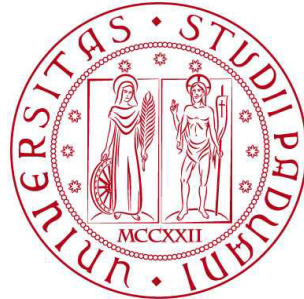


UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA
FACOLTÁ DI INGEGNERIA



DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA INDUSTRIALE
CORSO DI LAUREA TRIENNALE IN INGEGNERIA BIOMEDICA

IL CARBONIO PIROLITICO APPLICATO ALLE VALVOLE CARDIACHE

Laureanda: VERONICA BASSO

Relatore: Ch.mo Prof. ANDREA BAGNO

Anno accademico:

2012-2013

Ai miei genitori...

Indice

1	Il carbonio	13
1.1	Ibridazione del carbonio	14
1.2	Forme allotropiche del carbonio	16
2	Il carbonio pirolitico	19
2.1	Struttura del carbonio pirolitico	20
2.2	Proprietá del carbonio pirolitico	22
2.3	Biocompatibilitá del carbonio pirolitico	29
2.3.1	Emocompatibilitá	29
2.3.2	Test di biocompatibilitá	31
3	Deposizione del carbonio pirolitico	37
3.1	Sistema a letto fluido	38
3.2	Sputtering catodico	40
4	Protesi valvolari cardiache	41
4.1	Il cuore e le valvole cardiache	41
4.2	Le valvole cardiache meccaniche	45
4.3	Cricche nel carbonio pirolitico	53
4.3.1	Case Report: le valvole Tri-Technologies	57
5	Conclusioni	65
	Riferimenti bibliografici	67

Sommario

Questo studio nasce dall'interesse nei confronti delle interazioni tra dispositivi protesici e sistema biologico nel campo delle protesi valvolari cardiache e ha come obiettivo l'analisi del carbonio pirolitico, che rappresenta il materiale piú utilizzato per la realizzazione di protesi a contatto con il sangue.

Il carbonio pirolitico, infatti, si é rivelato la soluzione ai problemi legati alla trombosi ed alla fatica meccanica, che rappresentano i limiti piú severi che affliggono le valvole cardiache artificiali.

Per questi motivi sono state analizzate le proprietá del suddetto materiale che permettono di soddisfare i requisiti funzionali e di biocompatibilitá richiesti per la realizzazione di tali protesi.

La ricerca parte da uno studio generale sul carbonio per poi focalizzarsi sulle caratteristiche del carbonio pirolitico, valutandone la struttura, le proprietá meccaniche, la biocompatibilitá ed i metodi di deposizione. Successivamente si fa riferimento alle valvole cardiache ed alle valvulopatie curabili mediante la sostituzione con protesi valvolari cardiache meccaniche. In tale contesto sono presentati anche dei casi di fallimento di tali dispositivi legati a difetti di lavorazione che possono contribuire alla formazione di cricche in corrispondenza della superficie.

Lo scopo finale di tale lavoro é quello di mettere in luce le motivazioni per le quali il carbonio pirolitico é attualmente l'unico materiale impiegato nelle superfici di protesi valvolari cardiache meccaniche.

Introduzione

É indubbio che gli aspetti sanitari vanno acquisendo sempre un maggior peso nella struttura dei paesi civilizzati: il problema del recupero sociale del malato riveste quindi un'importanza crescente, con implicazioni e mutamenti di ordine politico, economico e scientifico difficilmente prevedibili. Infatti, l'uso dei materiali prodotti dall'uomo per la sostituzione di parti del corpo, sebbene trovi le proprie origini in tempi antichissimi, solo negli ultimi decenni ha avuto uno sviluppo ed una diversificazione tali da far considerare i biomateriali come l'elemento portante di quello che é stata la piú grande rivoluzione terapeutica dei nostri tempi.

Questo sviluppo é stato possibile solo grazie al forte aumento delle conoscenze relative alle interazioni tra organismi viventi e materiali.

L'impiego di materiali all'interno del corpo per la sostituzione di tessuti od organi é tanto piú sicuro e dá risultati tanto migliori quanto piú chiare e prevedibili sono queste interazioni. Non é solo un problema di tollerabilitá del materiale da parte dell'organismo (mancanza di infezioni o azioni cancerogene), ma anche di funzionalitá.

Un biomateriale deve essere in grado di interagire positivamente con i tessuti ed esplicare le funzioni per le quali é stato progettato.

É quindi importante conoscere sia l'azione del biomateriale sull'organismo sia l'azione dell'organismo sul biomateriale.

Il residuo di materia organica bruciata fu uno dei primi materiali utilizzati per applicazioni mediche e biocompatibili. Infatti gli stessi preistorici erano a conoscenza del fatto che il carbone di legna polverizzato poteva essere posto sottocute a tempo indeterminato e senza effetti indesiderati, permettendo la realizzazione di tatuaggi colorati; il suo impiego come adsorbente medico, consentito dalla presenza di un'area di superficie attiva che é in grado di adsorbire tossine qualora ingerite, era giá praticato ai tempi degli egiziani. Inoltre, proprio perché il carbone attivo riesce ad assorbire ed isolare sostanze di vario tipo, fu largamente impiegato per eliminare gli inquinanti dall'acqua e dall'aria.

Il primo studio scientifico formale sul carbone di legna si effettuó nell'800: tale materiale venne usato in America ed in Europa come antidoto ad un veleno. In questo studio i ricercatori ne dimostrarono l'efficacia ingerendo personalmente carbone con una dose letale di arsenico.

L'attivazione fu scoperta nel '900 ed il carbone attivo veniva utilizzato come adsorbente nelle maschere antigas durante la prima guerra mondiale.

Attualmente il carbone attivo, ovvero un materiale amorfo, pronto ad esibire un alto grado di porosità ed un'elevata area specifica, è prodotto da quasi tutta la sostanza organica ad elevato contenuto di carbonio compreso il legno, il carbone e l'osso.

Il carbone è preparato bruciando la sostanza organica iniziale in carenza o assenza di ossigeno, successivamente è attivato tramite trattamenti con vapore o sostanze chimiche.

I tentativi di impiegare materiali a base di carbonio per la realizzazione di dispositivi impiantabili in posizioni e funzioni critiche, in particolare in protesi cardiovascolari, risalgono agli inizi della bioingegneria.

L'obiettivo di minimizzare le reazioni del sistema biologico individuando materiali che si manifestino quanto più possibile inerti nei confronti dell'organismo, infatti, risulta più complesso in dispositivi a stretto contatto col sangue. Ciò è dovuto al fatto che questo tessuto coagula non appena riconosce una superficie diversa da quella dell'endotelio sano; per questo motivo nell'ambito cardiovascolare è difficile individuare materiali che soddisfino contemporaneamente i requisiti funzionali e di biocompatibilità.

Le applicazioni concrete in questo settore, infatti, furono possibili solo quando si rese disponibile il carbonio pirolitico sviluppato da alcuni laboratori di ricerche nucleari. Questo materiale, infatti, associa un'elevata emocompatibilità a buone caratteristiche meccaniche consentendo, pertanto, la realizzazione di dispositivi a diretto contatto con il sangue e soggetti a fatica ciclica come le valvole cardiache. Le protesi valvolari cardiache meccaniche, infatti, costituiscono una problematica importante per la bioingegneria e molti studi sono rivolti alla ricerca della soluzione migliore ai requisiti che tali dispositivi richiedono. Tali requisiti comprendono sia proprietà di carattere funzionale, come la resistenza meccanica e la resistenza all'usura all'interno di un fluido corrosivo, sia caratteristiche di emocompatibilità per minimizzare le problematiche relative alla trombosi, difficili da superare in un'applicazione così a stretto contatto con il sangue.

Il carbonio pirolitico si è rivelato una soluzione a questi problemi, tanto che le protesi valvolari cardiache meccaniche sono tuttora composte da questo materiale. Ciò è consentito dal fatto che esso risulta essere altamente emocompatibile, inibendo la formazione di coaguli tramite un processo chimico che non è ancora stato completamente compreso. Inoltre, tra tutte le forme allotropiche del carbonio, quello pirolitico possiede le caratteristiche meccaniche che consentono il corretto

funzionamento in applicazioni soggette ad elevata fatica ciclica. In realtà, anche il diamante é caratterizzato da buone proprietà funzionali, ma non é utilizzato in ambito clinico per questioni di costo.

Per tutte queste motivazioni, il carbonio pirolitico é un materiale di enorme interesse in campo cardiovascolare.

1 Il carbonio

Il carbonio ha sei elettroni; essi sono disposti secondo i tre principi grazie ai quali é possibile conoscere la configurazione elettronica di qualsiasi atomo:

- il principio di Aufbau, secondo il quale gli elettroni si dispongono a partire dagli orbitali a minore energia;
- il principio di Pauli, che afferma che in un orbitale vi sono al piú due elettroni di spin opposto;
- la regola di Hund, la quale prevede che qualora si incontrino tre orbitali ad uguale energia si procede in primo luogo posizionando un elettrone su ciascuno di essi, successivamente riempiendoli accoppiando lo spin.

Secondo queste considerazioni, il carbonio ha una configurazione elettronica del tipo $1s^2 2s^2 2p^2$; come si puó notare, il carbonio ha due orbitali 2p semipieni ed uno completamente vuoto, pertanto, dovrebbe dare origine solamente a due legami covalenti. In realtà il carbonio é prevalentemente tetravalente, cioé in grado di formare quattro legami con altrettanti atomi; questa incongruenza é spiegabile con la teoria dell'ibridazione.

La teoria dell'ibridazione prevede la promozione di un elettrone dall'orbitale 2s all'orbitale 2p vuoto dell'atomo di carbonio. Tale atomo eccitato ha quattro orbitali semipieni, quindi potrebbe formare quattro legami; tuttavia, siccome l'orbitale atomico 2s sferico ha energia inferiore e forma diversa da quelle dei tre orbitali $2p_x$, $2p_y$, $2p_z$, dovremmo aspettarci tre legami uguali ed uno diverso. Tutto ciò é in contrasto con le evidenze sperimentali; gli studi con la diffrazione a raggi X sulla struttura del metano, infatti, indicano che i quattro legami con l'idrogeno presentano:

- la medesima lunghezza ($1,1\text{\AA}$);
- la stessa forza di legame (104 kcal/mol);
- uguali angoli di legame ($109,5^\circ$).

La teoria ibridazione suggerisce il rimescolamento dell'orbitale 2s con gli orbitali 2p e ha come risultato tanti orbitali isoenergetici quanti sono gli orbitali coinvolti nell'ibridazione: essi contengono tutti un elettrone e spiegano i dati empirici ottenuti.

1.1 Ibridazione del carbonio

In base a quanti orbitali di tipo 2p sono coinvolti nel rimescolamento si possono identificare le seguenti ibridazioni:

–Ibridazione sp^3

La teoria suggerisce il mescolamento dell'orbitale 2s con i tre orbitali 2p. Come risultato si ottengono quattro nuovi orbitali identici tra loro, di forma, energia e disposizione nello spazio del tutto diverse da quelle originarie.

I nuovi quattro orbitali ibridi, chiamati sp^3 , hanno un quarto di carattere dell'orbitale 2s di partenza e tre quarti di carattere dell'orbitale 2p. Pertanto i quattro orbitali ibridi sp^3 sono tra loro identici e hanno la forma che ricorda quella di un orbitale p, ma con i lobi asimmetrici; infatti, un lobo presenta dimensioni maggiori in quanto l'orbitale ibrido ha una percentuale di carattere s. Il lobo di dimensione maggiore é quello che viene utilizzato nei legami (Fig 1.1).

I quattro orbitali ibridi sp^3 puntano verso i vertici di un tetraedro, disponendosi a $109,5^\circ$ l'uno dall'altro. Nella formazione della molecola del metano, si ha una sovrapposizione tra i quattro orbitali ibridi sp^3 e quattro orbitali 1s appartenenti a quattro atomi di idrogeno diversi.

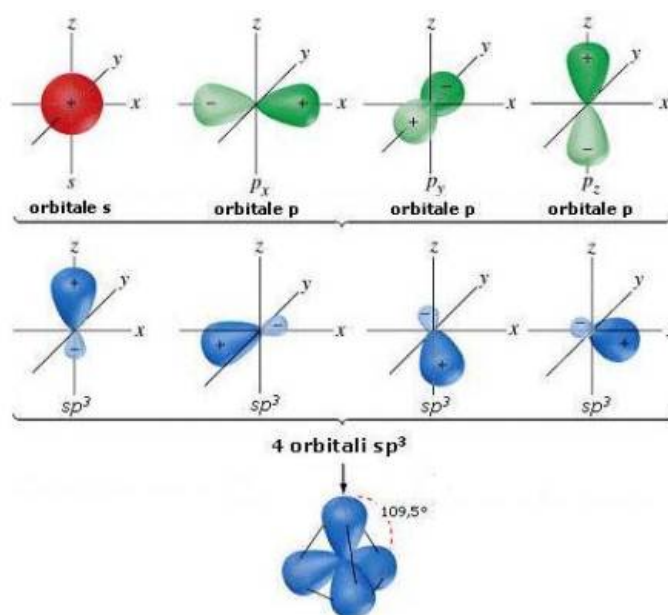


Fig 1.1: *Orbitali ibridi sp^3 .*

–Ibridazione sp^2

Dal mescolamento di un orbitale s con due orbitali di tipo p si ottengono tre orbitali ibridi detti orbitali sp^2 che si dispongono su un piano formando angoli di 120° (geometria triangolare planare).

L'orbitale p non coinvolto nell'ibridazione si dispone perpendicolarmente al piano formato dai tre orbitali ibridi sp^2 (Fig 1.2).

Presentano ibridazione sp^2 gli atomi di carbonio uniti da un legame covalente doppio ($> C = C <$), come ad esempio nella molecola dell'etene (o etilene) $H_2C = CH_2$. Il doppio legame $C = C$ si realizza in seguito alla sovrapposizione frontale tra due orbitali ibridi sp^2 e alla sovrapposizione laterale tra i 2 orbitali p non coinvolti nell'ibridazione che instaurano il cosiddetto legame π .

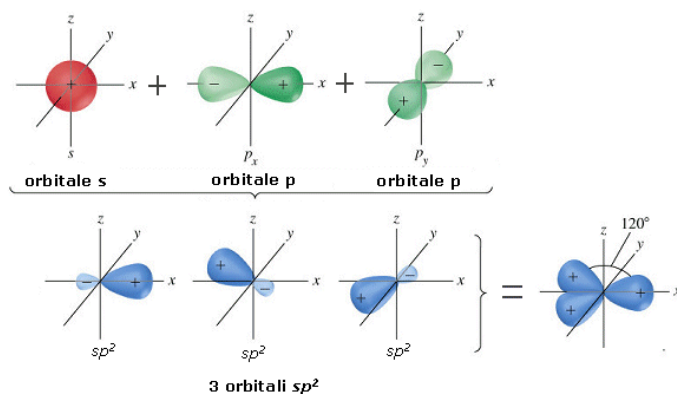


Fig 1.2: *Orbitali ibridi sp^2 .*

–Ibridazione sp

La combinazione di un orbitale di tipo s e uno di tipo p dá origine a 2 orbitali ibridi sp . Ogni orbitale ibrido sp ha la metà di carattere s e metà di carattere p . I due orbitali ibridi sp si dispongono a 180° l'uno rispetto all'altro (geometria lineare); gli orbitali p non coinvolti nell'ibridazione sono disposti perpendicolarmente tra loro e sono perpendicolari ai due orbitali ibridi sp (Fig 1.3).

Presentano ibridazione sp gli atomi di carbonio uniti da un legame covalente triplo. Il triplo legame si realizza in seguito alla sovrapposizione frontale tra due orbitali ibridi sp e alla sovrapposizione laterale tra le due coppie di orbitali p non coinvolti

nell'ibridazione.

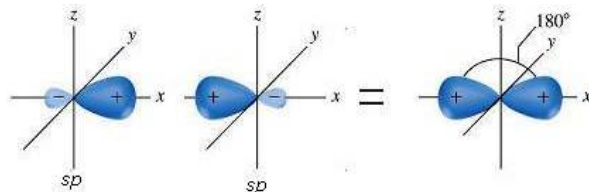


Fig 1.3: *Orbitali ibridi sp.*

Sulla base della struttura che nasce dall'ibridazione degli orbitali, i composti del carbonio sono classificati in alifatici ed aromatici. Gli alifatici sono a loro volta suddivisi in: alcani (ibridazione sp^3), alcheni (ibridazione sp^2), alchini (ibridazione sp) ed alifatici ciclici; i composti aromatici sono costituiti da anelli benzenici.

1.2 Forme allotropiche del carbonio

Il carbonio é allotropico, ovvero può esistere in due o più forme. Le due forme perfettamente cristalline sono il diamante e la grafite, tuttavia, oltre a queste due forme allotropiche, ci sono numerose altre strutture parzialmente cristalline o amorfe.

Da tali differenze strutturali consegue un'eterogeneità nelle proprietà meccaniche e fisiche: la grafite, per esempio, é considerata uno tra i materiali più teneri mentre il diamante occupa la prima posizione nella scala di Mohs, la quale é calibrata proprio sui materiali ceramici.

La grafite possiede una struttura a strati che può essere considerata come la ripetizione di anelli a sei atomi di carbonio (Fig 1.4); in ogni atomo tre dei quattro elettroni di valenza concorrono a formare legami di tipo σ e di lunghezza pari a 0.142 nm, mentre il quarto forma un legame di tipo π .

Gli strati planari hanno una struttura esagonale caratterizzata da angoli di 120° e dovuta all'ibridazione sp^2 degli orbitali.

L'interazione tra gli strati é conseguenza di deboli legami secondari dati da forze di Van der Waals e sovrapposizione dei legami π , ovvero nuvole elettroniche perpendicolari al piano di legame σ ; pertanto, dal punto di vista delle proprietà

meccaniche, la grafite, sottoposta a sollecitazioni in direzioni parallele al piano reticolare presenta una facile sfaldabilità. Strati planari successivi sono separati da una distanza pari a 0,34 nm.

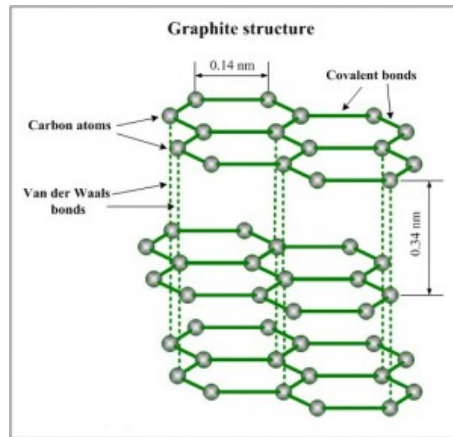


Fig 1.4: *Struttura della grafite.*

Nella forma allotropica del diamante (Fig 1.5) il carbonio ha un'ibridazione sp^3 con una struttura tetraedrica che permette di collegare ogni atomo di carbonio agli altri quattro con un legame covalente di tipo σ e di lunghezza pari a 0.154 nm.

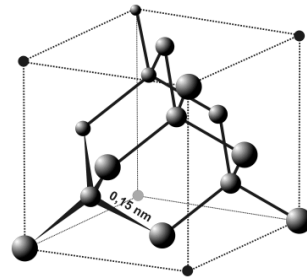


Fig 1.5: *Struttura del diamante.*

Vi sono infine numerose forme amorfe di carbonio caratterizzate da una struttura intermedia tra quella della grafite e quella del diamante.

La maggior parte di queste forme sono degli strati di grafene contenenti delle vacanze e strutture orientate in modo casuale.

L'uso dei carboni in un'ampia gamma di applicazioni biomediche sfrutta la struttura e le proprietà di adsorbimento e biocompatibilità del carbonio nelle sue differenti forme. Infatti, i carboni sono caratterizzati da una buona biocompatibilità; tuttavia, per le motivazioni sopra citate, le proprietà meccaniche variano per ogni allotropo del carbonio e devono pertanto essere valutate per soddisfare anche le esigenze funzionali del dispositivo.

La forma allotropica che ha più importanza come biomateriale è il carbonio pirolitico, utilizzato in componenti protesici a stretto contatto con il sangue come nelle valvole cardiache ed in protesi ortopediche per piccole articolazioni.

2 Il carbonio pirolitico

L'identificazione del carbonio pirolitico quale materiale adatto alle valvole cardiache accadde quasi accidentalmente nel 1966 quando il dottor Bokros, il quale stava lavorando sul carbonio pirolitico per le particelle di combustibile nucleare, lesse un articolo che citava il dottor Gott e la sua ricerca sui materiali non trombogenici per le applicazioni cardiovascolari. Gott, infatti, era alla ricerca di un materiale da utilizzare nel settore delle valvole cardiache meccaniche artificiali che non provocasse la formazione di coaguli di sangue e avesse una durata tale da resistere per tutta la vita del ricevente. La collaborazione tra i due ingegneri ebbe come risultato la modificazione del materiale su cui Bokros stava lavorando.

Tale materiale venne adattato ai requisiti di biocompatibilità, resistenza e durabilità necessari in applicazioni del sistema cardiovascolare e fu brevettato come una lega di silicio e carbonio pirolitico col nome commerciale di "Pirolite".

Prima di questa scoperta le valvole cardiache erano costruite esclusivamente con materiali polimerici e metallici che non potevano evitare la formazione di trombi, usura e reazioni avverse da parte dell'organismo, limitando la vita delle protesi a pochi anni.

L'introduzione del carbonio pirolitico fu la soluzione a tutti questi problemi.

Nel 1990 il gruppo di ricercatori di Bokros rivisitò i metodi di preparazione individuando una tecnologia di controllo del processo di deposizione che consentiva al carbonio pirolitico puro di ottenere migliori prestazioni meccaniche ed una maggiore biocompatibilità rispetto alla precedente lega silicio-carbonio pirolitico.

Questo nuovo materiale venne brevettato col nome di "On X carbon" ed è ancora oggi utilizzato in alcune valvole cardiache meccaniche. Nessun altro materiale utilizzato per impianti a contatto col sangue a lungo termine può vantare un tale successo nell'esperienza clinica.

A partire dagli anni 1980 il carbonio pirolitico è stato impiegato anche in impianti ortopedici sfruttando, oltre alla nota eccellente biocompatibilità, le sue proprietà meccaniche.

In questo Capitolo sono esaminate la struttura, le proprietà e la biocompatibilità del carbonio pirolitico per comprendere le motivazioni che stanno alla base della scelta di questo materiale soprattutto nell'ambito cardiovascolare.

2.1 Struttura del carbonio pirolitico

Il carbonio pirolitico appartiene alla categoria dei materiali ceramici e risulta un aggregato di cristalliti, di strati planari e di atomi di carbonio non associati e non orientati (Fig 2.1).

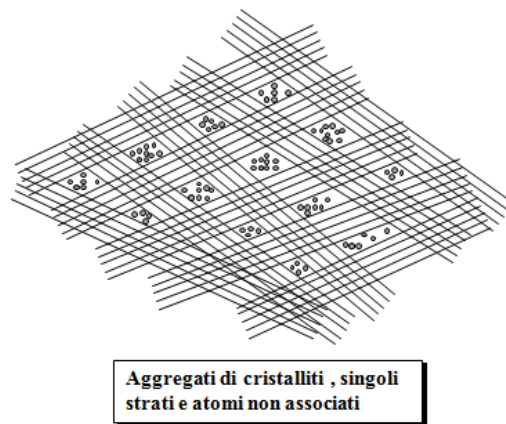


Fig 2.1: *Struttura del carbonio pirolitico.*

Nei cristalliti, gli strati planari hanno la stessa struttura esagonale della grafite; tuttavia vi sono alcune differenze:

- un singolo strato planare contiene numerose imperfezioni (Fig 2.2);

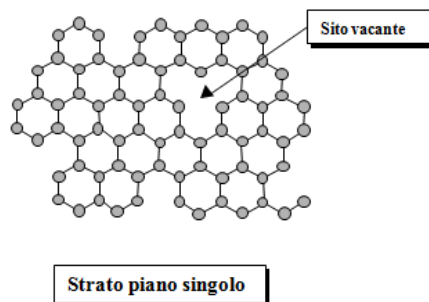


Fig 2.2: *Vacanze in un singolo strato planare.*

- gli strati planari sono di dimensioni piú piccole (inferiori ai 100 Å, mentre nella grafite sono superiori ai 1000 Å);

- il legame tra i diversi strati risulta in realtà piú forte rispetto alle semplici forze di van del Waals e si é pertanto ipotizzata l'esistenza di reticolazioni interstrato;
- gli strati planari non sono perfettamente allineati come nella grafite (Fig 2.3).

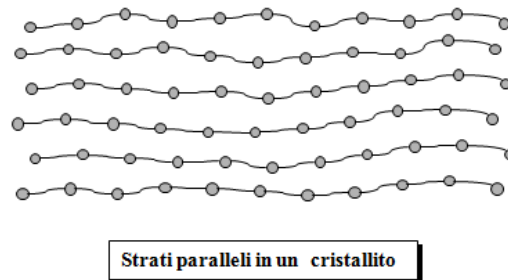


Fig 2.3: *Disallineamento negli strati paralleli.*

Sia i legami forti presenti all'interno degli strati, che i legami deboli tra strati diversi sono responsabili delle caratteristiche proprietà anisotrope dei singoli cristalliti. Tuttavia, poiché i cristalliti sono dispersi in modo disordinato nell'aggregato, le proprietà del carbonio pirolitico risultano complessivamente isotrope; inoltre i piani esagonali non sono sistemati perfettamente, e tanto piú questi sono posti in modo casuale tanto piú il sistema tende a diventare isotropo. Ciò é di rilevante importanza in quanto la realizzazione di protesi quali le valvole cardiache e protesi ortopediche, comprendenti strutture sollecitate, richiede un'elevata isotropia nelle proprietà meccaniche dei materiali utilizzati e l'assenza di piani di frattura preferenziali.

La peculiare struttura del carbonio pirolitico ne determina anche le molteplici proprietà favorevoli; ad esempio, come nel caso della grafite, é permessa la conducibilità termica ed elettrica lungo le direzioni parallele ai piani grazie alla sovrapposizione degli orbitali che vanno a formare i legami σ ; inoltre la sua struttura comporta una bassa densità e dalla stabilità dei legami carbonio-carbonio consegue un'elevata stabilità termica e chimica.

Tali proprietà consentono l'utilizzo del carbonio pirolitico in molteplici applicazioni in ambito clinico.

2.2 Proprietá del carbonio pirolitico

Le proprietá meccaniche dei derivati del carbonio, ed in particolare di quello pirolitico, dipendono dalla densitá e sono strettamente legate al tipo di aggregazione del materiale.

Alcune proprietá meccaniche e fisiche del carbonio pirolitico puro e della lega silicio-carbonio pirolitico per impianti a lungo termine sono riportate nella Tabella 2.1 e confrontate con quelle del carbonio vetroso e della grafite.

Tabella 2.1: *Proprietá del Carbonio Pirolitico*

Proprietá	Puro PyC	Si - PyC	Carbonio vetroso	Grafite
Resistenza alla flessione, MPa	493.7±12	407.7±14.1	175	90
Modulo di Young, GPa	29.4±0.4	30.5±0.65	21	11
Durezza, DPH, 500g	235.9±3.3	287±10	150	120
Densitá, $g \cdot cm^{-3}$	1.93±0.01	2.12±0.01	< 1.54	1.78
Resistenza all'usura	Eccellente	Eccellente	Scarsa	Scarsa

Dalla tabella risulta evidente la considerevole variabilitá delle proprietá; la quale dipende dalle diverse strutture delle differenti forme allotropiche del carbonio, ad esempio la grafite ed il carbonio vetroso hanno proprietá meccaniche inferiori rispetto a quelle del carbonio pirolitico.

Il carico a rottura del carbonio pirolitico é piú basso dei metalli duttili e dei polimeri, mentre in generale risulta piú alto rispetto agli altri materiali ceramici. La resistenza alla flessione del carbonio pirolitico é, infatti, considerevolmente piú alta rispetto a quella della grafite e del carbonio vetroso ed assume valori tali da permetterne l'utilizzo sia in applicazioni cardiovascolari ma anche in piccoli impianti ortopedici.

La durezza é intesa come la resistenza di un materiale alla penetrazione e si misura con dispositivi che permettono di comprimere, applicando un determinato carico, un opportuno corpo penetrante contro la superficie del pezzo. La durezza del carbonio pirolitico puro é inferiore rispetto a quella della lega. Nella Tabella é riportata la durezza del materiale misurata valutando la capacitá del solido in esame di resistere alla deformazione plastica prodotta dalla penetrazione di un

diamante a forma piramidale. La punta di tale piramide a base quadrata entra nel materiale lasciando in esso un'impronta di cui si misura la diagonale.

La densità é sufficientemente bassa; tale caratteristica permette, nel caso di componenti protesici cardiovascolari come i leaflet delle valvole cardiache, di essere azionati dal flusso sanguigno in modo tale che il loro movimento dipenda dal gradiente transvalvolare.

La resistenza alla fatica ed all'usura del carbonio pirolitico garantiscono un'integritá strutturale adeguata per una varietá di applicazioni impiantabili.

L'usura é prodotta dalla forza di attrito quando due superfici entrano in contatto tra loro. Infatti, quando due corpi sono soggetti ad un movimento relativo si genera la forza di attrito che si oppone a tale movimento. L'usura deve essere mantenuta a livelli molto bassi in quanto genera due fenomeni negativi: il primo é l'alterazione dimensionale delle superfici a contatto, il secondo é la produzione di detriti che possono danneggiare sia l'accoppiamento tra le superfici, sia altre strutture circostanti.

La resistenza all'usura del carbonio pirolitico é eccellente. I test svolti nel 1970 individuarono le leghe in Titanio, la lega Cromo-Cobalto ed il carbonio pirolitico come i materiali con le migliori proprietá tribologiche se poste in contatto col carbonio pirolitico. La resistenza all'usura é approssimativamente proporzionale al rapporto:

$$\frac{H^2}{2E}$$

in cui H indica la durezza di Brinell ed E é il modulo di Young.

Nella Brinell il penetratore é una sfera di acciaio di 10 mm di diametro che viene premuta sul pezzo caricandola con 3000 Kg, per valutare la durezza del materiale viene misurato il diametro dell'impronta.

Questa formula si riferisce alla quantitá di energia elastica che puó essere immagazzinata sulla superficie del componente: piú essa aumenta, piú aumenta la resistenza all'usura. Tale materiale, infatti, associa, ad elevate caratteristiche di resistenza, una notevole elasticitá ed é quindi in grado di assorbire elasticamente molta energia prima di giungere a rottura, garantendo pertanto un ottimo comportamento nei confronti della fatica meccanica.

Come affermato, coppie di materiali utilizzate con una resistenza all'usura soddisfacente per superfici di contatto per valvole cardiache sono il carbonio pirolitico

in contatto con se stesso, con la lega cromo-cobalto e con le leghe in Titanio. In particolare l'usura osservata sul carbonio pirolitico di valvole cardiache meccaniche in carbonio pirolitico accoppiato con lega cromo-cobalto, recuperate dopo essere state utilizzate per diciassette anni possiedono un indicatore di profondità di consumo inferiore ai $2\ \mu\text{m}$; invece, l'usura osservata nei componenti di cromo-cobalto é maggiore: $19\ \mu\text{m}$ in dodici anni di utilizzo; tuttavia in questo caso l'usura era concentrata in punti precisi invece di essere distribuita in tutta la superficie.

Infine, la profondità dell'usura riscontrata in protesi costituite solo da carbonio pirolitico é inferiore ai $3.5\ \mu\text{m}$ dopo tredici anni di utilizzo, mentre in quelle costituite da materiali polimerici come il poliacetale Derlin a contatto con cromo-cobalto e lega di titanio, dopo diciassette anni, manifestano una profondità di usura superiore ai $267\ \mu\text{m}$.

Questi dati confermano che l'utilizzo di carbonio pirolitico ha diminuito drasticamente i fallimenti di impianti dovuti ad usura.

Il carbonio pirolitico é posto spesso a contatto coi metalli e si comporta come un metallo nobile nei processi galvanici. Alcuni studi hanno dimostrato che coppie di superfici di carbonio pirolitico a contatto con la lega cobalto-cromo non provocano effetti nocivi, mentre é sconsigliato l'uso del carbonio pirolitico con acciai inossidabili. Tuttavia, nel caso delle valvole cardiache meccaniche é preferito l'utilizzo del solo carbonio pirolitico allo scopo di garantire una maggiore emocompatibilitá. Il modulo di Young misura la rigidezza del materiale, dipende strettamente dalle forze di legame interatomiche ed intramolecolari. I materiali con alto modulo elastico sono rigidi e non si deformano facilmente.

Il modulo elastico é pressoché lo stesso per tutti i tipi di carbonio ed é comparabile con quello dell'osso; tale fatto, nel caso di applicazioni ortopediche, permette di minimizzare gli effetti del fenomeno dello stress shielding all'interfaccia tra la protesi e l'osso.

Il carbonio pirolitico, infatti, dimostra anche un buon comportamento per applicazioni ossee in quanto possiede numerosi vantaggi rispetto a polimeri e metalli:

- modulo di elasticitá simile a quello dell'osso;
- eccellenti caratteristiche di resistenza all'usura ed alla fatica;
- basso coefficiente di frizione;
- eccellente biocompatibilitá con l'osso ed i tessuti duri;
- eccellente biocompatibilitá con la cartilagine;

- fissaggio a diretto contatto con l'osso.

Un breve confronto delle proprietà del carbonio pirolitico con quelle dei materiali convenzionalmente applicati in ambito ortopedico é fornito dalla Tabella 2.2:

Tabella 2.2: *Proprietá di alcuni materiali utilizzati per scopi biomedicali*

Property	PyC	Al_2O_3	CoCrMo	UHMWPE
Densitá, $g \cdot cm^{-3}$	1.93	3.98	8.52	0.95
Resistenza alla flessione, MPa	494	595	690	20
Modulo di Young, Gpa	29.4	400	226	1.17
Durezza, HV	236	2400	496	NA

É evidente che la densitá ed il modulo di Young del carbonio pirolitico sono inferiori rispetto agli altri materiali; tale fatto consente di minimizzare l'effetto dello stress shielding.

Lo stress shielding é un fenomeno che influisce sul rimodellamento osseo e sulla guarigione a seguito di un impianto: se il componente protesico ha una rigiditá superiore a quella dell'osso (nel caso dei metalli é di 10-20 volte superiore), il carico viene distribuito prevalentemente sul materiale impiantato; pertanto, poiché non vi é il corretto stimolo al continuo rimodellamento osseo, si ha un aumento anomalo della porositá (atrofia ossea) con conseguente indebolimento della struttura mineralizzata. Per prevenire questo effetto, occorre inserire impianti di rigiditá comparabile a quella del tessuto ospite.

La resistenza alla flessione del carbonio pirolitico é paragonabile a quella degli altri materiali ortopedici; l'allungamento alla rottura e la tenacitá alla frattura sono invece di norma inferiori; ció costituisce un piccolo svantaggio che, tuttavia, risulta minimizzato dalla molteplicitá di vantaggi che l'impiego del carbonio pirolitico in ambito ortopedico offre.

Per tutte queste considerazioni, date le buone proprietà tribologiche dei materiali ceramici ed in particolare del carbonio pirolitico caratterizzato da un basso coefficiente di attrito, strutture in carbonio pirolitico per impianti ortopedici di dimensioni limitate possono anche ridurre l'usura, i microframmenti generati da

quest'ultima e l'osteolisi dovuta alla mobilitazione asettica degli impianti permettendo così di estendere la vita media dei componenti impiantati.

Numerosi interventi metacarpofalangei svolti tra il 1979 ed il 1987 dimostrarono le eccellenti performance di tale materiale tanto che furono anche utilizzate in parte per giustificarne la fase preclinica ottenendo l'approvazione della FDA.

Il carbonio vetroso é stato proposto come un'alternativa piú economica per una vasta gamma di applicazioni ortopediche e cardiovascolari. Tuttavia per le scarse proprietá meccaniche e la bassa resistenza all'usura generalmente non é accettato come un materiale adatto per impianti a lungo termine.

Il carbonio é stato utilizzato anche in fibre, sfruttando la sua resilienza, ovvero la capacità del materiale di assorbire (e rilasciare) energia di deformazione elastica, che lo rende un ottimo componente di rinforzo per pareti costruite con materiali compositi; applicazioni di questo genere interessano la costruzione di tendini e legamenti artificiali; il colore nero ne limita l' applicazione in campo odontoiatrico nonostante la buona biocompatibilitá e la facilitá con cui si possono creare le parti. In conclusione, come la maggioranza dei materiali ceramici, il carbonio pirolitico é caratterizzato da alcune proprietá che determinano degli svantaggi come:

- alte temperature di sinterizzazione;
- fragilitá intrinseca;

ed altre proprietá che comportano, invece, alcuni vantaggi:

- buona resistenza meccanica;
- elevata durezza;
- buone proprietá tribologiche;
- bassa densitá;
- bassa espansione termica;

Pertanto, a causa della durezza e della fragilitá, i materiali ceramici non sono adatti alla costruzione di componenti protesici destinati a reggere carichi importanti. Tuttavia essi possono essere impiegati con successo come materiali di rivestimento quando sia necessario conferire particolari proprietá superficiali a manufatti realizzati con altri materiali; tali proprietá possono essere, ad esempio, la biocompatibilitá, garantita dall'elevata refrattarietá termica e chimica, o, nel caso specifico,

l'emocompatibilit .

2.3 Biocompatibilità del carbonio pirolitico

2.3.1 Emocompatibilità

C'è ormai la convinzione che nessun materiale estraneo posto in un organismo vivente sia inerte; ogni materiale di sintesi è considerato estraneo e porta a qualche reazione biologica. Stando così le cose non rimane che scegliere, per le applicazioni protesiche, materiali a minima reazione biologica.

Il carbonio pirolitico è attualmente considerato il materiale più emocompatibile e per questo è largamente impiegato come rivestimento di protesi cardiovascolari.

La superficie di un dispositivo impiantabile, infatti, ha un'importanza fondamentale in applicazioni protesiche in quanto l'utilizzo pratico di un biomateriale comporta la formazione di un'interfaccia tra il materiale ed il sistema biologico ed è proprio in corrispondenza di questa interfaccia che le molecole del materiale entrano in contatto con i costituenti dei diversi tessuti.

In riferimento al caso di impianti cardiovascolari, in particolare di valvole cardiache, è utile effettuare alcune considerazioni sulle attività di interazione alla superficie di interfaccia. In interazioni di questo tipo si manifestano fenomeni particolari i cui principali sono: l'adsorbimento delle proteine, la formazione di trombi e la coagulazione.

L'adsorbimento può comportare la denaturazione delle proteine, definita come un qualsiasi cambiamento nella loro struttura e nella loro configurazione. Infatti, poiché l'attività biologica delle proteine è strettamente correlata alla loro struttura, qualsiasi sollecitazione in grado di modificarne la conformazione ne altera/modifica anche la funzione.

Una delle azioni denaturanti deriva dalle interazioni che si generano all'interfaccia tra la superficie protesica e sangue che, a lungo andare, danno luogo a delle forze orientative che tendono a polarizzare lo strato monomolecolare che si forma all'interfaccia. Infatti, quando un biomateriale è posto a contatto con i fluidi biologici, le molecole d'acqua si avvicinano alla superficie e si dispongono in base alle proprietà della superficie stessa, influenzando la successiva diffusione degli ioni presenti nei fluidi biologici. La natura della superficie può quindi venire modificata in termini di carica superficiale per effetto dell'incorporazione di ioni di segno opposto rispetto alle cariche superficiali. Le proteine diffondono in un secondo momento e vengono adsorbite dalla superficie disponendosi sia in virtù della diversa concentrazione locale che della diversa orientazione delle stesse. Entrambi

gli aspetti possono concorrere alla modificazione dell'attività biologica. Il ruolo delle proteine adsorbite, dunque, è determinante per la risposta dell'organismo alla presenza del biomateriale, che può portare, ad esempio, alla coagulazione o all'adesione cellulare.

Per quanto concerne la formazione di trombi e coagulazione, l'osservazione di processi trombogenici in vivo suggerisce che l'evento iniziale consiste nello sviluppo di una superficie esterna adesiva dei trombociti con conseguente adesione delle piastrine alla superficie del pezzo protesico.

Ricapitolando, quando il sangue riconosce una superficie diversa da quella dell'endotelio (considerata l'unica superficie perfettamente non trombogenica), si attiva la cascata emocoagulativa che prevede l'adesione delle piastrine alla superficie protesica con conseguente rilascio, da parte di quest'ultime, di sostanze chimiche che iniziano il ciclo di conversione dei fattori di coagulazione del sangue per produrre la fibrina. La coagulazione, infatti, consiste in una serie di eventi biochimici che portano all'attivazione della molecola chiave: la trombina. Questo enzima trasforma il fibrinogeno, un precursore solubile, in fibrina che, essendo insolubile, permette la formazione del coagulo. Il processo è mediato dall'attivazione sequenziale di una cascata di eventi proteolitici, catalizzati da una serie di enzimi specifici presenti nel plasma sotto forma di zimogeni, ossia di precursori in forma inattiva, che vengono attivati nel momento in cui servono.

È noto che il processo di coagulazione può realizzarsi attraverso due percorsi:

- la via intrinseca, che porta alla coagulazione del sangue senza che dall'esterno sia stato aggiunto alcun additivo chimico: è il tipico fenomeno che si verifica lasciando il sangue prelevato in una normale provetta; essa si attiva, infatti, quando il sangue viene in contatto con superfici diverse dall'endotelio sano;
- la via estrinseca, un percorso alternativo più breve per la produzione di fibrina che è attivato da fattori chimici che vengono rilasciati in seguito al danneggiamento dei tessuti endoteliali.

È probabile che la coagulazione venga attivata per il contatto con la superficie del componente protesico e che ciò dia luogo al ciclo di attivazione dei fattori proteici enzimatici di coagulazione che portano alla conversione della protrombina in trombina, la quale ha il ruolo di attivare il fibrinogeno che viene successivamente convertito in fibrina.

Il carbonio pirolitico usato nelle valvole cardiache meccaniche e nelle potesi ortopediche ha avuto un enorme successo nelle esperienze cliniche relative ad impianti a contatto con sangue e tessuti scheletrici a lungo termine; esso, infatti, ha una elevatissima inerzia chimica e quindi sono inibite le reazioni che possono indurre risposte biologiche indesiderate. In realtà la sua superficie non è totalmente inerte, ma è in grado di adsorbire molte sostanze incluse le proteine. Il meccanismo che spiega la biocompatibilità di questo elemento non è ancora stato completamente compreso, ma probabilmente consiste in una serie di complesse interazioni tra le proteine e la superficie. Si ritiene che a contatto con il sangue, sulla superficie del carbonio pirolitico, si crei uno strato di adsorbimento di proteine senza che avvenga la modificazione della loro conformazione che costituisce il primo stadio della cascata di reazioni che conducono alla coagulazione del sangue. Tale strato proteico forma una sottilissima pellicola superficiale elettronegativa che inibisce la formazione di aggregati piastrinici.

Per questi motivi, dunque, le superfici realizzate in carbonio pirolitico e trattate con la lucidatura a specchio, sono le migliori conosciute fino ad oggi per il contatto con il sangue.

2.3.2 Test di biocompatibilità

La valutazione della biocompatibilità va condotta allo scopo di esaminare le prestazioni del biomateriale in condizioni simili a quelle dell'ambiente biologico. La biocompatibilità dei dispositivi e quella dei loro componenti deve essere acquisita con certezza; infatti, dopo essere stata testata e valutata, essa deve essere approvata dagli organismi deputati prima della commercializzazione e dell'utilizzo in ambito clinico: solamente impianti certificati per licenza o per iscrizione di un marchio di qualità di un'autorità internazionale o nazionale possono essere considerati conformi alle specifiche stabilite.

I test di biocompatibilità hanno lo scopo di garantire che uno specifico materiale possieda effettivamente sia le proprietà chimico-fisiche che le caratteristiche per rispondere alla funzione che deve svolgere; infatti negli ultimi anni il significato di biocompatibilità è stato diviso in due settori: quello della biosicurezza, che riguarda l'eliminazione degli effetti dannosi per la salute del paziente e del personale sanitario, e quello riguardante le prestazioni funzionali del prodotto finale in vivo. Una specifica definizione di biocompatibilità è : *"la capacità di un materiale di*

non determinare, da parte di un sistema vivente, una sfavorevole reazione alla sua presenza in una specifica applicazione". Il concetto fondamentale é che mentre le diverse forme di carbonio provocano una minima reazione biologica, *"la specifica applicazione"* richiede una serie di proprietá meccaniche e fisiche, oltre alla biocompatibilitá. Per esempio, ci si potrebbe aspettare che anche altri tipi di carbonio forniscano risultati positivi ai test di biocompatibilitá e manifestino pertanto un comportamento compatibile e biostabile. Una dimostrazione estrema della compatibilitá tessutale dei carboni vetrosi e carboni attivati é la seguente: per testare la sicurezza di un carbonio attivato per l'emoperfusione, un ricercatore introdusse sospensioni di carbone finemente macinato nel flusso sanguigno di ratti in diverse concentrazioni, fino ai 20 mg/kg e non osservó nessuna differenza nella sopravvivenza e crescita degli animali relative a controlli con periodi di osservazione superiore ai due anni.

Proprio per la sua emocompatibilitá, é stato proposto l'utilizzo del carbonio vetroso nelle valvole cardiache meccaniche; tuttavia si concluse che tale materiale é caratterizzato da una resistenza all'usura ed una durabilitá non sufficienti per le applicazioni in considerazione.

In conclusione, il fatto che un materiale sia biocompatibile non giustifica il suo utilizzo in impianti a lungo termine in quanto é necessario verificare l'intera gamma di proprietá meccaniche e fisiche che il dispositivo richiede, garantendo cosí anche gli aspetti funzionali del dispositivo.

Storicamente il successo clinico del carbonio pirolitico ha subíto numerose modificazioni ed adattamenti prima di raggiungere tutte le proprietá meccaniche e fisiche necessarie per applicazioni cardiovascolari ed ortopediche.

Mentre le proprietá generali di un materiale, come la resistenza e la flessibilitá, ne definiscono la funzionalitá, le proprietá della superficie sono fondamentali nell'interazione con l'organismo ospite. Di qui l'utilizzo del carbonio pirolitico come materiale di rivestimento per componenti a contatto col flusso sanguigno.

Per valutare la biocompatibilitá di un materiale si fa riferimento alle tabelle ISO 10993, in cui sono descritti tutti i metodi nei quali si cercano di riprodurre le condizioni di esposizione del materiale che si avranno nell'applicazione clinica reale.

Lo standard ISO 10993 é una guida alla selezione dei diversi test di biocompatibilitá che basa la scelta su due fattori: le caratteristiche chimiche dei materiali stessi e la natura, l'invasivitá, la frequenza e la durata dell'esposizione all'organismo una volta impiantati. Il carbonio pirolitico ha superato in modo eccellente i test di bio-

compatibilità relativi alle tabelle ISO 10993 con i risultati riportati nella Tabella 2.3.

Tabella 2.3: *Test biologici per il carbonio pirolitico puro*

Tipo di Test	Protocollo	Risultati
Test di Eluizione	ISO 10993-5	Non citotossico
Test di Massimizzazione	ISO 10993-10	Grado1, non significativo
Iniezione Intracutanea	ISO 10993-10	Irritazione trascurabile
Iniezione sistemica	ISO 10993-11	Negativa-come nei controlli
Test pirogenico	ISO 10993-11	Non pirogenico

I test di citotossicità, contenuti nello standard ISO 10993-5, sono metodi di valutazione di danni biologici acuti provocati da sostanze rilasciate da dispositivi medici, tramite l'osservazione degli effetti che queste producono su cellule di mammifero coltivate in vitro su un mezzo nutriente. Nelle prove sono utilizzate colture monostrato, adatte alla successiva osservazione al microscopio. Nel test di eluizione il materiale viene introdotto in un mezzo eluente, capace di far rilasciare al campione un ampio raggio di composti chimici, e gli estratti ottenuti vengono utilizzati come nuovo nutriente delle colture cellulari. I monostrati cellulari vengono quindi osservati al microscopio e confrontati con gli estratti ottenuti da un materiale di riferimento per scoprire l'insorgere di eventuali segnali di un'azione tossica del materiale; tali segnali sono ad esempio cambiamenti nelle dimensioni o nell'aspetto dei componenti cellulari e lisi cellulare. L'esito dell'applicazione di questo test al carbonio pirolitico è che tale materiale non risulta essere citotossico.

I test di citotossicità costituiscono una tecnica rapida, economica e sensibile per la valutazione di danni biologici acuti tramite l'osservazione degli effetti dovuti alle sostanze rilasciate dal dispositivo; permettendo la distinzione tra materiali reattivi e non reattivi. Tuttavia, il limite di questo metodo sta nella difficoltà di riprodurre la notevole complessità reale dell'ambiente biologico in quanto è possibile utilizzare solamente una linea cellulare per volta. Infatti, la simulazione troppo semplificata del funzionamento dei tessuti biologici può generare il rischio di estrapolazioni ed

interpretazioni errate dei risultati ottenuti. Pertanto é necessario integrare i test in vitro con dati ricavati da sperimentazioni su modelli animali lavorando, dunque, in un ambiente che riproduce i reali meccanismi biologici per svolgere un'analisi piú completa e corretta riguardo il comportamento di un qualsiasi biomateriale. Tale sperimentazione risulta quindi fondamentale per garantire l'affidabilit  del materiale e, di conseguenza, la sicurezza del paziente.

Il test di massimizzazione di Kligman appartiene alla categoria dei test di sensibilizzazione, che prevedono l'osservazione su cavie dell'insorgere di reazioni in conseguenza dell'azione ripetuta e prolungata di sostanze rilasciate capaci di interagire con il sistema immunitario. Il test in considerazione consiste nell'applicazione ripetuta a gruppi separati di porcellini d'India di estratti con olii e soluzioni saline ed é utile per stabilire se un dispositivo medico é in grado di rilasciare sostanze chimiche con alta capacit  di indurre reazioni di sensibilizzazione. Quest'ultime si manifestano con arrossamento e gonfiore dei tessuti.

Dai dati riportati in tabella risulta che il carbonio pirolitico valutato col test di massimizzazione non ha comportato significative reazioni di sensibilizzazione.

Il test di reattivit  intracutanea é un test aggressivo che rende massima la probabilit  di individuare gli irritanti presenti e fa parte della categoria delle prove di irritazione.

Lo standard ISO definisce irritazione una "*risposta infiammatoria locale ad applicazioni singole, ripetute e continue della sostanza in prova, senza che sia coinvolto un meccanismo immunitario*". L'irritazione, dunque, é la risposta locale di un tessuto alla presenza di alcuni prodotti rilasciati dai materiali come additivi o contaminanti. Sintomi tipici dell'irritazione sono arrossamento, gonfiore, calore e dolore.

L'iniezione intracutanea prevede che degli estratti di fluidi salini o direttamente il materiale in esame vengano applicati a livello intracutaneo della pelle primaria. Generalmente le cavie di test sono due conigli albini ai quali viene iniettato per via intracutanea l'estratto dal materiale in punti multipli della pelle rasata; le stesse iniezioni, ma solo del mezzo di estrazione, vengono effettuate su altre due cavie di controllo. Trascorse 24, 48 e 72 ore si valuta l'eventuale insorgenza dei sintomi di arrossamento e gonfiore nelle zone interessate dalle iniezioni. Vengono considerati irritanti gli estratti capaci di provocare una risposta significativamente piú grande nelle cavie di test, rispetto a quelle di controllo.

Ovviamente é consigliato far precedere a questi test in vivo una ricerca di lettera-

tura e dei test in vitro valutando in tal modo anche la citotossicità del materiale. Dalla tabella si nota che anche dall'iniezione intracutanea del carbonio pirolitico non conseguono effetti di irritazione; quest'ultima, dopo aver svolto i test, è infatti risultata trascurabile.

Oltre ai test basati sull'osservazione di effetti locali prodotti da un materiale estraneo sull'organismo, gli standard ISO 10993 prevedono anche prove per la valutazione dei potenziali effetti dannosi dei biomateriali su organi e tessuti che sono distanti dalla zona di contatto con il corpo. Si tratta degli effetti sistemici, descritti nella ISO 10993-11 e dovuti all'azione di sostanze chimiche rilasciate dai materiali sulla salute generale del paziente e su organi bersaglio come fegato, cuore, reni e cervello. Lo standard ISO 10993-11 elenca una serie di metodi con cui devono essere svolti i test sulla tossicità sistemica. Tali metodi, pertanto, devono essere scelti in modo opportuno, stabilendo le modalità di somministrazione degli estratti fluidi o d'impianto diretto del materiale stesso in una cavia. Ad esempio, la somministrazione dell'estratto fluido è prevista per via orale, per via endovenosa, per inalazione o per via intraperitoneale. Inoltre, a seconda del tempo trascorso tra l'impianto e l'insorgenza dei primi sintomi, i danni vengono classificati in acuti (0-24 ore), subacuti (14-28 giorni), subcronici (90 giorni) e cronici.

Il carbonio pirolitico risulta essere compatibile anche nel test di iniezione sistemica in quanto le cavie sottoposte a tale verifica con il materiale in estratto fluido hanno manifestato il medesimo comportamento delle cavie di controllo.

Un altro test che riguarda gli effetti sistemici dannosi di un materiale è quello di pirogenicità, il cui obiettivo è la ricerca di quelle sostanze di origine chimica o batterica, dette pirogeni, capaci di causare uno stato febbrile se presenti nell'organismo in dose sufficientemente elevata. Il test si effettua somministrando per via endovenosa ad un coniglio l'estratto liquido del materiale da saggiare e controllando, nelle ore successive, la temperatura rettale della cavia.

Le cavie sottoposte a questo tipo di test col carbonio pirolitico non hanno manifestato effetti di pirogenicità.

La compatibilità dei materiali col sangue viene valutata con i test di emocompatibilità. Il sangue è un tessuto contenente molti tipi di cellule con specifiche funzioni, che vanno dalla riparazione dei tessuti danneggiati, alla risposta immunitaria, al trasporto dell'ossigeno. Questa complessità strutturale e funzionale comporta che ogni danno prodotto ad una delle componenti cellulari può pregiudicare significativamente la salute del paziente. Alle prove di emocompatibilità è stata pertanto

dedicata una parte speciale degli standard ISO 10993: la ISO 10993-4 (selezione dei test per le interazioni con il sangue), che contiene una selezione dei test basata sulla classificazione dei dispositivi secondo il tipo di contatto che avranno con il sangue. Per ogni tipologia di contatto, inoltre, sono previsti due livelli di indagine, uno primario (livello 1) ed uno opzionale (livello 2), che si articolano in una serie di test generali riferiti ad una specifica funzione del sangue. Tali test riguardano la trombosi, la coagulazione, la funzionalità delle piastrine, i parametri immunologici ed ematologici.

Per la trombosi esistono test sia in vitro che in vivo. Nella procedura tipica, il dispositivo viene posto in condizioni che simulano la sua applicazione clinica per il tempo necessario al successo del test; il dispositivo viene quindi rimosso per valutare l'estensione dei coaguli formati sulla superficie o al suo interno. Naturalmente è necessario un confronto tra le osservazioni ottenute e quelle relative ad un materiale di riferimento. L'effetto di un dispositivo sulla coagulazione del sangue viene determinato tramite test in vitro, ponendo sangue a contatto con il materiale da saggiare per un opportuno periodo di tempo. Segue il test sulla capacità coagulante del sangue impiegato nella prova tramite analisi cliniche di routine. Tra i parametri ematologici da determinare in vitro, molto importante è la misura dell'emoglobina contenuta nel plasma, il cui aumento è correlabile all'emolisi.

Per valutare l'emocompatibilità del materiale in considerazione, pertanto, è stato effettuato questo tipo di verifica giungendo a risultati soddisfacenti.

In conclusione i test sopra descritti confermano che il carbonio pirolitico possiede eccellenti proprietà di biocompatibilità ed è il materiale meno trombogenico conosciuto sino ad oggi.

3 Deposizione del carbonio pirolitico

In generale i materiali ceramici manifestano molteplici vantaggi:

- sono i piú biocompatibili tra tutti i materiali impiantabili;
- hanno un modesto impatto sul sistema immunitario;
- dimostrano un'inertia chimica verso i fluidi biologici;
- possiedono un'elevata resistenza alla compressione;
- sono caratterizzati da un ridotto coefficiente d'attrito.

Tali caratteristiche permettono il loro utilizzo in numerose applicazioni e l'adattamento all'interno di un largo spettro di requisiti fisiologici; tuttavia i principali problemi legati alla loro natura ceramica sono correlabili a:

- basso carico di rottura, soprattutto in confronto ai metalli;
- duttilitá praticamente nulla;
- difficultá di manipolazione in sede chirurgica.

Un metodo efficace per superare tali svantaggi consiste nel ricoprire con uno strato di materiale ceramico impianti metallici. In tal modo la duttilitá e la resistenza al carico di rottura tipici dei materiali metallici vengono abbinate ai vantaggi specifici dei materiali ceramici.

Con particolare riferimento alle protesi cardiovascolari, poiché il carbonio pirolitico é attualmente il materiale artificiale dotato delle migliori proprietá di compatibilitá con il sangue, la sua applicazione come rivestimento di altri materiali normalmente utilizzati nelle tecnologie biomediche é di estremo interesse.

In pratica il carbonio pirolitico é tuttora l'unico materiale che consente la realizzazione di valvole cardiache meccaniche, che richiedono elevata biocompatibilitá ed elevata resistenza alla fatica ed all'usura. Come esplicitato nelle pagine precedenti, il carbonio pirolitico, in determinate condizioni di superficie, possiede un elevato grado di tromboresistenza ed un'elevata compatibilitá con gli elementi cellulari del sangue, provoca un'alterazione trascurabile delle proteine e dell'attivitá enzimatica del plasma e possiede un'elevatissima inertia chimica.

La biocompatibilitá del carbonio pirolitico col sangue é attribuita al fatto che sulla superficie si crea uno strato di adsorbimento di proteine senza che avvenga la modificazione della struttura molecolare che costituisce il primo stadio delle reazioni

che conducono alla formazione di trombi.

Per quanto riguarda le proprietà meccaniche e di resistenza all'usura, essenziali per l'applicazione della valvola cardiaca, il carbonio pirolitico mostra qualità eccezionali: durezza dell'ordine del diamante, carico a rottura elevato (paragonabile a quello di un acciaio) e bassa densità. Per tutti questi motivi è ormai invalso l'uso di depositare carbonio pirolitico su valvole cardiache e vasi sanguigni realizzati con altri materiali, aumentandone l'emocompatibilità.

3.1 Sistema a letto fluido

Il carbonio pirolitico può essere depositato su protesi già fabbricate con un sistema a letto fluido, a temperatura e pressione controllate, usando un idrocarburo gassoso come fonte di carbonio ed un gas inerte come vettore.

L'apparecchiatura consiste in un forno di pirolisi mantenuto ad alta temperatura (1000-2400°C). (Fig 3.1)

Un gas inerte, ad esempio elio, con la funzione di vettore ed una miscela composta di un idrocarburo gassoso, come metano, etano, propano, butano o acetilene, fluiscono attraverso un foro alla base del forno. Il calore opera la rottura dei legami chimici dell'idrocarburo, e libera atomi di carbonio. Gli atomi liberati entrano nella camera interna del forno e colpiscono le particelle bersaglio che sono mantenute in galleggiamento dal flusso di gas inerte. Il deposito degli atomi di carbonio risulta uniforme su tutta la superficie delle particelle bersagliate, dato che queste sono in continua rotazione intorno al loro baricentro. La struttura e le proprietà del carbonio pirolitico depositato sono principalmente influenzate dai seguenti fattori:

- temperatura di pirolisi;
- tempo di permanenza della miscela gassosa nella camera;
- superficie dei bersagli;
- composizione del gas.

Dal momento che una cristallizzazione disomogenea porta a materiali meno stabili, è di fondamentale importanza controllare attentamente la microstruttura del carbonio depositato.

È possibile introdurre altri materiali nel gas fluidizzato e depositarli con il carbonio. Per quanto riguarda i dischi delle valvole cardiache ed altre applicazioni che

richiedono resistenza all'abrasione, nella maggioranza dei casi si usa un 10-20% di silicio, che forma una specie di lega con il carbonio.

Meno frequentemente vengono introdotti elementi come Boro, Wolframio, Tantalio, Vanadio, Molibdeno, Zirconio e Titanio, che combinandosi con il carbonio, formano carburi che migliorano le proprietà meccaniche dello strato depositato, aumentandone in modo particolare la durezza e la resistenza all'usura.

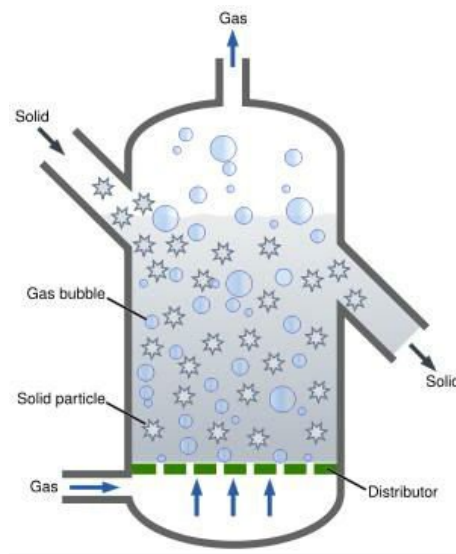


fig 3.1: *Sistema a letto fluido.*

La deposizione a letto fluido può essere applicata a materiali che rispondano a due requisiti fondamentali:

- possedere una temperatura di fusione superiore a quella necessaria al processo di pirolisi (generalmente 1500°C);
- possedere un coefficiente di dilatazione termica prossimo a quello del carbonio pirolitico.

Infatti, i problemi di carattere dilatometrico sono di minore importanza rispetto

alle altre misure, ma divengono importanti in occasione di associazioni fra materiali di diversa natura.

Per questi motivi, la tecnica é limitata al solo trattamento di pezzi in grafite.

Inoltre, l'oggetto bersaglio deve possedere dimensioni massime dell'ordine di pochi centimetri affinché il gas con la funzione di vettore sia in grado di farlo ruotare attorno al baricentro; il pezzo da trattare, infine, non deve possedere né forma complessa, né cavità in quanto tali caratteristiche impedirebbero la copertura di tutta la superficie dell'oggetto.

3.2 Sputtering catodico

Lo sputtering catodico é una tecnica capace di creare rivestimenti in carbonio su supporti sia metallici che polimerici ed é sviluppata per superare i limiti del sistema a letto fluido; infatti, le sue condizioni operative sono bassa temperatura e bassa pressione.

Questa tecnica prevede che l'oggetto da ricoprire venga posto in una camera a temperatura ambiente contenente un gas inerte, come ad esempio argon, a pressione ridotta, in tale situazione il pezzo viene bersagliato da microaggregati atomici in carbonio pirolitico.

Essi sono emessi da un catodo in carbonio pirolitico sottoposto ad un fascio di ioni positivi di Ar accelerati, generati da una scarica di elettroni prodotta da un filamento elettrico.

Lo strato di copertura presenta la stessa struttura di quella del carbonio pirolitico che costituisce il catodo. Questo tipo di carbonio é denominato ULTI carbon.

Questa tecnica permette di creare dei rivestimenti molto sottili (caratterizzati da uno spessore inferiore a 1 μm); pertanto risulta possibile modificare superficialmente i substrati senza variarne né la morfologia né le caratteristiche meccaniche, come ad esempio la flessibilità. Infatti una recente applicazione di questa tecnica riguarda il deposito di carbonio pirolitico sulla superficie di vasi sanguigni artificiali fabbricati con materiali polimerici. Lo strato di carbonio depositato é sufficientemente sottile da non interferire con la flessibilità dell'impianto al quale conferisce ottima emocompatibilità.

Il rivestimento, inoltre, risulta ben aderente al pezzo.

4 Protesi valvolari cardiache

La ricerca sulla sostituzione di valvole cardiache ha un'enorme importanza in quanto si stima che nel mondo vi siano oltre 300 000 sostituzioni annuali.

Si distinguono protesi valvolari:

- meccaniche composte principalmente da metallo e carbonio pirolitico;
- biologiche, che possono a loro volta essere distinte in *eterologhe*, ovvero composte da tessuto valvolare o pericardico bovino o porcino, e *autologhe*, cioè prelevate da cadavere umano.

Le protesi valvolari meccaniche hanno il vantaggio di un'elevata durabilità, ma presentano lo svantaggio di richiedere una terapia anticoagulante a vita; esse sono preferite nei soggetti più giovani, con un'aspettativa di vita superiore ai 10-15 anni. Il limite principale delle valvole biologiche, invece, è legato al possibile rigetto per effetto della risposta immunitaria del ricevente; esse, pertanto, devono essere decellularizzate per eliminare dalla matrice tutte le cellule del donatore. Il trattamento di decellularizzazione può però modificare considerevolmente le caratteristiche funzionali della matrice extracellulare, alterando drasticamente le proprietà biochimiche e biomeccaniche.

Per questa ragione, la durata media delle valvole biologiche, che pur non richiedono terapia anticoagulante, si aggira attorno ai 15 anni: processi degenerativi possono infatti insorgere a causa delle reticolazioni chimiche che sono necessarie per dare stabilità alle fibre di collagene dopo la decellularizzazione. La reticolazione è spesso ottenuta utilizzando glutaraldeide: un reagente non costoso, solubile in acqua, in grado di produrre reticolazioni stabili.

Il lento rilascio di glutaraldeide non reagita, presente nella matrice dopo il trattamento, può causare diversi problemi: citotossicità, risposta infiammatoria, calcificazione.

4.1 Il cuore e le valvole cardiache

Il cuore è composto da due pompe in serie, formate ciascuna da due cavità (gli atri ed i ventricoli) e munite di valvole unidirezionali (Fig 4.1). Le valvole impediscono il retroflusso del sangue dai ventricoli agli atri e dalle grosse arterie (polmonare ed aortica) ai ventricoli, mentre la giunzione fra grosse vene ed atri

non é protetta da valvole.

Nel cuore ci sono quattro valvole, la cui apertura e chiusura é in funzione della differenza di pressione ai due lati della valvola e permette al sangue di fluire in modo unidirezionale.

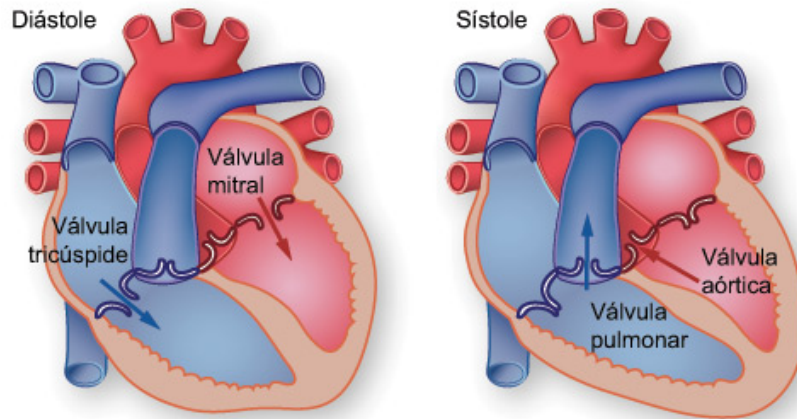


Fig 4.1: *Le quattro valvole cardiache durante diastole e sistole.*

Le due valvole atrioventricolari sono la valvola mitrale, situata tra l'atrio ed il ventricolo sinistro, e la valvola tricuspide, che invece garantisce l'unidirezionalità del flusso tra le due camere nel lato destro; sono rispettivamente formate da due e tre cuspidi.

Le due valvole semilunari sono: la valvola polmonare, che separa il ventricolo destro dal sistema polmonare, e la valvola aortica che é posizionata tra il ventricolo sinistro e l'aorta. Entrambe le valvole semilunari sono costituite da tre cuspidi a forma di coppa attaccate all'anello valvolare fibroso.

Durante la sistole ventricolare, le cuspidi non aderiscono alle pareti dell'aorta o dell'arteria polmonare, ma librano nel sangue rimanendo circa a metà strada tra la parete del vaso e la loro posizione di chiusura. Dietro le valvole semilunari dell'arteria polmonare e dell'aorta sono infatti presenti piccole tasche (seni di Valsalva), in cui si formano i vortici che impediscono alle cuspidi di aderire alle pareti dei vasi.

La migliore rappresentazione del cuore come pompa si ottiene dall'analisi degli eventi meccanici che caratterizzano il ciclo cardiaco (Fig 4.2). Tutto ciò che av-

viene tra un battito ed il successivo fa parte del ciclo cardiaco: in questo lasso temporale tutte le camere cardiache devono contrarsi, (sistole) e rilassarsi (diastole). Per il ventricolo sinistro, si fa in genere riferimento ad una figura che mostra, allineate sullo stesso asse dei tempi, le tracce della pressione atriale, della pressione ventricolare, del volume ventricolare, della pressione aortica, dell'elettrocardiogramma e del fonocardiogramma. Analoghe tracce possono riferirsi al ventricolo destro.

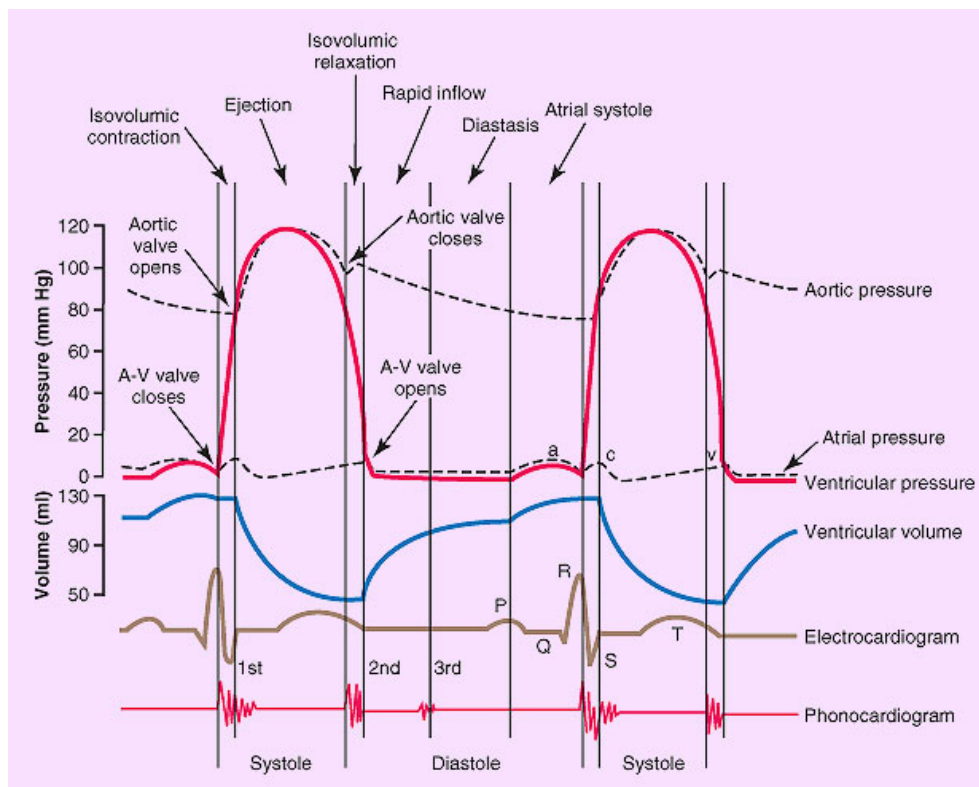


Fig 4.2: *Ciclo cardiaco.*

Dalla figura appare evidente l'andamento ciclico di tutti i fenomeni rappresentati e la possibilità di suddividere ciascun ciclo in fasi successive. Nella fase iniziale, momento terminale della diastole, atri e ventricoli sono rilassati, le valvole AV sono aperte, mentre quelle semilunari sono chiuse; il sangue affluisce agli atri e da questi circa il 70% raggiunge passivamente i ventricoli.

Il ciclo prosegue con la sistole atriale, durante la quale la muscolatura delle due camere superiori si contrae, permettendo la spinta del sangue residuo nei ventricoli.

Quando i ventricoli sono pieni di sangue e le valvole AV si chiudono, si entra nella fase di sistole ventricolare che può essere suddivisa in due momenti principali: la contrazione ventricolare isovolumetrica e l'eiezione ventricolare.

Contrazione isovolumetrica

Prima dell'inizio della sistole, la pressione ventricolare è molto bassa e il volume ventricolare è al suo massimo valore. Quando il ventricolo si contrae, la pressione sale rapidamente, ma il volume non varia: si ha la chiusura atrioventricolare; la valvola aortica, invece, non si è ancora aperta.

Eiezione

Quando la pressione ventricolare raggiunge e supera quella aortica, la valvola si apre ed ha inizio l'espulsione del sangue. Il volume del sangue si riduce dapprima rapidamente (eiezione rapida) e poi lentamente (eiezione lenta). La pressione ventricolare sale ancora, mantenendo un gradiente positivo rispetto alla pressione aortica finché non si riduce l'accelerazione del sangue. A questo punto la pressione comincia a diminuire, ed il gradiente ventricolo-aorta si inverte, ma la valvola rimane ancora aperta, per effetto dell'energia accumulata durante la prima parte della sistole. Questa fase prende il nome di protodiastole.

La pressione cade nel ventricolo, perché la sistole è terminata, e nell'aorta, perché il sangue procede nel letto circolatorio; quando la velocità di tale caduta è superiore nel ventricolo, si ha la chiusura della valvola aortica, seguita da una fase di diastole isovolumetrica, durante la quale la pressione ventricolare cade rapidamente, ma non vi è variazione di volume, perché la valvola atrioventricolare non è ancora aperta.

Il rilassamento termina quando la pressione nei ventricoli diventa minore di quella

atriale, cosa che provoca l'apertura delle valvole AV ed il riempimento dei ventricoli, inizialmente rapido per poi diventare lento ma continuo, in una fase chiamata diastasi.

Le malattie delle valvole cardiache, o valvulopatie, possono essere suddivise in due categorie:

- la stenosi, ovvero un'incompleta apertura della valvola, generalmente provocata dalla fusione delle cuspidi valvolari, che costringe il sangue a passare attraverso un orifizio piú piccolo della norma, che incrementa di conseguenza la pressione nella cavità a monte della valvola;
- l'insufficienza, ovvero un'incompleta chiusura valvolare che comporta un retroflusso sanguigno, ovvero la valvola chiusa non é in grado di garantire la completa separazione tra le camere cardiache o tra i ventricoli ed i vasi.

Molto spesso stenosi e insufficienza coesistono, in diversa misura, nella stessa valvola, realizzando la cosiddetta stenoinufficienza.

Le valvulopatie possono essere congenite, presenti cioè dalla nascita, o acquisite. Queste ultime possono essere di origine degenerativa, infettiva (endocarditi), o ischemica (in corso di infarto acuto del miocardio).

Il trattamento risolutivo delle valvulopatie é solitamente chirurgico. La terapia medica ha l'obiettivo di provvedere alla stabilizzazione clinica delle valvulopatie acute, o di controllare la progressione ed i sintomi delle valvulopatie a lenta evoluzione in modo di permettere al paziente di arrivare all'intervento chirurgico nelle migliori condizioni.

Al giorno d'oggi le tecniche chirurgiche si sono notevolmente evolute e spesso risulta possibile riparare la valvola senza doverla sostituire; tuttavia, qualora non sia possibile risolvere il problema si ricorre alla sostituzione mediante valvuloplastica.

4.2 Le valvole cardiache meccaniche

Le protesi valvolari meccaniche sono costituite da tre componenti principali: l'occlusore, ovvero la parte mobile della valvola, il cui movimento é generato dalla differenza di pressione a monte e a valle della valvola; l'alloggiamento, ovvero la struttura che guida e limita il movimento dell'occlusore; l'anello di sutura, ovvero

il punto di congiunzione tra le protesi ed i tessuti cardiaci.

La forma dell'occlusore caratterizza il diverso comportamento emodinamico delle protesi.

Lo sviluppo delle valvole cardiache meccaniche é in stretta relazione con lo sviluppo di materiali biocompatibili adatti alla loro fabbricazione. I materiali che costituiscono le valvole cardiache, infatti, devono soddisfare una serie di requisiti essenziali. Per esempio il materiale di cui sono costituiti i componenti deve: causare il minimo danno possibile alle cellule del sangue ed al tessuto endoteliale, dimostrare una buona resistenza all'usura meccanica, impedire deposizione di coaguli ed adsorbimento di componenti del sangue, avere le caratteristiche per non degradarsi nell'ambiente fisiologico, essere non trombogenico e non calcificante, essere adatto ai processi di sterilizzazione, minimizzare le reazioni avverse da parte dell'organismo.

Solamente alcuni materiali sono in grado di soddisfare tali requisiti. Nella Tabella 4.1 sono riportati alcuni materiali che sono stati utilizzati per le valvole cardiache.

Tabella 4.1: *Biomateriali utilizzati per i diversi componenti delle valvole.*

Componente	Materiale utilizzato
Alloggiamento	Titanio o Ti6Al4V, lega a base di cobalto, Carbonio pirolitico (LTI)
occlusore	Carbonio pirolitico (LTI), Gomme siliconiche, Poliacetali (Derlin), Poliolefine (UHMWPE)
Anello di sutura	Polipropilene, Politetrafluoroetilene(Teflon), Polietilene tereftalato (PET) (Dacron)

Il carbonio pirolitico nelle valvole cardiache venne utilizzato solamente alla fine degli anni '60 in lega con una piccola quantità di Silicio che garantiva una maggiore durezza e resistenza all'usura. Tale materiale veniva depositato sull'occlusore metallico sostituendo quello polimerico delle valvole a palla ingabbiata eliminando in tal modo i fallimenti associati alla degradazione dell'occlusore polimerico. Ulteriori variazioni e miglioramenti vennero effettuati negli anni '90 quando la Medical Carbon Research Institute introdusse carbonio pirolitico puro privo di Silicio: l'On-X carbon, che garantiva un'adeguata durezza e resistenza alla fatica.

Nel 1952 il Dottor Hufnagel eseguì il primo impianto di valvola aortica totalmente

meccanica; essa era costituita da una gabbia di plexiglass con occlusore a palla di polietilene.

L'impianto della prima valvola mitrale nella corretta posizione anatomica fu possibile nel 1960. La protesi, commercializzata dalla Starr-Edwards, era costituita inizialmente da una gabbia in acciaio inossidabile, poi sostituita da una lega cobalto (61-63%), cromo (25.5-29%), molibdeno (5-6%) e nichel (1.75-3.75%) denominata Stelite 21 (Fig 4.3). L'anello di sutura era in Teflon (Politetrafluoroetilene, PTFE), un materiale polimerico molto resistente. L'occlusore era una palla di silicone, arricchita in un secondo momento di solfato di bario per renderla radio-opaca. Dopo l'impianto la palla di silicone andava incontro a una rottura a causa dell'infiltrazione di fluidi corporei. Inoltre, questa protesi provocava turbolenza del flusso sanguigno e le sue dimensioni andavano ad interferire con le strutture anatomiche circostanti.

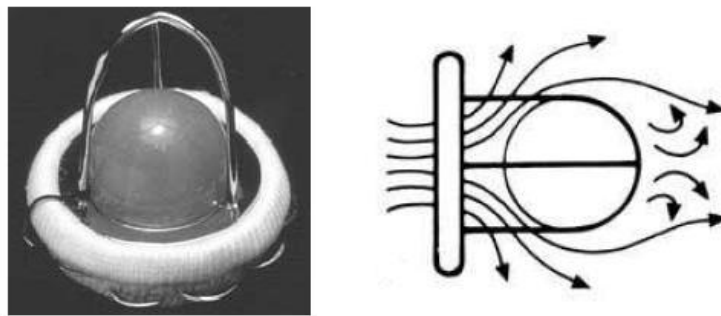


Fig 4.3: *Protesi valvolare a palla ingabbiata (sx) con relativo flusso ematico (dx).*

Nel 1967 venne commercializzata la prima valvola a singolo disco oscillante, ideata da Bjork-Shiley (Fig 4.4). La presenza di tale disco occlusore permise una riduzione della distorsione del flusso ematico: il disco ruotava grazie alla pressione sanguigna consentendo al sangue di fluire centralmente. I materiali utilizzati erano il Teflon per l'anello di sutura, la lega Stelite 21 per l'alloggiamento e il Derlin, nome commerciale del polimero polioossimetilene, per il disco; a causa di alcuni cedimenti degli occlusori, il Derlin venne poi sostituito con il carbonio pirolitico. Le dimensioni e le caratteristiche della valvola hanno subito un significativo miglioramento.

Nel 1977, la St. Jude Medical Inc. (Fig 4.5) introdusse le prime valvole bileaflet; l'occlusore è costituito da due emidischi rivestiti di carbonio pirolitico che, nella

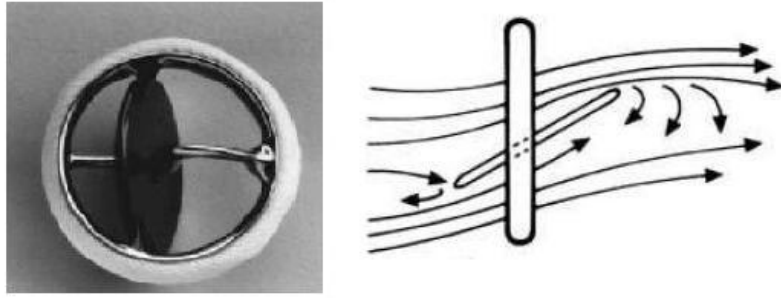


Fig 4.4: *Protesi valvolare con singolo disco oscillante (sx) e relativo flusso ematico (dx).*

posizione di apertura assicurano interferenza minima con il flusso sanguigno e di conseguenza caratteristiche vicine alle fisiologiche. A valvola chiusa la pulizia dei cardini della valvola é garantita da un leggero rigurgito, limitando la possibilità di formazioni trombotiche. Anche l'alloggiamento é rivestito di carbonio pirolitico.

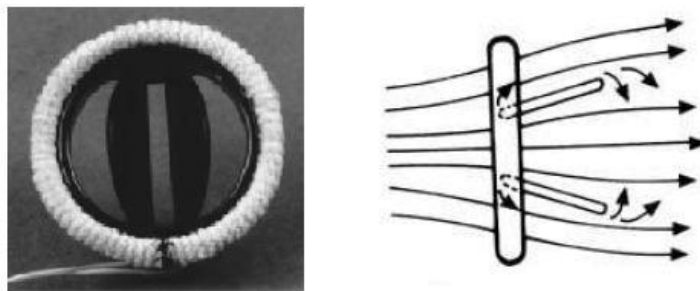


Fig 4.5: *Protesi valvolare bileaflet (sx) con relativo flusso ematico (dx).*

Le protesi valvolari cardiache sono a stretto contatto con il flusso sanguigno, pertanto, il problema principale di questi componenti protesici é la formazione di trombi.

Come già affermato, infatti, non appena il sangue riconosce un tessuto diverso da quello dell'endotelio sano, innesca il processo della coagulazione. Ciò comporta la formazione di coaguli che a loro volta possono generare emboli che fluiscono nel circolo sanguigno e che, pertanto, sono potenzialmente pericolosi in quanto posso-

no ostruire vasi sanguigni.

Per questo motivo i pazienti portatori di valvole cardiache meccaniche sono sottoposti ad una terapia anticoagulante.

Inoltre, come già affermato nei Capitoli precedenti, per minimizzare tali pericoli trombogenici si ricorre alla deposizione di un sottile strato di carbonio pirolitico che risulta essere il materiale meno trombogenico fino ad oggi conosciuto.

Le valvole meccaniche cardiache bileaflet ricoperte di un sottile strato di carbonio pirolitico, infatti, hanno avuto un enorme successo in ambito clinico in quanto associano alle buone proprietà di emocompatibilità del materiale un flusso ematico che attraversa la valvola molto simile a quello della valvola nativa.

Il fatto di avere significativamente migliorato l'emodinamica del flusso sanguigno attraverso la valvola risulta essere un enorme progresso; infatti, uno degli inconvenienti delle valvole cardiache meccaniche è che nella fase di chiusura gli occlusori non aderiscono perfettamente, pertanto si ha un retroflusso sanguigno che talvolta risulta essere anche il doppio rispetto a quello delle valvole cardiache native (nel caso della valvola aortica 10-12 ml invece dei 5 ml della valvola originale). Inoltre, quando le componenti cellulari del sangue attraversano la protesi subiscono un flusso innaturale che comporta delle maggiori sollecitazioni (Fig 4.6).

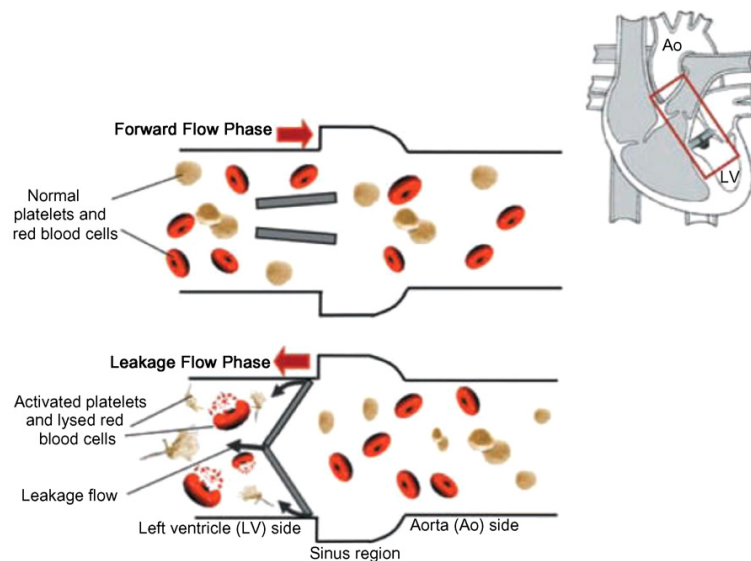


Fig 4.6: *Sopra: flusso sanguigno durante l'apertura della valvola; sotto: cellule danneggiate dalla valvola meccanica durante il retroflusso sanguigno.*

Molti pazienti sottoposti ad un intervento di sostituzione valvolare cardiaca, riportano problematiche relative a deposizione trombotica. Tali osservazioni hanno portato a formulare l'ipotesi che le piastrine vengano attivate anche attraverso delle sollecitazioni meccaniche. Pertanto sono stati svolti numerosi tentativi per comprendere meglio l'associazione di tali dati oggettivi e l'attivazione piastrinica dovuta al danneggiamento di quest'ultime, tuttavia non é ancora stata individuata alcuna relazione tra causa ed effetto.

Infatti, a causa della complessità dei fenomeni coinvolti, risulta difficile individuare un modello che possa riprodurre tali condizioni per comprenderne meglio il meccanismo; dunque l'aspetto della coagulazione delle valvole cardiache meccaniche non é ancora stato completamente ottimizzato, tanto che i pazienti sono sottoposti ad una terapia anticoagulante a vita.

Un modello che cerca di individuare la relazione tra l'attivazione delle piastrine e ed il loro danneggiamento dovuto ad uno sforzo meccanico é stato identificato attraverso una serie di esperimenti per esaminare dove le piastrine attivate tendono ad aggregarsi per formare emboli. In tale esperimento, un numero pari a 3960 di particelle idealizzate come piastrine sono state rilasciate in quattro fasi diverse del ciclo a distanza di 2mm a monte della valvola. Le tracce di tali particelle sono state monitorate nel corso dell'intervallo di tempo tra l'iniezione e la fine della sistole.

Per rappresentare la complessa dinamica di tale fenomeno, sono stati studiati i diversi valori dell'attivazione piastrinica in corrispondenza delle diverse posizioni dell'orifizio (Fig 4.7) e delle diverse fasi del flusso sanguigno attraverso la valvola (Fig 4.8).

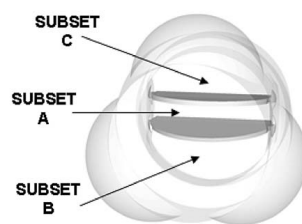


Fig 4.7: *Denominazione delle tre regioni dell'orifizio valvolare.*

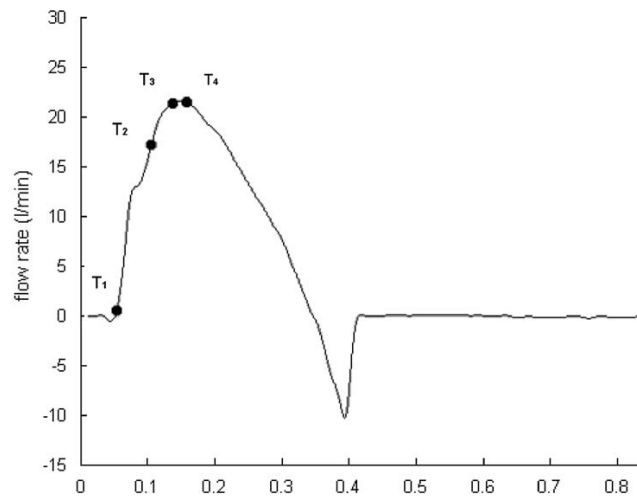


Fig 4.8: *Forma d'onda del flusso in un ciclo cardiaco.*

La figura 4.9 mostra il livello di attivazione piastrinica medio calcolato durante le diverse fasi del flusso sanguigno: esso presenta un andamento decrescente dalla fase T1 alla fase T4, inoltre da tali osservazioni risulta che le piastrine che passano attraverso il centro dell'orifizio (zona A) durante la fase di inizio della sistole (T1) sono caratterizzate da un tasso di attivazione maggiore rispetto alle zone B e C, mentre risulta minore rispetto alle zone B e C nei tempi T2, T4.

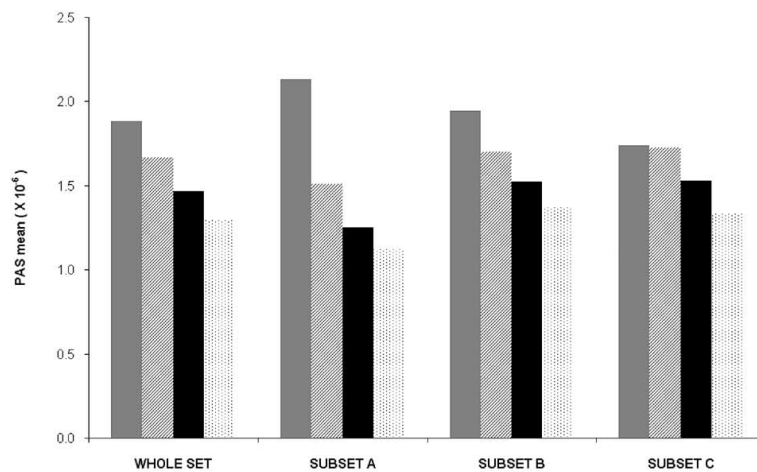


Fig 4.9: *Attività piastrinica nei diversi setti valvolari.*

L'attività piastrinica é correlata al tempo di esposizione allo sforzo; dunque é mol-

to piú probabile che siano attivate le piastrine iniettate al tempo T_j rispetto quelle iniettate al tempo T_{j+1} dato che sono state osservate tutte le piastrine fino alla fine della sistole; tale fatto rende difficile il confronto dell'attività piastrinica durante le diverse fasi del ciclo e, dunque, l'interpretazione dei risultati sperimentali. Il grafico che segue (Fig 4.10) permette di superare questo limite tramite la rappresentazione dell'attivazione piastrinica in funzione delle diverse fasi del ciclo. Il diagramma permette di valutare l'intervallo di tempo che le piastrine impiegano per raggiungere uno specifico valore di attivazione per ciascun istante di attraversamento dell'orifizio. Si osserva che per raggiungere il 40% della massima attività piastrinica raggiunta in un ciclo cardiaco, le piastrine che attraversano la valvola all'istante T_1 impiegano circa 87 ms, mentre quelle che attraversano la valvola agli istanti T_2 , T_3 e T_4 necessitano di un intervallo rispettivamente di 77, 75 e 75 ms.

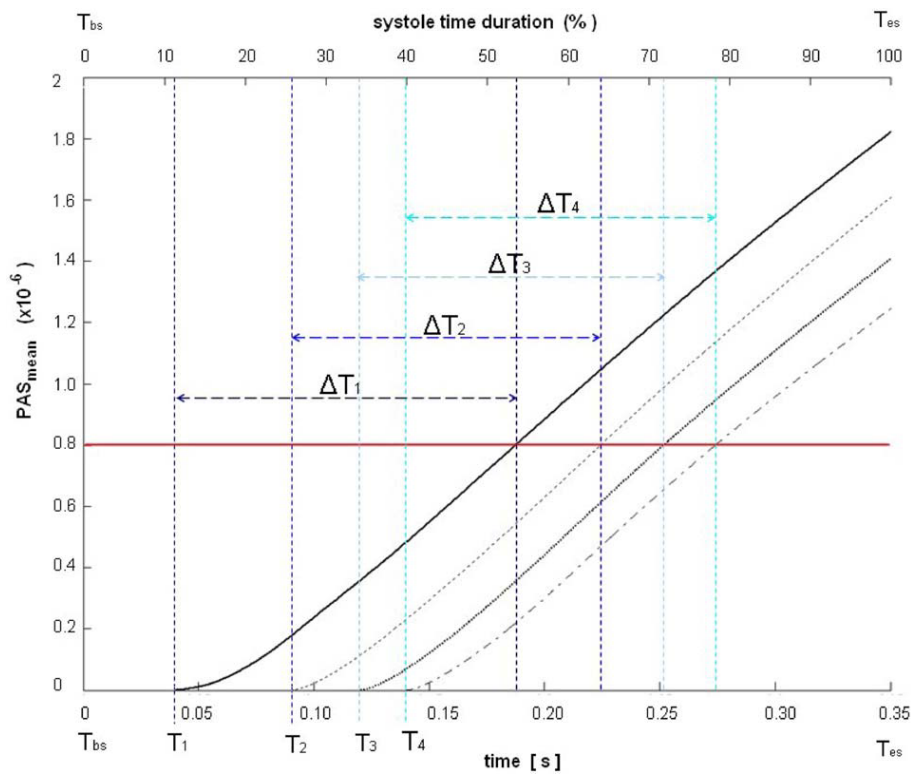


Fig 4.10: Metodo grafico che permette di evidenziare la dipendenza dell'attività piastrinica dalle fasi del ciclo cardiaco.

In conclusione, queste osservazioni suggeriscono che, nell'ipotesi che le piastrine vengano attivate a causa di uno sforzo meccanico che ne comporta il danneggiamento, la loro attivazione é in funzione della fase del ciclo cardiaco in cui attraversano la valvola; infatti, la velocità di attivazione delle piastrine che passano attraverso l'orifizio della valvola durante l'inizio della sistole é inferiore rispetto alla fase di picco e di decelerazione. Da questi risultati si formula l'ipotesi che le piastrine che attraversano la valvola durante la fase di picco della sistole sostengano un carico maggiore rispetto a quelle che sono emesse all'inizio della sistole, considerando lo stesso tempo di residenza nel campo di flusso della MHV.

Inoltre si ritiene che in questi fenomeni giochino un ruolo fondamentale anche la velocità e la variazione del campo di moto del flusso sanguigno in quanto in corrispondenza delle MHV si formano dei vortici che provocano la formazione di zone di tensione. Tali regioni sottopongono le piastrine ad elevati sforzi e promuovono le condizioni per la loro aggregazione.

4.3 Cricche nel carbonio pirolitico

Tutti i materiali, una volta sollecitati, manifestano in modo piú o meno esteso un comportamento elastico, ovvero si deformano all'applicazione della sollecitazione e recuperano immediatamente la forma iniziale al cessare dello sforzo.

L'elasticità del materiale é l'espressione della forza dei legami chimici che lo costituiscono; nei materiali ceramici, la rigidità dei legami ionici e covalenti si riflette in un modulo elastico che generalmente risulta superiore rispetto a quello dei metalli. I ceramici sono, infatti, costitutivamente fragili, non avendo alcuna possibilità di deformazione plastica dato che i reticoli cristallini sono caratterizzati da una grande resistenza al movimento delle dislocazioni.

Con il termine fragilità si fa riferimento alla frattura: la frattura fragile, tipica dei materiali ceramici, si verifica in campo elastico e quindi non é preceduta da alcuna deformazione plastica.

Ogni processo di frattura inizia con la formazione, nel pezzo soggetto a sforzo, di fenditure microscopiche dette cricche, e procede attraverso la loro propagazione. Si può osservare che un materiale ceramico sottoposto ad uno sforzo per un certo tempo arriva a rottura: se lo sforzo non é aumentato, significa che é aumentata la lunghezza della cricca piú severa, che ha quindi manifestato un fenomeno di accrescimento subcritico.

In corrispondenza di difetti, nel materiale le tensioni risultano essere non omo-

genee: su scala atomica il carico applicato é amplificato all'estremitá di micro cricche, intagli, rigature superficiali, che sono denominati punti di intensificazione delle tensioni. L'entitá dell'amplificazione delle tensioni dipende dalle dimensioni delle cricche, dall'orientazione e dalla geometria.

Nella frattura fragile, come quella del carbonio pirolitico, l'estensione delle cricche, una volta che queste hanno raggiunto una dimensione critica, é rapidissima ed avviene spontaneamente, senza richiedere un ulteriore sforzo applicato. Un gruppo di ricercatori ha sviluppato un modello che utilizza le valvole St. Jude bileaflet per studiare la propagazione di cricche nel carbonio pirolitico ed hanno riportato la crescita della lunghezza di una cricca in funzione del numero di cicli. Nella Figura 4.11 sono riportati due esempi di cricche con una lunghezza iniziale di 35 μm e 170 μm .

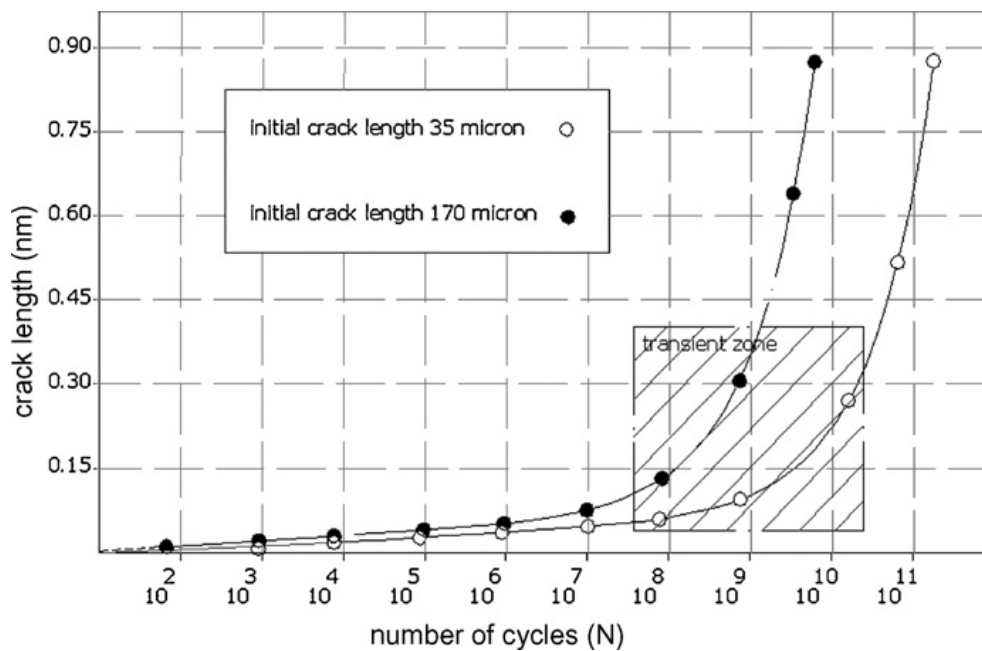


Fig 4.11: Propagazione di cricche in funzione del numero di cicli per due lunghezze iniziali differenti. Nella "transient zone" si osserva un sensibile aumento della lunghezza delle cricche.

I risultati di tali sperimentazioni dimostrano che se la lunghezza iniziale della cricca é inferiore ai 35 μm , allora la prospettiva di vita della valvola risulta superiore

ai sessant'anni (circa $2.2 \cdot 10^9$ cicli), ma se la lunghezza iniziale della cricca é superiore ai $170 \mu\text{m}$ l'affaticamento del leaflet é tale da garantire una prospettiva di vita inferiore ai 2 anni e mezzo (circa $9.1 \cdot 10^7$ cicli). La prospettiva di vita é definita in termini di tempo e numero di cicli necessari alla cricca di lunghezza massima di raggiungere una dimensione critica; essi sono valutati tramite relazioni velocità di frattura-sforzo applicato.

In un elemento strutturale soggetto ad una sollecitazione di fatica monoassiale, la cricca si propaga in direzione ortogonale alla sollecitazione, con velocità legata in generale alle caratteristiche del materiale. Valutazioni statistiche su una vasta campionatura possono essere condotte, sia in aria che in soluzione, usando comuni apparecchiature per la resistenza alla flessione.

Qui di seguito sono riportate altre aspettative di vita del carbonio pirolitico in funzione della lunghezza iniziale delle cricche localizzate ai bordi del leaflet e sotto le peggiori condizioni fisiologiche di battito cardiaco:

- per una cricca con una lunghezza iniziale di $43 \mu\text{m}$, i cicli di fatica previsti prima di arrivare al fallimento sono $1,4 \cdot 10^{10}$,
- per una cricca lunga $128 \mu\text{m}$ il fallimento ha luogo in tempi rapidi,
- per una cricca di lunghezza iniziale di $40 \mu\text{m}$ si prevedono altri $2.3 \cdot 10^9$ cicli di fatica che corrispondono ad una prospettiva di vita di 63 anni.

La microscopia a scansione elettronica di valvole espantate ha permesso di osservare aree confinate della superficie dei leaflet caratterizzate da erosione, che possono essere attribuite ad una combinazione di forze dovute alla cavitazione. La cavitazione venne presa in considerazione per la prima volta per le valvole cardiache meccaniche negli anni ottanta, quando una serie di valvole bileaflet della Edwards-Duromedics fallirono e, successivamente, vennero ritirate dal mercato.

La cavitazione si verifica quando la pressione del fluido scende al di sotto della sua pressione allo stato di vapore causando bolle di gas; se tali bolle si verificano nelle vicinanze di una superficie solida, la risultante variazione del campo di moto che viene a formarsi a livello microscopico é una delle cause principali dei danni in superficie.

Tale incidente é stato osservato in esperimenti in vitro e clinicamente verificato in valvole danneggiate espantate. Infatti, nel momento in cui una bolla collassa nei pressi di una superficie solida e si muove vicino a quest'ultima, essa modifica la

sua originale forma sferica in una simile ad un cuore orientato verso la superficie del solido (Fig 4.6); questa forma particolare comporta la formazione dell'effetto jet da parte del flusso sanguigno in prossimitá della superficie del solido, la cui massima velocità stimata in condizione fisiologiche normali é nel range di 72-81 m/s.

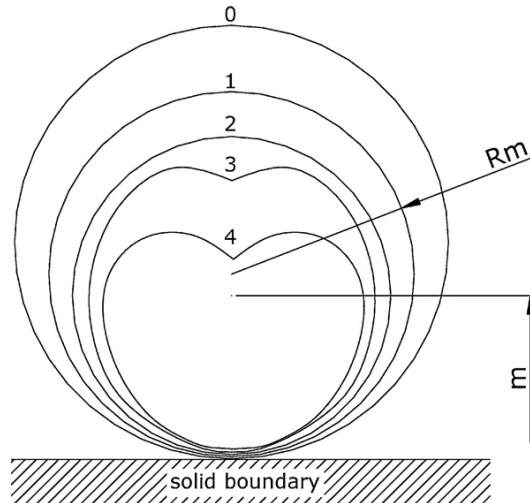


Fig 4.12: *Collasso di una bolla di cavitazione su una superficie solida: R_m é il raggio della bolla che varia durante il collasso; m é la distanza tra il centro della bolla e la superficie solida che si assume costante.*

Si ritiene che la propagazione delle cricche sia strettamente correlata all'effetto della cavitazione, infatti la crescita della cricca, oltre che a causa dell'aumento del numero di cicli, può essere dovuta anche alla presenza di forze esterne variabili, come quella generata dall'implosione della bolla.

Inoltre, é stato dimostrato che il fallimento delle valvole é per lo piú dovuto alla presenza di cricche al bordo del leaflet piuttosto di quelle situate al centro di quest'ultimo.

4.3.1 Case Report: le valvole Tri-Technologies

Le Tri-Technologies erano protesi valvolari cardiache prodotte in Brasile che, in seguito ad alcuni fallimenti, vennero ritirate dal commercio. L'incidenza riportata dei casi di fallimenti di tali valvole, infatti, risultó superiore al 10%, che rappresenta un rischio clinicamente inaccettabile.

Le valvole cardiache Tri-Technologies (Fig 4.9) venivano prodotte a partire da un unico pezzo di carbonio pirolitico. Nella posizione di apertura i leaflet raggiungevano gli 85°, inclinazione che, secondo i progetti, garantiva la minimizzazione della turbolenza del flusso sanguigno; due perni mantenevano gli emidischi nell'anello orifiziaie, il quale era rinforzato da un anello metallico. L'anello di sutura, costituito da poliestere, era ricoperto di un sottile strato di carbonio pirolitico in entrambe le superfici, prossimale e distale.

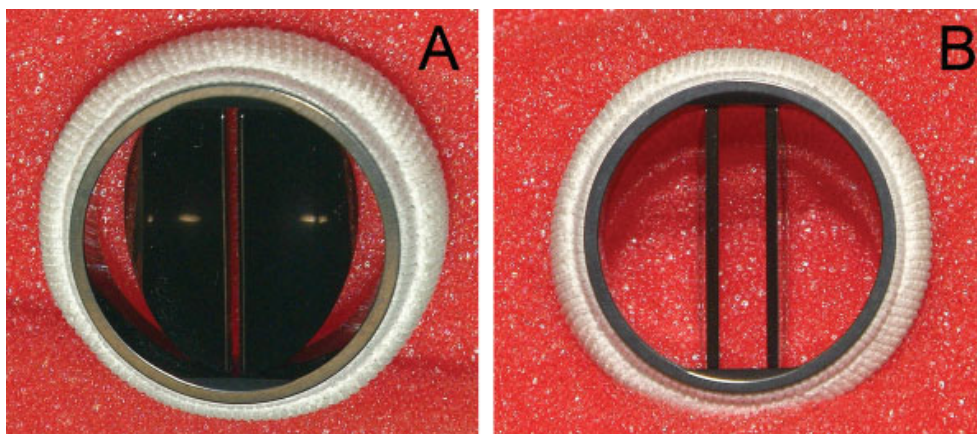


Fig 4.13: *Protesi valvolari Tri-Technologies; A) leaflet in posizione di chiusura; B) leaflet in posizione di apertura.*

Tra il novembre del 2000 e il febbraio del 2002, nell'azienda ospedaliera di Padova vennero impiantate 36 valvole Tri-Technologies in 34 pazienti e furono registrate 2 complicazioni causate dalla fuoriuscita di un leaflet. Nel primo caso, un uomo di 52 anni sottoposto ad un intervento di sostituzione valvolare aortica, morí 10 giorni dopo l'intervento ed il leaflet venne rinvenuto nell'aorta toracica durante

l'autopsia. Il secondo paziente venne sottoposto ad un urgente sostituzione della protesi valvolare mitrale a distanza di 20 mesi dal primo impianto; durante tale intervento l'emidisco fuoriuscito dall'anello orifiziale venne ritrovato nell'aorta addominale.

In entrambe le situazioni é stata riscontrata un' evidente asimmetria della distanza tra la base dei leaflet ed i perni, come si nota dalla Figura 4.14.

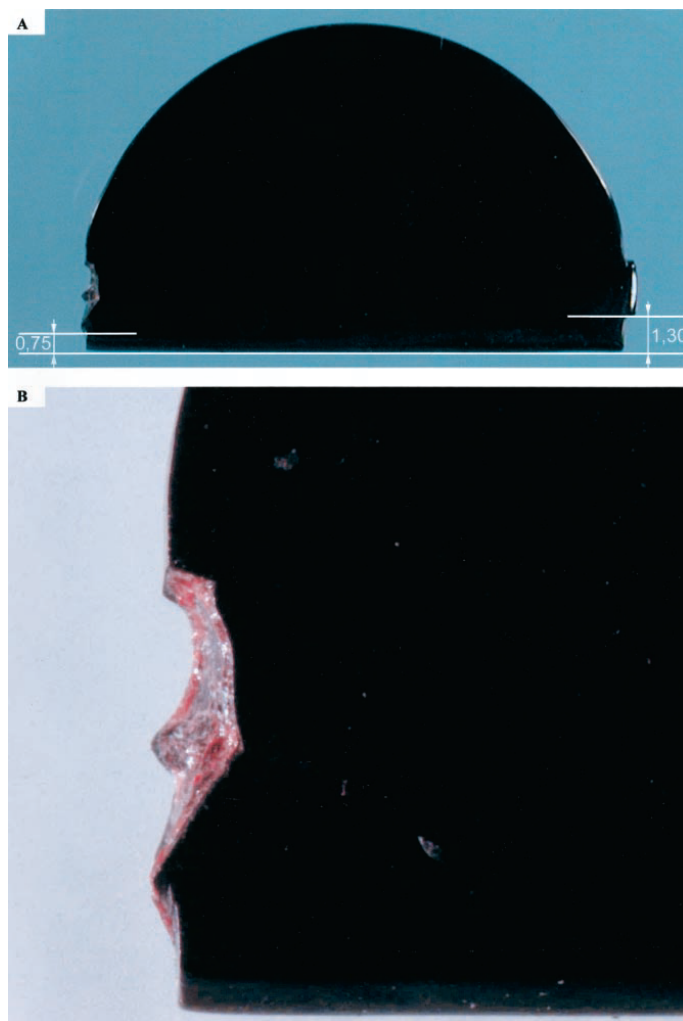


Fig 4.14: Leaflet fratturato e rinvenuto nell'aorta toracica con evidente asimmetria della distanza tra i perni e la base dei leaflet.

Cause del fallimento

Analisi morfologiche, radiografie (Fig 4.15) e microscopia a scansione elettronica di altre valvole Tri-Technologies fallite espianate rivelarono che la fuoriuscita dei leaflet era stata provocata da una frattura.

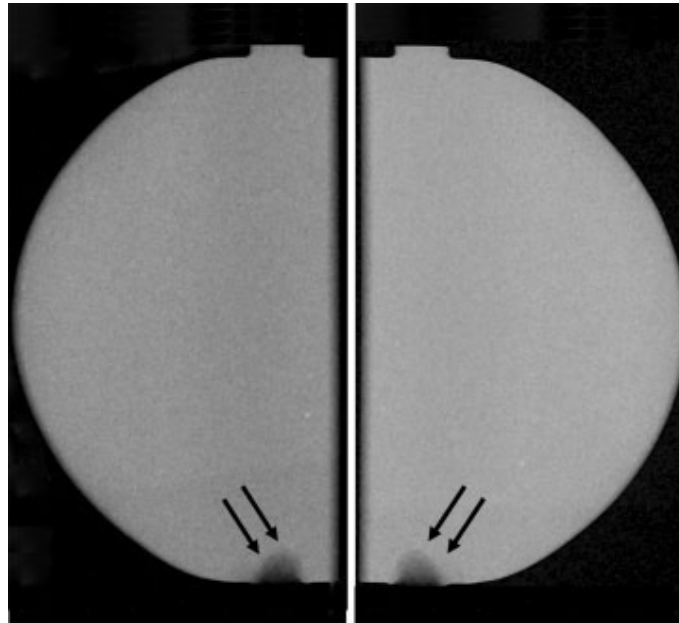


Fig 4.15: *Immagine a raggi X della frattura dei leaflet.*

L'analisi a raggi X permette di osservare che tale frattura é avvenuta in corrispondenza della base del leaflet ed il perno che mantiene l'emidisco nell'anello orifiziale. Si ritiene che la causa principale di tale frattura sia dovuta alla distanza asimmetrica tra i perni e la base dei leaflet: tale asimmetria ha comportato una scorretta apertura e chiusura della valvola, provocando effetti di usura in corrispondenza della base del leaflet.

Con altre analisi, infatti, é stato possibile osservare delle grandi scheggiature sul lato di outflow del punto di frattura, che, invece, risultano essere meno significative sul lato di inflow. Questo fatto dimostra la presenza di un'eccessiva usura durante la fase di chiusura della protesi valvolare. (Fig 4.16 e Fig 4.17)

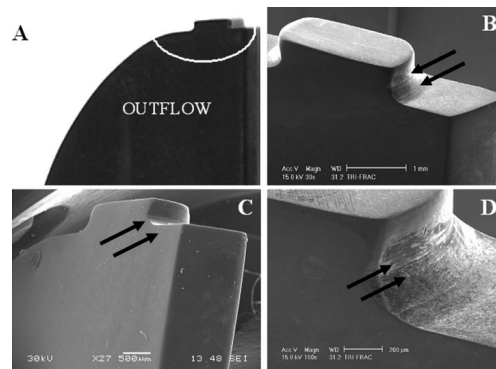


Fig 4.16: *Immagini relative agli effetti dell'usura nella superficie di inflow del leaflet.*

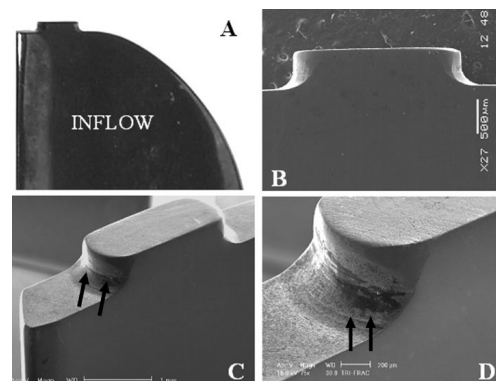


Fig 4.17: *Immagini relative agli effetti dell'usura nella superficie di outflow del leaflet.*

La frattura (Fig 4.18 e Fig 4.19), dunque, é stata causata da un'eccessiva usura associata a zone caratterizzate da elevata fatica ciclica e, probabilmente, sottoposte ad effetti di cavitazione con conseguente propagazione di cricche. I lati di inflow e di outflow, infatti, erano sottoposti alla pressione del flusso sanguigno che aumentava durante la fase di chiusura del leaflet: la frattura si é originata nelle zone di massima tensione per poi propagarsi.

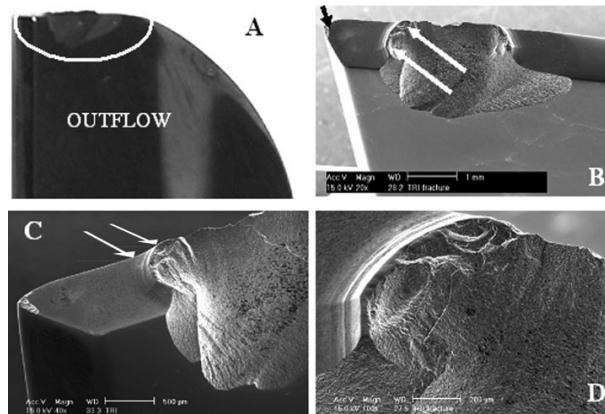


Fig 4.18: Immagini relative alla frattura nella superficie di outflow del leaflet.

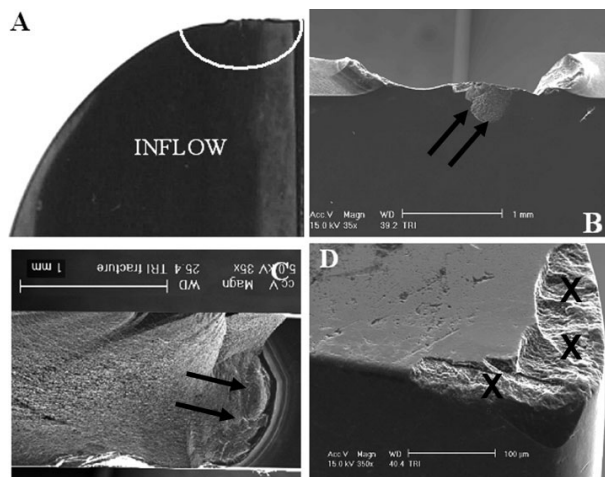


Fig 4.19: Immagini relative alla frattura nella superficie di inflow del leaflet.

Ciò che differenziava le valvole Tri-Technologies dalle altre, era il fatto che esse venivano prodotte da un pezzo monolitico di carbonio e modificate con successive lavorazioni ottenendo la dimensione e la forma richieste dall'applicazione. Tuttavia in strutture costituite da un unico materiale risulta più difficile fermare la propagazione delle cricche a differenza delle strutture multistrato in cui la crescita di queste risulta più rara e difficile.

In aggiunta, le valvole in considerazione contenevano un carbonio pirolitico differente dal noto "Pirolite" caratterizzato da una lunga storia di successi clinici; il carbonio utilizzato era prodotto in Russia ed era impiegato in lega con il Boro,

ottenendo un materiale anisotropo a differenza del "Pirolite", noto per le sue proprietà isotrope.

In conclusione, si ritiene che i fenomeni che hanno provocato il fallimento delle protesi valvolari cardiache in considerazione siano i seguenti:

1. la cavitazione, la quale provoca la formazione di bolle nel liquido seguite da un collasso provocando la formazione di un microjet che, a lungo andare, può portare all'erosione ed infine alla frattura;
2. zone di microporosità del carbonio pirolitico che potrebbero diminuire la durabilità;
3. eccessivi margini di tolleranza (Fig 4.20) che causano importanti asimmetrie provocando zone soggette a fatica anomala.

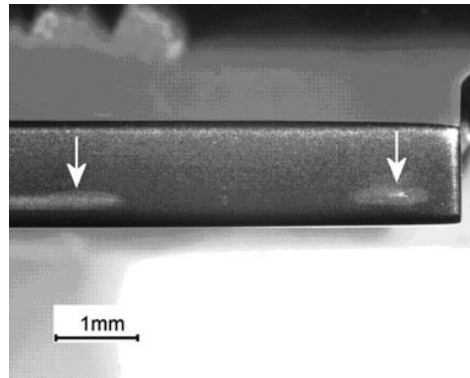


Fig 4.20: *Errore nei margini di tolleranza nei perni dei leaflet delle valvole Tri-Technologies.*

Il rispetto della tolleranza dei limiti di incidenza del fallimento di impianti biomedicali, in particolari quelli relativi a funzionalità cardiache, è divenuto più severo e stringente negli ultimi decenni. Ciò che solleva importanti questioni nel caso esaminato è il fatto che i fallimenti non sono stati dovuti a errori di progettazione o ai materiali utilizzati, bensì alle tecniche di lavorazione; inoltre, le protesi valvolari cardiache considerate, sono state approvate da enti notificati ottenendo il marchio CE. Il fallimento di quest'ultime evidenzia il divario presente tra i protocolli per l'approvazione e l'esperienza clinica e che, nonostante i considerevoli miglioramenti

sulla manifattura e i controlli dei prodotti, i potenziali rischi di fallimento esistono tuttora.

5 Conclusioni

In questa relazione sono stati valutati diversi aspetti del carbonio pirolitico. Il successo clinico di tale materiale é sostanzialmente dovuto alla sua emocompatibilitá che si é rivelata una soluzione ai problemi correlati a formazioni trombotiche. Tuttavia, nonostante siano stati superati molti limiti, i pazienti portatori di valvole cardiache meccaniche sono tuttora sottoposti a terapia anticoagulante a vita; pertanto le ricerche sono ancora volte al miglioramento di tali dispositivi. Per miglioramento non si intende solamente l'identificazione di un materiale biocompatibile, ma anche il perfezionamento dal punto di vista funzionale del dispositivo. Infatti, in questo tipo di protesi risulta importante anche l'emodinamica del flusso sanguigno, dato che alcuni studi sostengono l'ipotesi che gli elementi cellulari si possano danneggiare qualora sottoposti ad uno sforzo e che regioni di ristagno del flusso incrementino il contatto tra i componenti del sangue attivando le piastrine. Inoltre, le valvole cardiache sono progettate per una vita di almeno venticinque anni, ovvero 10^9 cicli, il che richiede al materiale stesso un'adeguata resistenza a fatica. Le proprietá meccaniche del carbonio pirolitico e le sue caratteristiche isotrope conferiscono a tale materiale adeguati requisiti strutturali per le suddette applicazioni. Alcuni studi condotti negli USA hanno richiamato l'attenzione su operazioni di manipolazione delle valvole, durante le quali si possono indurre cricche che possono poi propagare in intervalli di tempo assai brevi. Valvole cardiache artificiali, infatti, hanno dato luogo talvolta a rotture inaspettate richiamando l'attenzione su tale problematica sotto l'impulso degli organi di normazione. In conclusione, il carbonio pirolitico risulta tutt'ora il biomateriale piú utilizzato nelle valvole cardiache meccaniche sia grazie alle sue proprietá di emocompatibilitá sia per le proprietá strutturali, in particolar modo grazie alla deposizione tramite lo sputtering catodico che permette di creare rivestimenti molto sottili modificando superficialmente i substrati senza variarne morfologia e caratteristiche meccaniche. Tuttavia, i problemi correlati all'emodinamica del flusso ed alla propagazione delle cricche innescate dalla lavorazione degli apparecchi suggeriscono una continua ricerca nel campo delle valvole cardiache.

Riferimenti bibliografici

- [1] *William Brown e Thomas Poon*, Introduzione alla chimica organica, 2005, Edises
- [2] *Petrucci, Harwood e Herring*, Chimica generale: Principi e Moderne Applicazioni, 2004, Piccin-Nuova Libreria
- [3] www.azom.com
- [4] *Andrea Bagno, Carlo Di Bello*, Interazione tra biomateriali e tessuti, 2009, Patron Editore
- [5] *John G Webster*, Encyclopedia of medical devices and instrumentation, 2006, Wiley-Interscience
- [6] *Carlo Di Bello*, Biomateriali, 2005, Patron Editore
- [7] *Seeram Ramakrishna, Murgan Ramalingam, T. S. Sampath Kumar, Winston O. Soboyejo*, Biomaterials, 2010, CRC Press
- [8] *Paolo Giusti e Roberto Fumero*, Biomateriali: dalla ricerca di base all'applicazione clinica, 1985, Patron Editore
- [9] *Joseph D. Bronzino*, Biomedical Engineering Fundamental, 2006, Taylor and Francis
- [10] *Riccardo Pietrabissa*, Biomateriali per protesi ed organi artificiali, 1966, Patron Editore
- [11] *Antonio Ravaglioli e Adriano Krajewski*, Bioceramica e corpo umano, Aspetti scientifici, tecnologici ed applicativi, 1984, Faenza Editrice
- [12] *Enzo Belardinelli, Guido Valli e Carlo Marchesi*, Bioingegneria del sistema cardiovascolare, 1987, Patron Editore
- [13] *John K-J Li*, Dynamics of the vascular system, 2004, World Scientific Publishing co. Pte. Ltd.
- [14] *Hadi Mohammadi e Kibret Mequanint*, Prosthetic aortic heart valves: Modeling and design, Medical Engineering and Physics, 2011, 33

- [15] *Luigi Caligaris, Stefano Fava e Carlo Tommasello*, Manuale di meccanica, Hoepli, 2006
- [16] *Changfu Wu, Bruce A. Herman, Stephen M. Retta, Lawrence W. Grossman, Jia-shing Liu and Ned H. Hwang*, On the Closing Sounds of a Mechanical Heart Valve, *Annals of Biomedical Engineering*, 2005, 33
- [17] *Tomaso Bottio, Dino Casarotto, Gaetano Thiene, FRCP; Luca Caprili, Analisa Angelini, Gino Gerosa*, Leaflet Escape in a New Bileaflet Mechanical Valve TRI Technologies, *Circulation*, 2003, 107
- [18] *Hongbo Zhang, Xiaoyan Deng, Tomas Francisco Cianciulli, Ze Zhang, Daniel Chappard, Jorge Alberto Lax, Maria Cristina Saccheri, Hector Jorge Redruello, Jorge Luis Jordana, Horacio Alberto Prezioso, Martin King, Robert Guidoin*, Pivoting System Fracture in a Bileaflet Mechanical Valve: A Case Report, *Journal of biomedical materials research part B: applied biomaterials*, 2009, 90(2)
- [19] *Bernardo Enrico, Scarinci Giovanni*, Lezioni del corso Scienza e Tecnologia dei materiali per Ingegneria Meccanica e Meccatronica
- [20] *Caliandro Alberto*, Effetto di intaglio e propagazione della cricca corta, tesi di laurea di primo livello in Ingegneria Gestionale, Università di Padova, 2011-2012
- [21] *Umberto Morbiducci, Raffaele Ponzini, Matteo Nobili, Diana Massai, Franco Maria Montevecchi, Danny Blueinstein, Alberto Redaelli*, Blood damage safety of prosthetic valves. Shear-induce platelet activation and local flow dynamics: a fluid-structure interaction approach, *Journal of biomechanics*, 2009, 42
- [22] *Palma Francesca*, Classificazione funzionale di valvole cardiache meccaniche attraverso fonocardiografia ad ultrasuoni, tesi di laurea magistrale in Bioingegneria, Università di Padova, a.a. 2010-2011
- [23] *Cambi Andrea*, Classificazione di formazioni trombotiche su valvole cardiache meccaniche bileaflet, tesi di laurea specialistica in Bioingegneria, Università di Padova, a.a. 2010-2011