

# **L'ingegneria dei tessuti: utilizzo in chirurgia plastica.**

## **Revisione della casistica dopo 15 anni di applicazione della metodica.**

***A. Scalise, M. Pierangeli, G. Di Benedetto,***

**Clinica di Chirurgia Plastica e Ricostruttiva**

**Università Politecnica delle Marche**

**Ancona**

### **ABSTRACT**

La bioingegneria ci offre un approccio rivoluzionario ed innovativo, che applica le funzioni di progettazione e costruzione proprie dell'ingegneria all'ambito biologico: l'ingegneria tissutale è un settore della bioingegneria rivolto alla creazione di sostituti biologici in grado di mantenere, ripristinare o migliorare la struttura e le funzioni dei tessuti (Marazzi).

L'ingegneria tissutale rappresenta un nuovo approccio alla riparazione e ricostruzione di tessuti ed organi danneggiati da una patologia, da un trauma, o in difetti congeniti. I vantaggi dell'uso di un tessuto umano prodotto con tecniche di coltura in vitro sono: sicurezza, efficacia del prodotto e disponibilità di materiale.

Il primo organo interamente ingegnerizzato, che è passato dalla fase sperimentale alla fase di trattamento sull'uomo, è stato la pelle, ed è stato utilizzato per il trattamento delle ustioni, delle ulcere cutanee, e di ferite di diversa profondità (biblio in Marazzi).

Negli ultimi 10 anni, presso la Clinica di Chirurgia Plastica e Ricostruttiva di Ancona, sono stati trattati con impianto di tessuti autologhi bioingegnerizzati di fibroblasti e cheratinociti 177 pazienti suddivisi in 12 gruppi eziologici.

Vengono descritti i criteri di inclusione del protocollo di trattamento, si valutano le percentuali di guarigione ed i tempi impiegati per ottenere la chiusura completa delle lesioni.

### **INTRODUZIONE**

Con il termine di Bioingegneria si intende quella scienza che applica le funzioni di progettazione e costruzione (proprie dell'ingegneria) all'ambito Biologico, e che ha come scopo quello di creare sostituti biologici per la rigenerazione di tessuti e di organi danneggiati in seguito a patologie, traumi o malformazioni congenite.

Un tessuto bioingegnerizzato è costituito da cellule autologhe (cellule staminali e differenziate) le quali vengono seminate su un supporto biocompatibile.

In particolare, in chirurgia plastica, vengono utilizzati ormai da una decina di anni dei tessuti bioingegnerizzati per la riparazione di perdite di sostanza cutanea, e che sono costituiti da fibroblasti o cheratinociti autologhi seminati e poi fatti crescere su scaffolds di acido ialuronico esterificato.

Con questa tecnologia è possibile ottenere da un prelievo bioptico di circa 2 cm<sup>2</sup> una superficie centinaia di volte maggiore in 3-4 settimane.

Il cosiddetto “derma” è il tessuto bioingegnerizzato ottenuto dalla espansione di colture cellulari di fibroblasti seminate su un supporto tridimensionale di acido ialuronico, il quale serve a stimolare le cellule a replicarsi ed a produrre fattori di crescita e fattori chemio tattici utili per ottenere una veloce riparazione tissutale.

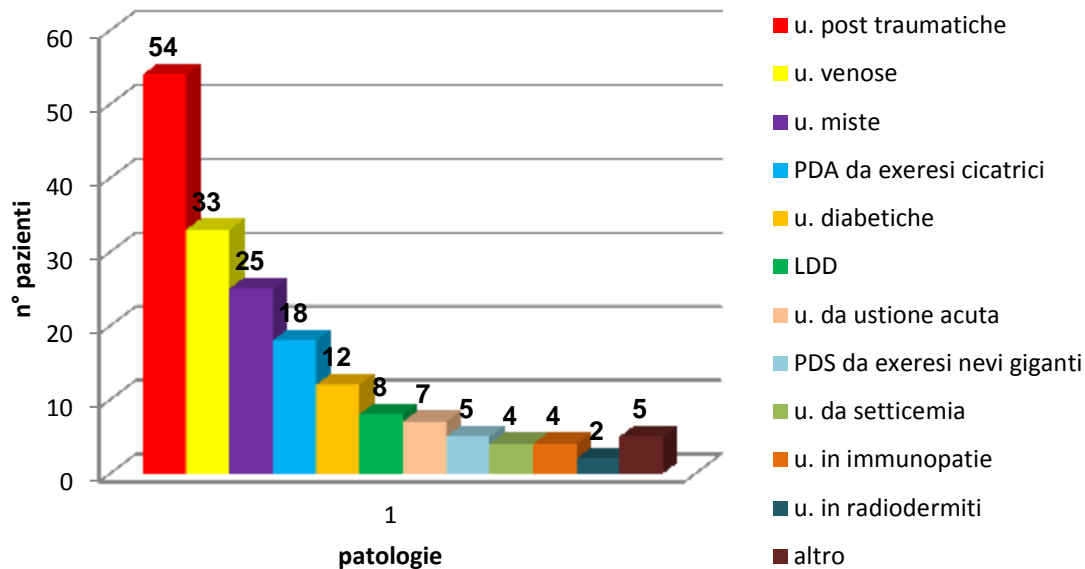
Il tessuto bioingegnerizzato costituito da cheratinociti autologhi seminati su un supporto di acido ialuronico bidimensionale e micro perforato al laser va a ricostituire, invece, l'epidermide. La peculiare micro perforatura del supporto favorisce la migrazione delle cellule dalla sua superficie al letto della lesione.

Il tempo che di solito intercorre tra il prelievo bioptico e l'innesto di derma è di circa 4 settimane. Non sempre sarà poi necessario dover ricorrere ad un innesto di cheratinociti in quanto il primo innesto spesso innesca un meccanismo per cui in tempi rapidi si ottiene la guarigione delle lesioni; nell'eventualità, invece, che fosse necessario dover effettuare un innesto di cheratinociti, occorrerà attendere altre 2-3 settimane prima di poterlo applicare per attendere il normale riassorbimento dello scaffold.

## **MATERIALI E METODI**

Negli ultimi 10 anni, presso la Clinica di Chirurgia Plastica e Ricostruttiva di Ancona, sono stati trattati con impianto di tessuti autologhi bioingegnerizzati di fibroblasti e cheratinociti 177 pazienti suddivisi in 12 gruppi eziologici: u. post traumatiche; u. venose; esiti di ustione; perdite di sostanza iatrogena; u. ad eziologia mista (arteriosa e venosa); u. diabetiche; LDD; nevi giganti; cicatrici patologiche; lesioni necrotiche a seguito di setticemia; u. da radiodermite; u. in presenza di immunopatie (Tabella I).

**Tabella I: 177 pazienti trattati in 10 anni**



Il protocollo seguito prevedeva le seguenti procedure:

- T<sub>0</sub>: prelievo di una biopsia cutanea di 2 cm<sup>2</sup> e suo invio al laboratorio unitamente alla modulistica prevista contenente i dati relativi al paziente (il quale viene individuato attraverso un codice alfanumerico), alla patologia, al numero di innesti richiesti;
- T<sub>1</sub>: dopo 3-4 settimane dal prelievo posizionamento degli innesti di fibroblasti autologhi richiesti sul letto della lesione;
- T<sub>2</sub>: dopo 10 giorni dal primo innesto valutazione dell'attecchimento e decisione di effettuare un reinnesto di fibroblasti o di utilizzare un innesto di cheratinociti, o, infine, di non procedere oltre e di aspettare la guarigione;
- T<sub>3</sub>: applicazione di un nuovo innesto di fibroblasti o di un innesto di cheratinociti dopo ulteriori 10 giorni;
- T<sub>4</sub>: valutazione finale.

I criteri di inclusione utilizzati per inserire i pazienti nel protocollo (Tabella II) si sono basati in primo luogo sulla valutazione delle condizioni generali dei soggetti, ed in particolare se fossero presenti importanti patologie, quali cardiopatie, insufficienza respiratoria, insufficienza renale o demenza senile che quindi determinassero una condizione di altro rischio anestesilogico e quindi, in definitiva, fossero dirimenti per sopassedere a pratiche chirurgiche di tipo invasivo.

Poi si è tenuto conto dell'età dei pazienti, tenendo presente che bambini molto piccoli avrebbero mal tollerato non solo delle procedure chirurgiche invasive, ma anche il trauma psicologico legato all'ingresso in una sala operatoria.

Tra gli altri criteri di inclusione sono state poi inserite problematiche di tipo "logistico", in quanto non era possibile in alcuni pazienti reperire sufficienti aree donatrici di innesti cutanei tradizionali (es. ustionati), e problematiche di tipo psicologico: ad esempio soggetti già sottoposti a numerosi reinterventi che avevano sviluppato una vera e propria fobia per la sala operatoria, o soggetti giovani che volevano evitare cicatrici iatrogene conseguenti a prelievo di innesti cutanei o ad utilizzazione di lembi cutanei.

<b>Tabella II: criteri di inclusione nel protocollo</b>
Pazienti con alto indice ASA
Pazienti pediatrici (no S.O.)
Pazienti giovani (no cicatrici iatrogene)
Pazienti già sottoposti a molti interventi (no S.O.)
Pazienti senza più aree donatrici innesti

## **Risultati**

Nell'intervallo di tempo compreso tra il mese di dicembre 1998 ed il mese di settembre 2007 l'U.O. Cl. Di Chirurgia Plastica di Ancona ha sottoposto ad innesti di cute ingegnerizzata un totale di 177 pazienti, dei quali 95 maschi ed 82 femmine.

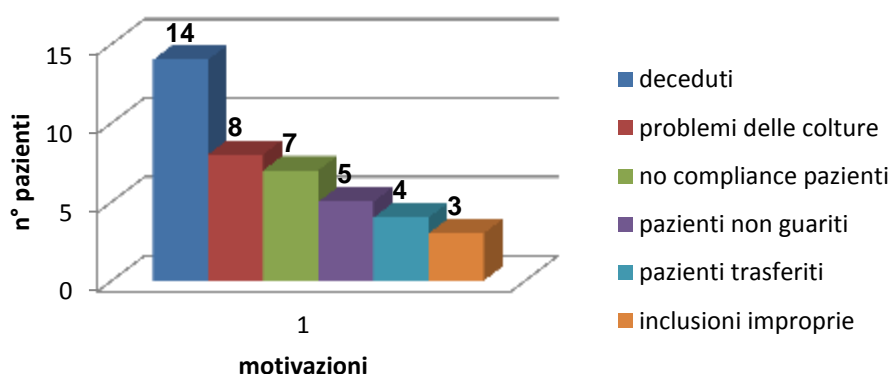
I pazienti avevano età molto diverse, andando dai 18 mesi del paziente più giovane, ai 95 anni di quello più anziano, con una media di età di 47,25 anni.

I pazienti sono stati scelti in base ai criteri di inclusione nel protocollo indicati in Tabella II ed erano affetti da patologie diverse (Tabella I).

I tempi di guarigione medi che sono stati ottenuti grazie all'utilizzo di questa tecnologia sono stati di 4,13 mesi dal momento  $T_0$  al momento  $T_4$  del protocollo.

Dei 177 pazienti trattati sono giunti a guarigione 121, altri 15 sono tuttora in trattamento, mentre 41 pazienti hanno abbandonato il trattamento per diversi motivi (Tabella III).

**Tabella III: pazienti che hanno abbandonato il trattamento**



## Conclusioni

Osservando i risultati ottenuti in 10 anni di utilizzazione dell'ingegneria tissutale per la riparazione di perdite di sostanza tegumentaria, si possono elencare una serie di conclusioni.

- Con questa tecnologia è possibile trattare diversi tipi di patologie, che non sono solo quelle canonicamente riconosciute, come in caso di ustioni acute, ma anche patologie quali le "ferite difficili", comprendendo in tale definizione tutte quelle lesioni che tendono a cronicizzare e quindi a non riparare spontaneamente;
- È stato possibile trattare pazienti molto giovani (fino a 18 mesi di età) o estremamente anziani, e quindi con problematiche diverse, legate sia alla sfera psicologica (paura del medico, della sala operatoria, per i bambini) che a problemi dovuti alle condizioni generali del paziente (per gli anziani, l'alto indice ASA);
- Grazie alla banca dei tessuti è possibile reinnestare i pazienti, a seconda delle necessità legate al caso clinico, senza bisogno di rieffettuare il prelievo bioptico;
- La metodica solo raramente prevede l'accesso dei pazienti in sala operatoria e nella maggioranza dei casi è possibile applicare l'innesto ingegnerizzato direttamente al letto del paziente, con conseguente riduzione dei tempi di ricovero (una sola notte) e dei costi di gestione;
- La qualità dei tessuti rigenerati è molto buona per colore, elasticità, testura, e nel tempo questi innesti hanno dimostrato una tendenza a retrarsi molto inferiore a quella degli innesti cutanei liberi tradizionali (foto 1a-1b);
- Le cellule sane innestate sulle aree donatrici hanno anche dimostrato essere utili per la ricostituzione di un tessuto più trofico e ben vascolarizzato rispetto anche ai tessuti perilesionali, caratteristica evidente soprattutto nella riparazione delle lesioni venose, dove l'area innestata non presentava le tipiche degenerazioni cutanee legate alle infiammazioni ricorrenti ed ai depositi di emosiderina tipici di questi casi (foto 2a-2b);
- L'innesto di fibroblasti autologhi coltivati spesso si è dimostrato utile come "riempitivo" in presenza di perdite di sostanza, soprattutto post traumatiche, che raggiungevano la fascia muscolare, determinando, a trattamento concluso, una buona ricostituzione del profilo corporeo (foto 3a-3b);

Considerando i 41 pazienti che non hanno terminato il trattamento, bisogna focalizzare le motivazioni per le quali ciò è avvenuto:

- 14 pazienti sono deceduti durante l'iter terapeutico a causa dell'età molto avanzata;
- Per 8 pazienti ci sono stati problemi legati alle colture cellulari: in 4 pazienti non c'è stata replicazione cellulare, probabilmente a causa di problematiche legate al paziente (terapie concomitanti; vitalità delle cellule); in 4 pazienti non sono state avviate le colture a causa della positività dei pazienti agli esami virologici;
- 7 pazienti si sono allontanati volontariamente a causa della loro scarsa compliance: c'è comunque da considerare che questi fallimenti si sono verificati durante i primi anni di adozione del protocollo, equindi sono più che altro legati alla nostra inesperienza nel saper scegliere i pazienti adatti al trattamento;
- 5 pazienti non sono guariti nonostante il trattamento e l'associazione con medicazioni avanzate, altre tecnologie (V.A.C. terapia, O.T.I., metodiche ricostruttive), trattamento della patologia di base e tecniche di supporto (procedure vascolari, terapia del dolore, ecc): probabilmente gli insuccessi sono stati dovuti alla gravità del quadro generale;
- 4 pazienti si sono trasferiti in altre sedi durante l'iter terapeutico, pertanto non sono più venuti ai controlli;
- 3 pazienti sono stati inclusi impropriamente nel protocollo: le loro lesioni si sono guarite, cioè, nell'intervallo di tempo compreso tra  $T_0$  e  $T_1$  del protocollo. Anche in questo caso bisogna considerare che tale evenienza si è verificata durante i primi anni di utilizzazione della tecnica, e quindi a causa della nostra inesperienza nel saper valutare se una "ferita difficile" fosse in grado di guarire mediante l'utilizzazione di medicazioni avanzate nelle 3-4 settimane necessarie allo sviluppo delle colture cellulari.

L'acquisizione di un'esperienza di 10 anni ci ha fatto sperimentare campi di applicazione alternativi della metodica.

Abbiamo infatti esciso dei nevi giganti, con buoni risultati (fig. 4a-4b) per quanto riguarda le caratteristiche di testura ed elasticità della cute ricostruita, ed abbiamo sostituito cicatrici distrofiche, retraenti, amelanotiche, con la finalità non solo di ricostituire una funzionalità perduta, ma anche una integrità dal punto di vista estetico (fig. 5a-5b penda).

Fig 1 a: necrosi cutanea post traumatica



Fig. 1b: risultato a 5 aa di distanza



Fig. 2 a: u. venosa; cute distrofica perilesionale



Fig. 2b: area innestata più trofica dei tessuti circostanti



Fig. 3 a: ampia e profonda perdita di sostanza post traumatica



Fig. 3b: ricreato il normale profilo corporeo





Fig. 4 a: nevo gigante gamba



Fig. 4b: risultato a 3 aa di distanza



Fig. 5 a: esito di ustione con cicatrici retraenti e melanotiche



Fig. 5b: risultato a 2 aa di distanza

