



**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA**



**DIPARTIMENTO
DI INGEGNERIA
DELL'INFORMAZIONE**

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

**“CHRONOFLEX: APPLICAZIONI BIOMEDICALI IN AMBITO
CARDIOVASCOLARE”**

Relatore: Prof.ssa Annj Zamuner

Laureando/a: Macaluso Anna

ANNO ACCADEMICO 2022 – 2023

Data di laurea: 29 settembre 2023

SOMMARIO

ABSTRACT	1
Capitolo 1: INTRODUZIONE AI POLIURETANI.....	3
1.1 La struttura chimica dei poliuretani	3
1.2 Classificazione dei poliuretani	3
1.3 Proprietà meccaniche	4
Capitolo 2: CHRONOFLEX	6
2.1 Caratteristiche generali e proprietà meccaniche	6
2.2 Confronto con Hydrothane	8
Capitolo 3: BIOCOMPATIBILITA' E BIOSTABILITA'	10
3.1 Biocompatibilità di poliuretani e Chronoflex	10
3.2 L'importanza dell'emocompatibilità	12
Capitolo 4: SUPERFICIE CARATTERISTICA	13
4.1 Superficie caratteristica dei poliuretani	13
4.2 Modifica della superficie	14
Capitolo 5: APPLICAZIONI BIOMEDICALI	18
5.1 Introduzione alle applicazioni biomediche dei poliuretani.....	18
5.2 Applicazioni cardiovascolari dei poliuretani	19
5.2.1 Valvole cardiache	21
5.2.2 Protesi cardiovascolari.....	23
5.2.3 Ventricoli per dispositivi di assistenza ventricolare e cuore artificiale totalmente impiantabile	26
5.3 Utilizzo di Chronoflex in ambito cardiovascolare.....	28
5.3.1 Effetto dell'immobilizzazione di Antitrombina III sulla superficie di <i>Chronoflex</i> ..	29
5.3.2 Prestazioni di un innesto vascolare in <i>Chronoflex</i> rivestito di Dipridamolo	30
Capitolo 6: DEGRADAZIONE DEI POLIURETANI.....	33
Capitolo 7: SVILUPPI FUTURI NELL'UTILIZZO DEI POLIURETANI	36
CONCLUSIONI.....	38
BIBLIOGRAFIA	39

ABSTRACT

I materiali polimerici sono costituiti da macromolecole formate dalla ripetizione di unità dette monomeri.

Negli ultimi anni la produzione industriale di polimeri sintetici ha subito un importante crescita ed i materiali più tradizionali sono stati soppiantati da questi polimeri in svariati settori.

I polimeri sintetici sono i biomateriali più usati grazie alla loro grande disponibilità in diverse forme: fibre, liquidi viscosi, pellicole, schiume, ecc., e alla loro struttura molto simile a quella dei polimeri naturali.

I polimeri sono una classe di materiali che possono essere ingegnerizzati per interagire con i sistemi biologici con finalità terapeutiche o diagnostiche.

Spesso quando utilizzati in campo biomedico si ha la formazione di legami tra i polimeri sintetici ed i tessuti naturali per facilitare il fissaggio delle protesi nella sede d'innesto; inoltre in molti casi l'utilizzo di questi materiali è preceduto da dei trattamenti superficiali in modo da prevenire qualsiasi effetto indesiderato.

I poliuretani sono tra i biomateriali polimerici più utilizzati per applicazioni biomediche tra cui le camere di pompaggio dei cuori artificiali e protesi vascolari di piccolo calibro. Possiedono una buona biocompatibilità ed emocompatibilità fondamentali quando utilizzati a contatto con tessuti o organi all'interno del corpo umano, ed è possibile inoltre modularne le proprietà meccaniche in base allo scopo dell'applicazione.

I poliuretani infatti, così come quasi tutti i biopolimeri, possono essere rigidi, elastici, adesivi o schiumosi in base ai reagenti di sintesi e alla tecnica di produzione.

Tra i poliuretani più utilizzati in campo biomedico, e più in particolare in quello cardiovascolare, ci sono *Biomer*, *Pellethane*, *Corathane*, *Cardiothane*, *Tecoflex* e *Chronoflex*.

Lo scopo di questo elaborato di tesi è quello di raccogliere e riassumere lo stato dell'arte riguardante l'utilizzo di *Chronoflex* nell'ambito biomedico, e di puntare lo sguardo su quelli che sembrano essere gli sviluppi futuri della ricerca in tale ambito.

Capitolo 1: INTRODUZIONE AI POLIURETANI

1.1 La struttura chimica dei poliuretani

I poliuretani (PU) sono una classe di copolimeri di sintesi caratterizzati dalla presenza di gruppi uretanici e ottenuti dalla reazione tra un isocianato e un alcol. Più in particolare la reazione chimica avviene tra alcoli con due o più gruppi ossidrilici (-OH) (ad esempio dioli o polioli) ed isocianati con più gruppi isocianato (-NCO) (ad esempio diisocianati o poliisocianati). (Figura 1)

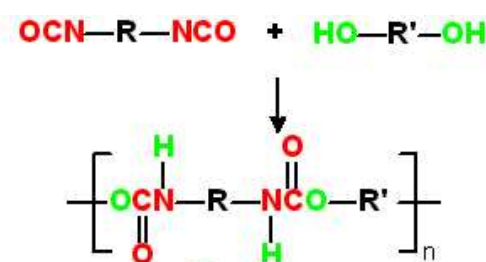


Figura 1- Sintesi di un poliuretano a partire da un diisocianato e da un diolo

La sintesi dei PU prosegue poi con l'allungamento della catena che avviene grazie all'utilizzo di dioli o di diammine a basso peso molecolare.

Ciò che si ottiene sono dei copolimeri a blocchi in cui si ha l'alternanza di segmenti molecolari rigidi (*Hard segments*) e altri più flessibili (*Soft segments*) (Figura 2). I primi sono costituiti da polioli (polieteri o poliesteri), i secondi invece da molecole di diisocianato e di dioli a basso peso molecolare.

L'alternarsi di queste due tipologie di segmenti determina le caratteristiche proprietà termiche e meccaniche dei poliuretani.

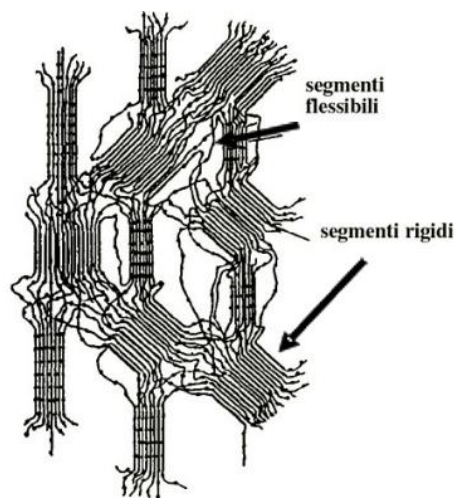


Figura 2 - Struttura bifasica dei PU

1.2 Classificazione dei poliuretani

Se classifichiamo i PU in base al loro comportamento dopo uno stress meccanico possiamo dividere questi polimeri in due gruppi:

1. *Poliuretani plastici*: questi si deformano senza arrivare a rottura quando sottoposti a sforzo meccanico in quanto si ha una prevalenza di struttura amorfa rispetto a quella cristallina.

2. *Poliuretani elastomerici*: in cui la deformazione non è permanente, infatti al cessare dello sforzo ritornano alla configurazione non deformata iniziale.

Se invece procediamo con una classificazione in base al comportamento a particolari temperature i PU si dividono in: *PU termoindurenti* (quando dopo la lavorazione per mezzo del calore subiscono variazioni permanenti della loro natura) e *PU termoplastici* (quando ogni volta che vengono riscaldati questi sono nuovamente lavorabili).

Molto importante è la classificazione dei poliuretani in base alla loro densità:

1. *Schiume poliuretatiche*: ottenute aggiungendo acqua durante la reazione di polimerizzazione provocando la liberazione di anidride carbonica che funge da schiumogeno. Vengono utilizzate ampiamente per imballaggi e imbottiture e sono divise a loro volta in:

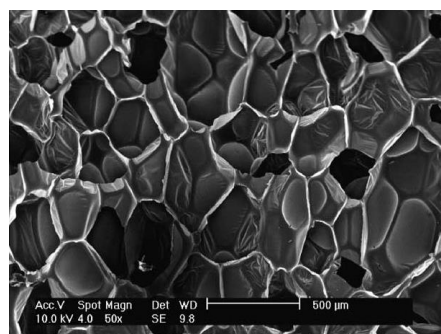


Figura 3 - Schiuma poliuretantica pura (18)

- a. *Poliuretani espansi*: con densità comprese tra 20 e 250 g/cm^3 . Questi PU sono i più diffusi commercialmente e hanno una particolare struttura con la presenza di pori.

- b. *Poliuretani semi-espansi*: con una densità fino a 800 g/cm^3

2. *Poliuretani non espansi o compatti*: con densità superiore a 800 g/cm^3

1.3 Proprietà meccaniche

Molte delle proprietà meccaniche dei poliuretani sono dovute alla loro particolare struttura chimica e dal tipo di poliisocianati e di polioli impiegati nella loro sintesi.

Ad esempio dalla polimerizzazione tra il diolo glicole etilenico e diisocianato si formerà un prodotto a catena lunga elastico, se invece si parte da un poliolo il risultato sarà un prodotto reticolato e rigido.

Se si analizza più nello specifico la struttura si può considerare che la forte presenza dei legami ad idrogeno tra i gruppi derivanti dall'isocianato porta alla formazione di fasi semicristalline all'interno del polimero che sono alla base della sua elasticità.

In generale i PU hanno un'elasticità maggiore, quindi un *Tensile modulus* basso, rispetto ad altri polimeri utilizzati in ambito biomedico (*Tabella 1*).

Tabella 1 - Proprietà meccaniche di alcuni polimeri utilizzati in ambito biomedico (1)

Polymer	Tensile modulus (MPa)	Elongation at break (%)
Low density polyethylene	140-300	200-900
High density polyethylene (HDPE)	700-1400	100-1000
Ultra high molecular weight polyethylene	100-700	200-500
Polypropylene	1100-200	100-600
Polyethyleneterephthalate (PET)	3000	50-300
Polytetrafluoroethylene (PTFE)	410	200-400
Polyurethanes*	25-62	355-800

Altro aspetto importante è il fatto che le caratteristiche meccaniche del polimero sono determinate dal rapporto in peso tra la percentuale di *hard segments* e di *soft segments*. Questo implica un aumento della rigidità se è presente una predominanza di *hard segments*.

In conclusione, le proprietà meccaniche dei poliuretani possono essere molto diverse a seconda dei reagenti con cui sono stati sintetizzati e dalla loro composizione finale. Questo li rende materiali polimerici ampiamente utilizzati in applicazioni biomedicali ma anche in oggetti di uso quotidiano. Essendo un materiale che può presentarsi sia in una forma più flessibile sia in una più rigida, è utilizzato per scopi che possono essere molto diversi tra loro: dall'isolamento di edifici all'abbigliamento sportivo, dall'imbottitura per mobili a quella dei materassi, fino ad applicazioni più "nobili" come nella produzione di protesi cardiovascolari.

Vedremo in seguito che i *PU* sono tra i polimeri più performanti in ambito biomedicale. Grazie alle loro proprietà meccaniche e biologiche sono perfetti per la realizzazione di dispositivi biomedici impiantabili in quanto presentano proprietà quali: tenacità, durabilità, flessibilità, biocompatibilità e biostabilità.

Capitolo 2: CHRONOFLEX

2.1 Caratteristiche generali e proprietà meccaniche

Il *Chronoflex* è un policarbonato uretano alifatico termoplastico ottenuto dalla reazione tra *esametilendiisocianato (HDMI)* e *glicole policarbonato*. Il risultato è un polimero biodurevole con *hard segments* aromatici e *soft segments* a base di dioli carbonati.

L'assenza del gruppo etere garantisce la sua biostabilità e un basso modulo elastico, per questo motivo è uno tra i poliuretani elastomerici più diffusi in ambito biomedicale, in particolare per la produzione di stent e cateteri.

Il *Chronoflex* possiede delle proprietà meccaniche ben definite e fondamentali per il suo utilizzo in ambito biomedico. La *Tabella 2* mostra alcuni valori relativi a resistenza alla trazione, allungamento a rottura, modulo dinamico e tenacità per tre diversi policarbonati uretani: *Chronoflex (ECF)*, *Bionate (EBN)* e *Carbothane (ECT)*.

Tabella 2 – Dati relativi ad analisi meccanica statica e 'Sature Retention Strength' su Carbothane (ECT), Bionate (EBN) e Chronoflex (ECF) (2)

Material	Tensile Strength (MPa)	Elongation at Break (%)	Modulus (MPa)	Toughness (MPa)	Suture Retention Strength (N)
ECT	8.2 ± 0.2	190 ± 41	2.1 ± 1.3	6.1 ± 1.6	4 ± 1
EBN	14.6 ± 0.14	160 ± 18	16.6 ± 3	13.2 ± 1.9	6 ± 0
ECF	11.5 ± 0.11	161 ± 5	8.6 ± 0.3	9.4 ± 0.6	4 ± 0

Data are expressed as means ± SD, n = 6, p < 0.05.

Analizzando i valori per *Chronoflex* possiamo osservare, così come avevamo già detto in generale per i poliuretani, che questo polimero possiede un modulo di trazione molto basso che lo porta ad essere un materiale altamente elastico.

L'elasticità, che risulta essere una proprietà fondamentale per la scelta di *Chronoflex* per la formazione di membrane biologiche, non è però sufficiente, infatti è anche necessario che la membrana possa essere saturata in uno specifico sito se necessario. Proprio per questo motivo si osservano valori di 'Sature Retention Strength' molto alti (tra 4 e 6 N) rispetto ad altri sistemi biologici, come ad esempio la dura madre o le arterie umane che possiedono valori più bassi.

I policarbonati uretani, essendo polimeri, possiedono una specifica temperatura di transizione vetrosa (temperatura a cui avviene il passaggio da uno stato vetroso, rigido e fragile, ad uno stato gommoso più deformabile).

Analizzando la *Figura 4* il valore del picco del grafico di tan delta rappresenta proprio questa specifica temperatura che risulta essere pari a -10.5°C per *Chronoflex*.

Si può osservare inoltre che *Chronoflex* possiede il picco maggiore tra i tre PCU analizzati nel grafico di tan delta, infatti questo significa che *Chronoflex* presenta un comportamento leggermente più viscoso con maggiore perdita di energia.

Osservando invece il grafico del modulo dinamico (rapporto tra sollecitazione e deformazione) si osserva che questo diminuisce gradualmente all'aumentare della temperatura fino a quando non arriva alla temperatura di transizione vetrosa dove invece diminuisce drasticamente. Questo valore varia tra 3,8 e $1,6\text{ MPa}$ a 37°C per i PCU (2MPa per *Chronoflex*).

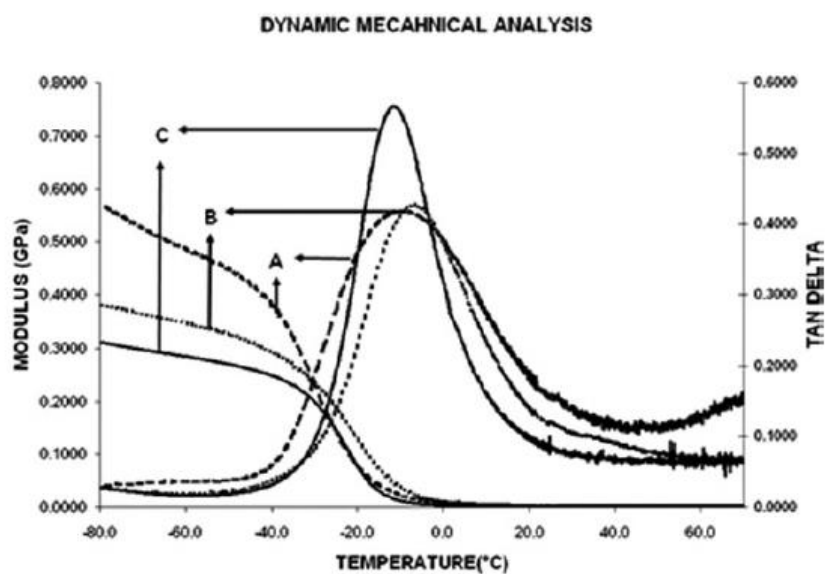


Figura 4 - Profili di analisi meccanica dinamica di vari policarbonati uretani. A: ECT, B: EBN, C: ECF (2)

La *Figura 5* ci mostra invece un'altra caratteristica molto importante per l'utilizzo biomedico di questi materiali. Infatti questo grafico mostra che ad una velocità di riscaldamento di $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ e per temperature minori di 280°C non vi è alcuna perdita di peso da parte del polimero. Questo significa che *Chronoflex*, così come gli altri PCU, è altamente stabile e, a causa dell'assenza quasi totale di degradazione strutturale o chimica a temperatura di 37°C , è adeguato all'utilizzo in applicazioni biomedicali.

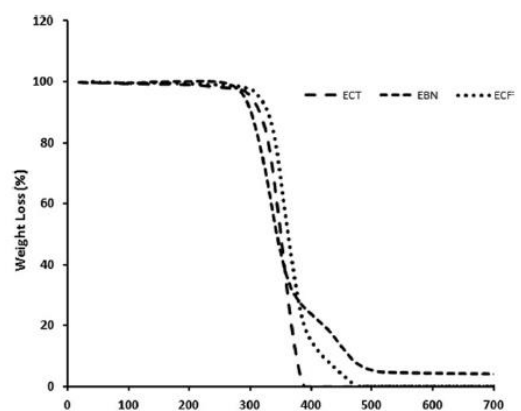


Figura 5 – Termogramma di alcuni policarbonati uretani (2)

Anche la porosità risulta essere parecchio importante per le proprietà di questo materiale. Infatti un'alta percentuale di pori aumenta l'adesione, non solo cellulare, al polimero ma anche l'adesione di ossigeno e nutrienti. La *Figura 6* mostra che *Chronoflex* può arrivare fino ad una porosità pari al 68% del proprio volume.

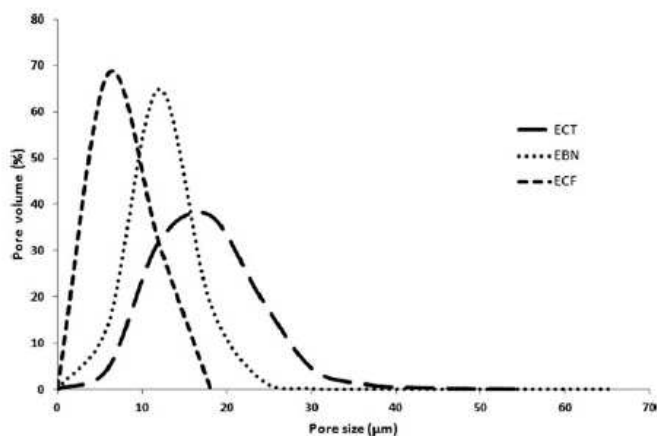


Figura 6 – Distribuzione della dimensione dei pori di alcuni policarbonati uretani (2)

2.2 Confronto con Hydrothane

Esistono moltissimi PU utilizzati in ambito biomedico ognuno con i propri vantaggi e svantaggi. *Chronoflex* è uno di questi ma vengono utilizzati anche PU quali: *Hydrothane*, *Bionate (EBN)*, *Carbothane (ECT)*, ecc.

Hydrothane ad esempio è un poliuretano termoplastico elastomerico idrofilico e nonostante la sua consistenza gommosa è un polimero con buone proprietà meccaniche grazie soprattutto all'assenza di gruppi aromatici che ne aumenta l'inerzia biologica.

Così come il *Chronoflex* e tutti i poliuretani, possiede delle proprietà meccaniche adatte alla produzione di dispositivi biomedici, ma in tutti i casi il loro utilizzo può essere limitato nel caso in cui la superficie presenti carattere idrofobico.

Questo significa che l'idrofilia complessiva dell'idrotano in ambiente fisiologico è influenzato dalla presenza di possibili domini idrofobici esposti nella superficie.

Bisogna ricordare però che, in generale, la presenza di un gruppo idrofobico è una discriminante per la determinazione della biocompatibilità di un materiale.

La presenza delle unità di glicole rende *Hydrothane* più idrofilico rispetto a *Chronoflex* che invece risulta essere molto idrofobico.

Analizzando le proprietà meccaniche di *Chronoflex* si nota che la presenza di *hard segments* idrofobici lo rendono molto rigido, con rigidità maggiore rispetto a *Hydrothane*.

Per analizzare i vantaggi nell'utilizzo di *Chronoflex* rispetto a *Hydrothane* è stato svolto uno studio su questi due materiali analizzando 4 diversi aspetti: l'assorbimento di proteine da parte del materiale, la natura del loro legame, l'adesione cellulare e infine l'adesione dei batteri (3).

Il risultato ottenuto è stato che *Chronoflex* è un PU molto adatto all'adesione e crescita di cellule, a differenza invece di *Hydrothane* in cui le cellule andranno incontro a morte programmata a causa della mancanza di siti adatti all'adesione. Infatti quando trattati in modo simile l'adesione cellulare di *Chronoflex* è molto maggiore rispetto a quella in *Hydrothane* che di conseguenza presenta uno scarso potenziale di integrazione con i tessuti circostanti.

Lo studio ha mostrato quindi chiaramente che *Hydrothane* sviluppa interazioni diverse rispetto a *Chronoflex* quando esposto a componenti biochimici e a cellule.

Capitolo 3: BIOCOMPATIBILITA' E BIOSTABILITA'

3.1 Biocompatibilità di poliuretani e Chronoflex

Caratteristica fondamentale per tutti i biomateriali, cioè materiali capaci di integrarsi positivamente con sistemi biologici, è la *Biocompatibilità*. Questo significa che il materiale non deve evocare reazioni avverse nel sistema vivente in cui viene introdotto. La biocompatibilità è un concetto vasto e complesso perché riguarda una serie di eventi o interazioni che accadono nel tessuto biologico ed è quindi molto difficile da interpretare.

Altro concetto importante, in generale per quasi tutti i biomateriali, è rappresentato dalla *Biostabilità*, cioè la capacità di un materiale di non subire significative trasformazioni fisiche e/o chimiche una volta posto a contatto con l'ambiente biologico.

Quando infatti vengono scelti i materiali da utilizzare per la costruzione di impianti protesici è fondamentale che questi non subiscano trasformazioni meccaniche, chimiche e strutturali.

Prima di scegliere un materiale per applicazioni biologiche vengono svolti studi di biocompatibilità *in vitro* ed *in vivo* concentrandosi sulle risposte enzimatiche e cellulari/tissutali al materiale e sul mantenimento delle funzioni degli organi o tessuti.

Per quanto riguarda i poliuretani solitamente i test *in vitro* includono: test di citotossicità (cioè lo studio degli effetti sulla morfologia, vitalità e funzione delle cellule), saggi di contatto diretto con fibroblasti o cellule endoteliali ma anche con neutrofili, linfociti o monociti in base al sito di applicazione previsto, e gli importanti test di emocompatibilità.

Negli studi *in vivo* invece sono state valutate le risposte biologiche a poliuretani per via sottocutanea, intramuscolare o intraperitoneale (Tabella 3).

Test Methods Used To Evaluate Biological Response

FDA tests	In Vitro Testings			In Vivo Testings	
	Cell culture		Blood response	Others	Tissue compatibility Implantation
Implantation	Type of cells	Tests	Coagulation tests	Bacterial adhesion	Subcutaneous Subcutis
Hemolysis	Fibroblasts	Replication	Complement	Protein adsorption	Intramuscular Blood
Acute systemic toxicity	Monocyte	Proliferation	Platelet adhesion and activation	Calcification	Intraperitoneal Bone
Pyrogenicity	Macrophage	Adhesion	Fibrin(ogen) adhesion and activation	Mineralization	Cornea
Mutagenicity	Endothelium	Density	Erythrocytes		Reproduction
	Osteoblast	Morphology	SEM observations		Heart
	Urethelial cells	Phenotype			Arteries
	Gingival cells	Receptor expression			• Wound healing • Graft healing • Inflammation • Exudate • Enzymes • Cell receptor expression • Cell secretion molecules • mRNA expression • Blood tests • In situ hybridization
	Epithelial cells	Secretion molecules			
	Reproductive cells	mRNA expression			

Tabella 3 - Test utilizzati per valutare le risposte biologiche (1)

Su *ChronoFlex* è stato svolto uno studio proprio per valutare quali possano essere i fattori che influenzano la biocompatibilità del materiale in ambiente biologico. (4)

Bisogna ricordare intanto che negli ultimi anni i tradizionali poli(eteri)uretani sono stati sostituiti in campo biomedico quasi totalmente dai poli(carbonati)uretani a causa della loro maggiore resistenza alla biodegradazione ossidativa.

Per questo motivo questo studio è stato svolto su una serie di policarbonati uretani.

I vari PCU sono stati testati in vitro per studiarne l'assorbimento proteico, le reazioni piastriniche e l'affinità cellulare.

Per questo studio sono state utilizzate due proteine: l'albumina da siero bovino in soluzione salina tamponata con fosfato e fibrinogeno plasmatico bovino.

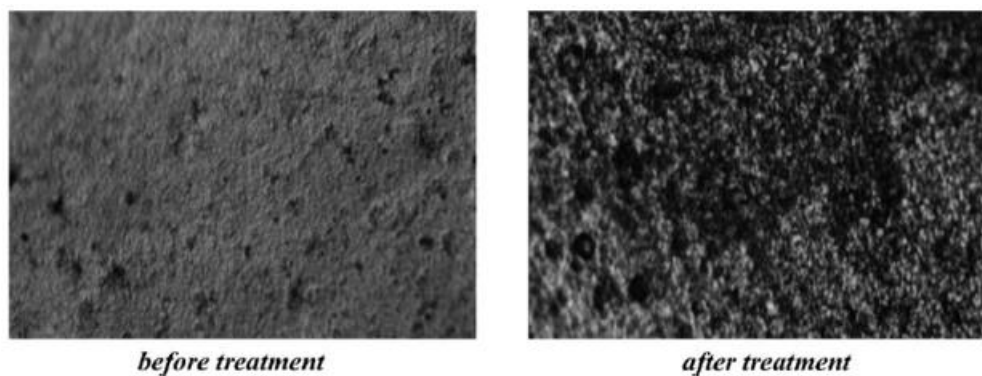


Figura 7 - Immagine al microscopio ottico della superficie di Chronoflex prima e dopo 2 settimane dal trattamento ossidativo accelerato in vitro (4)

Uno dei risultati ottenuti è stato che la separazione tra *hard segments* e *soft segments* tipica dei poliuretani influenza la biocompatibilità. Infatti i PU (ad esempio come *ChronoFlex*) che possiedono un'adeguata separazione di fase, hanno ottenuto un maggiore assorbimento proteico a causa della somiglianza con i domini delle proteine. Oltre alla struttura del dominio anche altri fattori come la chimica della superficie, l'idrofilicità e la rugosità possono influenzare l'assorbimento proteico e la crescita cellulare e quindi la biocompatibilità del materiale.

In conclusione *ChronoFlex* così come la maggior parte dei poliuretani possiedono proprietà importanti che li rendono perfetti per l'utilizzo nel settore biomedico grazie alla loro biocompatibilità e biostabilità.

3.2 L'importanza dell'emocompatibilità

Per emocompatibilità si intende la proprietà di un materiale di non procurare a contatto con il sangue fenomeni di rigetto.

La maggior parte dei dispositivi biomedicali devono essere dotati di questa proprietà, quindi devono poter essere utilizzati senza rilasciare sostanze, senza subire modifiche o dare luogo a fenomeni dannosi per l'organismo in cui vengono utilizzati restando a contatto con il sangue anche per tempi molto lunghi.

Quando un materiale con poca o nessuna emocompatibilità entra in contatto con il sangue, questo può andare incontro a diversi problemi, tra cui la coagulazione con formazioni di trombi ed emboli o ad esempio l'emolisi cioè la rottura dei globuli rossi.

Con gli studi di Boretos alla fine degli anni '60 e di Lyman all'inizio degli anni '70 si riuscì a comprendere che la compatibilità con il sangue era legata alla percentuale di *hard segments* e *soft segments* nei campioni di poliuretani. (1)

Successivamente alcuni studi riscontrarono che i segmenti duri dei PU erano altamente trombogenici a causa dell'elevata cristallinità dei polimeri e dei forti legami ad idrogeno presenti nella superficie.

Per risolvere questo problema sono state adottate delle modifiche superficiali attraverso processi di coating o impregnazione, reazioni di immobilizzazione fotochimica e varie tecniche di innesto che prevedono modifiche della superficie, ossidazione, ionizzazione o polimerizzazione.

ChronoFlex è dotato di un'ottima emocompatibilità con una bassa trombogenicità, cosa che ne garantisce un ampio utilizzo in ambito cardiovascolare.

Capitolo 4: SUPERFICIE CARATTERISTICA

4.1 Superficie caratteristica dei poliuretani

Come già visto i poliuretani, con la loro struttura data dall'alternarsi di *hard segents* polari e *soft segments* non polari, risultano essere un materiale eterogeneo. Esistono però, nella struttura, delle zone in cui si raggiunge l'equilibrio chimico e morfologico dette *interfase*.

Quando la superficie del materiale è posta in un ambiente idrofobico, come ad esempio l'aria, i segmenti non polari della superficie del poliuretano segregano tra di loro nell'interfase.

Qui la segregazione delle due componenti richiede energia e si crea una differenza di energia superficiale.

L'energia utilizzata, lo scambio di potenziale chimico e la conseguente riduzione della tensione superficiale determinano la composizione della superficie caratteristica del poliuretano.

Questa struttura è variabile lungo la superficie del PU ed è difficile da determinare in ogni sua piccola parte a causa della continua segregazione delle componenti e dalla presenza di impurità.

La composizione superficiale è influenzata dalla forte mobilità dei *soft segments* non polari. Infatti la superficie dei poliuretani tende a cambiare il rapporto tra *hard* e *soft segments* per ridurre al minimo la differenza tra energia superficiale e l'esterno.

Per questo motivo quando i poliuretani sono esposti ad un ambiente polare, come ad esempio sangue o acqua, la superficie presenterà una percentuale di *hard segments* maggiore, viceversa se esposto ad un ambiente non polare (ad esempio aria) la percentuale di *soft segments* aumenterà.

La superficie caratteristica dei poliuretani è fondamentale per la determinazione delle proprietà meccaniche del materiale e quindi per la sua scelta in applicazioni biomediche, per questo motivo è importante studiare i fattori che ne influenzano la composizione.

Alcuni di questi sono: il grado di reticolazione, il peso molecolare medio dei *soft segments* e come già detto la composizione ed il rapporto tra *soft segments* e *hard segments*.

4.2 Modifica della superficie

La superficie caratteristica dei poliuretani può essere sottoposta a modifiche per migliorarne le proprietà e massimizzarne la prestazione nelle applicazioni in cui i PU verranno utilizzati senza però influenzare le proprietà di massa. Bisogna infatti ricordare che la risposta biologica del materiale è fortemente influenzata dalla sua morfologia e dalla sua struttura chimica, quindi è ovvio pensare che le modifiche della superficie acquisiscano un ruolo fondamentale nel rendere il materiale sempre più adatto e performante in applicazioni biologiche.

Le tecniche di modifica adottate sono volte soprattutto a modificare proprietà quali l'idrofilia, manipolando i gruppi chimici che solitamente portano all'innesco delle reazioni nei sistemi biologici, la distribuzione delle fasi idrofobiche/idrofiliche e/o delle fasi cristalline/amorfe.

La superficie viene modificata tramite metodi chimici o fisici come ad esempio: l'innesto di monomeri tramite radiazione, immobilizzazione di molecole biologiche, silanizzazione (introduzione del gruppo $-SiR_3$, con R che rappresenta un generico sostituito idrocarburico), ecc.

Proprio utilizzando alcune di queste tecniche è stato svolto uno studio sul poliuretano *Elastollan 1180A50* per analizzare l'influenza sulle proprietà del materiale dopo la modifica superficiale. (5)

Questo poliuretano termoplastico è stato modificato in questo caso con tre tecniche diverse: irradiazione ultravioletta (UV), irradiazione gamma (GI) e modificazione interfacciale (IM), utilizzando polietilenglicole (PEG), idrossietilmetacrilato (HEMA), esametildiammina (HMD) o chitosano (CT) (*Figura 8*).

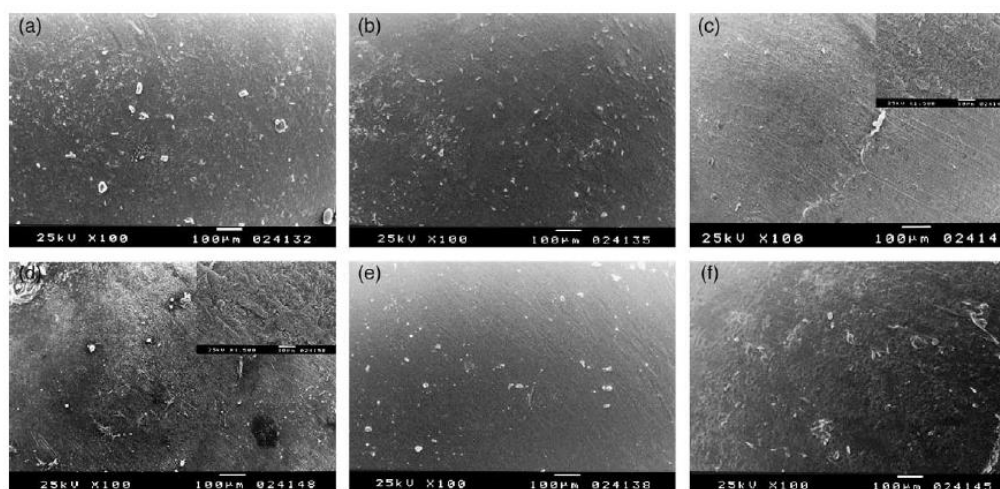


Figura 8 - Immagini con microscopio elettronico di Elastollan 1180A50 (a) non modificato, (b) IM con PEG 6000, (c) IM con HMD, (d) IM con CT, (e) HEMA con UV, e (f) HEMA con GI.

La modificazione interfacciale (IM) con polietilenglicole (PEG) (*Figura 8, b*) è un metodo di funzionalizzazione superficiale che consiste nell'introduzione tramite impregnazione o innesto chimico di un gruppo funzionale, in questo caso di PEG.

Attualmente per quanto riguarda *Elastollan*, ma anche per tutti i PU, il metodo di modifica superficiale più utilizzato è l'innesto superficiale indotto da irradiazione ultravioletta.

Questa tecnica presenta importanti vantaggi quali la velocità di reazione, il basso costo di lavorazione, l'utilizzo di attrezzature semplice e soprattutto la capacità di innestare le catene solamente nella superficie.

La *Figura 9* mostra la schematizzazione di questa tecnica in cui è necessaria la presenza di un fotoiniziatore che, in presenza di monomeri, avvia la fotopolimerizzazione dell'innesto. Tra i fotoiniziatori più utilizzati è da citare il benzofenone e i suoi derivati che determina il tempo di reazione di polimerizzazione e la lunghezza d'onda necessaria affinché la reazione avvenga.

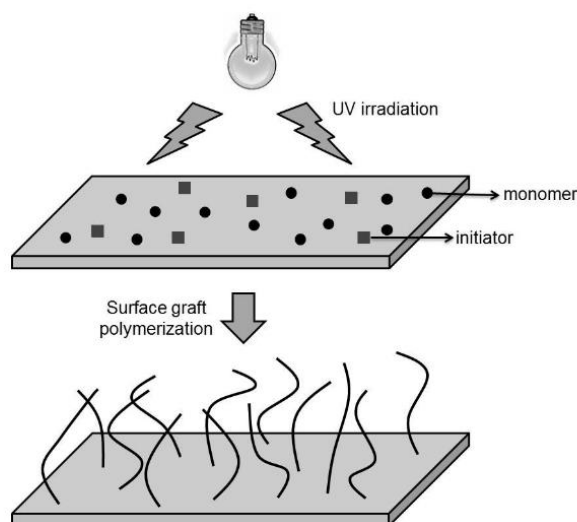


Figura 9 - Schema generico di modifica superficiale con innesto tramite irradiazione UV (6)

Nel caso di *Elastollan* la modifica tramite irradiazione UV è stata effettuata utilizzando HEMA (*Figura 8, e*), e l'analisi tramite SEM ha mostrato che la modifica ha prodotto una superficie uniforme e più liscia rispetto alle altre analizzate.

Tutte le modifiche adottate in questo studio hanno portato comunque ad un aumento dell'idrofilità e della stabilità termica del materiale mantenendo comunque inalterata la temperatura di transizione vetrosa.

	Yield (%)
Interfacial modification with PEG 6000	9.17 ± 0.092
UV Curing with HEMA	7.38 ± 0.137
Interfacial modification with HMD	12.23 ± 0.165
Gamma irradiation with HEMA	13.45 ± 0.124
Interfacial modification with chitosan	8.88 ± 0.130

Tabella 4 – Resa dell’innesto dei vari campioni (5)

Confrontando le diverse tecniche di modifica superficiale del PU *Elastollan 1180A50*, quelle ottenute tramite irradiazione gamma (GI) o UV risultano essere le più efficienti. Grazie all’innesto di monomeri di HEMA attraverso GI, la resa (in termini di aumento percentuale di peso) e l’idrofilia come anche la stabilità termica sono state migliorate.

Elastollan è un poliuretano termoplastico che è stato utilizzato per la realizzazione di alcune valvole cardiache protesiche. Oltre alle modifiche appena citate è stata utilizzato anche l’innesto mediante trattamenti al plasma.

Questa tecnica è in grado di modificare l’energia superficiale dei polimeri e di conseguenza di modificare la loro permeabilità e polarità.

L’irradiazione al plasma porta alla formazione di radicali liberi che vengono utilizzati per fissare monomeri specifici in modo da personalizzare la superficie in base all’applicazione in cui verrà utilizzato il materiale (*Figura 10*).

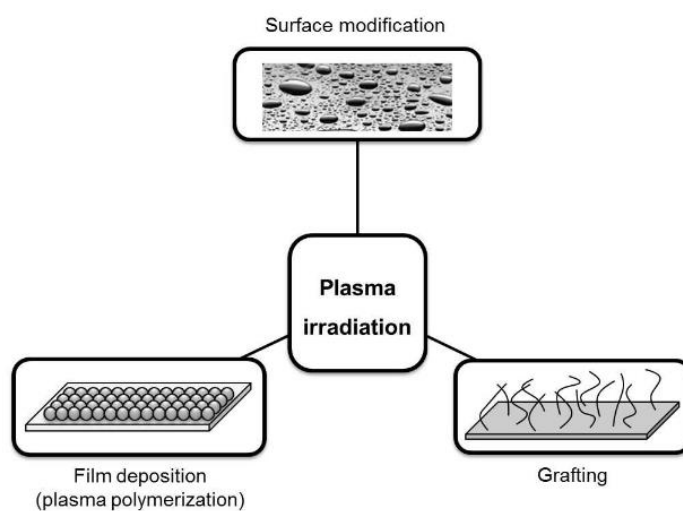


Figura 10 - Possibili effetti dell’irradiazione al plasma su una superficie polimerica (6)

Pellethan e *Biomer* sono due elastomeri polietere-poliuretanicici in cui è stata testata una diversa modifica superficiale che consiste nel loro rivestimento con un idrogel di eparina-poli(alcol vinilico). Questa modifica è stata preceduta da una particolare pulizia tramite scarica a bagliore e un trattamento acido e ha portato ad un aumento della permeabilità all’acqua. (7).

Anche sul poliuretano *Chronoflex* sono stati svolti degli studi per analizzare l'effetto che una modifica superficiale induce su protesi cardiovascolari in cui viene utilizzato. In questo caso l'innesto è rivestito da Dipridamolo immobilizzato (principio attivo utilizzato come terapia aggiuntiva nella profilassi della tromboembolia). Ciò che si è osservato è che questo rivestimento è un potente inibitore per l'attivazione e l'aggregazione di piastrine, ed inoltre inibisce la proliferazione delle cellule muscolari vascolari lisce (*Paragrafo 5.3*).

In conclusione una procedura di modifica della superficie viene eseguita correttamente se le proprietà dell'interfaccia vengono modificate senza che però ci sia alcuna influenza nelle proprietà meccaniche e nelle funzionalità del materiale.

Capitolo 5: APPLICAZIONI BIOMEDICALI

5.1 Introduzione alle applicazioni biomediche dei poliuretani

I poliuretani sono dei polimeri ampiamente utilizzati come biomateriale grazie, come già visto, alle ottime proprietà meccaniche e alla loro biocompatibilità.

La resa di questi polimeri è molto buona anche se va tenuta in considerazione la problematica della biodegradazione, tipica però di moltissimi biomateriali (*Capitolo 6*). Gli ambiti di applicazione dei PU sono moltissimi, dalla cardiocirurgia (palloni intra-aortici, dispositivi di assistenza ventricolare, cateteri, sacche per sangue, ecc.) alla chirurgia estetica (protesi mammarie) fino alla chirurgia ricostruttiva e a dispositivi di contraccezione.

I PU iniziarono ad essere utilizzati per scopi industriali a partire dagli anni '30 ma i primi impieghi in ambito biomedico risalgono all'inizio degli anni '60.

Inizialmente si utilizzarono poliesteri-uretani ma a causa di problematiche legate all'idrolisi del polimero si passò molto presto ai più stabili polieteri-uretani.

Per quanto riguarda la chirurgia ricostruttiva, i poliuretani sono spesso utilizzati nelle medicazioni di ferite grazie alle loro ottime proprietà di barriera e alla loro permeabilità all'ossigeno. Per questo scopo il polimero viene utilizzato come schiuma oppure sottoforma di pellicole adesive semipermeabili o perforate.

Il PU spesso rappresenta solo una parte della medicazione (ad esempio negli idrocolloidi), ma può essere anche l'unico componente del dispositivo biomedicale, inoltre solitamente queste medicazioni possono fungere da *carrier* di principi attivi, farmaci o agenti antibatterici.

Verso la fine degli anni '50 vennero progettate le prime protesi mammarie realizzate con una schiuma solida di poliuretano. Queste però non entrarono mai in commercio poiché presentavano problemi di calcificazione che le rendevano molto dure. Nel 1970 venne introdotta una protesi mammaria realizzata in gel di silicone ricoperta di un sottile strato di PU per fissarla alla parete toracica. Anche questa tipologia di protesi venne però ben presto abbandonata a causa di alcune complicazioni chimiche e fisiche. Il rivestimento in poliuretano infatti produceva attrito contro il tessuto mammario della paziente ed inoltre l'impianto era difficile da rimuovere a causa della crescita di tessuto biologico all'interno del poliuretano. Per questi motivi in Italia le protesi con rivestimento in poliuretano non vengono quasi più utilizzate.

I poliuretani inoltre sono stati utilizzati nei dispositivi di contraccezione, ad esempio nei preservativi, sia maschili che femminili. Nel 1994 negli Stati Uniti sono stati introdotti nel mercato dalla casa produttrice Durex i primi preservativi in polietere-uretano aromatico. Il prodotto, oltre a risultare più resistente del lattice, presenta importanti proprietà anallergiche

5.2 Applicazioni cardiovascolari dei poliuretani

Il principale campo di utilizzo dei poliuretani è quello cardiovascolare grazie alle sue buone proprietà meccaniche e alla sua ottima emocompatibilità che li rendono migliori di qualsiasi altro polimero utilizzato in passato. Inoltre la possibilità di poter modificare la superficie per aggiungere ligandi o anticoagulanti aumenta gli ambiti di applicazione di questi polimeri.

La scelta degli opportuni reagenti nella sintesi dei PU li può rendere flessibili, rigidi o semirigidi a seconda del loro utilizzo futuro (*Capitolo 1*).

Purtroppo però questi materiali possono andare incontro a degradazione (a causa dell'ossidazione e/o dell'idrolisi) quando si utilizza per dispositivi a lunga durata.

Bisogna ricordare che le malattie cardiovascolari sono tra i principali fattori di mortalità a livello mondiale.

In Italia queste malattie sono la principale causa di morte, rappresentando il 44% di tutti i decessi; in particolare la cardiopatia ischemica è al primo posto e riguarda il 28% delle morti. (8)

Per questo motivo risulta ovvia l'importanza della ricerca sui materiali da utilizzare per la produzione di protesi vascolari e di valvole cardiache che negli anni possano migliorare questi dati.

In generale i dispositivi cardiovascolari sono impiegati nel sistema cardiaco o nei vasi sanguigni e, dovendo restare a contatto con la corrente sanguigna risulta fondamentale l'emocompatibilità dei materiali scelti per evitare fenomeni coagulativi.

Questi dispositivi possono essere classificati in base alle tempistiche di utilizzo all'interno dell'organismo e si dividono in:

- Dispositivi transitori: utilizzati in situazioni di emergenza per periodi che vanno da giorni a qualche settimana e vengono rimossi quando il cuore riprende il suo normale funzionamento. Fanno parte di questo gruppo dispositivi quali:

palloncino intra-aortico, dispositivo di assistenza ventricolare sinistro temporaneo (LVAD) e dispositivi di assistenza biventricolari.

- Dispositivi cardiovascolari provvisori: utilizzati per i pazienti in attesa di donatore idoneo al trapianto di cuore (utilizzo per meno di un mese). Tra questi ci sono i dispositivi di assistenza ventricolare e i cuori artificiali totali.
- Dispositivi permanenti: sono ad esempio di ventricoli totalmente impiantabili, cuori artificiali o condotti sanguigni e hanno una durata che varia da un paio a decine di anni.

Quando si parla di innesti, oltre alla modifica della superficie e alle proprietà chimiche e meccaniche del polimero, anche il metodo di produzione assume un ruolo fondamentale per la loro biostabilità.

Tra questi abbiamo: elettrofilatura, elettrospray, sinterizzazione polimerica, inversione di fase, essiccazione sottovuoto, ecc.

Le tecniche più utilizzate al momento sono l'inversione di fase e la sinterizzazione dei granuli polimerici. Il primo metodo si divide in due sotto fasi: l'inversione di fase indotta da evaporazione e successivamente quella indotta dalla temperatura.

Per quanto riguarda invece la sinterizzazione si ha la coesione di granuli ad una temperatura molto alta ma comunque inferiore a quella di fusione.

Una delle tecniche più promettenti per la produzione di innesti vascolari in poliuretano è l'elettrospinning o elettrofilatura che permette di produrre fibre di PU con diametri molto piccoli.

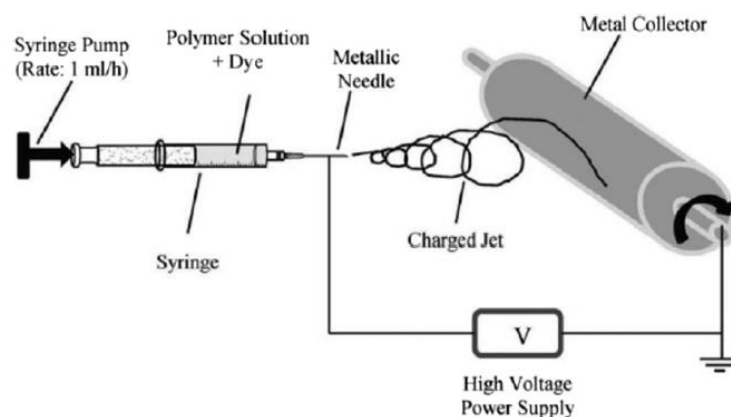


Figura 11 - Schema generale dell'elettrospinning (9)

La soluzione polimerica viene messa in un campo elettrostatico e quando la forza di Coulomb supera la forza di tensione superficiale la fibra si allunga tra gli elettrodi.

Successivamente il solvente evapora e il poliuretano solidifica depositandosi sull'elettrodo del collettore sotto forma di nanofibre.

La potenza di questa tecnica è la possibilità di poter controllare lo spessore, la composizione ma anche la porosità della nanofibra che viene prodotta.

La porosità infatti, è una proprietà molto importante in quanto favorisce l'infiltrazione cellulare e permette la diffusione dei nutrienti e dei metaboliti da e verso le cellule.

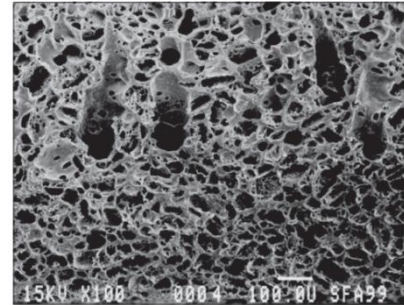


Figura 12 - Protesi Pulse-Tec con alta densità in pori nella superficie (1)

I poliuretani quindi possono essere impiegati in molteplici dispositivi cardiovascolari, come ad esempio ventricoli artificiali, valvole cardiache, cateteri e protesi vascolari di piccole dimensioni, ma anche per membrane, tubi endotracheali, sacche per il sangue e guanti chirurgici.

I più utilizzati in quest'ambito e quindi i più biocompatibili e biostabili sono: i poliuretani elastomerici termoplastici (*Chronoflex*, *Tecoflex* e *Pelletane*) e quelli che possiedono un segmento silossanico (*Elast-Eon*).

5.2.1 Valvole cardiache

Le patologie valvolari riguardano circa il 10-15% dei pazienti di età superiore ai 75 anni, di cui il 43% è affetto da stenosi aortica, il 32% da insufficienza mitralica e il 13% da stenosi mitralica; inoltre in Italia il 2% della popolazione necessita di sostituzione valvolare. (10)

Questi dati sono destinati negli anni ad aumentare a causa dell'età media della popolazione in costante aumento che renderà la sostituzione di valvole cardiache il più comune intervento cardiovascolare.

Esistono due tipologie di valvole: quelle meccaniche e le bioprotesi.

Le prime sono sicuramente molto affidabili e durature ma è necessaria una terapia anticoagulante a vita, che non è richiesta nel caso delle bioprotesi. Quest'ultime però hanno un non trascurabile aspetto negativo, infatti nel 20% dei casi queste valvole devono essere sostituite entro 10 anni a causa della stenosi dovuta a calcificazione.

La calcificazione delle valvole biologiche è indotta dai trattamenti chimici con agenti cross linkanti (i.e. glutaraldeide) necessari per ristabilirne le proprietà meccaniche a seguito dei processi di decellularizzazione.

Ciò a cui si punta oggi è la realizzazione di valvole cardiache costituite da filamenti di polimero, che una volta impiantate nell'organismo vengano popolate dalle cellule del paziente senza indurre una risposta immunitaria avversa e che si integrino perfettamente all'ambiente biologico.

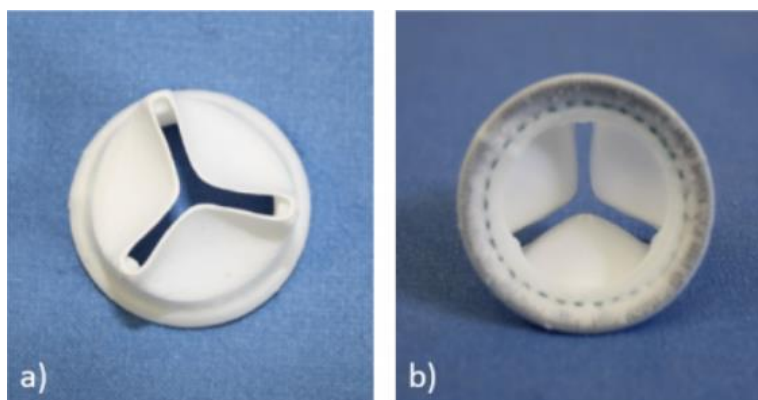


Figura 13 - Valvola aortica (a) vista dal lato aortico, (b) vista dal lato ventricolare (10)

Lo studio sulle valvole cardiache in poliuretano è iniziato intorno al 1958, ma la prima sostituzione con esito positivo è avvenuta nell'aprile del 1960. La valvola in questione era dotata di una valvola a lembo in *Teflon* ma non poteva di certo competere con le prestazioni delle valvole aortiche meccaniche o con le bioprotesi.

Successivamente venne prodotta una valvola '*jellyfish*' il cui vantaggio era il basso costo e la sua struttura molto semplice. Il centro di una membrana circolare in poliuretano era occupato da una piastra, sempre dello stesso materiale, con numerosi fori per ridurre la resistenza al flusso sanguigno e bloccare la membrana durante la diastole.

Le valvole in PU sono state ampiamente utilizzate in quanto economiche ed affidabili per brevi periodi. Difatti la loro principale problematica è la tendenza ad andare incontro a degradazione, e per questo non sono adatte all'utilizzo in dispositivi permanenti.

Per evitare questo problema sono state prodotte delle nuove valvole che combinano le proprietà di biostabilità dei poliuretani alla resistenza alla calcificazione dei siliconi.

Queste hanno massima emocompatibilità, bassi costi e minor tempo di produzione.



Figura 14 - Valvola cardiaca in poliuretano e silicone (26)

5.2.2 Protesi cardiovascolari

Le protesi cardiovascolari sono dei dispositivi medici che vengono impiantati per ripristinare l'efficacia di un tratto vascolare che non è più in grado di trasportare correttamente il sangue. I vasi in questione sono solitamente arterie, perché le patologie arteriose sono molto più gravi di quelle venose a causa della loro maggiore pressione sanguigna.

Esempi di applicazioni sono ad esempio il congiungimento, tramite by-pass, di due punti di un'arteria a seguito di una lesione o di una stenosi, oppure l'inserimento di una protesi a seguito di un aneurisma.

Più questi impianti sono di piccolo calibro, più attenzione deve essere riposta sulla scelta del materiale a causa del maggior rischio di trombosi nei vasi in cui il sangue scorre più lentamente. Vengono utilizzati, allo scopo, materiali quali il polietilentereftalato (PET), il politetrafluoroetilene espanso (ePTFE) e vari poliuretani.

Per anni PET e ePTFE sono stati utilizzati per la loro resistenza e durata nel tempo, solo intorno agli anni '50 iniziarono ad essere studiate delle prime protesi in poliuretano.

Quest'ultime ottennero importanti sviluppi grazie alla possibilità di personalizzare la struttura, ma anche la densità e la dimensione dei pori, solamente cambiando la concentrazione dei reagenti di sintesi ed il metodo di produzione.

La porosità è una componente essenziale per le protesi vascolari, infatti, se gli innesti risultano porosi e quindi permeabili, l'incorporazione con il tessuto biologico è migliore.

Tra le protesi cardiovascolari progettate come sostituti di arterie di piccolo diametro e che entrate in commercio vanno menzionate: Corvita®, Thoratec®, Pulse-Tec®, Biomer™, Mitrathane e Vascugraft®.

La protesi Corvita® è realizzata in policarbonatourethane e possiede una struttura fibrosa con numerosi spazi interfibrili comunicanti (*Figura 15*).

La protesi Biomer™, sempre realizzata in poliuretano, possiede invece una struttura a tre strati distinti in cui lo strato esterno è dotato di pori larghi che si rimpiccioliscono sempre di più negli strati più interni. Questa particolare composizione rende la protesi molto resistente ad eventuali strappi.

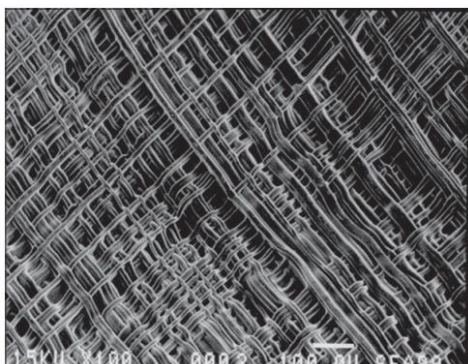


Figura 15 - Superficie della protesi Corvita (1)

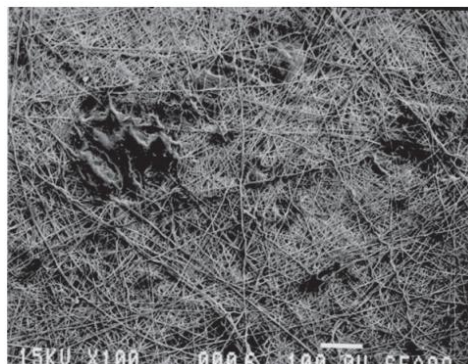


Figura 16 - Superficie protesi Vascugraft (1)

La protesi Vascugraft possiede la tipica struttura porosa e inoltre la presenza di gruppi carbonati, che arricchiscono la superficie di ossigeno, ha reso questa protesi promettente per diventare un sostituto arterioso a lungo termine. Essa è stata considerata per diversi anni tra le più stabili protesi toraco addominali, fino a quando le problematiche riscontrate relative all'idrofilia, al contenuto di umidità e al rigonfiamento delle fibre, fece interrompere la sua produzione (Figura 16).

I vantaggi delle protesi in poliuretano sono molteplici, tra cui la perfetta integrazione tra innesto e tessuto biologico, grazie allo sviluppo di un sottile strato di cellule endoteliali nella superficie interna, e una tromboresistenza maggiore di PET e di ePTFE.

Grazie inoltre, alla fabbricazione degli innesti tramite elettrofilatura si riesce ad ottenere uno spessore di parete uniforme.

Le protesi vascolari in PET o ePTFE invece portano ad una diminuzione della velocità del flusso sanguigno con la formazione di trombi a causa della loro scarsa elasticità che non permette all'arteria di gonfiarsi normalmente.

La principale problematica, così come già visto nelle valvole in poliuretano, è la tendenza alla biodegradazione. Per questo motivo oggi troviamo pochi di questi dispositivi in commercio e gli ambiti di applicazione sono limitati agli accessi atrio-ventricolari e a cerotti vasali.

Per risolvere quest'aspetto negativo della biodegradazione è stato svolto uno studio (11) in cui viene proposto un innesto vascolare in tre strati con eccellenti proprietà di resistenza ed elasticità. Viene realizzato con una fabbricazione in ambiente umido utilizzando un tessuto tubolare in poliuretano come rinforzo.

L'innesto è dotato di una struttura a tre strati: lo strato interno è stato realizzato mediante filatura a umido, quello intermedio consiste in un tessuto tubolare in poliuretano mentre quello più esterno è stato preparato spruzzando poliuretano in soluzione (Figura 17, 18).

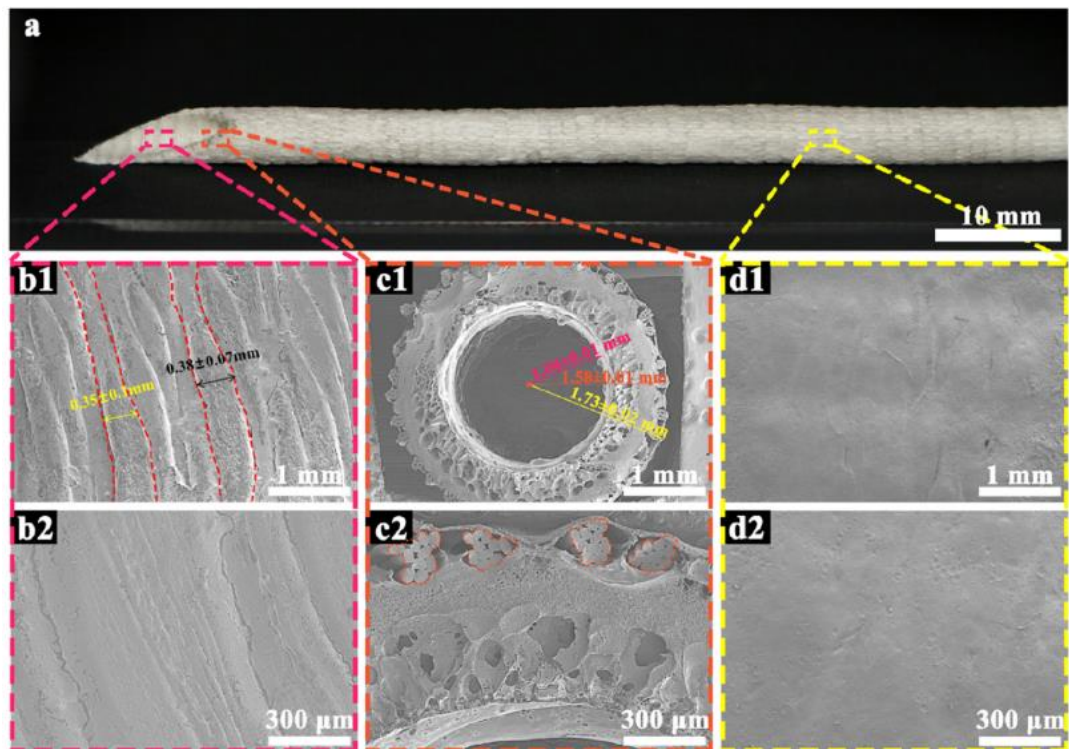


Figura 17 – Immagine al microscopio elettronico dell'innesto a tre strati (a), della superficie interna (b1,b2), della sezione trasversale (c1,c2) e della superficie esterna (d1,d2) (11)

Il risultato è un innesto vascolare con spessore della parete uniforme, elevata resistenza e eccellente conformità, quindi con proprietà migliori rispetto ad innesti realizzati in PET/ePTFE.

Il metodo di filatura ad umido e la disposizione a strati hanno risolto la problematica relativa alla contraddizione tra la rigidezza e la *compliance* dell'innesto cardiovascolare. Per questo motivo, questo metodo di produzione potrebbe essere una base, in futuro, per la produzione di protesi vascolari su larga scala.

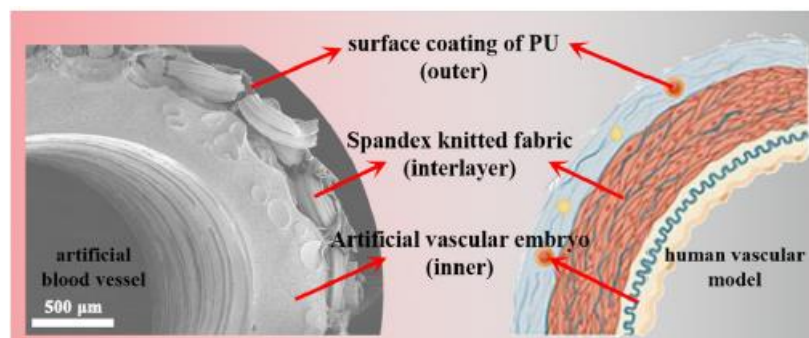


Figura 18 - Confronto tra i tre strati di un vaso naturale e artificiale (11)

5.2.3 Ventricoli per dispositivi di assistenza ventricolare e cuore artificiale totalmente impiantabile

Nel mondo occidentale ogni anno circa 150.000 persone necessitano di un trapianto di cuore, ma solamente 4.000 riescono a riceverlo.

Per sopperire a questa discrepanza tra domanda e offerta, ed aiutare le persone che necessitano di trapianto, la ricerca per la produzione di un cuore totalmente artificiale impiantabile è in continua crescita.

Ciò che risulta difficile è la progettazione di ventricoli che siano elastici e che resistano alle continue flessioni durante il ciclo di pompaggio a cui deve essere sottoposto.

Inoltre il materiale scelto deve essere resistente alla calcificazione, modellabile per assumere una complessa conformazione, impermeabile all'acqua impedendo l'ingresso di umidità ed ovviamente emocompatibile.

Inizialmente vennero utilizzati per la produzione dei ventricoli artificiali i polietere-uretani segmentati, e grazie alla loro facilità di lavorazione furono testati nell'uomo la prima volta nel 1967. Furono utilizzati materiali come *Biomer*, *Pellethane* e *Elasthane* ma a causa della loro tendenza a degradarsi nelle applicazioni a lungo termine, sono stati ben presto sostituiti da polimeri più performanti.

Questi nuovi polimeri sono ad esempio: *Chronoflex*, *Corethen* e *Carbothane*.

La differenza tra queste due tipologie di materiali risiede nel legame utilizzato. I primi contengono il legame etero (C-O-C) che risulta essere meno stabile in ambiente biologico del legame carbonatico coniugato (O-CO-O) tipico dei segmenti molli dei nuovi materiali.

I policarbonati-uretani sono più biostabili ma hanno problemi legati alla biodegradazione e la loro permeabilità.

Per migliorarne le prestazioni, possono essere effettuati dei trattamenti sulle membrane per rendere, in particolare il ventricolo, non permeabile in modo da poterlo utilizzare per un cuore artificiale o per un dispositivo di assistenza ventricolare (VAD).

Chronoflex, *Corethen* e *Carbothane* con l'aggiunta anche di *Tecoflex*, sono stati sottoposti a degli studi *in vitro* per determinarne la loro resistenza a calcificazione. (12)



Figura 19 - Ventricolo in poliuretano di un dispositivo di assistenza ventricolare (1)

I risultati ottenuti hanno dimostrato che tutti i polimeri studiati, dopo un periodo di 60 giorni di incubazione in una soluzione di calcificazione, hanno mostrato un incremento della percentuale di calcio sulla superficie, ma a seconda del policarbonato analizzato questo dato è diverso (*Figura 20*).

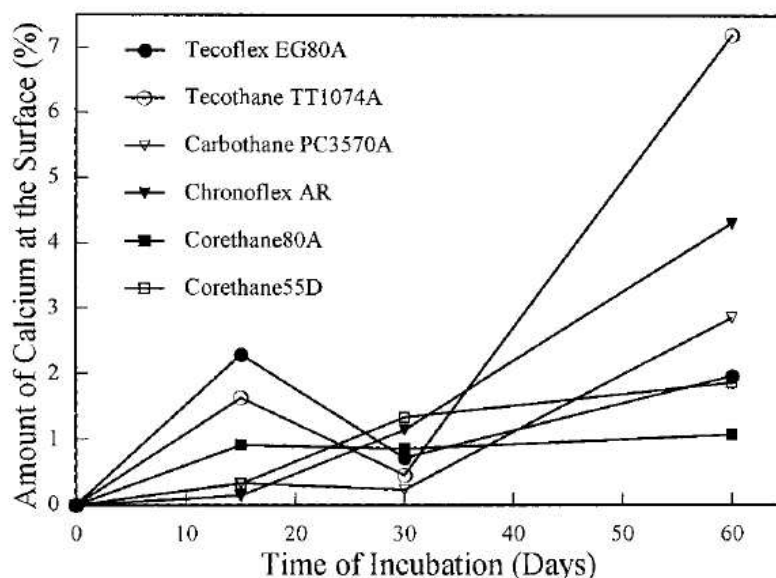


Figura 20 - Percentuale di calcio nella superficie dei diversi polimeri in funzione del tempo (12)

Come riportato in *Figura 20*, *Tecothane TT1074A* ha mostrato il livello più alto di calcio mentre il *Corethane 80A* quello più basso.

Per quanto concerne *Chronoflex*, dopo 60 giorni di incubazione possiede circa il 4% di calcio sulla superficie e questa percentuale è aumentata quasi linearmente con il passare del tempo.

Corethane sembrerebbe quindi essere il poliuretano più adatto alla produzione dei ventricoli artificiali; inoltre il fatto che la calcificazione si concentri soprattutto sulla superficie della membrana e non vada a modificare la struttura microfasica interna è un buon punto di partenza per gli studi futuri.

Lo studio ha inoltre indagato il motivo legato alla differenza di percentuale di calcificazione superficiale dei vari polimeri.

Inizialmente si è pensato che i difetti superficiali creassero dei siti favorevoli alla formazione di depositi di calcio, ma altri studi hanno mostrato che questi depositi si creano anche su superfici lisce. Queste contraddizioni hanno suggerito che la causa potrebbe essere legata più alla chimica superficiale del polimero che alla sua morfologia superficiale.

In conclusione, lo studio ha dimostrato che è effettivamente la composizione dei segmenti morbidi della struttura polimerica a fornire il sito di legame per la formazione di depositi di calcio.

5.3 Utilizzo di Chronoflex in ambito cardiovascolare

Il policarbonato uretano *Chronoflex* grazie alle sue ottime proprietà meccaniche e di biocompatibilità, così come ribadito più in generale per la classe dei polimeri poliuretani, risulta essere adatto all'utilizzo in campo biomedico.

Il principale campo di utilizzo è quello cardiovascolare, dai cateteri ad alcune parti di cuori artificiali totali fino agli innesti ed ai dispositivi di medicazione delle ferite.

Anche in questo caso la degradazione è un problema molto grave nell'utilizzo di questo materiale. Infatti *Chronoflex* è permeabile all'acqua e ad alcuni gas ma per garantire la durata dei dispositivi cardiovascolari è necessario l'impiego di un materiale che presenti una forte resistenza all'umidità. L'ingresso di acqua infatti può causare il deterioramento di alcune componenti causando la perdita di efficienza e diminuendo quindi la durata del dispositivo stesso.

Per migliorare le proprietà di barriera all'acqua e all'ossigeno esistono due tipologie di approccio: la modifica volumetrica (ad esempio della composizione del polimero o della sua densità) oppure il trattamento superficiale (come innesti chimici, deposizione di plasma ecc.).

Un primo esempio è l'utilizzo di *Chronoflex* modificato mediante deposizione a spruzzo di una pellicola di polietilene-covinil alcol (EVOH). In questo caso aumentando lo spessore di questo strato aumenta l'impermeabilità all'ossigeno.

Inoltre uno studio ha mostrato che maggiore è la percentuale di gruppi etilenici nell'EVOH minore è la permeabilità all'acqua. (13)

Nonostante ciò, se si supera uno spessore di soglia il materiale tende a delaminare perdendo così le proprietà di impermeabilità acquisite. Per questo motivo la biocompatibilità di *Chronoflex* e EVOH non è comunque sufficiente per essere utilizzata in protesi permanenti a causa della delaminazione che aumenta a contatto con l'acqua.

Altra tecnica di modifica superficiale è il rivestimento stratificato a pellicola sottile. Come si intuisce già dal nome questa tecnica consiste nella formazione di più strati con la conseguente combinazione delle proprietà di ciascuno. Il risultato è un aumento delle

proprietà di barriera del polimero mantenendo comunque tutte le sue proprietà strutturali.

Un altro approccio utilizzato per migliorare l'emocompatibilità di *Chronoflex* è l'immobilizzazione fotochimica del polimero altamente biocompatibile *poli(N-vinilpirrolidinone)* sulla superficie del materiale. Questo viene spruzzato nella superficie di *Chronoflex* e successivamente immobilizzato tramite luce ultravioletta.

Si è osservato che in un innesto poroso realizzato in questo materiale si ha una minore probabilità di formazione di trombi ed una migliore adesione piastrinica. (14)

Esistono quindi numerose modifiche superficiali per rendere *Chronoflex* sempre più adatto per le applicazioni cardiovascolari. Queste migliorano la biocompatibilità, le proprietà meccaniche e la biostabilità ossidativa.

Queste tecniche di modifica e le già ottime caratteristiche di elasticità e resistenza hanno portato all'utilizzo di *Chronoflex* per la produzione di diversi innesti cardiovascolari. Questi risultano essere altamente performanti per brevi periodi ma con il passare del tempo, restando a contatto con il sangue possono andare in contro a degradazione.

La ricerca sulle strategie di rivestimento del polimero è in costante crescita allo scopo di rendere questi dispositivi permanenti.

Si elencano in seguito due di questi studi.

5.3.1 Effetto dell'immobilizzazione di Antitrombina III sulla superficie di *Chronoflex*

La superficie di *Chronoflex* in questo caso è stata trattata con del plasma e successivamente legata ad un idrogel, polietilenglicole a base di bisdiammina e carbossimetilato destrano (PEG-DEX) oppure polietilenimmina (PEI). (15)

Infine si è effettuata l'immobilizzazione dell'antitrombina III (AT III) sulla superficie. AT III è un inibitore naturale prodotto dal fegato che ha la capacità di bloccare il processo enzimatico che porta alla trasformazione di fibrinogeno in fibrina.

Il contatto del sangue con le superfici polimeriche può provocare la diminuzione dell'attività di questo inibitore con il conseguente aumento del rischio di trombo embolico.

Immobilizzando AT III si è ridotto il rischio di fenomeni trombotici migliorando la resa biologica di *Chronoflex*.

Sia la superficie dove è stato utilizzato l'idrogel PEG-DEX, sia quella con PEI hanno mostrato una riduzione significativa dell'attivazione della coagulazione, solo la seconda però dimostra funzionalità antitrombogenica ed antibatterica.

Quest'ultima funzione è importantissima nel caso di un possibile utilizzo per VAD. Infatti un'alta percentuale di pazienti (circa il 45% (15)) che possiede un VAD è incorso in una colonizzazione batterica del dispositivo medico.

La modifica PEI-AT ha mantenuto inoltre quasi inalterate le proprietà meccaniche e l'elasticità del materiale di partenza abbassando però la temperatura di transizione vetrosa e rendendo il materiale più flessibile.

In conclusione, l'utilizzo di questa modifica superficiale di *Chronoflex* lo rende adatto per la realizzazione di tessuti cardiovascolari utilizzabili per innesti ma in un futuro anche per dei sistemi VAD impiantabili.

5.3.2 Prestazioni di un innesto vascolare in *Chronoflex* rivestito di Dipiridamolo

In questo studio è stata proposta una protesi vascolare con diametro interno di 5mm realizzata in *Chronoflex* poroso (16). La superficie del lume dell'innesto è stata rivestita con dipiridamolo (Persantint) immobilizzato. Questo principio attivo è un inibitore di aggregazione piastrinica che viene utilizzato per prevenire la formazione di trombi ma che favorisce anche la proliferazione cellulare.

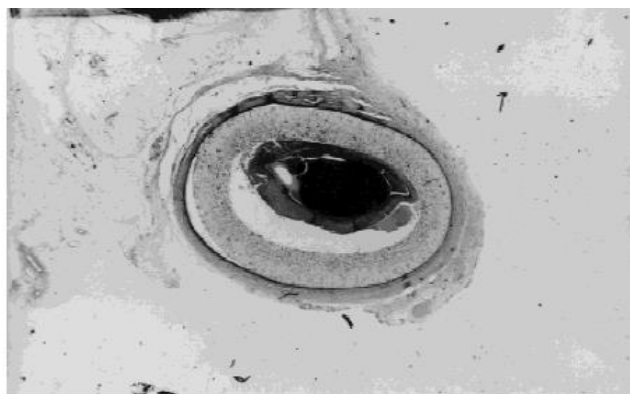


Figura 21 - Micrografia scattata nella parte centrale in un innesto rivestito di Dipiridamolo occluso

L'innesto vascolare è stato studiato *in vitro*, analizzandone l'emocompatibilità e l'interazione con piastrine e con cellule endoteliali, e successivamente si è passati allo studio *in vivo* su due modelli.

Dagli studi *in vitro* è stato riscontrato che l'arteria sintetica prodotta ha una minore trombogenicità, una minore aderenza delle piastrine e presenta una maggiore adesione da parte delle cellule endoteliali. (Figura 22)

Nel primo modello *in vivo*, sono stati impiantati in sei capre, tramite due anastomosi termino-laterali nell'arteria carotidea, 8 innesti rivestiti con dipiridamolo e 4 non rivestiti, tutti con lunghezza 12 cm.

Nel secondo modello *in vivo*, 16 innesti sono stati impiantati in 8 pecore. In ciascun animale, è stato inserito, come interposizione nell'arteria carotidea, un innesto rivestito con dipiridamolo e uno non rivestito, entrambi con lunghezza 4 cm.

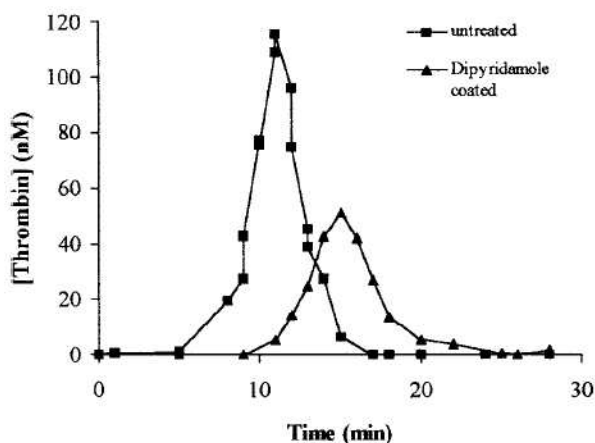


Figura 22 - Grafico della generazione di trombina in funzione del tempo, di una superficie non trattata e una trattata con Dipiridamolo (16)

Il risultato ottenuto dopo lo studio sulle capre ha mostrato delle problematiche negli innesti impiantati rivestiti con dipiridamolo in 3 casi su 8.

Ma ancora più deludenti sono stati i dati dei test sulle pecore. *Chronoflex* in questo caso infatti ha perso la sua stabilità strutturale ed è andato incontro a degradazione. L'unico vantaggio è che, così come nel modello *in vitro*, è migliorato il tasso di adesione di cellule endoteliali (Figura 23).

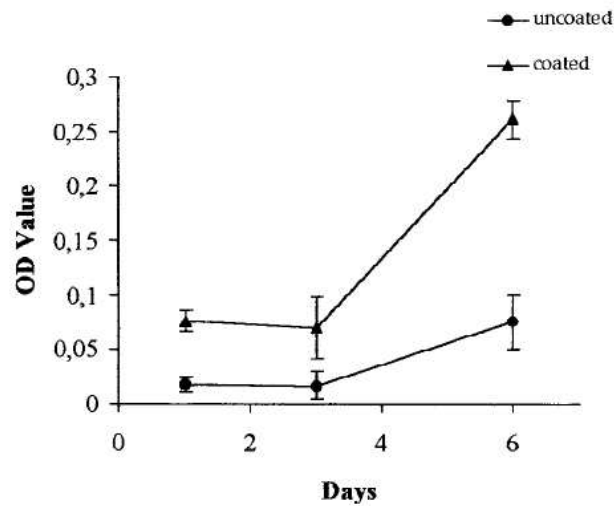


Figura 23 - Proliferazione di cellule endoteliali in ovini in funzione del tempo (16)

Concludendo, la fotoimmobilizzazione del Dipiridamolo su *Chronoflex* è una tecnica chimicamente realizzabile nel caso in cui l'innesto non superi i 12-15 cm ma questo studio ha dimostrato che questa modifica superficiale, a causa della poca stabilità del materiale, non è adatta all'applicazione in protesi vascolari.

Studi futuri indagheranno l'effetto del rivestimento con Dipiridamolo su nuovi biomateriali, più stabili, da utilizzare per la sintesi dell'innesto cardiovascolare.

Capitolo 6: DEGRADAZIONE DEI POLIURETANI

I poliuretani, così come *Chronoflex*, quando utilizzati in ambienti biologici mostrano performance accettabili grazie alla loro biocompatibilità. Nonostante questo spesso vengono applicate delle tecniche di modifica della superficie per migliorarne le proprietà. Ciò che si è osservato è che nonostante i trattamenti superficiali, quando questi polimeri vengono utilizzati nella costruzione di dispositivi biomedicali, mostrano molto spesso un eccessivo assorbimento di proteine e piastrine, con una conseguente degradazione dell'impianto.

Il loro utilizzo in ambito cardiovascolare ha sottolineato le ottime proprietà di questi costrutti appena impiantati, ma anche la loro inefficacia a lungo termine.

Per analizzare la biodegradazione, e quindi i limiti all'impiego dei poliuretani, si utilizzano una gamma di metodi spesso contemporaneamente.

Tra questi ci sono i metodi di caratterizzazione macroscopica come ad esempio test meccanici, di permeabilità, elettrici, di elasticità, ecc., che forniscono in generale informazioni sulle prestazioni meccaniche; oppure i metodi di caratterizzazione microscopica come i metodi di analisi termica e/o ottica, ma anche metodi per la determinazione del numero medio di unità monomeriche, del grado di polimerizzazione o della temperatura di transizione vetrosa.

Analisi di questo tipo sono la calorimetria differenziale a scansione (DSC), ampiamente utilizzata per identificare le fasi cristalline e quelle amorfe, e la cromatografia a permeazione di gel (SEC) per rilevare i cambiamenti nel peso molecolare medio ponderale e numerico.

Importanti sono anche i metodi per la caratterizzazione della struttura e della composizione molecolare, come ad esempio la tecnica spettroscopica ad infrarosso, ma anche i metodi per la caratterizzazione della superficie.

Studiare la superficie infatti è molto importante perché la degradazione spesso inizia dagli stati superficiali e si sposta poi progressivamente verso l'interno.

Inoltre, l'analisi dei prodotti della biodegradazione è interessante per lo studio delle prestazioni del materiale.

I test meno ambigui per l'analisi della biodegradazione sono i test di laboratorio *in vivo* su modello animale, come le pecore. Questi però sono costosi e dispendiosi in termini di tempo.

L'obiettivo comunque è quello di ottenere un'analisi approfondita utilizzando molti dei metodi elencati precedentemente anche in contemporanea.

Analizzando la degradazione che subiscono dispositivi cardiovascolari come le valvole aortiche, è stato dimostrato che quest'ultime vanno incontro principalmente a fenomeni di calcificazione, trombosi e guasti meccanici.

Come visto nel capitolo precedente, la calcificazione consiste nel deposito di sali di calcio all'interno di tessuti e organi formando una struttura simile ad un osso scheletrico. Nelle valvole questo fenomeno si concentra soprattutto nelle regioni più sottoposte a sforzi meccanici e in prossimità dei difetti superficiali. In particolare è stato osservato nell'interfaccia tra la superficie del lembo e microtrombi o in prossimità di cellule degenerate.

Anche nel caso dell'impianto di innesti vascolari di piccolo diametro, dopo un primo periodo di attività, l'assenza di biostabilità porta all'occlusione della maggior parte dei condotti a seguito di trombosi e alla successiva degradazione della superficie esterna.

Le cause della degradazione sono molteplici ma riguardano soprattutto l'interazione tra il dispositivo biomedico e l'organismo. A seguito dell'impianto del dispositivo si attiva il sistema di difesa dell'ospite che provoca l'attacco enzimatico e la digestione cellulare attiva.

Più in particolare sono proprio gli enzimi ossidativi i principali agenti di biodegradazione, ma giocano un importante ruolo anche i batteri e la solubilizzazione dei lipidi da parte di alcuni componenti del polimero.

Con l'impianto di un qualsiasi materiale estraneo all'interno di un organismo vivente, ciò che si sviluppa è una risposta infiammatoria. In generale questa consiste in una prima fase acuta dominata dai leucociti polimorfonucleari (PMN) e successivamente una fase cronica controllata da cellule mononucleari come ad esempio macrofagi e linfociti.

Tra i meccanismi di degradazione sicuramente è presente quella idrolitica con la scissione di legami chimici ad opera dell'acqua o quella ossidativa.

I PU possono anche subire *cracking* da stress ambientale (ESC) con la formazione e propagazione di crepe dovuto alla combinazione tra stress meccanico e l'esposizione ad alcuni fattori chimici.

Altri meccanismi possono essere anche l'ossidazione degli ioni metallici (MIO), la degradazione enzimatica e la calcificazione.

Quest'ultima è proprio la principale causa del fallimento dell'utilizzo dei dispositivi cardiovascolari a lunga durata. Ciò che si accumula molto spesso è una forma scarsamente cristallina di idrossiapatite in corrispondenza dei difetti superficiali. Questo perché i difetti sono siti ad alta energia capaci di avviare l'adsorbimento di ioni, proteine e altre molecole.

La calcificazione inoltre può dipendere da diversi fattori: l'età dell'organismo, il carico a cui è esposto, il sito di adesione, ecc.

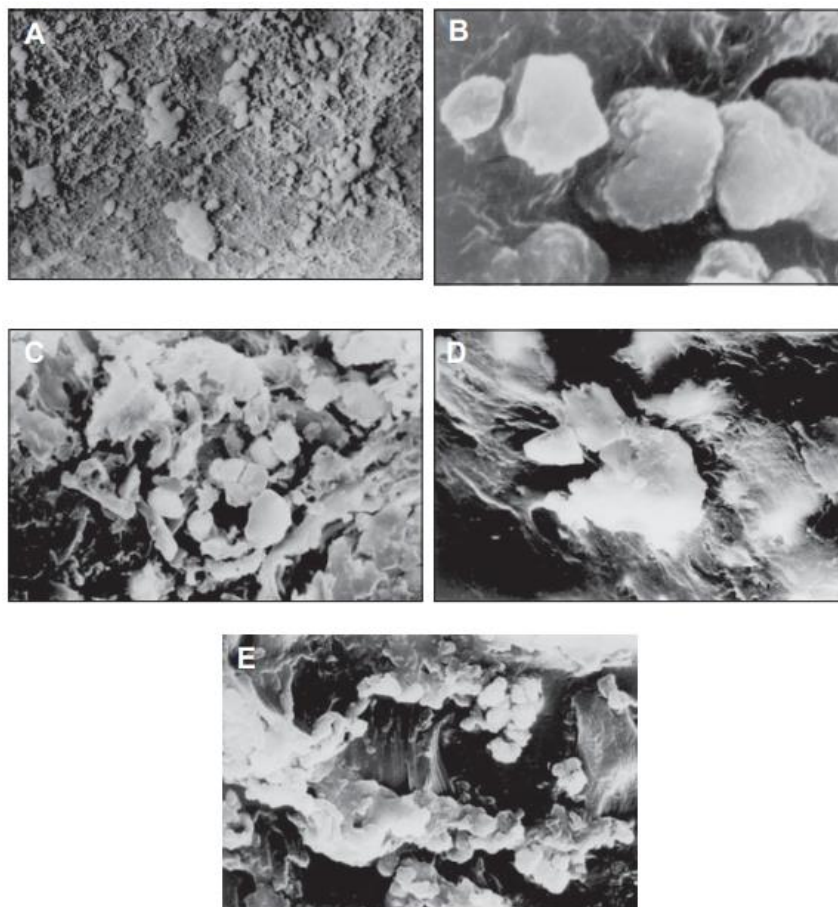


Figura 24 - Analisi SEM della calcificazione del tessuto di una valvola cardiaca bioprotesica in poliuretano dopo 14 giorni in vitro (A-C) ed in vivo (D-E). (A) superficie del tessuto ricoperta da depositi di calcio simili a placche, (B-C) sezioni trasversali del tessuto, (D) superficie e (E) sezione trasversale del tessuto espantato (1).

Capitolo 7: SVILUPPI FUTURI NELL'UTILIZZO DEI POLIURETANI

La ricerca sui biopolimeri è in costante crescita a causa dell'aumento della produzione di dispositivi biomedicali volti a migliorare o sostenere la qualità della vita dei pazienti ma anche per facilitare procedure chirurgiche e diagnostiche.

Lo studio su questi materiali punta a migliorare sempre di più la sanità moderna che nei prossimi anni dovrà sostenere un carico sempre maggiore a causa del continuo aumento dell'aspettativa di vita.

I poliuretani, grazie alle loro ottime proprietà, continueranno sicuramente a svolgere un ruolo importante tra i biomateriali polimerici, ma il loro utilizzo sarà legato alla ricerca di tecniche che possano risolvere la loro problematica principale, ossia la degradazione. L'obiettivo degli studi attuali e futuri è il miglioramento delle prestazioni del materiale per applicazioni a lungo termine.

Nonostante questo, i biomateriali polimerici attualmente disponibili, come i PU, non sono pienamente adatti in tutte le applicazioni, perciò sono in corso ulteriori ricerche per lo sviluppo di nuovi biomateriali polimerici sintetici più performanti di quelli già in uso.

Ad oggi si studia come migliorare gli innesti vascolari in poliuretano per impianti permanenti. La ricerca su questo materiale è in continuo avanzamento, perché la possibilità di poter personalizzare proprietà quali la porosità della parete, la conformità e le caratteristiche meccaniche, rappresenta un grosso vantaggio e non è tipica di tutti i biomateriali.

Anche l'uso di valvole cardiache in PU è ad oggi limitato ai dispositivi VAD e per cuori artificiali che fungono però solamente da ponte in attesa del trapianto. Per l'impianto a lungo termine bisognerebbe trovare rimedio alla loro propensione alla lacerazione e alla calcificazione. Nonostante questo sono adatti per il loro utilizzo a breve termine grazie al basso costo ed alla ottima emocompatibilità.

La ricerca più recente si è concentrata nei nuovi poliuretani, come ad esempio *Chronoflex*, che con opportuni trattamenti superficiali sembra aver mostrato risultati migliori in termini di biocompatibilità, impermeabilità e versatilità.

Purtroppo però, anche questi biomateriali hanno mostrato molto presto problematiche relative alla biodegradazione che devono ancora essere risolte.

Gli ultimi studi riguardano materiali compositi ed ibridi, dati dalla combinazione di polimeri o biopolimeri con metalli, leghe, ceramiche, vetri, ecc.

Questi possiedono proprietà superiori rispetto ai singoli materiali (effetto sinergico) e possono possedere diverse quantità di componenti organici e inorganici.

Le varie fasi sono legate covalentemente e rendono il materiale nanocomposito e ibrido più biocompatibile e biostabile, quindi più adatto all'utilizzo in applicazioni biomediche.

Una classe di nanoparticelle utilizzata come additivo, è costituita dai silsesquiosani oligomerici poliedrici (POSS), considerate le più piccole nanoparticelle di vetro. Sono state sintetizzate per la prima volta nel 1870 e possiedono una struttura a gabbia in cui negli angoli sono presenti gli atomi di silicio con la presenza poi di ponti di ossigeno.

POSS è stato aggiunto alla matrice polimerica di poliuretani migliorandone le proprietà meccaniche e la tendenza alla biodegradazione.

Infatti i nanocompositi POSS-PU hanno una maggiore stabilità termica, resistenza alla trazione, atossicità e compatibilità; inoltre possono essere contemporaneamente elastici e termoplastici. Per questo sono studiati per il loro utilizzo come *scaffold* e prodotti cardiovascolari come *stent*, valvole e membrane, ma anche nel campo del bio-imaging e dei rivestimenti antibatterici.

Un altro campo di ricerca che riguarda i poliuretani è quello dei materiali a memoria di forma. Questi innovativi materiali memorizzano in modo reversibile una forma temporanea ma ritornano alle dimensioni originali con l'applicazione di un meccanismo esterno come ad esempio il calore. I poliuretani a memoria di forma (SMPU) stanno ricevendo una particolare attenzione negli ultimi anni per la loro facile lavorabilità, il basso costo e l'ottima biocompatibilità. Nel campo biomedico è stato proposto il suo utilizzo in applicazioni come *stent*, suture e dispositivi ortodontici.

CONCLUSIONI

I poliuretani rappresentano una classe di polimeri ampiamente utilizzata in campo biomedico, per la medicina ricostruttiva, protesi al seno, dispositivi di contraccezione ma soprattutto in ambito cardiovascolare con innesti, valvole, dispositivi di assistenza ventricolare, ecc.

La possibilità di poter personalizzare proprietà quali la porosità, la conformità e le caratteristiche meccaniche li rende infatti degli ottimi candidati nella realizzazione di importanti applicazioni biomediche.

Il *Chronoflex* appartiene alla classe dei PU, e grazie alle sue ottime proprietà è stato impiegato per lo sviluppo di dispositivi biomedici per applicazione temporanea.

La principale problematica di questi materiali è sicuramente la tendenza a degradarsi se utilizzato per impianti a lungo termine.

Per risolvere questo problema sono state adottate delle tecniche di modifica superficiale, come ad esempio per *Chronoflex*, l'immobilizzazione dell'antitrombina III (*Cap. 5.3.1*) ed il rivestimento di Dapridamolo (*Cap. 5.3.2*).

Nonostante questo la possibilità dell'utilizzo di *Chronoflex* per dispositivi medici permanenti è ancora lontano.

Ad oggi la ricerca è incentrata sullo sviluppo di materiali ibridi (ad esempio poliuretano con l'aggiunta di nanoparticelle di POSS) che possano ottenere risultati più performanti dei singoli materiali di partenza.

La ricerca attuale punta ad individuare nuovi trattamenti superficiali che possano risolvere la problematica della biodegradazione dei PU e di *Chronoflex*, ma allo stesso tempo sono in corso molti studi per lo sviluppo di nuovi biopolimeri sintetici innovativi che possano sostituire quelli già esistenti.

BIBLIOGRAFIA

1. *Biomedical Applications of Polyurethanes*. **P.Vermette, H. J. Griesser, G. Laroche, R. Guidoin**. s.l. : Landes Bioscience, 2001.
2. *Structural characterization, mechanical properties, and in vitro cytocompatibility evaluation of fibrous polycarbonate urethane membranes for biomedical applications*. **G. N. Arjun, P. Ramesh**. s.l. : Society For Biomaterials, 2012.
3. *Hydrothane® interactions with biological components: a comparison with Chronoflex®*. **M. Santin, M.A.Wassall, L. Ambrosio, L. Nicolais, O. Petillo, G. Peluso, S.P. Denyer**. s.l. : Journal of Applied Biomaterials & Biomechanics, 2003.
4. *Biocompatibility and biostability of a series of poly(carbonate) urethanes*. **S. Hsu, Z Lin**. s.l. : Elsevier, 2004.
5. *Surface modification and characterization of thermoplastic polyurethane*. **P.Alves, J.F.J.Coelho, J. Haack, A. Rota, A. Bruinink, G.H.Gil**. s.l. : European Polymer Journal, 2009.
6. *Polyurethane, properties, structure and applications*. **L.I.Cavaco, J.A.Melo**. s.l. : Nova, 2012.
7. *Coating of two polyeter-polyurethanes and polyethylene with a heparin-poly-(vinyl alcohol) hydrogel*. **R.A.Evangelista, M.V.Sefton**.
8. <https://www.epicentro.iss.it/cardiovascolare/>. [Online]
9. *Polyurethanes in cardiovascular prosthetis*. **A.Gostev, A. Karpenko, P. Laktionov**. s.l. : CrossMark, 2018.
10. <https://almanacco.cnr.it/articolo/1164/la-valvola-cardiaca-di-nuova-concezione>. [Online]
11. *Small-diameter polyurethane vascular graft with high strength and excellent compliance*. **B.Zhang, Y.Xu, S.Ma, L.Wang, C.Liu, W.Xu, J.Shi, W.qiao, H.Yang**. 2021.
12. *Assessing the Resistance to calcification of polyurethane membranes used in the manufacture of ventricles for totally implantable artificial heart*. **M.Yang, Z.Zhang, C.Hahn, M.W.King, R. Guidoin**. 1999.
13. *Enhanced water and oxygen barrier performance of flexible polyurethane membranes for biomedical application*. **A.Marcano, K.Fatyeyeva, M.Koun, P.Dubuis, M.Grimme, C.Chappey, S.Marais**. 2021.

14. *Photoimmobilisation of poly(N-vinylpyrrolidinone) as a means to improve haemocompatibility of polyurethane biomaterials.* **G.Wetzels, L.Koole.** 1999.
15. *Effect of Immobilized Antithrombin III on the Thromboresistance of Polycarbonate Urethane.* **K.Lukas, K.Stadtherr, A.Gessner, D.Weohner, T.Schmid, H.P.Wendel, C.Schmid and K.Lehle.** 2017.
16. *Performance of a polyurethane vascular prosthesis carrying a dipyridamole (Persantin) coating on its luminal surface.* **Y.B.J.Aldenhoff, F. Van der Veen, J. ter Woort, J.Habets, L.A.Poole-Warren, L.H.Koole.** 2000.
17. *BIOMATERIALI: dalla scienza dei materiali alle applicazioni cliniche.* **C. Bello, A. Bagno. Bologna.** Patron Editore, 2016.
18. *Polyurethane/clay nanocomposites foams: processing, structure and properties.* **Xia Cao, L. J. Lee, T. Widya, C. Macosko.** 2004, Polymer.
19. *Organic Chemistry.* s.l. **N.Sorrel, Thomas.:** Univerity Science Books Sausalito, California, 2005.
20. *Analysis and evaluation of a biomedical polycarbonate urethane tested in an in vitro study and an ovine arthroplasty model. Part I: materials selection and evaluation.* **I. Khan, N. Smith, E. Jones, D. S.Finch, R. E. Cameron.** s.l. : Elsevier, 2004.
21. *Selection of a Polyurethane Membrane for the Manufacture of Ventricles for Totally Implantable Artificial Heart: Blood Compatibility ad Biocompatibility Studies.* **Bélanger, Marois, roy, Mehri, Wagner, Zhang, King, Yang, Hahn, Guidoin.** s.l. : International Society for Artificial Organs, 2000.
22. *Why Not Dipyridamole: a review of Current Guidelines and Re-evaluation of Utility in the Modern Era.* **M. Allahham, A.Lerman, D.Atar, Y.Birnbaum.** 2021.
23. *Molecular stability, mechanical properties, surface chracteristics and sterility of biodegradable polyurethanes treated with low-temperature plasma.* **K.Gorna, S.Gogolewski.** s.l. : Elsevier, 2002.
24. *Performance of polyurethane vascolar prosthesis carrying a dipyridamole (Persantin) coating on its luminal surface.* **Y.B.J.Aldenhoff, F.H.Van der Veen. J. Ter Woort, J.Habets, L.A. Poole-Warren. L.H.Koole.** 2000.
25. *The preparation and performance of a New Polyurethane vascular Prosthesis.* **W.He, Z.Hu, A.Xu, R.Liu, H.Yin, J.Wang, S.Wang.** 2013.
26. <https://www.knowledge-share.eu/brevetto/valvola-cardiaca-polimerica-a-corpo-unico/>. [Online]

27. *Structural characterization, mechanical properties, and in vitro cytocompatibility evaluation of fibrous polycarbonate urethane membranes for biomedical applications.* **G.N.Arjun, P.Ramesh.** 2012.
28. *Long-term in vitro hydrolytic stability of thermoplastic polyurethanes.* **A.Mishra, K.Seethamraju, J.Delaney, P.Willoughby, R.Faust.** 2015.
29. <https://www.centrodiagnosticopiceno.it/esami-a-z/antitrombina-iii/>. [Online]
30. *Evaluation of biological degradation of polyurethanes.* **A.Magnin, E.Pollet, V.Philip, L.Avérus.** 2019.
31. *Elasticity and inelasticity of thermoplastic polyurethane elastomers: sensitivity to chemical and physical structure.* **C.P.Buckley, C.Prisacariu, C.Martin.** 2010.
32. *Polyurethane vascular prostheses in pig.* **S.Gogolewski, G.Galletti, G.Ussia.**
33. *Recent Advances in Polyurethane/POSS Hybrids for biomedical applications.* **J.Ozimek, K.Pielichowski.** 2021.
34. *Microbial degradation of polyurethane, polyester polyurethanes and polyether polyurethanes.* **T.Nakajima-Kambe, Y.Shigeno-Akutsu, N.Nomura, F.Onuma, T.Nakahara.**
35. *Cellulose nanocrystals (CNC) reinforced shape memory polyurethanes ribbons for future biomedical applications and design.* **I.T.Garces, S.Aslanzadeh, Y.Boluk, C.Ayranci.** 2020.
36. *Surface modification of polyurethane films by plasma and ultraviolet light to improve haemocompatibility for artificial heart valves.* **P.Alves, R.Cardoso, T.R.Correia, B.P.Antunes, I.J.Correia, P.Ferreira.** 2014.
37. *Effect of PEG grafting density on surface properties of polyurethane substrata and the viability of osteoblast and fibroblast cells.* **A.D.abreu-Rejon, W.Herrera-Kao, A.Avila-Ortega, N.Rodriguez-Fuentes, J.A.Uribe-Calderón, J.M.Cervantes-Uc.** 2022.
38. *Adsorption of serum and urine proteins to polyurethanes.* **M.A.Wassall, M.Santin, G.Ambrosio, S.P.Denyer.** 1996.