



**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA**



**DIPARTIMENTO
DI INGEGNERIA**

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

**PROTESI VALVOLARI CARDIACHE: ANALISI DELLE OPZIONI
ATTUALI E PROSPETTIVE DI SVILUPPO DI MATERIALI
INNOVATIVI**

Relatore: Prof. Emanuele Luigi Carniel

Laureanda: Giorgia Famiglietti

ANNO ACCADEMICO 2023/2024

29 SETTEMBRE 2023

Indice

Abstract.....	5
Capitolo 1: L'apparato cardiovascolare.....	7
1.1 Anatomia del cuore.....	7
1.2 La parete cardiaca.....	8
1.3 Potenziale d'azione.....	9
1.4 Ciclo cardiaco.....	10
1.5 Valvole cardiache.....	12
Capitolo 2: Patologie valvolari.....	15
2.1 Stenosi valvolare aortica.....	15
2.2 Insufficienza aortica.....	19
Capitolo 3: Protesi valvolari cardiache.....	21
3.1 Valvole meccaniche.....	21
3.2 Carbonio pirolitico.....	24
3.3 Svantaggi protesi cardiache meccaniche.....	28
3.3 Valvole biologiche.....	28
Capitolo 4: Materiali innovativi per le protesi.....	31
4.1 Impalcatura 3d o scaffold.....	32
4.2 Impalcature artificiali.....	33
4.3 Scaffold sintetici.....	36
4.4 Fonti cellulari.....	39
Conclusioni.....	41
Riferimenti bibliografici.....	43

Abstract

Le valvole cardiache svolgono un ruolo fondamentale nel mantenimento unidirezionale della circolazione sanguigna nel sistema cardiovascolare. Queste strutture anatomiche complesse possono essere soggette a diverse patologie che compromettono la loro funzionalità e struttura, causando gravi conseguenze alla salute dei pazienti. Se il danno non può essere ripristinato attraverso approcci di riparazione o terapie farmacologiche, viene eseguito un intervento chirurgico di sostituzione della valvola con protesi valvolari cardiache meccaniche o biologiche.

Nella prima parte verrà descritta l'anatomia e la fisiologia del cuore, con particolare interesse sul ruolo delle quattro valvole cardiache nel processo della circolazione sanguigna. Saranno esaminate le principali patologie che possono colpire queste valvole, come la stenosi o l'insufficienza valvolare, evidenziando l'impatto negativo che tali condizioni possono avere sulla salute generale dei pazienti.

Successivamente, la tesi si concentrerà sull'analisi delle protesi valvolari cardiache attualmente disponibili, con interesse alle caratteristiche e le prestazioni delle protesi meccaniche e biologiche, al fine di fornire una base solida per il confronto tra le diverse soluzioni protesiche.

Nell'ultimo capitolo verranno illustrati gli sviluppi recenti nella ricerca e nell'applicazione di nuovi materiali e tessuti per migliorare ulteriormente le prestazioni delle protesi valvolari.

Attraverso questa analisi, la tesi mira a fornire una visione completa delle protesi valvolari cardiache attualmente disponibili, consentendo una valutazione critica delle opzioni esistenti. Allo stesso tempo, permette una panoramica sulle innovazioni emergenti, offrendo una prospettiva sulle possibilità future per il miglioramento delle protesi valvolari e il conseguente beneficio per i pazienti affetti da malattie valvolari.

Capitolo 1: L'apparato cardiovascolare

L'apparato cardiovascolare umano comprende una doppia circolazione; *polmonare* e *sistemica*.

Nella *circolazione polmonare* o *piccola circolazione*, il sangue povero di ossigeno viene pompato dal cuore attraverso l'arteria polmonare ai polmoni. Qui, tramite i capillari polmonari il sangue cede anidride carbonica e assorbe ossigeno per poi ritornare al cuore, chiudendo il ciclo. Nella *circolazione sistemica* o *grande circolazione*, il sangue ricco di ossigeno viene immesso nelle diramazioni e capillari di tutto il corpo tramite l'arteria aorta, ritorna al cuore povero di ossigeno e conclude così il ciclo. Il sistema cardiovascolare è formato dai vasi sanguigni, dal cuore, dalle cellule, dal sangue e dalle valvole cardiache. La sua funzione principale è il trasporto di sostanze nutrienti, acqua, gas e segnali chimici verso tutti i distretti corporei [4]. Questo capitolo si soffermerà sull'anatomia e fisiologia dei principali componenti del sistema cardiovascolare, con particolare attenzione al funzionamento delle valvole cardiache.

1.1 Anatomia del cuore

Il cuore è un organo muscolare, situato sul letto ventrale della cavità toracica, tra i due polmoni. Presenta una forma di un tronco di cono con la base maggiore rivolta in alto e un apice appuntito situato in basso nella parte sinistra. Per un individuo adulto il suo peso è di 250 -300g e di dimensioni simili ad un pugno della mano. Il cuore è diviso da due cavità, destra e sinistra e ogni metà funziona come pompa indipendente. E' costituito da quattro camere: due atri (atrium, stanza centrale) e due ventricoli (ventriculus, ventre). La parte destra e sinistra del cuore non comunicano tra di loro ma nonostante siano separate dal setto interatriale e interventricolare, si contraggono in modo coordinato; prima gli atri e successivamente i ventricoli. L'atrio riceve il sangue dalle vene e a seguire il ventricolo lo pompa a vari distretti corporei attraverso le arterie. Il cuore di destra ha il compito di ricevere sangue venoso dalla *vena cava superiore* e pomparlo attraverso *l'arteria polmonare* ai polmoni. Il lato sinistro del cuore, invece, riceve sangue ossigenato dalla *vena polmonare* e poi una volta uscito dal ventricolo sinistro passa attraverso *l'aorta* e raggiunge tutti i tessuti dell'organismo (Figura 1.1) [4].

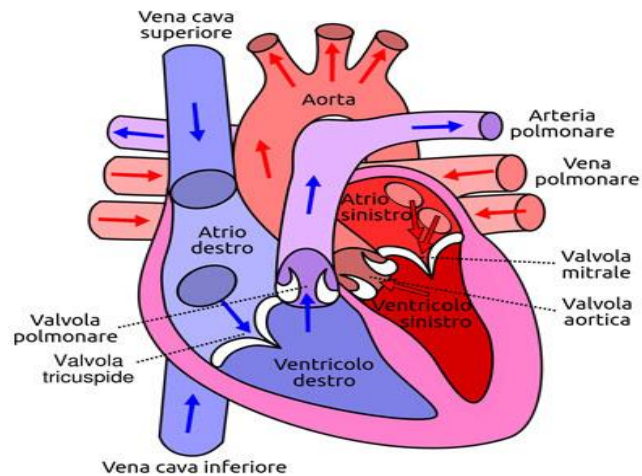


Figura 1.1 anatomia del cuore.

1.2 La parete cardiaca

Il cuore è avvolto da una membrana molto resistente (Figura 1.2), spessa circa $20\ \mu\text{m}$, *il pericardio*. Nel pericardio si distinguono due strati separati da uno spazio liquido pericardico chiaro che permette al cuore maggiore libertà di movimento e una riduzione dello sfregamento dei due tessuti; il pericardio fibroso, la componente più esterna e il pericardio sieroso, lo strato più interno.

Subito sotto si trova la tonaca media composta principalmente da muscolo cardiaco, il *miocardio*, caratterizzato da fibrocellule striate mononucleate accoppiate elettricamente per mezzo di giunzioni comunicanti, in grado di generare o trasmettere il potenziale d'azione in modo autonomo. Il muscolo cardiaco svolge un ruolo fondamentale perché grazie al suo movimento di contrazione involontario garantisce il pompaggio del sangue nella giusta direzione [4, 21].

Nella parte più interna del cuore si trova *l'endocardio*, un sottile e robusto strato di tessuto epiteliale pavimentoso, che aderisce al tessuto connettivo con la funzione di rivestire la cavità cardiaca e le valvole cardiache.

Le pareti sono molto più sottili in corrispondenza degli atri, i quali raccolgono il sangue proveniente dai polmoni o dal resto del corpo e più spesse a livello dei ventricoli, camere che svolgono ruolo di pompare il sangue verso i polmoni (ventricolo destro) e al resto del corpo (ventricolo sinistro).

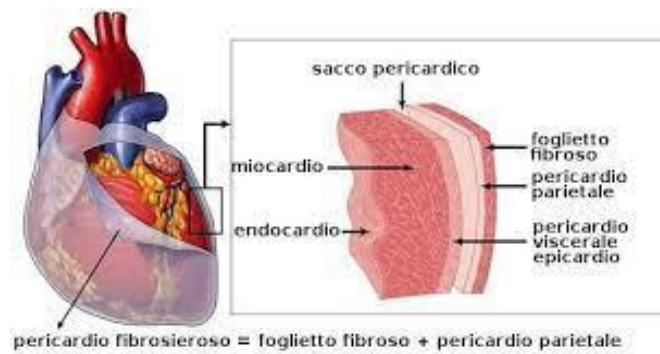


Figura 1.2 parete cardiaca del cuore.

1.3 Potenziale d'azione

Solo l'1% delle cellule miocardiche che compongono il cuore generano segnali di contrazione, queste cellule specializzate sono denominate cellule autoritmiche o pacemaker. La loro capacità di generare impulsi in assenza di stimoli nervosi deriva dal fatto che presentano una membrana instabile, che inizia a -60 mV e sale lentamente a un valore soglia. Superato tale valore parte il potenziale d'azione, che ha origine nel nodo seno-atriale, regione situata nella parte superiore dell'atrio destro. L'onda di depolarizzazione si propaga attraverso la giunzione comunicanti delle cellule miocardiche contrattili e modifica il loro potenziale di membrana a riposo stabile a circa -90 mV, aprendo i canali di voltaggio del Na^+ . Tale fase è nota come depolarizzazione, perché il Na^+ entrando nella cellula aumenta il potenziale di membrana fino a quando non raggiunge circa $+20$ mV. A questo punto i canali del Na^+ si chiudono e la cellula inizia a ripolarizzarsi per la fuoriuscita del K^+ attraverso i canali del K^+ aperti. Dopo una fase di "plateau" caratterizzata da due processi: l'aumento della permeabilità del Ca^+ e una diminuzione della permeabilità del K^+ , la cellula si ripolarizza rapidamente ritornando al suo valore di riposo.

Durante la contrazione degli atri, i segnali partiti dal nodo SA raggiungono il nodo AV tramite una via internodale ramificata. Dal nodo atrioventricolare, gli impulsi percorrono il setto del cuore attraverso fasci di fibre il fascio di His che consentono la contrazione dei ventricoli e la propagazione del segnale. Le fibre raggiungono l'apice del cuore e terminano con un'ulteriore diramazione, le fibre Purkinjie.

L'attività elettrica del cuore può essere rilevata attraverso la cute per mezzo di elettrodi e registrata graficamente su un dispositivo chiamato ECG. L'attenta lettura di un

elettrocardiogramma può fornire importante informazione sulla salute del paziente e rilevare per esempio la presenza di anomalie e aritmie [4].

1.4 Ciclo cardiaco

Una sequenza completa di una fase di rilassamento detta diastole e una fase di contrazione muscolare detta sistole, costituisce il ciclo cardiaco che dura circa 0,8s.

Il sangue è in grado di scorrere attraverso il cuore da aree a pressioni più elevate ad aree a pressione più basse e la contrazione induce un aumento di pressione mentre il rilassamento una diminuzione.

Il ciclo cardiaco può essere diviso così in cinque fasi [4] :(Figura 1.3)

1)*Diastole atriale e ventricolare*: istante in cui il cuore si trova a riposo e gli atri si riempiono di sangue proveniente dalle vene.

Nel momento in cui i ventricoli si rilasciano, le valvole atrioventricolari si aprono e il sangue fluisce per gradiente di pressione dagli atri ai ventricoli, i quali si riempiono passivamente.

2)*Sistole atriale*: fase che inizia in seguito all'onda di depolarizzazione del potenziale di membrana a riposo (circa -90mV) nel nodo senoatriale (nodo SA). L'onda si propaga lungo gli atri e genera una contrazione con un aumento di pressione che spinge una piccola quantità di sangue nei ventricoli. Al termine della fase i ventricoli contengono il massimo volume di sangue che avranno durante tutto l'intero ciclo; chiamato *volume telediastolico* (EDV).

3)*Sistole ventricolare, contrazione ventricolare isovolumetrica*: quando l'onda di depolarizzazione raggiunge le fibre di Purkinje fino ad arrivare all'apice del cuore, inizia la fase di sistole ventricolare. La contrazione ventricolare spinge il sangue in alto verso la base e determina la chiusura delle valvole AV ma non riesce a generare una pressione sufficiente ad aprire le valvole semilunari. Infatti, al termine della fase si raggiungono, circa 80mmHg di pressione, valore troppo basso per poter aprire la valvola in modo da far fluire il sangue nell'aorta. I ventricoli continuano a contrarsi ma il volume del sangue rimane costante perché entrambe le valvole sono chiuse, per tale motivo questa fase è chiamata contrazione ventricolare isovolumetrica (iso , stesso).

4)*Sistole ventricolare, eiezione ventricolare*: quando i ventricoli si contraggono e generano una pressione superiore alla pressione delle arterie, picco intorno ai 125-130 mmHg, si aprono le valvole semilunari. Il sangue viene eiettato nelle arterie mentre le valvole AV

restano chiuse e gli atri continuano a riempirsi. Il minimo volume di sangue rimasto nei ventricoli viene chiamato volume telesistolico (ESV).

5) *Rilasciamento ventricolare isovolumetrico*: i ventricoli si rilassano e iniziano a ripolarizzarsi e di conseguenza la pressione nei ventricoli diminuisce. Il sangue inizia a refluire verso il cuore e provoca la chiusura delle valvole semilunari. Tale fase è chiamata isovolumetrica in quanto il volume del sangue rimane costante nei ventricoli perché sia le valvole AV e le valvole semilunari sono chiuse.

Il ciclo cardiaco ricomincerà quando il rilassamento ventricolare genera una pressione ventricolare inferiore a quella atriale, in grado da aprire le valvole AV e far fluire in modo passivo il sangue accumulato negli atri verso i ventricoli.

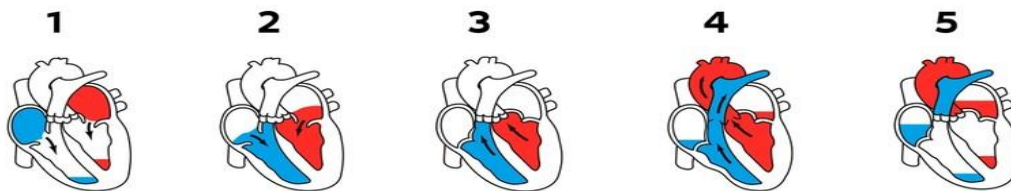


Figura 1.3 ciclo cardiaco: 2,3,4 fase di sistole e 1,5 fase di diastole.

Il ciclo cardiaco può essere rappresentato anche dal diagramma di Wiggers, grafico illustrato in Figura 1.4, dove descrive tutte le variazioni di volume (asse x) e di pressione (asse y) durante l'intero ciclo.

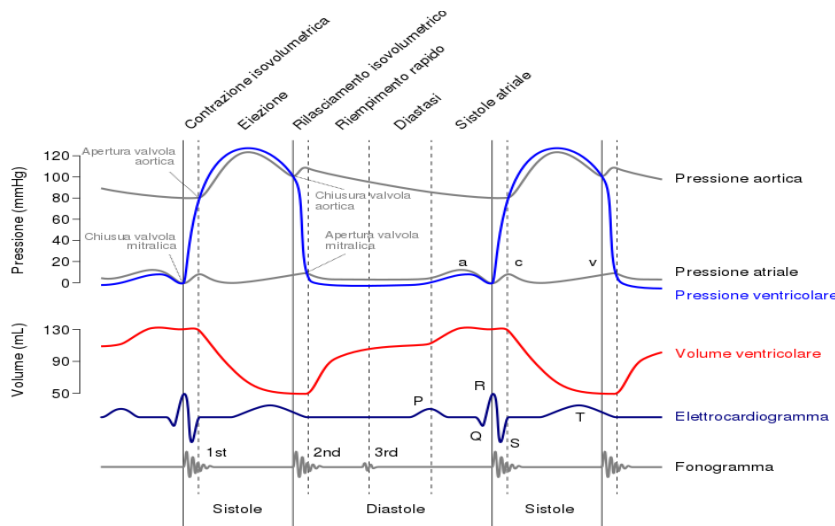


Figura 1.4 Diagramma di Wiggers. Diagramma che rappresenta il ciclo cardiaco della pressione del cuore della parte sinistra, il volume ventricolare sinistro e i toni cardiaci.

1.5 Valvole cardiache

Le valvole cardiache sono strutture complesse che svolgono un ruolo fondamentale nel sistema cardiovascolare: impediscono il flusso retrogrado del sangue.

Il cuore è composto da due serie di valvole cardiache: due *valvole atrioventricolari* localizzate tra gli atri e i ventricoli e due *valvole semilunari* poste tra i ventricoli e le arterie. Nonostante i due gruppi di valvole presentano strutture molto differenti, entrambe assicurano l'unidirezionalità del flusso del sangue durante l'intero ciclo cardiaco. Il movimento delle valvole non è determinato da controlli di tipo nervoso o muscolare ma da una variazione di pressione, si aprono e chiudono passivamente quando sono spinte dal flusso di sangue. L'apertura tra ogni atrio e il suo ventricolo è regolata dalle *valvole atrioventricolari* (AV), le quali sono avvolte da lembi sottili di tessuto chiamati foglietti, uniti alla base ad un tessuto connettivo. Ai margini, i lembi di tessuto sono connessi al lato ventricolare da delle *corde tendinee*; corde molto resistenti e ricche di collagene. Mentre nella parte verso l'apice, i lembi sono collegati sempre da tiranti che si innescano su delle piccole escrescenze del muscolo ventricolare, noti come *muscoli papillari*. Tali muscoli danno una maggiore stabilità ai foglietti e alle corde tendinee. Quando il ventricolo si contrae, la valvola AV si chiude a causa della spinta esercitata dal sangue sulla sua faccia inferiore. Durante questa fase i muscoli papillari si contraggono e le corde tendinee si tendono in modo da trattenere i lembi valvolari e da impedire che la valvola venga spinta indietro dall'atrio. Un mal funzionamento delle corde tendinee provoca una spinta all'indietro della valvola AV generando una condizione anomala detta *prolasso*. Durante la fase di diastole: i muscoli papillari e le corde tendinee si rilasciano in modo da permettere l'apertura della valvola e l'entrata del sangue nei ventricoli. La loro contrazione e trazione permette il corretto funzionamento della valvola durante l'intero ciclo cardiaco (Figura 1.5).

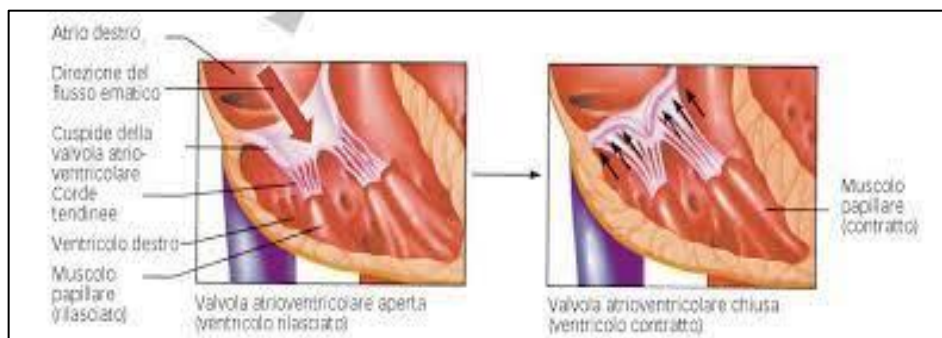


Figura 1.5 apertura e chiusura della valvola tricuspide.

Le valvole atrioventricolari sono due e si differenziano per la struttura e posizione: *valvola tricuspide* e *valvola bicuspid*.

La *valvola tricuspide* (Figura 1.6) separa l'atrio destro dal ventricolo destro e presenta tre lembi mentre la *valvola bicuspid* (Figura 1.6) divide l'atrio sinistro dal ventricolo sinistro e possiede solo due lembi. La bicuspid è anche chiamata mitrale perché la sua forma assomiglia all'alto copricapo, chiamato mitra, indossato dai papi e vescovi.

Le valvole semilunari (SL) vengono chiamate valvole a nido di rondine e dividono i ventricoli dalle arterie principali. Le valvole possiedono tre lembi a forma di coppa inseriti in un anello fibroso e sono avvolte da una lamina fibrosa in grado di chiudersi a scatto. A differenza delle valvole AV durante la fase di sistole le valvole semilunari si trovano aperte poiché la pressione ventricolare è maggiore rispetto a quella dell'arteria. Viceversa, nel rilasciamento ventricolare quando la pressione ventricolare diminuisce, il sangue riempie i lembi valvolari provocando la chiusura a scatto della valvola semilunare. Sono valvole semilunari la *valvola aortica* (Figura 1.6), localizzata tra il ventricolo sinistro e l'aorta e la *valvola polmonare* (Figura 1.6) tra il ventricolo destro e il tronco polmonare. A causa della loro forma non sono sostenute da corde tendinee e muscoli papillari, la loro ridotta dimensione di apertura genera una maggiore velocità di eiezione del sangue rispetto alle valvole AV e la rapida chiusura a scatto fa sì che i margini siano sottoposti ad una maggiore abrasione meccanica.

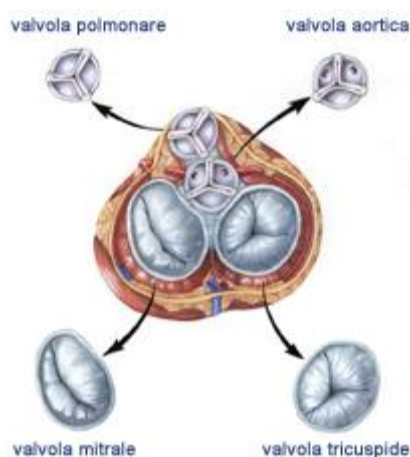


Figura 1.6 struttura delle valvole cardiache.

Le pareti delle valvole sono sottoposte ad un elevato carico di stress meccanico e con il tempo possono usurarsi e portare a varie patologie valvolari.

Capitolo 2: Patologie valvolari

Le valvole cardiache svolgono un ruolo importante nell'unidirezionalità del sangue ma possono essere soggette a diverse patologie che compromettono la loro funzionalità e struttura, causando gravi conseguenze alla salute dei pazienti.

Le patologie che colpiscono le valvole cardiache sono chiamate valvulopatie e le valvole più soggette ad anomalie sono quelle situate nel cuore sinistro (valvola mitrale e aorta) perché il cuore deve pompare ad alte velocità una quantità elevata di sangue, provocando un alto stress meccanico sulle pareti della valvola. Le patologie che danneggiano le valvole del cuore di destra, invece, sono rare o presenti dalla nascita [15].

Le valvulopatie più diffuse sono di due tipi: *stenosi e insufficienza valvolare*.

La *stenosi*, patologia molto comune nei paesi occidentali, è un problema che insorge quando la valvola non si apre correttamente a causa di un restringimento strutturale che ostacola la fuoriuscita del flusso sanguigno.

Mentre si parla di *insufficienza valvolare*, quando queste strutture complesse non si chiudono correttamente e permettono il reflusso del sangue.

Entrambe le patologie compromettono il lavoro del cuore facendolo lavorare maggiormente e a lungo andare il muscolo cardiaco può ridurre le sue capacità di pompa. Tutte le valvole, a parte quelle soggette a malattie congenite, nel corso della vita/ degli anni possono avere alterazioni di struttura e diventare stenotiche o insufficienti. La stenosi o l'insufficienza valvolare, di solito, si verificano isolate e colpiscono soprattutto la valvola aortica o mitrale ma entrambe le patologie possono coesistere nella stessa valvola [15, 25].

2.1 Stenosi valvolare aortica

La stenosi valvolare aortica è la valvulopatia più comune in Europa e Nord America, caratterizzata da una ostruzione del flusso ematico attraverso la valvola aortica nella fase di sistole ventricolare sinistra. (Figura 2.1).

Questa limitazione provoca un'alterazione della pressione sistolica ventricolare sinistra, un aumento del tempo di eiezione ed una diminuzione della pressione aortica. Tali sovraccarichi pressori vengono compensati con la comparsa di ipertrofia miocardica

concentrica, in grado di garantire una gittata cardiaca regolare per molto tempo. Col progredire della patologia, si osserva una perdita dell'efficacia dei meccanismi compensatori a causa degli eccessivi sforzi che le cellule miocardiche sono sottoposte ad ogni ciclo cardiaco [3].

I primi sintomi da pazienti affetti da stenosi aortica, come affanno, dolori al petto o svenimenti vengono avvertiti intorno alla sesta decade di vita, dopo una fase di incubazione dove si verifica un ispessimento della parete cardiaca e la calcificazione ventricolare. Al presentarsi dei sintomi, l'immediato trattamento della valvola è fondamentale perché, se non curata, il paziente può decedere dopo due anni per scompenso cardiaco, dopo tre anni di sincope e cinque anni di anigma. Per i pazienti sintomatici con stenosi grave è necessario eseguire un intervento chirurgico di sostituzione valvolare, tale intervento migliora i sintomi e aumenta la sopravvivenza del paziente [3,19].

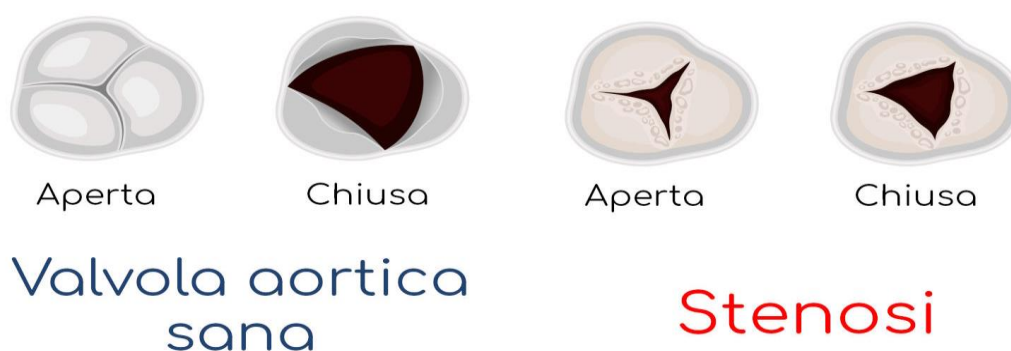


Figura 2.1 paragone tra una valvola aortica sana e una soggetta a stenosi.

La stenosi aortica può essere di vari tipi, di natura congenita, mal formazioni presenti fin dalla nascita, oppure può essere acquisita, dovuta a processi degenerativi da distrofia calcifica su valvola tricuspide o bicuspidi o acquisita da volvolopatia reumatica cronica. *La stenosi aortica da distrofia calcifica* è il disturbo più comune nell'età adulta avanzata nei Paesi industrializzati. Si presenta come degenerazione calcifica della valvola aortica, dove durante questo processo il fosfato di calcio si deposita nelle tre cuspidi. Una maggiore rigidità delle strutture della valvola aortica, ridotta escursione delle cuspidi,

conseguente alla degenerazione fibro-calcifica porta ad un progressivo restringimento dell'orifizio valvolare aortico.

I pazienti soggetti a *stenosi aortica congenita* vengono trattati già durante l'infanzia e l'adolescenza. A livello anatomico la valvola si presenta come una valvola unicuspidale, ma anche bicuspidale, tricuspide o quadricuspide. In genere tale malattia porta a una displasia diffusa o nodulare. Nelle forme neonatali critiche si interviene con l'introduzione di un catetere legato all'estremità ad un palloncino che serve ad allargare la valvola irrigidita. Mentre nei bambini di maggiore età se la situazione non è curabile, la valvola viene sostituita con una protesi valvolare artificiale oppure con la valvola polmonare del bambino.

La *stenosi aortica da valvulopatia reumatica cronica*, è una malattia infiammatoria acuta provocata da un'infezione faringea da streptococco. La risposta immune contro l'attacco della tossina streptococca porta ad un ispessimento fibroso dei tessuti della valvola a volte una dilatazione degli anelli valvolari che può causare insufficienza. A differenza di quarant'anni fa, oggi nei paesi sviluppati l'incidenza ha subito una forte diminuzione grazie al miglioramento delle tecnologie nel curare e diagnosticare l'infiammazione, viceversa nei paesi sottosviluppati la febbre reumatica rimane ancora un problema sanitario molto diffuso. Per verificare la gravosità della stenosi aortica si esegue un esame ECO DOPPLER, che consentendo una valutazione poliparametrica in condizioni basali e di stress, permette di identificare i principali criteri che definiscono lo stato dell'ostruzione valvolare. L'indice GRAD [19], gradiente di pressione transvalvolare medio, rappresenta il parametro di maggiore impatto nella valutazione clinica dei pazienti affetti da stenosi. La riduzione della valvola comporta un incremento della velocità del flusso transvalvolare e un aumento della pressione, al fine del mantenimento della gittata cardiaca regolare. Il GRAD viene calcolato mediante una formula semplificata dell'equazione di Bernoulli ed è proporzionale alla velocità di flusso transvalvolare (V):
Equazione Bernoulli:

$$P_1 - P_2 = \frac{1}{2} \rho (V_2^2 - V_1^2) + \rho g (h_2 - h_1)$$

P: pressione,

V: velocità,

ρ : densità.

La formula semplificata dell'equazione di Bernoulli trascura gli aspetti matematici e stima che:

- la velocità dell'ostruzione (V_2) sia rilevante (maggiore di 2,5 m/sec),
- la velocità a monte (V_1) sia bassa, quasi assente,
- lo spessore dell'ostruzione trascurabile (h).

Da tali presupposti la formula semplificata è:

$$\text{Gradiente di pressione} = 4 \times V^2$$

Inoltre, per permettere una maggiore accuratezza dello stato della stenosi, è stato introdotto l'indice di AVA. Mediante l'utilizzo dell'equazione continua si ottiene l'area valvolare aortica (AVA):

$$\text{AVA} = \text{Area}_{\text{TESV}} \times V_{\text{TESV}} / V_{\text{Transtenotica}}$$

$\text{Area}_{\text{TESV}}$: Area del tratto di efflusso del ventricolo sinistro,

V_{TESV} : velocità all'efflusso ventricolare sinistro,

$V_{\text{Transtenotica}}$: velocità all'efflusso ventricolare transtenotica.

Quando l'area valvolare aortica (AVA) è inferiore ad 1 cm^2 e il gradiente di pressione transvalvolare medio (GRAD) è maggiore di 40 mmHg, siamo di fronte a una stenosi valvolare severa.

2.2 Insufficienza aortica

L'insufficienza aortica è una patologia valvolare molto comune che colpisce la fascia d'età compresa tra i 40 e 70 anni. Questo disturbo è una conseguenza dell'incompleta chiusura dell'ostio aortico durante la fase diastolica con un reflusso del sangue in senso retrogrado, cioè dall'aorta verso il ventricolo sinistro. La percentuale di sangue che rigurgita è chiamata *frazione rigurginante*, questo flusso provoca un sovraccarico di volume nel ventricolo sinistro. Possiamo distinguere due forme di insufficienza aortica: acuta o cronica. L'insufficienza aortica cronica si manifesta con un lento e progressivo adattamento del cuore al difetto valvolare [6]. Per contrastare il sovraccarico di volume generato dal reflusso del sangue, il ventricolo sinistro mette in atto un'ipertrofia eccentrica, così da mantenere un'adeguata frazione di eiezioni per molti anni. Tuttavia, a lungo andare, la dilatazione ventricolare può diventare eccessiva a causa del continuo stress meccanico a cui è sottoposta la parete del ventricolo, da non rendere più efficace i meccanismi di compenso. Uno dei primi sintomi che può cominciare ad avvertire il paziente, dopo un lungo periodo asintomatico, è la presenza di un soffio oloedioastolico, una vibrazione del cuore percepita al passaggio del sangue in senso retrogrado, dall'aorta ai ventricoli. Quando si osserva un peggioramento dei sintomi come dispnea o edemi è fondamentale effettuare un'ecocardiografia transtoracica (Figura 2.2) per individuare il tipo e la severità dell'insufficienza aortica al fine di poter individuare il corretto trattamento chirurgico o la più adeguata terapia farmacologica [23]. Da tale analisi si identifica lo spessore e l'estensione del jet di rigurgito e secondo la classificazione funzionale di Carpentier si possono individuare tre tipi di insufficienza aortica:

- 1) Dilatazione della radice aortica o perforazione dei lembi (endocardite);
- 2) Presenza di un prolasso, con eccessiva mobilità dei lembi, di una o più cuspidi;
- 3) Inspessimento e retroazione della cuspidi, riduzione del movimento dei lembi, come conseguenza della malattia reumatica o di calcificazioni significative secondarie.



Figura 2.2 ecocardiografia transtoracica.

Mentre la severità è determinata da valori come lo spessore e l'estensione del rigurgito. Se non trattata, l'insufficienza aortica può provocare ischemie o scompensi, perché il sangue non arriva a sufficienza in tutti i distretti corporei.

Si parla di insufficienza aortica acuta quando non si instaurano meccanismi di compenso perché il ventricolo sinistro non riesce a dilatarsi in tempo al sovraccarico di volume di sangue generato da improvvise cause (lacerazioni o perforazioni). In questi casi l'unica cura per migliorare le condizioni di vita del paziente è mediante un intervento chirurgico, una sostituzione valvolare [23].

Capitolo 3: Protesi valvolari cardiache

Lo studio di Nkomo et al. ha rilevato importanti dati sull'incidenza delle patologie valvolari gravi nella popolazione statunitense e ne è emerso che all'aumentare dell'età tende crescere la percentuale di persone affette. Secondo l'indagine effettuata nel 2006 si stimava che i pazienti britannici sopra i 65 anni affetti da patologie valvolari gravi erano più di un milione e tali numeri dovrebbero aumentare del 50% nel 2025 [2]. Questi risultati allarmanti attestano che l'impatto sanitario delle malattie alle valvole è in forte crescita e la ricerca in questo ambito è fondamentale per ridurre i problemi causati dalle protesi ora in uso.

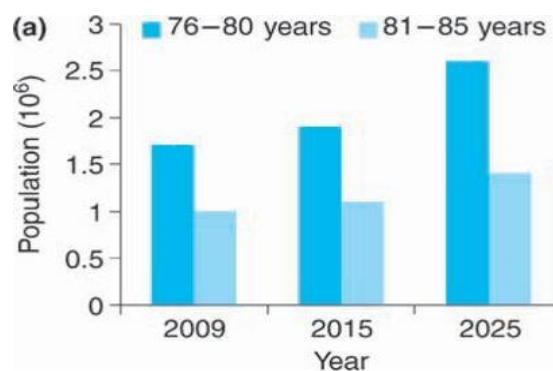


Figura 3.1 grafico che rappresenta l'incidenza delle patologie valvolari nella popolazione britannica.

Attualmente si interviene con un'operazione chirurgica che prevede la sostituzione della valvola usurata con una protesi meccanica o biologica. Entrambe presentano degli svantaggi e vantaggi e la decisione sul tipo di protesi dipende da una serie di variabile correlate al paziente.

3.1 Valvole meccaniche

Il primo modello di valvola meccanica risale al 1952 da Hufnagel il quale diede inizio a una serie di progetti di valvole sperimentali. Solo tre tipi di valvole sono state effettivamente applicate nell'uso clinico: caged ball, leaflet e bileaflet. Tutte presentano tre elementi comuni:

- 1) un occluder, una struttura mobile che permette l'apertura e chiusura della valvola;

- 2) un alloggiamento, struttura dove si poggia l'occluder e ne limita il suo movimento;
- 3) anello di sutura, elemento circolare che collega la protesi alle pareti del tessuto cardiaco.

Le innovazioni delle protesi valvolari sono strettamente legate all'evoluzione di nuovi materiali biocompatibili e bioinerti. I materiali utilizzati per le protesi valvolari devono soddisfare una serie di caratteristiche essenziali per non interferire danni o reazioni avverse all'attività del cuore [11]:

- buona resistenza alle continue sollecitazioni meccaniche a cui è sottoposto;
- non devono degradarsi nell'ambiente fisiologico;
- non generare variazioni del sangue e le formazioni di coaguli;
- non devono essere trombogenici;
- adatti alla sterilizzazione.

In natura, sono pochi i materiali che rispecchiano tutti questi requisiti fondamentali. In tabella 1 vengono elencati i vari biomateriali che sono stati utilizzati per le protesi valvolari.

Tabella 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 primo intervento di sostituzione della valvola mitrale con una protesi a palla ingabbiata di Starr-Edwards fu possibile solo nel 1960 (Fig 3.1). Questo tipo di valvola, ormai non più in commercio a causa degli innumerevoli problemi connessi al suo funzionamento, è costituita da una gabbia con quattro strutture in acciaio inossidabile dove al suo interno si trova una sfera di silicone-gomma, libera di oscillare longitudinalmente per gradiente di pressione facendo fluire il sangue solo lateralmente. Seguentemente l'acciaio inossidabile è stato sostituito con Stellite 21, lega di cobalto-cromo composta da (25-

29%) di cromo, (61-63%) di cobalto, (0,25-0,5%) di carbonio, 1% di ferro e (5-6%) di molibdeno e (1.75-3.75%) di nichel. Mentre all'occlusore è stato aggiunto il solfato di bario, una sostanza radiopaca che aumenta la visibilità negli esami medici di radiografia. L'anello di metallo è ricoperto da un tessuto di Politetrafluoroetilene, (Teflon PTETF) e polipropilene. I problemi più gravi insorti dopo la sostituzione della valvola sono stati: la varianza della sfera di silicone, tromboembolia e anemia emolitica [11]. La variazione della dimensione della sfera era dovuta ad alterazioni fisiche e chimiche della gomma di silicato accompagnate da un'infiltrazione di corpi fluidi e lipidi al suo interno. Tali cambiamenti provocavano un rigonfiamento con successiva rottura della sfera e turbolenze al flusso sanguigno. Il problema è stato risolto con una modifica del processo di lavorazione della gomma di silicato per migliorare le proprietà di post indurimento.

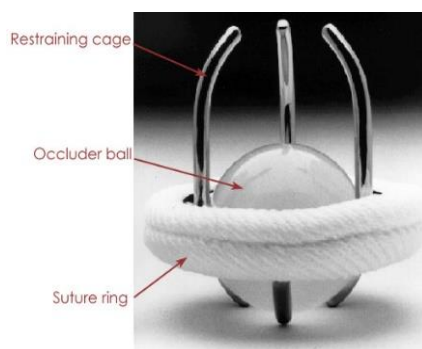


Fig. 3.1 protesi a palla ingabbiata.

Nel 1967 fu introdotta la prima tipologia di valvola a singolo disco oscillante, ideata da Bjork-Shiley. Il disco oscillante, localizzato all'interno di un anello di sutura collegato da due gabbiette, nella posizione aperta ruotava con un angolo massimo di 60 gradi. Questo meccanismo consentiva al sangue di fluire centralmente e attorno ad esso, riducendo così la distorsione del flusso ematico. Inizialmente il disco fu realizzato con un materiale polimerico, il (Delrin) mentre l'anello con il Teflon.

Il Delrin, poliossimetilene è un polimero termoplastico ottenuto per polimerizzazione di formaldeide. Si notò che il Teflon come occlusore rispetto al Delrin si consumava molto più velocemente perché aveva una bassa resistenza all'usura abrasiva. Anche il Derlin presentava dei difetti perché pur avendo un basso coefficiente d'attrito e un'ottima resistenza, durante la sterilizzazione a vapore assorbiva l'umidità e si deformava provocando un mal funzionamento della valvola [11]. A causa del fallimento di occlusori

polimerici, le successive versioni di valvole Bjork-Shiley furono sostituite con un nuovo biomateriale, il carbonio pirolitico (LTI).

Le protesi attuali sono a due emidischi e sono state introdotta per la prima volta da St. Jude Medical Inc. nel 1978(Fig. 3.2). L'occlusore è caratterizzato da due emidischi in carbonio pirolitico incernierati all'anello. In posizione aperta i due dischi oscillano per pressione e si dispongono quasi parallelamente al flusso passante, formando un angolo di 80°. In questa configurazione, l'elemento mobile garantisce il minor disturbo al flusso passante e si avvicina molto alle caratteristiche fisiologiche. A valvola chiusa, i dischi non si chiudono perfettamente e permettono un piccolo rigurgito.



Fig. 3.2 protesi bileaflet.

Ancora oggi il carbonio pirolitico è considerato il miglior rivestimento per i componenti delle protesi valvolari cardiache proprio per le sue ottime proprietà meccaniche e di biocompatibilità.

3.2 Carbonio pirolitico

Il carbonio pirolitico è un materiale ceramico che non esiste in natura; infatti, viene preparato mediante un processo di pirolisi che avviene ad alte temperature, attorno 1200-2400°C, dove il reagente della reazione è un idrocarburo. A causa dell'elevata temperatura di lavorazione, è difficile fabbricare componenti interamente di carbonio pirolitico per questo motivo viene spesso utilizzato come rivestimento di materiali compatibili al processo di pirolisi [14,22].

Presenta la stessa struttura esagonale degli strati planari della grafite ma al suo interno sono caratterizzati da delle imperfezioni e vacanze (Fig. 3.3). A differenza della grafite, dove gli strati di grafene sono perfettamente allineati e scivolano tra di loro conferendo al materiale un comportamento lubrificante, il carbonio pirolitico è caratterizzato da una

struttura cristallina piegata e curva che impedisce agli strati di scorrere l'uno sull'altro. Tale caratteristica influisce sulle proprietà meccaniche del carbonio pirolitico che presenta una maggiore durezza e resistenza alla rottura rispetto a tutti gli altri materiali ceramici.

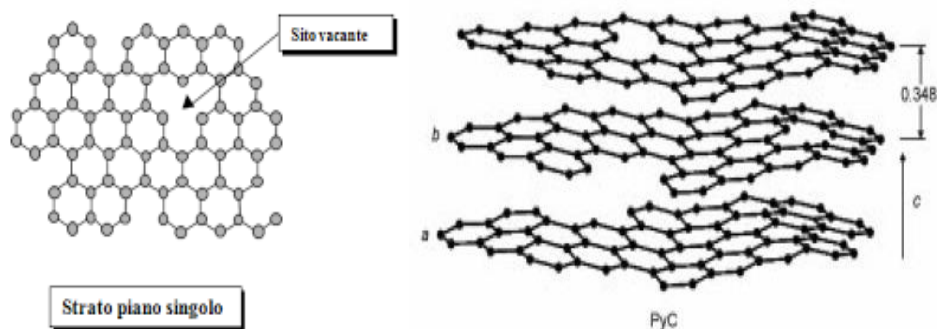


Fig. 3.3 a sinistra sono rappresentate le vacanze in uno strato, a destra la struttura del carbonio pirolitico.

I materiali ceramici a causa della loro struttura, se sollecitati hanno un comportamento fragile, infatti non presentano una zona di plasticità. Il processo di frattura inizia con la formazione di cricche e procede con la propagazione che porta alla rottura del composto. Una cricca è una inclusione del materiale dove è presente una lacerazione molto piccola, la sua comparsa comporta il rilascio di energia elastica e un incremento dell'energia del sistema per la formazione di nuove superfici. I livelli di tenacità alla frattura riflettono la fragilità intrinseca del carbonio pirolitico, ma rari sono stati i cedimenti dei componenti delle protesi valvolari rivestite in carbonio pirolitico originati dal raggiungimento di una dimensione critica della cricca con la sua rapida e spontanea propagazione. Tuttavia, tramite microscopia elettronica a scansione delle valvole usurate si è scoperto che il risultato della propagazione delle cricche è attribuito a fenomeni di cavitazione, cioè la formazione di bolle a contatto con la zona solida causate da variazioni di pressione. Quando la bolla collassa rilascia energia vicino alla valvola che con il tempo può provocare zone di erosione lungo i bordi dei lembi e sulle superficie dell'alloggiamento [13].

Il carbonio pirolitico presenta una densità molto bassa, qualità molto importante perché permette ai due emidischi delle protesi valvolari di muoversi secondo il gradiente di

pressione e sotto l'azione del flusso sanguigno. Il suo modulo di Young è più basso dei metalli ma si avvicina al valore dell'osso, il che garantisce maggiore compatibilità sull'interfaccia ossea della protesi [14,22].

Le protesi valvolari sono state progettate per fornire una regolazione continua del flusso per lunghi periodi, perché il cuore umano batte 38 milioni di volte all'anno ciò richiede che il materiale sia resistenza a fatica fino a valori tra 10^9 e 10^{10} cicli.

Uno studio ha confrontato il comportamento di protesi in carbonio pirolitico in contatto con lega cromo-cobalto e senza rivestimento, ne emerso che l'usura delle protesi rivestite di carbonio pirolitico dopo diciassette anni era inferiore di $2\mu\text{m}$ mentre in quelle realizzate interamente con lega di cromo-cobalto presentavano usure superiori a $19\mu\text{m}$ [14]. Un'altra ricerca condotta da Schoen et al. ha confrontato invece otto protesi valvolari a gabbia rivestite in carbonio pirolitico con quelle di un materiale polimero come il Teflon. Dall'esame mediante microscopia né emerso che negli occlusori rivestiti da carbonio pirolitico le usure erano insignificanti a differenza delle protesi realizzate con il Teflon. Tale studio ha fornito ulteriori prove per dimostrare l'eccellente resistenza all'usura del carbonio pirolitico rispetto ai precedenti materiali utilizzati.

Le ridotte dimensione degli strati planari, il loro andamento casuale e la presenza di piccoli cristalliti conferiscono al carbonio pirolitico proprietà isotrope. Requisito di notevole importanza, in quanto le protesi valvolari sono soggette a continui stress meccanici e per garantire migliore prestazioni il materiale non deve avere piani preferenziali di rottura.

La tabella 1 contiene un confronto delle proprietà meccaniche del carbonio vetroso, carbonio depositato a vapore, carbonio pirolitico e carbonio pirolitico legato al silicio [22]:

proprietà	Carbonio vetroso	Carbonio depositato a vapore	Carbonio LTI	Carbonio LTI con silicio
Densità ($\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$)	1,4–1,6 ^b	1,5–2,2 ^c	1,7–2,2 ^c	2.04–2.13
Dimensione dei cristalliti (l_c) (Å)	10–40	8–15	30–40	30–40
Resistenza alla flessione, ($\times 1000$ psi)	10–30 ^b	da 50 a >100 ^c	40–80 ^c	80–90
Modulo di Young ($\times 10^6$ psi)	3,5–4,5 ^b	2,0–3,0 ^b	2,5–4,0 ^c	4.0–4.5
Deformazione alla frattura (%)	0,8–1,3	da 2,0 a $>5,0$ ^c	1.6–2.1	2.0
Limite di fatica/resistenza alla frattura	1.0	1.0	1.0	1.0
Energia di deformazione fino alla frattura ($\times 100$ psi)	1–2	>10	4–8	8
Durezza, DPH	150–200 ^b	150–250 ^c	150–250 ^c	230–370 ^c

Tabella 1: proprietà meccaniche;

b) valori non regolabili attraverso il processo di lavorazione, sono casuali,

c) valori regolabili attraverso il controllo del processo.

Il carbonio pirolitico è l'unico materiale che può rivestire le protesi valvolari cardiache perché è il materiale più biocompatibile tra tutti quelli attuali. Possiede un alto grado di tromboresistenza e inibisce le sequenze di eventi che possono generare risposte biologiche indesiderate. In realtà in natura non esiste un materiale completamente inerte, infatti, ogni materiale estraneo posto in un organismo vivente porta a reazioni biologiche, come l'adsorbimento di proteine, attivazione della cascata coagulativa, formazione di fibrina e adesioni di componenti cellulari. La biocompatibilità del carbonio pirolitico con il sangue è determinata dal fatto che sulla superficie si crea un sottile strato di adsorbimento di proteine senza che avvenga la modifica della struttura molecolare, inibendo così il primo stadio della cascata emocoagulativa e di conseguenza la formazione di coaguli.

3.3 Svantaggi protesi cardiache meccaniche

La sostituzione valvolare con protesi meccaniche ha dimostrato una grande affidabilità a lungo termine, infatti le proprietà fisiche, chimiche e meccaniche possono mantenersi inalterate per tutta la vita del paziente.

Tuttavia, l'inserimento di un materiale considerato estraneo all'organismo vivente può portare a processi biologici non desiderati. Tali eventi avversi possono causare le formazioni di coaguli che, se fluiscono nel sangue possono ostruire i vasi sanguigni. Perciò per controllare tali fenomeni, i pazienti portatori di protesi valvolari meccaniche devono essere regolarmente sottoposti a terapie anticoagulanti [11,16].

il cuore, in assenza di protesi, pompa il sangue garantendo valori adeguati del flusso sanguigno quando fluisce all'interno della valvola senza che ci siano impedimenti e ostruzioni. La valvola meccanica bileaflet rivestita di un sottile strato di carbonio pirolitico rispetto all'originaria ball caged garantisce maggiore emocompatibilità. Tuttavia, la presenza di elementi mobili di geometria e dimensioni differenti dalla valvola originaria portano alla formazione di un flusso innaturale che comporta ad alterazione dei valori standard di pressione e maggiori sollecitazioni. Poiché il sangue deve separarsi mentre attraversa i due lembi si creano zone di alto stress di taglio, condizioni che portano alla formazione di trombosi. Inoltre, si è constatato che un aumento delle sollecitazioni meccaniche nella parete aortica può portare ad un'attivazione delle piastrine con conseguente rimodellamento vascolare, dilatazione aortica e possibile sviluppo di aneurismi. Anche per questo motivo il paziente deve sottoporsi ad una terapia farmacologica per tutto il resto della sua vita.

3.3 Valvole biologiche

Da oltre 30 anni le valvole cardiache con tessuti di derivazione biologica, chiamate bioprotesi, sono disponibili clinicamente. Rispetto alle protesi meccaniche, garantiscono un flusso sanguigno molto simile alla valvola nativa e non richiedono una terapia farmacologica.

In base alla fonte tessutale, oggi esistono due tipi di protesi biologiche in commercio: valvole pericardiche di origine bovina e protesi porcine da tessuto di suino (Figura 3.4). Per entrambe le tipologie, il tessuto viene trattato chimicamente e decellularizzato per ridurre al minimo le reazioni immunologiche di ricetto da parte dell'organismo [17, 1].

Solitamente la valvola viene inserita in una struttura metallica (stent) per fornire supporto e per mantenerla fissa sulla parete aortica; tuttavia, può comportare a un maggiore ingombro con conseguente calcificazione della valvola. Per ovviare a tale problema sono state prodotte delle valvole che non presentano lo stent con lo svantaggio di avere procedure d'impianto più complesse.

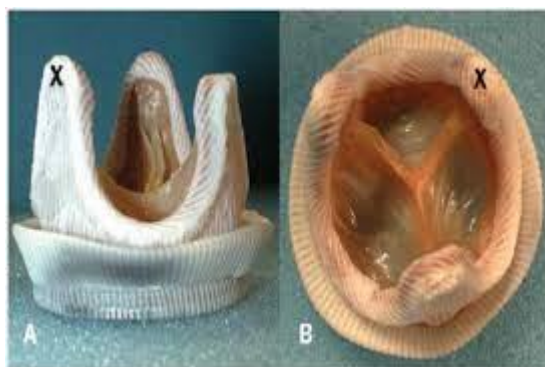


Figura 3.4 Protesi porcina, X rappresenta lo stent, A prospettiva laterale, B frontale.

Le bioprotesi a differenza di quelle meccaniche hanno una durata limitata, circa dopo 10-12 anni dall'intervento di sostituzione tendono a deteriorarsi a causa di processi di mineralizzazione, ispessimento e lacerazioni del tessuto dei lembi con formazione di stenosi o rigurgiti. La degradazione avviene in modo graduale, dando tempo alla pianificazione di un nuovo intervento chirurgico. I meccanismi di calcificazione e le tecniche per ridurre tale fenomeno sono state oggetto di numerose ricerche. Studi hanno mostrato che elevate sollecitazioni di trazione e flessione all'interno del lembo della valvola accelerano il danno da fatica strutturale dei tessuti ed è stato verificato che le zone di alte stress sono maggiormente colpite da processi di calcificazione [17].

Altri probabili motivi del deterioramento delle bioprotesi sono dovuti a condizioni di lavorazione dei tessuti e a delle imperfezioni di progettazione della valvola, che causano la rottura delle fibre di collagene e creano elevate regioni di stress meccanico. Ad esempio, si è dimostrato che l'utilizzo della gluteraldeide nel tessuto come stabilizzante per ridurre l'immunogenità può influenzare negativamente il deterioramento della valvola. Infatti, la calcificazione tissutale avviene passivamente nel flusso sanguigno e deriva dalla formazione di legami tra il calcio e le aldeidi liberi della gluteraldeide fissata nel tessuto.

Recentemente, si è indentificato l'antigene alfa-Gal (galattosio-alfa-1,3-galattosio) [1] come la principale molecola presente nei tessuti di suino o bovino che stimola il ricetto negli organismi viventi. L'alfa Gal è un carboidrato che si lega alle proteine fibrose dei tessuti di bovino e suino.

Il nostro sistema immunitario riconosce questa molecola come sostanza estranea e attiva una reazione specifica e lo sviluppo di anticorpi anti-Gal provocando processi degenerativi alla bioprotesi.

Ci sono due modi per ridurre tali fenomeni: il primo, ancora in via di sviluppo, consiste nell' utilizzare nuovi tessuti biologici ingegnerizzati carenti di alfa-Gal mentre nel secondo modo si utilizzano agenti chimici che riducono l'effetto dell'alfa-Gal, non rendendolo visibile al nostro organismo.

Il secondo modo, realizzato in Italia, è in grado di inibire il processo di calcificazione di oltre del 98% e consiste nell'applicare al tessuto una miscela di polifenoli naturali [1].

Capitolo 4: Materiali innovativi per le protesi

Al giorno d'oggi le valvole utilizzate sono quelle biologiche e meccaniche. Tuttavia, presentano delle grandi limitazioni. Le protesi valvolari meccaniche, grazie alle eccellenti proprietà meccaniche del carbonio pirolitico conferiscono durabilità nel tempo ma necessitano di terapie anticoagulanti in quanto i materiali non sono del tutto inerti all'organismo vivente. Le protesi biologiche invece, si degradano velocemente a causa dello stress meccanico e calcificazioni e il paziente deve sottoporsi ad ulteriori operazioni chirurgiche. Il più importante svantaggio di entrambe le protesi è che non crescono insieme al paziente, questo fa sì che i malati pediatrici necessitano di interventi continui. Tali problematiche hanno spinto molti ricercatori a trovare nuove soluzioni nell'ambito dell'*ingegneria tissutale (TEHV)*.

L'ingegneria tissutale è stata definita da Nerem [20] come lo "sviluppo di tessuti biologici per migliorare, ripristinare o mantenere la loro funzione". Rappresenta l'unica tecnologia che può permettere la realizzazione di protesi valvolari autologhe capaci di crescere, rimodellarsi e ripararsi nel tempo.

L'obiettivo delle protesi tissutale è quello di riprodurre le principali caratteristiche e strutture delle valvole native. Tutte e quattro le valvole cardiache sono costituite da tre strati che compongono la matrice ECM: spongiosa, ventricularis e fibrosa. Questi strati sono composti dal 50 % di collagene, 13% di elastina e al 37% dai proteoglicani e conferiscono le proprietà fisiche e meccaniche della valvola native. All'interno degli strati si trovano le cellule interstiziali valvolari (VIC) composte da cellule di fenotipi diversi come i miofibroblasti, fibroblasti e cellule muscolari lisce con lo scopo di rimodellare continuamente la matrice ECM.

L'ingegneria tissutale si pone nel ricreare questo ambiente tridimensionale unico mediante l'utilizzo di un'impalcatura (scaffold), cellule appropriate da seminare nello scaffold e un ambiente fisiologico in cui le cellule possono proliferare grazie all'uso di bioreattori e biomolecole appropriate.

Il processo di formazione di una protesi tissutale avviene in quattro passaggi [21, 5]:

- 1) La creazione di un *supporto tridimensionale* o *scaffold 3D* che garantisca un ambiente per l'attaccamento di cellule e la crescita di tessuti. Lo scaffold serve

come struttura iniziale e viene progettato in modo tale che una volta impiantato si degrada gradualmente nell'ambiente fisiologico;

- 2) Semina delle *cellule* prelevate dal paziente sullo scaffold e successivamente fatte maturare su un *bioreattore*;
- 3) Crescita dei tessuti;
- 4) Intervento chirurgico con la *valvola tissutale*.

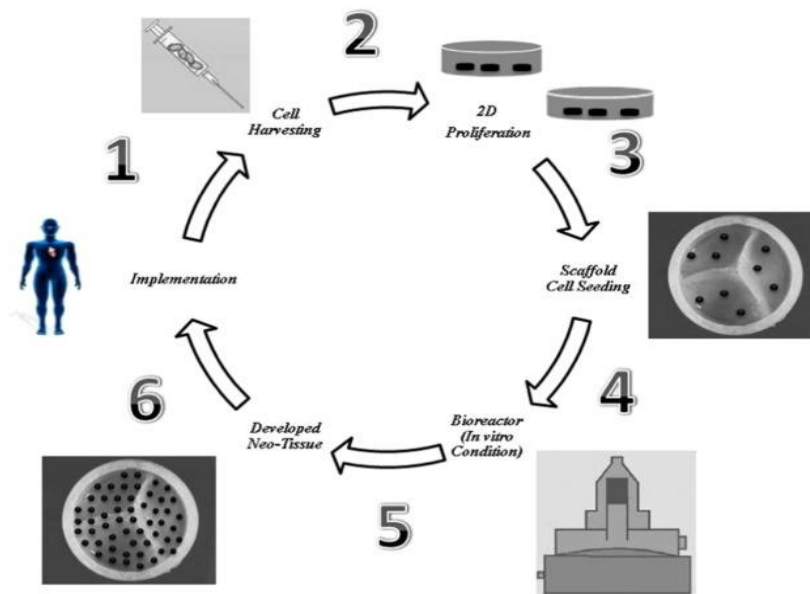


Figura 4.1 processo di formazione di una valvola cardiaca tissutale.

4.1 Impalcatura 3d o scaffold

Un'ideale impalcatura di ingegneria tissutale dovrebbe garantire tali requisiti [24]:

- essere costituito da materiali *biodegradabili*;
- regolare la crescita cellulare tramite un canale che fornisca ossigeno e sostanze nutritive;
- consentire l'adesione, la proliferazione e migrazione delle cellule scelte per replicarsi;
- degradarsi* gradualmente nell'ambiente fisiologico, lasciando spazio alla crescita di un nuovo tessuto organico;
- Possedere appropriate proprietà fisiche e meccaniche paragonabile al tessuto nativo. Uno dei principali fallimenti delle protesi TE sono le scarse proprietà meccaniche dell'impalcatura in quanto la struttura della valvola nativa è difficile da replicare a causa

della sua anisotropia non omogenea con proprietà meccaniche non lineari. Per valutare le prestazioni del tessuto vengono effettuate tre tipi di prove: stiramento biassiale, indentazione locale e prova di flessione [5].

I materiali disponibili che rispecchiano queste proprietà sono polimeri sintetici o di natura biologica.

4.2 Impalcature artificiali

La fabbricazione di uno scaffold tramite materiali polimerici che imita le funzioni e strutture della valvola cardiaca presenta dei vantaggi rispetto alla decellularizzazione di tessuti biologici perché le proprietà meccaniche, la biodegradabilità e la durabilità possono essere controllate e una volta impiantate possono includere una minore immunogenicità e trombogenicità. La crescita e vascolarizzazione dei tessuti è regolata dall'elevata porosità dello scaffold tridimensionale e dalla presenza di canali e pori omogenei, che forniscono un flusso continuo di sostanze nutritive. Esistono due principali metodi utilizzati per fabbricare impalcature porose e fibrose: le *tecniche convenzionali* e a *prototipizzazione rapida* (RP) [8].

L'*elettrofilatura*, è la tecnica convenzionale predominante rispetto agli altri approcci grazie alla sua: semplicità, convenienza, porosità controllata, capacità di essere utilizzata per molti polimeri naturali e sintetici e per la capacità di produrre fibre di piccole dimensioni su un'ampia superficie. Il processo, si basa sull'applicazione di un elevato campo elettrico che causa l'espulsione dal cono di Taylor di un getto di una soluzione polimerica verso una piastra raccolta a massa (Figura 4.2). Durante il volo, il polimero viene allungato, stirato e assottigliato da un campo elettrico esterno. Successivamente il solvente evapora e il getto si solidifica per dare la formazione di nanofibre che si depositano su un substrato posto vicino al collettore [9]. Si ritiene che le strutture microfibrillari degli scaffold elettrofilati forniscano un ambiente adatto per supportare il tessuto miocardico, la loro architettura ricorda la struttura delle fibrille nella ECM naturale, con cellule fibrose allineate in una matrice 3D che creano anisotropia meccanica. La disposizione delle fibre influenza la proliferazione, migrazione e adesione cellulare. L'elevata finezza delle fibre consente di produrre un materiale maggiormente poroso e con un elevato rapporto superficie/volume [10]. La microstruttura e di conseguenza le

proprietà meccaniche possono essere modificate a seconda della necessità, variando una serie di parametri: intensità di tensione, portata e distanza tra punta e collettore.

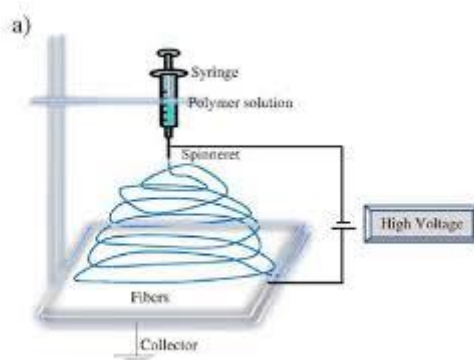


Figura 4.2 processo di fabbricazione di scaffold mediante elettrofilatura.

Le tecniche di prototipizzazione rapida utilizzano computer che assistono al processo. La realizzazione dell'oggetto 3D avviene per deposizione di strato per strato del materiale, seguendo la geometria e struttura desiderata per il paziente. La più diffusa è la *biostampa 3D*, questa tecnologia innovativa è utilizzata per applicazioni correlate al corpo e permette la produzione di strutture biologiche e tessuti organici 3D altamente precisi, tramite l'uso di software di progettazione (CAD) e di produzione (CAM). Se la stampa 3D classica stampa oggetti di materiale plastico, la biostampa 3D consente di generare strati di tessuti e cellule vive, con l'obiettivo di ricreare le stesse funzionalità e caratteristiche delle strutture da riparare o sostituire. Per raggiungere tale scopo estremamente complicato molti sono gli ostacoli, le ricerche in questo ambito sono ancora agli inizi. Attualmente esistono tre principali metodi di biostampa: a getto, a estrusione e a laser.

Il primo esempio di biostampa risale al 1988 dove venne utilizzato il *metodo a getto d'inchiostro* (Figura 4.3 A). Questa tecnica prevede la deposizione di strati di micro-gocce di bioinchiostro su un'impalcatura come un idrogel, che fornisce l'ambiente adatto per la profilazione e maturazione del tessuto. Questo processo è molto economico, i tempi di preparazione sono brevi e la vitalità cellulare è superiore al 85%. Tuttavia, con questa tecnologia è difficile ottenere strutture complesse che imitano ai minimi dettagli i tessuti nativi, a causa della scarsa risoluzione che arriva fino a $50\mu\text{m}$ e la sua bassa densità. La *biostampa per estrusione* (Figura 4.2 B), basata sullo stesso principio del metodo a getto, rilascia continui filamenti cilindrici di biomateriale, orientati in posizioni specifiche su

un'impalcatura. Nonostante presenti il vantaggio di avere un'elevata densità rispetto a quello getto, la sua applicazione rimane limitata per: il costo medio, i tempi lenti di lavorazione, la risoluzione più scadente e la capacità delle cellule di sopravvivere durante il processo è tra il 40% e 80%.

La *biostampa a laser* (Figura 4.3 C) sfrutta l'energia di un laser per fondere un metallo ricoperto di biomateriale. A causa dell'impulso del laser, il metallo assorbe energia ed evapora, rilasciando gocce di biomateriale sul supporto, in una determinata posizione, con precisione di 5 μ m. Questo metodo raggiunge una risoluzione di 10-50 μ m ed un'elevata densità, mantenendo oltre il 95% di vitalità delle cellule.

I metodi di bioprinting, essendo programmabili, potrebbero superare la maggior parte delle problematiche riscontrate dai metodi di produzione tradizionale.

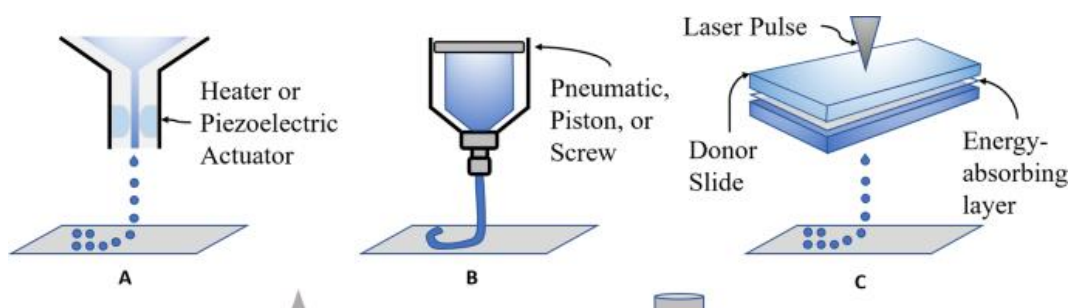


Figura 4.3 tecniche di biostampa: A) metodo a getto d'inchiostro, B) biostampa ad estrusione e C) biostampa a laser.

Recenti studi hanno stampato in 3D non solo scaffold ma intere valvole. Tale sperimentazione è stata sviluppata dai ricercatori dal Politecnico Federale del Zurigo [7], dove hanno ricreato una valvola cardiaca stampata in 3D in silicone (Figura 4.4). Secondo i ricercatori, l'applicazione del progetto sui pazienti avverrà non prima di 10 anni di sperimentazione, ma questa soluzione mostra risultati promettenti per l'ingegneria tissutale delle valvole cardiache. Il processo di fabbricazione inizia spruzzando, con una stampa ad estrusione, un inchiostro siliconato su un'impronta negativa a forma di valvola. Successivamente, una composizione siliconica rigida viene depositata sulla superficie della valvola per deporre filamenti sottilissimi che assomigliano alle fibre di collagene delle valvole cardiache native, con lo scopo di garantire maggiore resistenza e durabilità nel tempo. In parallelo con questa prima fase, viene preparata la radice del vaso sanguigno con lo stesso processo di stampa appena descritto e alla fine viene coperto da uno stent a forma di rete, necessario per collegare la valvola siliconata con il tessuto cardiaco del

paziente. I primi test in vitro hanno ottenuto risultati soddisfacenti, tuttavia la strada per l'applicazione clinica è ancora lunga.

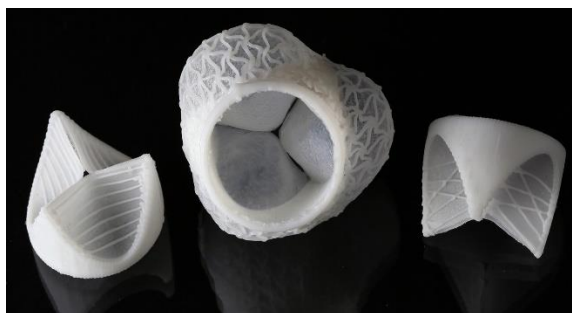


Figura 4.4 valvola cardiaca in silicone stampata in 3D.

4.3 Scaffold sintetici

Sono stati sviluppati due tipi principali di scaffold: impalcature derivanti da tessuto biologico decellularizzato e scaffold in polimeri sintetici o naturali.

I polimeri sintetici o naturali biodegradabili sono maggiormente utilizzati rispetto ai tessuti biologici perché offrono una serie di vantaggi. Per esempio, le caratteristiche meccaniche, la geometria, i tassi di degradazioni dell'impalcatura possono essere controllati da bioreattori e dal processo di fabbricazione. Inoltre, le reazioni immunogeniche, rispetto ai materiali biologici, sono limitate perché non presentano antigeni in grado di provocare processi avversi. Anche la facile disponibilità e durabilità nel tempo dei polimeri, contribuiscono a favorire l'utilizzo di tali materiali come impalcature.

I primi materiali polimerici studiati per la realizzazione di impalcature furono l'acido poliglicolico (PGA) e l'acido polilattico (PLA), poliesteri che si degradano per idrolisi se esposti in acqua (Figura 4.5). Sebbene entrambi i biomateriali siano idrofili, il PGA si degrada più facilmente in ambiente acquoso perché mostra maggiore affinità in acqua rispetto al PLA. Tale proprietà è dovuta alla mancanza nella struttura dell'acido poliglicolico di un gruppo metilico rispetto al PLA. Il gruppo funzionale metilico, presente nel PLA, conferisce maggiore idrofobilità e di conseguenza una degradazione più lenta (circa 2 anni contro i 2/3 mesi del PGA). Attualmente, sono i polimeri sintetici biodegradabili considerati più sicuri, non tossici, biocompatibili. Vengono utilizzati in numerosi impianti medici. Tuttavia, gli esperimenti in vivo e vitro hanno mostrato alcuni

svantaggi sull'utilizzo di scaffold interamente in PLA e PGA. Le cuspidi della valvola cardiaca tissutale risultavano più spessi e meno flessibile delle valvole naturali. Inoltre, sono considerati scarsi substrati per la crescita dei tessuti e cellule [17].



Figura 4.5 Struttura PGA e PLA.

Un altro tipo di materiale è stato studiato: il *poliidrossialcanoati* (PHA). I PHA sono una classe di polimeri poliesteri termoplastici naturali, sintetizzati da diversi microrganismi per fermentazione di zuccheri e lipidi, in aggiunta rappresentano una riserva carboniosa per i batteri (Figura 4.6). Questi materiali sono biodegradabili e la loro struttura generale è:

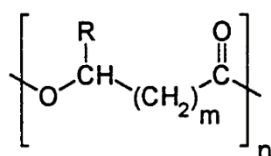


Figura 4.6 struttura PHA.

I poliidrossialcanoati hanno proprietà fisiche e chimiche che variano ampiamente in base alle catene laterali (R) e alla lunghezza della catena principale (m). La velocità di degradazione, quindi, può essere regolata variando il rapporto dei copolimeri e il gruppo funzionale. Grazie alla capacità di deformarsi plasticamente sotto sollecitazione cicliche, questa classe di polimeri presenta caratteristiche meccaniche molto simili alle valvole native. Uno studio in vivo su un'animale ovino ha osservato che a 17 settimane dall'impianto di una struttura porosa di PHA, la degradazione non era ancora avvenuta. Un prolungato tempo di degradazione può aumentare le reazioni indesiderate da parte del tessuto ospite. Inoltre, si è notato che sopra i lembi non si era formato tessuto endoteliale. Per ridurre i problemi di rigidità e stabilità dell'impalcatura, Hoersstrup et al. [24] hanno analizzato il comportamento di un'impalcatura combinata con PGA con una pellicola di *poli-4-idrossibutirrato* (P4HB) per elettrofilatura.

Il P4HB è un omopolimero termoplastico flessibile, cristallino e biodegradabile, con un tasso inferiore di degradazione rispetto al PGA. Dopo 14 giorni nella coltura in vitro seminata con cellule endoteliali ovine, la valvola è stata piantata in vivo su un modello animale ovino. Le prestazioni meccaniche e il tessuto stratificato sostituito al polimero degradato presentavano somiglianze alla valvola nativa. Successivamente dopo numerosi esperimenti hanno notato molteplici rotture e frammentazioni dell'impalcatura nella coltura in vitro, quindi tale studio è stata abbandonato.

Alcune ricerche [9] si sono focalizzate sullo studio del *poliglicerolo sebacato* (PGS), un elastomero biocompatibile, biodegradabile, flessibile e resistente. Le proprietà meccaniche del PGS possono essere regolate dal processo di polimerizzazione; la temperatura di indurimento è in diretta relazione con il modulo di Young, l'aumento del tempo di indurimento conferisce un maggiore modulo tangente e un accrescimento delle moli del glicerolo, rispetto all'acido sebacico, portano a un modulo tangente inferiore. Scaffold di PGS microporosi a forma di diamante sono stati seminati con cellule VIC per 28 giorni. Il collagene formato dalle cellule era allineato all'interno dei micropori. Nonostante la capacità di tollerare ampie deformazioni reversibili e le interessanti proprietà meccaniche, il PGS ha una scarsa attitudine ad assorbire acqua (2%) e difficoltà nel fondere strutture micro nanofibrose, queste caratteristiche ne limitano l'utilità per l'ingegneria tissutale.

Un recente studio, [26] svolto dai ricercatori dell'università di Missouri, ha analizzato un'impalcatura di elastomeri a tre strati, ottenuta mediante elettrofilatura, del polimero di policaprolattone (PCL) e poli(L-lattide-co- ϵ -caprolattone) (PLCL) e successivamente confrontata con uno scaffold a tre strati di PCL. Entrambi i substrati sono stati seminati da cellule ovine e fatti coltivare in una coltura cellulare per un mese in condizioni statiche. I risultati per lo scaffold di PCL/PLCL sono stati sorprendenti, l'anisotropia e la flessibilità erano molto elevate. Queste proprietà hanno conferito: una maggiore proliferazione cellulare, produzione di ECM, infiltrazione e resistenza alla calcificazione rispetto ai costrutti coltivati su PLC. Questa scoperta ha messo le basi per lo studio di un nuovo polimero biodegradabile.

4.4 Fonti cellulari

Il successo del processo di una semina cellulare è strettamente collegato al tipo di biomateriale utilizzato per l'impalcatura 3D e la sua architettura. Infatti, uno scaffold in grado di garantire un canale di ossigeno e sostanze nutritivi accelera la proliferazione e migrazione delle cellule seminate. Tipicamente le cellule utilizzate vengono raccolte dai tessuti del paziente in modo da non provocare reazioni avverse. La scarsa disponibilità e l'alta probabilità di prelevare cellule infette dal paziente malato rende svantaggiosa questa fonte. Tuttavia, la ricerca si sta concentrando sul prelievo di *cellule staminali* dal sangue periferico, dal midollo osseo e dal cordone ombelicale [5].

Conclusioni

L'uso delle protesi cardiache ha dimostrato di essere un salvavita per molti pazienti con patologie cardiache, tuttavia, c'è ancora molta strada da fare.

Purtroppo, non esiste una valvola clinicamente in uso perfetta, che non abbia svantaggi. Le valvole meccaniche necessitano di una terapia anticoagulante e sono più comuni tra i pazienti giovani perché hanno una durata quasi illimitata. Mentre le protesi biologiche rappresentano una soluzione preferita per gli individui di una certa età a causa della durata limitata dovuta alla formazione di calcificazioni.

Tuttavia, le innovazioni recenti nel campo delle protesi cardiache stanno aprendo nuove opportunità sull'ingegneria tissutale per permettere di migliorare ulteriormente la qualità della vita dei pazienti. La costruzione della valvola tissutale si pone di utilizzare scaffold sintetici biodegradabili e biocompatibili con lo scopo di ridurre l'effetto collaterale causato dai materiali considerati estranei per il nostro organismo. Studi recenti hanno dimostrato che scaffold fibrosi, caratterizzati da nanofibrille prodotte mediante elettrofilatura, migliorano l'adesione e proliferazione cellulare, possiedono buone proprietà meccaniche e un buon rapporto area/volume con aumento dell'assorbimento proteico e maggiore attaccamento delle cellule.

Anche i continui progressi nelle tecniche di bioprinting offrono la possibilità di fabbricare protesi cardiache personalizzate in base alle esigenze specifiche di ogni paziente, questo tipo di tecnologia di produzione apre nuove frontiere nella medicina personalizzata. Il successo di una protesi cardiaca tessutale dipenderà: dai progressi dell'utilizzo di nuovi polimeri biodegradabili per le impalcature, dalla loro velocità di degradazione nell'ambiente fisiologico, nella manipolazione delle cellule staminali, dal modo in cui viene generata la ECM, dai metodi di fabbricazione utilizzati per la produzione degli scaffold e dalle caratteristiche del nuovo tessuto creato. L'utilizzo di cellule staminali autologhe prelevate dal midollo osseo combinate con impalcature sintetiche fibrose biodegradabili è una buona e possibile soluzione per il futuro nel campo delle protesi cardiache, che offre speranza per i pazienti di tutte le età.

Riferimenti bibliografici

- 1) *Andrea Colli*. La degenerazione della bioprotesi valvolari cardiache: nuovi trattamenti biotecnologici per prevenire il rigetto, 2023.
- 2) *Bernard Prendergast*. Changing epidemiology and natural history of valvular heart disease. Clin Med, 2010, 168-171.
- 3) *Carlo Dal Lin e Renato Razzolini*. Fisiopatologia della stenosi valvolare aortica, 2014.
- 4) *Dee Unglaub Silverthorn*. Fisiologia umana, un approccio integrato. Ottava edizione Pearson, 2020, cap. 14, 410-479.
- 5) *Ehsan Fallahiarezoudar, Mohaddeseh Ahmadipourroudposht, Ani Idris, Noordin Mohd Yusof*. A review of: Application of synthetic scaffold in tissue engineering heart valves. Materials Science and Engineering: C, Volume 48, 1 March 2015, Pages 556-565.
- 6) *Elisa Rauseo, Eleonora Indolfi, Vincenzo Paravati, Carlo Gaudio*. La procedura Ross nell'insufficienza aortica: ruolo dell'imaging ecocardiografico. Vol.15, n° 3 – 2013, Dipartimento di Scienze Cardiovascolari, Respiratorie, Nefrologiche e Geriatriche. Policlinico Umberto I. Università "Sapienza" Roma.
- 7) *Fergal B. Coulter, Manuel Schaffner, Jakob A. Faber, Ahmad Rafsanjani, Robinm Smith, Harish Appa, Peter Zilla, Deon Bezuidenhout, André R. Studart*. Bioinspired Heart Valve Prosthesis Made by Silicone Additive Manufacturing. Pubblicato sulla rivista Matter 2019, pag. 266-279.
- 8) *Giovanni Felice Trinchesea, Emanuele Calabrese, Giampiero Calabrò, Francesco Lisanti*, Gli scaffold in medicina rigenerativa. Lo Scalpello 2019, 33:230-236.
- 9) *Ibrahim, Dina M., Kakaroukas, Andreas, Allam, Nageh K*. Recent advances on electrospun scaffolds as matrices for tissue-engineered heart valves. Materials Today Chemistry 2017, 5, 11–23.
- 10) *Jana, S., Tefft, B.J.; Spoon, D.B.; Simari*. Scaffolds for tissue engineering of cardiac valves. Acta Biomaterialia 2014, 10(7), 2877–2893.

- 11) *Kalyani nair, c v Muraleedharan and g s Bhuvaneshwar*. Developments in mechanical heart valve prosthesis. *Sādhanā* Vol. 28, Parts 3 & 4, June/August 2003, pp. 575–587.
- 12) *Karen Mandelson e Frederick J. Schoen*. Heart Valve Tissue Engineering: Concepts, Approaches, Progress, and Challenges. 34, pagine 1799–1819 (2006).
- 13) *Lee, H., Homma, A., and Taenaka, Y.* Hydrodynamic characteristics of bileaflet mechanical heart valves in an artificial heart: cavitation and closing velocity. *Artificial Organs*. 31 (7):532-537, 2007.
- 14) *M. Ross, C. James and G. Couzens*. Pyrocarbon small joint arthroplasty of the extremities, 2014, cap. 19, 628-673.
- 15) *Manuale MSD versione per i professionisti*. Panoramica sulle patologie valvolari cardiache: Insufficienza aortica e stenosi aortica.
- 16) *Marco Delli Zotti* Valvole meccaniche vs biologiche: una scelta a misura di paziente! Pro-Test Italia, 2013.
- 17) *Michael S Sacks, Ali Mirnajafi, Wei Sun and Paul Schmidt*. Bioprosthetic heart valve heterograft biomaterials: structure, mechanical behavior and computational simulation. *Expert Review of Medical Devices*, 3(6), 817–834.
- 18) *Peter Fong; Toshiharu Shin'oka; Reynold I. Lopez-Soler; Christopher Breuer* (2006). The use of polymer based scaffolds in tissue-engineered heart valves, *21(2)*, 193–199.
- 19) *Pio Caso, Angela Fusco, Rosalia lo Piccolo M. Vanessa Betancourt Cordido e Raffaele Calabrò*. Stenosi aortica: come valutarla, come trattarla, 2006.
- 20) *PM Dohmen*. Clinical results of implanted tissue engineered heart valves. *HSR Proc Intensive Care Cardiovasc Anesth*. 2012; 4(4): 225–231
- 21) *Radoslaw A. Rippel, Hossein Ghanbari & Alexander M. Seifalian*. Tissue-Engineered Heart Valve: Future of Cardiac Surgery. *World Journal of Surgery* volume 36, pages 1581–1591 (2012).
- 22) *Robert B. More, Axel D. Haubold and Jack C. Bokros*. (2013). Pyrolytic carbon for long-term medical implants. In B. D. Ratner, A. S. Hoffman & F. J. Schoen (Eds.), *Biomaterials Science* (pp. 209–222).

- 23) *Samuele Ceruti*. Insufficienza valvolare aortica, *Manuale di medicina intensiva*, 2013 cap. 2.12.6.
- 24) *Sarah Brody; Abhay Pandit*. Approaches to heart valve tissue engineering scaffold design, (2007). 83B (1), 16–43.
- 25) *Stefania Rizzo, Gaetano Thiene e Cristina Basso*. Aspetti anatomo- patalogici, (2014).
- 26) *Yuriy Snyder; Soumen Jana*. Electrospun Elastomeric Leaflet Substrates that Structurally and Mechanically Mimic Human Aortic Valve Leaflets. *ACS Applied Polymer Materials* 2023, 3749-3761.