



**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA**



**DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE
CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA**

**“LE PROTESI MAMMARIE: DAL PASSATO AL FUTURO NEL
BIOPRINTING”**

Relatore: Prof. Andrea Bagno

Laureanda: Giorgia Liotti

ANNO ACCADEMICO 2022 -2023

Data di laurea 18/07/2023

INDICE

ABSTRACT	5
1. INTRODUZIONE	7
1.1 Cenni all'anatomia della mammella	7
1.1.1 Struttura interna della mammella: ghiandola mammaria e stroma di tessuto connettivo	8
1.2 Mastoplastica additiva e mastoplastica ricostruttiva.....	9
1.2.1 Posizionamento delle protesi	10
1.3 Evoluzione storica delle protesi	10
1.3.1 Il caso della paraffina.....	11
1.3.2 Cinque generazioni di protesi impiantabili	12
2. LE PROTESI ODIERNE.....	15
2.1 Classificazione delle protesi.....	15
2.1.1 Contenuto delle protesi.....	15
2.1.2 Forma delle protesi.....	16
2.1.3 Superficie delle protesi	16
2.1.4 Dimensione e tipologie di protesi	17
2.2 Impianti protesici in silicone.....	17
2.2.1 La coesività del gel di silicone.....	18
2.2.2 Studio sulle proprietà fisiche per gli impianti protesici in silicone: considerazioni generali a partire da un confronto tra tre aziende produttrici	19
2.3 Impianti protesici con soluzione fisiologica.....	22
2.3.1 Silicone vs. soluzione fisiologica: pro e contro	23
2.4 Caratterizzazione della superficie delle protesi.....	24
2.4.1 Il rivestimento in poliuretano e in micropoliuretano	25
2.4.2 L'utilizzo di matrici dermiche acellulari nell'ambito della chirurgia ricostruttiva	27
2.4.3 Un'alternativa alle matrici dermiche acellulari: le reti sintetiche	29
2.5 Altre tipologie di protesi.....	30
3. COMPLICANZE ASSOCIATE ALL'IMPIANTO DELLE PROTESI	33
3.1 L'importanza della biocompatibilità	33
3.1.1 Risposta dell'organismo all'innesto di una protesi mammaria	34
3.2 Complicanze associate all'impianto di protesi al seno.....	37
3.2.1 La contrattura capsulare	38
3.2.2 Il linfoma anaplastico a grandi cellule.....	41
3.2.3 Altri rischi legati all'innesto di protesi al seno	42
3.3 Nuovi approcci con l'utilizzo di cellule staminali adipose	43
3.3.1 Cellule staminali e ADSCs.....	43
3.3.2 Procedura d'intervento.....	44
3.3.3 Possibili rischi	45
4. IL 3D BIOPRINTING.....	47
4.1 Le tecniche di biostampa 3D	48

4.1.1 La stereolitografia	48
4.1.2 Inkjet based Bioprinting	50
4.1.3 Laser-assisted bioprinting	52
4.1.4 I bioink	53
4.2 La biostampa 3D di protesi mammarie.....	54
4.2.1 Le protesi 3D della Lattice Medical	54
4.2.2 Le protesi 3D della CollPlant.....	55
5. CONCLUSIONI	59
BIBLIOGRAFIA	61

ABSTRACT

Questo lavoro di tesi offre una panoramica piuttosto completa sulle protesi mammarie, che sono dispositivi medici ampiamente utilizzati per la ricostruzione o l'aumento del seno, evidenziandone le attuali applicazioni e proponendo possibili prospettive di futura evoluzione. Vengono esaminati in dettaglio i diversi tipi di protesi mammarie disponibili sul mercato, i materiali utilizzati nella loro produzione e le procedure che si interpongono tra la produzione della protesi e la successiva commercializzazione. Vengono esplorati anche gli aspetti legati alla sicurezza, alle possibili complicazioni e alle strategie di prevenzione.

Oltre ai modelli conosciuti, quali quelli in silicone e soluzione fisiologica, lo sviluppo dei materiali e delle nuove tecnologie di produzione ha portato alla produzione di protesi stampate in 3D biorisorbibili, in grado di integrarsi perfettamente con i tessuti circostanti riassorbendosi progressivamente e donando un risultato naturale al seno della paziente: dunque saranno trattati gli aspetti salienti della stampa 3D e le aziende nel settore delle protesi innovative.

1. INTRODUZIONE

La chirurgia plastica ricostruttiva del seno ha origine in tempi non troppo lontani, sia essa utilizzata a fini estetici (mastoplastica additiva) oppure per la ricostruzione della mammella post-intervento (mastoplastica ricostruttiva). Soprattutto negli ultimi decenni, la chirurgia plastica ricostruttiva è stata protagonista di grandi innovazioni, non solo in ambito clinico, ma anche nell'ambito dei materiali, o meglio biomateriali, sviluppati per la produzione delle protesi mammarie.

Prima dell'introduzione delle protesi in silicone, avvenuta grazie a Cronin e Gerow nel 1962, le donne si sono sottoposte ad interventi di aumento del seno tramite l'utilizzo di vari metodi: tra questi si ricordano le iniezioni di glicerina, paraffina, grasso autologo, cartilagine ossea, olio di silicone, per non parlare di impianti di materiali tra i quali l'avorio, il vetro, la gomma, la lana, la spugna.

Dal 1950 al 1960 furono testate altre sostanze iniettabili come la gelatina di petrolio, la cera, la resina, lo stucco, il poliuretano, il nylon, il polipropilene e il teflon, ma i risultati furono altrettanto scoraggianti a causa dell'alta percentuale di complicanze ad essi collegate tra cui dolore, edema, ulcerazioni, calcificazioni, granulomi, migrazione del fluido iniettato e formazione di cisti fino alla necrosi totale del tessuto mammario che rendeva necessaria una mastectomia bilaterale, nonché la riapertura del tessuto attorno la mammella per l'asportazione del materiale infetto.

L'avvento delle protesi in silicone diede inizio ad una nuova era di innovazioni nel campo della mastoplastica additiva, sia perché ci si avvicinò sempre di più ad un'estetica naturale dei seni, sia perché il numero di infezioni e di gravi conseguenze dovute all'impianto di corpi estranei diminuì drasticamente, ma non vennero del tutto eliminate.

Ancora oggi diversi sono i casi riportati in letteratura che trattano delle complicanze riguardo l'innesto di questi dispositivi protesici, come la contrattura capsulare o lo sviluppo del linfoma anaplastico a grandi cellule. Deriva dalla necessità di eliminare del tutto queste problematiche l'esigenza di progredire nella ricerca, che recentemente ha dato vita alla progettazione di protesi riassorbibili prodotte tramite tecniche di stampa 3D, in grado di donare un aspetto del tutto naturale al seno della paziente, sia al tatto che alla vista.

1.1 Cenni all'anatomia della mammella

Conoscere l'anatomia del seno è molto importante, sia nell'ambito della chirurgia plastica ricostruttiva, sia a scopo personale e preventivo, per poter riconoscere la presenza di corpi

estranei ed eventualmente intervenire con le dovute tecniche (si pensi all'autopalpazione del seno femminile per poter riconoscere la presenza di noduli ingrossati).

Nell'accezione comune, i termini seno, mammella e ghiandola mammaria vengono usati come sinonimi; in realtà esiste una sottile differenza: anatomicamente parlando, il termine più corretto è mammella, mentre con il termine seno ci si riferisce allo spazio della parete toracica anteriore compreso tra le due mammelle; il termine ghiandola mammaria si riferisce invece al ruolo fisiologico di secrezione di latte durante l'allattamento.

La mammella è un organo pari (due mammelle nella specie umana) e simmetrico, situato nella regione anteriore del torace tra la terza e la sesta costola, ai lati della linea mediana, più precisamente sul muscolo grande pettorale; le mammelle in generale sono composte da cute, grasso, strutture ghiandolari deputate alla produzione di latte e alla sua secrezione, e tessuto connettivo di sostegno.

1.1.1 Struttura interna della mammella: ghiandola mammaria e stroma di tessuto connettivo

La ghiandola mammaria è l'unità fondamentale di ciascuna mammella: si tratta di una ghiandola esocrina che ha il compito principale di produrre latte durante l'allattamento grazie alla prolattina (ormone secreto dall'ipofisi).

Il seno è principalmente composto da: 1) pelle, 2) fascia superficiale, 3) parenchima mammario, 4) complesso areolare, 5) fascia superficiale; il parenchima può essere a sua volta suddiviso in tre tipi di tessuto: l'epitelio ghiandolare, lo stroma fibroso, una struttura di supporto (tessuto connettivo) e grasso (tessuto adiposo) [1].

A partire dallo strato più esterno della mammella, la prima componente che si incontra maggiormente è il tessuto adiposo, che svolge prevalentemente la funzione di protezione dai traumi e di isolamento del tessuto ghiandolare; il volume della mammella dipende prevalentemente dalla quantità di tessuto adiposo presente. Procedendo verso la parte più interna, sotto il grasso sottocutaneo giace la fascia superficiale [2] che funge da superficie esterna di un cumulo di tessuto fibro-adiposo, che a sua volta racchiude il tessuto fibroghiandolare conosciuto come "*corpus mammae*". Il *corpus mammae* è caratterizzato da 15-18 lobi di tessuto ghiandolare disposti radialmente attorno al capezzolo; i lobi a loro volta comprendono lobuli e dotti: i lobuli sono formati da acini e sono le ghiandole produttrici di latte nella parte terminale dei lobi; i dotti sono dei canali attraverso cui poi passerà il latte e nella loro parte finale, insieme al lobulo, formano il complesso dutto-lobulare (Figura 1.1).

I legamenti di Cooper sono dei segmenti fibrosi di tessuto connettivo, diretta continuazione della fascia superficiale, che connettono la pelle della mammella alla fascia del muscolo grande pettorale attraversando la ghiandola mammaria e hanno ruolo di sostegno della mammella [3].



Figura 1.1: a sinistra si mettono in evidenza, tramite sezione laterale, i muscoli e i tessuti che compongono la mammella; a destra si nota il dettaglio sui componenti del *corpus mammae*.

1.2 Mastoplastica additiva e mastoplastica ricostruttiva

La mastoplastica, detta anche chirurgia plastica al seno, è un intervento chirurgico che mira a modificare la forma, la dimensione o l'aspetto dei seni di una persona.

La storia e la seguente evoluzione della mastoplastica affondano le loro radici in tempi non troppo lontani: il primo intervento di chirurgia ricostruttiva post-mastectomia risale al 1895 [4], quando Vincent Cerny, professore di chirurgia a Heidelberg, asportò un lipoma (tumore benigno del tessuto adiposo) dalla regione lombare del paziente, che venne poi riposizionato nella zona in cui era stato eseguito l'intervento di mastectomia. Questo successo diede il via ad una serie di innovazioni delle tecniche per la chirurgia plastica e ricostruttiva come l'utilizzo di lembi (specialmente nel caso di mastoplastica ricostruttiva) da parte del chirurgo italiano Tanzini per primo [5], direttamente prelevati da diversi distretti del corpo del paziente, fino all'introduzione delle protesi mammarie in silicone da parte di Cerny e Gerow nel 1962 [4]: questo intervento aprì la strada ad una serie di innovazioni in ambito protesico, settore ancora oggi in evoluzione.

Esistono diversi tipi di mastoplastica: la mastoplastica additiva, la mastoplastica ricostruttiva, la mastoplastica per la riduzione del seno e la mastopessi; i motivi che spingono un uomo o una donna a sottoporsi ad un intervento chirurgico di questo tipo sono vari, ma si possono raggruppare in due macro-categorie:

- il miglioramento del proprio aspetto fisico, quindi si può parlare di chirurgia plastica dal punto di vista estetico;

- la ricostruzione della mammella a seguito di intervento di mastectomia (intervento chirurgico di asportazione della mammella a seguito della rilevazione di un tumore, come quello eseguito da Cerny) o qualsiasi tipo di intervento invasivo che riguardi questo distretto anatomico.

Tra gli interventi citati, quelli che interessano direttamente l'inserimento di protesi sono principalmente la mastoplastica additiva e quella ricostruttiva.

1.2.1 Posizionamento delle protesi

Prima dell'intervento di inserimento della protesi, che può essere eseguito attraverso diversi tipi di incisione, il chirurgo è chiamato a valutare una serie di aspetti tra cui il tipo di protesi da posizionare, la forma, i possibili rischi ma anche il tipo di posizionamento da effettuare. In base alla dimensione e all'anatomia delle mammelle del paziente si può avere un posizionamento sub-ghiandolare, nel quale l'impianto si trova tra il complesso del *corpus mammae* e il muscolo pettorale maggiore, oppure un posizionamento sub-pettorale, nel quale la protesi si trova tra il muscolo pettorale maggiore e il muscolo pettorale minore [1] (Figura 1.2).

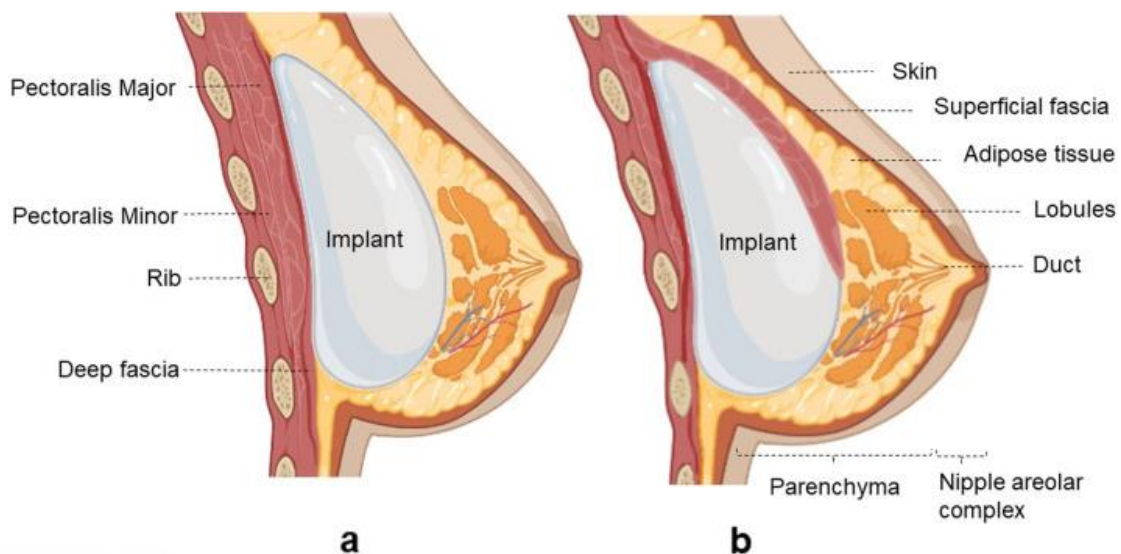


Figura 1.2: posizionamento delle protesi: a sinistra il sub-ghiandolare, a destra il sub-pettorale.

1.3 Evoluzione storica delle protesi

Tra il primo intervento di mastoplastica post-mastectomia effettuato da Cerny fino all'avvento delle protesi al seno da parte di Cronin e Gerow nel 1962, diversi furono i materiali utilizzati. In effetti con il termine protesi mammaria non s'intende solo il sacchettino in silicone che si conosce oggi, bensì il termine fa riferimento a tutte le tipologie di dispositivi impiantabili che hanno come scopo quello di modificare o sostituire il seno di una persona [6].

Tra i materiali più utilizzati si possono citare il tessuto autologo, impianti alloplastici come l'inserimento sottocutaneo di sfere di vetro, avorio, gomma, lana di terilene, cartilagine ossea, guttaperca, trucioli di polietilene [4]. Verso la fine degli anni '40 del 1900, una nuova categoria di materiali si è andata affermando in campo biomedico: alcuni polimeri sono stati utilizzati per la costruzione di spugne tra cui il polietilene (polystan), l'alcool polivinilico (Ivalon) sia al naturale che in sacchetti di polietilene, il poliuretano (Surgifoam) [4][7].

Una delle prime spugne venne introdotta nel 1949: si trattava di una spugna in alcol polivinilico, commercializzata con il nome di Ivalon, che riscosse subito grande successo soprattutto nell'ambito della chirurgia cardiotoracica e vascolare. Il successo fu dovuto al fatto che i primi test in vivo avevano dato buoni risultati al livello di biocompatibilità, non solo perché la spugna polivinilica era non-immunogenica, ma anche perché promuoveva la crescita di tessuto connettivo e di vasi sanguigni nelle porosità tra i cristalli polivinilici. Inoltre, la caratteristica morbidezza e porosità permettevano di lavorare a mano la spugna nella forma desiderata: è per questo che divenne popolare soprattutto nell'utilizzo come riempitivo per tessuti molli e quindi nell'ambito della chirurgia ricostruttiva. Nonostante il successo iniziale, studi successivi su pazienti che avevano ricevuto la spugna, rilevarono grandi complicazioni, tra cui infezione, fistolizzazione, contrattura capsulare [4].

Facendo un salto nel passato, a fine del 1800, precisamente nel 1899, si diede il via al periodo delle iniezioni sottocutanee per l'aumento delle mammelle. In letteratura si prendono in considerazione prevalentemente tre materiali: la paraffina (1899-1914), il silicone liquido (1944-1991), l'idrogel di poliacrilammide (1988-2009).

1.3.1 Il caso della paraffina

L'utilizzo di paraffina iniettabile fu riportato per la prima volta da Gersuny nel 1899.

Le paraffine sono un gruppo di idrocarburi saturi relativamente inerti; l'unità ripetitiva del polimero è $-(CH_2)_n-$.

Le paraffine esistono in due forme: una forma dura (cera), caratterizzata da idrocarburi a catena lunga, e una forma morbida (vaselina), caratterizzata da idrocarburi a catena più corta. Prima di essere iniettata, la paraffina veniva scaldata all'interno di una camera riempita da acqua calda, in modo da rendere la sua iniezione più semplice (Figura 1.3).

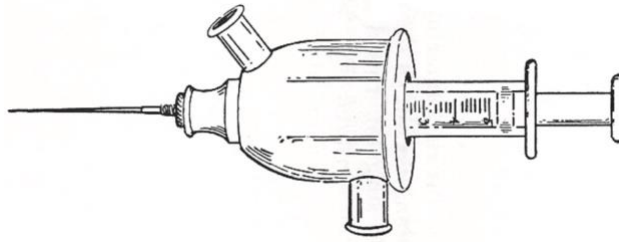


Figura 1.3: camera in cui veniva riscaldata la paraffina prima dell'iniezione.

Nel 1903, ancora una volta Gersuny pubblicò una relazione sull'iniezione di paraffina: decise di utilizzare una miscela contenente $\frac{1}{4}$ di paraffina e $\frac{3}{4}$ di olio d'oliva. La sua teoria era che l'olio d'oliva sarebbe stato assorbito dal corpo lasciando libere piccole particelle di paraffina che sarebbero poi state circondate dal tessuto connettivo circostante.

I primi risultati ottenuti con questa pratica si mostrarono promettenti, ma in realtà le vere complicazioni si svilupparono solo dopo 10 anni dall'iniezione: le conseguenze più importanti furono embolia polmonare, migrazione, ulcerazione, formazione di fistole, infezione, necrosi e in alcuni casi anche la morte (Figura 1.4). Nel 1920 venne coniato un nuovo termine, “*paraffinoma*” per descrivere le reazioni ritardate, croniche e infiammatorie causate dall'iniezione della paraffina (questo fenomeno coinvolse sia la pelle che i tessuti molli sottostanti). Nonostante i danni di tale procedura, la paraffina continuò ad essere utilizzata fino al 1960, soprattutto da parte dei paesi dell'Est o ancora in Europa e Stati Uniti per evitare l'arruolamento per combattere la guerra [8].



Figura 1.4: aspetto di una donna che aveva ricevuto un'iniezione di paraffina 40 anni prima. Ha subito diverse operazioni durante gli anni, tra cui mastectomie bilaterali per guarire ulcere e fistole.

1.3.2 Cinque generazioni di protesi impiantabili

Come accennato in precedenza, il primo impianto protesico fu introdotto da Thomas Cronin e Frank Gerow nel 1962, e in seguito messo in commercio usando il silicone dalla Dow Corning

Corporation nel 1963 [6]. A partire da quel momento si susseguirono ben cinque generazioni di impianti, commercializzate soprattutto nel mercato statunitense: la prima generazione fu proprio quella introdotta da Cronin e Gerow, la “*Silastic 0*”. Era formata da un involucro spesso di strati sovrapposti di elastomero silconico, riempito da gel viscoso e denso di silicone con l’aggiunta di patches posteriori in Dacron per mantenere la protesi ancorata ai tessuti (Figura 1.5). Con il tempo si scoprì che i patches in Dacron non solo non erano necessari, ma creavano nella protesi degli “*stress point*” (ossia dei punti di rottura) in cui la protesi tendeva a deteriorarsi: in generale, la protesi causava forte rischio di contrattura capsulare [9]. Nel 1970, sempre da parte della Dow Corning Corporation, venne lanciata una seconda generazione di protesi, la “*Silastic I*” con l’obiettivo di ridurre il rischio di contrattura capsulare: questi impianti non presentavano patches in Dacron, avevano un involucro più sottile e venivano riempiti con un gel composto in gran parte da catene a basso peso molecolare invece che silicone altamente reticolato, creando quindi un gel meno denso e meno viscoso [10]. Nonostante l’effetto più naturale dato da queste protesi, l’involucro sottile risultava permeabile al gel interno tanto che si parla di trasudazione del gel o effetto di “*bleeding*” ed inoltre andava incontro a rottura più facilmente (Figura 1.5) [6].

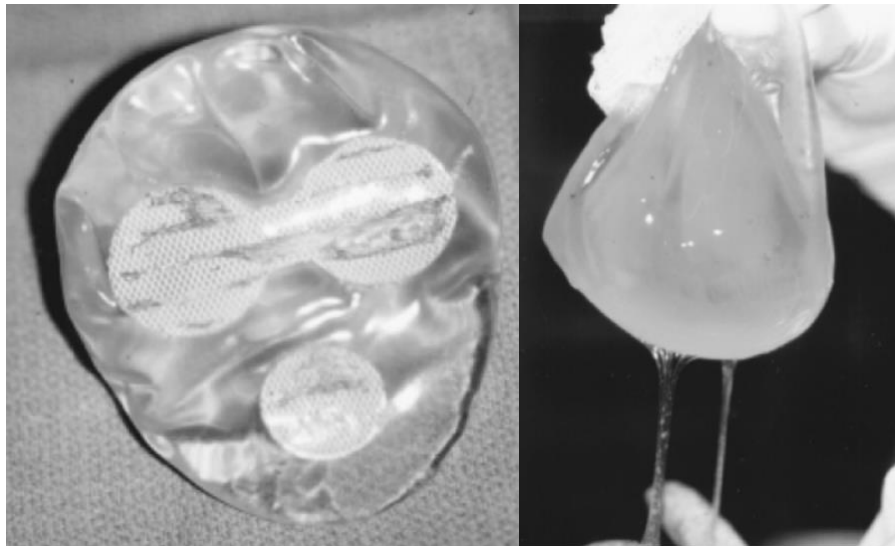


Figura 1.5: a sinistra un impianto di prima generazione: in evidenza i patches in Dacron; a destra un impianto di seconda generazione dopo 12 anni dall’inserimento in cui è evidente il fenomeno della trasudazione (bleeding).

Nel 1976 Heyer-Schulte, con l’intento di risolvere il problema della trasudazione del gel attraverso il guscio della protesi, introdusse l’impianto protesico detto “a doppio lume”, che consiste in un nucleo riempito di silicone racchiuso da un guscio esterno riempito a sua volta

da soluzione salina: questa innovazione portò intorno al 1980 all'evoluzione verso una terza generazione di protesi [6].

A differenza delle prime due generazioni, le nuove protesi presentavano un involucro di elastomero siliconico multistrato più spesso, rinforzato con silice per ridurre il rischio di rottura, di bleeding e si rilascio di silicone nei tessuti circostanti; l'interno era riempito da un gel di silicone più viscoso e coesivo. In quegli anni iniziò ad avere successo anche l'utilizzo di protesi con un rivestimento in poliuretano, a cui venne attribuita la riduzione del rischio di contrattura capsulare probabilmente grazie alla microstruttura che permetteva la crescita interna dei tessuti e impediva la deposizione circonferenziale di collagene. Con il tempo si scoprì che il rivestimento in poliuretano si separava completamente dal guscio di silicone sottostante, provocando la perdita di forma dell'impianto. Sia per questo ultimo motivo sia perché si pensava che gli ultimi impianti fossero associati alla produzione di toluendiammina, gli impianti furono rimossi dal commercio su ordine della Food and Drug Administration fino al 2006, anno in cui vennero riammessi [10].

Gli impianti successivi, quelli di quarta e quinta generazione, risultarono un'evoluzione della terza generazione con l'utilizzo di gel più coesivi in cui si evidenziava la presenza di un maggior numero di cross-link: il gel era più rigido e manteneva la sua forma anche se tagliato, quindi in grado di evitare la diffusione in caso di rottura dell'impianto; l'evoluzione di queste ultime due generazioni riguardò anche la forma anatomica dell'impianto (Figura 1.6) [10].



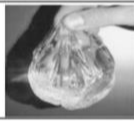


	1 st generation (1962-1973)	Dacron patches on posterior Thick shell (0.7mm)
	2 nd generation (1973-1982)	Thin seamless shell (0.13 mm) Low viscous gel
	3 rd generation (1982 onwards)	Multi-layered shell Cohesive gel
	4 th generation (1987 onwards)	Texturing of shell
	5 th generation (1993 onwards)	Anatomical shape Highly cohesive gel

Figura 1.6: le cinque generazioni di protesi al seno.

2. LE PROTESI ODIERNE

Le protesi mammarie, impiantate per ragioni estetiche o ricostruttive come accennato in precedenza, sono dispositivi medici e in quanto tali sono regolamentati dal Decreto legislativo del 24 febbraio 1997, n.46 e dal regolamento UE 745/2017 [11].

In generale, i dispositivi medici vengono classificati in base alla loro complessità e al rischio per il paziente in quattro classi: I, IIa, IIb, III. La classificazione tiene in considerazione l'invasività del dispositivo, la sua dipendenza da una fonte di energia e la durata del tempo di contatto con il corpo. In quanto dispositivi medici invasivi, poiché sono destinati a essere impiantati all'interno del corpo e a rimanervi per lungo tempo, le protesi mammarie sono considerate di classe III, cioè la classe di rischio più alta per la quale è previsto che l'Organismo Notificato, prima di rilasciare la certificazione CE, e quindi prima della immissione sul mercato, valuti con particolare attenzione progettazione, qualità e produzione [12].

2.1 Classificazione delle protesi

Le protesi possono essere classificate tenendo in considerazione alcuni fattori che verranno trattati a breve; in tutti i casi, questi dispositivi medici devono condividere alcune caratteristiche essenziali che li rendono adatti all'impianto. Le protesi devono quindi essere testate per valutare la resistenza meccanica, la stabilità dimensionale e la resistenza alla rottura ma anche per stimare il loro grado di biocompatibilità. Dal punto di vista della performance, le protesi devono essere testate per verificare la loro capacità di integrazione con i tessuti circostanti e di mantenere la forma e il volume nel tempo, ma anche per determinare la loro resistenza a fattori esterni tra i quali sollecitazioni in compressione, in trazione e in flessione [13].

Da un punto di vista strutturale, le protesi mammarie sono costituite da un involucro di elastomeri di silicone e da un riempitivo. La classificazione vera e propria delle protesi può ridursi a 5 categorie: contenuto, forma, superficie, dimensione e tipo.

2.1.1 Contenuto delle protesi

In base al loro contenuto le protesi si distinguono in:

- protesi riempite con gel di silicone
- protesi riempite con soluzione salina
- protesi riempite con idrogel

Le protesi in silicone sono sicuramente quelle più utilizzate oggi, e ne esistono diverse tipologie in base alla coesività del silicone all'interno, caratteristica fondamentale in quanto

previene la dispersione del contenuto in caso di rottura; le protesi riempite con soluzione fisiologica sono meno utilizzate rispetto alle prime citate poiché donano un effetto meno naturale, ma sono più sicure in quanto il riempitivo è più facile da assorbire in caso di rottura. Le protesi in idrogel hanno dato molti problemi nel tempo e per questo sono attualmente le meno impiegate.

2.1.2 Forma delle protesi

In base all'effetto desiderato dal paziente, le protesi possono essere (Figura 2.1) [14]:

- protesi tonde, che sono protesi simmetriche e quindi viene evitato il rischio di rotazione e ridotto quello di spostamento dell'impianto in seguito all'intervento;
- protesi ergonomiche, composte da gel con parametri di coesività e densità diversi che permette alle stesse di assumere una forma "anatomica" quando il paziente si trova in posizione eretta (più sottile nella parte superiore e arrotondata in quella inferiore);
- protesi a goccia, di forma anatomica, che devono essere posizionate in modo preciso poiché un loro spostamento sarebbe visibile e provocherebbe danni ai tessuti mammari; ciononostante dona una forma più naturale.



Figura 2.1: a destra un esempio di protesi ergonomica; a sinistra in ordine si trovano la protesi a goccia e quella di forma rotonda.

2.1.3 Superficie delle protesi

Per quanto riguarda le superfici delle protesi, oggi le più diffuse sono: liscia, testurizzata e in poliuretano. Le protesi a superficie liscia venivano utilizzate principalmente all'inizio, infatti questo rivestimento caratterizzava le protesi di prima generazione; a causa della loro scarsa adesione con i tessuti circostanti, è stato ideato un rivestimento testurizzato che permetteva un migliore adattamento. Infine, per ovviare al rischio della contrattura capsulare, è stato realizzato un rivestimento in poliuretano e più tardi anche in schiuma di micropoliuretano [15]; le caratteristiche superficiali verranno descritte in seguito più dettagliatamente.

2.1.4 Dimensione e tipologie di protesi

Le dimensioni da considerare nella scelta di un impianto sono la base, l'altezza e il profilo. Questi parametri vanno valutati in armonia con le dimensioni della ghiandola presente e del torace [15].

Le protesi possono essere suddivise ancora in tre categorie in base alle loro caratteristiche funzionali e di impiego [15]:

- protesi definitive pre-riempite (PDP): utilizzate principalmente in mastoplastiche additive e nel secondo tempo di ricostruzione mammaria
- protesi definitiva gonfiabile (PDG): a questo gruppo appartengono sia le protesi da riempire al momento dell'intervento chirurgico e che non dovranno essere sostituite sia le protesi/espansore tipo Becker che una volta riempite vengono lasciate in sede previa asportazione della valvola di riempimento.
- espansori: vengono riempiti di soluzione fisiologica fino al raggiungimento del volume desiderato e poi vengono sostituiti con un impianto definitivo.

2.2 Impianti protesici in silicone

Come detto in precedenza, gli impianti protesici maggiormente diffusi sono quelli contenenti il gel di silicone con un elevato grado di coesività.

Il silicio è un elemento semimetallico collocato appena sotto il carbonio nella tavola periodica che possiede la peculiare capacità di formare lunghe catene polimeriche; questo non si trova in natura nella sua forma elementare, bensì lo si trova nella silice, una delle sostanze più diffuse sulla terra presente nella sabbia o sotto forma di cristalli puri, come il quarzo.

Il silicone appartiene ad una famiglia di materiali polimerici che prendono il nome di "polisilossani", la cui catena principale è data dall'alternarsi di atomi di ossigeno e di silicio.

Il monomero che si ripete nella catena è $-R_2SiO-$ dove la R indica il gruppo laterale legato: per il silicone ad uso medico la R è rappresentata dal gruppo metilico, infatti il silicone medico prende anche il nome di polidimetilsilossano (PDMS) poiché ad ogni gruppo di silossano (SiO) sono legati due gruppi metilici (Figura 2.2) [16].

Il PDMS si presenta come un liquido oleoso e appiccicoso con una viscosità che aumenta con la lunghezza media della catena (peso molecolare). I siliconi si possono trovare in forma di liquido, gel, elastomero e anche plastica dura; la loro produzione comincia con la sabbia e si ottiene variando la lunghezza della catena $-Si-O-Si-$ utilizzando diversi gruppi laterali organici

e reticolando chimicamente le catene polimeriche. Il silossano, grazie ai suoi grandi angoli di legame e lunghezze di legame, risulta molto flessibile, ma nonostante ciò è anche estremamente stabile dal punto di vista chimico.

I siliconi hanno proprietà fisico-chimiche particolari, tali che si possono considerare un compromesso tra un composto minerale, la silice appunto, e i polimeri organici. Una delle caratteristiche fondamentali è la loro resistenza alle alte temperature; sono anche idrofobici, non adesivi e hanno un basso coefficiente di viscosità.

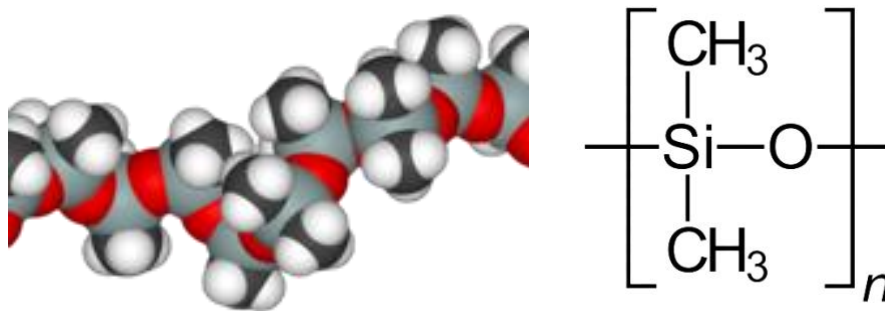


Figura 2.2: il polidimetilsilossano; a sinistra il modello 3D, a destra la formula dell'unità monomerica.

Solitamente il materiale di riempimento delle protesi è il silicone prodotto sotto forma di gel: questi ultimi sono noti per i legami intramolecolari che sono del tipo “*cross-link*”, caratteristica dei materiali polimerici in generale. Il cross-linking indica che molte delle unità iniziali del gel sono chimicamente collegate ad altre unità in vari punti della catena polimerica, formando una rete tridimensionale. La quantità di legami di questo tipo determina una caratteristica fondamentale del gel silicico, ovvero la coesività, che rende il gel più resistente e più rigido. I gel di PDMS con un numero inferiore di legami potrebbero non essere considerati strettamente come gel, piuttosto come liquidi viscosi; a causa dell'incompletezza intrinseca della reticolazione, i gel contengono l'1-2% di molecole di peso molecolare estremamente basso, che potrebbero fuoriuscire dall'involucro di gomma silicica e quindi disperdersi tra i tessuti biologici con relativa facilità: è per questo motivo che si cerca di rendere sempre maggiore il numero di legami cross-link e quindi ridurre il numero di molecole libere [17].

2.2.1 La coesività del gel di silicone

Come accennato nel precedente paragrafo, la performance delle protesi in silicone dipende in gran parte dalla composizione del gel all'interno, oltre che dall'involucro esterno.

Quando si parla di coesività s'intende la capacità della sostanza a "stare unita", in particolare nel caso degli impianti protesici al seno ci si riferisce all'elasticità o alla stabilità del gel.

Il livello di coesività influisce sulla capacità del gel di mantenere la propria forma se sottoposto a sollecitazione, compresa anche la forza di gravità, e può essere misurato in vitro valutando la risposta elastica alla massima pressione applicata: un gel meno coesivo esibirà una deformazione elastica maggiore rispetto a quello con un maggiore grado di coesività. Da un punto di vista chimico, per aumentare la coesività del gel, quindi il numero di legami "cross-link", si procede tramite la sostituzione di gruppi metilici presenti sulla catena polimerica di polidimetilsilossano con gruppi vinilici e idruro, trattando la miscela ad alte temperature. Il platino ha il compito di catalizzare la reazione di idrosililazione dei gruppi vinile e idruro con la conseguente formazione di un ponte a 2 atomi di carbonio tra i polimeri. Il crosslinking altera la proprietà fisiche del PDMS, rendendolo più stabile: maggiore è il numero di legami intra-catena, maggiore è il grado di coesività del gel. Una classificazione che si può effettuare sulle protesi in silicone riguarda il grado di coesività del gel riempitivo:

1. protesi con gel a bassa coesività, destinate a pazienti che desiderano un seno più naturale e più morbido oppure con un minore riempimento del polo superiore;
2. protesi con gel a media coesività, maggiormente utilizzate nell'aumento del seno;
3. protesi con gel ad elevata coesività, preferibilmente impiantate in pazienti che presentano un sottile strato di tessuto molle [18][19].

2.2.2 Studio sulle proprietà fisiche per gli impianti protesici in silicone: considerazioni generali a partire da un confronto tra tre aziende produttrici

Il silicone presente negli impianti protesici deve essere di altissima purezza, con valori di elongazione previsti dalla normativa. Per quanto riguarda il gel di riempimento, questo deve essere ad alta coesività e resistente ad una pressione di rottura che si aggira intorno a 50 Kg/cmq; in generale, per valutare la qualità di una protesi, diversi sono i test che devono essere effettuati al livello di biocompatibilità e stress meccanico; sono inoltre da valutare la coesività, la testurizzazione della superficie e ancora la forma della protesi.

Le considerazioni di carattere generale nel seguito sono state ottenute a partire da test meccanici su tre dispositivi protesici provenienti da tre aziende americane di grande importanza: la Mentor, la Sientra e l'Allergan. I test utilizzati, modificati o sviluppati includono test di deformazione del gel per misurare la sua capacità di mantenere la forma, test di compressione fino a frattura per misurarne la resistenza, test di peeling dell'involucro per misurarne l'integrazione con gel riempitivo e analisi morfologica di impianti sagomati.

- Test di elasticità del gel (Figura 2.3): quantifica l'abilità del gel di mantenere la sua forma sotto l'azione di una forza, e quindi la stabilità rispetto alla morbidezza.

Il principio di base è quello di posizionare una porzione di gel dell'impianto (un campione circolare di diametro circa 1 cm) sotto pressione negativa all'interno di una camera cilindrica e poi misurare la deformazione del gel con un laser. Inizialmente si applicano valori di pressione negativa di 1 mmHg al secondo fino al raggiungimento di una pressione di 15 mmHg; il valore risultante di deformazione elastica è definito come la quantità di deformazione misurata fino al punto di massima pressione negativa, che rappresenta la risposta elastica alla pressione applicata. Valori molto alti di deformazione indicano la "morbidezza" della protesi, al contrario la "fermezza".

Come primo risultato ottenuto, si nota come gli impianti rotondi risultino più morbidi rispetto quelli sagomati, perché questi ultimi richiedono un riempimento con un gel maggiormente coesivo per aiutare a mantenere la forma dell'impianto in vivo e dunque sono progettati per resistere maggiormente alle forze di trazione.

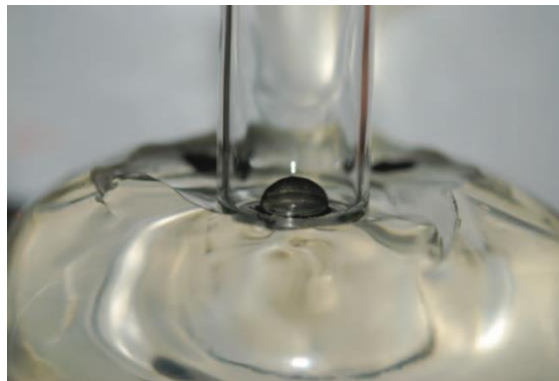


Figura 2.3: gel siliconico di un impianto sottovuoto.

- Test di compressione del gel fino a frattura (Figura 2.4): quantifica la forza che il gel può subire senza incorrere in una deformazione permanente, ossia la resistenza dell'impianto. La forza di compressione viene misurata fino alla frattura del gel; una maggiore forza indica quindi maggiore resistenza alla rottura.

Il test è correlato all'integrità strutturale, alla coesione del gel e all'aderenza del guscio con il gel: i dati ottenuti dimostrano che gli impianti sagomati, per quanto detto in precedenza rispetto alla coesività, sono più resistenti degli impianti rotondi standard.



Figura 2.4: apparato per la frattura in compressione in cui si evidenziano un piede penetrometrico e una piastra di compressione.

- Test di “peeling” dell’involucro: valuta la coesione tra gel riempitivo e materiale di rivestimento della protesi. La rigidità dell’adesione tra gel ed involucro rappresenta un metodo per valutare le performance dell’impianto. Il campione viene posto sulla piastra di compressione e una piccola porzione di membrana del guscio dell’elastomero viene rimossa dal gel. L’estremità libera del guscio viene fissata nelle impugnature del tester di trazione e regolata per distribuire uniformemente la sollecitazione applicata sulla sezione trasversale del campione (Figura 2.5). Il carico viene azzerato e il guscio dell’elastomero viene tirato a una velocità di 20’’ /min. Viene misurata la forza massima applicata per separare il guscio dal gel.

Il test ha dimostrato l'integrazione sia quantitativa (forza necessaria per la rottura) che qualitativa (rivestimento del gel sul guscio dopo la rottura). Valutare l’adesione tra le due componenti della protesi è importante per poter predire il fallimento o il successo dell’impianto: il gel di riempimento non deve comportarsi semplicemente come un filler, ma deve sostenere il guscio: le due componenti devono dare vita ad un’unità solida ma allo stesso tempo elastica, con l’obiettivo di mimare i movimenti fisiologici del seno [20].



Figura 2.5: due esempi di risultati: a destra si nota una protesi che mostra una stabile integrazione tra gel e guscio, a sinistra si nota il fallimento del test dato dalla scarsa coesione tra le componenti.

2.3 Impianti protesici con soluzione fisiologica

Tra il 1996 ed il 2006 la FDA ha sospeso il commercio delle protesi mammarie in silicone: è proprio in questo periodo che si sviluppano le protesi mammarie riempite con soluzione fisiologica. Queste ultime furono ideate già a partire dal 1965, ma furono sempre messe in secondo piano in favore delle già ben note protesi in silicone.

La soluzione fisiologica, più comunemente nota come soluzione salina, è composta da cloruro di sodio (NaCl) allo 0,9% in acqua pura; si tratta di una soluzione acquosa di sali inorganici la cui concentrazione è isotonica rispetto al plasma sanguigno.

Comunemente le protesi contenenti la soluzione posseggono lo stesso involucro delle protesi in silicone, ovvero elastomeri siliconici, che può presentarsi come testurizzato o liscio.

In commercio esistono due tipologie di impianti protesici contenenti soluzione fisiologica: quelli pre-riempiti, anche se scarsamente utilizzati, e gli espansori tissutali che vengono in seguito riempiti dalla soluzione attraverso una valvola presente superficialmente ed una siringa adibita all'iniezione.

La tecnica di ricostruzione mammaria tramite espansore tissutale viene solitamente effettuata subito dopo l'esecuzione di un intervento di mastectomia e avviene in due stadi, infatti l'espansore serve solo a creare uno spazio, sfruttando la capacità di dilatazione dei muscoli e della pelle, dove poi verrà inserita la protesi permanente.

Il primo stadio della procedura consiste nell'inserimento dell'espansore sopra o sotto il muscolo grande pettorale, in generale nel sito in cui è avvenuta l'asportazione della massa tumorale; al momento dell'inserimento, l'espansore è riempito solo al 20%-30% del suo volume totale e raggiunge un valore del 50% appena dopo l'inserimento (Figura 2.6). Prima dell'innesto dell'impianto è necessario che il chirurgo inserisca anche un piccolo drenaggio collegato alla valvola che permetterà le future iniezioni di soluzione fisiologica.

Prima di poter rimuovere totalmente l'espansore lasciando posto alla protesi permanente (secondo stadio), il paziente dovrà sottoporsi a diverse sedute distribuite nell'arco di 6 mesi che prevedono il progressivo riempimento della protesi [21].

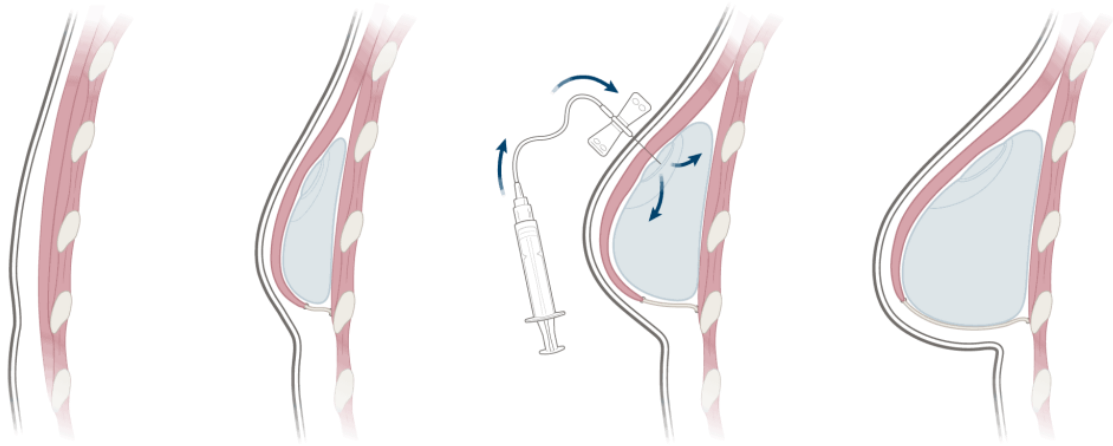


Figura 2.6: ricostruzione mammaria tramite espansore tissutale.

2.3.1 Silicone vs. soluzione fisiologica: pro e contro

Gli impianti protesici in silicone sono sicuramente i più diffusi nel mondo, probabilmente per la loro caratteristica di simulare perfettamente la consistenza del seno e di conferire un aspetto molto naturale. Nonostante ciò, gli impianti con soluzione salina non sono da sottovalutare, al contrario sono dei validi concorrenti delle protesi in silicone grazie soprattutto alla loro sicurezza e biocompatibilità.

Negli anni diversi sono stati gli studi che hanno messo a confronto questi due impianti (Tabella 2.1), cercando di identificare quali potessero essere gli aspetti che rendevano migliori gli uni rispetto agli altri; in primo luogo vi è sicuramente una differenza al livello economico tra le due protesi, dal momento che quelle in silicone hanno un prezzo molto maggiore rispetto a quelle con soluzione fisiologica. Dal punto di vista della sicurezza, diversi sono gli aspetti da considerare, poiché da un lato gli impianti in silicone sono più propensi a provocare una risposta infiammatoria anche grave nel caso di rottura o di trasudazione, dall'altro quelli con soluzione fisiologica hanno durata minore a causa della loro scarsa capacità di mantenere il volume della protesi.

Un grande vantaggio però è da attribuire alle protesi con soluzione fisiologica, poiché registrano un tasso minore di contrattura capsulare: in caso di rottura, la soluzione fisiologica viene facilmente assorbita dal corpo senza creare alcuna risposta avversa.

Un altro grande vantaggio è da attribuire alla coesività del gel siliconico: la sua stabilità ha portato a ritenere che il silicone dimostrasse una minore resistenza alla deformazione nei confronti dei tessuti sottostanti. Infatti, non appena un paziente si muove, le forze locali

governate dalla gravità e dall'inerzia sono scaricate sull'impianto: più l'impianto si deforma, più queste forze sono scaricate sui tessuti, e questa è una problematica riscontrata soprattutto delle protesi con soluzione salina [22].

	Saline	Silicone
Appearance	Same	Same
Delectability to touch	More noticeable	Less noticeable
Wrinkles/ripples	Possible	Rare
Palpable "knuckle"	Rare	Possible
Spontaneous deflation	5% chance	Does not occur
Silent rupture	Does not occur	Typical
Incision	Short	Slightly longer
Cost	Less	More
Monitoring	None	MRI scans needed
Overall frequency of use	Less	More

MRI, magnetic resonance imaging.

Tabella 2.1 principali differenze tra le protesi con soluzione fisiologica e silicone.

2.4 Caratterizzazione della superficie delle protesi

Sin dalla nascita dei primi impianti protesici, si è subito notato come la superficie delle protesi giocasse un ruolo di fondamentale importanza nell'ambito della biointegrazione con i tessuti limitrofi. Come accennato in precedenza, il guscio delle protesi mammarie è realizzato con elastomeri di silicone sia per le protesi riempite con gel di silicone sia per quelle riempite con soluzione salina; la struttura degli elastomeri siliconici è simile a quella del gel di silicone, ma con una reticolazione maggiore e una quantità ridotta di fluidi al fine di produrre un guscio solido e flessibile simile alla gomma. In seguito alla loro realizzazione, gli impianti protesici possono passare attraverso diversi processi in modo da ottenere un rivestimento superficiale diverso: in questo ambito si individuano protesi lisce, testurizzate e ricoperte in poliuretano.

Le protesi testurizzate furono ideate per la prima volta nel 1968 con l'obiettivo di minimizzare il rischio di contrattura capsulare basandosi sull'idea che una superficie irregolare avrebbe evitato l'allineamento parallelo delle fibre di collagene che causano le forze centripete responsabili della reazione fibrotica. Il primo impianto prendeva il nome di "*Natural Y*", così chiamato perché consisteva in tre compartimenti interni che dovevano mantenere la forma della parte superiore dell'impianto; si trattava essenzialmente di un impianto in silicone con superficie liscia ricoperta da schiuma poliuretana. I risultati ottenuti furono sin da subito promettenti, poiché la lenta frammentazione del poliuretano ha portato ad un'inflammatione acuta e cronica con una lenta crescita fibrotica, interrompendo così la formazione di fasci di collagene e ostacolando quindi la comparsa della capsula fibrotica [28].

La formazione della capsula periprotetica è una conseguenza fisiologica all'impianto di corpi estranei, in questo caso della protesi al seno, dal momento che l'organismo umano isola ciò che non riesce a degradare.

Dal punto di vista superficiale, le protesi lisce tendono a non aderire perfettamente alla capsula portando quindi ad uno spostamento facilitato della protesi all'interno dei tessuti; al contrario le superfici ruvide sono state ideate, oltre che per la riduzione della CC, anche per fare in modo che queste aderiscano meglio alla capsula grazie alle micro-rugosità presenti ed evitare movimenti della protesi.

Si parla di contrattura capsulare quando la condizione fisiologica diventa una risposta infiammatoria grave con conseguente ispessimento della capsula e necessaria rimozione dell'impianto. Storicamente, le protesi mammarie testurizzate sono state associate a tassi ridotti di contrattura capsulare (Figura 2.7) [23].



Figura 2.7: a sinistra una protesi con superficie testurizzata, a destra una protesi con superficie liscia.

2.4.1 Il rivestimento in poliuretano e in micropoliuretano

Le protesi rivestite in poliuretano e in micropoliuretano possono essere considerate una sottoclasse delle protesi testurizzate (Figura 2.8).

Il poliuretano è un polimero formato a partire da una miscela racemica di 2,4-toluene diisocianato e 2,6-toluene diisocianato che, una volta impiantato, viene lentamente degradato nel corpo umano. Grazie alla sua lenta degradazione, si registra una riduzione nell'ambito del rischio di contrattura capsulare (1%) rispetto alle protesi classiche (7-18%): il riassorbimento infatti impedirebbe la formazione di una capsula continua con tendenza alla contrattura centripeta.

Uno studio del NCI (National Cancer Institute) ha dimostrato la carcinogenicità del 2,4-toluendiamina (2,4-TDA) in ratti nutriti con alte dosi del composto. Sulla base di questa

segnalazione sono stati pubblicati alcuni studi in cui venne misurata la concentrazione del prodotto di degradazione incriminato in pazienti impiantate con protesi al silicone, trovando livelli di 2,4-TDA potenzialmente pericolosi. Tali studi però presentavano errori metodologici nel prelievo dei campioni e nella loro analisi e oggi il rischio di cancerogenità associato a questo tipo di protesi è stato quasi completamente abbattuto [15].

I vantaggi delle protesi in poliuretano riguardano principalmente la loro sicurezza al livello di risposta infiammatoria, anche se prevedono una maggiore attenzione nell'impianto poiché sono molto difficili da riposizionare in caso di errore; un altro vantaggio riguarda la durata delle protesi: infatti dopo il riassorbimento totale dell'involucro di poliuretano, ormai sono perfettamente stabili e quindi è ridotto anche il rischio di dislocazione. Per citare altri importanti vantaggi, si ha una riduzione importante del rischio di rotazione dell'impianto, di rippling (pieghe o rughe che compaiono sulla superficie), di incapsulamento [23].



Figura 2.8: protesi rivestite con schiuma di poliuretano dell'azienda POLYTECH.

Un'innovazione nell'ambito delle schiume poliuretaniche è stata portata dall'azienda POLYTECH con l'introduzione della protesi Microthane, rivestita completamente con schiuma di micropoliuretano. Quest'ultima, rispetto alla precedentemente descritta schiuma poliuretanicca, presenta una maggiore reticolazione e quindi un rischio molto inferiore di contrattura capsulare; agisce inoltre come 'sostegno dei tessuti' e facilita la crescita e l'integrazione dei tessuti per migliorare la stabilità dell'impianto: questo crea una matrice 3D a pori aperti che opera come un'impalcatura interna del tessuto.

Dopo l'impianto, l'area di contatto tra il rivestimento della protesi e il tessuto circostante agisce da strato di transizione favorevole per il tessuto, in cui si sviluppa un processo di guarigione naturale, creando la massima aderenza tra l'impianto e il tessuto. A tale proposito, durante il processo di guarigione e quindi di formazione della capsula periprotetica, ciò che rende ancora più sicure queste protesi rispetto a quelle sia con superficie liscia che testurizzata, è il fatto che

non si nota la formazione di un'unica capsula fibrotica intorno all'impianto, ma grazie alla micro-incapsulazione della schiuma di poliuretano, viene favorita la crescita di molte microcapsule intorno alla schiuma, e dunque le forze contrattili vengono neutralizzate.

Nel corso di diverse settimane, il rivestimento dell'impianto Microthane si riempirà di tessuto sano e altamente vascolarizzato, assicurando che il sistema immunitario del ricevente sia attivo sulla superficie stessa dell'impianto (Figura 2.9) [24].

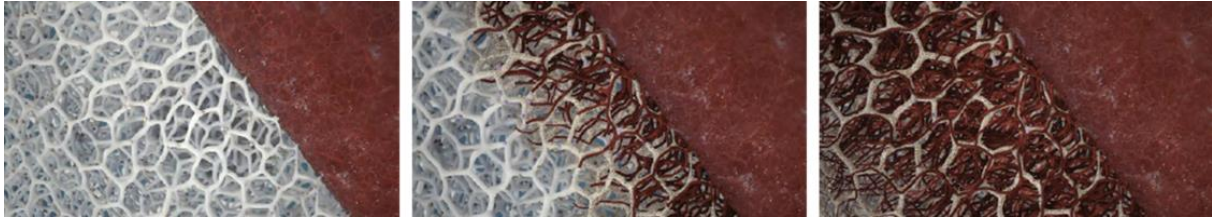


Figura 2.9: immagini in sequenza (da sx a dx) del processo di guarigione attiva in cui si nota l'evoluzione della vascolarizzazione dei tessuti adiacenti nelle celle dell'impianto.

2.4.2 L'utilizzo di matrici dermiche acellulari nell'ambito della chirurgia ricostruttiva

Le matrici acellulari dermiche (ADM) sono dei supporti di tessuto privi del DNA del donatore, che fungono da supporto ricco di elastina e di collagene per le protesi, al fine di garantire un'efficace integrazione con i tessuti molli circostanti. L'ADM si ottiene prelevando una spessa porzione di cute da una fonte donatrice, che nella maggior parte dei casi è rappresentata da cadaveri umani, o da tessuti di animali (xenograft) come maiali, mucche o ancora dalla sottomucosa intestinale.

Il derma è uno strato della pelle ricco di collagene, elastina, fibrillina e glicosamminoglicani e fornisce un sistema di supporto semirigido ma elastico per fare in modo che le ferite non si trasformino in traumi, ma funge anche da sostegno per l'epidermide sovrastante.

All'interno del derma, oltre ad elementi fondamentali per il processo di guarigione, si trovano numerose terminazioni nervose, ghiandole sudoripare e altre cellule ricche di materiale antigenico, la cui presenza rende difficili se non impossibili interventi di allotrapianto e xenotrapianto senza incorrere a rigetto. A questo proposito, sono state ideate diverse tecniche per rimuovere dalla matrice le componenti cellulari e nucleari, producendo quindi un materiale pronto a svolgere la sua funzione di supporto strutturale per una migliore guarigione delle ferite: il processo prende il nome di de-cellularizzazione. Tra le tecniche più conosciute per procedere con la rimozione delle cellule si possono citare: lisi osmotica, agitazione, ossidazione, delipidizzazione, emulsione, alchilazione, trattamento con endonucleasi, bagno antimicrobico, congelamento, liofilizzazione e conservazione in alcol; nel caso in cui la pelle sia prelevata da

donatore umano, è importante effettuare dei controlli iniziali per individuare possibili malattie come HIV o epatite. In generale ogni casa produttrice (Tabella 2.2) procede applicando il processo più vantaggioso: nel caso della AlloDerm, una delle principali nell'ambito delle ADMs, utilizza un processo di manifattura che comincia con l'immersione del tessuto in una soluzione creata per separare ed eliminare il derma; in seguito, tramite una serie di detergenti, vengono eliminate le componenti cellulari e una volta ottenuto il prodotto sterile, viene liofilizzato per evitarne la cristallizzazione [25].

Proprietary Name	Manufacturer	Origin	Unique Attributes
AlloDerm, Repliform	Lifecell Corp.	Human dermis	
Cymetra	Lifecell Corp.	Human dermis	Micronized for injection
NeoForm	Mentor	Human dermis	
Flex HD	Musculoskeletal Transplant Foundation and Ethicon	Human dermis	Prehydrated and ready for use
DermaMatrix	Musculoskeletal Transplant Foundation and Synthes	Human dermis	
SureDerm	Hans Biomed Corp.	Human dermis	
Glyaderm	Euroskinbank	Human dermis	Relatively inexpensive
Collamend	Bard	Porcine dermis	
Permacol, Enduragen, Pelvicol, Zimmer Collagen	Tissue Science Laboratories	Porcine dermis	Available in large sheets for abdominal wall use (Permacol); crosslinked
Strattice	Lifecell Corp.	Porcine dermis	Premade geometric shapes
Surgisis (SIS)	Cook Biomedical	Porcine intestinal submucosa ^a	Variety of products for specific indications
Surgimend	TEI Biosciences	Bovine dermis	
Veritas, Peri-Guard	Synovis	Bovine pericardium ^a	Noncrosslinked
Integra	Integra LifeSciences Corp.	Bovine Achilles tendon and shark cartilage ^a	Semipermeable silicone layer over matrix
Matriderm	Skin and Healthcare	Bovine dermis	Designed for skin defects
PeInac	Gunze Corp.	Bovine dermis	Designed for skin defects
Renoskin	Groupe Perouse Plastic	Bovine dermis	Silicone outer layer; designed for skin defects

Tabella 2.2: matrici dermiche acellulari disponibili in commercio.

Le matrici dermiche acellulari forniscono un'impalcatura strutturale per la rigenerazione dei tessuti molli e per la rivascolarizzazione, grazie alla vasta rete presente nella matrice extracellulare in cui avviene l'integrazione delle cellule ospiti e all'abilità di modulare la guarigione delle ferite tramite la presenza di fattori di crescita intrinseci e componenti della matrice stessa (collagene, elastina, proteoglicani, laminina e membrana basale).

Da un punto di vista chirurgico, la matrice viene utilizzata come involucro della protesi e dell'espansore tissutale nel caso di ricostruzione mammaria a singolo stadio. Dato che il muscolo pettorale maggiore non riesce a coprire totalmente la parte inferiore dell'impianto protesico, la matrice dermica acellulare viene posizionata come "tappa-buco" tra il muscolo pettorale maggiore e la piega (o linea) inframammaria (Figura 2.10) [25,26].

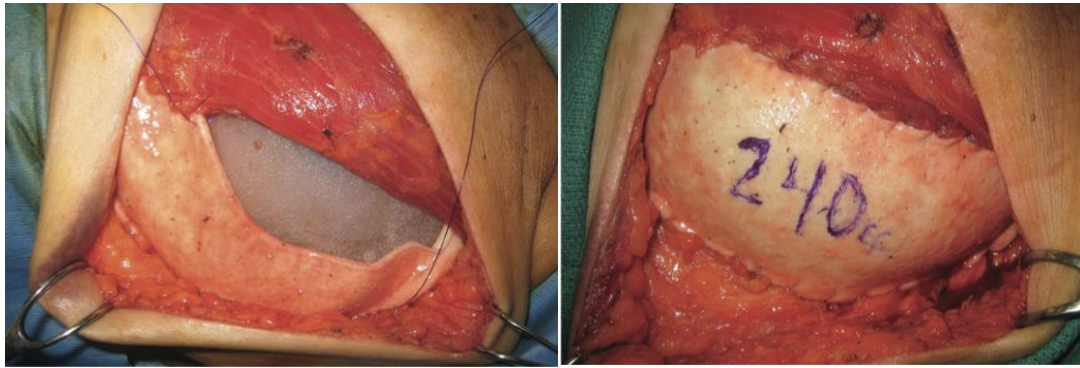


Figura 2.10: scaffold di matrice acellulare dermica durante il posizionamento tra il muscolo pettorale maggiore (lembo superiore) e la piega inframammaria (lembo inferiore).

2.4.3 Un'alternativa alle matrici dermiche acellulari: le reti sintetiche

La ricerca sulle soluzioni per migliorare l'intervento di mastoplastica additiva dal punto di vista delle conseguenze post-operatorie è ancora in atto. Sicuramente la possibilità di impiantare tessuto umano o animale privo delle componenti cellulari ha rappresentato un grande passo avanti per la chirurgia plastica in generale, infatti questo particolare scaffold può essere utilizzato come sostegno in qualsiasi tipo di intervento, come quello per la ricostruzione della testa o della parete addominale. Nonostante la sua caratteristica di tessuto biologico, anch'esso può portare all'insorgenza di alcune complicazioni (si pensi al rischio di sieroma). A tal proposito si è cercata un'alternativa alla già nota matrice biologica, ed è stata concepita la creazione di una rete sintetica (Figura 2.11) che possa fungere oltre che da supporto della protesi, anche da punto di avvio per il processo di guarigione e di integrazione con i tessuti molli.

La rete sintetica, a differenza di quella biologica, è costruita con polimeri sintetizzati in massa (tipicamente materiali da sutura) e includono sia i multifilamenti come il Polyglactin 910, sia i mono-filamenti come il poli- β -idrossibutirrato. Le reti sintetiche possono essere suddivise in due categorie principali:

1. le reti permanenti, tra cui la più nota è sicuramente quella costituita da polipropilene titanizzato: si tratta di un mono-filamento di polipropilene intrecciato su se stesso, ricoperto da 30-50 nm di titanio per innalzare il tasso di biocompatibilità mantenendo però una certa flessibilità;
2. le reti assorbibili, tra le quali la più nota è la già citata rete Polyglactin 910 (copolimero in glicolide e L-lattide): si tratta di un foglio rettangolare di materiale da sutura multi-filamento e assorbibile, cucito o intrecciato, che perde completamente la sua resistenza nel giro di due mesi [27].

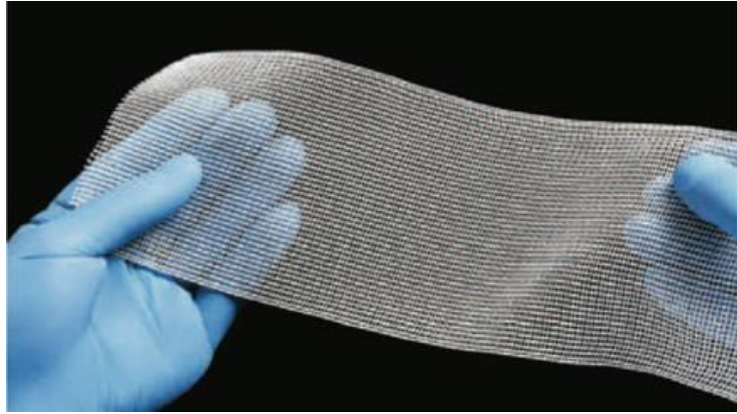


Figura 2.11: rete sintetica prima di venire posizionata sull'impianto protesico.

2.5 Altre tipologie di protesi

Le protesi al silicone, ed in piccola parte anche quelle riempite con soluzione salina, sono quelle maggiormente diffuse sul mercato, ma ciò non vuol dire che negli anni non siano stati molteplici i materiali utilizzati come riempimento del guscio protesico. Uno dei primi design innovativi è stato effettuato per le protesi chiamate Double-Lumen (doppio lume). Tali impianti hanno un nucleo riempito di silicone racchiuso da un guscio esterno riempito di soluzione salina che presumibilmente riduce il movimento del silicone dello strato interno e può anche agire come dispositivo di rilascio di steroidi e antibiotici. Il dispositivo a doppio lume inverso, sviluppato in seguito, presenta un guscio esterno in silicone e un riempimento interno di soluzione salina [28].

I trigliceridi vegetali sono polimeri organici biocompatibili, non allergenici, e si credeva anche non tossici, non carcinogeni e non teratogeni. Il primo e l'unico ad essere utilizzato clinicamente è stato l'olio di soia, utilizzato come riempimento delle protesi Trilucent prodotte dalla Lipomatrix: queste protesi erano state progettate per essere radiotrasparenti, ma già nel 1999 sono state ritirate dal mercato per la preoccupazione che il materiale di riempimento generasse genotossine nei tessuti circostanti l'impianto, ma anche per risultati clinici negativi legati all'infiammazione e al gonfiore a seguito dell'operazione.

La viscoelasticità dell'olio di soia e di altri tipi di olio, come quello di arachidi, si colloca a metà strada tra quella del gel di silicone e della soluzione fisiologica.

I trigliceridi sono formati da lunghe catene di atomi di carbonio e quindi sono radiotrasparenti alla mammografia (fattore legato al numero atomico del carbonio).

Anche le protesi con gel di polivinilpirrolidone (PVP) contenenti polisaccaridi sono state ritirate dal commercio a causa di problemi legati alla sicurezza, oltre che per il fatto che queste protesi si sono gonfiate nel tempo.

Un esito simile agli impianti Trilucent l'hanno avuto anche le protesi riempite con idrogel. L'idrogel è un polimero organico formato da una miscela di polisaccaridi e acqua; ha la caratteristica di trattenere acqua nella sua struttura senza dissolversi, andando incontro a imbibizione (assorbimento di un liquido da parte di un corpo o di una sostanza senza che questo causi una reazione). Sono stati descritti casi di edema della mammella in seguito a rottura dell'impianto. Questi impianti sono attualmente prodotti dalla PIP (PIP hydrogel), dalla NovaMed (NovaGold) e dalla Arion (Monobloc) [15].

3. COMPLICANZE ASSOCIATE ALL'IMPIANTO DELLE PROTESI

3.1 L'importanza della biocompatibilità

Per definizione, la biocompatibilità è la capacità propria di un materiale di non evocare reazioni avverse nel sistema vivente. Di conseguenza, un materiale si definisce biocompatibile quando mostra un comportamento non irritante, non cancerogeno, non tossico, non trombogenico: in generale è necessario che il materiale sia bio-inerte.

Nell'ambito della bioingegneria o della medicina rigenerativa, uno dei problemi principali ancora oggi oggetto di discussione è proprio la compatibilità dei materiali con l'ambiente biologico.

Fondamentalmente il concetto di compatibilità si può suddividere in tre aspetti:

1. **Compatibilità morfologica:** riguarda tutto ciò che è legato alla morfologia della protesi, dunque la sua forma, il suo volume. È importante valutare questo aspetto poiché l'impianto protesico deve adattarsi al volume disponibile, dunque un impianto troppo grande o troppo piccolo renderebbe complicata l'integrazione con i tessuti circostanti. Inoltre, deve avere una massa tale da impedire le migrazioni causate dalle forze gravitazionali.
2. **Compatibilità funzionale:** come riporta già il nome, riguarda la funzione che deve avere la protesi o l'impianto. Bisogna sempre ricordare che si parla di dispositivi artificiali, dunque è possibile che non svolgano accuratamente il ruolo richiesto fisiologicamente, e per questo motivo bisogna prestare particolare attenzione a questo aspetto al fine di minimizzare o evitare risposte indesiderate da parte dell'organismo ospite.
3. **Biocompatibilità:** descritta precedentemente, il termine si riferisce alle possibili reazioni che un corpo esterno può generare una volta messo in contatto con l'ambiente biologico, che possono essere dannose sia per i tessuti biologici che per i materiali stessi utilizzati nella costruzione degli impianti protesici.

La reazione a lungo termine di un organismo ad un impianto non può essere prevista, proprio per questo motivo è necessaria la produzione di un dispositivo che sia il più possibile compatibile con l'ambiente biologico [29]. Alcune caratteristiche che influiscono su una risposta non sfavorevole sono la superficie dell'impianto opportunamente lavorata, l'inerzia, la capacità dell'impianto di rimanere nel sito; inoltre è necessario evitare fenomeni di rottura, diffusione e l'impianto non deve causare malattie, come i linfomi anaplastici legati proprio alle protesi.

In generale, la risposta dell'organismo all'impianto di una protesi è simile al meccanismo che si attiva nel processo di guarigione di una ferita o di una lesione, con l'unica differenza che la guarigione di una ferita attorno ad un impianto non può essere monitorata né facilmente né direttamente. Il tipo di risposta generata dall'organismo subito dopo l'impianto di una protesi prende il nome di “*reazione da corpo estraneo*”, in cui è possibile riconoscere cinque fasi: adsorbimento delle proteine, infiammazione acuta, infiammazione cronica, formazione di cellule giganti da corpo estraneo e formazione della capsula fibrotica [30].

Nel caso degli impianti protesici al seno, l'interazione tra organismo e corpo esterno si conclude con la formazione di tessuto fibrotico attorno all'impianto, permettendone il suo perfetto ancoraggio ai tessuti sotto al seno.

3.1.1 Risposta dell'organismo all'innesto di una protesi mammaria

La *reazione da corpo estraneo* è un processo inevitabile che avviene qualora si decida di impiantare un qualsiasi materiale nel corpo. Infatti, l'intervento eseguito per l'impianto della protesi porta con sé una serie di ferite ai tessuti circostanti che attivano il processo infiammatorio. Nel giro di poco tempo, la fase infiammatoria lascia spazio alla formazione di una capsula fibrotica attorno l'impianto, isolandolo dai tessuti circostanti.

La fase di adsorbimento delle proteine nella *reazione da corpo estraneo* si avvia subito dopo l'inserimento dell'impianto, grazie ad un flusso ingente di cellule infiammatorie derivato dallo stravasamento di sangue durante l'intervento. In pochi secondi le proteine - tra cui albumina, fibrinogeno, fibronectina, vitronectina - vengono adsorbite in maniera non specifica sulla superficie dell'impianto: questo strato di proteine rappresenta una matrice provvisoria (Figura 3.1), con cui le nuove cellule che via via vengono chiamate nel sito dell'infezione possono interagire.

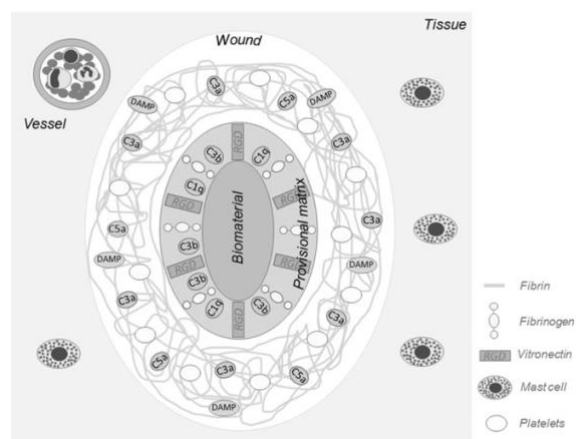


Figura 3.1: prima fase della reazione da corpo estraneo in cui si ha la formazione di una matrice provvisoria attorno alla protesi.

In seguito, le proteine di questa matrice competono per l'adsorbimento nella superficie: proteine molto piccole come l'albumina, tendono ad essere adsorbite con maggiore facilità e ad essere successivamente rimpiazzate da proteine più grandi e con maggiore affinità come il fibrinogeno ed il collagene. Questo interscambio tra proteine di piccole dimensioni con altre di dimensioni maggiori sulla superficie di un impianto è stato studiato per la prima volta da Vroman e Adams nel 1969 ed è passato alla storia come *l'effetto Vroman*. In generale, l'effetto Vroman è caratterizzato da un continuo adsorbimento e desorbimento di proteine e avviene con maggiore facilità sulle superfici idrofiliche degli impianti. L'adsorbimento delle proteine è un processo complesso che dipende da molti fattori legati alla superficie dell'impianto come la topografia, l'elasticità, la composizione chimica ma anche da alcune caratteristiche delle proteine come la struttura, il punto isoelettrico, la loro concentrazione nel plasma. Alla fine di questo processo, la matrice provvisoria ottenuta è composta principalmente da un coagulo di fibrina, derivata dalla conversione del fibrinogeno.

Dopo pochi minuti dall'adsorbimento delle proteine si entra nella fase di infiammazione acuta (Figura 3.2), dove si assiste all'infiltrazione di leucociti polimorfonucleati, i neutrofilo, che aderiscono allo strato di proteine generatosi precedentemente sull'impianto e iniziano a rilasciare alcuni fattori che consentono la progressione del processo infiammatorio. A causa della loro vita breve (dalle 24h alle 48h), i neutrofilo vengono rimpiazzati dai monociti (inizio della fase di infiammazione cronica) che hanno emivita decisamente più lunga (giorni, settimane), i quali, una volta arrivati nel sito dell'impianto, cominciano a differenziarsi in macrofagi, in grado di produrre una serie di componenti biologicamente attive come proteine, radicali liberi, fattori di crescita, e a rilasciare chemio-attrattori in grado di reclutare ulteriori macrofagi.

Non appena i macrofagi popolano il sito in cui è stata inserita la protesi, iniziano ad aderire alle componenti della matrice provvisoria formatasi precedentemente, e quindi fibronectina, vitronectina, fibrinogeno, tramite specifici recettori integrinici.

Dopo questa fase di adesione, i macrofagi subiscono un rimodellamento citoscheletrico e iniziano ad appiattirsi su tutta la superficie disponibile dell'impianto con l'obiettivo di fagocitarlo e di estendere i podosomi, ossia delle strutture specializzate nella proteolisi e nel rimodellamento della matrice extracellulare; intanto i macrofagi continuano a secernere fattori chemioattrattivi con il compito di reclutare altri macrofagi per procedere con la reazione.

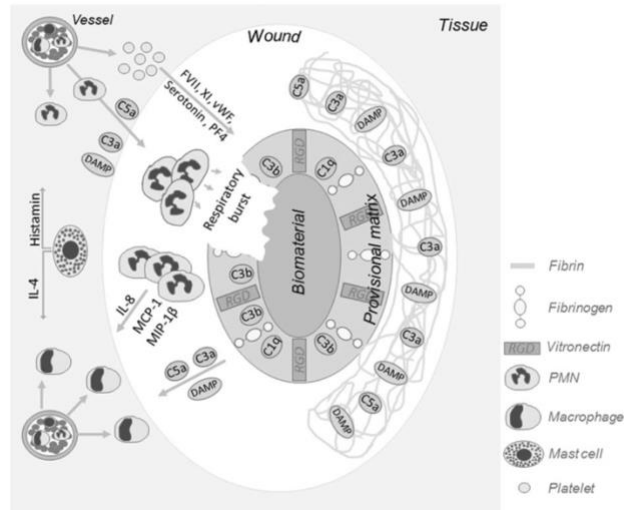


Figura 3.2: seconda fase della reazione da corpo estraneo, l'infiammazione acuta; in questa fase si nota la predominanza di leucociti polimorfonucleati, e l'arrivo dei primi monociti/ macrofagi nel sito.

Lo strato di macrofagi attorno all'impianto crea un ambiente isolato con l'intento di fagocitare la protesi: gli impianti protesici al seno non possono essere fagocitati a causa della loro grandezza, e questo porta alla secrezione di enzimi di degradazione, radicali ossigeno e acidi che potrebbero danneggiare i tessuti circostanti, oltre che l'impianto stesso.

Durante la transizione alla fase di infiammazione cronica nella *reazione da corpo estraneo*, i macrofagi passano da un fenotipo di attivazione pro-infiammatoria (macrofagi di tipo M1), ad un fenotipo antinfiammatorio e di rigenerazione tissutale (macrofagi di tipo M2).

Il processo di fagocitosi risulta dunque incompleto, proprio perché le dimensioni dell'impianto sono nettamente superiori rispetto a quelle dei macrofagi e per questo si parla di *fagocitosi frustrata*. Una diretta conseguenza della fagocitosi frustrata è rappresentata dalla quarta fase del processo di reazione da corpo estraneo: i macrofagi si "radunano" e si uniscono a formare delle *cellule giganti da corpo estraneo* sulla superficie dell'impianto (Figura 3.3), capaci di fagocitare organismi/oggetti di maggiore dimensione.

Il processo di trasformazione dei macrofagi in cellule giganti è il tratto distintivo della reazione e dipende strettamente dalle proteine presenti sulla superficie, ma anche dalle proprietà del materiale usato per la fabbricazione dell'impianto.

I macrofagi di tipo M2 svolgono un ruolo fondamentale nella produzione di tessuto fibroso che ricopre l'impianto nell'ultima fase della reazione, poiché sono responsabili della secrezione di citochine, tra cui il $TGF-\beta$, le quali svolgono la funzione di reclutamento e organizzazione dei fibroblasti che sintetizzano il collagene, portando così alla formazione di una capsula intorno alla protesi dallo spessore di 50-200 μm ; infine, le cellule vascolari endoteliali e i fibroblasti

che circondano l'impianto proliferano per formare tessuti di granulazione: la fibrosi è il capolinea della reazione da corpo estraneo (Figura 3.4) [30-33].

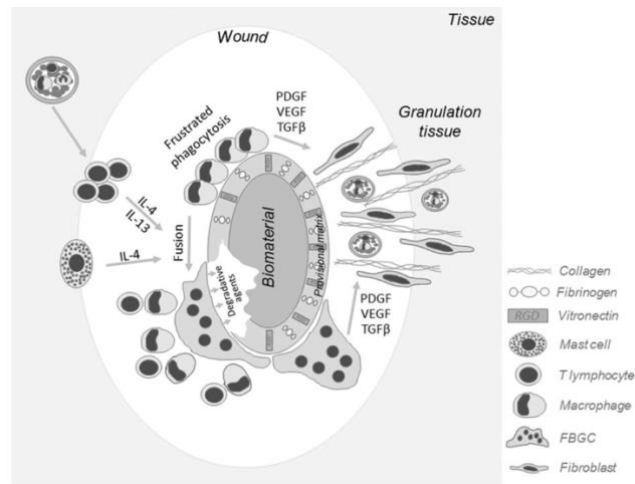


Figura 3.3: terza e quarta fase della reazione da corpo estraneo durante la quale si sviluppa l'infiammazione cronica e si osserva il processo di formazione delle cellule giganti da corpo estraneo a seguito della fagocitosi frustrata.

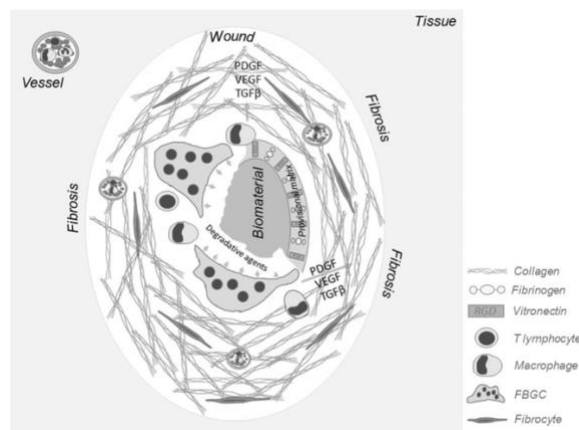


Figura 3.4: quinta ed ultima fase della reazione da corpo estraneo con la formazione della capsula fibrotica con la permanenza di pochi macrofagi, cellule giganti da corpo estraneo, linfociti.

3.2 Complicanze associate all'impianto di protesi al seno

La mastoplastica additiva e ricostruttiva sono sicuramente due degli interventi più eseguiti nell'ambito della chirurgia plastica. Ciononostante, ancora oggi sono diversi i casi in cui si riscontra l'insorgenza di problematiche più o meno gravi legate all'inserimento di un corpo estraneo all'interno del tessuto mammario.

La reazione da corpo estraneo è una conseguenza inevitabile ogni volta che l'ambiente interno dell'organismo viene a contatto con un corpo che non viene riconosciuto come proprio: in base all'evoluzione di questa reazione, si possono avere casi in cui la protesi si integra perfettamente

con i tessuti circostanti, ma anche casi in cui la reazione infiammatoria viene “esasperata” portando a conseguenze importanti come l’insorgere della contrattura capsulare o lo sviluppo di linfoma. Nella letteratura sono descritti anche casi di rottura delle protesi, di trasudazione o ancora dolore dovuto all’utilizzo di una misura della protesi esagerata.

In generale, le complicazioni dovute all’inserimento di impianti protesici al seno possono essere suddivise in tre categorie in base alla tempistica con cui si sviluppano: immediate, a breve termine, a lungo termine.

3.2.1 La contrattura capsulare

Una delle conseguenze più note dopo l’impianto di una protesi al seno è sicuramente la contrattura capsulare. Come descritto precedentemente, la formazione di una capsula fibrotica attorno l’impianto è una reazione fisiologica che sviluppa l’organismo non appena individua la presenza di un corpo estraneo; la formazione di tale capsula risulta da un lato una reazione del tutto positiva, in quanto consente una maggiore stabilità della protesi nei tessuti limitrofi, dall’altro, nel caso in cui lo spessore della stessa risulti essere maggiore rispetto ai valori fisiologici, allora si parla di contrattura capsulare sulla quale è necessario intervenire al fine di evitare danni maggiori.

La contrattura capsulare riguarda l’ispessimento della capsula di collagene formata durante la *reazione da corpo estraneo*, e può provocare forti dolori e deformazioni al livello del seno.

Nel 2015, sono stati riportati 43.000 casi di rimozione di protesi negli Stati Uniti d’America e l’FDA riferisce che tra il 20% ed il 40% dei soggetti sottoposti a mastoplastica additiva e tra il 40% ed il 70% di quelli sottoposti a mastoplastica ricostruttiva hanno subito un’ulteriore operazione entro i dieci anni dall’innesto della protesi [34].

La contrattura capsulare non è correlata ad una specifica causa, ma diversi fattori possono dare il via a tale patologia: l’invasione dell’ambiente protesico da parte di batteri con la conseguente formazione di un biofilm sull’impianto (Figura 3.5), il rischio di sieroma o ematoma nell’ambiente dell’impianto, trattamenti per il cancro al seno, l’errato posizionamento della protesi o dispersione del gel di riempimento.

In generale, si parla di contrattura capsulare quando si registra una risposta infiammatoria prolungata e dunque un eccessivo reclutamento di fibroblasti che portano all’ispessimento del tessuto cicatriziale che si forma intorno alla protesi, portando dolore, indurimento del seno, cambiamenti nell’aspetto del seno e sensazione di compressione. La capsula risultante contiene tre strati: uno strato cellulare interno composto principalmente da fibroblasti, cellule T e

macrofagi; uno strato vascolare intermedio di tessuto connettivo fluido; uno strato vascolare esterno di tessuto connettivo denso [35].

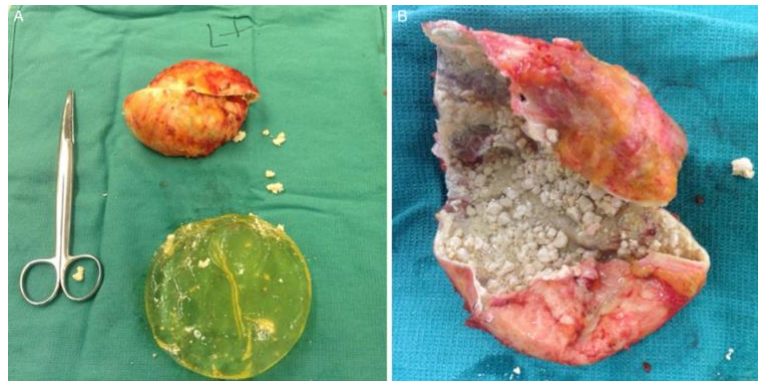


Figura 3.5: (A) impianto protesico con contrattura capsulare di grado IV secondo la scala di Baker dopo espanto e capsulectomia. (B) La capsula è stata incisa mostrando la coltura batterica interna.

In base allo stato della capsula fibrotica, la contrattura capsulare può essere classificata utilizzando il sistema di classificazione di Baker (Figura 3.6) [36]:

- Grado I: il seno appare normale alla vista e morbido al tatto; la capsula ha ancora una certa flessibilità.
- Grado II: il seno appare non deformato ma al tatto comincia a mostrarsi rigido.
- Grado III: il seno risulta mediamente duro al tatto e potrebbe assumere delle forme anomale. Ad esempio, può essere eccessivamente tondo – soprattutto nel polo superiore – e i capezzoli potrebbero deformarsi. Nonostante ciò, questo grado di contrattura capsulare non causa tanto dolore.
- Grado IV: come nel grado III, la contrattura provoca indurimento e deformazione del seno. In questo caso il paziente accusa un forte dolore al seno.

Il trattamento della contrattura capsulare può variare a seconda della gravità dei sintomi. In alcuni casi, potrebbe essere necessario rimuovere e sostituire le protesi mammarie, rimuovere parte della capsula ispessita o eseguire un'enucleazione capsulare, che consiste nella rimozione completa della capsula. Alcuni chirurghi possono raccomandare anche l'utilizzo di protesi mammarie testurizzate o trattamenti con ultrasuoni per aiutare a prevenire o ridurre la contrattura capsulare.

Esistono diverse soluzioni disponibili per il trattamento della contrattura capsulare: la scelta della soluzione dipenderà dalla gravità dei sintomi e dalle preferenze del paziente. In primis si può ricorrere alla terapia farmacologica, cioè possono essere prescritti farmaci per aiutare a ridurre l'infiammazione e la contrattura della capsula. Ad esempio, possono essere prescritti

corticosteroidi o farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS) per ridurre l'irritazione e l'infiammazione nel tessuto circostante la protesi. Ad esempio, il pirlfenidone è stato studiato come farmaco anti-fibrotico e antinfiammatorio ed è stato scoperto essere responsabile della riduzione della contrattura capsulare intervenendo sulla modulazione dei livelli di TGF- β [35].

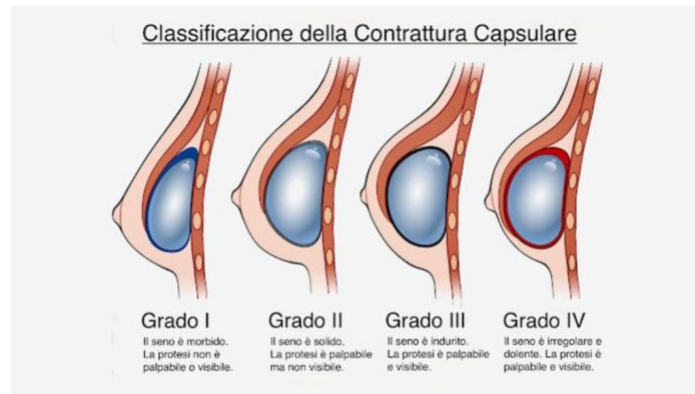


Figura 3.6: diversi gradi di contrattura capsulare secondo la scala di Baker.

Un'alternativa alla terapia farmacologica è data dal massaggio del seno: massaggiando il seno durante il periodo di guarigione dall'intervento di ricostruzione o aumento del seno, si può aiutare a prevenire la contrattura capsulare incoraggiando il tessuto circostante alla mammella a mantenere sempre un certo grado di palpabilità, morbidezza e flessibilità.

È possibile anche procedere chirurgicamente, specialmente quando il livello di contrattura capsulare è molto alto: a tale proposito si parla di capsulectomia o capsulotomia aperta. La prima consiste nella rimozione dell'impianto esistente e della capsula di tessuto cicatriziale che lo avvolge e nel successivo inserimento di un nuovo impianto avvolto da un foglio di matrice dermica acellulare. Nel precedente capitolo è stato già analizzato l'utilizzo della matrice dermica acellulare come flap aggiuntivo nella chirurgia mammaria ricostruttiva collegato al muscolo pettorale per garantire una migliore integrazione con i tessuti circostanti; in questo ambito l'ADM inibisce la contrattura capsulare tramite due meccanismi: impedendo l'interazione delle cellule e dei mediatori infiammatori dei tessuti adiacenti con la superficie dell'impianto, e formando un'ulteriore strato isolante attorno alla protesi in modo da interferire con le contrazioni centripete del tessuto capsulare vicino [35].

La capsulotomia consiste nell'apertura della capsula di tessuto intorno all'impianto tramite piccole incisioni e parte della stessa potrà anche essere rimossa. L'obiettivo è che la capsula si apra, dando all'impianto più spazio per muoversi. In alcuni casi è possibile anche la totale sostituzione dell'impianto.

Un ultimo intervento che si può eseguire riguarda la ricostruzione autologa, durante la quale il chirurgo plastico rimuove la protesi e ricostruisce il seno con un lembo di tessuto ricavato da un'altra zona del corpo, come la pancia o i glutei. Un importante vantaggio di questo approccio è che elimina il rischio di contrattura capsulare, di contro richiede dei tempi di guarigione maggiori rispetto agli interventi descritti in precedenza [37].

3.2.2 Il linfoma anaplastico a grandi cellule

Un'altra complicazione che si osserva in pazienti che presentano un impianto protesico al seno è l'insorgere del linfoma anaplastico a grandi cellule associato alle protesi mammarie (dall'inglese Breast Implant Associated Anaplastic Large Cell Lymphoma, BIA-ALCL). Il linfoma anaplastico a grandi cellule è una rara forma di Linfoma non-Hodgkin che può svilupparsi a carico dei linfociti T del sistema immunitario in corrispondenza dei tessuti periprotetici, circa dopo 7-10 anni dopo l'esposizione ad un impianto protesico testurizzato. È importante specificare che il BIA-ALCL non è un cancro al seno: come dice il termine stesso è un linfoma, ossia un cancro al sistema linfatico in corrispondenza dell'impianto. Nei casi più comuni si presenta come un sieroma localizzato pieno di fluido contenente cellule maligne (Figura 3.7) con un'elevata espressione di CD30 (proteina prodotta da cellule immunitarie come le cellule T appartenente alla famiglia dei recettori per i fattori di necrosi tumorale); nei casi più rari, il BIA-ALCL forma una massa capsulare e solo talvolta coinvolge i linfonodi regionali.

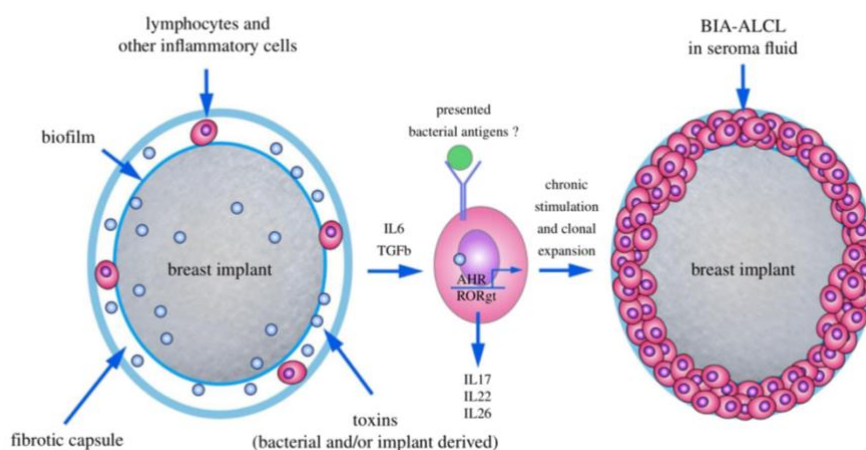


Figura 3.7: sviluppo del BIA-ALCL come sieroma localizzato.

Come nella contrattura capsulare, le cause che generano il linfoma anaplastico a grandi cellule sono piuttosto ignote, anche se in certi casi si è ipotizzata una certa relazione con l'infiammazione cronica, la formazione di biofilm e predisposizione genetica.

Per quanto riguarda l'ipotesi da infiammazione cronica, si sostiene che nel tempo uno stimolo antigenico sostenuto crei un ambiente favorevole allo sviluppo del tumore.

La presenza di batteri durante l'operazione di mastoplastica, o la presenza di batteri nel paziente può infettare gli impianti protesici, principalmente testurizzati, sviluppando un biofilm batterico. La comparsa di BIA-ALCL causata da biofilm in impianti testurizzati è dovuta al fatto che questi ultimi tendono ad ospitare meglio la popolazione batterica rispetto alle protesi con superficie liscia; inoltre, gli impianti testurizzati contengono pori interconnessi e disposti in modo casuale tali da rendere difficile l'accesso e la conseguente eliminazione dei batteri da parte dei neutrofili e di altre cellule immunitarie.

La diagnosi di BIA-ALCL avviene tramite esame istopatologico che richiede l'analisi citologica del liquido del sieroma prelevato e l'analisi istologica del tessuto. L'intervento di rimozione del linfoma è quello di capsulectomia totale già visto nel caso della contrattura capsulare [38,39].

3.2.3 Altri rischi legati all'innesto di protesi al seno

I rischi di contrattura capsulare e di linfoma a grandi cellule sono sicuramente le conseguenze più gravi a cui può incorrere un paziente sottoposto a intervento di mastoplastica, in quanto in gran parte dei casi la risoluzione di tale problematica richiede che il paziente si sottoponga ad un ulteriore intervento per la rimozione della protesi.

Esistono però altri rischi più comuni:

- Dolore, che si può sviluppare nell'area operata e nel muscolo toracico, spalla e braccio dopo l'intervento chirurgico. La causa maggiore del dolore è legata ad un errato posizionamento dell'impianto o all'utilizzo di un impianto di dimensioni maggiori rispetto al volume disponibile.
- Deformità della cassa toracica, come conseguenza della pressione esercitata dall'impianto.
- Rottura dell'impianto, uno dei rischi più frequenti dopo l'inserimento della protesi. La rottura di una protesi mammaria può essere dovuta a diversi fattori: esposizione ad un forte stress meccanico, utilizzo di un materiale non a norma, difetti di fabbricazione oppure per esecuzione errata da parte del chirurgo dell'inserimento della protesi.

- Bleeding del silicone o della sostanza di riempimento, rischio dovuto principalmente alla resistenza e alla composizione dell'involucro esterno. Nel caso in cui il riempimento della protesi sia la soluzione fisiologica, le conseguenze sono lievi poiché il corpo tende ad assorbirla, ma nel caso del silicone i rischi sono maggiori perché può portare ad infezioni anche gravi [40,41].

3.3 Nuovi approcci con l'utilizzo di cellule staminali adipose

Negli ultimi anni, l'interesse nell'utilizzo di grasso autologo come alternativa alle protesi è cresciuto esponenzialmente. Questo interesse è dato principalmente dalle potenzialità che mostra questa tecnica tra cui l'elevata biocompatibilità in quanto il grasso è reperito direttamente dal paziente, è non immunogenico, ha proprietà meccaniche simili al tessuto mammario, dona sicuramente un'estetica più naturale al seno del paziente e non incorre in problemi di rigetto.

Quando si tratta dell'utilizzo di grasso autologo, si fa riferimento ad una tecnica ben precisa che prende il nome di “*lipofilling*”; il principio base del *lipofilling* è quello di focalizzare il proprio interesse su cellule staminali che si trovano nel tessuto adiposo, con la capacità di differenziarsi in adipociti maturi.

3.3.1 Cellule staminali e ADSCs

Le cellule staminali sono cellule non differenziate in grado di trasformarsi quindi in cellule di diversi tessuti o organi. In particolare, le cellule staminali derivate da tessuto adiposo (*Adipose-Derived Stem Cells*) sono cellule staminali mesenchimali, ovvero cellule multipotenti in grado di differenziarsi in molti tipi cellulari come adipociti, osteociti, condrociti e neurociti [42]. Le cellule staminali adipose si trovano nella cosiddetta frazione vascolare stromale (SVF) del tessuto adiposo e sono responsabili della guarigione delle ferite, rigenerazione dei tessuti e mantenimento dell'innesto, ma sono anche responsabili del rilascio di fattori di crescita (Figura 3.8).

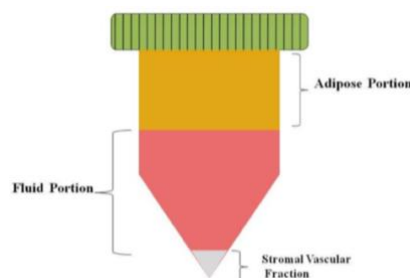


Figura 3.8: componenti del tessuto adiposo.

Purtroppo, nella SVF sono inclusi i macrofagi, globuli bianchi responsabili della degradazione della matrice extracellulare dei tessuti e di fenomeni di invecchiamento: ecco perché, prima del loro innesto, le ADSCs devono essere isolate dalla SVF, e ciò può avvenire o tramite tecniche di digestione enzimatica, in cui entrano in gioco enzimi come la collagenasi, la tripsina e la dispasi, o attraverso processi di centrifugazione, filtrazione e lavaggio.

Nella procedura di centrifugazione il tessuto adiposo viene raccolto tramite liposuzione e quindi trattato con enzimi o soluzioni apposite per rompere la matrice extracellulare e liberare le cellule staminali adipose e le altre cellule della SVF. Successivamente, il campione viene centrifugato a una velocità specifica che permette la separazione delle diverse cellule in base alla loro densità. Le cellule staminali adipose, essendo più leggere rispetto ad altre cellule, si separano dalla parte più densa della SVF.

Un'altra tecnica utilizzata per la separazione delle cellule staminali adipose è la filtrazione. In questo caso, il campione di SVF viene passato attraverso filtri a porosità controllata che permettono il passaggio delle cellule staminali adipose, trattenendo invece le altre cellule [43].

3.3.2 Procedura d'intervento

L'intervento di inserimento delle ADSCs nel seno del paziente, che prende il nome di lipofilling, è molto semplice. Innanzitutto, si preleva attraverso una micro-cannula del tessuto adiposo dalla zona donatrice del paziente in cui questo è presente in maggiore quantità, come ad esempio l'addome, le cosce, i fianchi o le ginocchia; in seguito viene sottoposto ai processi di purificazione sopra descritti e poi viene iniettato all'interno del seno del paziente tramite l'uso di piccoli aghi (Figura 3.9).

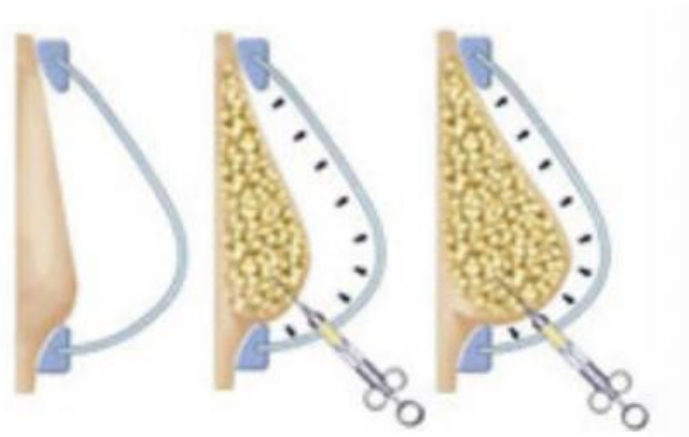


Figura 3.9: iniezione di cellule staminali adipose nel tessuto mammario tramite una micro-cannula.

3.3.3 Possibili rischi

Nonostante l'innesto di cellule autologhe sembri una pratica del tutto esente da rischi, in realtà anche in questo caso è possibile osservare lo sviluppo di complicazioni. Tra queste si può citare il rischio di calcificazione, di formazione di cisti o complicazioni collegate all'utilizzo di un'errata quantità di cellule staminali adipose.

Una problematica minore è rappresentata dal riassorbimento delle cellule da parte del paziente alcuni mesi dopo l'intervento, a causa di una non avvenuta vascolarizzazione, provocando dunque una riduzione del volume del seno.

Per concludere, si può dire che il lipofilling al seno rappresenta una valida soluzione all'innesto di protesi mammarie, ma bisogna comunque ricordare l'innesto di adipe non produce risultati eclatanti paragonabili all'inserimento degli impianti, piuttosto consente di ottenere una coppa non più svuotata ma piena e soda [44].

4. IL 3D BIOPRINTING

Il 3D Bioprinting è una tecnica che vede la sua nascita in tempi non troppo lontani. La scoperta della stampa 3D risale infatti agli anni 80', quando Charles Hull, un ingegnere americano, costruì la prima stampante 3D in grado di creare oggetti solidi a partire da una progettazione effettuata al computer (Computer-Aided Design, CAD). Il principio della stampante era quello di posizionare strati successivi di un fotopolimero (solitamente resine fotosensibili) in cui, grazie all'utilizzo di una luce UV, venivano create delle reticolazioni, producendo quindi l'oggetto 3D [45].

Questa tecnologia prende il nome di stereolitografia (SLA), ed in ambito medico vede la sua prima applicazione nella chirurgia ricostruttiva della testa, dove si è stati in grado di riprodurre modelli affidabili del cranio umano; in generale, le biostampanti stereolitografiche si basano sullo stesso concetto della stampante 3D di Hull, ovvero quello di solidificare un bioinchiostro carico di cellule utilizzando la fotopolimerizzazione in un processo strato per strato [46].

A partire dalla stereolitografia inventata dall'ingegnere Hull, il campo del 3D Bioprinting rappresenta una frontiera all'avanguardia nella medicina rigenerativa. Unendo la potenza della stampa 3D con la biologia, questa tecnologia offre incredibili opportunità per la creazione di strutture tridimensionali composte da cellule viventi, biomateriali e biomolecole. In questo capitolo, verranno trattati i principi fondamentali della biostampa 3D, i suoi vantaggi, e gli approcci futuri nella biostampa di protesi al seno.

Il termine 3D Bioprinting (o semplicemente Bioprinting) si riferisce a una famiglia di metodi di produzione additiva e digitale che producono oggetti fisici *layer-by-layer* (strato dopo strato), utilizzando una biostampante. Come la stampa 3D convenzionale, il Bioprinting crea oggetti basati su modelli 3D progettati nel software CAD. Gli oggetti biostampati sono solitamente repliche di tessuti umani o animali, creati attraverso la combinazione di cellule con biomateriali e materiali biocompatibili come polimeri e ceramiche. Un aspetto chiave della biostampa 3D è l'utilizzo di "bioinchiostri", che sono soluzioni contenenti cellule vive mescolate a materiali biocompatibili come idrogel o altri materiali simili.

La biostampa 3D fu introdotta ufficialmente nel 1988 da Robert J. Klebe quando presentò il suo lavoro noto come Cytoscribing, cioè una tecnica di microposizionamento di cellule per creare tessuti sintetici bi e tridimensionali utilizzando una normale stampante a getto d'inchiostro [47].

4.1 Le tecniche di biostampa 3D

Nell'ultimo decennio sono state sviluppate diverse tecniche di biostampa 3D (Tabella 4.1), ognuna caratterizzata da limiti e vantaggi. In questo paragrafo si analizzano alcune delle tecnologie oggi maggiormente in uso nell'ambito del 3D Bioprinting.

3D Bioprinting Technique	Advantages	Disadvantages
Stereolithography	<ul style="list-style-type: none"> - Simultaneous crosslinking of the whole 2D layer avoids need of X-Y movement - High cell viability (>85%) - High variety of printable bioinks - High resolution of bioprinting (~1 μm) 	<ul style="list-style-type: none"> - Crosslinking requires transparent and photosensitive bioink limiting choice of additives and cell density (10^8 cells mL^{-1}) - Comparatively complex system
Inkjet Bioprinting	<ul style="list-style-type: none"> - Simple bioprinting method - Low cost - Applicability of multi-material bioprinting - High resolution (~30 μm) - High cell viability (80–90%) 	<ul style="list-style-type: none"> - Limited to low cell density (<10^6 cells mL^{-1}) - Limited to bioinks with viscosity of 3.5–12 mPa·s
Laser-assisted Bioprinting	<ul style="list-style-type: none"> - High cell viability (>95%) - Variety of printable bioinks with viscosity of 1–300 mPa·s 	<ul style="list-style-type: none"> - Limited to low cell density (<10^6 cells mL^{-1}) - Complex system - Comparatively high costs
Extrusion-based Bioprinting	<ul style="list-style-type: none"> - Printability of highly viscous bioinks ($30\text{--}6 \times 10^7$ mPa·s) - Printability of high cell densities (including cell spheroids) - Applicability of multi-material bioprinting - Comparatively simple bioprinting process 	<ul style="list-style-type: none"> - Relatively low printing speed - Low-to-medium resolution highly dependent on setup - Moderate cell viability (40–80%) dependent on setup
Electrospinning-based Bioprinting	<ul style="list-style-type: none"> - High resolution (<1 μm) - Optimal for the fabrication of scaffolds 	<ul style="list-style-type: none"> - Not possible to directly bioprint cell-laden constructs - Complex system - High costs

Tabella 4.1: vantaggi e svantaggi delle tecniche di stampa 3D.

4.1.1 La stereolitografia

La stereolitografia (SLA) è stata la prima tecnica utilizzata per la biostampa 3D da parte dell'ingegnere Hull. Le biostampanti usano materiali termoindurenti e reattivi alla luce chiamati "resine". Quando le resine per stereolitografia vengono esposte alla luce con una determinata lunghezza d'onda, brevi catene molecolari si uniscono, polimerizzando i monomeri e gli oligomeri in geometrie solidificate rigide o flessibili. Questo processo di fotopolimerizzazione sfrutta il principio base della biostampa, ossia quello di procedere strato per strato, ed è controllato da un'impalcatura mobile che si sposta lungo l'asse verticale (Figura 4.1).

Un modello bidimensionale viene proiettato sul serbatoio del bioinchiostro, consentendo la generazione di strutture 3D complesse senza la necessità di una testina mobile che viaggi in direzione x-y (ossia spostandosi nel piano trasversale), come avviene nei normali processi di stampa 3D: questa caratteristica si traduce in una maggiore velocità di stampa.

Il processo di stampa tramite stereolitografia si può riassumere in 7 fasi:

1. Preparazione del file CAD: il primo passo consiste nella creazione o nell'acquisizione di un modello tridimensionale digitale utilizzando un software di progettazione assistita da computer (CAD).
2. Preparazione della piattaforma di stampa: la piattaforma di stampa viene preparata e posizionata all'interno della macchina stereolitografica. La piattaforma può essere regolata in altezza per determinare lo spessore di ogni strato di stampa.
3. Preparazione del materiale fotosensibile: la stereolitografia utilizza un materiale fotosensibile liquido chiamato resina. La resina fotosensibile è composta da polimeri liquidi e da una sostanza fotosensibile che reagisce alla luce ultravioletta.
4. Processo di stampa: il processo di stampa inizia quando uno specchio galvanometrico dirige un raggio laser UV sulla superficie liquida della resina sulla piattaforma di stampa. Il laser indurisce e solidifica la resina fotosensibile esposta alla luce.
5. Solidificazione strato per strato: dopo la solidificazione del primo strato, la piattaforma di stampa si abbassa di una piccola quantità (corrispondente allo spessore dello strato desiderato) e un nuovo strato di resina viene applicato sulla superficie del precedente strato solidificato.
6. Lavaggio e post-trattamento: una volta completata la stampa degli strati, l'oggetto stampato viene rimosso dalla piattaforma di stampa. Tuttavia, l'oggetto può essere ancora leggermente appiccicoso o residui di resina possono rimanere sulla sua superficie. Pertanto, è necessario eseguire un processo di lavaggio con solventi appropriati e, in alcuni casi, un processo di polimerizzazione aggiuntivo per completare il post-trattamento.
7. Finitura e rifinitura: dopo il lavaggio e il post-trattamento, l'oggetto stampato può richiedere ulteriori lavorazioni per ottenere la forma, la superficie o le proprietà desiderate. Queste lavorazioni possono includere la rimozione di eventuali supporti di stampa o l'ulteriore rifinitura della superficie mediante levigatura o rivestimenti protettivi.

Un grosso vantaggio della tecnica stereolitografica è che l'utilizzo della luce non sottopone le cellule a stress di taglio, garantendo all'oggetto stampato di raggiungere un'elevata vitalità cellulare (>85%). Certamente la tecnica presenta anche degli svantaggi, tra cui la necessità di avere a disposizione un bioinchiostro trasparente e con una dispersione limitata, altrimenti la luce non ha la possibilità di attraversare uniformemente il materiale portando alla formazione di una reticolazione non uniforme. A causa di questo svantaggio, la densità cellulare all'interno

dell'inchiostro è limitata a circa 10^8 mL^{-1} . Nonostante ciò la stereolitografia è tutt'oggi una tecnica largamente utilizzata soprattutto nei settori dentali e nell'industria dei gioielli [46].

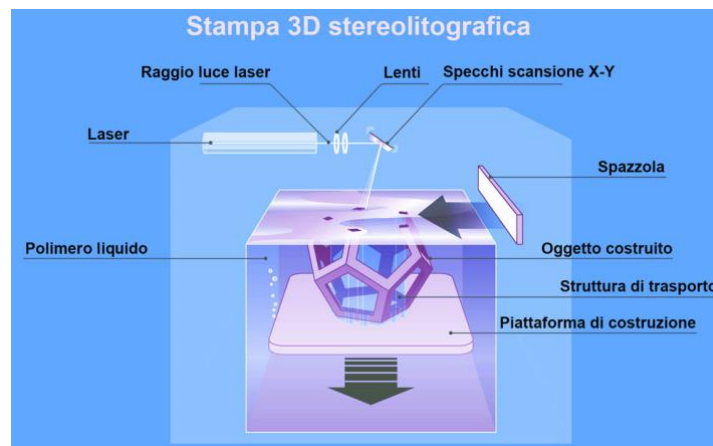


Figura 4.1: tecnica di stampa stereolitografica; il polimero liquido fotosensibile (resina) presente all'interno della vasca viene via solidificato dopo essere stato colpito dalla luce - opportunamente indirizzata dagli specchi - mostrando la sua forma. La piattaforma di costruzione è l'unica parte mobile che scorre verticalmente.

4.1.2 Inkjet based Bioprinting

L'inkjet based Bioprinting, o Bioprinting a getto d'inchiostro, fu sperimentato per la prima volta nel 2003 e brevettato successivamente nel 2006. Si tratta di una tecnica di stampa 3D il cui principio di funzionamento è simile a quelle delle consuete stampanti 2D ad inchiostro, con la differenza che l'inchiostro viene rimpiazzato da un *bioink* (o bioinchiostro) che contiene cellule vive e altri componenti biologici, e al posto della carta da stampa si usa una piattaforma controllabile nelle 3 direzioni dello spazio, che permette la stampa dell'oggetto tridimensionale finale (Figura 4.2).

L'inkjet Bioprinting è un processo di stampa che si basa sulla precisa deposizione di goccioline di *bioink* con dimensioni nell'ordine di un picolitro, utilizzando il software di progettazione assistita dal computer (CAD) per creare l'immagine da mandare in stampa.

Ogni goccia di *bioink* contiene circa dalle 104 alle 304 cellule. Le metodologie di stampa inkjet sono fondamentalmente due:

- CIJ (*continuous inkjet printing*): sfrutta un fenomeno naturale chiamato instabilità Rayleigh-plateau, che presenta la naturale tendenza per un flusso di liquido di subire una trasformazione morfologica in un treno di gocce discrete. Le gocce sono elettricamente conduttive e vengono indirizzate nelle loro rispettive posizioni sotto l'influenza di campi elettrici o magnetici; le goccioline non indirizzate vengono raccolte e reinserte nel flusso.

- DOD (*drop-on-demand printing*): al contrario del CIJ, questa tecnica produce gocce di bioinchiostro sul substrato solo quando è necessario; la deposizione di goccioline si ottiene spostando l'ugello sopra la posizione desiderata prima che una gocciolina venga espulsa.

L'approccio DOD è preferito nell' *inkjet* Bioprinting principalmente perché riduce i rischi di contaminazione dovuti al ricircolo del *bioink* nella tecnica CIJ e perché raggiunge minori volumi di goccia che portano ad una maggiore risoluzione di stampa.

A sua volta il *drop on demand printing* si può suddividere in due categorie in base al tipo di approccio utilizzato per la produzione delle goccioline:

- Effetto termico: un elemento riscaldante, come un resistore, viene posizionato sulla camera contenente l'inchiostro. Per poter generare una goccia, un impulso elettrico viene mandato al resistore il quale, riscaldandosi e quindi producendo calore per effetto joule, forma una piccola bolla che si espande e collassa quando il calore viene rimosso. Le forze di espansione e collasso spingono le gocce fuori dall'ugello.
- Effetto piezoelettrico: in questo caso la pressione necessaria a spingere giù la goccia di inchiostro proviene dalla tensione impulsiva applicata, che provoca un cambiamento improvviso del volume della camera, con conseguente propagazione delle onde acustiche, fornendo al *bioink* l'impulso di pressione necessario per superare la tensione superficiale all'orifizio dell'ugello e fuoriuscire dallo stesso.

Le biostampanti *inkjet-based* sono ampiamente utilizzate per la stampa di componenti cellulari, di biomateriali, o loro combinazioni [48,49].

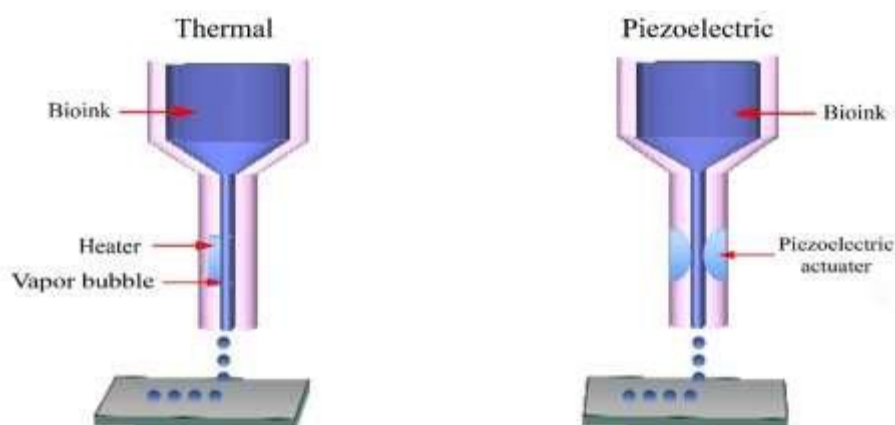


Figura 4.2: le biostampanti usate nell'*inkjet-based* Bioprinting; a sinistra la stampante controllata da effetto termico, a destra quella controllata da effetto piezoelettrico.

4.1.3 Laser-assisted bioprinting

La tecnologia di stampa laser è una tipologia di processo di stampa che si basa sulla scrittura diretta del laser, senza contatto e senza l'utilizzo di ugelli. Come si nota dalla (Figura 4.3), una biostampante a tecnologia laser presenta tre componenti principali: una sorgente laser a impulsi, una struttura a nastro rivestita da *bioink* ed un substrato ricevente, in particolare:

- la sorgente manda impulsi laser della durata del nanosecondo aventi una lunghezza d'onda che rientra nel campo dell'ultravioletto o prossime all'ultravioletto;
- il nastro è costituito dalla piastra in vetro o quarzo, trasparente alle lunghezze d'onda della radiazione laser, e da uno strato di bioinchiostro termosensibile incapsulato in un sottile strato di idrogel. Talvolta la struttura a nastro può presentare uno strato intermedio assorbente, solitamente composto da oro o titanio, collocato tra lo strato di vetro e quello di bioinchiostro, con il compito di proteggere le cellule dall'esposizione diretta al raggio laser;
- il substrato ricevente è rivestito con biopolimero a bassa viscosità o con terreno cellulare per garantire l'adesione e la successiva crescita delle cellule, ma anche per attutirne l'impatto.

Il principio base del *laser assisted Bioprinting* è che gli impulsi laser mandati dalla sorgente vengono indirizzati sullo strato assorbente del nastro tramite delle lenti, provocando un'evaporazione locale e quindi la conseguente formazione di bolle ad alta pressione. La pressione generata dalle bolle genera delle onde d'urto che tendono a spingere il bioinchiostro, e quindi le cellule in esso contenute, verso il substrato ricevente. Un vantaggio di questa tecnica risiede nella sua capacità di stampare modelli ad alta velocità e precisione; inoltre, in quanto tecnologia senza contatto e senza ugelli, evita innanzitutto problemi come l'intasamento degli ugelli, la non riproducibilità a causa della viscosità della soluzione o il danneggiamento del substrato ricevente. Studi hanno dimostrato che il LAB è vantaggioso per la costruzione di strutture cellulari multistrato e più adatto per il bioprinting in situ e in vivo [49].

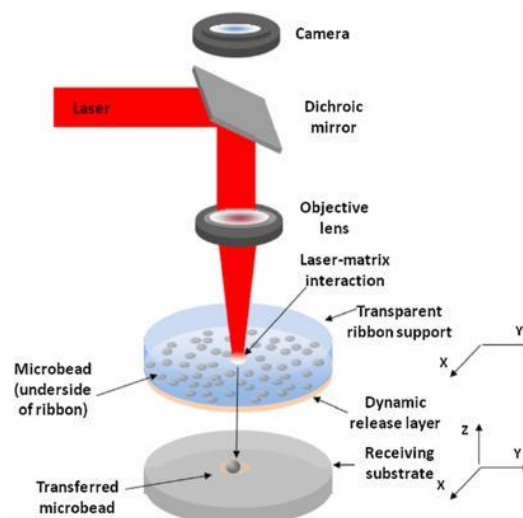


Figura 4.3: la biostampante usata nel *laser-assisted Bioprinting*.

4.1.4 I *bioink*

L'elemento base necessario alla biostampa 3D è sicuramente il materiale utilizzato come inchiostro: a prescindere dalla sua composizione, prende il nome di *bioink*.

I biomateriali usati come inchiostro nella biostampa includono una grande varietà di idrogel, materiali ceramici, metallici, polimerici, compositi e cellulari. La scelta del materiale più adatto avviene quasi esclusivamente considerando le proprietà fisiche, meccaniche e biologiche che deve possedere il materiale una volta brevettato per l'uso; in generale, i *bioink* devono possedere eccellenti proprietà meccaniche e biologiche, che definiscono la stampabilità e la biocompatibilità del *bioink*. La stampabilità indica la capacità di un bioinchiostro di fabbricare costrutti 3D stabili con elevata integrità e fedeltà strutturale, mentre la biocompatibilità indica che l'inchiostro è compatibile con le cellule e ne supporta l'adesione, la proliferazione e la diffusione [46].

Negli ultimi decenni, idrogel di origine sintetica e naturale a base di biopolimeri si sono mostrati perfetti candidati come *bioink*: sono infatti costituiti da grandi reti tridimensionali di catene polimeriche che trattengono una grande quantità d'acqua. Tra gli idrogel, l'alginato reticolato, che è un polisaccaride derivato dalle alghe, è oggetto d'interesse per la stampa 3D di tessuti/organi grazie alla sua struttura simile all'ECM nativa, alla grande biocompatibilità e alla facilità di gelificazione. In realtà per indurre l'adesione cellulare, l'alginato deve essere miscelato con polimeri naturali, come materiali a base di gelatina, collagene o fibrinogeno. Altri idrogel usati come *bioink* sono il GelMA (gelatina metacrilolica), idrogel a base di acido ialuronico, l'ECM decellularizzata.

Il collagene rappresenta un'alternativa valida all'uso degli idrogel: infatti è una proteina strutturale presente naturalmente nel tessuto connettivo. È biocompatibile e può essere estratto da fonti animali come la pelle o il tessuto osseo. Il collagene può fornire un ambiente simile al tessuto nativo e supportare la crescita cellulare.

Nella biostampa 3D vengono ampiamente utilizzati alcuni polimeri sintetici, come il policaprolattone, l'acido poliglicolico, il polietilenglicole, l'acido polilattico e il polossamero 407; si tratta di polimeri biorisorbibili con la capacità di degradarsi nel tempo all'interno del corpo, consentendo una sostituzione graduale con tessuto naturale. Ad esempio, acido polilattico (PLA) e acido poliglicolico (PGA) sono polimeri sintetici derivati dall'acido lattico e dall'acido glicolico rispettivamente, ed entrambi sono biocompatibili e degradabili nel tempo. Possono essere utilizzati singolarmente o combinati per regolare il tasso di degradazione e le proprietà meccaniche del bioinchiostro.

Altri materiali usati nella produzione di bioinchiostri sono i ceramici, che trovano maggiormente applicazione nello sviluppo di sostituti ossei [46,50].

4.2 La biostampa 3D di protesi mammarie

L'utilizzo del 3D Bioprinting nell'ambito della chirurgia plastica e ricostruttiva del tessuto mammario è un campo ancora in fase di sviluppo, ma sembra offrire prospettive interessanti per la creazione di protesi al seno personalizzate. Attualmente, le protesi al seno tradizionali sono realizzate principalmente in silicone e contengono soluzione salina; sono disponibili in varie forme e dimensioni standardizzate. La biostampa 3D potrebbe consentire la produzione di protesi al seno su misura che si adattano alle caratteristiche anatomiche individuali delle pazienti.

In generale, l'idea alla base di queste protesi, costruite con materiali biodegradabili grazie alla stampa 3D, è di fornire una struttura predefinita (scaffold) che funga da 'impalcatura' per far crescere al suo posto del tessuto della paziente stessa, e che si riassorba non lasciando alcun corpo estraneo nel seno [51].

Uno dei primi utilizzi di questa tecnologia risale al 2016, quando è stata impiantata un'impalcatura emisferica multistrato fabbricata in policaprolattone reticolato nelle tasche subghiandolari di porcellini, iniettata con una piccola quantità di grasso a 2 settimane dall'impianto. I risultati hanno dimostrato che la necrosi del grasso poteva essere evitata e la rigenerazione del tessuto adiposo poteva essere promossa dall'iniezione ritardata di grasso. Il policaprolattone è un polimero termoplastico bioattivo e biodegradabile con un'eccellente biocompatibilità e buone proprietà meccaniche. L'iniezione ritardata di grasso ha fornito le condizioni ottimali per l'angiogenesi intorno all'impalcatura e ha garantito la sopravvivenza e la successiva rigenerazione del tessuto adiposo. Questi esperimenti sugli animali hanno gettato le basi per l'impianto di scaffold strutturati, una tecnica per la stimolazione dell'angiogenesi e l'ottimizzazione del microambiente locale per richiamare vari fattori di crescita che svolgono un ruolo fondamentale nella rigenerazione dei tessuti [52]. Attualmente diverse aziende si stanno interessando alla biostampa 3D di protesi al seno.

4.2.1 Le protesi 3D della Lattice Medical

Tra le aziende che maggiormente si sono distinte nella produzione di protesi personalizzate, c'è sicuramente la Lattice Medical, un'azienda francese che ha sviluppato un metodo rivoluzionario usando Felfil Evo per trasformare in filamento i pellets medicali biorisorbibili

per poter stampare in 3D il dispositivo destinato a pazienti oncologiche. I materiali utilizzati dall'azienda sono polimeri medicali come l'Acido Polilattico (PLA), l'Acido Poliglicolico (PGA) o copolimeri a blocchi.

Il progetto è denominato MAT (T) ISSE ed è stato lanciato da Julien Payen, un dottorando che ha conseguito il dottorato di ricerca in Vita e Scienze della Salute alla Lille University (Francia). La tecnica combina l'iniezione di tessuto adiposo autologo con un impianto "riassorbibile". La protesi è una gabbia stampata in 3D (Figura 4.4), composta da un biopolimero degradabile, in cui è racchiuso un piccolo lembo di tessuto proveniente da sotto l'area del seno. Questo lembo cresce per riempire la gabbia di tessuto adiposo, mentre la gabbia stessa viene assorbita dal corpo in circa 18 mesi. La protesi mammaria può essere riempita nel giro di circa sei-otto settimane, dopo di che tutto l'impianto protesico viene riassorbito e la paziente ottiene un seno reale ricostruito, in quanto le cellule di grasso utilizzeranno il lembo di tessuto come supporto per moltiplicarsi e riformare il seno. I materiali utilizzati dall'azienda sono polimeri come l'Acido Polilattico (PLA), l'Acido Poliglicolico (PGA) o copolimeri a blocchi. L'utilizzo della stampa 3D inoltre permette ai medici di "personalizzare" la protesi in base alle dimensioni del seno della paziente [53].



Figura 4.4: le protesi riassorbibili dell'azienda Lattice Medical.

4.2.2 Le protesi 3D della CollPlant

CollPlant è un'altra azienda che sta portando avanti lo sviluppo di protesi mammarie iniettabili e biostampate in 3D per la rigenerazione del tessuto mammario. Gli impianti in fase di sviluppo saranno stampati e caricati con composizioni a base di rhCollagen, cellule di grasso autologhe e componenti della ECM. Questi impianti sono destinati a promuovere la rigenerazione dei tessuti e a degradarsi in sincronia con lo sviluppo di un tessuto mammario naturale.

Il collagene è un elemento costitutivo essenziale del corpo umano, che fornisce supporto strutturale e segnali biologici ai tessuti connettivi e agli organi, ed è quindi un componente fondamentale per la rigenerazione dei tessuti. L'azienda CollPlant ha raggiunto un grande traguardo nella riproduzione di componenti biologiche: piuttosto che estrarre il collagene da animali o cadaveri umani con il rischio di contaminazione, di risposta allergica e, essendo sottoposto a condizioni di purificazione con conseguenti modifiche irreversibili, di comprometterne la biofunzionalità, l'azienda è riuscita a sviluppare una piattaforma vegetale che riproduce fedelmente il collagene umano (Figura 4.5). La produzione viene effettuata a partire da piante di tabacco geneticamente modificate; la proteina umana ricombinata viene estratta dalle foglie delle piante mature e poi lavorata ulteriormente per ottenere un collagene, corrispondente al collagene di tipo I presente nel corpo umano, altamente purificato utilizzabile nella produzione di dispositivi medici [53]

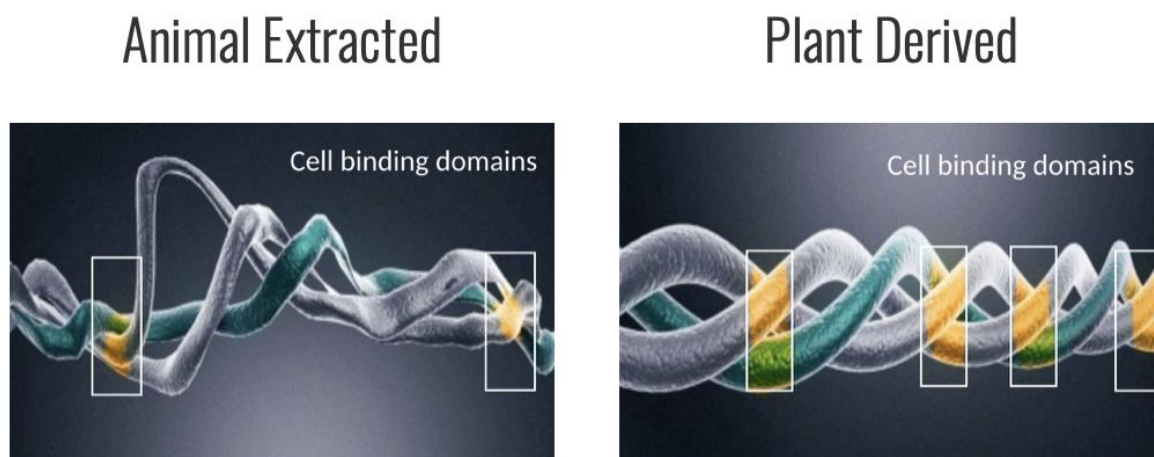


Figura 4.5: nel collagene reticolato estratto da specie animale (sinistra) si nota la presenza di pochi domini disponibili per effettuare dei legami con le cellule a causa della denaturazione avvenuta; a destra il collagene prodotto dall'azienda CollPlant in cui sono presenti numerosi domini in cui è possibile effettuare legami con le cellule dovuti alla tripla elica perfetta.

L'azienda ha già prodotto degli impianti protesici utilizzando questo materiale (Figura 4.6): le bioprotesi presentano una geometria personalizzata e possono essere modificate in base al carico fisiologico da sopportare. I prodotti dell'azienda sono anche in grado di facilitare la ricrescita del seno prima di dissolversi nei tessuti dell'ospite, rendendoli potenzialmente un'alternativa più sicura alle protesi in silicone [54,55].

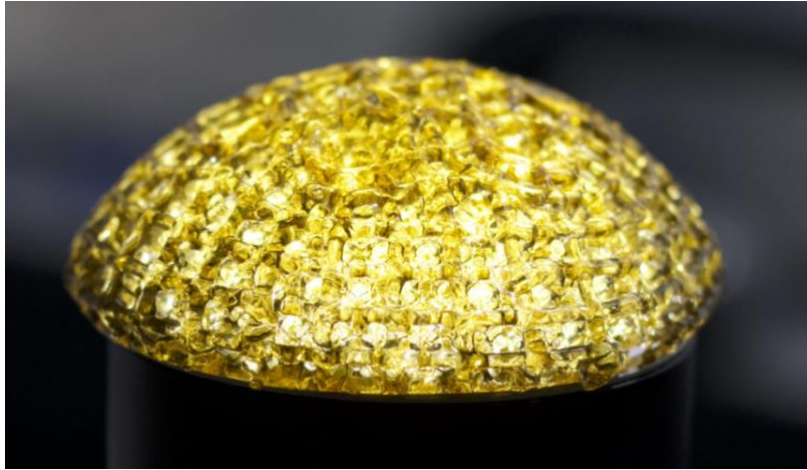


Figura 4.6: impianto protesico stampato in 3D prodotto dall'azienda CollPlant.

5. CONCLUSIONI

L'ambito della chirurgia plastica e ricostruttiva della mammella è oggetto d'interesse già da tempi lontani, e ancora oggi è in continua evoluzione.

La presente tesi ha esplorato diversi aspetti legati a questo argomento controverso e complesso. Durante la ricerca sono stati analizzati i motivi per cui i pazienti scelgono di sottoporsi all'intervento di aumento/ricostruzione del seno, nonché le possibili complicanze associate all'utilizzo di tali dispositivi protesici.

È emerso che gran parte dei/delle pazienti che si sottopongono ad interventi di mastoplastica additiva o ricostruttiva sono di sesso femminile e di diverse fasce età; le donne optano per le protesi mammarie principalmente per ragioni estetiche, cercando di migliorare l'aspetto del loro seno o recuperare la fiducia in se stesse, ma è anche da tenere in considerazione la possibilità che molte donne abbiano la necessità di sottoporsi ad una ricostruzione della mammella, in seguito ad interventi invasivi, quali ad esempio la mastectomia.

Nella presente trattazione sono state esposte le principali caratteristiche delle protesi al seno a partire dai materiali utilizzati nel corso dei decenni, fino alle forme e alle superfici che meglio garantiscono l'integrazione con i tessuti circostanti, come le superfici in poliuretano e micropoliuretano. Tuttavia, la decisione di sottoporsi a un intervento chirurgico per il seno dovrebbe essere presa in modo informato e consapevole, tenendo conto dei rischi e delle potenziali complicanze. Nonostante l'utilizzo di materiali sempre più biocompatibili, le possibili malattie legate all'innesto di corpi estranei non vengono ancora del tutto eliminate, e tra queste vengono citate il BIA-ALCL e la Contrattura Capsulare. Ecco perché è fondamentale che le donne siano informate sulle opzioni disponibili, sui rischi e sui benefici associati all'utilizzo di protesi mammarie. Non solo: gli interventi chirurgici devono essere eseguiti da chirurghi qualificati e attenti alla sicurezza dei pazienti, in modo da minimizzare i rischi.

In conclusione, negli ultimi anni alcune aziende che si occupano di biostampa 3D hanno deciso di inserirsi nel campo dello sviluppo di nuovi dispositivi protesici a base di polimeri biorisorbibili e talvolta arricchiti con cellule staminali autologhe, in grado di non causare una risposta immunitaria da parte dell'organismo ospite e di garantire un seno più naturale rispetto alle precedenti protesi in silicone.

Essendo un campo di ricerca del tutto nuovo, in questa tesi sono state illustrate principalmente le tecniche utilizzate nella biostampa 3D e le più importanti aziende che hanno già dato vita a dei prototipi di protesi mammarie, come la Lattice Medical e Collplant.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Foroushani FT, Dzobo K, Khumalo NP, Mora VZ, de Mezerville R, Bayat A. Advances in surface modifications of the silicone breast implant and impact on its biocompatibility and biointegration. *Biomater Res.* 2022 Dec 14;26(1):80. doi: 10.1186/s40824-022-00314-1. PMID: 36517896; PMCID: PMC9749192.
- [2] McGhee DE, Steele JR. Breast Biomechanics: What Do We Really Know? *Physiology (Bethesda).* 2020 Mar 1;35(2):144-156. doi: 10.1152/physiol.00024.2019. PMID: 32027563.
- [3] Pandya S, Moore RG. Breast development and anatomy. *Clin Obstet Gynecol.* 2011 Mar;54(1):91-5. doi: 10.1097/GRF.0b013e318207ffe9. PMID: 21278507.
- [4] Rozen WM, Rajkomar AK, Anavekar NS, Ashton MW. Post-mastectomy breast reconstruction: a history in evolution. *Clin Breast Cancer.* 2009 Aug;9(3):145-54. doi: 10.3816/CBC.2009.n.024. PMID: 19661037.
- [5] Uroskie TW, Colen LB. History of breast reconstruction. *Semin Plast Surg.* 2004 May;18(2):65-9. doi: 10.1055/s-2004-829040. PMID: 20574484; PMCID: PMC2884724.
- [6] Santanelli di Pompeo F, Paolini G, Firmani G, Sorotos M. History of breast implants: Back to the future. *JPRAS Open.* 2022 Mar 11;32:166-177. doi: 10.1016/j.jptra.2022.02.004. PMID: 35434240; PMCID: PMC9006741.
- [7] “Safety of Silicone Breast Implants”, Stuart Bondurant, Virginia Ernster, and Roger Herdman, Editors; Committee on the Safety of Silicone Breast Implants, Institute of Medicine; ISBN: 0-309-51931-4, 560 pages, 6 x 9, (1999)
- [8] Peters W, Fornasier V. Complications from injectable materials used for breast augmentation. *Can J Plast Surg.* 2009 Fall;17(3):89-96. doi: 10.1177/229255030901700305. PMID: 20808751; PMCID: PMC2740603.
- [9] Vinci V, Domenico C, Luca M, Silvia G, Alessandra V, Barbara C, Valeria B, Andrea B, Mattia S, Federico B, Andrea Vittorio Emauele L, Marco K. The evolution of breast prostheses. *Breast J.* 2020 Sep;26(9):1801-1804. doi: 10.1111/tbj.13954. Epub 2020 Jul 1. PMID: 32609401.
- [10] Vinci V, Domenico C, Luca M, Silvia G, Alessandra V, Barbara C, Valeria B, Andrea B, Mattia S, Federico B, Andrea Vittorio Emauele L, Marco K. The evolution of breast prostheses. *Breast J.* 2020 Sep;26(9):1801-1804. doi: 10.1111/tbj.13954. Epub 2020 Jul PMID: 32609401.
- [11] sito web del Ministero della Salute:
<https://www.salute.gov.it/portale/dispositiviMedici/dettaglioContenutiDispositiviMedici.jsp?lingua=italiano&id=2877&area=dispositivi-medici&menu=vigilanza#>
- [12] https://www.lucasiliprandi.it/protesi_mammarie/
- [13] “*Protesi al seno: tutte le informazioni per fare la scelta giusta*” a cura di Dr. Gianfranco Ottaviano, Gennaio 15, 2023
<https://www.clinicaireos.com/protesi-al-seno-tutte-le-informazioni-per-fare-la-scelta-giusta/>

- [14] <https://www.londeiclinic.it/protesi-al-seno-cosa-serve-sapere/#:~:text=A%20seconda%20del%20risultato%20che,a%20goccia%2C%20di%20forma%20anatomica>
- [15] <https://www.vincenzogiannoccaro.it/attivita/chirurgia-estetica/mastoplastica-additiva/>
- [16] Pirjavec Mahić A, Grebić D, Čargonja P, Kustić D. Silicone Gel Breast Implants: Past, Present, and Future. *Acta Med Hist Adriat.* 2020 Jun 29;18(1):165-176. doi: 10.31952/amha.18.1.10. PMID: 32638606.
- [17] Daniels AU. Silicone breast implant materials. *Swiss Med Wkly.* 2012 Jul 23;142:w13614. doi: 10.4414/smw.2012.13614. PMID: 22826101.
- [18] Edwards MC, Gabriel A, Hammer J, Jewell HL, Jewell ML. Gel Cohesivity and Breast Augmentation: Applications to Clinical Practice. *Aesthet Surg J Open Forum.* 2022 Dec 7;4:ojac088. doi: 10.1093/asjof/ojac088. PMID: 36569283; PMCID: PMC9778838.
- [19] Gabriel A, Maxwell GP. The Science of Cohesivity and Elements of Form Stability. *Plast Reconstr Surg.* 2019 Jul;144(1S Utilizing a Spectrum of Cohesive Implants in Aesthetic and Reconstructive Breast Surgery):7S-12S. doi: 10.1097/PRS.0000000000005959. PMID: 31246755.
- [20] Kinney BM, Jeffers LLC, Ratliff GE, Carlisle DA. Silicone gel breast implants: science and testing. *Plast Reconstr Surg.* 2014 Jul;134(1 Suppl):47S-56S. doi: 10.1097/PRS.0000000000000349. PMID: 25057749.
- [21] Bellini E, Pesce M, Santi P, Raposio E. Two-Stage Tissue-Expander Breast Reconstruction: A Focus on the Surgical Technique. *Biomed Res Int.* 2017;2017:1791546. doi: 10.1155/2017/1791546. Epub 2017 Dec 10. PMID: 29376067; PMCID: PMC5742435.
- [22] Spear SL, Jespersen MR. Breast implants: saline or silicone? *Aesthet Surg J.* 2010 Jul-Aug;30(4):557-70. doi: 10.1177/1090820X10380401. PMID: 20829254.
- [23] <https://www.marcomoraci.it/blog/protesi-al-poliuretano-vero-e-falso/>
- [24] “*Microthane*” polytech-health-aesthetics.com
- [25] Joshua Fosnot, MD and others, Acellular Dermal Matrix: General Principles for the Plastic Surgeon, *Aesthetic Surgery Journal*, Volume 31, Issue 7_Supplement, September 2011, Pages 5S–12S, <https://doi.org/10.1177/1090820X11417576>
- [26] du Plessis MI, Cottler PS, Campbell CA. Acellular Dermal Matrix Favorably Modulates the Healing Response after Surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2022 Aug 1;150(2):290e-299e. doi: 10.1097/PRS.0000000000009338. Epub 2022 Jun 3. PMID: 35653544.
- [27] Kim JYS, Mlodinow AS. What's New in Acellular Dermal Matrix and Soft-Tissue Support for Prosthetic Breast Reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 2017 Nov;140(5S Advances in Breast Reconstruction):30S-43S. doi: 10.1097/PRS.0000000000003950. PMID: 29064920.
- [28] Barr S, Bayat A. Breast implant surface development: perspectives on development and manufacture. *Aesthet Surg J.* 2011 Jan;31(1):56-67. doi: 10.1177/1090820X10390921. PMID: 21239673.

- [29] Pietrabissa R. Biomateriali per protesi e organi artificiali. Prima edizione, giugno 1996, Quarto Inferiore-Bologna, Pàtron Editore.
- [30] Klopffleisch R, Jung F. The pathology of the foreign body reaction against biomaterials. *J Biomed Mater Res A*. 2017 Mar;105(3):927-940. doi: 10.1002/jbm.a.35958. Epub 2016 Nov 25. PMID: 27813288.
- [31] Lam M, Migonney V, Falentin-Daudre C. Review of silicone surface modification techniques and coatings for antibacterial/antimicrobial applications to improve breast implant surfaces. *Acta Biomater*. 2021 Feb;121:68-88. doi: 10.1016/j.actbio.2020.11.020. Epub 2020 Nov 16. PMID: 33212233.
- [32] Foroushani FT, Dzobo K, Khumalo NP, Mora VZ, de Mezerville R, Bayat A. Advances in surface modifications of the silicone breast implant and impact on its biocompatibility and biointegration. *Biomater Res*. 2022 Dec 14;26(1):80. doi: 10.1186/s40824-022-00314-1. PMID: 36517896; PMCID: PMC9749192.
- [33] Carnicer-Lombarte A, Chen ST, Malliaras GG, Barone DG. Foreign Body Reaction to Implanted Biomaterials and Its Impact in Nerve Neuroprosthetics. *Front Bioeng Biotechnol*. 2021 Apr 15;9:622524. doi: 10.3389/fbioe.2021.622524. PMID: 33937212; PMCID: PMC8081831.
- [34] Mempin M, Hu H, Chowdhury D, Deva A, Vickery K. The A, B and C's of Silicone Breast Implants: Anaplastic Large Cell Lymphoma, Biofilm and Capsular Contracture. *Materials (Basel)*. 2018 Nov 28;11(12):2393. doi: 10.3390/ma11122393. PMID: 30486500; PMCID: PMC6316940.
- [35] Safran T, Nepon H, Chu CK, Winocour S, Murphy AM, Davison PG, Dionisopolos T, Vorstenbosch J. Current Concepts in Capsular Contracture: Pathophysiology, Prevention, and Management. *Semin Plast Surg*. 2021 Aug;35(3):189-197. doi: 10.1055/s-0041-1731793. Epub 2021 Jul 13. PMID: 34526867; PMCID: PMC8432999.
- [36] de Bakker E, Rots M, Buncamper ME, Niessen FB, Smit JM, Winters HAH, Özer M, de Vet HCW, Mullender MG. The Baker Classification for Capsular Contracture in Breast Implant Surgery Is Unreliable as a Diagnostic Tool. *Plast Reconstr Surg*. 2020 Nov;146(5):956-962. doi: 10.1097/PRS.0000000000007238. PMID: 32852468.
- [37] <https://www.breastcancer.org/treatment/surgery/breast-reconstruction/corrective-reconstruction/capsular-contracture>
- [38] McKernan C. Treating breast implant-associated anaplastic large cell lymphoma. *JAAPA*. 2021 Apr 1;34(4):47-51. doi: 10.1097/01.JAA.0000735780.35691.e5. PMID: 33735141; PMCID: PMC9472752.
- [39] Skelly A, Guo L. Breast Implant-Associated Anaplastic Large Cell Lymphoma: A Clinical Update. *Ann Plast Surg*. 2021 Mar 1;86(3S Suppl 2):S154-S158. doi: 10.1097/SAP.0000000000002618. PMID: 33346558.
- [40] <https://polytech-health-aesthetics.com/it/ricostruzione-del-seno/ricostruzione-con-impianti-al-seno/>
- [41] <https://www.tuame.it/voce-glossario/14395/rottura-della-protesi>

- [42] O'Halloran N, Courtney D, Kerin MJ, Lowery AJ. Adipose-Derived Stem Cells in Novel Approaches to Breast Reconstruction: Their Suitability for Tissue Engineering and Oncological Safety. *Breast Cancer (Auckl)*. 2017 Aug 16;11:1178223417726777. doi: 10.1177/1178223417726777. PMID: 29104428; PMCID: PMC5562338.
- [43] <https://www.accademiadellipofilling.it/metodiche-di-isolamento-della-stromal-vascular-fraction-svf-dal-tessuto-adiposo-stato-dellarte/>
- [44] <https://drmeoli.ch/lipofilling-al-seno-vantaggi-e-svantaggi/#:~:text=L%27adipe%20viene%20prelevato%20da,seno%20per%20renderlo%20piu%20p ieno.>
- [45] Dey M, Ozbolat IT. 3D bioprinting of cells, tissues and organs. *Sci Rep*. 2020 Aug 18;10(1):14023. doi: 10.1038/s41598-020-70086-y. PMID: 32811864; PMCID: PMC7434768.
- [46] Heinrich MA, Liu W, Jimenez A, Yang J, Akpek A, Liu X, Pi Q, Mu X, Hu N, Schiffelers RM, Prakash J, Xie J, Zhang YS. 3D Bioprinting: from Benches to Translational Applications. *Small*. 2019 Jun;15(23):e1805510. doi: 10.1002/smll.201805510. Epub 2019 Apr 29. PMID: 31033203; PMCID: PMC6752725.
- [47] Zennifer A, Manivannan S, Sethuraman S, Kumbar SG, Sundaramurthi D. 3D bioprinting and photocrosslinking: emerging strategies & future perspectives. *Biomater Adv*. 2022 Mar;134:112576. doi: 10.1016/j.msec.2021.112576. Epub 2021 Nov 29. PMID: 35525748.
- [48] Matai I, Kaur G, Seyedsalehi A, McClinton A, Laurencin CT. Progress in 3D bioprinting technology for tissue/organ regenerative engineering. *Biomaterials*. 2020 Jan;226:119536. doi: 10.1016/j.biomaterials.2019.119536. Epub 2019 Oct 11. PMID: 31648135.
- [49] Gu Z, Fu J, Lin H, He Y. Development of 3D bioprinting: From printing methods to biomedical applications. *Asian J Pharm Sci*. 2020 Sep;15(5):529-557. doi: 10.1016/j.ajps.2019.11.003. Epub 2019 Dec 17. PMID: 33193859; PMCID: PMC7610207.
- [50] <https://www.replicatore.it/lo-stato-del-bioprinting/>
- [51] https://www.repubblica.it/salute/dossier/saluteseno/2022/07/29/news/tumore_al_seno_verso_prote si_biodegradabili_che_rigenerano_i_tessuti-359618103/
- [52] Mu X, Zhang J, Jiang Y. 3D Printing in Breast Reconstruction: From Bench to Bed. *Front Surg*. 2021 May 20;8:641370. doi: 10.3389/fsurg.2021.641370. PMID: 34095200; PMCID: PMC8173201.
- [53] <https://collplant.com/technology/technology-rhcollagen/>
- [54] <https://www.stampa3dstore.com/rivoluzione-nella-ricostruzione-del-seno-con-tessuto-stampato-in-3d/>
- [55] <https://3dprintingindustry.com/news/collplants-3d-bioprinted-breast-implants-achieve-promising-results-in-animal-testing-219463/>