamente.
I più usati sono: DNA micro arrays: array di DNA a catena singola che possono essere usati per individuare sequenze di DNA. L'ibridizzazione del DNA deve dare segnali rilevabili.
Per immobilizzare le sequenze:
- tecnica ottica: si parte da vetro silanizzato (presenta gruppi ammino). Gli NH₂ sono protetti tramite la sostituzione di un H con un gruppo X organico. Illuminando il vetrino con la opportuna maschera si rimuove X selettivamente, sostituendolo con un nucleotide. Si costruiscono le sequenze base per base. Solo per sequenze non molto lunghe;
- tecnica elettrica: sfrutta la carica negativa del DNA. Impostando l'opportuna carica positiva, si possono immobilizzare sequenze diverse in ogni punto della matrice. Va bene per sequenze lunghe;
- tecnica chimica: DNA non modificato legato a lastre ammino-modificate. Interazione tra gruppi fosfato carichi negativamente e superficie carica positivamente denatura il DNA. Attacco adatto per frammenti lunghi più di 60-70 nucleotidi.

La rilevazione dell'ibridizzazione è tipicamente fatta con mezzi ottici (fluorescenza), ma si fa ricerca per la rilevazione elettrica perché ha il vantaggio di essere label-free.

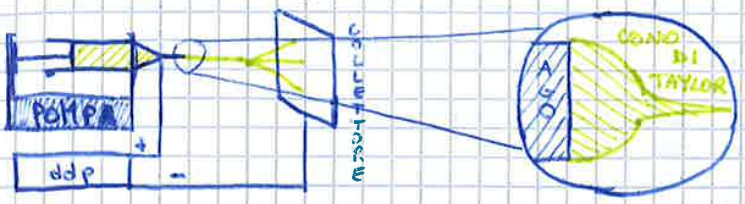
© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 15 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 17 di 90

# ELECTROSPINNING

Processo tramite il quale si possono produrre nfibre polimeriche usando un sistema di guida elettrostatica che consente la loro deposizione controllata su di un substrato.
Caratteristiche nfibre:
- d < 100 nm
- area superficiale ≅ 100 $m^2/g$
- pori ≅ 1-5 μm

Si applica un campo elettrico (ddp fino a 10 kV) ad un capillare dotato di un ugello (d ≅ 1 mm) riempito con polimero e solvente. L'ago acquista una carica ⊕, che viene trasmessa alla soluzione. Se la forza elettrostatica generata supera la tensione superficiale del fluido, parte un getto. Durante il percorso ugello - collettore il solvente evapora. Le fibre sono raccolte sul collettore.




La formazione del cono di Taylor è dovuta alla repulsione tra cariche positive.
diametro ago → mm
diametro cono di Taylor → μm
Le fibre che partono dall'ugello vengono sfilate, raggiungendo un diametro nanometrico.

L'ago può avere:
- sezione circolare
- sezione formata da 2 semicerchi → fibre bicomponenti
- sezione formata da 2 anelli concentrici → fibre cave

A un certo punto le forze elettrostatiche sono così intense che il getto si frammenta. Vicino al collettore il getto tende a percorrere traiettorie a spirale sempre più ampie (regime di instabilità): mentre i cerchi si allargano, i diametri diventano sempre più sottili. Si ha deposizione casuale delle nfibre.

I collettori possono essere:
- piano
- cilindro rotante → tubo di fibre
- anelli metallici → fibre orientate

Con la stessa apparecchiatura si possono ottenere nparticelle (electrospray), basta diminuire la concentrazione della soluzione.

Difetti di filatura:
- beads: regioni rigonfie
- nastri: diametro appiattito
- difetti superficiali

} legati a solvente residuo

Parametri che influenzano il processo di electrospinning:

**PARAMETRI DI SISTEMA**
- PM: basso PM → beads
- STRUTTURA POLIMERO: lineare → meglio
- proprietà soluzione:
  - CONCENTRAZIONE: troppo bassa → electrospray; troppo alta → processo discontinuo
  - VISCOSITÀ: troppo bassa → fibre discontinue; troppo alta → no getto polimerico
  - TENSIONE SUPERFICIALE: bassa → meno beads
  - CONDUTTIVITÀ: troppo bassa → difetti; troppo alta → d disomogenei

**PARAMETRI DI PROCESSO**
- POTENZIALE ELETTRICO: ↑ddp → d prima decresce, poi cresce
- DISTANZA CAPILLARE-COLLETTORE: c'è distanza minima
- FLUSSO SOLUZIONE POLIMERICA: eccessivo → difetti
- PARAMETRI AMBIENTALI: T, umidità, vel aria
- MOVIMENTAZIONE COLLETTORE

| | PARAMETRO | EFFETTO SU FIBRE |
|---|---|---|
| CRESCENDO | ↑ ddp | prima ↓d, poi ↑d |
| | ↑ flusso | ↑d (troppo alto → beads) |
| | ↑ distanza capillare-collettore | ↓d (troppo bassa → beads) |
| SISTEMA | ↑ viscosità | ↑d |
| | ↑ conduttività | ↓d |
| | ↑ volatilità solvente | pori su superficie fibre |

Applicazioni in biomedica:
- scaffold per TE
- rivestimento di ferite
- rilascio di farmaci
- funzionalizzazione con biomolecole
- guida per rigenerazione nervi periferici
- influenzare differenziamento stem cell

L'electrospinning può essere usato su ogni tipo di polimero.

Partendo da una soluzione polimerica è difficile controllare la dimensione dei pori perché la fibra si scompone nella regione di instabilità.

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 17 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 19 di 90

**Spreading cellulare:** formazione protrusioni citoplasmatiche
↓
formazione adesioni focali all'apice di queste formazioni
↓
protrusioni si appiattiscono e si allargano.

Adesione e spreading sono influenzate da caratteristiche chimiche del substrato:
idrofobico → diminuisce spreading
idrofilico → favorisce spreading

**Complessi focali:** strutture contenenti integrine e molecole associate, situate al bordo di lamellipodi. Possono essere transienti o evolvere in adesioni focali.

**Meccanosensori:** trasformano una perturbazione meccanica in un segnale che promuove la formazione di adesioni focali e attiva il signaling delle integrine.
Via della **MAPKasi:** integrine trasmettono segnali al nucleo tramite la cascata di proteine della MAPKasi.
segnale positivo → raggruppamento integrine (↑ area di adesione)
segnale negativo → rilascio matello proteinasi (distacco integrina - substrato)

Quantificando l'adesione nei punti focali si può avere un'idea della biocompatibilità del materiale:
- METODI MECCANICI:
  - misura della forza che serve a piegare una micropipetta attaccata ad una cell per suzione
  - metodo AFM
- METODI NON MECCANICI:
  - quantificazione con marcatura fluorescente della vinculina
  - marcatura della proteina di adesione con tetrossido d'osmio e visualizzazione al SEM
- METODI IMMUNOCITOCHIMICI:
  - riconoscimento di proteine di adesione mediante anticorpi marcati fluorescenti

| SPREADING | vitalità | migrazione | proliferazione | differenziamento |
|---|---|---|---|---|
| basso | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ |
| medio | ↑ | ↑ | ↑ | ↓ |
| alto | ↑ | ↓ | ↓ | ↑ |

Generazioni biomateriali:
① BIOINERTI
② BIOATTIVI E BIODEGRADABILI
③ STIMOLAZIONE SPECIFICA RISPOSTA CELL

Interazione tessuto-materiale:
adsorbimento proteine → segnali positivi → integrazione nel tessuto
→ segnali negativi → formazione capsula fibrotica

Le proteine possono aderire quasi a ogni tipo di superficie perché hanno sia caratteristiche idrofiliche, che idrofobiche. Non gradiscono proprietà estreme: superfici molto idrofiliche o molto idrofobiche sono antifouling. Un altro adsorbimento può essere legato ad un'altra concentrazione della proteina (effetto chelato).
**Effetto Vroman:** descrive l'adsorbimento di proteine diverse nel tempo. Prima si adsorbono le proteine a basso peso ed alta concentrazione, poi esse vengono sostituite da proteine più grosse e presenti in minor concentrazione, ma con una maggior affinità per la superficie.

Un materiale testato in vitro può mostrare una buona biocompatibilità, ma generare una capsula fibrotica se testato in vivo: questo perché in vivo viene adsorbito uno strato complesso e non specifico di proteine, che non viene riconosciuto in natura.

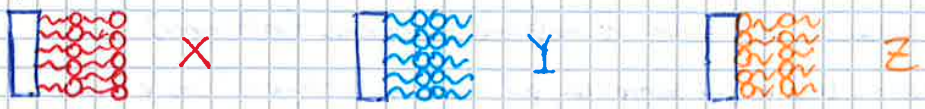
N.B: il collagene è una proteina glicosilata!

N.B: la fibronectina è una glicoproteina

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 19 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 21 di 90

Si possono depositare più layers. Per es, se la superficie è idrofilica il primo trasferimento avviene per una forte interazione tra i gruppi carbossilici dell'acido e i gruppi polari della superficie; il secondo trasferimento è dovuto a una forte interazione idrofobica tra le catene alchiliche del primo monolayer e quelle che si protendono dalla superficie d'acqua del monostrato flottante.
Possibili deposizioni:




Si possono ottenere strati di molecole diverse (Langmuir-Blodgett trough).

Vantaggi tecnica di Langmuir-Blodgett:
- precisa controllo dello spessore del monostrato
- deposizione omogenea su grandi aree
- possibilità di fare multistrati anche con diversa composizione
- applicazione a vasta classe di materiali
- deposizione del monolayer su ogni tipo di substrato

Svantaggi tecnica di Langmuir-Blodgett:
- obbligati a usare molecole anfifiliche
- tecnica complessa (tempi lunghi, strumentazione costosa)

Si valuta il trasferimento tramite il rapporto di trasferimento: $\tau = \frac{A_L}{A_S} \cdot 100$

$A_L$ → area monolayer rimosso
$A_S$ → area substrato

Si può valutare l'uniformità del film ottenuto tramite spettroscopia UV e visibile: aumento dell'assorbanza in funzione del numero di monolayer trasferiti sul supporto solido.

Si può misurare l'estensione del trasferimento tramite microbilancia a cristalli di quarzo: relazione lineare tra diminuzione della frequenza di oscillazione e numero di strati trasferiti.

Altre tecniche per ottenere film sottile su substrato solido:
- evaporazione del solvente
- sputtering
- SAM
- electrodeposition

## SELF ASSEMBLY MONOLAYER (SAM)

È un assemblaggio molecolare organizzato, formatosi spontaneamente all'interfaccia tra un opportuno substrato e una soluzione surfattante.
Processi alla base della tecnica:
- forte adsorbimento esotermico di gruppi chimici in superficie
- interazioni di Van der Waals tra le catene alchiliche

Si forma un legame paragonabile a uno covalente:

$$\underbrace{RSH}_{\text{resto molecole anfifiliche}} + Au \longrightarrow RS-Au + \frac{1}{2} H_2$$

L'estremità delle catene alchiliche può essere funzionalizzata.
Molecole più usate:
- alcantioli (forte affinità con metalli nobili per presenza S)
- silani (su substrato di silice)

La tecnica SAM viene usata soprattutto per studiare interazioni cell-biomolecole in laboratorio.

Svantaggi SAM:
- basso carico di componenti biologiche (si possono fare solo monolayer)
- limitato numero di substrati
- limitata stabilità del film in condizioni fisiologiche o ambientali

## TECNICA LAYER-BY-LAYER

Il substrato viene immerso in una soluzione di polielettrolita, poi lavato. In seguito viene immerso in una soluzione di polielettrolita di carica opposta, poi lavato.
Si ripete il procedimento finché non si raggiunge il numero voluto di doppi strati.

Possibili costituenti dei layer:
- polielettroliti sintetici
- nanoparticelle inorganiche
- Lipidi
- ceramici
- biomolecole (proteine o polisomi)

La tecnica coinvolge interazioni elettrostatiche, legami H, trasferimento di carica, legami covalenti, riconoscimento biologico, interazioni idrofobiche.

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 21 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 23 di 90

Il meccanismo di assemblamento è diverso da quello del collagene. La molecola formano un loop, che viene stabilizzato mediante reticolazione:

$$RSH + HSR \longrightarrow R\text{-}S\text{-}S\text{-}R$$

Si può innescare la reticolazione mediante una riduzione con mercaptoetanolo.
Le molecole si autoassemblano in nanofibre, dalle quali può nucleare fosfato di calcio con la stessa composizione di quello delle ossa.

## FOTOZIMI

Sono copolimeri di vinili aromatici con acido maleacrilico o acido acrilico.
Sono formati da una catena da cui pendono:
- gruppi idrofobici (cromofori)
- gruppi idrofilici (zwitterionici)

Posti in $H_2O$, i fotozimi assumono una forma pseudomicellare.
Grazie all'effetto antenna, i fotozimi possono trasmettere l'en luminosa all'interno della micella.
Possibili usi:
- detossificare acque reflue
- stimolare processi di biomineralizzazione → film di chitosano e fluoresceina

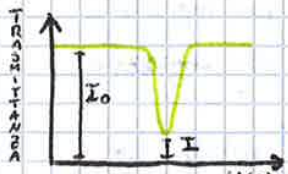
# SPETTROSCOPIA

Consente di verificare se una tecnica di funzionalizzazione ha avuto successo.

Raggi UV → promuovono e⁻ a orbitali a più alta energia
Raggi IR → fanno vibrare la molecola

## SPETTROSCOPIA INFRAROSSA

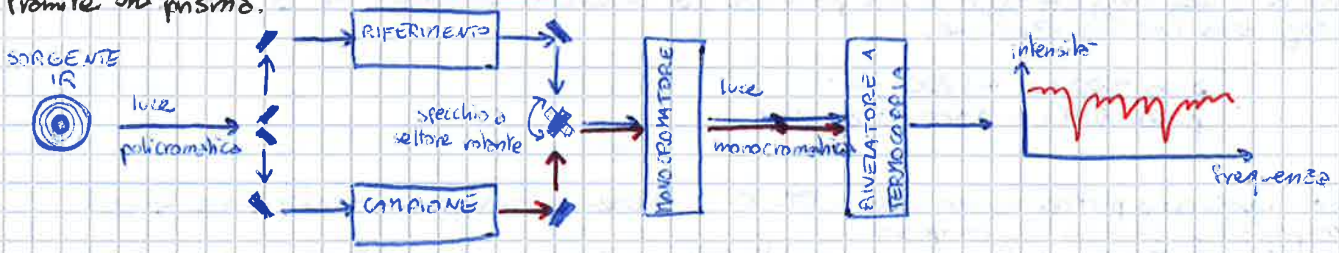
Quando un fotone IR viene assorbito da una molecola, essa passa dal suo stato vibrazionale fondamentale ad uno stato vibrazionale eccitato. I legami chimici oscillano: si può misurare lo stretch del legame C-H.




Se un materiale non è completamente trasparente agli IR, si verificano degli assorbimenti e quindi delle transizioni tra livelli energetici vibrazionali.
Lo spettro registrato è caratterizzato da una serie di picchi di altezza variabile per ciascuna transizione.
I legami possono vibrare in modi diversi a seconda dell'energia:
- symmetric stretching
- scissoring
- rocking
- antisymmetric stretching
- wagging
- twisting

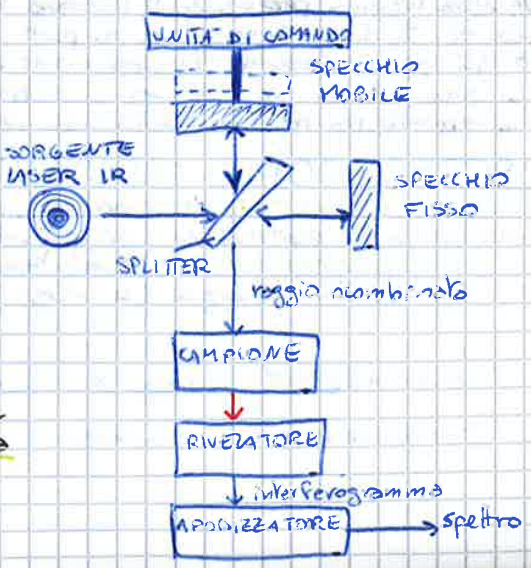
Tramite grafici di correlazione si associano picchi di assorbimento a frequenze.

I primi strumenti IR erano di tipo dispersivo: le singole frequenze di en. emesse dalla fonte IR erano separate tramite un prisma.




Problema: si deve fare un confronto tra campione e riferimento, con la possibilità di commettere errori se lo strumento non è ben tarato.

Per migliorare il sistema si usa l'**interferometria**. L'interferenza è la sovrapposizione di 2 o più onde. L'intensità o ampiezza dell'onda risultante può essere diversa dalla somma delle intensità associate ad ogni singola onda di partenza.
Interferenza costruttiva: intensità risultante maggiore rispetto a quella di ogni singola intensità originaria.
Interferenza distruttiva: intensità risultante minore rispetto a quella di ogni singola intensità originaria.
Una sorgente manda una radiazione verso uno specchio (beam splitter) che separa il raggio: metà va verso uno specchio mobile, metà verso uno specchio fisso. In seguito i raggi si ricombinano, ma avendo percorso distanze diverse non sono più in fase: c'è interferenza. L'onda risultante viene fatta passare attraverso il campione, poi arriva a un rivelatore che fornisce l'interferogramma (intensità vs tempo). Per ottenere lo spettro si fa la trasformata di Fourier dell'interferogramma.
Non c'è bisogno di una calibrazione esterna!



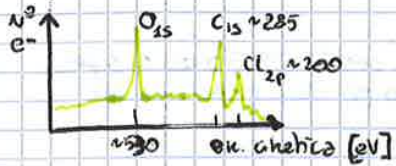

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 23 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 25 di 90

**XPS**: dà informazioni sulla composizione chimica del campione. Analizza gli $e^-$ in funzione della loro energia cinetica. È una tecnica superficiale perché gli $e^-$ profondi escono con en. ridotta a causa di urti anelastici che subiscono nel materiale.

assorbimento a raggi X → determinazione di piccole concentrazioni di elementi fortemente assorbenti.
emissione dei raggi X → determinazioni qualitative in metalli e leghe
fluorescenza dei raggi X → analisi quantitative

Lo spettro che si ottiene presenta picchi dovuti da $e^-$ monoenergetici (dipendono dal tipo di atomi che li ha emessi) e un alone (dovuto da $e^-$ profondi, è inutile).
La superficie analizzata ha lo spessore di qualche decina di Å.
Per ogni specie atomica, l'en. di legame degli $e^-$ dei livelli atomici profondi ha valori ben precisi, caratteristici di ciascun elemento. Se non subiscono urti, gli $e^-$ provenienti da un particolare livello atomico escono dal campione con en. cinetica legata all'en. di legame che possedevano nel materiale.
Misurando l'en. cinetica degli $e^-$ è possibile risalire alla loro en. di legame, individuando in modo univoco la specie chimica degli atomi presenti nel campione.
Lo spettro riporta il numero di $e^-$ fotoemessi in funzione dell'en. di legame all'interno del materiale.




Dall'area di ciascun picco è possibile risalire alla quantità percentuale di un elemento all'interno di un materiale.
La tecnica è molto sensibile: rileva la presenza di elementi con concentrazioni dello 0,1 %.
L'analisi della forma dei picchi fotoelettronici viene effettuata mediante una procedura matematica di deconvoluzione (curve-fitting), per separare le diverse componenti relative ai diversi intorni chimici degli elementi. Ogni banda in un picco corrisponde a uno stesso tipo di atomo in condizioni di legame diverse. Si ottengono informazioni paragonabili a quelle della spettroscopia IR.

## MICROSCOPIA ELETTRONICA

Dà informazioni morfologiche.

a scansione → risoluzione: 5 nm
a trasmissione → risoluzione: < 1 nm

La microscopia elettronica a scansione (SEM) utilizza l'immagine dell'oggetto formata dagli $e^-$ secondari. Un fascio focalizzato di $e^-$ primari viene fatto scandire sul campione: nell'interazione tra fascio e atomi vengono emesse numerose particelle, tra le quali gli $e^-$ secondari. Questi $e^-$ secondari vengono catturati da un rivelatore e convertiti in impulsi elettrici: si ottiene un'immagine in bianco e nero ad elevata risoluzione e grande profondità di campo.

Il campione:
- è sotto alto vuoto ($10^{-5}$ Torr), se no non si formerebbe il fascio
- è metallizzato, se no le cariche elettrostatiche disturberebbero la rivelazione dei secondari

L'analisi è superficiale e distruttiva.

ESEM: μscopia elettronica a scansione ambientale. Può lavorare in condizioni di vuoto non elevato o a bassa energia. Come conduttore si usa $H_2O$. Molto usata per applicazioni biologiche.

SEM-EDXA: combina spettroscopia e μscopia.

## SPETROMETRIA DI MASSA

Non è una vera e propria spettroscopia perché non usa una radiazione elettromagnetica.
Si applica un'energia molto forte alle molecole per frammentarle o trasformarle in ioni, che poi vengono separati in base al rapporto massa/carica.
Le molecole, ionizzate mediante un fascio di $e^-$, si frammentano in ioni più leggeri secondo schemi tipici in funzione della loro struttura chimica.
Lo spettro di massa (n° ioni vs m/e) è tipico d'ogni composto, in quanto è direttamente correlato alla sua struttura chimica e alle condizioni di ionizzazione a cui è stato sottoposto.
I segnali forniti sono il risultato diretto di reazioni chimiche, piuttosto che di cambiamenti di stato energetico.

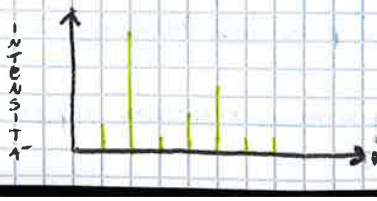
**SORGENTE** → La sorgente ionizza e volatilizza le molecole

↓

**ANALIZZATORE** → L'analizzatore misura il rapporto m/e degli ioni prodotti. (separa gli ioni)

↓

**DETECTOR** → Il detector rivela gli ioni che arrivano dall'analizzatore. (conta gli ioni)




© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 25 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 27 di 90

- analizzatore a quadrupolo: sistema a campo elettrico oscillante. Il flusso di ioni attraversa uno spazio di sezione quadrata formato da 4 barre orizzontali e parallele. Alle barre diagonalmente opposte vengono applicate correnti continue di segno opposto. Questo campo elettrico fisso viene combinato con un campo elettrico oscillante alla frequenza delle onde radio: gli ioni si muovono secondo traiettorie sinusoidali. Solo gli ioni di una data massa attraversano l'intero quadrupolo e giungono al rivelatore. La modulazione del segnale radio consente di scandire l'intero arco delle masse.

- analizzatore a trappola ionica

MALDI-TOF: il campione viene miscelato a una matrice a basso PM. La miscela viene bombardata da un laser. La matrice assorbe l'energia e la trasmette al campione, che viene ionizzato in modo soft (non viene frammentato). Si applica un campo elettrico per accelerare gli ioni; l'analisi è fatta mediante il tempo di volo.
Nei risultati delle analisi c'è dello "sporco" a basso PM dovuto alla matrice, ma non è un problema perché se ne riconosce facilmente l'effetto sul grafico.
Un'altra applicazione del MALDI-TOF è quella di determinare la distribuzione di PM di un polimero: basta guardare la distanza tra picchi, che è pari al PM dell'unità ripetitiva (misura diretta).
(metodo classico per determinazione PM: gel permeation cromatography. Minore è la dimensione di una molecola, maggiore è il tempo di ritenzione).

# FABBRICAZIONE DI μ E NSTRUTTURE

## TECNOLOGIE TOP-DOWN

- Litografia tradizionale
- LIGA (Litografia, elettrodeposizione, stampo)
- Litografia soft
- Focused ion beam (FIB)

Per i processi di microfabbricazione servono resist (materiali sensibili a una radiazione):
RESIST POSITIVI → resi più solubili da radiazione → si ottiene il positivo della maschera
RESIST NEGATIVI → polimerizzano dove colpiti da radiazione → si ottiene il negativo della maschera
La maschera contiene le informazioni spaziali che si vogliono usare

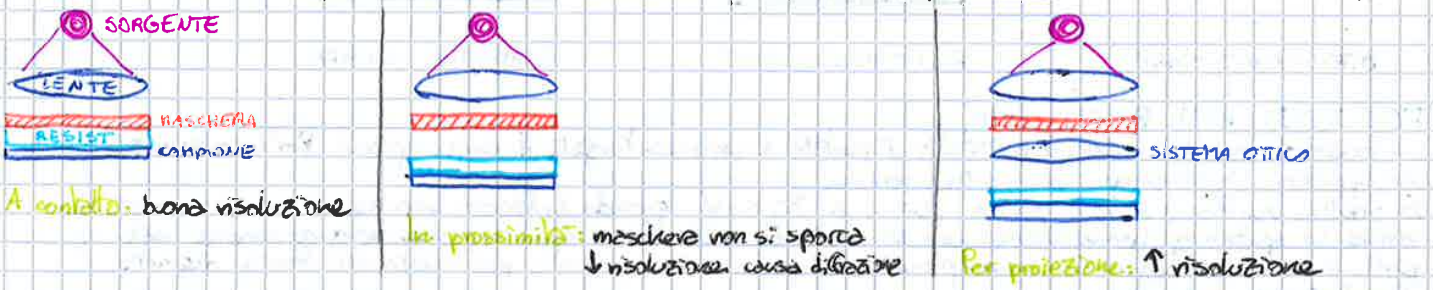
## PROCESSI LITOGRAFICI

Trasferiscono una maschera di supporto a una geometria in modo diretto o tramite una seconda lente.
Si espone il resist alla radiazione, poi c'è la fase di sviluppo in cui si rimuovono selettivamente alcune parti del resist.
Nella litografia tradizionale si lucida un wafer di Si, poi vi si deposita il resist mediante spin coating. Durante la rotazione il resist si spande uniformemente e il solvente evapora. Lo spessore del resist è dato da:

$$t = \frac{K \cdot S^2}{\sqrt{v}}$$

K → coef. di viscosità
S → % di materiale solido nel resist
v = 1000 - 10000 giri/min

Dopo la stesura si effettua soft baking per eliminare il solvente residuo. Si copre il resist con la maschera e si espone alla radiazione. Esistono 3 metodi di esposizione:




In seguito si esegue lo sviluppo:
RESIST POSITIVI → si scioglie la parte esposta con soluzioni alcaline; miglior risoluzione
RESIST NEGATIVI → si scioglie la parte non esposta con solventi organici. La frazione esposta viene permeata e rigonfiata, con perdita di risoluzione.
Si può fare una cottura finale per rendere più stabile il residuo di resina.

La litografia tradizionale utilizza raggi UV e la risoluzione raggiunge difficilmente i 100 nm. La risoluzione è data dall'equazione di Rayleigh:

$$R = \frac{k_1 \cdot \lambda}{NA}$$

dove $NA = n \sin\alpha$ → apertura numerica della lente
n → indice di rifrazione
α → apertura angolare della lente

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 27 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 29 di 90

Il PDMS è un materiale omogeneo e trasparente. Lo stampo in silicone ha dei limiti geometrici:

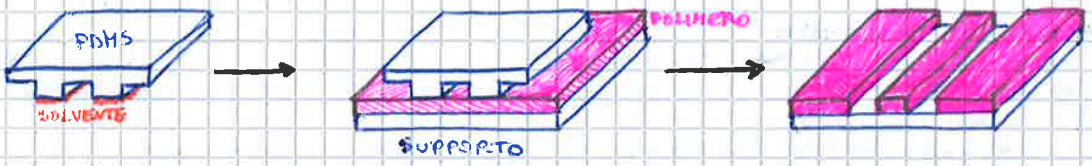
h troppo elevata → i "piedini" si piegano
d troppo elevata → lo stampo "spancia"

Dalla soft lithography derivano altre tecniche:

- MICROMOLDING: si deposita un materiale elastomerico nel master e si realizzano pattern polimerici. Il riempimento dello stampo può avvenire in 3 modi:
  - casting: soluzione polimerica portata lo stampo in seguito all'applicazione di un vuoto spinto. Si rimuove l'eccesso di polimero e si pone lo stampo in forno per far evaporare il solvente. Il pattern polimerico viene rimosso dallo stampo.
  - tecnica microfluidodinamica: lo stampo in PDMS viene fatto aderire a un substrato (per es vetro). A una estremità si pone la soluzione polimerica, all'altra si applica il vuoto. Il polimero riempe i microcanali. Si pone il sistema in forno per far evaporare il solvente: il pattern è ricavato asportando lo stampo.
  - spin-coating
- MICRO-REPLICA MOLDING: serve a realizzare un negativo elastomerico dello stampo in PDMS. Si deposita il materiale elastomerico nello stampo in PDMS; per consentire una corretta separazione dei 2 stampi è necessario un pretrattamento chimico superficiale temporaneo che eviti una reticolazione all'interfaccia.
  Una variante del processo prevede di versare nello stampo un prepolimero liquido, che viene fatto solidificare per post polimerizzazione (curing). La risoluzione difficilmente è inferiore a 1 μm.

- MICRO CONTACT PRINTING: lo stampo in PDMS è usato come timbro per lo stampaggio su un'apposita superficie. Come "inchiostro" si possono usare molti: si possono depositare strati con geometrie predefinite. Lo scopo è quello di creare percorsi bidimensionali per le cell. Gli stampi possono essere planari o rotanti.
- MICRO TRANSFER MOLDING: consente di ottenere piste polimeriche per fare pattern cellulari. L'oggetto fabbricato non è self-standing, quindi va trasferito su un supporto prima del curing.

- SOLVENT ASSISTED MICROMOLDING: lo stampo è bagnato con un solvente, poi viene appoggiato su un substrato coperto da un film polimerico. Dove c'è contatto, il polimero viene rimosso.

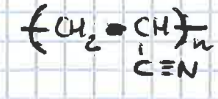



## NANO IMPRINTING

Si può ottenere la replica di nanostrutture da matrice per via termomeccanica. Ci sono 2 modi:

- hot embossing: si parte da uno stampo ottenuto con litografia a fascio di e⁻ (ebeam lithography). Su un substrato si deposita un sottile strato di polimero termoplastico tramite spin coating. Lo stampo con morfologia nanometrica viene premuto sul film polimerico e scaldato ($T > T_g$; p fino a 130 bar). La geometria dello stampo viene impressa sul film polimerico.
- UV-nano imprint: lo stampo (solitamente in Silice) trasparente agli UV viene appoggiato su un resist a basso PM. Si effettua curing (o baking) con gli UV: il polimero indurisce e si ottiene la geometria voluta.

Con questo metodo si possono ottenere fibre di C: si parte da poliacrilonitrile, che viene filato ottenendo una fibra acrilica. Tramite carbonizzazione si ottiene la fibra di C.



poliacrilonitrile

## LIFT OFF

Si deposita un film sottile sulla superficie di un resist con pattern. Tramite un solvente si rimuove il resist: il film depositato resta solo nelle zone in cui era a diretto contatto con il substrato.

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 29 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 31 di 90

Selezione che mira a isolare sequenze in grado di assemblare precursori in nano cristalli con le proprietà desiderate:

Generazione di una libreria di biomolecole random

Incubazione con i precursori (ioni, complessi)

MATERIALE VOLUTO

Rimozione molecole non desiderate e amplificazione molecola desiderata.

Selezione che mira a isolare sequenze in grado di legare nanocristalli sintetizzati con altri metodi:

Generazione di una libreria di biomolecole random

Incubazione con cristalli presintetizzati (■)

ALTA AFFINITÀ DI LEGAME

BASSA AFFINITÀ DI LEGAME

Rimozione molecole non desiderate e amplificazione molecola desiderata.

**Nanofabbricazione virus-assistita**: sfrutta i virus. I virus sono particelle submicroscopiche (20-300 nm) in grado di infettare le cell. Sono usati come stampo per nanomateriali grazie alle loro dimensioni e alla facilità di modifica delle loro proteine di rivestimento.

**VIRUS A BASTONCINO**: vengono impiegati nella sintesi di nfili metallici, semiconduttori e magnetici. Per es: batteriofago M13, TMV (Tobacco Mosaic Virus).

**VIRUS SFERICI**: sono usati come nanocontenitori per produrre metalli, semiconduttori o altri materiali inorganici su scala nanometrica. Per es il CCMV (Cowpea Chlorotic Mottle Virus) e il CPMV (Cowpea Mosaic Virus) sono stati usati come gabbie di nucleazione per la mineralizzazione di materiali quali ossido di ferro e poliossometalati.

Uno stesso virus può esprimere diversi segmenti peptidici che interagiscono con cristalli diversi (caricato sfruttato per la produzione di solfuro di zinco).

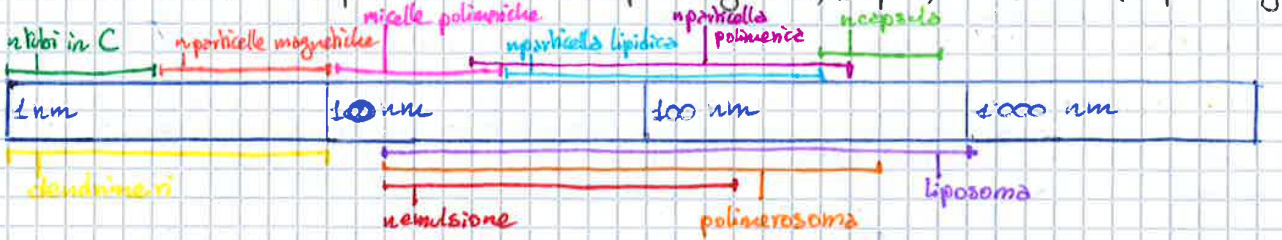
I virus a bastoncino possono assemblarsi in fasi di cristalli liquidi (controllabili). Se accoppiati a nanoparticelle, possono assemblarsi in varie forme di nanomateriali.

**Nanofabbricazione proteina-assistita**: sfrutta i legami tra anticorpi e antigeni. Per esempio si può fare un rivestimento di anticorpi su nparticelle, usando una molecola che presenta 2 gruppi antigenici, essa può legarsi alle particelle favorendone l'assemblamento di qualità di connettore. Si possono anche realizzare molecole Y-shape con gruppi antigenici diversi per legare nparticelle diverse.

# μ E NPARTICELLE: TERAPIA

**Advanced Therapy**: uso di materiali nanostrutturati per la cura di malattie. Scala dimensionale: 1-100 nm (dagli anticorpi ai virus).

Le strutture alla nanoscala possono essere usate per diagnostica, terapia, teranostica (terapia + diagnostica).




Si sintetizzano molte molecole nuove, ma solo poche di esse possono essere usate come farmaci a causa delle loro caratteristiche idrofobiche, che le rendono poco adatte a lavorare in ambiente acquoso. Per valutare la probabilità che una molecola possa essere usata come farmaco si può usare la regola del 5 di Lipinski:

- non più di 5 donatori di legami H (→ N, O protonati)
- non più di 10 accettori di legami H (→ N, O)
- PM < 500 Dalton
- coefficiente di partizione < 5 in una miscela di ottanolo e $H_2O$

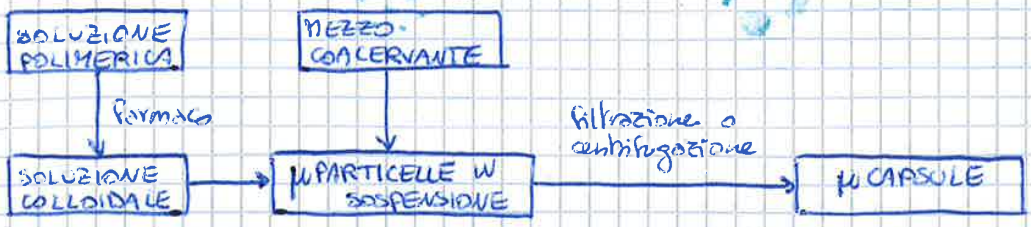
Grazie alle nanotecnologie si possono bypassare questi problemi, sfruttando sistemi a rilascio di farmaco:

- sistemi liquidi → emulsioni
  - → μemulsioni
  - → liposomi
- cristalli liquidi → surfattanti
  - → polimeri idrosolubili
- μ e nparticelle → lipidi
  - → polimeri

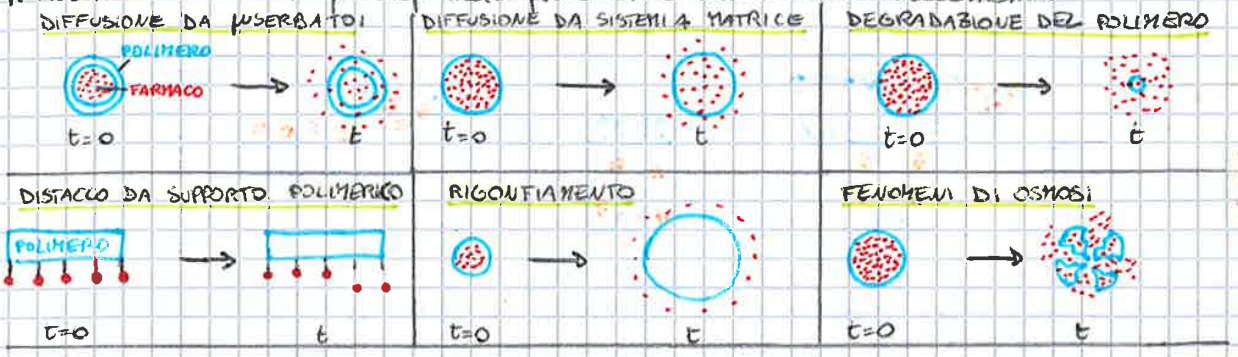
© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 31 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 33 di 90

- **Coacervazione:** separazione di fase in seguito alla desolvatazione delle molecole di polimero solvatate. Invece di un sospendente si usa un mezzo che sottrae solvente al polimero (perché è più affine al solvente di quanto lo sia il polimero). In questo modo si induce la precipitazione del polimero sulla superficie di un farmaco sospeso. Si usano prevalentemente polimeri idrofilici (chitosano, sodio alginato, gelatina). Si ottengono microcapsule di 200 - 1000 nm, separate poi dal mezzo con evaporazione del solvente, filtrazione o centrifugazione.

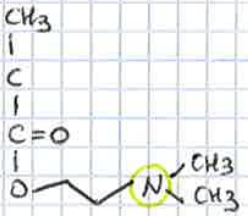



Il rilascio del farmaco da μ e nanoparticelle può avvenire tramite diversi meccanismi:




Se si usano particelle biodegradabili, il rilascio aumenta grazie alla rottura della particella stessa.
Se si usano idrogeli (rilascio per rigonfiamento) si può ottenere un rilascio intelligente.

Per es: rilascio di insulina tramite idrogeli.



La N,N dimetil ammino etil metacrilato consente il rilascio intelligente: a pH ~~elevato~~, N si protona e assume una carica positiva. Cariche positive si respingono tra loro, provocando l'allontanamento delle molecole: l'idrogelo rigonfia e il farmaco viene rilasciato.
Nel gel si inserisce la glucosio ossidasi, che catalizza l'ossidazione del glucosio ad acido gluconico. Poiché si forma un acido, il pH si abbassa, innescando il meccanismo di protonazione delle catene. I pori si allargano e l'insulina viene rilasciata.

Se si usano polimeri biodegradabili, durante la degradazione la matrice diventa più permeabile. Si devono usare polimeri che presentino legami idrolizzabili, per esempio i legami esterei.

PLA

A seconda dell'idrofilicità, i polimeri con legami idrolizzabili possono avere 2 meccanismi di degradazione:
- polimeri idrofobici ⇒ erosione superficiale
  - poliortoesteri
  - polianidridi
- polimeri parzialmente idrofilici ⇒ erosione in massa (in bulk)
  - poliesteri

Per esempio l'idrolisi degli esteri è catalizzata dagli acidi. La rottura di un legame estereo porta alla formazione di un prodotto acido: durante la degradazione si forma un pH basso in bulk che potrebbe portare ad avere una degradazione più veloce all'interno piuttosto che in superficie.
Per avere un rilascio graduale di farmaco è meglio sfruttare il meccanismo di erosione superficiale.

I metodi per la preparazione di nanoparticelle possono sfruttare 2 approcci:
- top-down: si parte da un polimero in polvere grossolana e si ottiene una nanopolvere tramite macinazione meccanica. Tuttavia il metodo non è adatto a produrre sistemi nanodispersi perché è difficile garantire una distribuzione dimensionale omogenea;
- bottom-up: il polimero viene processato attraverso diversi passaggi di soluzione e precipitazione. La formazione di nanoparticelle può verificarsi per:
  - precipitazione
  - condensazione
  - specifiche procedure di sintesi

La differenza risiede nel ruolo delle sostanze introdotte durante il processo:
precipitazione → si aggiungono tensioattivi che stabilizzano la sospensione
condensazione → si aggiungono additivi che promuovono la formazione della fase nanodispersa

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 33 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 35 di 90

- **Fluidi supercritici:** una corrente di $CO_2$ induce la formazione delle particelle per cristallizzazione
- **Formazione di polieniomi e policationi:** si ha formazione di nanoparticella per compensazione stechiometrica di cariche.
- **sintesi del polimero:** il principio attivo viene disciolto nel mezzo di polimerizzazione prima dell'addizione del monomero. La reazione avviene all'interfaccia tra le 2 fasi: si formano gocce immiscibili di principio attivo incapsulate nella struttura polimerica.

I **LIPOSOMI** sono un'alternativa all'uso di particelle polimeriche. Sono sfere cave formate da uno o più doppi strati lipidici (spessore: 5-6 nm). La loro membrana è costituita da colesterolo e fosfolipidi: struttura, composizione e proporzioni della membrana sono quasi identiche alla membrana delle cell dell'ospite. Per questo i liposomi possono essere introdotti nell'organismo senza provocare rigetto.
Un liposoma ha diverse possibili interazioni con le cell:
- fusione con membrana cellulare
- endocitosi
- adsorbimento attraverso la membrana cellulare (specifico o non specifico)

I liposomi possono avere una struttura monolamellare, multilamellare ◎ o multivesicolare ◎◎.

Metodi di preparazione di liposomi multilamellari:
- **idratazione di un film sottile:** il film sottile si ottiene per evaporazione a p ridotta di una soluzione del lipide in un solvente organico. Il farmaco viene aggiunto nella fase organica se è lipofilo, nella fase acquosa se è idrofilico.
- **idratazione in presenza del solvente:** si forma un'emulsione o/w in cui la fase oleosa è costituita da una soluzione del lipide in un solvente organico volatile. I liposomi si formano in seguito all'evaporazione del solvente in corrente di azoto anidro.

Metodi di preparazione di liposomi unilamellari piccoli (d = 20-100 nm):
- **sonicazione:** una dispersione acquosa di vescicole multilamellari viene sottoposta a sonicazione in bagno ad ultrasuoni in atmosfera di azoto anidro
- **frammentazione per sforzo di taglio:** una dispersione acquosa di vescicole multilamellari viene fatta passare attraverso un ~~stagno~~ piccolo orifizio sotto l'azione di una forte p (20.000 psi) a bassa T. Estrusioni multiple portano a una riduzione delle dimensioni dei liposomi

Metodi di preparazione di liposomi unilamellari grandi (d = centinaia di nm - qualche μm)
- **rimozione di un detergente:** viene preparata una dispersione acquosa contenente micelle lipide/detergente. Il detergente viene allontanato mediante dialisi o cromatografia su colonna. Le micelle si arricchiscono progressivamente in lipide; per coalescenza si ha la formazione delle vescicole.
- **evaporazione in fase inversa:** si fa un'emulsione w/o, in cui la fase acquosa contenente il farmaco viene aggiunta a una soluzione del lipide in un solvente volatile. Il solvente organico viene fatto evaporare: si forma un gel viscoso per la coalescenza di molecole lipidiche idratate. L'eliminazione completa del solvente trasforma il gel in una dispersione liposomiale.

L'uso di nano particelle consente di avere un miglior controllo sul rilascio del farmaco.
CONTROLLO PASSIVO: sfrutta i meccanismi dell'organismo per condurre le particelle a destinazione. Per esempio particelle di 100-300 nm vengono captate dal sistema immunitario e trasportate in fegato, milza o midollo osseo. Oppure si può sfruttare l'effetto EPR (Enhanced Permeation and Retention): i tessuti sani hanno vasi sanguigni spessi e poco porosi (d < 10 nm), mentre quelli patologici hanno vasi privi di lamina basale e molto porosi (d ≥ 100 nm). Le nanoparticelle, quindi, penetrano facilmente nei tessuti patologici, dove è anche assente un sistema linfatico in grado di eliminarle.
CONTROLLO ATTIVO: consiste nel direzionare una particella verso uno specifico tessuto sfruttando anticorpi. In questo caso non si vuole che le particelle vengano captate dal sistema immunitario, quindi oltre al residuo orientante (anticorpo) si deve inserire un polimero idrofilico (PEG) che impedisca l'adsorbimento di proteine del siero (responsabili del riconoscimento da parte del sistema immunitario).

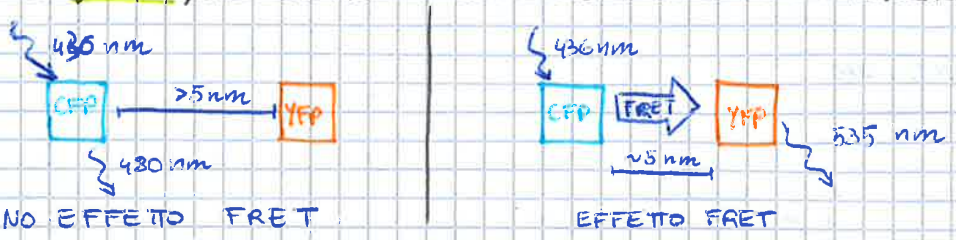
In commercio esistono farmaci con controllo attivo: la molecola è legata direttamente a un anticorpo (non c'è la nanoparticella). Farmaco e anticorpo sono connessi da un linker degradabile.

I **POLIMEROSOMI** sono micelle formate da polimeri anfifilici. Per esempio sono stati ottenuti da copolimeri a blocchi di PEG e PLGA: si può funzionalizzare il PEG con l'anticorpo (per es folato) e il PLGA con il farmaco (per es doxorubicina). In fase acquosa il polimero forma delle micelle contenenti il farmaco e con la molecola direzionante sulla superficie.

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 35 di 90

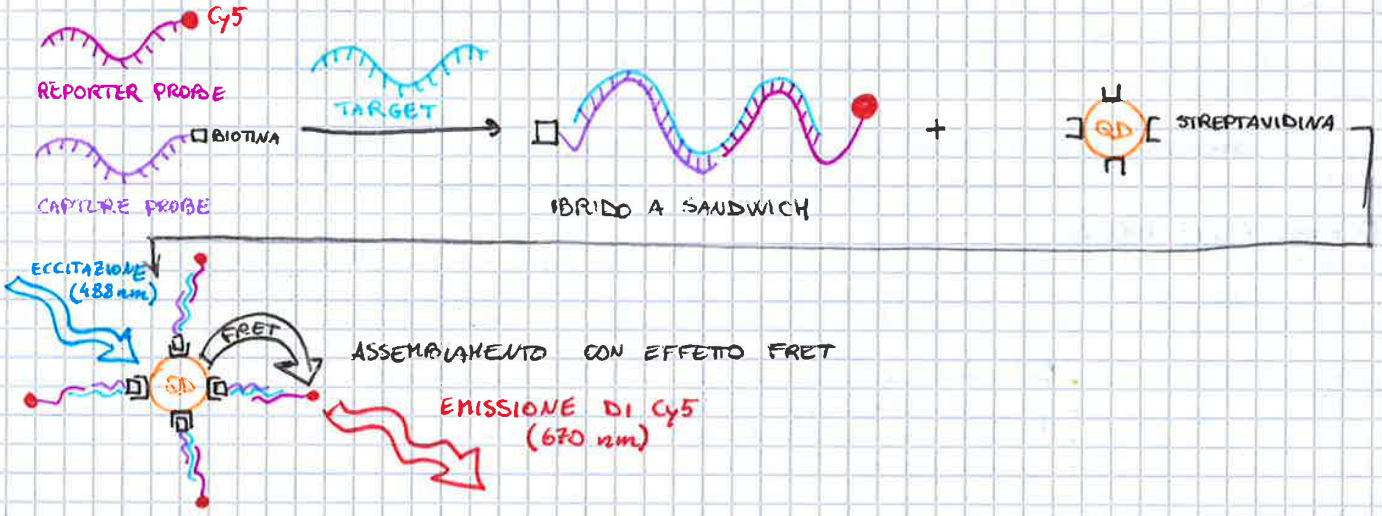
La funzionalizzazione può avvenire con coniugazione covalente, non covalente o elettrostatica.

Nell'effetto FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) una molecola emette luce a una lunghezza d'onda pari a quella di assorbimento di un'altra molecola.
Donatore → viene eccitato da un'onda luminosa esterna ed emette energia.
Accettore → assorbe la radiazione emessa dal donatore e la riemette a una $\lambda$ diversa
L'effetto si verifica solo se accettore e donatore non distano più di qualche nm. In alcuni casi l'accettore si comporta da quencher, cioè assorbe la radiazione del donatore ma non riemette nessuna luce.




L'effetto FRET può essere sfruttato per la rilevazione di DNA target in diversi modi.

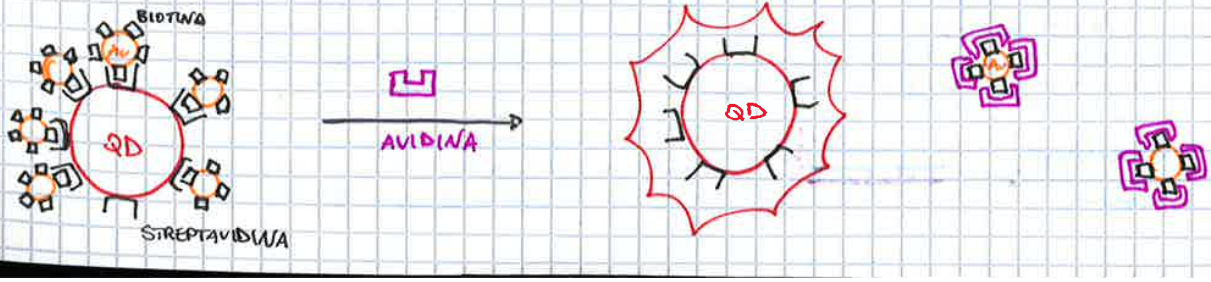
Per esempio si costruiscono 2 catene complementari al target: la prima è un reporter probe e vi si lega una molecola fluorescente, la seconda è un capture probe e vi si lega una biotina. I due filamenti si ibridizzano al target, formando un ibrido a sandwich in cui biotina e fluoroforo sono vicini. Si inserisce un QD coniugato a streptavidina, che forma un assemblamento con gli ibridi sandwich. In questo modo QD e fluoroforo (per es una cianina) sono vicini. Si eccita il sistema alla $\lambda$ di emissione del QD: se si è formato l'assemblamento (quindi se era presente il target) si rileva la $\lambda$ della cianina per effetto FRET.




Si possono sfruttare molecole di DNA a forcina alle cui estremità sono legati un QD e una particella di Au (funziona da quencher). In presenza del target, la sonda si ibridizza ad esso, QD e Au sono allontanati ed è possibile vedere la fluorescenza.

Si può sintetizzare una molecola identica al target e congiungerni una particella di Au. Tale molecola viene coniugata a una molecola di DNA complementare a cui viene attaccato un QD: la fluorescenza è spenta. Se nell'analita è presente il target, esso è in eccesso rispetto alla probe, quindi stacca la sequenza con Au e accende la fluorescenza del QD.

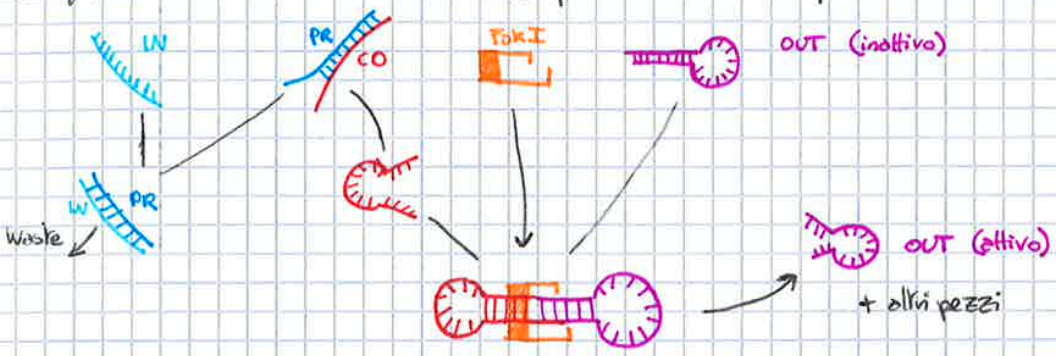
Si può fare lo stesso con le proteine. Per esempio si voglia individuare la presenza di avidina nell'analita. Un QD coniugato a streptavidina viene complessato con una particella di Au coniugata con biotina. Se nell'analita c'è avidina, essa sarà in eccesso rispetto alla streptavidina del QD, quindi la stacca dall'Au e accende la fluorescenza.



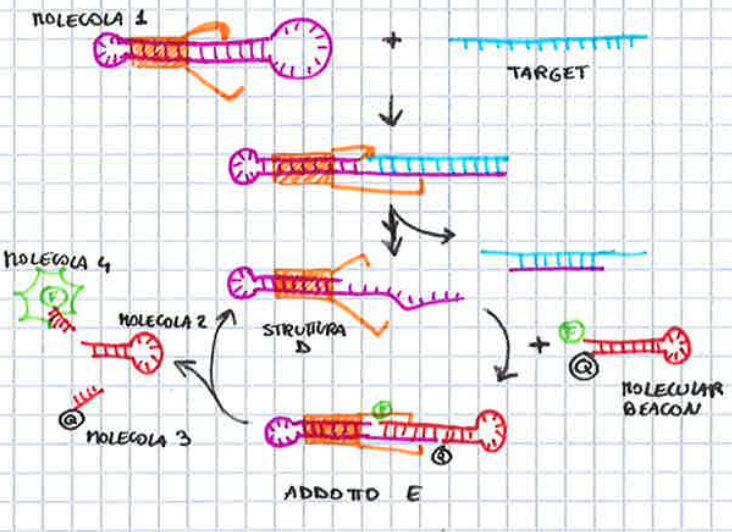
© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 39 di 90

I molecular beacons sono eccezionalmente specifici (riconoscono differenze di un singolo nucleotide), ma hanno un altro costo di produzione.
Per ridurre i costi si usano **ripartite molecular beacons** (TBMs), nei quali i marcatori non sono legati covalentemente al loop, ma a 2 catene corte di DNA (dette F-DNA e Q-DNA). F-DNA e Q-DNA sono coppie universali di oligonucleotidi marcati, quindi possono essere usati per qualunque TBM.

Si possono progettare sistemi che sfruttino l'uso combinato di molecular beacons e aptameri, per esempio per un sistema di rilevamento. Il sistema di rilevamento è la sequenza CO-PR, dove PR è una protezione. Se è presente la sequenza di input W, essa rimuove la protezione associandosi ad essa in maniera complementare: il sistema assume una forma attiva. Il CO si complessa alla forma inattiva dell'output OUT, generando il sito di aggancio e quello di taglio per le endonucleasi (FokI). Il taglio produce diversi pezzi, tra i quali c'è l'OUT in forma attiva che può accendere il dispositivo.



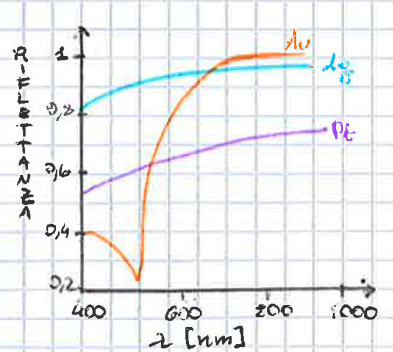

Questa idea è stata sfruttata per un sistema in grado di rilevare mutazioni.




Si è progettata una macchina molecolare (molecola 1) che contiene la sequenza di legame per l'endonucleasi, ma non la sequenza di taglio. In presenza del DNA target, il loop della molecola 1 si apre e si ibridizza con esso, formando la sequenza di taglio dell'endonucleasi. Dunque solo in presenza del target avviene il taglio e si genera la struttura D. Il molecular beacon può associarsi alla struttura D, generando l'addotto E che presenta la sequenza di taglio dell'endonucleasi. I prodotti del taglio sono le molecole 2, 3 (contenente il quencher) e 4 (contenente il fluoroforo). In questo modo quencher e fluoroforo vengono allontanati e si vede fluorescenza.
Per aumentare la selettività del sistema si può usare un molecular beacon progettato per avere un prodotto di taglio che presenti una sequenza di taglio per l'endonucleasi: in questo modo un secondo molecular beacon può legarsi al prodotto di taglio e generare fluorescenza. Poiché ci sono 2 cicli contemporanei che producono fluorescenza, il segnale risulta amplificato.
Il sistema presentato può essere un'alternativa alla PCR.

## NANOCODICI A BARRE

Sono oggetti microscopici ottenuti stratificando in vario ordine Au, Ag e Ni, in forma di cilindretti. Il cilindro, se illuminato con la giusta $\lambda$, appare come un oggetto brillante di intensità variabile.
Per fabbricarli si parte da un template ceramico e si deposita il metallo per via elettrochimica. La lettura del codice è possibile sfruttando il fatto che metalli diversi scatterano diverse lunghezze d'onda.
Possono essere funzionalizzati.




Vantaggio: si può cambiare colore semplicemente cambiando codice.

$d \tilde{=} 50\ nm - 5\ \mu m$
$L \tilde{=} 0,1 - 20\ \mu m$

## AGENTI TERANOSTICI

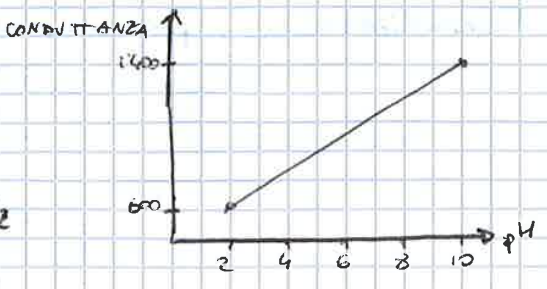
Sistema ideale: particella (liposoma o polimero anfifilico) con all'esterno molecole di targeting e all'interno un agente di imaging e un farmaco o un profarmaco. I legami dovrebbero essere sensibili all'ambiente patologico, per es linker sensibile a pH o sequenze peptidiche per enzimi proteolitici.

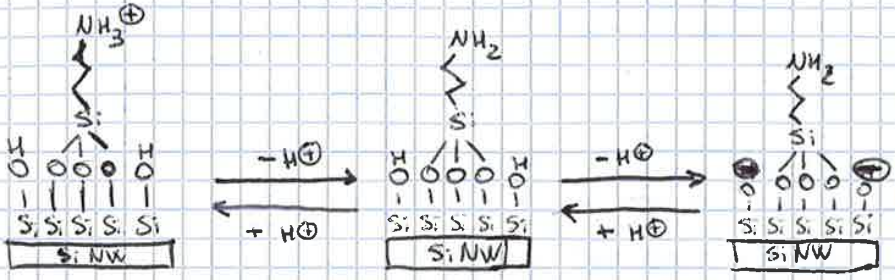
© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 39 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 41 di 90

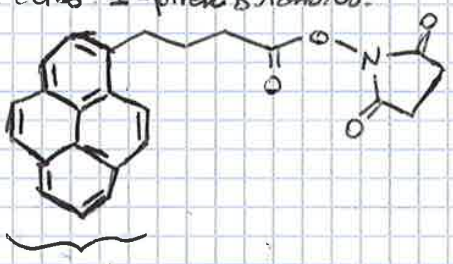
# ESEMPI

**BioMEMs: sensori potenziometrici.** NanoFET con nanofili di Si che viene trasformato in un sensore per la misura del pH andando a modificare la superficie del Si. Il Si viene funzionalizzato in modo tale da subire protonazione o deprotonazione. Questi cambiamenti nella carica portano a una variazione di potenziale locale sul filo. I cambiamenti di carica sono legati a variazioni di pH.




**BioMEMs: funzionalizzazione di nitobina C con proteine.** Si usa una molecola bifunzionale: l'estere attivo dell'acido 1-pirenbutanoico.




π-stacking con nitobo

**BioMEMs: Cell on Chip.** Esempi di sistemi cell on chip:
- cellule B geneticamente ingegnerizzate emettono luce se rilevate da una tossina o da un virus;
- epatociti coltivati in ambiente 3D usati per determinare tossicità composti;
- microorganismi usati come sensori per individuare e monitorare inquinanti ambientali.

**Langmuir-Blodgett: surfattanti.**

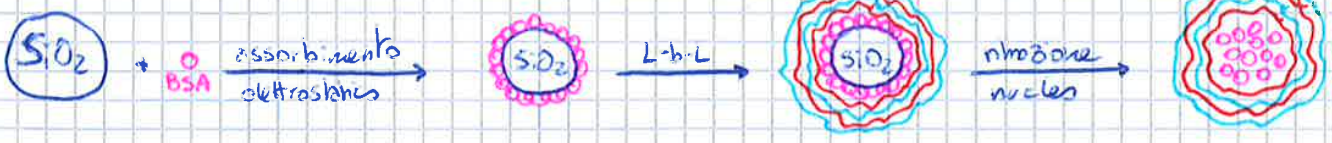
$CH_3OH$ → polare e solubile in $H_2O$

$CH_3(CH_2)_{16}-COOH$ → apolare e solubile in olio

→ $CH_3(CH_2)_{16}-COO^{\ominus}Na^{\oplus}$ = surfattante

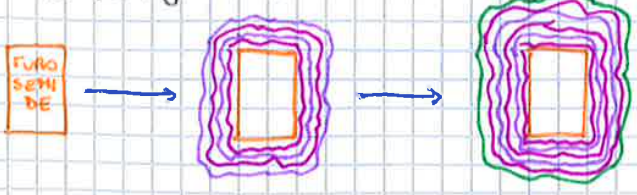
Teste idrofiliche nei surfattanti:
- acidi grassi: $-COOH$
- colesterolo: $-OH$
- lecitina: sistema di $-COO-$, $[OPO_2O]^{\ominus}$, $[N(CH_3)_3]^{\oplus}$

**Layer-by-Layer: incapsula per rilascio farmaco.** Si incapsula BSA (albumina da siero bovino) in capsule di chitosano e destrano.




Variazione pH → apertura pori → rilascio BSA

**Layer-by-Layer: rilascio di farmaco.** Cristallo di Furosemide ricoperto da strati di PSS/PDDA. L'ultimo bilayer è PSS/gelatina.



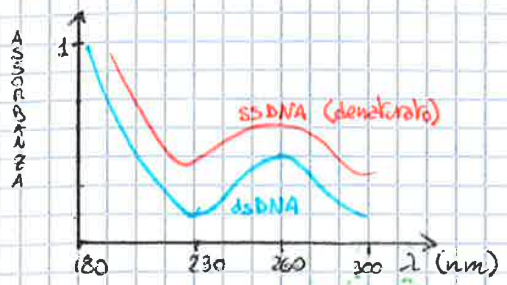

PSS → poli (stirene sulfonato)
PDDA → poli (dimetil diallil ammonio cloride)

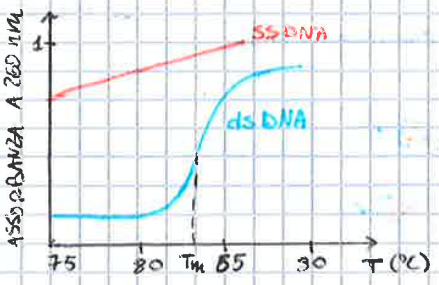
© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 41 di 90

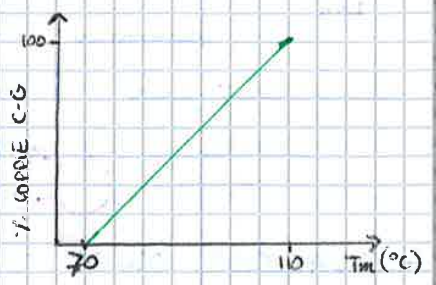
© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 43 di 90

# GRAFICI & SCHEMI

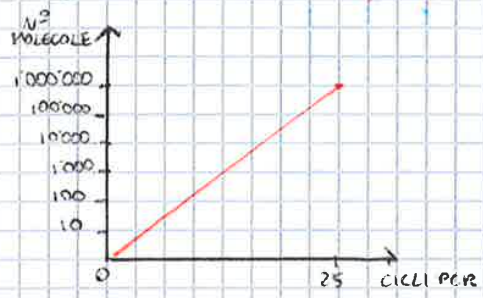
## ASSORBANZA DNA




## PCR

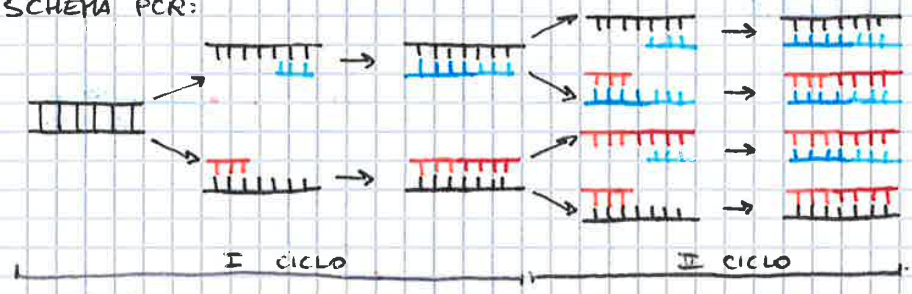



ESEMPI PRIMER: dovrebbero avere 15-20 nucleotidi

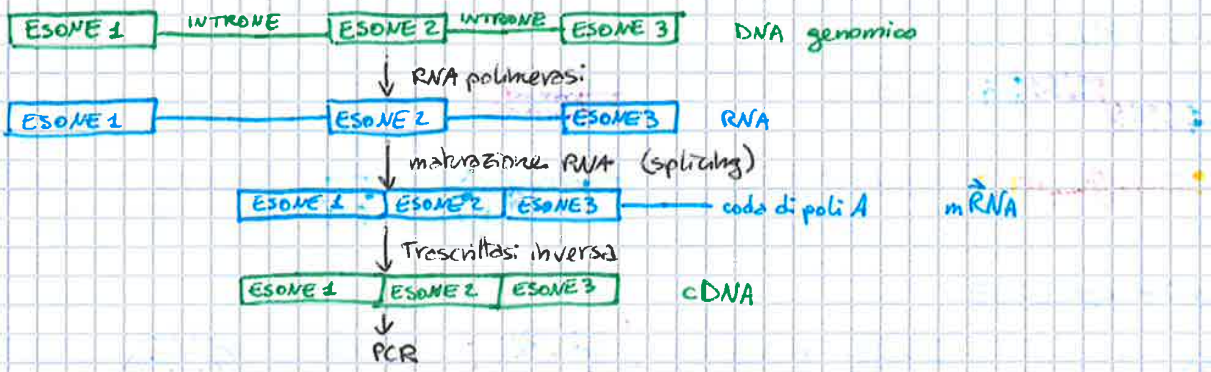
5'- CATCCGTTATCTAGACATAATAGATCTAGATCGTCCGATCGTA - 3'
3'- GGCTAGCAT -5'

5'- CATCCGTTA-3'
3'-GTAGGCAATAGATTCTGTATTATCTAGATCTAGCAGGCTAGCAT-5'

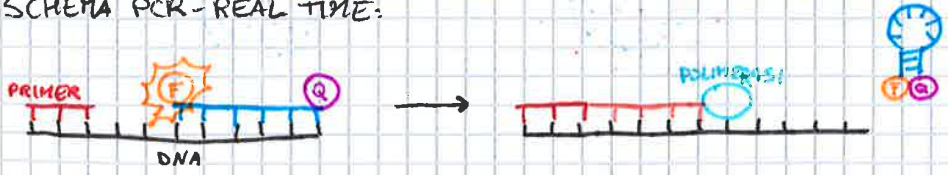
SCHEMA PCR:




SCHEMA RT-PCR:




SCHEMA PCR-REAL TIME:



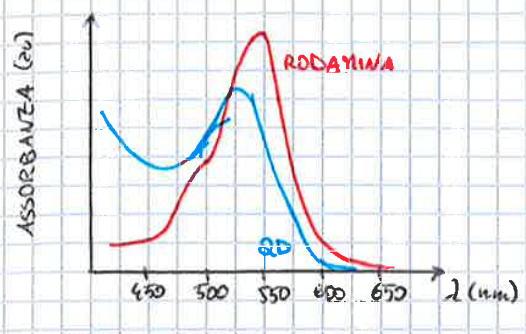

## SOUTHERN BLOTTING

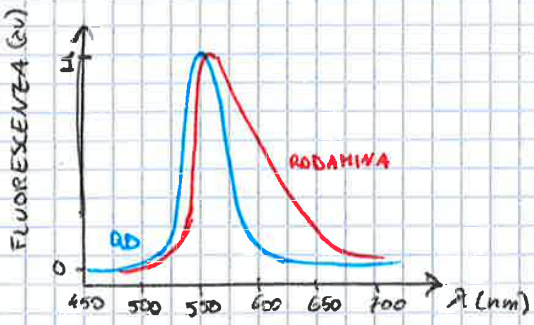
ELETTROFORESI

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 43 di 90

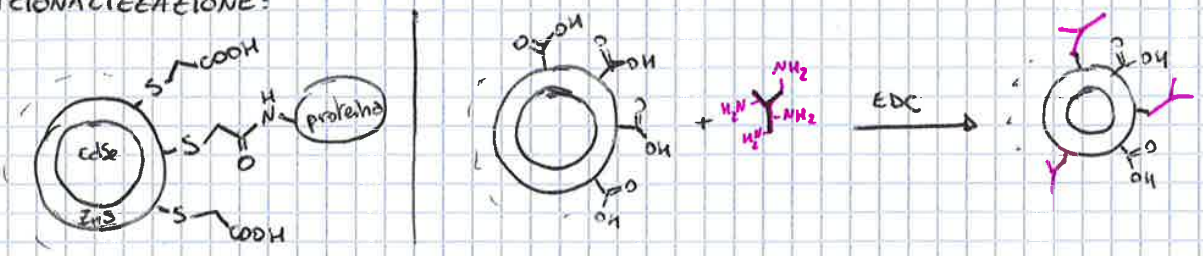
© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 45 di 90

# QUANTUM DOTS




FUNZIONALIZZAZIONE:




POLIMERIZZAZIONE A STADI:

- PET → policondensazione
- nylon 6 → poliaddizione
- nylon 6,6 → policondensazione
- " 6,10 → "
- PCL → autocondensazione

N.B: TEFLON = idrofobico

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 45 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 47 di 90

In realtà = domini cristallini = SFERULITI ($d = \mu m - cm$)

Grado di cristallinità ($X$): $v = v_c \cdot X + v_a (1-X)$

Affinché avvenga cristallizzazione: $\Delta G = \Delta H - T\Delta S \leq 0$

$\Delta H < 0$ (cristallizzazione è esotermica)

$\Delta S < 0$ (disordine → ordine)

$\Rightarrow T < \frac{\Delta H}{\Delta S}$

Cristallinità favorita da:
- ↑ forze intercatena
- struttura regolare e simmetrica
- decrescita del volume
- crescita sforzi
- raffreddamento lento del fuso
- lunghezza omogenea catene

Fusione = inverso cristallizzazione: $\Delta H > 0$ (endotermica)

↑ $X$ ⇒ ↑ $T_m$

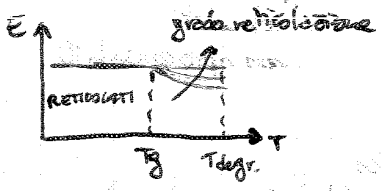
Polimeri cristallini:
- ↑ resistenza
- ↓ flessibilità
- ↑ $T_m$ ⇒ difficili da processare
- poco permeabili a gas

→ Riduzione cristallinità: copolimerizzazione, quenching da fuso

Aumento cristallinità: annealing da amorfo

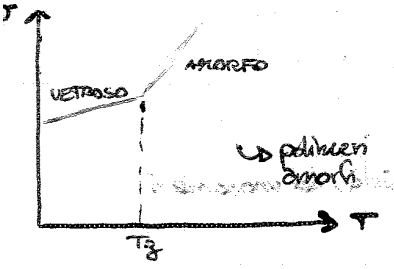
Polimeri completamente amorfi → fortemente reticolati (resine)

→ lineari termoplastici (PS, PMMA)



generalmente rigidi e fragili

Per trovare $T_g$: curve dilatometriche. Transizione vetrosa = fenomeno cinetico (no calore latente)




A $T_g$: coeff di dilatazione: $\alpha_{vetroso} < \alpha_{amorfo}$

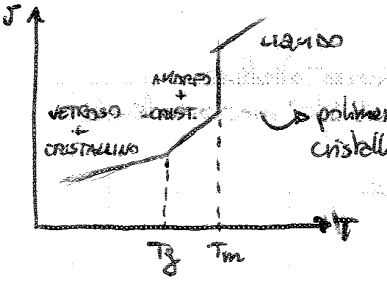
Calore specifico: $C_p = \left(\frac{dH}{dT}\right)_p$ ha discontinuità in $T_g$

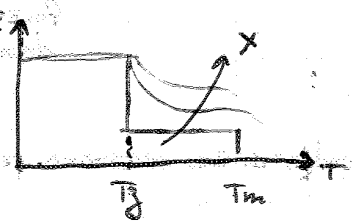
↑ vel raffreddamento → ↓ $T_g$

$T_g$ cresce per:
- gruppi pendenti ingombranti
- gruppi rigidi in catena
- simmetria di catena
- gruppi polari
- reticolazioni

$T_g$ diminuisce per:
- plasticizzanti (basso PM)
- gruppi pendenti flessibili
- gruppi non polari
- dissimmetria

Transizioni secondarie: gruppi molto flessibili: ci moti permangono anche a $T < T_g$

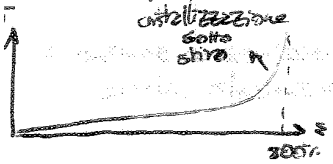



© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 47 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 49 di 90

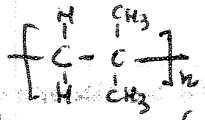
Condizioni per rubber like elasticity:
- macromolecole molto lunghe e molto flessibili
- forze intermolecolari modeste
- struttura debolmente reticolata
- Tg bassa
- no regioni cristalline



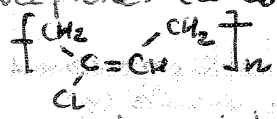

Produzione oggetti in gomma naturale: masticazione (abbassa PM)
↓
compounding (aggiunta ingredienti = mescola)
↓
formatura
↓ ≡
vulcanizzazione (introduce cross links)

Gomme sintetiche:

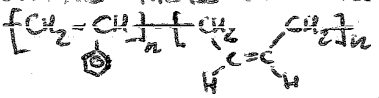
Gomma butile: (poli isobutilene). flessibile, satura (→ ok con gas in pressione!), reticolazione grazie ad aggiunta di altri monomeri (per es isoprene < 1%).



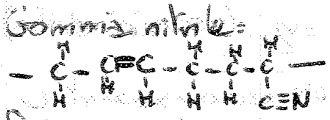
Neoprene: (da cloroprene). Il Cl diminuisce reattività doppio legame ⇒ maggior resistenza a invecchiamento. Usata per applicazioni specialistiche.



Gomma stirene-butadiene: rigida a causa di gruppi stirenici e per interazione forte tra catene di butadiene. Stabile all'invecchiamento (meno doppi legami). Sviluppa calore per sforzi ciclici. No rafforzamento sotto stiro. Cross link fisici: butadiene = soft; stirene = hard.

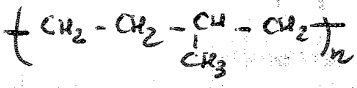


Gomma nitrile: I gruppi C≡N sono molto polari ⇒ resistente a solventi. Molto costosa ⇒ usi particolari.



Poli isoprene 1,4 cis sintetico: prodotto grazie a polimerizzazione stereospecifica. Costa molto. Poco performante (mancano residui a basso PM della gomma naturale).

Gomma etilene-propilene: si può usare con gas in pressione (è satura). Si rafforza sotto stiro, costa poco. Per vulcanizzazione si aggiunge monomero con doppi legami (2-3% isoprene)



© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 49 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 51 di 90

Miscele bioartificiali: polimeri naturali + sintetici
Problemi:
- miscelazione da fuso può degradare polimero naturale
- miscelazione da soluzione ⇒ difficile trovare solvente comune
- ottenimento buona compatibilità

Biomatrice: polisaccaridi e proteine secreti da cell in coltura in vitro per mimare nicchie cell staminali: lo decellularizzata, solubilizzata, liofilizzata

## REPLICAZIONE BIOMIMETICA

Angolo di contatto
- $<5°$ → superidrofilica
- $<90°$ → idrofilica
- $>90°$ → idrofobica
- $>150°$ → superidrofobica

Isteresi angolo di contatto: $\theta_{ADV} - \theta_{REC}$
↓
bassa ⇒ idrorepellenza e autopulizia (rotola)

Esempi: FOGLIA DI LOTO = superidrofobicità e autopulizia
ROSA HYBRID TEA → BAIRAGE = idrofobica ma $H_2O$ aderisce
→ SHOWTIME = superidrofobicità e autopulizia
FOGLIA DI RISO = superidrofobicità anisotropica

Per riproduzione caratteristiche: tecniche di μmolding.
Vantaggi:
- semplice
- veloce
- basso costo
- risoluzione di alcuni nm

Svantaggi:
- alte o basse p ⇒ si può usare solo su campioni stabili meccanicamente e asciutti

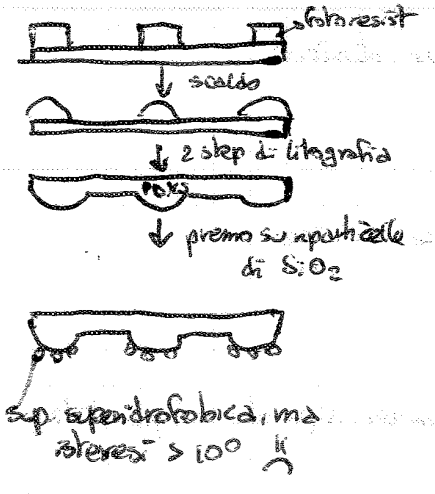
UV-NIL (UV-Nano Imprinting Lithography): foglia su pistone, pistone schiacciato su vetrino con foto-polimero. Irraggiamento con UV: si ottiene il negativo della foglia.
FATTORE DI EFFICIENZA DI REPLICAZIONE: $R = \frac{\text{rugosità replica}}{\text{rugosità foglia}} = \frac{A_F/A}{A_L/A} = 96\text{-}97\%$

Soft μmolding: negativo della foglia con polimero elastomerico. Resina epossidica su stampo elastomerico = replica foglia. Polimerizzazione veloce e a T amb ⇒ no fenomeni di contrazione.

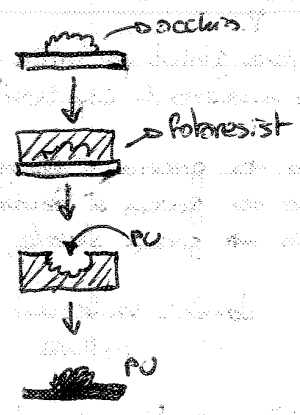
Caratteristiche antiriflesso: variazione graduale indice di rifrazione aria-materiale.
" antiappannamento: → sup. superidrofiliche (trasparenza ottica)
→ sup. superidrofobiche e autopulenti (no trasparenza ottica)

Esempi: OCCHIO ZANZARA = superidrofobico e antiappannamento (n pilastri spaziati < 100 nm)
OCCHIO FARFALLA NOTTURNA = antiriflesso (n strutture rendono graduale la variazione di indice) superidrofobico e autopulente

RIPRODUZIONE OCCHIO ZANZARA




RIPRODUZIONE OCCHIO FARFALLA




© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 51 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 53 di 90

# MATRICI DECELLULARIZZATE

Funzioni ECM → adesione e proliferazione cell
→ differenziamento cell
→ supporto meccanico

Inoltre: stimoli solubili possono essere istigati da ECM

Si vogliono valutare: - proprietà meccaniche
- composizione
- struttura

Inoltre bisogna valutare la presenza di fattori solubili.

DECELLULARIZZAZIONE: togliere cell da un tessuto. Restano composizione e stimolo epitelio. No problemi di rigetto e trasmissione malattie.
Si ottengono polveri o matrici per tessuti molto sottili (pelle, valvole cardiache).

Scelta agenti di decellularizzazione dipende da: - cellularità del tessuto
- densità
- quantità di componente lipidica
- spessore

Il protocollo deve essere sicuro, se no c'è rigetto. Si deve trovare compromesso tra rimozione cell e danneggiamento ECM. Componente lipidica va rimossa, se no provoca calcificazioni.

Agenti chimici: - acidi e basi (distruggono cell, proteine, GAG → riduzione propr. mecc)
- soluzioni ipo/ipertoniche (non rimuovono detriti cell → rigetto)
- detergenti (allontanano cell e lipidi)
- solventi (cell mantengono strutture → difficili da rimuovere)

→ dopo vanno allontanati

Agenti biologici: - enzimi (degradano anche ECM, possibile rigetto, lasciano lipidi)
- agenti non enzimatici (chelanti, poco usati)

Sistemi fisici: - T (congelamento → restano detriti cell e si può danneggiare ECM)
- p e F (abrasione → danneggia ECM)
- NTIRE, Non-Thermal Irreversible Electroporation

Ogni sistema ha vantaggi e svantaggi: se ne usano diversi in sequenza. Complessità e lunghezza del protocollo dipendono dal grado di conservazione geometrica e biologica desiderato per il tessuto dopo il trattamento.
L'organo può essere immerso in soluzione o può essere perfuso con o senza Δp: dipende da tessuto, tipo di agente e applicazione clinica della matrice decellularizzata.

Parametri per quantificare rimozione cell:
- PRESENZA DI DNA: valutata tramite coloranti.
devono esserci meno di 50 ng di ds DNA ∀ mg di ECM (peso secco)
- LUNGHEZZA DNA RESIDUO: valutata tramite elettroforesi su gel
i residui devono essere lunghi meno di 200 bp (coppie di basi)
- ANALISI IMMUNOISTOCHIMICA: analisi visiva.
Nuclei marcati con DAPI o ematossilina ed eosina.

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 53 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 55 di 90

# ADESIVI ISPIRATI AI MOLLUSCHI

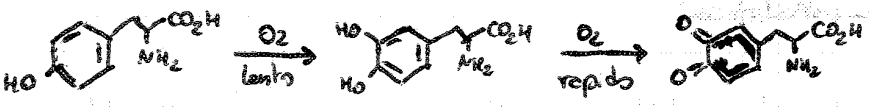
Adesivi sintetici non performanti in ambiente acquoso a causa di:
- plasticizzazione
- rigonfiamento
- erosione
- idrolisi del polimero
- formazione di cricche

Adesivi ispirati a molluschi:
- resistono a degradazione ed erosione
- aderiscono a materiali organici e inorganici
- adesione permanente

Gli adesivi funzionano instaurando adesione interazioni non covalenti:
- elettrostatiche: es: $-\frac{Q_1 Q_2}{\varepsilon r}$ in $H_2O$: $\uparrow\varepsilon$ e $\uparrow r \Rightarrow \downarrow$ en.
- dipolo-dipolo, forze di dispersione } dipendono da $\frac{1}{\varepsilon^2} \Rightarrow \uparrow\varepsilon \Rightarrow \downarrow$ en
- legami H
- complessi di coordinazione } → non influenzate da $H_2O$ ⇒ valide da cozza
- interazioni idrofobiche

Buona adesione se interazione adesivo-substrato >> interazione substrato-$H_2O$

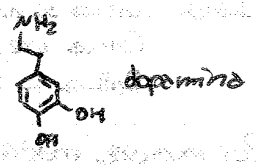
Cozza si aggancia tramite bisso, costituito da filamenti, costituiti da proteine (disposte con gradiente).
CUTICOLA: parte superficiale filamenti. Resistente perché reticolata. (proteina polifenolica)
CUORE: parte interna filamenti. Caratteristiche meccaniche differenti. (25-30 proteine a base di collagene)
proteine Mefp (Mytilus Edulis Foot Protein): contengono DOPA (da ossidazione tirosina).
DOPA → a contatto col substrato → proprietà adesive
→ nella cuticola → ruolo nella reticolazione




TIROSINA — DOPA — DOPACHINONE

DOPA: adesione su materiali inorganici con legami H

DOPACHINONE: adesione su superfici organiche grazie a gruppi C=O molto reattivi




dopamina

Proteine cozze:
- colp (simile a elastina)
- col-d (simile a seta)
- col-ng (distribuzione uniforme)
- proteina della matrice del filamento prossimale

Produzione Mefp: DNA ricombinante.
Adesione data da gruppo catecolo ( ) → ossidato a chinone ( )
→ reagisca con metalli
→ interagisce con radicali

Possibili adesivi:
- catecoli in catena principale: si parte da DOPA o da dopamina; pH = 8,5 ⇒ autopolimerizzazione. Si ottiene polimero reticolato con catecoli. Substrato immerso in soluzione di DOPA ⇒ si fa coating adesivo. Polidopa come antibatterico, rivestimento bioattivo per ossa, ancoraggio di molecole.
- catecoli in catena laterale: si parte da monomeri vinilici con gruppi catecolo (protetti o no). Se sono protetti, si ottiene un polimero lineare con gruppi catecolo laterali, se no polimero reticolato. Copolimero catecolo + MMA: compatibilizzante protesi-cemento. Adesivi iniettabili. Rivestimento per nanoparticelle metalliche. Rivestimento per stent. Gel.
- catecoli come terminale di catena: utile per molecole antifouling: PEG + DOPA. PEG degrada (degradazione ossidativa): un'alternativa sono i peptoidi (peptidi con sostituente su N invece che su C ⇒ più resistenti a degradazione).

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 55 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 57 di 90

Esempio: farfalla Morpho. Ali blu indescenti: scanalature μm formate da cuticole, formate da lamelle.

Metodo di lifting: tecnica per la fabbricazione di film di cristalli colloidali. Si controllano: vel di sollevamento e concentrazione di n particelle. Si possono ottenere film di qualsiasi colore.
Sul substrato si deposita una serie di layers (adesione grazie a idrofilicità), ma il colore ha una patina bianca dovuta a diffusione della luce ⇒ si dopano le particelle con un colorante (per es nigrosina).

Oppure: si mimano ali farfalla con cristallo colloidale. Si usano 2 tipi di n particelle con dimensioni diverse (impacchettamento non perfetto evitato se $d_1/d_2 < 0,15$).
- polistirene + silice → deposizione con lifting → trattamento a caldo (brucia polimero, sinterizza $SiO_2$) → rivestimento con polimero idrofobico ⇒ OPALE INVERSO SUPERIDROFOBICO
- polistirene + $TiO_2$ → opale inverso rivestito da polimero idrofilico ⇒ superidrofilicità
  → superidrofilicità fotoindotta

Pattern di colore strutturale ottenuti variando idrofilicità substrato

Variazione colore strutturale → PASSIVA
→ ATTIVA (come damselfish)

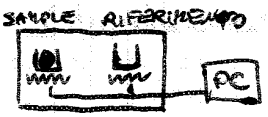
Variazione data da:
- variazione distanza tra lamelle proteiche in multilayer
- variazione angolo di inclinazione lamelle
- variazione indice di rifrazione se un layer poroso assorbe un liquido

Per fare superfici in cui è possibile variazione di colore si può usare la tecnica layer-by-layer oppure cristalli colloidali.

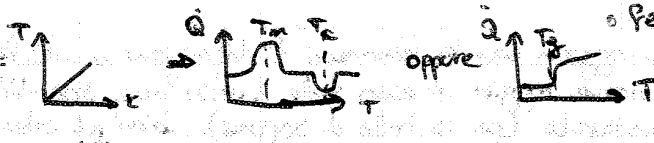
Possibili applicazioni:
- opale elastomerico per individuare deformazioni meccaniche
- display con cristalli sensibili a campo magnetico
- carta fotonica: PMMA + idrogelo fotoreticolabile. Diversa reticolazione ⇒ diverso grado di rigonfiamento in $H_2O$ ⇒ colore diverso
- stoffe n strutturate

# CARATTERIZZAZIONE TERMICA DEI POLIMERI

Calorimetria differenziale a scansione (DSC): consente di determinare:
- $T_g$, $T_m$, $T_c$
- Capacità termica
- vel di reazioni
- miscibilità tra polimeri
- fenomeni di rilassamento molecole




Analisi DSC non isoterma:




Area sottesa picchi = calore latente

- Grado di cristallinità: $X = \frac{\Delta H_m}{\Delta H_{100\%}} \cdot 100$

1° scansione di riscaldamento serve ad annullare la storia termica del campione.

Analisi DSC isoterma:

si fa fondere il materiale, poi si raffredda velocemente fino a una Tc, che viene lasciata costante.
Si analizza, ad ogni Tc, come varia il grado di cristallinità in funzione del t.

Analisi termogravimetrica: determina:
- T a cui si ha una perdita di peso definita
- T degradazione (perdita 50% peso)
- T corrispondente a max vel perdita di peso
- t necessario per perdere un certo peso a una T costante

Si misura il peso di un campione soggetto a riscaldamento controllato fino a pirolisi.

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 57 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 59 di 90

Per avere memoria di forma devono esserci:
- punti di reticolazione: - determinano forma permanente
  - possono essere chimici o fisici
  - devono essere stabili a $T > T_{trans}$
- segmenti di switch: - transizione termica a $T_{trans}$
  - flessibili per $T > T_{trans}$, rigidi per $T < T_{trans}$

Ci sono 4 tipi di polimeri a memoria di forma:
1 - reticolazione = cristallina ⇒ si usano PU segmentati
switch = amorfi
2 - reticolazione = cristallina ⇒ PU segmentati con segmenti soft in PCL
switch = cristallini
3 - reticolazione = chimica ⇒ PMMA - PEGDMA
switch = amorfi
4 - reticolazione = cristica ⇒ termoindurenti in PCL, steriacrilato, MAN, BIS, EVA
switch = cristallini

## SUPERFICI SUPERIDROFOBICHE

Approcci → generazione strutture μ e nugerarchiche su substrati idrofobici
→ modifica chimica di una superficie gerarchicamente strutturata con materiale a bassa en. sup.

Autopulizia se → angolo rotolamento < 10°
→ angolo contatto > 150°
→ adesione sporco-superficie < adesione sporco-$H_2O$

Eq. di Young: $\cos\vartheta_\gamma = \frac{\gamma_{SV} - \gamma_{SL}}{\gamma_{LV}} \simeq \frac{\gamma_S - \gamma_{SL}}{\gamma_{LV}}$ ⇒ $\downarrow \gamma_S \Rightarrow \uparrow \vartheta_\gamma$

Ma non si riescono a raggiungere $\vartheta_\gamma > 150°$ solo variando la chimica del materiale.

Modello di Wenzel: bagnabilità omogenea: $\cos\vartheta_W = r \cdot \cos\vartheta_\gamma$ → superfici non autopulenti

Modello di Cassie: aria tra superficie e $H_2O$: $\cos\vartheta_C = \rho \cdot \cos\vartheta_\gamma + \rho - 1$

Angolo di inclinazione richiesto per movimento goccia: $\frac{mg \sin\alpha_C}{d} \simeq \gamma_{LV}(\cos\vartheta_{R(min)} - \cos\vartheta_{A(max)})$

In natura c'è anche rugosità alla n scala: possibili interazioni superficie-$H_2O$ aumentano.

Insetto Gerris Remigis: μpeli coperti da cera idrofobica con n scanalature. Per affondarlo serve F = 15 peso

Superfici superidrofobiche possono essere usate per: - antifouling
- antibatteriche

Infezione batterica: legami deboli e reversibili → legami stabili → colonia ricoperta di biofilm (mantiene batteri vitali e aggregati) → rilascio di altre colonie

Per es. - Ag (morte batteri) + perfluorodecantiolo (no adesione batteri) ⇒ sensibile a UV
- PLLA (idrofilico): superficie n rugosa ⇒ idrofobico
- analisi gruppo sanguigno

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 59 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 61 di 90

Materiali autoriparanti: compositi. Vantaggi: • rallenta e ritarda i processi di degradazione naturale
• migliora sicurezza e affidabilità prodotto
• allunga tempi di vita di un materiale
• riduce costi di manutenzione

Filoni di ricerca:
- fusione superfici danneggiate: serve strato termico esterno
  Esempi: - rivestimento tramite reazione di Diels-Alder
  - microparticelle di resina epossidica disperse in matrice
- inclusione materiale riparante nella matrice: unica aggiunge capsule ⇒ polimerizzabile
  Esempi: - microcapsule + catalizzatore in matrice
- biological bleeding approach: • microcanali interconnessi contengono agente riparante

MODELLI BIOMIMETICI
Si sono ottenuti solo tessuti simili a quelli umani: organoid.
Si parte sempre da Matrigel → derivato animale
→ batch to batch variation
→ depurazione non del tutto efficace.
Spessore modelli fino a 5 mm ⇒ serve struttura vascolare.

Lab on chip: permettono di microfabbricare porzioni di tessuto per analizzare effetti molto specifici.
Sono piccoli, maneggevoli, elevata riproducibilità, bassi costi. Prodotti con soft lithography.

Fegato: smaltimento farmaci tramite attività del citocromo P450
Smaltimento in 2 fasi:
• FASE 1: P450 rende farmaco reattivo inserendo gruppo radicalico (tossico!)
• FASE 2: al farmaco reattivo viene legata una molecola che lo rende facile da espellere

Per es: dispositivo con epatociti coltivati in statico (coating di fibronectina per adesione), poi perfusione
Ambiente biomimetico, anche se coltura 2D.
Epatociti più attivi ⇒ si vede meglio tossicità farmaco.

Per es: epatociti + fibroblasti di supporto ⇒ maggior biomimeticità

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 61 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 63 di 90

```
A = sum(P)/2;
S = 0;
i = 1;
while S <= A
    S = S + P(i);
    i = i + 1;
end
MDF = P(i)
```

```
MNF = sum(P.*P)/sum(P);
```

VALORE RETTIFICATO MEDIO:

```
ARV = sum(abs(x)) * (Pc/N);
```

```
RMS = sqrt(Pc * sum(x.^2)/N)
```

STIMA SPETTRALE PARAMETRICA

[coeff_AR, varianza_rumore] = arburg(segnale, ordine)

[coeff_AR, varianza_rumore] = armcov(segnale, ordine)

[coeff_AR, varianza_rumore] = aryule(segnale, ordine)

[P, W] = pburg(segnale, ordine, NFFT, Fc)

F = W/(2*pi) / (mean(segnale)/1000?)

→ plot(F, P/max(P)) → stima spettrale parametrica con metodo di Burg

[P,W] = pmcov(segnale, ordine, NFFT, Fc)

[P,W] = pyulear(segnale, ordine, NFFT, Fc)

x = hilbert(segnale) → x è in forma analitica.

ZERO PADDING:

x_padded = padarray(segnale, [dimensioni in cui aggiungere 0], valore di padding (default: 0), 'pre') → aggiunge prima
, 'post' → aggiunge dopo
, 'both' → prima e dopo

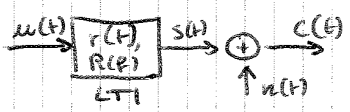
© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 63 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 65 di 90

Per risolvere il problema del filter si prende un'epoca come riferimento e si riallineano le altre rispetto ad esso
Riallineare significa: ① calcolare ritardo tra $x_1$ e $x_2$
② applicare ritardo a $x_2$ (il ritardo è una quantità con segno)
Per riempire i campioni di segnale lasciati vuoti: - shift circolare (meglio)
- numeri casuali (possibile polarizzazione)
- zeri (non in questo caso)

# FILTRO OTTIMO (DI WIENER)

Hp: $s(t)$ e $n(t)$ sono scorrelati




$w(t)$ = segnale biologico di interesse

Sistema LTI = sistema di prelievo
$c(t)$ = segnale che viene misurato: $c(t) = s(t) + n(t)$

Si vuole trovare un filtro ottimo con risposta all'impulso $\varphi(t)$ tale che: $c(t) \to \varphi(t) \to \frac{1}{R(f)} \to \hat{w}(t)$

OTTIMO = min errore quadratico tra stima e valore reale (definito in $t$)

$$e = \int_{-\infty}^{+\infty} [\hat{w}(t) - w(t)]^2 \, dt$$

Si minimizza l'errore in $f$ perché è più facile (possibile per teo di Parseval).

$$\begin{cases} e = \int_{-\infty}^{+\infty} [\hat{U}(f) - U(f)]^2 df \\ \hat{U}(f) = \dfrac{C(f)\,\Phi(f)}{R(f)} = \dfrac{[S(f)+N(f)]\,\Phi(f)}{R(f)} \end{cases} \Rightarrow e = \int_{-\infty}^{+\infty} |R(f)|^2 \left\{ |S(f)|^2 \cdot |1 - \Phi(f)|^2 + |N(f)|^2 \cdot |\Phi(f)|^2 \right\} df$$

N.B. $S(f) \cdot N(f) = 0$ perché scorrelati

L'errore è minimo se la funzione integranda è minima. Si fa il differenziale rispetto a $\Phi$ e lo si pone uguale a zero. Si trova:

$$\Phi(f) = \frac{|S(f)|^2}{|S(f)|^2 + |N(f)|^2}$$

Se $s(t)$ è intermittente: calcolo $|N(f)|^2$ dove c'è solo $n(t)$ e ottengo $|S(f)|^2 = |C(f)|^2 - |N(f)|^2$
Se $s(t)$ non è intermittente uso il metodo grafico: si trova $|N(f)|^2$ facendo un'interpolazione lineare della coda in alla $f$ di $|C(f)|^2$. (metodo grossolano)
Il filtro ottimo può essere usato al posto dell'averaging.

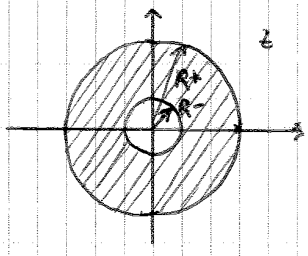
# TRASFORMATA Z

Scompone il segnale secondo una base che è l'esponente di un numero complesso, $z$.
La trasformata di Fourier è un caso particolare di trasf. z con $z = e^{-j2\pi k}$.
La trasf. z di una sequenza discreta è una funzione continua.

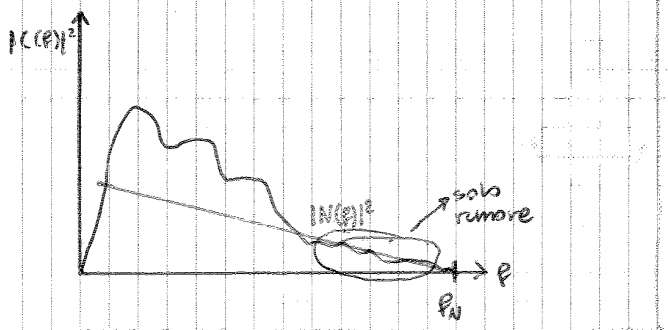
$f_c$ = f di campionamento $\Rightarrow$ $f_N = \frac{f_c}{2}$ = massima f rappresentabile

Ritardatore discreto di k passi: $|H(z)| = 1$
$y[n] = x[n-k]$
$H(z) = z^{-k}$
} elemento costruttivo di tutti i filtri

La trasformata z è convergente tra 2 corone circolari di raggi: R+ e R-.




METODO GRAFICO




© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 65 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 67 di 90

# RIMOZIONE INTERFERENZA DI RETE

L'interferenza di rete è un problema soprattutto per l'ECG

## FILTRO NOTCH

Hp: sovrapposta a s(t) c'è interferenza di rete con ampiezza costante

L'interferenza di rete a 50 Hz può entrare nel sistema in 2 modi:
- sbilanciamento impedenza ha elettrodi ⇒ costante
- accoppiamento capacitivo ha paziente e rete ⇒ molto variabile ⇒ Hp del filtro limitativa!

Si usa $f_c$ che sia un multiplo intero della $f_0$ da rigettare: $\begin{cases} f_0 = 50\ Hz \\ \text{banda ECG} \leq 125\ Hz \end{cases}$ ⇒ $f_c =$ [illegible] Hz

In questo modo ogni periodo è composto da un numero di campioni identico.
Si fa denoising per sottrazione:

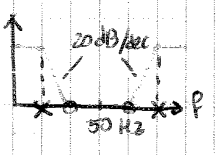
$$\frac{f_c}{f_0} = K \Rightarrow y[n] = x[n] - x[n-K] \Rightarrow H(z) = 1 - z^{-K}$$

NOTCH = filtro FIR (stabile $\forall K$) con fase lineare (è antisimmetrico)

Di solito si campiona a $f_c = 256$ Hz: per applicare il notch si ricampiona il segnale.
nuova $f_c >$ $f_c$ originale → sovracampionamento
nuova $f_c <$ $f_c$ originale → sottocampionamento (prima si applica passa basso con $f_T = f_c/2$)
Poiché non ci sono abbastanza radici c'è [illegible] ($|H(z)| > 1$). Inoltre è un [illegible]: non attenua solo i 50 Hz, ma anche tutti i multipli (per ECG è male togliere i 100 Hz). Toglie anche: 0 Hz, quindi la $y[n]$ di uscita ha sempre valor medio nullo. Funziona in [illegible].

## FILTRO RICORSIVO

È IIR (⇒ per ECG serve doppia passata ⇒ no real time) e non ha l'Hp del notch.
È un ARMA (2,2): ha 2 poli e 2 zeri complessi coniugati.
Vincolo: si devono usare [illegible] ⇒ bisogna trovare un compromesso fra attenuazione minima a 50 Hz e larghezza di banda attenuata.




## FILTRO ADATTIVO

Hp: s(t) ha intervalli abbastanza lunghi in cui è costante o nullo.

È un filtro puramente digitale: tenta di adattarsi al rumore (e non al segnale). No Hp sul rumore.
Si genera una sinusoide $e_n$ per stimare il rumore nel tratto in cui non c'è segnale:

$$e_n = A \cdot \sin(\omega nT)$$
$$e_{n+1} = A \cdot \sin(\omega nT + \omega T)$$
$$e_{n-1} = A \cdot \sin(\omega nT - \omega T)$$

Per le proprietà di seno e coseno: (Werner: $\sin\alpha\cos\beta = \frac{1}{2}[\sin(\alpha+\beta) - \sin(\alpha-\beta)]$)

$$e_{n+1} = 2 \cdot A \cdot \sin(\omega nT)\cos(\omega T) - A \cdot \sin(\omega nT - \omega T) =$$
$$= 2K e_n - e_{n-1}$$

con $K = \cos(\omega T) = \cos\left(\frac{2\pi f}{f_s}\right)$

Dati il campione presente e quello precedente, si può prevedere il campione seguente.
Distanza di predizione:

$$d_{n+1} = (x_{n+1} - e_{n+1}) - (x_n - e_n)$$

Si cerca di adattare la stima in base alla distanza di predizione togliendo o aggiungendo una quantità arbitraria C, sempre costante:

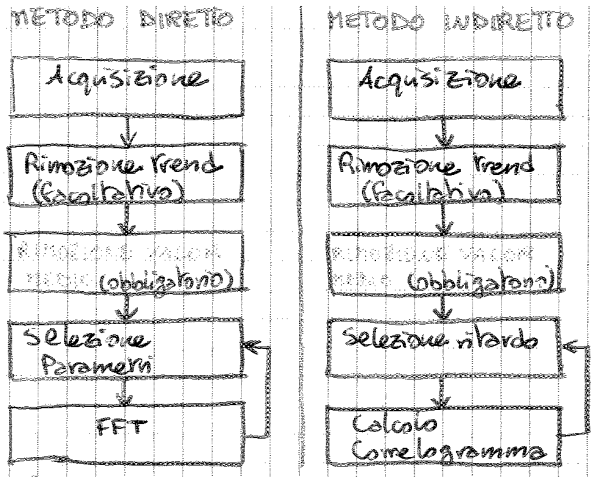
$$e'_{n+1} = e_{n+1} + C \qquad \text{(itero finché } d_{n+1} = 0\text{)}$$
$$e'_{n+1} = e_{n+1} - C$$

C troppo piccola ⇒ il filtro non si adatta al rumore entro il tratto isoelettronico.
C troppo grande ⇒ stima a gradoni troppo grandi.

Il valore di C dipende dalla f cardiaca (c'è quasi proporzionalità diretta).
Quando arriva il battito, il filtro si disadatta.

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 67 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 69 di 90




Il trend è una deriva del segnale senza significato fisiologico. Può essere rimosso con un passa basso. alla § La rimozione del valor medio è obbligatoria perché se no i segnali sono doppiamente affetti da leakage di potenza.

$$x(t) = x_0(t) + k \Rightarrow x^2(t) = x_0^2(t) + k^2 + \underbrace{2kx_0(t)}_{\text{leakage di continua}}$$

OSSERVAZIONE: Il periodogramma è calcolato come modulo al quadrato, quindi è sempre reale e positivo. Il correlogramma, calcolato come trasf. di Fourier, è sempre reale, ma può essere negativo. Le parti negative vanno poste a zero oppure ribaltate.

## STIMA DELLA SEQUENZA DI AUTOCORRELAZIONE (ACS)

Per ritardo nullo la $r_{xx}$ coincide con l'energia del segnale.

Primo shimatore:

$$\hat{r}_{xx}[m] = \begin{cases} \frac{1}{N-m} \sum_{n=0}^{N-m-1} x[n+m]\,x^*[n] & \text{se } 0 \le m \le N-1 \\ \frac{1}{N-|m|} \sum_{n=0}^{N-|m|-1} x^*[n+|m|]\,x[n] & \text{se } -(N-1) \le m < 0 \end{cases}$$

NON POLARIZZATO, NON CONSISTENTE

$\uparrow m \Rightarrow \uparrow$ varianza shima

Secondo shimatore:

$$\check{r}_{xx}[m] = \begin{cases} \frac{1}{N} \sum_{n=0}^{N-m-1} x[n+m]\,x^*[n] & \text{se } 0 \le m \le N-1 \\ \frac{1}{N} \sum_{n=0}^{N-|m|-1} x^*[n+|m|]\,x[n] & \text{se } -(N-1) \le m < 0 \end{cases}$$

ASINTOTICAMENTE NON POLARIZZATO, ASINTOTICAMENTE CONSISTENTE (Formule su appunti pag 32)

Uno shimatore è non polarizzato se il suo valore atteso coincide con la quantità da shimare.
Uno shimatore è tanto più consistente quanto minore è la sua varianza.

$$\check{r}_{xx}[m] = \frac{N-|m|}{N}\,\hat{r}_{xx}[m]$$

Non serve calcolare $r_{xx}$ per ritardi negativi perché: $r_{xx}[-m] = r_{xx}^*[m]$ → non vale per $r_{xy}$

Se si calcola $r_{xx}$ per un valore di ritardo $m$, si ottiene un vettore lungo $2m+1$.
Si può calcolare la shima di $r_{xx}$ per un ritardo massimo di $m = N-1$ → finestratura implicita di $r_{xx}$.
Se si usa $\hat{r}_{xx}$ con sequenze corte si possono ottenere risultati non fisicamente accettabili (massimo assoluto non nell'origine): non succede con $\check{r}_{xx}$.
Calcolo del correlogramma:

$$\hat{P}_{xx}(f) = T \sum_{m=-L}^{+L} \hat{r}_{xx}[m]\, e^{-j2\pi f m T} \qquad L \to \text{ritardi}$$

Per avere una variabilità accettabile è meglio che $L_{max} \le \frac{N}{10}$ (con $N$ = n° di campioni del segnale)

Se si calcola il correlogramma con shimatore $\hat{r}_{xx}$, si ottiene una $\hat{P}_{xx}$ polarizzata e con una finestratura implicita con finestra rettangolare. → formule pag 33

Se si calcola il correlogramma con shimatore $\check{r}_{xx}$, si ottiene una $\check{r}_{xx}$ meno polarizzata rispetto a $\hat{P}_{xx}$ grazie al fatto che la finestratura implicita è con finestra triangolare (ha lobi secondari più bassi).
Se si usa $\check{r}_{xx}$, per un numero di ritardi pari al massimo possibile ($L = N-1$) si ha che i risultati ottenuti con metodo diretto e indiretto coincidono.

CORRELOGRAMMA DI BLACKMAN E TUCKEY: ha una finestra non rettangolare né triangolare e calcola la shima spettrale a partire dallo shimatore $\hat{r}_{xx}$.
Scegliendo bene la finestra, si può ottenere uno shimatore asintoticamente non polarizzato.

$$\hat{P}_{BT}(f) = T \sum_{m=-L}^{+L} w[m]\,\hat{r}_{xx}[m]\, e^{-j2\pi f m T}$$

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 69 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 71 di 90

# SEGNALE EEG

È riferito solo all'attività elettrica dei neuroni funzionali superficiali. Misura i potenziali post sinaptici.
Prelievo singolo differenziale (posizionamento con sistema 10-20).
Caratteristiche:
- processo casuale (segnale di interferenza)
- ampiezza: 10-500 μV (bassa < 30 μV, media, alta > 70 μV)
- Morfologia → polimorfo (oscillazioni a una data f, ma con durata e ampiezza variabili)
  → monomorfo (si ripete regolarmente alla stessa f e con più o meno la stessa ampiezza)
- la topografia è importante (lato e zona)
- simmetrico (stesse caratteristiche di f, ampiezza e durata sui due lati) o asimmetrico
- sincrono (si verifica contemporaneamente sui due lati) o asincrono

Principale artefatto: attività muscoli oculari, in particolare eye blinking (δ di Dirac in ampiezza)
Anche particolari bande di f due ogni tanto prendono il sopravvento del segnale.

| BANDA | f (Hz) | Ampiezza (μV) | stati associati |
|---|---|---|---|
| δ | 0,5-3 | 20-200 | coma o sonno molto profondo |
| ϑ | 3-7 | 5-100 | sonno profondo |
| α | 8-13 | 10-200 | rilassamento mentale |
| β | 14-30 | 1-20 | attenzione e concentrazione |
| γ | >30? | 1-20 | attenzione e concentrazione |

Banda EEG: 0,5-40 Hz

L'EEG viene analizzato per studiare il sonno (parte della polisonnografia).
Fasi del sonno:
- onde ϑ, spasmi muscolari occasionali, sonno leggero (4-5%)
- onde ϑ, rallentamento ritmi respiratorio e cardiaco, ↓T (45-55%)
- onde δ, sonno profondo (4-6%)
- onde δ, sonno molto profondo, respiro ritmico totalmente involontario (12-15%)
- fase REM: incremento attività cerebrale e cardiaca, respiro veloce, muscoli rilassati (20-25%)

Per il segnale EEG basta avere una $\Delta f = 0{,}5$ Hz ⇒ brani di segnale di 2 s: è WSS.

Attacco epilettico: l'attività dei neuroni diventa frenetica e sincronizzata. Non si sa perché capiti.

Onde μ: sono a f = 7,5-12,5 Hz (si sovrappongono alla banda α). Si trovano solo nella corteccia motoria e solo se essa non è attivata per un movimento o per l'intenzione di un movimento.
Sono correlate ai neuroni specchio: si attivano quando viene capito lo scopo di un movimento. Sono implicati nell'autismo, nel quale manca la percezione corretta del distacco dal compito.

# SEGNALE EMG

Segnale caratteristico di strutture muscolari in contrazione.
Ogni unità motoria è un sistema LTI con h(t) diversa perché h(t) dipende dalla posizione dell'elettrodo rispetto a ogni singola unità.

> contrazione volontaria ⇒ processo casuale
> stimolazione elettrica ⇒ segnale deterministico

Se la contrazione è volontaria, si registra un segnale di interferenza dato dalla Σ dei segnali di uscita di ogni U.M.
In uscita da ogni U.M. c'è un treno di potenziali d'azione (MUAPT)

Prelievo EMG invasivo (elettrodi ad ago): c'è solo FdT del sistema di prelievo. Banda fino a 2 kHz.
Prelievo EMG superficiale: c'è anche FdT tessuto interposto (passa basso). Banda < 500 Hz.

Modello segnale: $s(t,F) = \sum_{i=1}^{P} u_i(t,F)$

F → forza di contrazione (in base a F il SNC recluta più o meno U.M.)
P → numero di U.M. attivate: P = P(F).
u → U.M. ciascuna si depolarizza in un istante temporale che è una variabile casuale.

F difficilmente resta costante durante una contrazione } ⇒ segnale non stazionario.
volume di prelievo varia durante contrazione

Per avere EMG WSS: contrazione a F costante e isometrica ⇒ articolazione vincolata.

Stima spettrale:

$$S(\omega,t,F) = R(\omega,d)\left[\sum_{i=1}^{P(F)} S_{u_i}(\omega,t) + \underbrace{\sum_{\substack{i,j=1 \\ i\neq j}}^{q(F)} S_{u_i,u_j}(\omega,t)}_{\text{lo spettro mutuo}}\right]$$

d → distanza interelettrodica
q → n° MUAPT correlati
R ⇒ FdT sistema di prelievo

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 71 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 73 di 90

Per calcolare CV si usa un prelievo doppio differenziale. Si ottengono 2 segnali, DD1 e DD2, shiftati di d (distanza interelettrodica).

Hp: DD1 e DD2 sono lo stesso segnale, ma con ritardo $\tau = \frac{d}{CV}$

Per calcolare $\tau$ esistono diverse tecniche.

ZERO CROSSING TECHNIQUE: si vede quanto distano temporalmente sui due segnali gli attraversamenti dello 0.
Problemi:
- il calcolo va fatto sullo stesso attraversamento
- serve SNR molto elevato (il rumore è un problema enorme)
- difficile da implementare

TECNICA DELLA CROSS-CORRELAZIONE: per DD1 e DD2, la cross-correlazione coincide con l'autocorrelazione, ma con il massimo in $t=\tau$.

$$R_{x_1x_2}(\tau) = \frac{E[x_1(t)\cdot x_2(t+\tau)]}{\sqrt{E[x_1^2(t)]+E[x_2^2(t)]}}$$

Problemi:
- rumore rende DD1 e DD2 non identici ⇒ serve SNR alto
- DD1 e DD2 non sono identici (è solo un'Hp)
- possibili errori di risoluzione: ci vuole almeno $\Delta t = 10\ \mu s \Rightarrow f_c = 100$ kHz
- per risolvere problema di risoluzione si peggiora SNR

SPECTRAL MATCHING TECHNIQUE: si prende il segnale $x_1$, lo si ritarda di una quantità casuale $\varphi$ e gli si sottrae $x_2$. Si calcola RMS: se $\varphi = \tau \Rightarrow RMS = 0$. Si cerca $\varphi$ che minimizza RMS: se si lavora in t c'è il problema di risoluzione, quindi si lavora in f (il ritardo $\varphi$ diventa una variabile continua).
Si minimizza con il metodo di Newton (algoritmo iterativo). Si deve verificare a posteriori che il ritardo ottenuto sia accettabile. (io si mette la cross-correlazione e si vede se lì c'è il massimo).

TECNICA DELLA FASE DELLA FUNZIONE DI TRASFERIMENTO: $x_2$ può essere considerata l'uscita di un sistema LTI con $x_1$ in ingresso e FdT di un interpolatore ideale di R punti. Filtro FIR ⇒ fase lineare: il ritardo di gruppo è proporzionale a ordine del filtro e pendenza della retta. Si calcola:

$$H(f) = \frac{X_1(f)}{X_2(f)}$$

Ma il risultato è oscillante a causa di:
- leakage di potenza (dovuto a segnale finito) } oscillante
- variabilità (dipende da n° di campioni)
- instabilità della divisione (va a ∞ se $X_1 \to 0$) } problema

La fase ottenuta va interpolata con una retta, di cui si deve calcolare il coeff. angolare: si commette errore.

SPECTRAL DIPS: è l'unica tecnica di stima di CV che parte da un segnale singolo differenziale.
Sappiamo che:

$$S(f) = G(f)\cdot H(f)\left(\sin\frac{\pi f d}{v}\right)$$

→ FdT sistema di prelievo singolo differenziale

Con: $S(f)$ → stima spettrale EMG
$G(f)$ → spettro vero
$H(f)$ → FdT ressolo interposto
Si guarda dove $S(f')=0$ e si fa Hp che sia quel punto: $\sin\frac{\pi f' d}{v} = 0 \Rightarrow v = f'd$

Problema: $d = 10$ mm, $v = 4$ m/s ⇒ $f' = 400$ Hz ⇒ $S(f)$ è quasi tutto nullo! (di solito è < 300-350 Hz).

Problemi:
- f del 1° zero fuori dalla banda del segnale
- rumore (spettro piatto additivo ⇒ assenza di zeri)
- variabilità stima (aggiunge, toglie, sposta gli zeri)
- $\Delta f$ limitata (interpolazione con sinx/x può aggiungere zeri)

Non c'è una tecnica ottimale.
Nei [illegible] si mostra CV, un parametro spettrale (MDF o MNF) e un parametro temporale (ARV o RMS).
Nel t CV diminuisce sempre e di conseguenza diminuiscono anche MDF e MNF. L'andamento di ARV e RMS dipende da muscolo, tipo di contrazione, tipo di esercizio: in generale tende ad aumentare perché sono misure di area (allargamento potenziale > riduzione ampiezza ⇒ ↑ area).

Uso segnale EMG:
- valutare progressione distrofia muscolare
- " invecchiamento del muscolo (sarcopenia)
- riabilitazione persone con spasticità
- diagnosi Tunnel carpale.

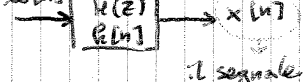
© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 73 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 75 di 90

# STIMA SPETTRALE PARAMETRICA

Si usa solo se la stima spettrale tradizionale (funzione unica) permette di superare 2 problemi:
- problema di risoluzione (servono segnali troppo lunghi per avere $\Delta f$ accettabile $\Rightarrow$ no WSS),
- $f_c$ non costante (teo Nyquist si può applicare lo stesso)

Si usa il segnale solo per costruire un modello. Procedimento:
1. scelta modello (AR, MA, ARMA)
2. scelta dell'ordine del modello
3. stima dei parametri del modello (vettori a e b) ] FASI CRITICHE
4. calcolo PSD a partire dal modello




Il segnale è l'uscita del modello!

In ingresso si mette un rumore poiché $w[n]$: rumore casuale gaussiano bianco (spettro piatto). La forma dello spettro è data da $H(z)$, su cui si fa stima spettrale.

$$x[n] = \underbrace{-\sum_{k=1}^{p} a[k]\,x[n-k] + \sum_{k=0}^{q} b[k]\,w[n-k]}_{ARMA(p,q)} = \underbrace{\sum_{k=0}^{\infty} h[k]\,w[n-k]}_{h[n]\,*\,w[n]} \quad \Rightarrow \quad H(z) = \frac{B(z)}{A(z)}$$

Si ha:

$$P_{xx}(f) = P_w(f)\,|H(f)|^2 \Rightarrow P_{xx}(z) = P_w(z)\cdot H(z)\cdot H^*\left(\frac{1}{z^*}\right) = P_w(z)\cdot\frac{B(z)B^*\left(\frac{1}{z^*}\right)}{A(z)A^*\left(\frac{1}{z^*}\right)} \xrightarrow{z=e^{j2\pi fT}} P_{ARMA}(f) = T_{P_w}\left|\frac{B(f)}{A(f)}\right|^2$$

Per gli altri modelli: $P_{MA}(f) = T_{P_w}|B(f)|^2$ $\qquad P_{AR}(f) = \dfrac{T_{P_w}}{|A(f)|^2}$

Si è dimostrata la validità della Fase 4

Il valore di $P_w$ è casuale e si ripercuote su PSD come valore di scala: non si può calcolare bene la potenza assoluta di una banda, mentre si riesce a calcolare bene la potenza relativa.
Qualunque $H(z)$ può essere ottenuta da ciascuno dei modelli: la scelta di un AR o di un MA o di un ARMA non è decisiva. Per questioni di lavorabilità algoritmica si parte sempre da AR (incognita: a), poi si possono calcolare i parametri di un modello diverso: AR(m) $\Rightarrow$ posso calcolare i coeff. di altri modelli con ordine $\leq m$. (formule pag 65)

Spettro AR $\Rightarrow$ picchi stretti, valli ampie $\wedge\!\wedge$
Spettro MA $\Rightarrow$ picchi ampi, valli strette $\cap\cap$
Spettro ARMA $\Rightarrow$ picchi e valli stretti $\wedge\!\wedge$

$\Rightarrow$ Ogni modello genera una PSD con caratteristiche specifiche. Per avere la stessa forma si deve variare l'ordine.
Potenza assoluta non calcolabile:
- dipende da ingresso ($P_w$)
- dipende da modello (area diversa)

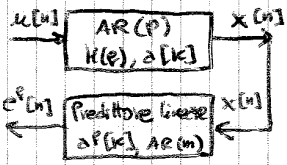
C'è una relazione tra coefficienti di modelli diversi e c'è una relazione tra coeff. del modello ed elementi funzione di autocorrelazione

PREDITTORE LINEARE: $r_{xx}[n] = -\sum_{k=1}^{p} a[k]\,r_{xx}[m-k]$ $\Rightarrow$ simile a modello AR, ma senza ingresso

Lo elemento cancellato che permette di risolvere il problema di risoluzione.
Noti i coeff. AR e gli elementi precedenti di $r_{xx}$, si può allungare $r_{xx}[m]$: poiché la lunghezza di $r_{xx}$ è direttamente correlata a $\Delta f$, si può migliorare la risoluzione spettrale con elementi predetti ($\neq$ elementi reali).
Il metodo funziona solo se si sta modellizzando un processo lineare. Si può anche allungare il segnale stesso.
Predittore lineare diretto: dati i campioni $n-k$, calcolo campione n-esimo. $\Rightarrow \hat{x}^f[n]$
Predittore lineare inverso: dati i campioni futuri, calcolo il campione precedente.

Individuare l'ordine del modello equivale a chiedersi: quanti campioni siano necessari per fare una predizione ragionevole.

Errore di predizione: $e^f[n] = x[n] - \hat{x}^f[n] \Rightarrow x[n] = \hat{x}^f[n] + e^f[n] = -\sum_{k=1}^{m} a^f[k]\,x[n-k] + e^f[n]$ $\rightarrow$ modello AR!




$e^f[n]$ è l'uscita del predittore lineare diretto e $x[n]$ è l'ingresso.
$e^f[n]$ è scorrelata da $\hat{x}^f[n]$, ma non è un rumore bianco a meno che $x[n]$ non sia generato da un processo AR(p) con $p=m$ $\Rightarrow$ AR(p) $\equiv$ AR(m)

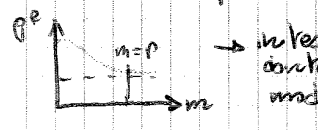
Per stabilire l'ordine del modello bisogna trovare il modello AR sbiancante del segnale.

[illegible] controllo che $e^f[n]$ sia bianco. Per farlo esistono 2 modi:
- vedo se l'autocorrelazione è una $\delta$ di Dirac nell'origine. Problema: leakage di potenza $\Rightarrow$ compare + oscillazioni
- vedo se lo spettro è piatto. Problema: consistenza stimatore $\Rightarrow$ oscillazioni casuali.

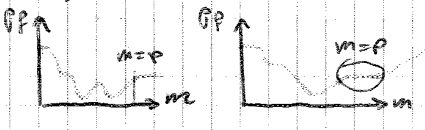
In entrambi i casi ci sono i seguenti punti critici:
- numero di campioni
- finestra
- consistenza stimatore (Q)

] $\rightarrow$ non si può usare!

[illegible] guardo dove la varianza della sequenza di uscita raggiunge un valore asintotico.
Infatti da $m=p$ in poi la varianza resta costante perché anche aggiungendo radici, i coeff sono tutti nulli.




$\rightarrow$ in teoria. In pratica la funzione può avere oscillazioni dovute ad approssimazioni o a segnali generati da modelli non AR.




$P_e = E\{|e^f[n]|^2\}$

Nessuno ci assicura che $e^f[n]$ sia bianco se $P_e^f$ è costante: il metodo pratico è meno forte di quello teorico, ma ci si deve accontentare.

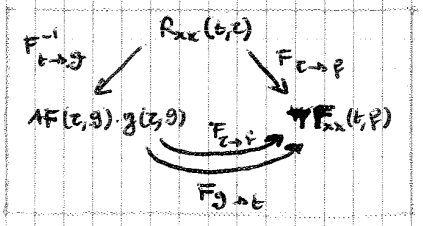
L'algoritmo di Levinson (ricorsivo) dà la soluzione per un filtro predittore di ordine m.

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 75 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 77 di 90

FUNZIONE DI AMBIGUITÀ: antitrasformata di Fourier della $R_{xx}$ del t al ritardo e frequenza $\vartheta$. Viene introdotta perché l'attenuazione dei termini interferenti nel piano $(\tau,\vartheta)$ è più facile.

$$AF_{xx}(\tau,\vartheta)=\int_{-\infty}^{+\infty} R_{xx}(t,\tau)\,e^{+j2\pi\vartheta t}\,dt \longrightarrow AF_{xx}(\tau,\vartheta)=F^{-1}_{t\to\vartheta}\{R_{xx}(t,\tau)\}$$




Si attenuano i termini interferenti nel piano $(\tau,\vartheta)$, poi si torna nel piano $(t,f)$ tramite la trasformata di Fourier.
Gli autotermini si trovano sull'asse $\vartheta=0$, mentre i termini interferenti non sono mai sugli assi. Si attenua tutto ciò che non sta sugli assi tramite KERNEL.
L'attenuazione si ottiene per moltiplicazione:

$$AF_{xx}(\tau,\vartheta)\cdot g(\tau,\vartheta)$$

Kernel di W-V: $g_{WV}=1$

Kernel di Choi-Williams: $g_{CW}(\tau,\vartheta)=e^{-\frac{\vartheta^2\tau^2}{\sigma}}$ in bimedica $\sigma\in[0{,}1,\ 1]$

Più $\sigma$ è piccolo, più $g_{CW}(\tau,\vartheta)$ scende rapidamente ($\Rightarrow$ attenua di più)
Più $\sigma$ è piccolo, peggiore è la perdita di risoluzione.

Al variare di $g$, varia la trasformata $\Rightarrow$ somiglia all'integrale triplo della trasf. di Fourier

$$\iiint \underbrace{x\left(t'-\frac{\tau}{2}\right)x^*\left(t'+\frac{\tau}{2}\right)}_{R_{xx}}\,e^{+j2\pi\vartheta t'}\,dt'\cdot g(\vartheta,\tau)\cdot e^{-j2\pi\vartheta t}\,d\vartheta\cdot e^{-j2\pi f\tau}\,dt$$

$R_{xx}$ — $AF$ — $AF_\vartheta$ — $TF_{\vartheta\to t}$ — $F_{\tau\to f}$

A tempo discreto: $R_{xx}[n,m]=x[n-m]\,x^*[n-m]$ $\Rightarrow$ ritardo doppio!
Problema: si usa solo la metà dei ritardi $\rightarrow$ asse $\tau$ ha metà dei punti $\rightarrow$ $f_c$ è la metà $\rightarrow$ $f_N$ è la metà $\rightarrow$ possibile aliasing

Ogni proprietà della trasf. t-f è relativa a una specifica condizione che $g(\tau,\vartheta)$ deve rispettare.

- $P_0$: isotemporale positiva $\Rightarrow$ $g(\tau,\vartheta)=AF_{xx}\{x(t)\}$ — NO per $g_{CW}$
- $P_1$: distribuzione reale $\Rightarrow$ $g(\tau,\vartheta)=g^*(\tau,\vartheta)$
- $P_2$: regolarità temporale $\Rightarrow$ $g(\tau,\vartheta)$ indipendente da $t$
- $P_3$: regolarità in banda limitata $\Rightarrow$ $g(\tau,\vartheta)$ indipendente da $f$
- $P_4$: proiezione reale positiva $\Rightarrow$ $g(\tau,0)=1$
- $P_5$: proiezione energia $\Rightarrow$ $g(0,\vartheta)=1$
- $P_6$: proiezione centro $\Rightarrow$ $\partial g(\tau,\vartheta)/\partial\tau\,|_{\tau=0}=0$
- $P_7$: proiezione centro gravità $\Rightarrow$ $\partial g(\tau,\vartheta)/\partial\vartheta\,|_{\vartheta=0}=0$
- $P_8$: invariante traslazioni indipendenti $\Rightarrow$ $g(\tau,\vartheta)$ è la maschera di un passo basso 2D — NO per $g_{WV}$

Per le proprietà $P_4$ e $P_5$ si introducono le FUNZIONI MARGINALI $D_{xx}$.

$$D_{xx}(f)=\int TF_{xx}(t,f)\,dt \;(=P_{xx}) \qquad D_{xx}(t)=\int TF_{xx}(t,f)\,df \;(=E_{xx}(t)=\int x(t)\,x^*(t-\tau)\,d\tau)$$

Per le proprietà $P_6$ e $P_7$ si fa riferimento al segnale in forma analitica: $x_a(t)=e^{j\psi(t)} \rightarrow X(f)=e^{j\Psi(f)}$

FREQUENZA ISTANTANEA (IF): dà informazione temporale relativamente alla $f$.

$$IF(t)=\frac{1}{2\pi}\,\frac{\partial\psi(t)}{\partial t}$$

RITARDO DI GRUPPO (GD): indica qual è la fase di ogni $f$.

$$GD(f)=\frac{1}{2\pi}\,\frac{\partial\Psi(f)}{\partial f}$$

Quando si lavora con le trasf. t-f è obbligatorio usare segnali in forma analitica, altrimenti la $f$ della replica spettrale viene considerata come seconda frequenza e genera termini interferenti in continua.

CROSS-DISTRIBUZIONI:

$$XTF_{xy}(t,f)=\int_{-\infty}^{+\infty} x\left(t'+\frac{\tau}{2}\right)y^*\left(t'-\frac{\tau}{2}\right)g(\tau,\vartheta)\,e^{-j2\pi\vartheta(t'-t)}\,e^{-j2\pi f t}\,dt'\,d\vartheta\,d\tau$$

Hanno le stesse proprietà delle corrispondenti TF perché hanno la stessa Kernel, ma la XTF non è mai reale.

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 77 di 90

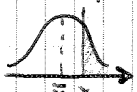
© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 79 di 90

## TEST D'IPOTESI

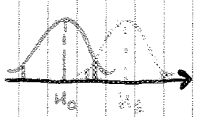
Si parte da un'ipotesi nulla $H_0$, che è sempre un'ipotesi di uguaglianza (definita su valor medio reale)
Ad $H_0$ si contrappone un'ipotesi alternativa $H_1$, che può assumere forme diverse: si sceglie la $H_1$ più significativa.
Si sceglie un numero di soggetti per il test. Per il teorema limite centrale, qualunque variabile casuale ha distribuzione circa gaussiana se si prende un numero abbastanza alto di campioni ($\geq 30$).
Il valor medio è significativo a meno di un intervallo di variabilità, detto intervallo di confidenza: $\bar{x} \pm \frac{\sigma}{\sqrt{N}} \cdot \alpha$

$\alpha \rightarrow$ ampiezza dell'intervallo intorno al valor medio (scelta da noi!). Livello di confidenza $= 1-\alpha$.
$\alpha$ è la probabilità che $x > x_0$, cioè è la probabilità di errore. Il valore $\alpha$:

- stabilisce la lunghezza dell'intervallo di confidenza
- dà la dimensione dello scarto che viene consentito




Il test d'ipotesi afferma che se gli intervalli di confidenza di $H_0$ e $H_1$ si sovrappongono per una area inferiore ad $\alpha$, allora $H_0$ non è vera.




Il p-value è la probabilità che gli intervalli si sovrappongano, cioè la probabilità di errore: $p < \alpha \Rightarrow$ si rigetta $H_0$.
Se $p > \alpha$, il test non dice che $H_0$ sia vera, ma dice che non si può affatto che non sia vera.
Se si sceglie $\alpha$ grande, si ha una grande probabilità di prendere la decisione sbagliata.
In medicina non si accetta mai $\alpha > 5\%$.

Test sul valor medio: t-Student → variabili gaussiane
Mann-Whitney → variabili non gaussiane
Il test di Wilcoxon permette di stabilire se una variabile è gaussiana.
Test sulla varianza: F-Fisher.
Sui grafici a barre è bene riportare l'errore standard: $\pm \frac{\sigma}{\sqrt{N}}$

Uno studio statistico per una terapia deve essere randomizzato in doppio cieco.

## ANALISI DELLA COMPLESSITÀ

Ogni volta che si processa dell'informazione, essa diminuisce (entropia di Shannon): l'entropia è una misura della complessità di una serie temporale.

$$p_{xx}[p] = \frac{P_{xx}[p]}{\sum_p P_{xx}[p]} \longrightarrow SE = \sum_p p_{xx}[p] \log\left(\frac{1}{p_{xx}[p]}\right) \rightarrow \text{entropia spettrale}$$

Entropia di Renyi: $RE = -\log\left(\sum_p p_{xx}^2[p]\right)$

L'entropia approssimata prescinde dalla trasformata di Fourier: esprime la verosimiglianza logaritmica che un segnale di lunghezza $N$ si ripeta con una tolleranza di $r$ per $d$ punti e che si ripeta anche per i seguenti $d+1$ punti.

Scelgo: $\begin{cases} d = \text{lunghezza di ogni brano del segnale} \\ r = \text{distanza massima tra le sequenze estratte} \end{cases}$ → costruisco $N-d+1$ sequenze $X(i)$.

Due vettori sono simili se:

$$\max\{X(i) - X(j)\} < r$$

Calcolo l'integrale di correlazione: $C_i^d(r) = \frac{1}{N-d+1} N_i^r$ con $N_i^r \rightarrow$ distanza max tra coppie di elementi.

$C_i^d(r)$ esprime la probabilità che 2 sequenze siano simili.
Calcolo l'entropia approssimata:

$$ApEn = \ln\left(\frac{C^d}{C^{d+1}}\right)$$

$ApEn = 0$ se $C^d = C^{d+1}$
non c'è un limite superiore, ma di solito è $< 1$

Si può definire anche l'entropia campionata:

$$SpEn(d, r, N) = -\frac{1}{N-d+1} \ln\left[\sum_i \frac{C_i^{d+1}(r)}{C_i^d(r)}\right]$$

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 79 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 81 di 90

**VALVOLA MECCANICA**
- maggior alterazione emodinamica locale
- emolisi: irrilevante
- potenziale trombo-embolico sotto controllo
- trattamento farmacologico anticoagulante a vita
- durata: 15 anni

↓ IN SOGGETTI GIOVANI

**VALVOLA BIOLOGICA**
- durata inferiore rispetto a valvola meccanica: 10 anni

↓ IN SOGGETTI ANZIANI

**9 COMANDAMENTI DELLA PROGETTAZIONE DI PROTESI VALVOLARI**
1. prevenire formazione di emboli
2. garantire lunga durata
3. essere facile e sicura da impiantare
4. preservare i tessuti circostanti (se no: cicatrice → sovraccarico cuore e onde emodinamiche riflesse
5. tenere bassa la turbolenza
6. minimizzare il danneggiamento del sangue
7. fare poco rumore
8. materiali emocompatibili
9. sterilizzazione

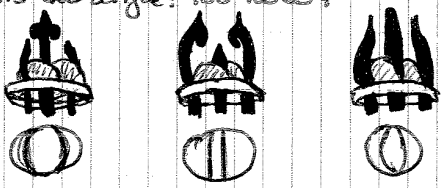
Il dispositivo va caratterizzato in termini di:
- materiali
- comportamento strutturale
- comportamento emodinamico
- durata

Approccio della progettazione: QbD

Problemi protesi valvolari:
- presenza e formazione di trombi o preaggregati
- fenomeni emorragici in pazienti con trattamento anticoagulante perenne
- sovracrescita tissutale
- infezioni
- perdite paravalvolari
- Rottura dispositivo per fatica o modifiche chimiche dei materiali

Norma relativa al danneggiamento del sangue: ISO 10993-4

Linee di flusso delle valvole:



ANEMOMETRIA A LASER DOPPLER: misura velocità in un volume molto piccolo di fluido. Rileva la vel di un punto nel t

VELOCIMETRIA A IMMAGINI DI PARTICELLE (PIV): consente di ottenere mappe istantanee di velocità su un piano di misura.
misura la velocità istantanea su un'area
Principio base: registrazione di una serie di immagini di particelle che si muovono con il fluido e la determinazione del vettore velocità dello spostamento di ogni particella in un intervallo di t noto.
Procedure:
1. inseminazione del flusso tramite particelle scatteranti: vel particella = vel fluido!!!
2. illuminazione del campo di moto in esame
3. acquisizione di una coppia di immagini successive (intervallo dt) (Fotocamera a 90° dal piano di moto) → se no proiezione (immagine angolata)
4. analisi dell'immagine: processamento.

La PIV fa una media di gruppi di particelle: c'è una concentrazione minima (di particelle / unità di volume)
- troppe ⇒ speckle (non si distinguono singole particelle)
- poche ⇒ rumore

È meglio usare particelle sferiche ↔ no direzioni preferenziali diffusione luce
↔ no orientamenti preferenziali nel fluido in moto

Per illuminare: → laser continuo con otturatore (ma energia elevata e no potenza elevata)
→ laser pulsato (può erogare elevata energia in t brevi e in modo ripetuto)

Campo di moto turbolento ⇒ acquisizione di tante immagini e statistica.
Sorgente di luce coerente perché:
- facile produrre piano di luce sottile
- si ottengono densità di E più elevate
- la λ è precisa
- buon controllo nel t della potenza emessa
- è molte particelle che diffondono bene questo tipo di luce

Immagini suddivise in interrogation box sfalsate tra le 2 immagini (sovrapposizione: 30-50%). Si ricava lo spostamento medio s e si ricava $v = s/dt$. A box si ottiene un vettore rappresentativo.
dt va settato avendo un'idea delle vel medie!
Processamento tramite cross-correlazione: si fa FFT, si moltiplica, poi si antitrasforma.
Il picco della funzione: distanza e posizione consentono di calcolare vel media.

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 81 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 83 di 90

# TECNICHE DI RIVASCOLARIZZAZIONE

**Rivascolarizzazione** = rendere di nuovo operativo un distretto vascolare che non lo è più a causa dell'insorgenza di placche, dovuta a una fluidodinamica disturbata (aterosclerosi).

Luoghi di formazione placche:
- arterie coronariche
- biforcazione carotidea
- biforcazione iliaca
- branching aortico

} → biforcazioni → emodinamica disturbata

placche → ateromatiche / fibrose → nucleo molle di lipidi + strato fibroso. Spesso sono calcificate.

Possibili interventi:

- FARMACOLOGICO: poco efficace.
- **BY-PASS AORTO-CORONARICI**: (CABG). Operazione chirurgica. Un pezzo di vaso è asportato da un altro distretto corporeo (spesso si usa vena safena) e anastomizzato su aorta e coronaria (∄ by-pass puramente coronarico, ma è difficile). Comporta una modifica dell'emodinamica locale ⇒ soggetto a fallimenti.
- **ANGIOPLASTICA PERCUTANEA**: (PTCA). Intervento mini invasivo. Si fa per occlusioni moderate. L'espansione di un pallancino schiaccia la placca, rendendo più pervio il vaso.
  Possibili complicazioni:
  - rottura placca → formazione trombo → pezzi che svolazzano nel lume
  - rottura vaso
  - chiusura improvvisa del vaso
  - soluzione subottimale (necessari interventi di riperfora)
  - restenosi
- **STENT**: Intervento mini invasivo. Sono reti a forma tubolare in acciaio o nitinol. È un impianto permanente: deve restare in sito e aperto, deve rispondere alle sollecitazioni del vaso e non deve avere proprietà meccaniche troppo diverse da quelle del vaso (se no: riflessione delle onde pressorie ⇒ disturbo del flusso).
  Vantaggi rispetto a PTCA:
  - ✓ prevengono chiusura improvvisa del vaso
  - ✓ trattengono pezzi svolazzanti
  - ✓ riducono restenosi
  - ✓ percentuale di reintervento minore
  - ✓ percentuali di morte e morbidità basse e confrontabili con PTCA

  Però PTCA costa meno.

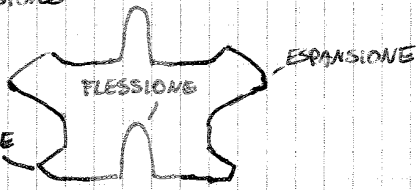
**Qualità di interesse degli stent:**
- spaziatura tra maglie
- diametro avvolgimenti vs d vasi e vs condizioni emodinamiche
- numero, spessore, larghezza degli elementi di una maglia
- deployment ratio
- vasodilatazione del sito d'impianto
- accorciamento stent dopo espansione
- variazione della geometria del vaso dopo l'espansione
- effetto della curvatura del vaso

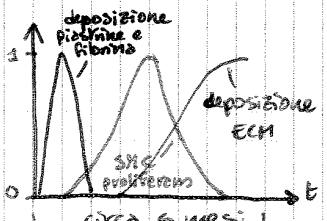
**Parametri osservati quantitativamente:**
- distribuzione WSS
- velocità nel vaso
- lunghezza zone di ricircolo
- profilo di velocità

**CARATTERISTICHE STENT IDEALE ⇒ SPECIFICHE DI PROGETTO**

- raggiungere agevolmente la lesione ⇒ grande flessibilità
- posizionarsi correttamente in lesione ⇒ visibilità in scopia
- non accorciarsi durante espansione ⇒ accorciamento nullo
- minima trombogenicità ⇒ Carbofilm / struttura sottile / spigoli arrotondati / superfici lucide
- garantire pervietà vaso ⇒ R a compressione radiale
- minima alterazione elasticità vaso ⇒ stesse prop. meccaniche del vaso

Ogni maglia deve avere:
- R radiale
- espansione
- flessione
- torsione




**CAUSE DI RESTENOSI:**
- RITORNO ELASTICO
- PROLIFERAZIONE NEOINTIMALE
- RIMODELLAMENTO NEGATIVO

MECCANISMI RESTENOSI: ↓ WSS ⇒ ↑ proliferazione SMC ⇒ ↓ d vaso ⇒ ↑ WSS
Il processo è guidato dalla fluidodinamica locale, cioè dalla geom. dei vasi

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 83 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 85 di 90

(3) LEGARE IL CAMPO DEGLI SPOSTAMENTI DELL'ELEMENTO AGLI SPOSTAMENTI NODALI: la funzione che descrive il campo degli spostamenti deve essere tale da assumere i valori degli spostamenti nodali se si mettono le coordinate nodali come $x_k$. Si possono calcolare gli $\alpha_j$.

$$\{\beta\} = [\varphi(x_k)]\{\alpha\} = [A]\{\alpha\} \Rightarrow \{\alpha\} = [A]^{-1}\{\beta\} \qquad \text{con } [A] \rightarrow \text{contiene } \varphi_j \text{ nei nodi}$$

Da cui: $\{\delta(x_k)\} = [\varphi(x_k)][A]^{-1}\{\beta\} = [N(x_k)]\{\beta\}$ con $[N] \rightarrow$ raccoglie le funzioni di forma

Si è passati da funzioni di approssimazione del campo degli spostamenti (con i coeff. $\alpha$) a funzioni di interpolazione degli spostamenti nodali (con matrice $[N]$).

(1) LEGARE IL CAMPO DELLE DEFORMAZIONI DELL'ELEMENTO AL CAMPO DEGLI SPOSTAMENTI: in conseguenza al campo degli spostamenti applicato, in ogni punto dell'elemento il materiale è sottoposto a deformazione.

$$\{\varepsilon(x_k)\} = [\text{diff } \varphi(x_k)][A]^{-1}\{\beta\} = [C][A]\{\beta\} = [B]\{\beta\}$$

con: $[C] \rightarrow$ raccoglie le funzioni derivate delle funzioni di approssimazione del campo degli spostamenti (funzioni di $x_k$)
$[B] \rightarrow$ raccoglie le funzioni derivate da $[N]$ (funzioni di $x_k$): esprime la dipendenza del campo delle deformazioni del materiale dagli spostamenti nodali.

Spostamenti lineari ⇒ deformazioni costanti all'interno di un elemento, variazione discontinua nel passaggio da un elemento all'altro.

(2) LEGARE IL CAMPO DELLE TENSIONI AL CAMPO DELLE DEFORMAZIONI DELL'ELEMENTO: in conseguenza alla presenza di un campo di deformazioni, il materiale è sottoposto a tensioni.

$$\{\sigma(x_k)\} = [D]\{\varepsilon(x_k)\} \qquad \text{con } [D] \rightarrow \text{matrice di rigidezza del materiale}$$

Se il materiale è isotropo i coeff. di D sono E e $\nu$: $\varepsilon_x = \frac{1}{E}\left[\sigma_x - \nu(\sigma_y + \sigma_z)\right]$

Se nella struttura è presente un campo di tensione residuo $\{\sigma_0\}$ (da lavorazioni meccaniche) o se una parte $\{\varepsilon_0\}$ del campo delle deformazioni non è dovuta alle tensioni applicate (dilatazione termica), il legame $\sigma$-$\varepsilon$ deve essere espresso come:

$$\{\sigma(x_k)\} = [D]\left(\{\varepsilon(x_k)\} - \{\varepsilon_0\}\right) + \{\sigma_0\}$$

(3) RICAVARE I CARICHI NODALI EQUIVALENTI AL CAMPO DEGLI SPOSTAMENTI E SCRIVERE LA MATRICE DI RIGIDEZZA: gli elementi si scambiano forze solo attraverso i nodi che hanno in comune. Non si integra il campo delle tensioni (no deformazioni continue ⇒ campo tensioni non equilibrato), ma si sfrutta il principio dei lavori virtuali.

$\{\beta^*\} \rightarrow$ spostamenti nodali virtuali

Lavoro forze esterne se alla struttura sono applicate solo forze nodali concentrate: $L_{est} = \{\beta^*\}^T\{F\}$

Campo delle deformazioni virtuali: $\{\varepsilon^*\} = [B]\{\beta^*\}$

Campo delle tensioni effettivamente agenti sull'elemento: $\{\sigma\} = [D]\{\varepsilon\} = [D][B]\{\beta\}$

Lavoro virtuale forze interne: $dL_{int} = \{\varepsilon^*\}^T\{\sigma\}\,dV \Rightarrow L_{int} = \int \{\beta^*\}^T[B]^T[D][B]\{\beta\}\,dV \Rightarrow$

$$\Rightarrow L_{int} = \{\beta^*\}^T \int ([B]^T[D][B]\,dV)\{\beta\} \Rightarrow$$

Impongo $L_{int} = L_{est}$: $\{F\} = \int ([B]^T[D][B]\,dV)\cdot\{\beta\} \Rightarrow \{F\} = [K]\{\beta\} \Rightarrow \boxed{[K] = \int [B]^T[D][B]\,dV}$

I termini della matrice di rigidezza così ottenuti sono valori approssimati.
Se sono presenti forze esterne di superficie $\{p\}$ e forze di volume $\{v\}$, il lavoro esterno diventa:

$$L_{est} = \{\beta^*\}^T\{F\} + \int \{\beta^*\}^T[N]^T\{p\}\,dS + \int \{\beta^*\}^T[N]^T\{v\}\,dV = \{\beta^*\}^T\left\{\{F\} + \{F_p\} + \{F_v\}\right\}$$

Se sono presenti: un campo di tensioni residue $\{\sigma_0\}$ o un campo di deformazioni indipendenti $\{\varepsilon_0\}$, il lavoro interno è:

$$L_{int} = \{\beta^*\}^T\cdot\left\{\int [B]^T[D][B]\{\beta\}\,dV - \int [B]^T[D]\{\varepsilon_0\}\,dV + \int [B]^T\{\sigma_0\}\,dV\right\} = \{\beta^*\}^T\cdot\{[K]\{\beta\} - \{F_\varepsilon\} + \{F_\sigma\}\}$$

Relazione di rigidezza: $\{\{F\} + \{F_p\} + \{F_v\} + \{F_\varepsilon\} + \{F_\sigma\}\} = [K]\{\beta\}$

(4) SCRIVERE IL CAMPO DELLE TENSIONI IN FUNZIONE DEGLI SPOSTAMENTI NODALI:

$$\{\sigma(x_k)\} = [D][B]\{\beta\} = [H]\{\beta\}$$

I punti in cui vengono calcolati i valori delle tensioni dell'elemento possono essere i nodi (ma spesso non sono significativi a causa delle approssimazioni) o i punti di Gauss.

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 85 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 87 di 90

3) SCRIVERE IL CAMPO DELLE TENSIONI IN FUNZIONE DEL CAMPO DELLE DEFORMAZIONI DELL'ELEMENTO

$\{\sigma(x)\} = E \cdot \{\varepsilon(x)\} \Rightarrow [D] = E$

$[D]$ → matrice di rigidezza del materiale

$\{\sigma\} = [D]\{\varepsilon\}$ , $[D]$ è quadrata di ordine 6

$$\begin{bmatrix} D_1 & D_2 & D_2 & 0 & 0 & 0 \\ D_2 & D_1 & D_2 & 0 & 0 & 0 \\ D_2 & D_2 & D_1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & D_3 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & D_3 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & D_3 \end{bmatrix} = [D]$$

Con: $D_1 = E(1-\nu)/(1+\nu)(1-2\nu)$ $\nu$ → coeff. di Poisson
$D_2 = \nu E/(1+\nu)(1-2\nu)$
$D_3 = E/2(1+\nu)$

4) RICAVARE LA MATRICE DI RIGIDEZZA DELL'ELEMENTO

$[K] = \int [B]^T \cdot [D][B]\, dV \Rightarrow$ $[K] = \int [B]^T [D][B]\, dx\, dy\, dz$

$\Rightarrow [K] = EA \cdot \begin{bmatrix} 1/L & -1/L \\ -1/L & 1/L \end{bmatrix}$

5) SCRIVERE IL CAMPO DELLE TENSIONI IN FUNZIONE DEGLI SPOSTAMENTI NODALI

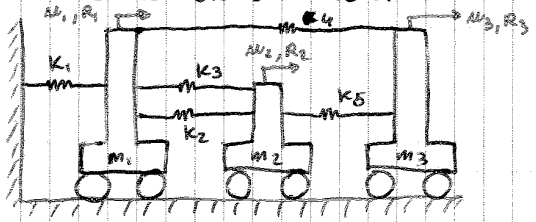
$\{\sigma(x)\} = [D][B]\{\delta\} = [H]\{\delta\}$ $\{\sigma\} = [D][B]\{\delta\} = [H]\{\delta\}$

con $[H] = \left[-\frac{E}{L}, \frac{E}{L}\right]$

Poiché i termini di $[B]$ sono funzioni delle coordinate, anche i termini di $[H]$ lo sono.

Quindi: $\sigma_x = \frac{E(u_2 - u_1)}{L}$

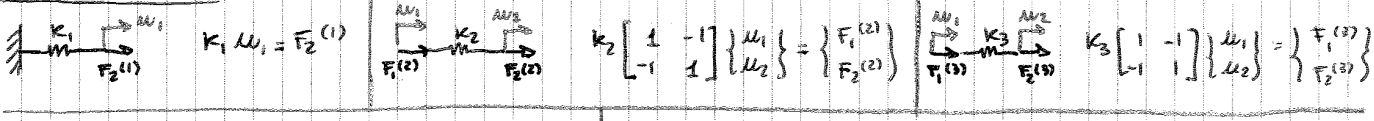
ESEMPIO: SOLUZIONE SISTEMA DISCRETO



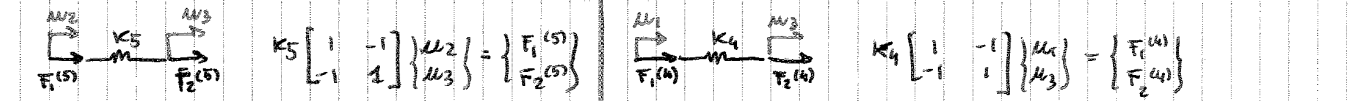

Matrice di rigidezza?

EQ. DI CONGRUENZA: $u_1^{(2)} = u_2^{(1)} = u_1^{(3)} = u_1^{(4)} = u_1$
$u_2^{(2)} = u_2^{(3)} = u_1^{(5)} = u_2$
$u_2^{(4)} = u_2^{(5)} = u_3$

EQ. COSTITUTIVE:




$K_1 u_1 = F_2^{(1)}$ $K_2 \begin{bmatrix} 1 & -1 \\ -1 & 1 \end{bmatrix} \begin{Bmatrix} u_1 \\ u_2 \end{Bmatrix} = \begin{Bmatrix} F_1^{(2)} \\ F_2^{(2)} \end{Bmatrix}$ $K_3 \begin{bmatrix} 1 & -1 \\ -1 & 1 \end{bmatrix} \begin{Bmatrix} u_1 \\ u_2 \end{Bmatrix} = \begin{Bmatrix} F_1^{(3)} \\ F_2^{(3)} \end{Bmatrix}$




$K_5 \begin{bmatrix} 1 & -1 \\ -1 & 1 \end{bmatrix} \begin{Bmatrix} u_2 \\ u_3 \end{Bmatrix} = \begin{Bmatrix} F_1^{(5)} \\ F_2^{(5)} \end{Bmatrix}$ $K_4 \begin{bmatrix} 1 & -1 \\ -1 & 1 \end{bmatrix} \begin{Bmatrix} u_1 \\ u_3 \end{Bmatrix} = \begin{Bmatrix} F_1^{(4)} \\ F_2^{(4)} \end{Bmatrix}$

EQ. DI EQUILIBRIO:

$F_2^{(1)} + F_1^{(2)} + F_1^{(3)} + F_1^{(4)} = R_1$
$F_2^{(2)} + F_2^{(3)} + F_1^{(5)} = R_2$
$F_2^{(4)} + F_2^{(5)} = R_3$

Vogliamo scrivere tutto nella forma: $[K]\{u\} = \{R\}$

con: $\{u\} = \begin{Bmatrix} u_1 \\ u_2 \\ u_3 \end{Bmatrix}$ , $\{R\} = \begin{Bmatrix} R_1 \\ R_2 \\ R_3 \end{Bmatrix}$ , $[K] = \sum_{i=1}^{5} [K]^{(i)} = \begin{bmatrix} K_1 + K_2 + K_3 + K_4 & -K_2 - K_3 & -K_4 \\ -K_2 - K_3 & +K_2 + K_3 + K_5 & -K_5 \\ -K_4 & -K_5 & +K_4 + K_5 \end{bmatrix}$

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 87 di 90

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 89 di 90

Vantaggi navigazione e CAS:
- precisione nel ripristino di assi meccanici, bilancio legamentoso, resezioni
- stabilità dell'impianto in lotta a RSA e stabilità primaria elevata
- riduzioni out-liers (⇒ riproducibilità)
- possibilità di documentare intervento
- ricerca continua
- sistemi ibridi per impianto di aziende differenti
- disponibilità per un numero crescente di chirurgie ortopediche

Svantaggi navigazione e CAS:
- maggior invasività a livello di tessuti e di t operatorio
- maggior necessità di supporto tecnico e di personale in sala
- maggior rischio di infezioni
- curva di apprendimento
- arma a doppio taglio nelle mani di chirurghi inesperti
- maggior investimento

Patient specific cutting block: navigazione che consente di resecare il femore senza approccio intramidollare. Processo lungo.

Protesi ingegneristicamente perfette sono molto fallimentari a causa della difficoltà di impianto. Protesi più semplici sono meno performanti, ma più semplici da impiantare.

I pazienti sono giovani (~60 anni) e attivi: vogliono poter svolgere tutte le attività che svolgevano prima della protesi. Per soddisfare questa necessità si sfrutta la simulazione numerica di calcolatore.
Consente di:
- analizzare anatomia e funzione
- rispondere a domande cliniche
- migliorare il risultato clinico
- prevedere il risultato clinico
- fornire linee guida
- evitare situazioni critiche

ATTENZIONE: il modello deve essere realistico, anche se si devono fare semplificazioni su:
- geometria
- materiali
- forze e condizioni al contorno (di solito sconosciute)

**BISOGNA SAPER INTERPRETARE I RISULTATI!**

Dettagli esperimenti & esempi: pag 15

© Proprietà riservata dell'autore - Digitalizzazione e distribuzione a cura del CENTRO APPUNTI - Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino / Pagina 89 di 90