



**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA**



DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

**Realizzazione e caratterizzazione meccanica di
condotti tubulari per applicazioni in ambito
vascolare**

Relatore: Prof. Andrea Bagno.

Laureando: Giovanni Cappellato

Correlatore: Ing. Martina Todesco

ANNO ACCADEMICO 2022 –2023

Data di laurea 27/09/2023.

Indice

Abstract	5
Capitolo 1	7
1.1 Il sistema cardiovascolare	7
1.2 Malattie cardiovascolari che interessano gli arti inferiori	10
1.2.1 Aterosclerosi	10
1.2.2 Lesioni congenite	12
1.2.3 Trombosi	12
1.2.4 Embolia arteriosa	13
1.2.5 Aneurisma e aneurisma dissecante	13
1.3 Sostituti protesici	14
1.3.1 Vena autologa	15
1.3.2 Innesti a base di polimeri fluorurati	16
1.3.3 Innesti a base di poliesteri	17
1.3.4 Innesti a base di poliuretani	19
1.3.5 Innesto di Dardik	20
1.3.7 Approcci dell'ingegneria tissutale	23
1.4 Il cordone ombelicale e le sue proprietà	25
1.5 Obiettivo della tesi	27
Capitolo 2	29
2.1 Materiali utilizzati	29
2.2 Metodi usati	32
2.2.1 Produzione dei condotti	32
2.2.2 Test eseguiti	34
Capitolo 3	37
3.1 Spessore dei condotti	37
3.2 Risultati dei test meccanici	38
Conclusioni	47
Bibliografia	49
Sitografia	51

Abstract

Le malattie cardiovascolari sono tra le principali cause di morte al mondo; in particolare, quando la malattia ostacola/impedisce il normale flusso del sangue all'interno dei vasi sanguigni, la soluzione di elezione è quella chirurgica. Tra le possibili soluzioni chirurgiche, vi sono il by-pass e l'innesto di un sostituto vascolare. I sostituti protesici usati durante questo tipo di intervento possono essere di derivazione biologica, come nel caso della vena safena autologa, o di natura sintetica, come ad esempio gli innesti prodotti in Teflon o Dacron. Ognuno di essi presenta aspetti positivi ma anche limitazioni; allo stato attuale, la tipologia di innesto maggiormente utilizzata è quella autologa, anche se non rappresenta la soluzione protesica perfetta perché soggetta a evidenti vincoli come, ad esempio, la limitata disponibilità.

Lo scopo di questa tesi, frutto di una attività di tirocinio svolta presso il Laboratorio di Bioingegneria Chimica del Dipartimento di Ingegneria Industriale, è la realizzazione e caratterizzazione meccanica di condotti utilizzabili come sostituti vascolari, prodotti con due poliuretani carbonati, Chronoflex AR e Chronoflex AR-LT, con due tecniche di produzione diverse: inversione di fase e evaporazione del solvente.

I campioni ricavati dai condotti tubulari sono stati sottoposti a prove di carico a rottura, che hanno permesso di misurare i seguenti parametri: *Failure Strain*, *Ultimate Tensile Strength*, modulo elastico (ad allungamento fino al 10%) e modulo elastico (ad allungamento tra il 90% ed il 100%); ulteriori prove hanno riguardato la determinazione di *Suture Retention Strength* e di *Stress relaxation*.

Capitolo 1

1.1 Il sistema cardiovascolare

L'apparato cardiovascolare, o apparato circolatorio, comprende il cuore ed i vasi sanguigni. La funzione di tale apparato è la distribuzione del sangue dal cuore a tutti gli organi prima e dagli organi al cuore poi; il sangue è infatti in grado di trasportare ossigeno e i nutrienti necessari verso tutti gli organi e di allontanare anidride carbonica e cataboliti.

Il cuore

Il cuore è una pompa adibita a fornire al sangue l'energia necessaria per compiere il suo spostamento attraverso i vasi; è collocato all'interno della cavità toracica ed è costituito da un muscolo: il miocardio, un muscolo striato, come quello scheletrico, ma con alcune differenze di tipo strutturale e fisiologico. I cardiomiociti, le cellule del tessuto muscolare cardiaco, risultano essere più corte e grosse rispetto ai miociti, sono mononucleate e rispetto alle cellule dei muscoli scheletrici hanno mitocondri molto più grandi. L'aspetto che più differenzia il cuore rispetto ai muscoli scheletrici è la sua capacità di generare e condurre segnali rendendo possibile la sua contrazione senza dover ricevere di continuo i potenziali d'azione provenienti dal cervello; il sistema nervoso svolge solo una funzione di regolazione del ritmo e della forza delle contrazioni.

Il cuore può essere diviso in quattro parti (Figura 1.1):

- atrio destro ed atrio sinistro: sono le cavità poste nella parte superiore del cuore e ricevono il sangue proveniente dalla vena cava superiore (nel caso dell'atrio destro) e dalla vena polmonare (nel caso dell'atrio sinistro);
- ventricolo destro e ventricolo sinistro: sono le cavità inferiori e spingono il sangue all'interno dell'arteria polmonare (nel caso del ventricolo destro) e dell'arteria aorta (nel caso del ventricolo sinistro).

L'atrio destro è separato dal ventricolo destro tramite la valvola tricuspide mentre l'atrio sinistro ed il ventricolo sinistro sono separati dalla valvola bicuspidale (detta anche mitrale)

Vasi sanguigni

I vasi si possono dividere principalmente in tre tipi:

- arterie: sono i vasi efferenti adibiti al trasporto di sangue dal cuore;
- vene, sono i vasi afferenti che trasportano il sangue al cuore;

- capillari: sono i vasi di calibro molto piccolo e dalla parete molto sottile che collegano le arteriole (le arterie più piccole) e le venule (le vene più piccole).

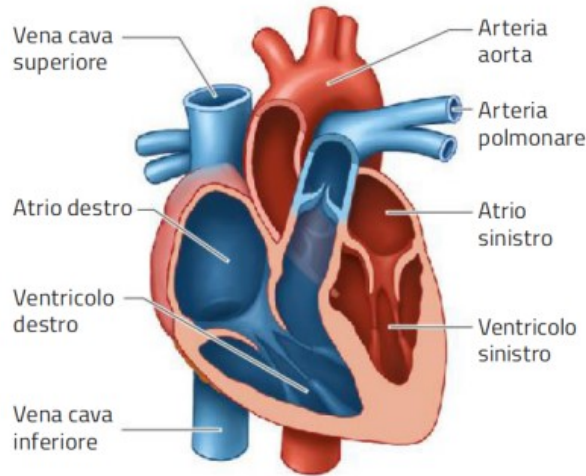


Figura 1.1: sezione longitudinale del cuore.

Le vene e le arterie sono composte da tre strati chiamati tonache (Figura 1.2):

- la tonaca interna, o intima, è la parte del vaso a contatto con il sangue; funge da barriera selettiva per le sostanze che devono entrare o uscire dal sangue, secerne sostanze atte a regolare la dilatazione o costrizione del vaso ed impedisce che le cellule del sangue e le piastrine aderiscano alla parete;
- la tonaca media è costituita da muscolo liscio e collagene; ha il ruolo di impedire la rottura del vaso a causa della pressione e di far consentire vasodilatazione e vasocostrizione;
- la tonaca esterna o avventizia è lo strato più esterno e ha la funzione di ancorare il vaso ai tessuti circostanti ed è attraversata da piccoli nervi, vasi linfatici o vasi sanguigni più piccoli.

La composizione e struttura delle varie tonache è variabile in base alle dimensioni ed alla tipologia di vaso: ad esempio, le arterie che devono resistere alle alte pressioni del sangue espulso dal cuore presentano una tonaca media più spessa con una maggior quantità di tessuto elastico e muscolatura liscia rispetto alle vene di pari diametro. Le vene medie, con un diametro fino a 10 mm, presentano delle tasche della tonaca interna che formano delle valvole venose rivolte verso il cuore, con lo scopo di evitare il reflusso del sangue.

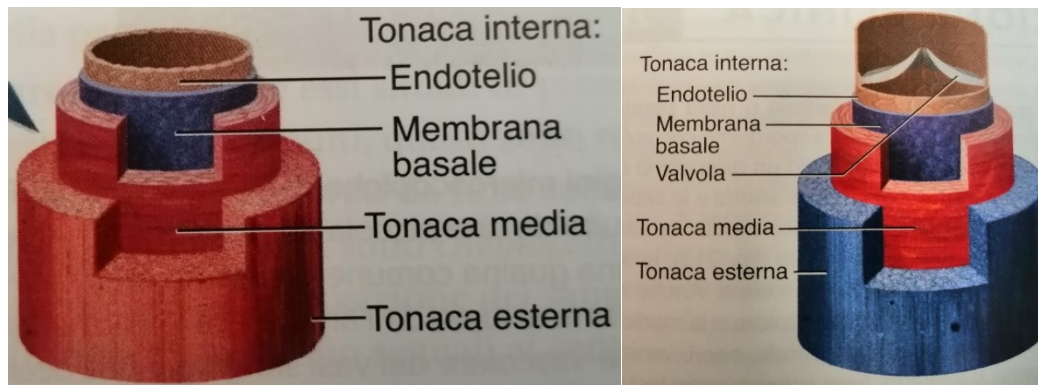


Figura 1.2: sezione di arteria e sezione di vena ^[1].

Il sangue viene pompato dal cuore nelle arterie, attraverso la valvola polmonare e la valvola aortica: passa attraverso arterie di calibro via via più piccolo, poi attraverso le arteriole e infine, grazie ai capillari e alle venule, torna al cuore attraversando vene di calibro sempre maggiore. I vasi dell'apparato cardiovascolare vengono a formare due circuiti per il flusso del sangue (Figura 1.3):

- **circolo polmonare:** ha lo scopo principale di eliminare la CO₂ presente nel sangue e di raccogliere O₂. Il circolo parte dall'arteria polmonare, che origina dal ventricolo destro, si divide in due parti, una in ingresso al polmone destro e una in quello sinistro. I due rami si dividono in arterie sempre più piccole finché non terminano nei capillari che circondano gli alveoli polmonari dove avviene lo scambio di anidride carbonica ed ossigeno; da qui il sangue confluisce in vene sempre più grandi finché non raggiunge le due vene polmonari che confluiscono nell'atrio sinistro;
- **circolo sistemico:** il suo ruolo principale è quello di fornire ossigeno e sostanze nutritive all'organismo e prelevare i rifiuti metabolici prodotti da organi e tessuti. Dal ventricolo sinistro si origina l'arteria aortica ed è da questa che si dipartono tutte le arterie sistemiche. Dalle arterie più grandi (arterie di conduzione) si passa alle arterie di diametro sempre più piccolo (arterie di distribuzione, arterie di resistenza, arteriole) fino ad arrivare ai capillari dove il sangue scambia nutrienti e rifiuti con l'esterno; dai capillari il sangue poi passa per vene sempre più grandi (venule, vene medie, grandi vene) fino a rientrare nel cuore, nell'atrio destro più precisamente, tramite la vena cava.

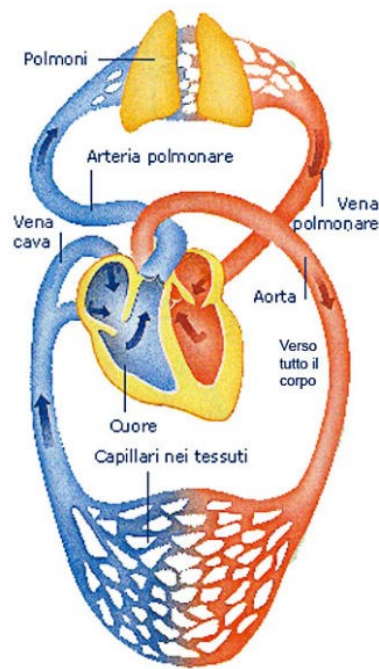


Figura 1.3: rappresentazione semplificata del sistema circolatorio.

Nel corpo esistono però diverse eccezioni a questo percorso:

- sistemi portalì, quando il sangue prima di tornare al cuore passa per due letti di capillari;
- l'anastomosi arterovenosa, quando il sangue scorre direttamente da un'arteria ad una vena non passando per i capillari;
- anastomosi arteriosa, quando due arterie si fondono;
- anastomosi venosa, quando una vena va a svuotarsi direttamente in un'altra vena ^[1].

1.2 Malattie cardiovascolari che interessano gli arti inferiori

Le malattie cardiovascolari sono la causa principale di morte nel mondo; si è stimato che questo tipo di patologie ha causato nel 2013 circa 17.3 milioni di decessi, rappresentando in quell'anno il 31.5% della causa di morte nel mondo ^[2].

In seguito verranno riportate alcune delle principali patologie cardiovascolari che interessano gli arti inferiori, talune delle quali richiedono la sostituzione di un vaso danneggiato come soluzione alla malattia.

1.2.1 Aterosclerosi

L'aterosclerosi è una malattia cronica delle arterie elastiche e delle arterie muscolari di grosso e medio calibro. Questa malattia ha origine da lesioni cellulari che alla fine del processo

diventano delle placche fibrolipidiche che causano una riduzione del lume del vaso. La malattia si manifesta come conseguenza di una riduzione del flusso di sangue verso un organo, di complicanze trombotiche della placca e complicanze localizzate nella parete vascolare.

Sebbene la mortalità associata a questa malattia nel corso degli anni sia diminuita notevolmente, rimane comunque la principale causa di morte nel Nord America ed in Europa. I fattori di rischio per questa malattia sono molteplici ed operano in modo additivo e sinergico; i principali sono il fumo di sigaretta, l'ipertensione arteriosa, iperlipidemie, una storia familiare di malattie coronariche precoci (come infarto del miocardio o morte improvvisa), diabete mellito e bassi livelli ematici di colesterolo legato a proteine ad alta densità (HDL). Oltre a questi fattori di rischio principale, sono presenti anche altri fattori di rischio addizionali come l'obesità e lo stress. Anche il sesso svolge un ruolo importante nella determinazione dell'incidenza di questa malattia: a parità di età gli uomini hanno una probabilità maggiore di soffrire di aterosclerosi rispetto alle donne in età premenopausa, mentre dopo la menopausa il rischio diventa uguale per entrambi i sessi.

La patogenesi dell'aterosclerosi è da considerarsi multifattoriale e si presume che non tutte le placche che vanno a formare la stessa occlusione si originino dalla stessa sequenza di eventi. Esiste l'ipotesi monoclonale, che sostiene che l'agente scatenante sia un mutagene che prende come bersaglio le cellule della muscolatura liscia. La seconda ipotesi è quella del danno e descrive diverse vie per cui può venirsi a formare la placca; una prima via afferma che a causa di alterazioni dell'endotelio o di monociti ematici, quest'ultimi riescano a penetrare l'endotelio. Questo porta al rilascio di fattori di crescita da parte delle cellule che causano lo sviluppo delle cellule muscolari lisce e conseguentemente alla formazione della placca; la placca poi si propaga grazie al rilascio di fattori di crescita da parte delle piastrine ed alla fusione con trombi provenienti da altre placche di distretti diversi. La seconda via, invece, si focalizza maggiormente su una disfunzione o su un danno dell'endotelio: il tessuto endoteliale, in risposta a questa situazione, rilascia fattori di crescita che vanno ad agire sulla muscolatura liscia che assieme ai macrofagi darà origine alle placche; i fattori di crescita svolgeranno un ruolo chiave nello sviluppo delle placche. Il danno endoteliale che sta all'origine della formazione delle placche è causato da diversi agenti come l'ipercolesterolemia, stress emodinamico, lesioni da virus e costituenti del fumo da sigaretta.

La placca che si viene a formare alla fine del processo ha una superficie liscia, di colore bianco-giallastra con una forma irregolare e confini ben definiti. Risulta comunque simile ad un ovale dal diametro compreso tra i 8-12 micrometri ed orientazione verso il flusso ematico.

Non tutti i vasi sono soggetti a questa malattia in modo uguale: quelli maggiormente a rischio sono le arterie coronarie, l'aorta sotto renale, i vasi più grandi che riforniscono le estremità inferiori e la biforcazione carotidea.

Il danno sulla superficie endoteliale e l'alterazione del flusso attorno alla placca causano emostasi intravascolare che favorisce la formazione di trombi. Processi di riparazione avvengono al fine di riassorbire i trombi ma può succedere che questi si organizzino e si incorporino nella placca aterosclerotica [3].

1.2.2 Lesioni congenite

Per lesioni congenite si intendono tutte quelle malattie che sono presenti fin dalla nascita perché hanno avuto origine al momento del concepimento o nella gravidanza durante la fase di sviluppo del feto. Le lesioni congenite si possono classificare come:

- sindromi da “sequestro”: sono patologie nelle quali i vasi sanguigni seguono un percorso anomalo o vengono compressi a causa della presenza di malformazioni anatomiche; un esempio è il “sequestro” dell'arteria poplitea nella quale il tendine della testa mediale del muscolo gastrocnemio si dispone lateralmente all'arteria poplitea e la comprime;
- ipoplasia arteriosa: l'arteria non si sviluppa completamente e causa claudicazione intermittente;
- arteria a calibro persistente: l'arteria non presenta le normali ramificazioni;
- fistola arterovenosa: avviene quando c'è una comunicazione anomala tra un'arteria ed una vena [3].

1.2.3 Trombosi

Per trombosi si indica la formazione di un trombo, massa solida formata di componenti ematiche e costituitasi nel lume di un vaso sanguigno (o cavità cardiaca). I fattori che ne favoriscono la formazione sono: alterazione della parete vascolare (la perdita dello strato endoteliale espone il collagene al flusso causando l'adesione delle piastrine), alterazione del flusso ematico ed alterazione dei costituenti del sangue (se aumentano le piastrine o cala l'attività fibrinolitica).

La trombosi arteriosa è quasi sempre dovuta a lesioni e si può dividere in primitiva e secondaria. Per trombosi arteriosa primitiva si intende la trombosi isolata avvenuta in un'arteria precedentemente sana in un soggetto che non presenta arteriopatie diffuse; la sua origine deriva da lesioni del vaso, piccoli traumi ripetuti, infezioni, scompenso cardiaco o immobilizzazione

prolungata. La trombosi arteriosa secondaria compare invece come conseguenza di altre malattie o lesioni come aterosclerosi o lussazioni come quella del ginocchio che può ledere l'arteria poplitea^[3].

1.2.4 Embolia arteriosa

Per embolia si definisce la migrazione nel flusso ematico di materiale non lisato ed il suo arresto in qualche sezione del circolo: tutte le arterie di qualsiasi diametro possono essere colpite da embolia.

L'origine dell'embolo può essere molto varia, principalmente si tratta di trombi murati provenienti dal cuore da cui possono staccarsi frammenti (o l'intero trombo) ed entrare nel circolo sanguigno. Tuttavia, i trombi possono avere origine anche da placche aterosclerotiche, materiale tumorale, tessuto normale, da parassiti o da infezioni di varia natura (batteriche o micotiche).

Le embolie possono essere dovute anche ad interventi dell'uomo; ad esempio durante le operazioni di sostituzioni delle valvole cardiache una possibile complicazione è la formazione di emboli di diversa natura (gassosi, tromboembolici, derivati da frammenti di materiale usato nella operazione). Inoltre i sostituti protesici stessi possono essere trombogenici e quindi causa di eventi tromboembolici.

Gli effetti delle trombosi e delle embolie dipendono dall'ischemia causata, che a sua volta deriva dal calibro e dalla natura del vaso interessato: ad esempio, piccole ischemie possono essere percepite dal paziente solo durante gli sforzi. Un altro fattore molto importante per valutare la gravità della malattia è la suscettibilità del tessuto alle condizioni di ipossia e la capacità di rigenerazione cellulare^[3].

1.2.5 Aneurismi e aneurisma dissecante

Per aneurisma si intende la dilatazione anomala e permanente di una parete del vaso arterioso o venoso; se poi questa si sviluppa a causa della rottura della tonaca intima del vaso da cui entra il sangue e porta ad un distacco degli strati più esterni del vaso, allora si parla di aneurisma dissecante^[3]. Sono patologie rare che interessano principalmente persone di sesso maschile di età superiore ai 50 anni.

L'aneurisma colpisce principalmente le arterie poplitee, femorali e succlavie ed è accompagnato dalla presenza di aneurismi a livello dell'aorta. L'aneurisma femorale si manifesta come una massa pulsatile a livello dell'inguine e talvolta causa dolore locale per la

compressione della vena o nel nervo femorale. L'aneurisma dell'arteria poplitea, invece, non è visibile dal paziente ed è percepibile solo quando inizia a causare dolore per la compressione delle strutture neuro vascolari vicine.

Anche se hanno un indice di mortalità minore rispetto agli aneurismi aortoiliaci, se non curati possono causare problemi per quanto riguarda la perfusione dell'arto e provocarne l'ischemia [4].

Le arterie colpite da aneurisma dissecante sono, in ordine di incidenza, le arterie renali, coronarie, carotidi, polmonari, spleniche, mesenteriche, cerebrali, tiroidee, iliache, epatiche, basilari, gastriche, retiniche, celiache, brachiali, femorali, brachiocefaliche e poplitee. L'aneurisma dissecante provoca un danno della parete del vaso con possibile fuoriuscita di sangue in caso di rottura della tonaca più esterna.

Tra le cause dell'aneurisma ci sono traumi, ateromi, gravidanze ed esami angiografici. Gli aneurismi dissecanti possono essere causati da complicazioni post-operatorie di bypass coronarico, da malattie come la displasia fibromuscolare, si possono presentare anche in prossimità dell'anastomosi distale tra il vaso e l'innesto vascolare protesico [3].

1.3 Sostituti protesici

Per le operazioni di bypass, un sostituto protesico ideale deve presentare le caratteristiche ed il comportamento più simile al vaso nativo: per tale ragione il sostituto perfetto dovrebbe essere:

- impermeabile al sangue;
- tromboresistente: la sua superficie non deve attivare le piastrine o la cascata coagulativa per evitare compromissioni della superficie protesica od ostruzioni del lume;
- complianti ovvero capace di cambiare il suo volume in base alle variazioni delle pressioni del flusso sanguigno;
- biocompatibile;
- resistente alle infezioni.

Deve presentare inoltre queste caratteristiche tecniche:

- essere facilmente impiantabile;
- essere immediatamente disponibile;
- essere poco costoso.

Allo stato attuale, tra i vari sostituti protesici disponibili, la vena autologa è considerato il migliore compromesso anche se questa non può essere definita il *gold standard* perché non è un sostituto perfetto [5].

In seguito saranno elencati alcuni tra i principali sostituti protesici disponibili attualmente per le operazioni di bypass femorale. Prima però di proseguire la trattazione, si devono definire due termini che verranno spesso utilizzati nel seguito:

- pervietà primaria: tempo dall'impianto dell'innesto alla prima occlusione senza aver operato misure aggiuntive [6];
- pervietà secondaria: tempo dal ripristino della pervietà attraverso un intervento ad una nuova occlusione; quando l'innesto si occlude per la seconda volta, è necessaria la rimozione del sostituto protesico o l'amputazione dell'arto [7].

1.3.1 Vena autologa

Il vaso utilizzato principalmente nelle operazioni di bypass è la vena grande safena, collocata lungo la coscia e la tibia nell'uomo, ha una lunghezza media di 60 cm e ha diametro che varia dai 3.5 ai 5 mm. La vena è costituita da un endotelio monostratificato, una tonaca media composta da due strati di muscolatura liscia ed un'avventizia contenente *vasa vasorum*, fibre elastiche e collagene. La porzione che si preleva è collocata tra la coscia e la gamba, la parte più lunga è sotto il ginocchio.

L'utilizzo della vena autologa nelle procedure di bypass è così diffuso perché tra i possibili sostituti si è mostrata quello con le più alte percentuali di pervietà primarie a 5 anni (in uno studio si è raggiunto il 72%-82% nei bypass femoro-poplitei ed il 59-69% nei bypass crurali) e percentuali di salvataggio dell'arto del 90%.

Sebbene i risultati ottenuti siano positivi, l'utilizzo della vena safena nelle operazioni di bypass non è sempre possibile. *In primis* tale vaso non è sempre disponibile: in media il 20% dei pazienti ha una vena autologa inutilizzabile; il vaso può essere già stato utilizzato in interventi precedenti, non è facilmente reperibile, come nel caso di pazienti obesi, o perché, a causa dello stato clinico del paziente, la vena risulta inadeguata o l'operazione di bypass combinata con quella di asportazione della vena risulterebbe essere troppo lunga e pericolosa per il paziente.

La protesi venosa rischia di essere suscettibile di diverse complicazioni come l'iperplasia neointimale (quando la lamina elastica interna ed esterna si separano portando ad una ipertrofia della muscolatura liscia con conseguente restringimento del vaso: questo fenomeno è stato riscontrato nel 10% dei casi), aneurisma (riscontrato nel 12% dei casi) e l'aterosclerosi (con un'incidenza del 7-15%) [5].

1.3.2 Innesti a base di polimeri fluorurati

Il politetrafluoroetilene (PTFE), comunemente noto con il nome commerciale di Teflon, è un polimero a base di carbonio e fluoro usato per la produzione di sostituti protesici di vasi sanguigni. Il monomero del PTFE risulta essere un'unità etilenica dove tutti e quattro gli idrogeni sono sostituiti da atomi di fluoro; il polimero viene ottenuto tramite polimerizzazione radicalica sotto pressione in eccesso di acqua per rimuovere il calore che si viene genera durante la reazione [8].

In campo biomedico viene utilizzato nella produzione di sostituti protesici di vasi sanguigni perché presenta superfici molto lisce, capaci lavarsi con il flusso del sangue. La sua forma espansa (ePTFE), anch'essa molto diffusa in campo biomedico, viene ottenuta tramite allungamento delle catene di politetrafluoroetilene di circa l'800%. La forma espansa risulta essere più rigida, con una struttura più cristallina, più idrofobica, più stabile termicamente e con una microporosità maggiore [9].

Gli innesti a base di politetrafluoroetilene sono i condotti sintetici usati principalmente come sostituti vascolari in alternativa alla vena safena autologa. Nonostante questo in uno studio di Naum ed Ardbid^[10] la pervietà primaria dopo 54 mesi è risultata essere del 37% per innesti in PTFE a confronto di valori maggiori del 70% nel caso di utilizzo della vena autologa.

Gli innesti a base di Teflon vengono rilevati dall'organismo come superfici esterne, pertanto a contatto con il sangue si attiva la cascata coagulativa che porta ad un'adesione delle piastrine alla superficie con conseguente riduzione della pervietà del condotto. Per evitare questo problema, alla superficie interna viene talvolta legata covalentemente eparina: questo trattamento porta ad un miglioramento del condotto in termini di pervietà [7]. In uno studio di Roina et al [9] si è notato che dopo un anno la pervietà primaria risultava essere del 82% mentre quella secondaria era circa del 92% [9], rendendo l'innesto paragonabile alla vena safena autologa in termini di pervietà secondaria.

Nel caso di bypass agli arti inferiori vi è il rischio dello sviluppo di fenomeni di iperplasia intimale capaci di portare al malfunzionamento dell'innesto. Per prevenire lo sviluppo di questa complicanza, si è pensato di generare un flusso laminare a livello dell'anastomosi distale tramite l'utilizzo di innesti dall'estremità allargate come se fossero dei cappucci che rivestono la vena a livello della giunzione (Figura 1.4).

Un altro problema comune nell'uso di innesti a base di ePTFE è il sanguinamento nella regione della sutura durante la fase di impianto. Con lo scopo di ridurre il foro lasciato dall'ago e la linea di sutura, si è pensato di formare l'innesto come un sottile strato di ePTFE fuso allo strato

più esterno con una rete di poliestere. Da quest'idea è nato l'innesto dal nome commerciale *Fusion*TM (*Maquet, Wayne, NJ*)^[10], il quale sta mostrando di essere un'utile alternativa al tradizionale innesto a base di ePTFE^[11].



Figura 1.4: esempio di innesto vascolare in ePTFE. La parentesi indica l'allargamento della protesi per evitare l'iperplasia intimale^[10].

1.3.3 Innesti a base di poliesteri

Per la produzione di protesi vascolari viene impiegato anche il polietilentereftalato (PET), poliestere ottenuto mediante una reazione di transesterificazione tra acido tereftalico e glicole etilenico. Disponibile sul mercato sotto forma di fibre con, ad esempio, il nome di *Dacron*[®] o *Terylene*[®] e come film noto come *Mylar*[®]^[8].

Il PET fu il primo polimero ad essere usato come materiale per le protesi vascolari; fu clinicamente disponibile già a partire dal 1957 e fu subito molto apprezzato per la sua maneggevolezza e facilità di sutura. Per la produzione dell'innesto protesico si partiva dai filamenti di *Dacron* che venivano attorcigliati per formare dei fili e questi infine erano filati insieme dando una forma ondulata (Figura 1.5) o simile ad un lavorato a maglia. Inizialmente si preferiva la seconda forma perché, grazie alla sua porosità, favoriva la crescita cellulare e la sua adesione all'ambiente circostante. Per incrementare l'integrazione dell'innesto si era provato a produrre innesti protesici con fili molto più sottili, ma questa tipologia di innesti a base di *Dacron* fu presto abbandonata a causa della eccessiva dilatazione, basso modulo elastico e bassa forza di ritenzione alla sutura. Un ulteriore miglioramento è stato raggiunto quando una pila perpendicolare di anelli è stata aggiunta alla struttura a maglia originale favorendo ulteriormente l'ancoraggio della protesi e la formazione della neo-intima. In seguito le protesi in *Dacron* con struttura lavorata a maglia sono state abbandonate a favore di quella dove il *Dacron* era ondulato perché si mostravano più resistenti e meno propense a difetti strutturali. Le protesi sono inoltre impregnate di sostanze volte a favorire l'adesione cellulare come il collagene o l'albumina^[13].



Figura 1.5: immagine di un innesto vascolare in Dacron ondulato ^[12].

Gli innesti in Dacron presentano un comportamento anisotropo. Prendendo campioni ad osso di cane dalla direzione longitudinale e circonferenziale ed eseguendo prove a carico di rottura, si può vedere che i campioni hanno lo stesso andamento a prescindere dalle due direzioni: dopo un'iniziale regione a comportamento elastico, si riscontra un andamento non lineare. Ciò che li differenzia sono i valori numerici: la Tabella 1.1 mostra un confronto tra le proprietà dei provini longitudinali e circonferenziali. Si può vedere che la sezione circolare risulta più rigida con un minor allungamento a rottura ed una maggiore tensione di rottura (Tabella 1.1).

Tipo di campione	Allungamento in campo elastico (adimensionale)	Allungamento a rottura (adimensionale)	Tensione a rottura (MPa)
Circonferenziale	1.08	1.83	74
Longitudinale	1.5	2.39	72

Tabella 1.1: proprietà meccaniche di innesti in Dacron.

L'anisotropia del materiale viene spiegata dall'orientazione e dal numero di fili che compongono i campioni e dal fatto che lo stretching delle ondulazioni longitudinali favorisce l'allungamento dei campioni con quella orientazione.

Da questi valori si può vedere che l'innesto presenta un'alta rigidità circonferenziale capace di smorzare l'onda pressoria rischiando di modificare lo stroke cardiaco, tuttavia la forma corrugata nella direzione longitudinale contribuisce a smorzare quest'effetto ^[12].

Il fallimento intrinseco strutturale si mostra con una percentuale molto bassa, dal 3% al 0.5%, ed è causato da diversi fattori quali difetti di produzione, conservazione errata, utilizzo scorretto durante l'intervento, fatica meccanica e biodegradazione; tutti questi casi si verificano in assenza di infezioni di qualsiasi natura.

L'integrità strutturale viene compromessa in primo luogo dai difetti di produzione, quali ad esempio un'eccessiva temperatura durante la fase di filatura o un eccessivo uso di raggi gamma e beta per la sterilizzazione.

Una volta inserito l'innesto in Dacron si dilata: a causa della dilatazione e separazione delle fibre sottoposte alla pressione del flusso ematico, si produce un'espansione della maglia con conseguente perdita di compattezza ed infiltrazione di sangue interstiziale. Questo tipo di dilatazione non è però tra le cause principali della degenerazione dell'impianto.

Le regioni dove i fili di Dacron vengono uniti assieme per formare una struttura circolare sono i punti dove le fibre assorbono più tensioni durante la preparazione dell'innesto e sono i punti più soggetti alla rottura dell'impianto. L'andamento pulsatile del flusso sanguigno porta inoltre un progressivo stiramento e assottigliamento dei filamenti di Dacron, causando la progressiva rottura di alcuni di essi. Entrambi questi tipi di danneggiamento meccanico sono più visibili in innesti di piccolo calibro.

Un altro fattore che causa la perdita di integrità dell'innesto è la biodegradazione. Dopo anni dall'impianto, alcuni filamenti cominciano ad indebolirsi a causa della fatica meccanica: questi cambiamenti della fibra possono provocare l'attacco delle cellule giganti tipiche della reazione da corpo estraneo, che portano ad un'accelerazione nel processo di degenerazione dell'innesto. In conclusione, gli innesti prodotti in Dacron rimangono tra i più diffusi perché ritenuti tra i migliori sostituti dei vasi sanguigni in virtù del loro basso rischio di fallimento strutturale o cambiamenti degenerativi^[13], e solo dopo 10 anni si ha un deterioramento delle fibre del 50%^[8].

1.3.4 Innesti a base di poliuretani

I poliuretani sono una famiglia di copolimeri costituiti dall'alternanza di due componenti, l'*hard segment*, costituita in genere da un disoisocianato ed un estensore di catena come un poliolo, ed il *soft segment*, costituito in genere da un poliolo o un poliesteri o un polietere o un policarbonato. In base alle proporzioni dei due componenti, il poliuretano si può presentare come un materiale elastomerico, se l'*hard segment* è presente con una percentuale in peso tra il 15 ed il 40, od un materiale termoplastico con un modulo elastico sempre crescente in modo proporzionale alla percentuale di *hard segment*. I due domini portano alla formazione di due fasi. Le dimensioni e le caratteristiche (ad esempio, il grado di cristallinità) dipendono dal peso e dalla composizione chimica dei due segmenti.

Il primo poliuretano usato a scopi biomedicali è stato il *BiomerTM* prodotto da *Ethicon Inc* e *Jhonsen & Jhonsen Co*. Il *Biomer* era un poliuretano a base di polietere caratterizzato da un elevato modulo elastico, un'alta resistenza alla rottura ed ai carichi ripetuti; il polimero era particolarmente apprezzato per la sua emocompatibilità ^[14].

Un problema del gruppo di poliuretani a base di polietere è che in vivo sono soggetti al fenomeno del *Biologically-Induced Environmental Stress Cracking* (BIESC) che consiste nell'attacco da parte dei macrofagi dei gruppi funzionali d'etere i quali, tramite enzimi, degradano la superficie della protesi compromettendone quindi la stabilità ^[15].

Attualmente vengono utilizzati maggiormente i poliuretani a base di policarbonati, come il *ChoretaneTM* o il *Chronoflex*, perché risultano essere resistenti al fenomeno del BIESC ^[14].

Alcuni poliuretani sono materiali emocompatibili e danno i migliori risultati per quanto riguarda la produzione di innesti vascolari di piccolo calibro (diametro interno < 6 mm); a confronto con innesti prodotti in polietilentereftalato e politetrafluoroetilene espanso sono quelli che causano meno complicazioni per quanto riguarda la formazione di trombi o di neo-intima eccessivamente spessa ^[16].

Le vantaggiose proprietà dei poliuretani risiedono nella dimensione dei pori della superficie interna e nella capacità di assecondare il flusso pulsatile del sangue.

Per la produzione di innesti di piccolo calibro a base di poliuretani si può fare anche ricorso all'elettro filatura: la soluzione polimerica viene fatta fuoriuscire da un ugello carico elettrostaticamente, accelerata da un campo elettrico esterno ed infine depositata su un mandrino collegato a terra; in alternativa, la soluzione polimerica viene trasformata in filamenti che si vengono a legare al di sopra di un mandrino rotante.

Un miglioramento tecnico che è stato adottato nella produzione di questo tipo di innesti è l'aggiunta nella superficie a contatto con il sangue di molecole bioattive legata alla superficie del condotto in modo covalente o ionico. Questo viene fatto al fine di incrementare ulteriormente l'emocompatibilità riducendo il rischio della formazione di trombi e favorendo la formazione di uno strato di neo-intima sulla superficie dell'innesto protesico.

L'eparina è la sostanza che viene usata maggiormente per questa procedura ma sono utilizzate anche altri anticoagulanti, proteine o mediatori della crescita tissutale ^[14].

1.3.5 L'innesto di Dardik

La documentazione riguardo l'uso del cordone ombelicale come sostituto protesico vascolare risale al 1976 quando il Dottor Herbert Dardik scrisse riguardo l'utilizzo della vena ombelicale

umana come innesto vascolare durante la procedura di bypass femorale. Inizialmente per la produzione di questo nuovo tipo di sostituto vascolare si rimuoveva la vena ombelicale dal cordone tramite digestione enzimatica o rimozione meccanica, e dopo la si fissava con glutaraldeide ^[5]. Il trattamento con glutaraldeide aveva lo scopo di rendere più stabile il collagene all'interno del cordone ombelicale e ritardare la sua degradazione rendendo la matrice più assorbente e resiliente. La scelta della glutaraldeide come agente reticolante deriva dal fatto che questo reagente è capace di generare forti legami crociati tra le fibre di collagene e risulta essere meno citotossico rispetto ad altre aldeidi perché rilascia meno monomeri i quali riducono l'infiltrazione delle cellule nell'impianto provocandone, in ultima fase, la degenerazione ^[17]. Questa prima generazione di innesti protesici ricavati dalla vena ombelicale non ha dato risultati molto soddisfacenti, in particolare in termini di pervietà a breve termine ^[5]. Nel 1988 si raggiunse un miglioramento nel processo produttivo, sia per quanto riguarda la fase di trattamento chimico, sia perché l'innesto è stato rivestito con una rete di Dacron al fine di conferirgli maggior resistenza alla dilatazione dovuta alla progressiva mancanza di stabilità dei legami inter-catena delle fibre di collagene (Figura 1.6) ^[18]. Questa nuova generazione di innesti ha mostrato di avere molti pregi anche se il confronto tra diversi innesti vascolari risulta particolarmente difficile. In diversi lavori gli autori hanno evidenziato come molti degli studi sull'argomento presentino parecchie lacune come la mancanza di un protocollo comune per le varie ricerche, la carenza di studi volti a comparare gli innesti protesici diversi dalla vena autologa, la mancanza di un'appropriata selezione dei casi o l'assenza di informazioni riguardo alle eventuali terapie anticoagulanti o antiaggreganti a cui sono stati sottoposti i pazienti in seguito all'operazione ^[6].

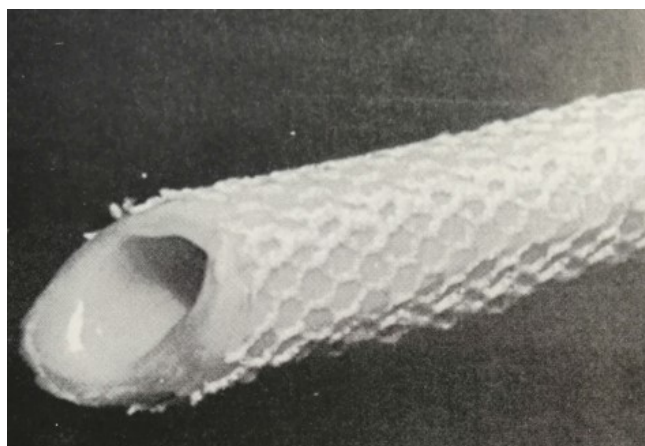


Figura 1.6: innesto di Dardik con rete di rivestimento in Dacron ^[5].

Nonostante ciò, si è notato che l'innesto con vena ombelicale umana, se confrontato con le protesi a base di politetrafluoroetilene negli interventi di bypass con anastomosi distale sopra il ginocchio, presentava una migliore pervietà primaria a partire da dodici mesi dall'intervento, e secondaria dai 24 mesi; nel caso di innesti con anastomosi distale sotto il ginocchio, si è riscontrato che l'innesto con vena umana ombelicale presenta una pervietà secondaria migliore dai tre ai 24 mesi ^[6].

Se si confronta invece l'innesto con vena umana ombelicale con i vasi in Dacron funzionalizzati con eparina, si è visto che negli interventi con anastomosi distale sopra il ginocchio, la pervietà primaria risulta simile tra i due tipi di protesi vascolari. Fino a cinque anni dall'intervento si riscontra però che gli innesti in Dacron eparinizzati presentano una migliore pervietà secondaria ed una percentuale leggermente più alta di salvataggio dell'arto ^[6].

Nel corso degli anni sono stati riscontrati diversi effetti indesiderati nell'utilizzo dell'innesto di Dardik come protesi vascolare negli interventi di bypass all'arto inferiore. Il problema principale relativo all'utilizzo di questo sostituto protesico è la degradazione, che entro i tre anni può portare alla formazione di aneurismi (Figura 1.7) e di trombi ^[18].

Il numero tutt'altro che trascurabile di complicazioni ha fatto sì che l'innesto con vena ombelicale umana venisse usato sempre di meno ^[6] sebbene in uno studio del 2002 Dardik stesso abbia mostrato che il numero di complicazioni clinicamente significative fosse molto inferiore rispetto a quelle segnalate ^[19].

Un altro fattore che ha ostacolato la diffusione dell'innesto di Dardik all'interno della comunità chirurgica è la sua scarsa maneggevolezza: la protesi è fragile e quindi deve essere maneggiata con cura per evitare dissezione murale; anche durante l'intervento non è di facile utilizzo, perché lo spessore della protesi e la necessità di prendere nella linea di sutura sia la vena ombelicale che la rete di Dacron, rendono la fase di sutura piuttosto complessa per il chirurgo ^[5]. Nel 2005 la FDA ha ritirato dal mercato l'innesto con vena ombelicale umana a causa della sua alta percentuale di degradazione e rischio di secondo intervento ^[18].

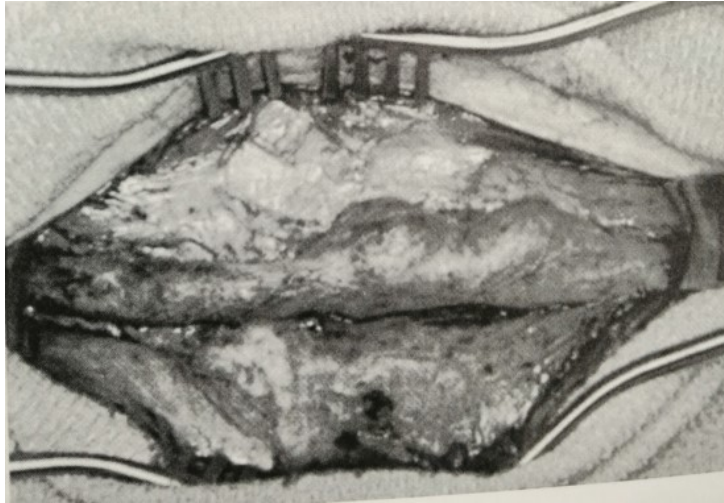


Figura 1.7: dilatazione aneurismatica di un innesto di Dardik [5].

1.3.6 Approccio dell'ingegneria tissutale

L'ingegneria tissutale vascolare si sta concentrando nella produzione di innesti protesici di piccolo diametro per risolvere le occlusioni arteriose e per la vascolarizzazione di tessuti od organi prodotti artificialmente.

Vengono seguiti due approcci per la produzione di protesi vascolari: nel primo caso si cerca di ottenere un prodotto resistente, non biodegradabile e capace di conservare le sue proprietà anche dopo l'impianto nell'organismo eliminando la possibilità di rottura, dilatazione o formazione di aneurismi; nel secondo caso, invece, si cerca di produrre innesti biorisorbibili ed allo stesso tempo anche bioattivi, in modo che la progressiva degradazione dell'innesto favorisca la contestuale infiltrazione cellulare e formazione di nuova matrice extracellulare, portando alla fine ad avere un vaso simile a quello nativo sia per struttura che per composizione cellulare senza però riscontrare aneurismi o iperplasia intimale.

Lo sviluppo di queste nuove tecnologie permetterebbe di superare le limitazioni di alcuni dispositivi biomedici dovute alla piccola distanza che nutrienti ed ossigeno possono percorrere per diffusione (100-200 μm); idealmente se, tramite l'ingegneria tissutale, fosse possibile creare un'efficiente rete vascolare, si potrebbe creare in vitro un tessuto ingegnerizzato completo ed inserirlo direttamente nel corpo umano al fine di riparare o sostituire i tessuti danneggiati.

Alcune tra le principali tecniche adottate dall'ingegneria tissutale per la produzione di innesti vascolari protesici sono le seguenti:

- Elettrofilatura: questa tecnica viene utilizzata per la produzione di fibre molto sottili da polimeri in soluzione (cfr 1.3.5). La soluzione è contenuta in una siringa dotata di un ago all'estremità: inizialmente non è presente fuoriuscita del liquido a causa della tensione

superficiale; durante il processo si applica un campo elettrico sempre più intenso fino a quando non si viene ad espellere un getto liquido che andrà a depositarsi su un collettore collegato a terra, andando a formare su questo un sottile film. Il solvente evapora durante il transito tra l'ago ed il collettore. Tramite elettrofilatura si possono formare strutture che imitano quella della matrice extracellulare dei vasi sanguigni. Se il collettore è rotante, si possono formare sostituti protesici tubulari: in questo caso si può utilizzare una miscela tra polimeri naturali, come elastina o collagene, e polimeri artificiali, come i policarbonati uretani, per combinare la biocompatibilità dei primi con le proprietà meccaniche (come ad esempio l'alta tensione a rottura) dei secondi.

- Stampaggio: questa tecnica consiste nell'inserire la soluzione polimerica in uno stampo ed estrarlo solo quando il solvente sarà evaporato e sarà rimasto solo il polimero solidificato. Questa procedura ha il vantaggio di poter ottenere oggetti di molte forme diverse solamente cambiando la geometria dello stampo; inoltre, sono richieste attrezzature non troppo complesse o costose. Con stampi a forma tubulare è possibile ottenere innesti vascolari e regolando la distanza tra le due pareti se ne può determinare lo spessore. Questa tecnica permette inoltre di controllare la porosità della superficie interna del vaso tramite l'aggiunta di un agente porogeno o l'utilizzo di uno stampo con una superficie interna opportunamente modellata. Una corretta porosità favorisce l'adesione e la crescita cellulare all'interno del vaso, cosa molto importante se vengono utilizzati polimeri naturali perché la loro degradazione deve essere accompagnata dalla formazione di un nuovo endotelio, tessuto muscolare liscio e matrice extracellulare.
- Stampa 3D: con la stampa 3D si ottengono oggetti attraverso la deposizione di strati sovrapposti di materiale secondo un modello CAD precedentemente costruito. La presenza di cellule all'interno della sostanza, detta *bioink*, permette di creare sostituti tessutali vitali. La soluzione viene estrusa dall'ugello di una stampante applicando sollecitazioni meccaniche o pneumatiche. Il *bioink* durante l'estrusione diventa liquido perché viene sottoposto ad assottigliamento superficiale e si solidifica solo in seguito. Alcuni svantaggi di questa tecnica sono la presenza di una fase di riscaldamento che può arrecare danni alle cellule o di altre sostanze biologiche presenti nel *bioink*, i danni causati dagli stress superficiali a cui è sottoposto il *bioink*, e la necessità di avere una bassa densità cellulare per poter lavorare con fluidi poco viscosi ed evitare il blocco della stampante. Per superare questi limiti esistono diversi accorgimenti tecnologici come la tecnica del trasferimento indotto da laser. La stampa 3D permette di avere innesti vascolari dalla forma e porosità molto precisa, che già contengono le cellule del paziente. Queste ultime,

durante una fase di coltura in vitro, cominciano a secernere le componenti della matrice extracellulare preparando il vaso per il successivo innesto^[20].

1.4 Il cordone ombelicale e le sue proprietà

Il cordone ombelicale è una struttura anatomica con lo scopo di connettere il feto alla placenta e di garantire lo sviluppo normale ed il benessere del feto. Nella maggior parte dei casi il cordone si innesta nella parte centrale del disco placentare. Arrivato al feto, i tre vasi in esso contenuti si diramano: la vena ombelicale porta il sangue fino alla vena cava inferiore, che fornisce di sangue l'atrio destro del cuore, mentre le due arterie ombelicali si innestano a livello della arteria iliaca interna destra e sinistra.

Al momento della nascita, il cordone ombelicale si mostra come una struttura cilindrica di calibro regolare, liscia dal colore bianco-madreperla e con uno sviluppo elicoidale.

Il cordone presenta i seguenti elementi (Figura 1.8):

- dotto allantoideo: precursore del cordone ombelicale
- membrana amniotica;
- vena ombelicale, vaso dalla spessa parete vascolare con il compito di trasportare il sangue ossigenato e ricco di sostanze nutritive dalla placenta al feto;
- due arterie ombelicali: coppia di vasi, anch'essi con pareti molto spesse che si avvolgono a spirale attorno alla vena ombelicale e hanno il compito di trasportare il sangue povero di ossigeno e ricco di cataboliti dal feto alla placenta;
- gelatina di Wharton: è una sostanza costituita da tessuto connettivo lasso; è composta prevalentemente dalla parte amorfa della matrice extracellulare (per esempio, acido ialuronico) mentre la percentuale di collagene è molto bassa. Non è un tessuto innervato ed il suo scopo principale è quello di proteggere i vasi dalle compressioni, in particolare quelle che avvengono durante la contrazione uterina; questa sua capacità di deformarsi garantisce anche la normale pervietà dei vasi ematici del cordone ombelicale. La gelatina di Wharton non è distribuita in modo uniforme lungo tutto il cordone ombelicale: sono presenti assottigliamenti che permettono di vedere i vasi sottostanti.

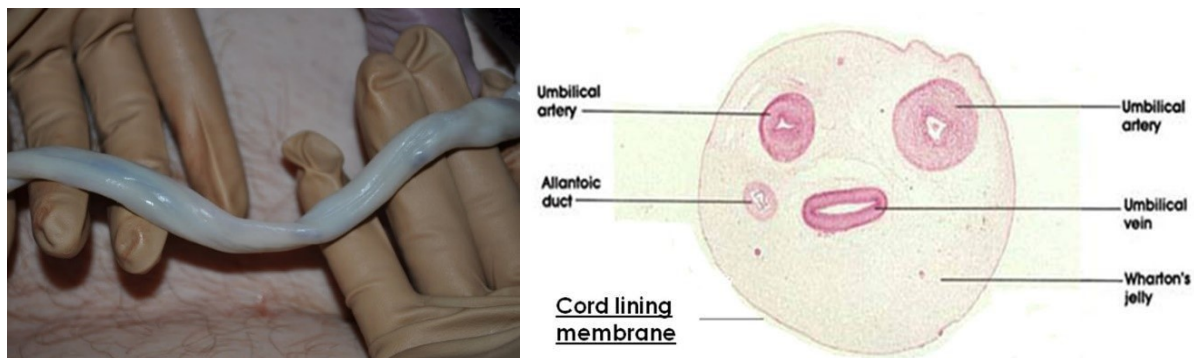


Figura 1.8: cordone ombelicale: vista longitudinale (a sinistra) e sezione (a destra).

La formazione del cordone ombelicale inizia alla terza settimana dal concepimento e ha origine dall'allantoide, massa cellulare che si origina dalla parte centrale dell'intestino dell'embrione; ha una forma allungata e sporge dal feto; possiede una funzione respiratoria, nutrizionale ed escretoria. A 4 settimane dal concepimento il cordone ombelicale è lungo solo 2 mm ma durante la gestazione si sviluppa arrivando alla fine ad avere una lunghezza media di 55-60 cm ed un diametro medio di 17-20 mm.

Una peculiarità del cordone ombelicale è lo sviluppo spiraliforme dei suoi vasi, già visibile alla nona settimana di gravidanza tramite ecografia; il numero medio di spirali per cordone è undici e rimane costante durante tutta la gravidanza. Non esiste una spiegazione unica sull'origine delle spirali: alcune le considerano causate dai movimenti fetali attivi e/o dalla torsione passiva dall'embrione, altri le imputano ad un diverso rapporto tra la crescita dei vasi ombelicali, o alle forze emodinamiche fetali oppure ad una configurazione ed orientazione diversa delle fibre muscolari delle pareti delle arterie ombelicali ^[21].

Il cordone ombelicale è stato studiato dal punto di vista meccanico, poiché ritenuto un possibile sostituto di vasi sanguigni. La gelatina di Wharton e la vena ombelicale risultano essere materiali con un comportamento viscoelastico, con conseguente risposta sforzo-deformazione non lineare. Risulta più difficile invece studiare le arterie ombelicali perché il loro piccolo diametro rende complicato l'ottenimento di campioni dalle dimensioni adeguate.

Sia la gelatina di Wharton che la vena ombelicale mostrano un comportamento a trazione non lineare tipico dei tessuti biologici molli, passando da una piccola deformazione ad una più grande il modulo elastico (E) aumenta notevolmente. Nel caso della vena, l'iniziale E è dovuto all'allungamento delle sole fibre di elastina mentre le fibre di collagene rimangono ancora ripiegate; con l'aumentare della sollecitazione anche queste vengono a distendersi provocando un continuo aumento del modulo di Young. Il valore più alto del modulo si ottiene quando quasi tutte le fibre di collagene sono distese. Per quanto riguarda la gelatina di Wharton, la bassa

rigidezza iniziale può essere correlata alla rete di microfibrille glicoproteiche, mentre l'aumento del modulo elastico viene sempre ricondotto al contributo delle fibre di collagene che man mano vengono raddrizzate e reclutate per resistere al carico.

La vena ombelicale è un materiale anisotropo: lo si può riscontrare facendo diverse prove meccaniche su sezioni longitudinali e circonferenziali. In uno studio di Pennati^[22] in cui si eseguono prove di trazione con allungamento costante, si può vedere che il modulo elastico iniziale (E_0) ed il modulo elastico prima di rottura (E_∞) dei campioni presi longitudinalmente sono molto più grandi rispetto ai campioni circonferenziali ($E_0 = 0.62 \pm 0.44$ MPa ed $E_\infty = 10.13 \pm 6.83$ MPa nel caso dei campioni longitudinali; $E_0 = 0.20 \pm 0.22$ MPa ed $E_\infty = 2.36 \pm 0.77$ MPa nel caso dei campioni circonferenziali).

Nello studio sono state eseguite anche prove di *stress relaxation* dalle quali si può vedere che gli anelli di vena ombelicale dopo circa 50-200 secondi raggiungono il valore asintotico di 0.024 MPa per la tensione, nell'altro caso la tensione è continuata a calare anche più avanti, raggiungendo il valore stabile di 0.329 MPa a circa 900 secondi ^[22].

Tantius ed al.^[23] hanno dimostrato che nel complesso il cordone ombelicale, se sottoposto a prove di trazione uniassiali lungo la sua lunghezza, ha una resistenza a rottura media di 79.87 ± 27.39 N con valori che possono oscillare tra 37.24 N e 150.04 N ed un allungamento a rottura compreso tra il 13.24% ed il 119.93% ^[23].

1.5 Obiettivo della tesi

Questa tesi ha lo scopo di descrivere l'esperienza di laboratorio nella quale sono stati realizzati e caratterizzati meccanicamente condotti tubolari con possibili applicazioni in campo biomedico. In particolare, sono stati prodotti dei condotti tubolari in Chronoflex AR ed altri in Chronoflex AR-LT, due poliuretani a base di carbonati, attraverso due tecniche diverse: la separazione di fase e l'evaporazione del solvente in forno con pressione negativa. In seguito, i condotti ottenuti sono stati sottoposti a diverse prove meccaniche come il test di trazione a rottura, la valutazione della resistenza di ritenzione a sutura e prove di stress relaxation. I risultati ottenuti sono stati elaborati tramite programmi scritti con il software Matlab[®] e confrontati tra di loro per valutare quali fossero le differenze tra le proprietà meccaniche dei condotti in base al polimero utilizzato e/o alla tecnica di produzione adoperata.

I condotti sono stati concepiti per essere poi utilizzati tal quali come sostituti vascolari, o come rivestimento di tratti di cordone ombelicale al posto della rete in Dacron originariamente applicata da Dardik; sul costrutto ottenuto dalla combinazione del cordone ombelicale e del

condotto tubulare dovranno essere poi eseguite prove di compliance per valutarne la resistenza alla dilatazione in funzione della pressione.

Capitolo 2

2.1 Materiali utilizzati

2.1.1 Polimeri

Durante le prove sperimentali è stato utilizzato il polimero Chronoflex nelle due formulazioni AR e AR-LT (*AdvanSource Biomaterials, Wilmington, USA*) in soluzione al 22% peso/volume in N,N-dimetilacetammide. Le due formulazioni commerciali differiscono dal momento che il prodotto LT (*low tack*) contiene il 9% peso/peso di microsilice che lo rende meno appiccicoso. Il polimero è formato da: policarbonato poliolo, difenilmetano isocianato, etilendiammina e 1-3 diaminocicloesano e viene prodotto in dimetilacetammide tramite la tecnica di “pre-polimero”: con tale tecnica prima si sintetizza il “soft block” del polimero ed in seguito vengono aggiunti i componenti necessari alla formazione dell’“hard block”^[15].

In Figura 2.1 è riportato il risultato dell’analisi FTIR condotta su Chronoflex AR e AR-LT per accertarne la composizione chimica.

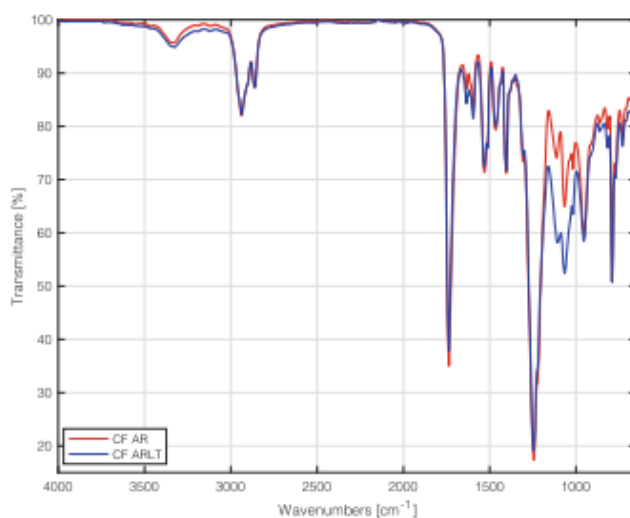


Figura 2.1 spettri FTIR di campioni di Chronoflex AR e Cronoflex AR-LT^[24].

I picchi a 1737 e 1251 cm^{-1} sono tipici dei gruppi uretano e carbonato, mentre i picchi a 1251, 956 e 791 cm^{-1} sono dovuti alla presenza di ulteriori gruppi carbonato nel “soft block” del polimero; il picco a 1598 cm^{-1} è imputabile alla presenza di molecole aromatiche nel “hard block”; infine, il picco a circa 1637 cm^{-1} è dovuto dalla presenza di diammine. I due spettri differiscono nell’intervallo 1200-900 cm^{-1} , molto probabilmente a causa della presenza della silice nel Chronoflex AR-LT^[24].

I gruppi uretanici presenti nel polimero possono interagire tra loro andando a formare legami reticolati. Come si può vedere dalla Figura 2.2, queste interazioni a corto raggio sono legami ad idrogeno e possono interessare atomi della stessa catena polimerica o di catene vicine.

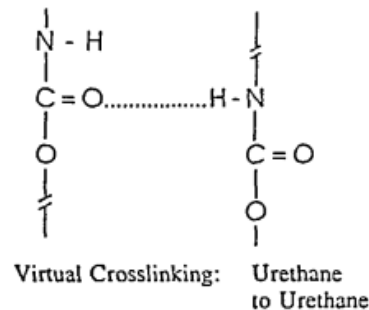


Figura 2.2 Esempio di legame reticolare ^[15].

Questi legami deboli sono molto diffusi e portano ad un miglioramento delle proprietà meccaniche relative all'allungamento ed alla tensione prima della rottura. In uno studio ^[15] sono state analizzate membrane in Chronoflex AR ed in Chronoflex AR-LT e si è visto che possiedono un allungamento a rottura maggiore del 400% ed una UTS (*Ultimate Tensile Strength*) maggiore di 55.16 MPa. L'abbondanza dei legami reticolati conferisce inoltre al polimero carattere elastomerico e grande resistenza anche quando sottoposto a carichi ciclici. L'appartenenza del Chronoflex alla classe dei policarbonati uretani gli conferisce resistenza al fenomeno della BI-ESC (frattura in ambiente attivo biologicamente indotta), meccanismo nel quale i macrofagi causano una degradazione enzimatica della superficie provocando delle microfrazioni che minano l'integrità del polimero e conseguentemente quella dell'impianto ^[15]. Tramite studi in vitro ed ex vivo eseguiti su animali, si è dimostrato che il Chronoflex possiede basse proprietà citotossiche e trombogeniche, ma è leggermente pro-emolitico. In uno studio condotto da M. C. Bélanger et al ^[25] è stato preso del sangue da due cani Mongreal, ed è stato messo a contatto con campioni quadrati di Chronoflex AR per alcune ore. Si è visto che questo ha determinato un'emolisi del 13.5%, percentuale più bassa rispetto ad altri policarbonati uretani commercialmente disponibili come il Carbothane ed il Corethane ^[25]. Una particolarità interessante del Chronoflex è che, se fatto colare su un tessuto biologico, aderisce molto bene ad esso e lo penetra superficialmente, assicurando l'integrità della composizione chimica della superficie opposta, su cui non è stato versato il polimero ^[24].

2.1.2 Forno sotto vuoto

Il forno da laboratorio utilizzato per la produzione dei condotti tramite evaporazione del solvente è il Raypa Vacuum drying oven EV-50 (RAYPA R. Espinar S. L., Barcellona, Spagna) (Figura 2.3). Tramite il tastierino frontale posto sopra la bocca del forno, si possono regolare/visualizzare vari parametri di esercizio, quali la temperatura, la pressione e il timer. Il range di temperatura è 35-200 °C, mentre la pressione interna può variare da 0 a -1 bar grazie all'utilizzo di una pompa esterna connessa in uscita al forno.



Figura 2.3 Forno Raypa Vacuum drying oven.

2.1.3 Traction machine

TRAMA (TRAction MACHine) (Figura 2.4) è il sistema utilizzato per la caratterizzazione meccanica dei biomateriali, in particolare per eseguire le prove a trazione che permettono di misurare i valori massimi di tensione e di allungamento prima della rottura e il comportamento a fatica che si produce per la ripetizione di numerosi cicli di carico (Figura 4.8). Il sistema è composto da quattro attuatori lineari posti ortogonalmente per consentire prove di trazione uniassiali e biassiali. Gli attuatori sono connessi, nella parte iniziale, a delle celle di carico capaci di misurare una forza massima di 50 N e a dei motori che consentono uno spostamento massimo di 70 mm con una velocità al più di 50 mm/s. All'estremità degli attuatori sono collegati dei bracci di ancoraggio che terminano con delle grip alle quali vengono fissati i campioni. Le celle di carico sono in grado di misurare la forza applicata sul campione durante la deformazione imposta dal movimento degli attuatori. Per evitare lo scontro tra le grip, alla base di ogni attuatore è posto un sensore mobile di fine corsa.

Il sistema di campionamento dei segnali arriva fino a 1000 Hz. TRAMA è inoltre equipaggiato con un sensore di temperatura e con una videocamera che permette, oltre alla visualizzazione in diretta della prova, anche di memorizzare filmati con un limite massimo di 150 fps.

Il settaggio di tutti i parametri è consentito grazie al software LabVIEW installato nel computer, che gestisce direttamente il sistema. Il software permette di impostare i parametri delle prove e di memorizzarli in procedure che possono essere richiamate di volta in volta definendo: entità e velocità della deformazione, curva di spostamento degli attuatori, numero di cicli e/o durata della prova. Di norma, dopo aver montato il campione sulle grip, viene eseguita una fase di pretensionamento allo scopo di mantenere il campione in una configurazione orizzontale. Al termine della prova, TRAMA fornisce un file .csv che presenta i dati registrati dal sistema di acquisizione in colonne: in particolare, la tabella generata avrà 15 colonne che identificano le variabili analizzate, mentre nelle righe sono presenti i valori delle diverse variabili misurate nei vari istanti di campionamento.

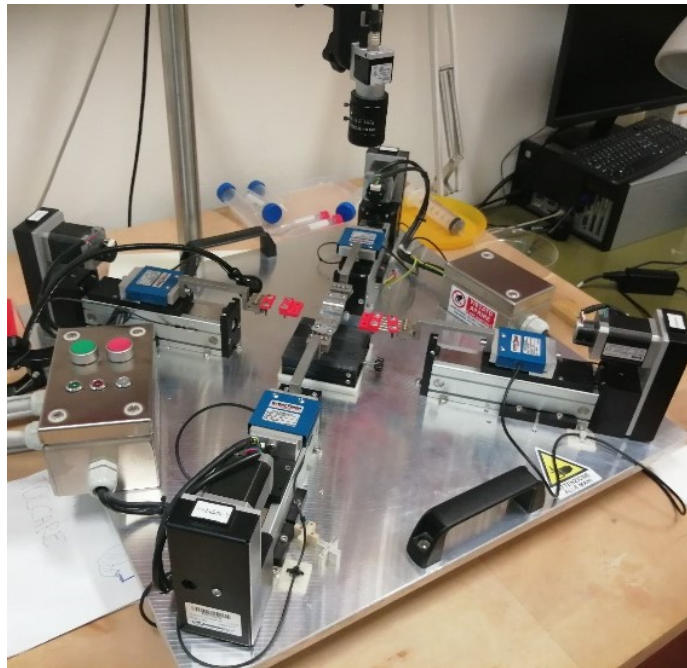


Figura 2.4 Apparato TRAMA per le prove a trazione.

2.2 Metodi usati

2.2.1 Produzione condotti

Sono stati prodotti condotti tubulari in Chronoflex AR e Chronoflex AR-LT secondo due procedure distinte. Nel primo caso, si sono ottenuti tramite la tecnica della inversione di fase seguendo le indicazioni dello studio di Kuźmińska et al ^[26]: un tubo in Teflon che funge da

stampo viene inserito in una soluzione del polimero in dimetilacetammide con una concentrazione 22%w/v; il tubo viene con cura estratto e poi inserito in un contenitore riempito di etanolo puro; dopo 24 ore è rimosso e lasciato ad asciugare sotto cappa a temperatura ambiente per 24 ore ^[26] (Figura 2.5).



Figura 2.5 Condotti tubulari ottenuti con la tecnica della inversione di fase. A sinistra il condotto prodotto con Chronoflex AR; a destra quello prodotto in Chronoflex AR-LT.

Nel secondo caso, il cilindro in Teflon, dopo l'immersione nella soluzione, è stato messo in rotazione per un'ora sotto cappa a temperatura ambiente e successivamente in forno a 100 °C con una pressione di -0.2 Bar per 12 ore (Figura 2.6).



Figura 2.6 Condotti prodotti con la tecnica dell'evaporazione del solvente. A sinistra il condotto prodotto con Chronoflex AR; a destra quello prodotto Chronoflex AR-LT

2.2.2 Test eseguiti

Di seguito sono riportati i test eseguiti sulle membrane polimeriche.

Test di trazione a rottura

Il campione viene tagliato a forma di osso di cane (Figura 2.7) e viene allungato ad una velocità complessiva di 2 mm/s fino a rottura.

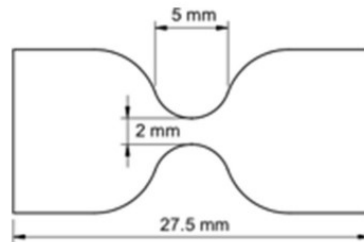


Figura 2.7 Forma e dimensione del provino ad osso di cane utilizzato per i test.

Suture retention test

Dai condotti cilindrici sono stati ricavati dei campioni rettangolari di base 5 mm. Seguendo lo standard ISO 7198-2016, a 2 mm dall'estremità del campione è stato applicato un punto di sutura con filo in polipropilene 5-0. In seguito al fissaggio del provino rettangolare e del filo alle grip della macchina di trazione, il campione è stato allungato con una velocità complessiva di 0.8 mm/s (Figura 2.8). Lo scopo della prova è misurare il valore della forza necessario per estrarre il punto di sutura dal provino.



Figura 2.8 Passaggi del *Suture retention strenght*. A sinistra il provino a cui è stato applicato un punto di sutura fissato nella macchina. Al centro il campione sottoposto a trazione. A destra la rottura del campione

Test di *stress relaxation*

Per ogni combinazione di polimero e tecnica di produzione, sono stati presi tre campioni ad osso di cane. Ognuno di questi è stato sottoposto a cinque cicli di carico, i quali consistevano in un allungamento totale di 0.5 mm ad una velocità di 0.1 mm/s; tra un ciclo e l'altro passavano 5 minuti ed in questo intervallo di tempo veniva rilevato il valore della tensione applicata.

Capitolo 3

3.1 Spessore dei condotti

Durante il presente lavoro di tesi sono stati prodotti quattro tipi di condotti realizzati con Chronoflex AR e Chronoflex ARLT con la tecnica dell'inversione di fase e dell'evaporazione del solvente. Di seguito sono riportati i valori di diametro e spessore di ciascun condotto realizzato. Ogni condotto è stato poi diviso in tre porzioni sulle quali sono state prese una misura dello spessore nella zona apicale, una nella zona centrale ed una nella parte inferiore. I dati sono espressi in media \pm deviazione standard nelle Tabelle 3.1, 3.2, 3.3, e 3.4.

N. campione	Diametro (cm)	Spessore medio (mm)
1	1,410	0,263 \pm 0,070
2	1,400	0,176 \pm 0,013
3	1,350	0,246 \pm 0,092

Tabella 3.1 Diametro e spessore medio di condotti in Chronoflex AR-LT prodotti per inversione di fase.

N. campione	Diametro (cm)	Spessore medio(mm)
1	1,360	0,4113 \pm 0,340
2	1,365	0,193 \pm 0,008
3	1,385	0,210 \pm 0,068

Tabella 3.2 Diametro e spessore medio di condotti in Chronoflex AR prodotti per inversione di fase.

N. campione	Diametro (cm)	Spessore medio (mm)
1	1,420	0,112 \pm 0,030
2	1,350	0,102 \pm 0,070

Tabella 3.3 Diametro e spessore medio di condotti Chronoflex AR-LT prodotti per evaporazione solvente.

N. campione	Diametro (cm)	Spessore medio (mm)
1	1,410	0,167 \pm 0,022
2	1,415	0,142 \pm 0,031

Tabella 3.4 Diametro e spessore medio di condotti Chronoflex AR prodotti per evaporazione solvente.

Nella Figura 3.1 sono rappresentate le distribuzioni degli spessori dei condotti prodotti in Chronoflex AR e Chronoflex AR-LT secondo le due diverse procedure di fabbricazione. Si può vedere che per entrambi i materiali la tecnica della separazione di fase produce cilindri più spessi dei corrispondenti prodotti tramite evaporazione del solvente. La combinazione che produce i condotti più spessi è quella che usa il Chronoflex AR ed il metodo dell'inversione di fase; si può vedere inoltre che i condotti che statisticamente si mostrano più sottili sono quelli

prodotti in Chronoflex AR-LT prodotti tramite la tecnica dell'evaporazione del solvente: lo si può vedere dalla mediana evidenziata in rosso nel box relativo a quel tipo di condotto.

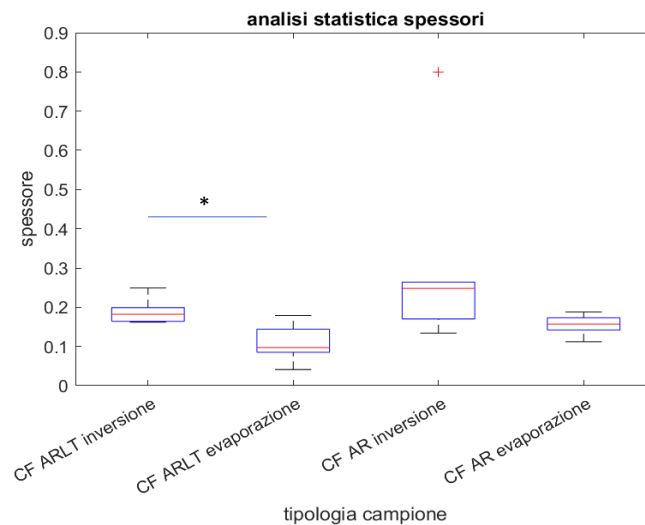


Figura 3.1 confronto tra i valori degli spessori per ogni combinazione di materiale e tecnica di produzione.

3.2 Risultati dei test meccanici

Test di trazione a rottura

Dai dati ottenuti con i test di trazione eseguiti con il dispositivo TRAMA sono stati ricavati i seguenti parametri: *Failure strain (FS)*, l'allungamento massimo raggiunto dal provino prima della rottura; *Ultimate Tensile Strength (UTS)*, il valore massimo di tensione raggiunta al momento della rottura; il modulo elastico del materiale, definito come il rapporto tra la tensione applicata e l'allungamento nelle regioni lineari della curva sforzo-deformazione; in particolare, quest'ultimo parametro è stato calcolato nella porzione di curva compresa tra 1-10% (E_1) e tra il 90-100% (E_2) di deformazione.

Sono stati analizzati tre campioni di ogni tipo di membrana. I risultati ed i grafici sono riportati rispettivamente nella Tabella 3.5 e nella Figura 3.2.

Dal confronto riportato in Figura 3.3 si può notare che il condotto che presenta i valori più alti dei quattro parametri è quello in Chronoflex AR-LT prodotto con la tecnica dell'inversione di fase, mentre il cilindro che possiede i valori più bassi è prodotto in Chronoflex AR-LT con la tecnica dell'evaporazione del solvente. Analizzando invece i condotti in Chronoflex AR, i parametri meccanici hanno valori molto simili: nel caso dell'UTS e dell' E_1 è la tecnica dell'inversione di fase che restituisce i valori più alti, mentre per quanto riguarda la FS e la E_2 lo è l'evaporazione del solvente. Se si vuole invece confrontare i condotti prodotti con la

medesima tecnica si può osservare che con l'inversione di fase è il Chronoflex AR-LT a rendere il cilindro più rigido, resistente e con un maggior allungamento a rottura; invece, se si producono i condotti tramite l'evaporazione del solvente lo è il Chronoflex AR.

Nome Campione	Spessore (mm)	UTS (Mpa)	FS (%)	E ₁ (Mpa)	E ₂ (Mpa)
Chronoflex AR-LT inv. di fase 1	0,249	40,296	1242	7,850	2,654
Chronoflex AR-LT inv. di fase 2	0,199	34,468	1234	6,451	2,409
Chronoflex AR-LT inv. di fase 3	0,162	29,148	1043	8,737	1,569
Media	0,238± 0,078	34,637± 5,575	1173± 112,654	7,679± 1,152	2,211± 0,569
Chronoflex AR inv. di fase 1	0,263	19,185	1024,1	4,777	1,130
Chronoflex AR inv. di fase 2	0,134	24,858	778,78	6,294	0,656
Chronoflex AR inv. di fase 3	0,233	23,531	1050,6	5,517	1,538
Media	0,210± 0,068	22,525± 2,976	951,2± 149,9	5,529± 0,759	1,108± 0,441
Chronoflex AR-LT evap. solvente 1	0,179	15,175	692,140	4,826	0,605
Chronoflex AR-LT evap. solvente 2	0,041	18,561	621,96	5,492	0,380
Chronoflex AR-LT evap. solvente 3	0,087	20,782	927,520	3,779	0,964
Media	0,102± 0,070	18,173± 2,8236	747,207± 160,05	4,700± 0,864	0,650± 0,295
Chronoflex AR evap. solvente 1	0,173	12,546	896,480	3,623	0,637
Chronoflex AR evap. solvente 2	0,142	22,612	1121,8	2,619	1,230
Chronoflex AR evap. solvente 3	0,112	23,464	1033,3	3,658	1,479
Media	0,142± 0,030	19,540± 6,072	1017,2± 113,52	3,3± 0,590	1,115± 0,432

Tabella 3.5 Valori dei parametri ricavati dalle prove meccaniche a rottura su campioni di Chronoflex AR e Chronoflex ARLT ottenuti per inversione di fase e per evaporazione del solvente.

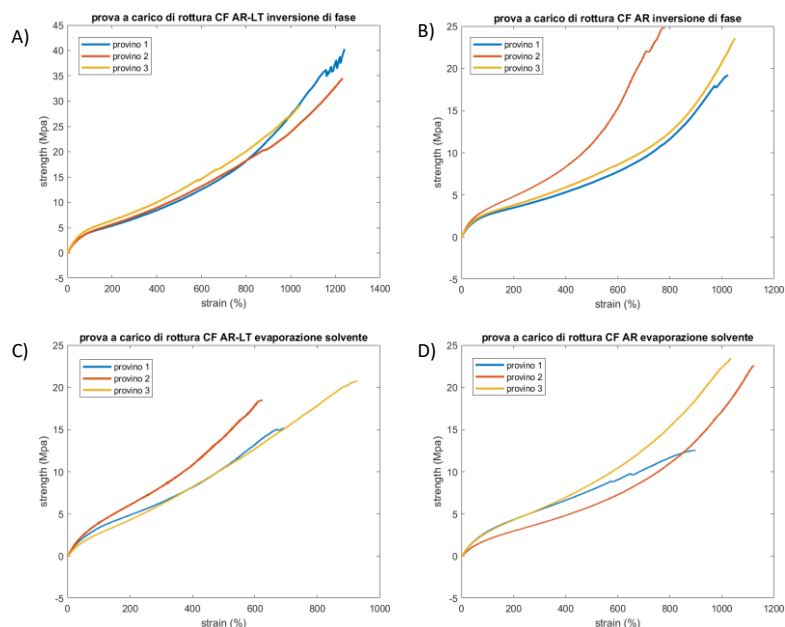


Figura 3.2 Grafici del test a rottura: (A) Chronoflex AR-LT e (B) Chronoflex AR per inversione di fase; (C) Chronoflex AR-LT e (D) Chronoflex AR per evaporazione del solvente.

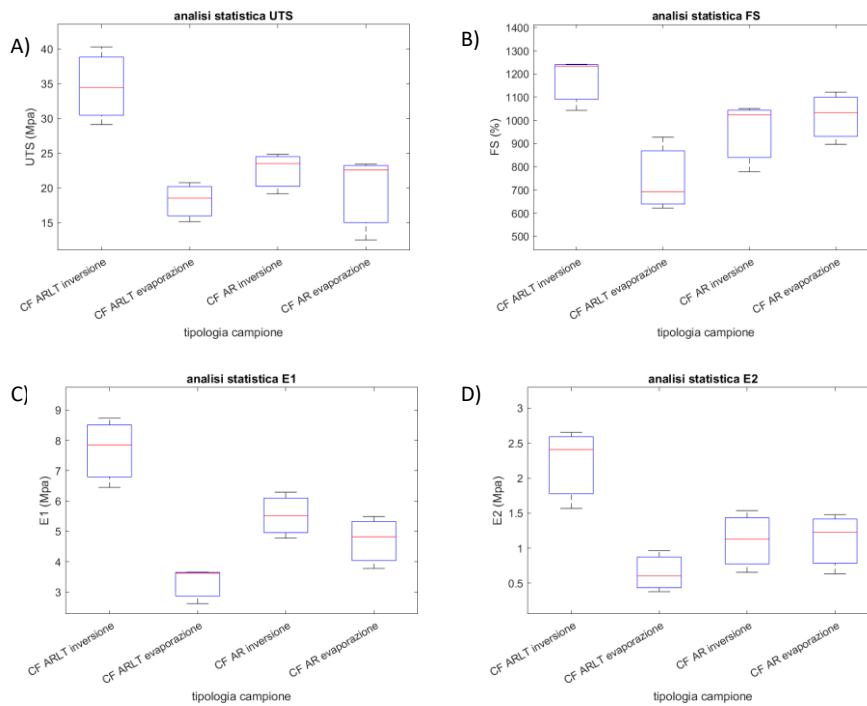


Figura 3.3 A) confronto tra i valori di UTS delle quattro tipologie di campioni; B) confronto tra i valori di FS delle quattro tipologie di campioni; C) confronto tra i valori di E1 delle quattro tipologie di campioni; D) confronto tra i valori di E2 delle quattro tipologie di campioni.

Suture retention test

Per ogni tipo di membrana sono stati presi 3 campioni, i valori ed i grafici sono rappresentati nella Tabella 3.6 e nella Figura 3.4.

Tipo di campione	Valore forza in grammi peso
Chronoflex AR-LT inv. di fase 1	390,418
Chronoflex AR-LT inv. di fase 2	607,187
Chronoflex AR-LT inv. di fase 3	656,626
Media \pm deviazione standard	551,410 \pm 141,598
Chronoflex AR inv. di fase 1	415,494
Chronoflex AR inv. di fase 2	490,112
Chronoflex AR inv. di fase 3	271,865
Media \pm deviazione standard	392,157 \pm 110,825
Chronoflex AR-LT evap. solvente 1	46,075
Chronoflex AR-LT evap. solvente 2	111,111
Chronoflex AR-LT evap. solvente 3	90,826
Media \pm deviazione standard	82,671 \pm 33,276
Chronoflex AR evap. solvente 1	315,851
Chronoflex AR evap. solvente 2	135,117
Chronoflex AR evap. solvente 3	288,073
Media	246,347 \pm 97,324

Tabella 3.6 Valore delle forze di ritenzione alla sutura.

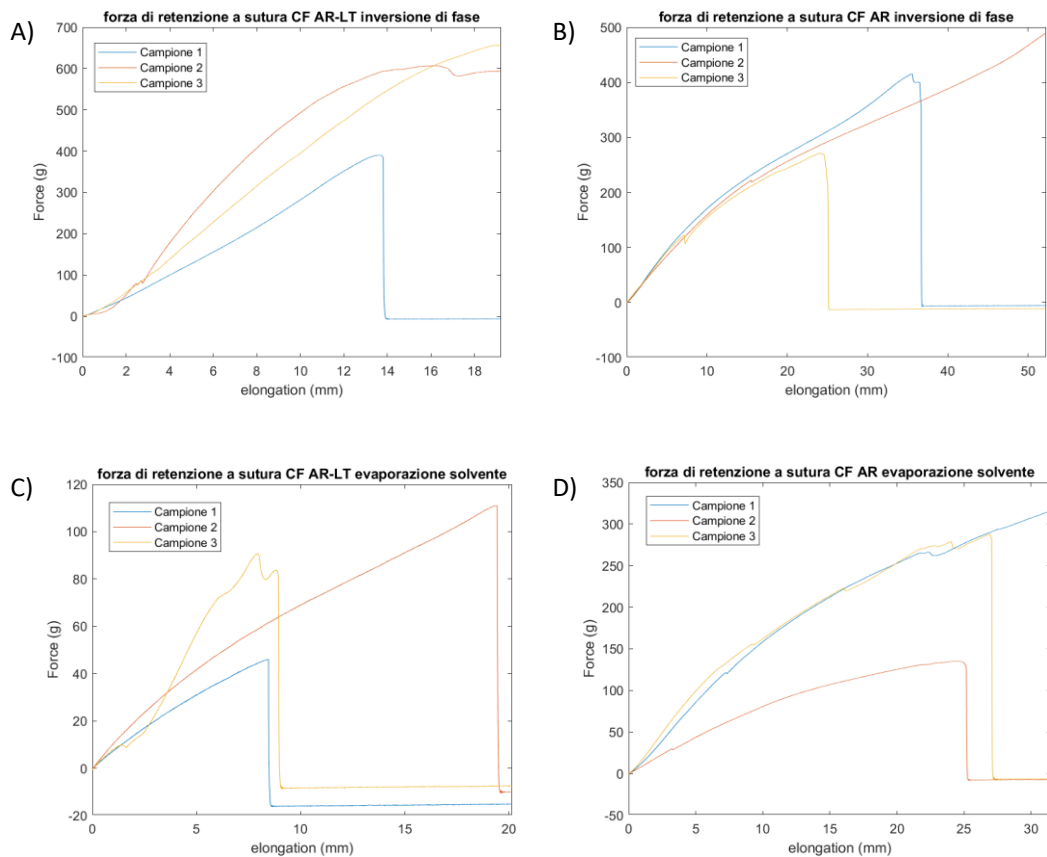


Figura 3.4 Andamenti delle forze di ritenzione a sutura: (A) Chronoflex AR-LT e (B) Chronoflex AR prodotti per inversione di fase; (C) Chronoflex AR-LT e (D) Chronoflex AR prodotti per evaporazione del solvente.

Dalla Figura 3.5 si possono fare considerazioni molto simili rispetto a quelle fatte osservando la Figura 3.3 relativa ai valori dei parametri ricavati eseguendo prove di rottura. Il condotto prodotto in Chronoflex AR-LT con la tecnica dell'inversione di fase è quello che presenta il valore della forza più alta, mentre il cilindro in Chronoflex AR-LT prodotto per evaporazione del solvente possiede i valori più bassi. Un'altra analogia con la prova precedente è che con l'inversione di fase i cilindri più resistenti sono quelli in Chronoflex AR-LT, mentre con l'evaporazione del solvente lo sono quelli in Chronoflex AR. Una differenza rispetto alla distribuzione dei dati precedente la si trova confrontando i valori della distribuzione della forza di ritenzione a sutura dei cilindri in Chronoflex AR prodotti con le due tecniche diverse. I condotti prodotti attraverso l'inversione di fase risultano possedere valori della forza di estrazione del punto di sutura maggiori rispetto a quelli ottenuti tramite l'evaporazione del solvente.

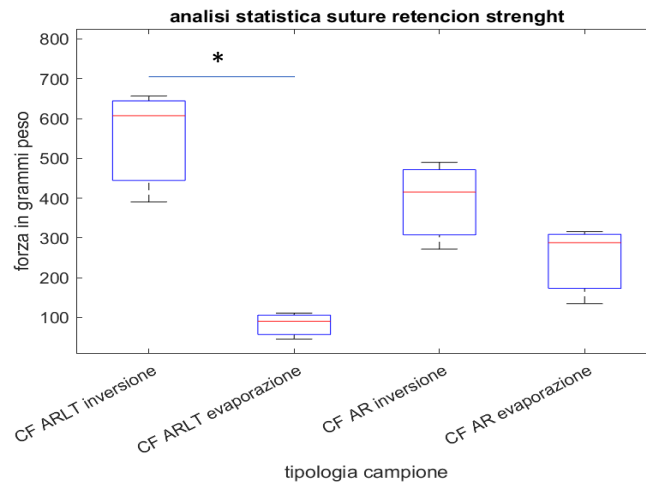


Figura 3.5 Confronto tra i valori della forza di ritenzione della sutura per ogni combinazione di materiale e tecnica di produzione.

Test di *stress relaxation*

Alla fine dell'esecuzione del test, i valori delle tensioni dei cinque cicli di carico sono stati normalizzati tra loro secondo le formule:

$$\frac{\sigma_1}{\sigma_1(1)}$$

nel caso del primo ciclo, con σ_1 la tensione nel primo ciclo di carico e $\sigma_1(1)$ il valore iniziale del primo ciclo di carico. Per gli altri si è seguita la formula:

$$\frac{\sigma_i - \sigma_{i-1}(n)}{\sigma_i(1) - \sigma_{i-1}(n)}$$

dove σ_i è la tensione del ciclo i -esimo, $\sigma_i(1)$ il valore iniziale della tensione nel ciclo i -esimo e $\sigma_{i-1}(n)$ il valore finale della tensione del ciclo precedente.

Si è calcolata la media dei valori normalizzati per ogni campione ed infine si è ricavata la media (\pm deviazione standard) della curva di *stress relaxation* media rispetto a tutti i provini dello stesso materiale prodotti con la stessa tecnica (Figura 3.6). I valori in percentuale delle tensioni rilassate sono riportati nella Tabella 3.7.

Tipo di campione	Tensione rilassata in percentuale [%]
Chronoflex AR-LT inversione di fase	48,268
Chronoflex AR inversione di fase	31,450
Chronoflex AR-LT evaporazione solvente	45,072
Chronoflex AR evaporazione solvente	44,977

Tabella 3.7 Valori delle tensioni al termine della prova di rilassamento (in % rispetto al valore iniziale).

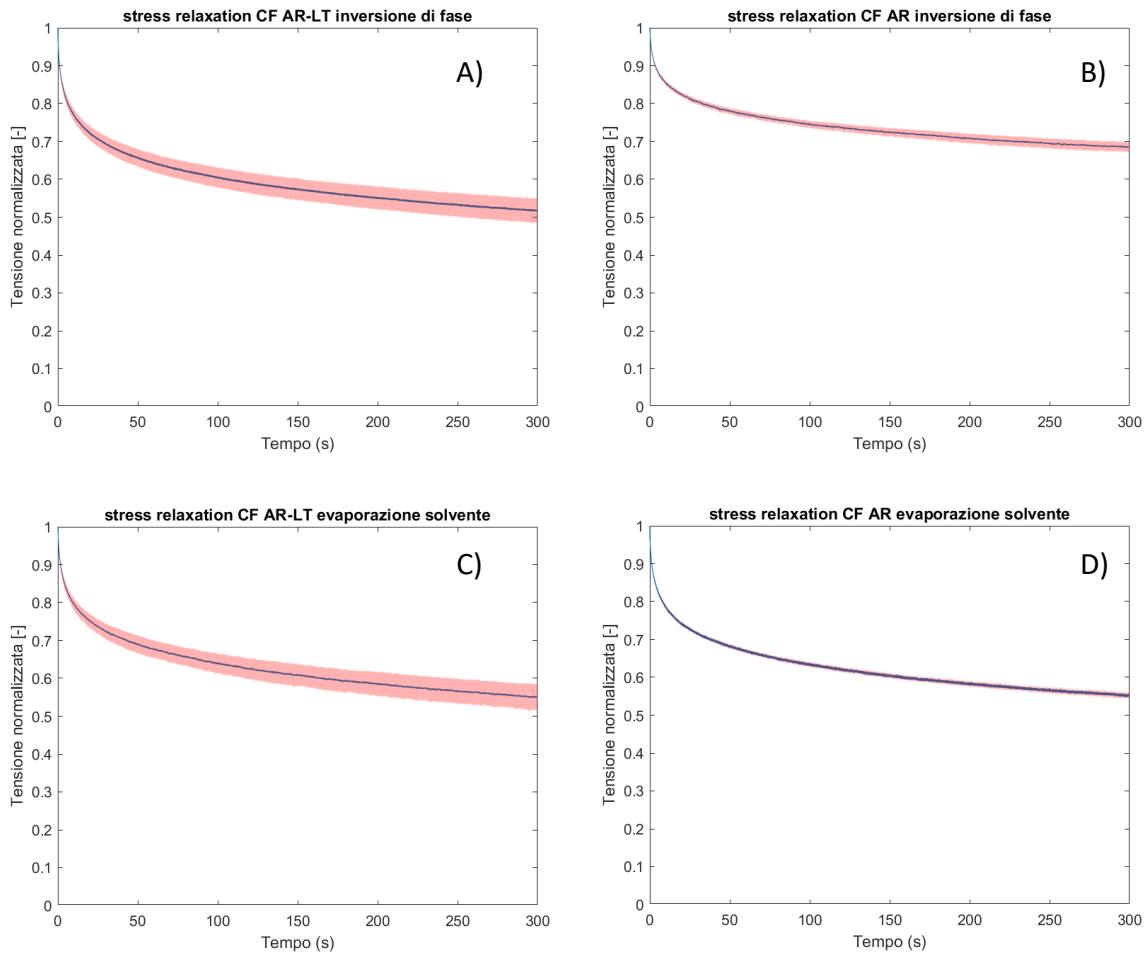


Figura 3.6 Andamento medio delle tensioni (in blu) e in rosso la deviazione standard punto per punto. A) Chronoflex AR-LT e (B) Chronoflex AR prodotti per inversione di fase; (C) Chronoflex AR-LT e (D) Chronoflex AR prodotti per evaporazione del solvente.

Dalla Figura 3.7 si può osservare che i condotti in Chronoflex AR-LT prodotti con l'inversione di fase, in Chronoflex AR prodotti tramite l'evaporazione del solvente e quelli in Chronoflex AR-LT ricavati con l'evaporazione del solvente presentano valori simili; il Chronoflex AR-LT prodotto tramite inversione di fase presenta, seppur di poco, il valore più alto di tensione rilassata. I valori delle tensioni rilassate più basse appartengono ai condotti in Chronoflex AR ricavati usando la tecnica dell'inversione di fase.

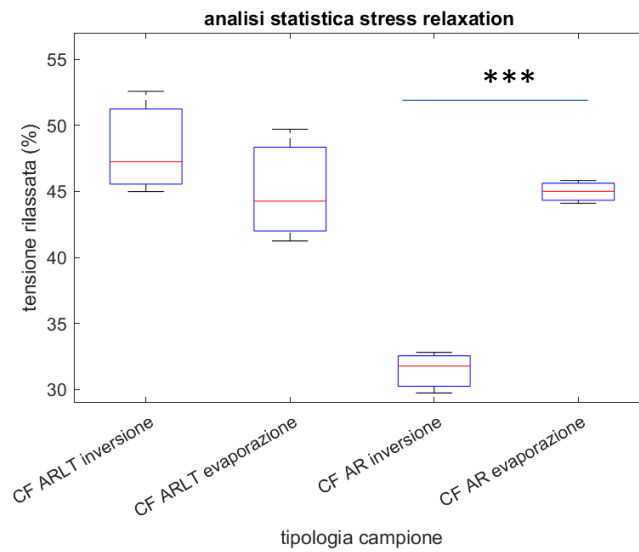


Figura 3.7 Confronto tra i valori di tensione rilasciata per ogni combinazione di materiale e tecnica di produzione.

T-test

Dopo l'esecuzione dei vari test, si sono considerati i valori ricavati per ogni tipologia di condotto prodotto e si è eseguito un test statistico (T-test) per verificare se, confrontando i risultati tra i cilindri prodotti con lo stesso materiale o prodotti con la stessa tecnica, vi sia una media statisticamente differente oppure no. Nella Tabella 3.8 sono presenti i valori ottenuti applicando il T-test nel caso delle prove di rottura, nella Tabella 3.9 i valori del T-test eseguito nelle prove di sutura, mentre nella Tabella 3.10 i valori del T-test nelle prove di stress relaxation.

Combinazione del condotto confrontato	H	p-value
UTS		
Chronoflex AR inversione di fase	0	0,263
Chronoflex AR evaporazione del solvente		
Chronoflex AR -LT inversione di fase	0	0,0767
Chronoflex AR-LT evaporazione del solvente		
Chronoflex AR inversione di fase	0	0,121
Chronoflex AR -LT inversione di fase		
Chronoflex AR evaporazione del solvente	0	0,571
Chronoflex AR-LT evaporazione del solvente		
FS		
Chronoflex AR inversione di fase	0	0,6879
Chronoflex AR evaporazione del solvente		
Chronoflex AR -LT inversione di fase	0	0,112
Chronoflex AR-LT evaporazione del solvente		
Chronoflex AR inversione di fase	0	0,2386
Chronoflex AR -LT inversione di fase		
Chronoflex AR evaporazione del solvente	0	0,150
Chronoflex AR-LT evaporazione del solvente		
E1		
Chronoflex AR inversione di fase	0	0,0973
Chronoflex AR evaporazione del solvente		
Chronoflex AR -LT inversione di fase	0	0,123
Chronoflex AR-LT evaporazione del solvente		
Chronoflex AR inversione di fase	0	0,164
Chronoflex AR -LT inversione di fase		
Chronoflex AR evaporazione del solvente	0	0,233
Chronoflex AR-LT evaporazione del solvente		
E ₂		
Chronoflex AR inversione di fase	0	0,983
Chronoflex AR evaporazione del solvente		
Chronoflex AR -LT inversione di fase	0	0,082
Chronoflex AR-LT evaporazione del solvente		
Chronoflex AR inversione di fase	0	0,178
Chronoflex AR -LT inversione di fase		
Chronoflex AR evaporazione del solvente	0	0,189
Chronoflex AR-LT evaporazione del solvente		

Tabella 3.8 Risultati del T-test applicato ai valori di resistenza a rottura per ogni combinazione di materiale e tecnica di produzione usata.

Combinazione del condotto confrontato	H	p-value
Chronoflex AR inversione di fase	0	0,314
Chronoflex AR evaporazione del solvente		
Chronoflex AR -LT inversione di fase	1	0,019
Chronoflex AR-LT evaporazione del solvente		
Chronoflex AR inversione di fase	0	0,317
Chronoflex AR -LT inversione di fase		
Chronoflex AR evaporazione del solvente	0	0,154
Chronoflex AR-LT evaporazione del solvente		

Tabella 3.9 Risultati del T-test applicato ai valori delle forze di ritenzione per ogni combinazione di materiali e tecnica di produzione usata.

Combinazione condotto confrontato	H	p-value
Chronoflex AR inversione di fase	1	0,0009
Chronoflex AR evaporazione del solvente		
Chronoflex AR -LT inversione di fase	0	0,1718
Chronoflex AR-LT evaporazione del solvente		
Chronoflex AR inversione di fase	1	0,0128
Chronoflex AR -LT inversione di fase		
Chronoflex AR evaporazione del solvente	0	0,9659
Chronoflex AR-LT evaporazione del solvente		

Tabella 3.10 Risultati del T-test applicato ai valori delle tensioni rilassate per ogni combinazione di materiale e tecnica di produzione usata.

I risultati del test statistico mostrano in genere un p-Value maggiore di 0,05. Fanno eccezione i dati nel confronto dei valori della forza di ritenzione tra condotti prodotti in Chronoflex AR-LT, i valori ricavati confrontando le tensioni rilassate dei condotti prodotti in Chronoflex AR e quelli prodotti tramite la tecnica della inversione di fase. Questo vuol dire che nella maggior parte dei casi le serie di dati confrontate sono caratterizzate da una media dei valori simile, a volte anche in modo molto marcato, come nel caso dell'E₂ di condotti prodotti in Chronoflex AR oppure nell'analisi delle tensioni rilassate dei cilindri prodotti tramite inversione di fase, dove il p-Value supera lo 0,9.

Conclusioni

Allo stato attuale per le operazioni di bypass agli arti inferiori non esiste un sostituto protesico perfetto; quello maggiormente utilizzato è la vena safena autologa, ma ci sono diversi casi in cui questo vaso non è disponibile, ad esempio quando sia già stata utilizzata o non possa essere raggiunta a causa dello stato clinico del paziente.

Nell'attività descritta in questa tesina si sono prodotti dei condotti tubulari in Chronoflex AR e Chronoflex AR-LT tramite due tecniche diverse, inversione di fase ed evaporazione del solvente, per valutarne una possibile applicazione in ambito vascolare.

Per caratterizzare il comportamento meccanico dei materiali prodotti, sono stati eseguiti diversi test quali la prova a carico di rottura, il calcolo della forza di ritenzione alla sutura e la prova di stress relaxation. Confrontando i risultati ottenuti sullo stesso materiale o con la medesima tecnica, tramite test statistico si è visto che, tranne nei casi della forza di ritenzione tra condotti prodotti in Chronoflex AR-LT, delle tensioni rilassate dei condotti prodotti in Chronoflex AR e quelli prodotti tramite la tecnica della inversione di fase, i risultati mostrano medie molto simili. Questo suggerisce che i cilindri sono caratterizzati da proprietà uguali, salvo le eccezioni menzionate.

Si può pertanto concludere che, sulla base dei dati disponibili, non è possibile scegliere tra le quattro tipologie di condotto la combinazione migliore per essere utilizzata in ambito clinico, come sostituto vascolare o come rivestimento del cordone ombelicale, in quanto sono tutte caratterizzate da proprietà simili. Saranno quindi necessari ulteriori test, come ad esempio il test di compliance, e poi si dovrà valutare il comportamento in ambiente biologico in termini di biostabilità, bioinerzia e biotossicità.

Bibliografia

- [1] K. S. Saladin, R. De Caro, G. Albertin, and C. Dalla Rosa, *Anatomia umana*, 3. ed. Padova: Piccin, 2012.
- [2] N. Townsend, L. Wilson, P. Bhatnagar, K. Wickramasinghe, M. Rayner, M. Nichols, Cardiovascular disease in Europe: epidemiological update 2016. *Eur Heart J*. 2016 Nov 7;37(42):3232-3245. doi: 10.1093/eurheartj/ehw334. Epub 2016 Aug 14. Erratum in: *Eur Heart J*. 2019 Jan 7;40(2):189. PMID: 27523477.
- [3] M. D. Silver, G. Thiene, B. Magnani, P. Gallo, and G. Baroldi, *Patologia cardiovascolare*. Milano: McGraw-Hill libri Italia, 1994.
- [4] V. Fuster, R. W. Alexander, R. C. Schlant, and A. Distanti, Eds., *Il cuore: arterie e vene*. Milano: McGraw-Hill, 1998.
- [5] W. S. Moore *compendio di chirurgia vascolare* Delfino editore 2000.
- [6] G. K. Ambler, C. P. Twine, Graft type for femoro-popliteal bypass surgery (Review), 2018
- [7] D. M. Scharn, M. Divern, W.B. Barendregt, A. P. M. Boll, D. Roelofs, J. A. van der Vliet, Human umbilical vein versus heparin-bonded polyester for femoro-popliteal bypass: 5-year results of a prospective randomized multicentre trial. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2008
- [8] C. Di Bello, *A. Bagno Biomateriali, dalla scienza dei materiali alle applicazioni cliniche* Patron editore 2016.
- [9] Y. Roina, F. Auber, D. Hocquet, G. Herlem, ePTFE-based biomedical devices: An overview of surgical efficiency. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2022 Feb;110(2):302-320. doi: 10.1002/jbm.b.34928. Epub 2021 Sep 14. PMID: 34520627.
- [10] J.J. Naoum, E.J. Arbid, Bypass surgery in limb salvage: polytetrafluoroethylene prosthetic bypass. *Methodist DeBakey Cardiovasc J*. 2012 Oct-Dec;8(4):43-6. doi: 10.14797/mdejc-8-4-43. PMID: 23342188; PMCID: PMC3549650.
- [11] A. Assadian, H. H. Eckstein, Peripheral Bypass Grafting: Prospective Evaluation of FUSION Vascular Graft for Above Knee Targets (PERFECTION) Study Group. Outcome of the FUSION vascular graft for above-knee femoropopliteal bypass. *J Vasc Surg*. 2015 Mar;61(3):713-9.e1. doi: 10.1016/j.jvs.2014.10.005. Epub 2014 Dec 10. PMID: 25498193.
- [12] C. A. Bustos, C. M. Garcia-Herrera, D. J. Celentano, Mechanical characterisation of Dacron graft: Experiments and numerical simulation. *J Biomech*. 2016 Jan 4;49(1):13-18. doi: 10.1016/j.jbiomech.2015.11.014. Epub 2015 Nov 28. PMID: 26627367.
- [13] H. Van Demme, M. Deprez, E. Creemers, R. Limet, Intrinsic structural failure of polyester (Dacron) vascular grafts. A general review. *Acta Chir Belg*. 2005 May-Jun;105(3):249-55. doi: 10.1080/00015458.2005.11679712. PMID: 16018516.

- [14] R. J. Zdrahala, Small caliber vascular grafts. Part II: Polyurethanes revisited. *J Biomater Appl.* 1996 Jul;11(1):37-61. doi: 10.1177/088532829601100102. PMID: 8872599.
- [15] A. M. Reed, M. Szycher, A solution grade biostable polyurethane elastomer: ChronoFlex AR. *J Biomater Appl.* 1994 Jan;8(3):210-36. doi: 10.1177/088532829400800303. PMID: 8176635.
- [16] D. J Dempsey, M. D. Phaneu, M. J. Bide, M. Szycher, W. C. Quisit, F. W. Logerfo, Synthesis of a novel small diameter polyurethane vascular graft with reactive binding sites. *ASAIO J.* 1998 Sep-Oct;44(5):M506-10. doi: 10.1097/00002480-199809000-00037. PMID: 9804482.
- [17] M. Chvapil, D. Speer, W. Mora, C. Eskelson, Effect of tanning agent on tissue reaction to tissue implanted collagen sponge. *J Surg Res.* 1983 Nov;35(5):402-9. doi: 10.1016/0022-4804(83)90029-x. PMID: 6415345.
- [18] O. Borghese, A. Pisani, P. Sapienza, Treatment of lower limb arterial disease by Dardik graft: It takes one to know one. *J Med Vasc.* 2020 Jul;45(4):214-220. doi: 10.1016/j.jdmv.2020.04.007. Epub 2020 May 5. PMID: 32571562.
- [19] H. Dardik, K. Wengerter, F. Qin, A. Pangilinan, F. Silvestri, F. Wolodiger, M. Kahn, B. Sussman, I. M. Ibrahim, Comparative decades of experience with glutaraldehyde-tanned human umbilical cord vein graft for lower limb revascularization: an analysis of 1275 cases. *J Vasc Surg.* 2002 Jan;35(1):64-71. PMID: 11802134.
- [20] Z. Wang, S. M. Mithieux, A. S. Weiss, Fabrication Techniques for Vascular and Vascularized Tissue Engineering. *Adv Healthc Mater.* 2019 Oct;8(19):e1900742. doi: 10.1002/adhm.201900742. Epub 2019 Aug 12. PMID: 31402593. Jan;35(1):61-7. doi: 10.1016/j.ejvs.2007.08.004. Epub 2007 Nov 1. PMID: 17936036.
- [21] G. C. Di Renzo, *Ginecologia e ostetricia.* Roma: Verduci, 2006.
- [22] G. Pennati Biomechanical properties of the human umbilical cord. *Biorheology.* 2001;38(5-6):355-66. PMID: 12016319
- [23] B. Tantius, M. A. Rothschild, M. Valter, J. Michael, and S. Banaschak, Experimental studies on the tensile properties of human umbilical cords, *Forensic Sci. Int.*, vol. 236, pp. 16–21, Mar. 2014, doi: 10.1016/j.forsciint.2013.12.002.
- [24] M. Todesco, C. Zardin, L. Iop, T. Palmosi, P. Capaldo, F. Romanato, G. Gerosa, A. Bagno, Hybrid membranes for the production of blood contacting surfaces: physicochemical, structural and biomechanical characterization. *Biomater Res.* 2021 Aug 10;25(1):26. doi: 10.1186/s40824-021-00227-5. PMID: 34376256; PMCID: PMC8353781.
- [25] M. C. Bélanger, Y. Marois, R. Roy, Y. Mehri, E. Wagner, Z. Zhang, M. W. King, M. Yang, C. Hahn, R. Guidoin, Selection of a polyurethane membrane for the manufacture of ventricles for a totally implantable artificial heart: blood compatibility and biocompatibility studies. *Artif Organs.* 2000 Nov;24(11):879-88. doi: 10.1046/j.1525-1594.2000.06504.x. PMID: 11119076.

[26] A. Kuźmińska, D. Kwarta, T. Ciach, B.A. Butruk-Raszeja, Cylindrical Polyurethane Scaffold Fabricated Using the Phase Inversion Method: Influence of Process Parameters on Scaffolds' Morphology and Mechanical Properties. *Materials (Basel)*. 2021 May 31;14(11):2977. doi: 10.3390/ma14112977. PMID: 34072853; PMCID: PMC8198356.

Sitografia

©https://online.scuola.zanichelli.it/phelanscopriamofiles/Biologia/ppt/phelan_ppt_42075_c9.pdfq, [visto il 20/07/2023](#)