



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



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

***Gli scaffold, nuove impalcature biomimetiche per la crescita
e lo sviluppo di tessuto mammario, a seguito di interventi di
mastectomia***

Relatrice: Prof.ssa Alice Berardo

Laureanda: Margherita Roman

ANNO ACCADEMICO 2022 – 2023

Data di laurea 17 luglio 2023

INDICE

INDICE	2
CAPITOLO I.....	4
ANATOMIA E TUMORE DELLA MAMMELLA	4
1.1 INTRODUZIONE	4
1.2 ANATOMIA DELLA MAMMELLA	4
1.3 ANATOMIA, FUNZIONI E PROPRIETÀ MECCANICHE DEI TESSUTI DELLA MAMMELLA.....	8
1.3.1 <i>Tessuto connettivo</i>	8
1.3.2 <i>Tessuto epiteliale di rivestimento</i>	9
1.3.3 <i>Tessuto epiteliale ghiandolare</i>	10
1.3.4 <i>Tessuto adiposo</i>	10
1.4 CARCINOMA DEL SENO	11
1.5 INTERVENTO DI MASTECTOMIA.....	14
CAPITOLO II	15
INGEGNERIA TISSUTALE PER LO SVILUPPO DI NUOVE IMPALCATURE	
BIOMIMETICHE (SCAFFOLD)	15
2.1 INTRODUZIONE	15
2.2 BIOMATERIALI PER LA REALIZZAZIONE DELLO SCAFFOLD	17
2.2.1 <i>Biomateriali naturali</i>	17
2.2.2 <i>Biomateriali sintetici</i>	19
2.3 SCAFFOLD.....	20
2.3.1 <i>Scaffold naturali</i>	22
2.3.2 <i>Scaffold sintetici</i>	24
2.4 MATRICE EXTRACELLULARE (ECM)	27
2.5 SCAFFOLD BIOLOGICI.....	29
CAPITOLO III.....	31
DESCRIZIONE DI BREVETTI ATTUALMENTE REALIZZATI CON IMPIEGO DI	
SCAFFOLD	31
3.1 INTRODUZIONE	31
3.2 DISPOSITIVO IMPIANTABILE A BASE DI IDROGEL	32

3.3 PROTESI RIASSORBIBILI PER CHIRURGIA PLASTICA	35
3.4 IMPIANTO PER LA SOMMINISTRAZIONE LOCALIZZATA DI FARMACI.....	38
.....	40
CONCLUSIONI.....	41
BIBLIOGRAFIA	43

CAPITOLO I

ANATOMIA E TUMORE DELLA MAMMELLA

1.1 Introduzione

Il seno nella donna ha sempre rappresentato un simbolo di grande femminilità, fertilità e maternità. Allo stesso modo è oggetto di desideri sessuali e mezzo di propaganda per abiti, moda, cosmetica e chirurgia plastica. Nell'immaginario femminile è il vero perno attorno al quale ruota l'immagine corporea della donna. Diverse possono essere le sue forme e volume. Possiamo trovarlo a goccia o a forma più rotonda, piccolo o grande, alto oppure calante. Queste diversità e singolarità di ogni seno femminile nelle quali ogni donna si identifica, non devono essere sottovalutate nel corso di una "risoluzione chirurgica" obbligata dalla comparsa e sviluppo del tumore alla mammella. Nel caso peggiore la donna sarà costretta a rimozione e ricostruzione di una singola o di entrambe le parti e dovrà fare i conti con una nuova immagine di se stessa e con una nuova sessualità. In conseguenza di queste problematiche, equipe mediche e ingegneri stanno studiando le soluzioni migliori per la ricostruzione del seno, che possano garantire in contemporanea ottimi risultati estetici e funzionali.

1.2 Anatomia della mammella

La mammella è un organo pari e simmetrico che fa parte degli annessi del tegumento e nel suo spessore accoglie la ghiandola mammaria. Il volume e la forma della mammella variano notevolmente in rapporto al sesso, all'età e all'etnia; più comune nelle popolazioni europee è la forma semisferica, al contrario la forma conica la possiamo riscontrare in quelle di origine africana. Fino alla pubertà le mammelle sono rudimentali e rappresentate soltanto dal capezzolo e dall'areola, dopo la pubertà e con la gravidanza le dimensioni possono subire diverse variazioni, dovute sia all'aumento della ghiandola mammaria sia del tessuto adiposo che l'avvolge, fino ad arrivare in età anziana quando il grasso scompare e la mammella si riduce a una piega cutanea raggrinzita. La mammella giace sulla fascia pettorale profonda, occupando un'area quadrangolare delimitata orizzontalmente dal margine laterale dello sterno alla linea medio-ascellare e verticalmente il limite superiore è stabilito da linee tracciate tra la terza e la settima costa, mentre quello inferiore è segnato dal solco inframammario che la separa dalla parte toracica [1]–[3].

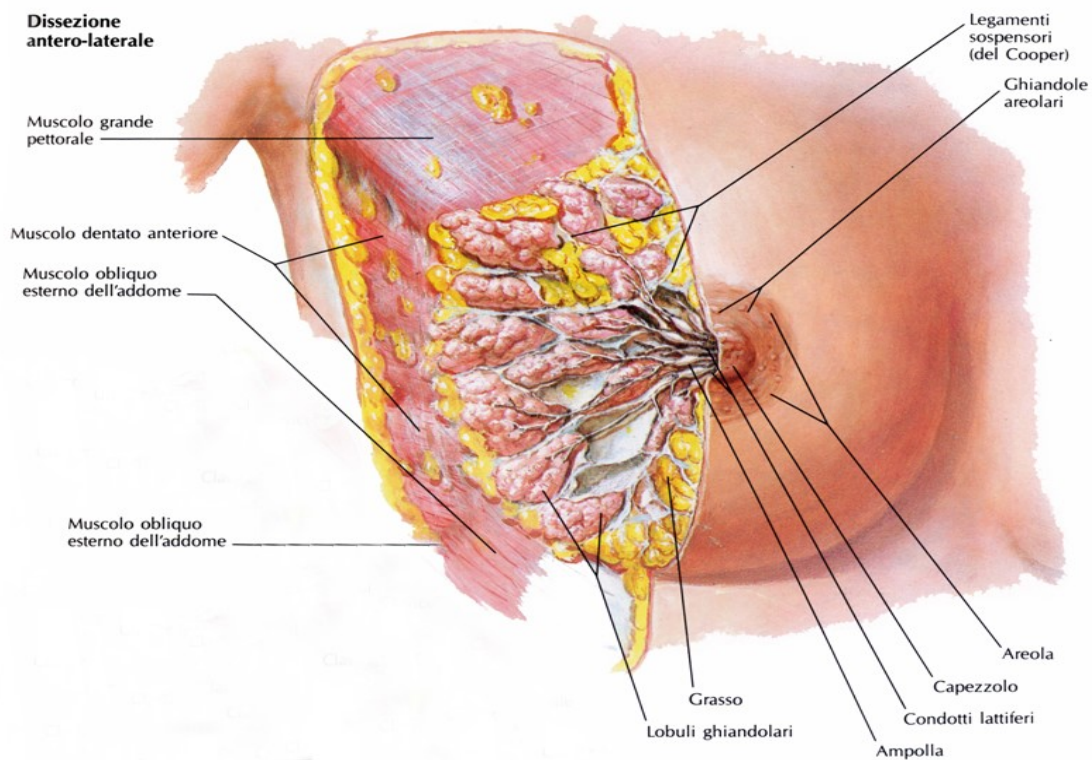


FIGURA 1.2.1 - Dissezione antero-laterale della mammella

La struttura esterna del seno comprende la cute, che riveste interamente la ghiandola mammaria e il complesso areola capezzolo. La cute è sottile e liscia; può presentare smagliature dovute ad un eccesso di distensione per stato gravidico o per precedenti allattamenti. Al centro la cute si modifica per costituire l'areola e il capezzolo [3].

L'areola è una zona circolare, pigmentata e con colorito della cute più scuro, normalmente si sviluppa lungo un diametro di circa 15-20 mm. Sulla sua superficie sporgono numerosi rilievi, chiamati tubercoli areolari (di Morgagni), che corrispondono a voluminose ghiandole sebacee. Durante la gravidanza questi aumentano di volume assumendo l'aspetto di noduli (tubercoli di Montgomery). Sempre lungo la superficie dell'areola troviamo ghiandole sudoripare eccrine e apocrine con funzione lubrificante.

Il capezzolo si trova all'apice della mammella, al centro dell'areola, ed ha una forma cilindrica. È lungo circa 10-12 mm con un diametro di circa 9 mm. Presenta una superficie irregolare nella quale si aprono degli sbocchi, i pori lattiferi, circa 15-20, dei dotti galattofori. Anche la cute del capezzolo è presente in colorito più scuro, al di sotto della quale troviamo cellule muscolari lisce, disposte circolarmente e radialmente, che insieme a quelle dell'areola formano il muscolo areolopapillare. Questo contraendosi per effetto di stimoli tattili o della suzione, favorisce l'erezione del capezzolo. Rispetto al piano cutaneo, infatti, il capezzolo è più o meno rilevato;

occasionalmente, questo può essere retratto sotto la superficie cutanea, ma, se stimolato, si estroflette verso l'alto e l'esterno. Questo meccanismo serve per favorire l'allattamento, ma si manifesta anche in caso di eccitazione sessuale o quando c'è particolarmente freddo. Troviamo anche dei recettori tattili, i corpuscoli di Winkelmann, all'apice del capezzolo.

Più internamente troviamo la ghiandola mammaria, il componente fondamentale della mammella. Si tratta di una ghiandola esocrina, di colore grigio-giallastro che ha il compito di produrre il latte durante l'allattamento sotto controllo della prolattina, un ormone secreto dall'ipofisi. Si presenta come una massa irregolarmente quadrangolare, con quattro prolungamenti più o meno evidenti: superomediale, superolaterale, inferomediale e inferolaterale. Nella massa ghiandolare distinguiamo una parte periferica, costituita da circa 15-20 strutture ghiandolari indipendenti fra loro, i lobi, separati da tessuto connettivo più o meno ricco di adipe, collegati ad una serie di lobuli secretori; ed una parte centrale di colore biancastro dove troviamo i dotti galattofori, prolungamento dei lobuli, avvolti da tessuto connettivo denso, specializzati nel far confluire il latte verso l'apertura esterna. In prossimità dell'areola, ogni dotto presenta una dilatazione, il seno galattoforo, che penetra nel capezzolo per aprirsi all'esterno [1], [3].

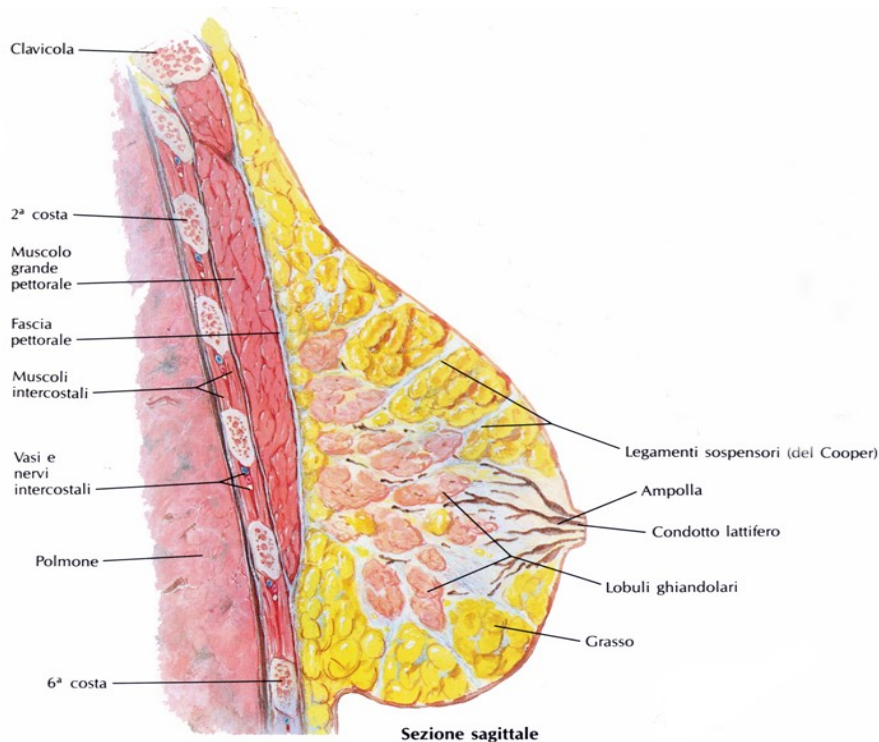


FIGURA 1.2.2 - Sezione sagittale della mammella

L'apporto arterioso alla mammella proviene da quattro arterie differenti: l'arteria toracica interna, un ramo dell'arteria succlavia, per la porzione superomediale; le arterie intercostali anteriori seconda, terza e quarta per la superficie profonda della mammella; l'arteria toracica laterale, facente parte dell'arteria ascellare, per la porzione laterale ed infine il ramo pettorale dell'arteria toracoacromiale per la porzione superolaterale. Al contrario le vene formano un plesso venoso superficiale, di notevole sviluppo soprattutto nell'areola e si gettano nelle vene ascellari e toraciche interne. In particolar modo durante l'allattamento il plesso venoso si dilata e spesso traspare sotto la cute sottile.

Di notevole interesse clinico sono i vasi linfatici della mammella, che svolgono un ruolo importante nello sviluppo e diffusione del carcinoma mammario. La mammella è provvista di una rete linfatica cutanea superficiale connessa con quella delle regioni vicine, che va a formare la rete areolare attorno al capezzolo e l'areola; e di una rete linfatica ghiandolare costituita da vasi linfatici inter- e perilobulari che si gettano nel plesso sottoareolare. Da quest'ultimo nascono tre diversi vasi linfatici che coinvolgono la mammella: quelli del gruppo laterale, scorrono oltre il margine laterale del muscolo grande pettorale e si gettano nei linfonodi omerali e centrali; quelli del gruppo mediale, attraversano il muscolo grande pettorale, dopo aver raccolto la linfa della porzione mediale della ghiandola e si gettano nei linfonodi parasternali; infine quelli del gruppo retromammario, si dirigono verso i linfonodi centrali dalla faccia posteriore della mammella [3].

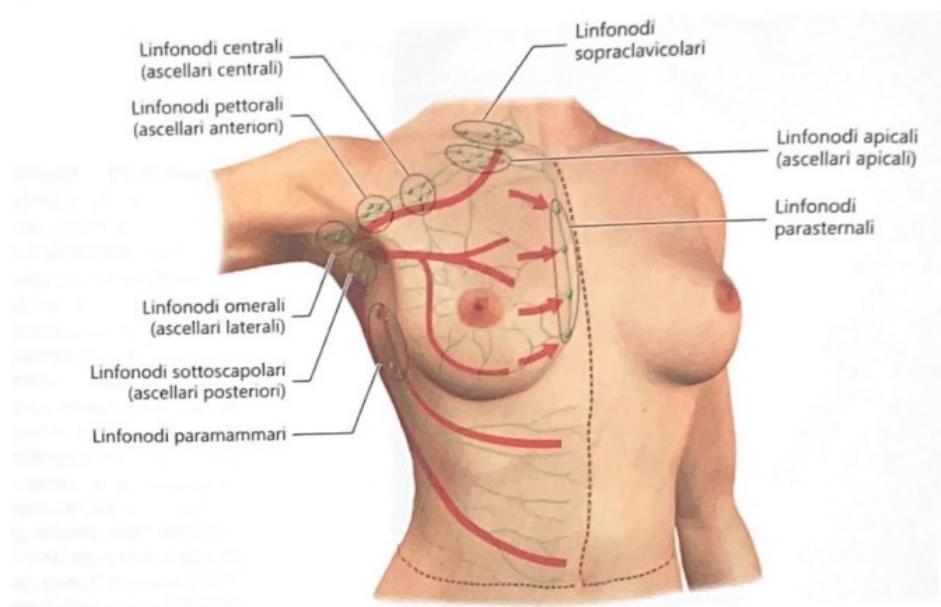


FIGURA 1.2.3 - *Principali stazioni linfonodali della mammella*

1.3 Anatomia, funzioni e proprietà meccaniche dei tessuti della mammella

La mammella è un organo eterogeneo, questa sua eterogeneità la possiamo riscontrare nei diversi tipi di tessuto che la compongono. Conoscere le proprietà meccaniche e la composizione dei tessuti mammari è importante per studiare gli effetti di tecniche di chirurgia plastica per la ricostruzione del seno così come per la progettazione dell'estetica delle protesi mammarie [4]. Un tessuto è un raggruppamento di cellule aventi forma, struttura e funzioni simili, immerse in una sostanza (matrice extracellulare) di composizione variabile da tessuto a tessuto. Nella mammella possiamo incontrare: tessuto connettivo, tessuto epiteliale di rivestimento, tessuto epiteliale ghiandolare e tessuto adiposo, in quantità rilevanti.

1.3.1 Tessuto connettivo

Il tessuto connettivo è caratterizzato da un'abbondante quantità di sostanza extracellulare, la matrice extracellulare, sostanza amorfa nella quale sono disperse le cellule e le fibre caratteristiche del tessuto connettivo, le quali sono fibre di collagene, reticolari ed elastiche. La diversa composizione e disposizione spaziale di queste con la matrice consentono di suddividere in sottocategorie i vari tipi di tessuto connettivo. Lo strato adiposo sottocutaneo nella mammella è attraversato da legamenti sottili o anche detti legamenti di Cooper, costituiti da tessuto connettivo. Si dispongono obliquamente rispetto alla superficie cutanea, dalla pelle alla fascia pettorale profonda. I legamenti sono composti da fasci di fibre di collagene strettamente impaccati, nei quali i fibroblasti sono le cellule maggiormente presenti. La loro disposizione gli permette di fornire una stabilità strutturale alla mammella, mantenendola elevata e aderente alla gabbia toracica. Il tessuto connettivo inoltre protegge i vari organi contenuti internamente, fornendo un'impalcatura di sostegno e favorisce lo scambio e il trasporto di sostanze. Dal punto di vista delle proprietà meccaniche non sono stati effettuati studi o ricerche sui legamenti sospensori del seno, i dati raccolti sono stati estrapolati da altre strutture simili per composizione e funzione nel corpo umano. Prendendo d'esempio i legamenti del ginocchio, che ci permettono di esaminare quelli sospensori, sono caratterizzati per il 65-70% del loro peso dalla presenza di acqua, il resto viene suddiviso maggiormente tra tre tipi di collagene. Il collagene di tipo I, il più presente con un totale del peso tra 70-80% e responsabile della resistenza alla trazione del tessuto, ovvero la forza di trazione massima applicata ad un provino quando viene allungato per rompersi. Test effettuati sui legamenti del ginocchio danno come risultato della tensione massima alla quale il provino resiste un valore di 40 MPa.

Successivamente in ordine di composizione troviamo il collagene di tipo V, con un 12% del peso e il collagene di tipo III, con un 8% del peso. Inoltre è stato riportato un range di valori tra 80-400 MPa per il modulo elastico a trazione di questo tessuto. Con l'avanzare dell'età è stato verificato come questi risultati subiscano una diminuzione di valore notevole [4], [5].

1.3.2 Tessuto epiteliale di rivestimento

Il tessuto epiteliale è costituito da cellule strettamente connesse tra loro, a causa di questo la matrice extracellulare sarà poco presente per il ridotto spazio. Le cellule dell'epitelio sono tenute strettamente tra loro per mezzo di modificazioni delle membrane di cellule adiacenti, che permettono loro di potersi incastrare l'una nell'altra. La membrana basale, gli permette di ancorarsi al tessuto connettivo sottostante, e di ricavare sostegno e nutrizione, vista la mancanza di vasi sanguigni nell'epitelio. Si possono distinguere tre tipi principali di epitelio: quello di rivestimento, ghiandolare e sensoriale. La pelle, o propriamente detta epidermide è la superficie esterna esposta all'ambiente, che riveste la ghiandola mammaria. La pelle infatti è formata da tre strati: l'epidermide, il più superficiale, il derma e l'ipoderma, il più profondo. L'epidermide quindi è un tipo di tessuto epiteliale di rivestimento, più accuratamente pavimentoso pluristratificato con cellule appiattite su più strati. Il suo spessore varia tra i 50 e 100 μm , le cellule che la compongono sono prevalentemente costituite da cheratina, un materiale abbastanza rigido e duro. Fornisce quindi protezione meccanica da forze potenzialmente lesive e urti, funge da barriera contro germi o la perdita di liquidi. Il derma, al contrario, è per la maggiore un connubio di collagene e fibre di elastina immerse in un liquido viscoso di acqua e glicoproteine, per uno spessore totale che varia dalla collocazione di 1-3 mm. L'ipoderma infine è principalmente composto di cellule adipociti [4], [5] Grazie a questa eterogeneità della cute, le sue proprietà meccaniche sono non lineari, viscoelastiche e anisotrope. Nonostante questo per tensioni inferiori del 50% può essere considerata un materiale lineare isotropo. Diversi studi sulla risposta della cute ad uno sforzo impresso hanno confermato che la proprietà dell'elasticità si riduce in pelli di età avanzata, come anche lo sforzo totale dopo l'applicazione di una forza, questo causa quindi l'aumento del modulo elastico in persone più adulte. Normalmente varia tra i 0.2 e 3 MPa, ma può incrementare nel corso del tempo del 30%. A seguito di esperimenti in vitro effettuati sulla pelle del petto, comprendente anche quella della mammella, i risultati concordano sul valore dello spessore della cute sul petto di 2mm circa e sul valore di resistenza alla trazione del tessuto di circa 20 MPa [4].

1.3.3 Tessuto epiteliale ghiandolare

Il tessuto ghiandolare è un tipo specifico di tessuto epiteliale e questo comporta la stessa organizzazione a livello cellulare del tessuto epiteliale. Si può riscontrare la differenza nel tipo di cellule coinvolte, quelle del ghiandolare producono e secernono determinate sostanze. Queste cellule se raggruppate vanno a formare dei veri organi, le ghiandole. Le ghiandole si suddividono in ghiandole endocrine, che rilasciano la sostanza prodotta all'interno del nostro corpo, nei vasi sanguigni e ghiandole esocrine, come nel caso della ghiandola mammaria che rilasciano il loro secreto all'esterno del nostro corpo per mezzo dei dotti galattofori, a loro volta ricoperti di epitelio di rivestimento [5] Gli studi effettuati sulle proprietà meccaniche di questo tessuto mostrano come i moduli elastici tangenziali se messi a confronto affermino una maggiore rigidità nei valori riferiti al tessuto ghiandolare rispetto quello adiposo. In base al tipo di sollecitazione e al modo in cui viene imposta al tessuto, quello ghiandolare riporta un modulo elastico che varia tra 2 e 66 kPa [4].

1.3.4 Tessuto adiposo

Il tessuto adiposo è una categoria del tessuto connettivo. Originato dal mesoderma, questo si suddivide in: tessuto adiposo bruno e bianco. La loro presenza a livello quantitativo nel corpo umano varia con l'età della persona. Quello bruno (BAT) lo si può trovare maggiormente nei neonati, è molto attivo metabolicamente e nel mantenimento della temperatura corporea. Negli adulti invece viene rimpiazzato dalla presenza di tessuto adiposo bianco (WAT), anche questo fondamentale come riserva energetica e regolazione termica. Questo tessuto, grazie all'abbondante presenza e funzione svolta, è quello fondamentale nella mammella. È costituito prevalentemente da fluido lipidico, per il 60-85% del suo peso, a sua volta composto da trigliceridi per il 90-99%, e da digliceridi, fosfolipidi del colesterolo e piccole quantità di esteri del colesterolo e monogliceridi. Il restante peso è dovuto alla presenza di acqua (5-30%) e proteine (2-3%). Gli adipociti sono le cellule rotonde che vanno a costituire il tessuto adiposo, il cui nucleo è addossato alla membrana per la presenza di una grossa goccia di grasso nel citoplasma. Il modulo elastico tangenziale assunto per il tessuto adiposo da campioni acquisiti dal seno varia tra 0.5 – 25 kPa. Inoltre, per ceppi tissutali superiori al 15%, il modulo della rigidità del tessuto raggiunge quello del tessuto ghiandolare; al contrario sulle proprietà di resistenza del tessuto, pochi sono stati gli studi svolti per testarle tanto da non aver assunto nessun dato valido. Poiché a 37° C il tessuto adiposo è maggiormente liquido, questo porterà ad avere un modulo elastico più basso in vivo rispetto a quello testato in vitro a temperatura ambiente [4], [6].

TESSUTO	Modulo elastico [kPa]	Resistenza a trazione [MPa]	Bibliografia
Tessuto connettivo (legamenti di Cooper)	$80 \cdot 10^3 - 400 \cdot 10^3$	40	[4]
Tessuto epiteliale (cute)	200-3000	20	[4]
Tessuto ghiandolare (ghiandola mammaria)	2-66	Non ricavato	[4]
Tessuto adiposo	0.5-25	Non ricavato	[4]

TABELLA 1.3.1 – Proprietà meccaniche riassunte dei tessuti componenti la mammella

1.4 Carcinoma del seno

Uno dei principali motivi per i quali le donne necessitano di una ricostruzione parziale o totale del seno è dovuto al cancro, oltre che a ragioni estetiche. Analizzando i dati raccolti in questi ultimi anni, il cancro al seno è stato classificato come uno dei tumori più frequenti nelle donne, questo dovuto al suo altissimo tasso di incidenza e diffusione. I dati ci informano che ogni anno vengono diagnosticati 1,67 milioni di nuovi casi di cancro al seno, che se confrontati con la percentuale di tutti i casi di tumore questi coprono il 25% del totale, dei quali circa 570.000 sono i deceduti annuali [7].

Ad oggi l'efficienza di una diagnosi precoce può portare ad una buona prognosi e ad un alto tasso di sopravvivenza. Nel Nord America i dati lo possono confermare, il tasso di sopravvivenza relativa a cinque anni delle pazienti affette da tumore al seno è superiore all'80% grazie alla prevenzione tempestiva di questa malattia. La prima soluzione preventiva da seguire è l'autopalpazione e l'osservazione di improvvisi cambiamenti nell'estetica della mammella. La massa ascellare palpabile, l'inversione del capezzolo, l'eritema cutaneo, la secrezione del capezzolo, l'asimmetria del seno e l'ispessimento della pelle del seno (peau d'orange) sono tutte manifestazioni di una possibile comparsa del carcinoma. La mammografia è un metodo di indagine ampiamente utilizzato per la rilevazione della malattia, anche se nuove tecniche di screening più sensibili e attendibili sono state sviluppate nell'ultimo decennio, come la risonanza magnetica (MRI) [8], [9].

Il cancro è una malattia caratterizzata dalla crescita anomala delle cellule. Se normalmente le cellule sono organizzate secondo un ordine preciso e hanno uno specifico processo evolutivo che comprende la nascita, la differenziazione, la migrazione e la morte; quelle cancerogene

hanno un nucleo di forma insolita con un'organizzazione differente dei cromosomi. Queste ultime si sottopongono al processo di divisione cellulare in modo incontrollato, andando ad invadere nel giro di pochissimo tempo i tessuti e gli organi non contaminati circostanti, come ossa, fegato, polmoni e cervello, il che spiega principalmente la sua difficile curabilità. Tale comportamento ci permette di distinguere due tipi di tumore: quello benigno e quello maligno. Un tumore benigno resta localizzato, non si diffonde, non andando così a compromettere tessuti o organi sani. Al contrario un tumore maligno ha la capacità di espandersi in altre parti del corpo attraverso il sistema linfatico e circolatorio [10].

La soluzione curativa del cancro al seno dipende dallo stadio in cui esso si trova, a sua volta condizionato da diversi fattori come: la grandezza del tumore, la sua espansione e l'attacco ai linfonodi. Ad oggi il carcinoma viene suddiviso in cinque principali stadi, caratterizzati da una gravità crescente, che permettono di identificarlo e trovare più rapidamente migliori opzioni di trattamento. Lo stadio 0, o anche detto carcinoma in situ, è la fase con gravità minima, il cancro resta confinato nella zona del seno e le cellule cancerogene si trovano lungo i dotti galattofori o in piccole sezioni della mammella. La possibilità di sopravvivenza a questo stadio è del 100%. Lo stadio 1, o fase iniziale, vede il tumore con dimensioni massime di circa 200mm, sempre confinate nella zona del seno. La probabilità di sopravvivere è al 98%. La fase 2, differisce dalla 1 per le dimensioni maggiori del tumore tra i 200 e 500mm, inoltre manifesta un'alta probabilità di diffusione del cancro ai linfonodi ascellari. Lo stadio 3, o diffusione regionale, è caratterizzata dallo sviluppo del carcinoma ai linfonodi ascellari, con una sintomatologia chiaramente evidente come fossette, cambiamento del colore e consistenza della pelle o infiammazione. Questo stadio ha un tasso di sopravvivenza del 52%. L'ultimo stadio il quarto, o distante diffusione, è il più grave, il cancro è diventato un carcinoma mammario metastatico a tutti gli effetti, andando a diffondersi oltre il seno, nei polmoni, nel cuore o nel fegato, con un tasso di sopravvivenza molto basso per le donne che lo contraggono del 16% [10].

Sono state identificate due principali molecole bersaglio nella patogenesi del cancro al seno. Il fattore di crescita epidermico 2 (ERBB2), un recettore tirosina chinasi transmembrana della famiglia dei recettori del fattore di crescita epidermico, che durante la manifestazione del carcinoma è sovraespresso in circa il 20% dei tumori. I pazienti che mostrano questo quadro patologico traggono beneficio da una terapia mirata a ERBB2. Il secondo bersaglio è il recettore alfa degli estrogeni (ER α), espresso per circa il 70% dei tumori invasivi. È un recettore dell'ormone steroideo e un fattore di trascrizione, che può attivare i percorsi di crescita oncogenica nelle cellule. L'uso di agenti endocrini per sottoregolare la segnalazione ER è la terapia sistemica primaria per questo tipo di cancro [9].

Diversi fattori possono essere un rischio e influenzare lo sviluppo del tumore al seno. Uno di questi è l'invecchiamento, poiché l'incidenza del cancro è fortemente proporzionale all'aumento di età. L'età che segna l'inizio del rischio è quaranta anni. Importante è anche la storia familiare della persona affetta, potrebbe esserci un fattore genetico ereditario. Quasi un quarto di tutti i casi sono correlati al quadro clinico familiare, un segnale d'avviso potrebbe essere l'espressione di una mutazione di certi geni. Fattori riproduttivi come precoci mestruazioni, menopausa ritardata, l'età avanzata della prima gravidanza incidono sull'aumento del rischio di tumore. È stato dimostrato che ogni ritardo di un anno della menopausa aumenta del 5% la possibilità di sviluppare il cancro al seno. Anche lo stile di vita può contribuire alla prevenzione di un possibile tumore, per esempio ridurre l'eccessivo consumo di alcol e di grassi nella dieta possono essere accorgimenti da mettere in pratica nella vita di molte donne, visto il loro ruolo nell'attivazione di ormoni responsabili della crescita oncogenica [8].

Una soluzione chirurgica ampiamente utilizzata negli anni per la terapia di cura al carcinoma mammario invasivo è la mastectomia, anche se recentemente sta lasciando il posto a nuove terapie meno demolitive, per recare alla paziente meno danni possibili estetici, fisici e morali. Qui di seguito vengono riportati due grafici, presi dalla fonte ECIS (European Cancer Information System) che mostrano la distribuzione europea dell'incidenza e mortalità del cancro al seno nell'anno 2020 [11].

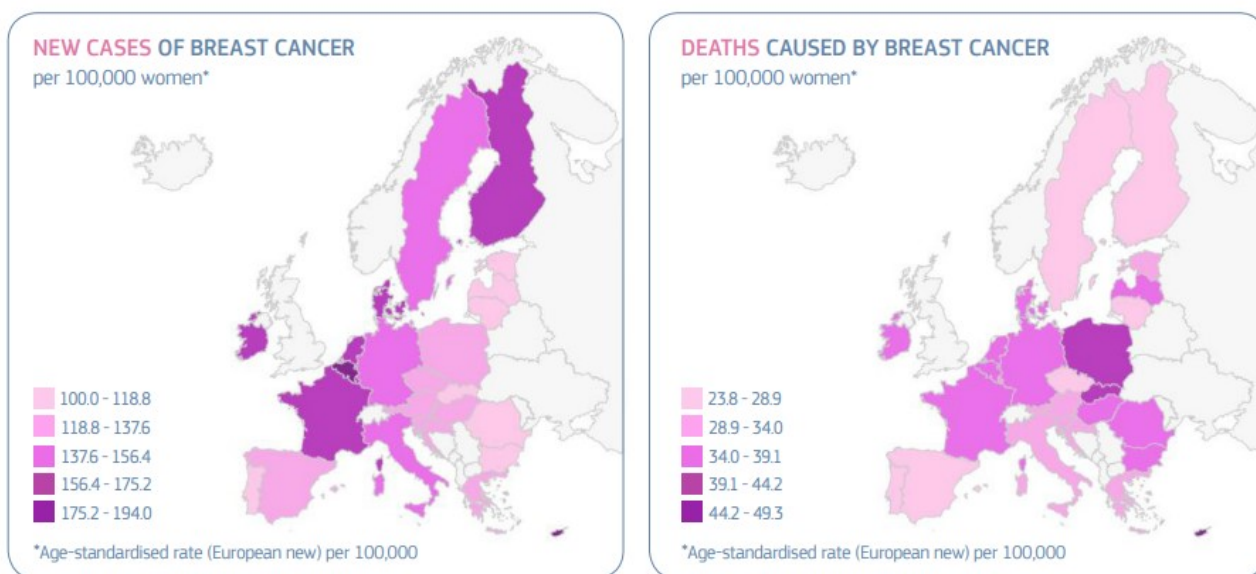


FIGURA 1.4.1 - Distribuzione europea dell'incidenza e mortalità del cancro al seno nell'anno 2020 in Europa

1.5 Intervento di mastectomia

La mastectomia è una tecnica chirurgica demolitiva. Consiste nell'asportazione della mammella, anatomicamente significa la rimozione della ghiandola mammaria, con annessi lobuli, dotti galattofori ed adipe. La rimozione del complesso areola capezzolo e della cute che ospita la ghiandola mammaria, dipende dal tipo di mastectomia praticata.

La mastectomia totale, o anche chiamata semplice, asporta il parenchima mammario, il complesso areolare del capezzolo e la pelle in eccesso dalla parete toracica, lasciando solo abbastanza pelle per suturare l'incisione. Le ghiandole linfatiche e i muscoli sotto al seno non vengono toccati. Questa tecnica viene effettuata nei casi in cui il tumore è sviluppato in diverse parti del seno, nei dotti o nei lobuli ma resta confinato nella mammella, o quando il paziente non potrà essere sottoposto ad una ricostruzione immediata del seno. La mastectomia con risparmio del capezzolo (NSM) e la mastectomia con risparmio della pelle (SSM) sono tecniche preferibili derivanti da uno sviluppo della chirurgia oncoplastica, che uniscono la rimozione del tumore e la preparazione dei lembi cutanei con la ricostruzione e il rimodellamento del seno solitamente immediati. La mastectomia skin-sparing è stata sviluppata per facilitare la ricostruzione immediata, lasciando al paziente semplicemente la pelle che sarà trattata per ospitare una protesi mammaria o il tessuto del paziente stesso. La mastectomia con risparmio areolare del capezzolo preserva invece il complesso areola-capezzolo oltre che la cute, questo è un grande traguardo in quanto molte pazienti hanno manifestato una scarsa soddisfazione per un capezzolo ricostruito, che spesso in un tempo relativamente breve tende ad appiattirsi e a mancare di sensibilità. In generale l'intervento chirurgico di mastectomia conservativa, ovvero la mastectomia con risparmio della pelle o dell'area areola-capezzolo viene preso in considerazione per i tumori al seno in stadio I e II, per carcinoma duttale in situ, se situato ad almeno 2cm di distanza dal complesso areola-capezzolo, e progredisce a carcinoma invasivo, e per tumore in stadio III; seguito da radioterapia, che riduce la mortalità e le recidive. Al contrario per donne con carcinoma mammario allo stadio IV, le opzioni di cura sono limitate e volte a garantire un probabile allungamento dei termini di durata della vita e riduzione del dolore più che a una buona riuscita estetica. [12]–[14].

CAPITOLO II

INGEGNERIA TISSUTALE PER LO SVILUPPO DI NUOVE IMPALCATURE BIOMIMETICHE (SCAFFOLD)

2.1 Introduzione

La perdita dovuta ad asportazione o l'insufficienza funzionale di un organo o di un tessuto sono uno dei problemi più frequenti, invalidanti e costosi nell'ambito della sanità. Se per un organo non funzionante si può contare sul trapianto, il problema si aggrava quando sono coinvolti deficit tissutali localizzati e limitati a parti di importanza non vitale, che recano al paziente una scarsa qualità della vita, se non trattati e curati. Questi richiedono cure che mirano alla loro riparazione, sostituzione o rigenerazione. Durante gli anni i medici hanno alternato il trapianto di tessuto da un sito all'altro dello stesso paziente o da un individuo ad un altro. Il primo caso, che vede la raccolta di autoinnesti, risulta però costoso, vincolato da limitazioni anatomiche, doloroso e causa di morbidità del sito donatore per effetto di ematomi o infezioni. Il secondo è associato a notevoli limitazioni e accorgimenti dovuti ad una mancanza di accesso ai tessuti per tutti i pazienti che li richiedono e ad un rischio di rigetto da parte del sistema immunitario del ricevente. In alternativa a questo, è in fase di sviluppo un nuovo campo interdisciplinare, l'ingegneria tissutale, che unisce principi e metodi delle scienze biologiche con quelli dell'ingegneria, per produrre nuove soluzioni in riparazione a tessuti danneggiati, come in questo esempio quello mammario. Il termine "ingegneria dei tessuti" è stato coniato ufficialmente in un seminario della National Science Foundation nel 1988, identifica le procedure volte alla rigenerazione di tessuti del corpo che prevedono la semina di cellule su un supporto opportuno, scaffold, seguita dalla loro coltivazione in appositi bioreattori fino ad ottenere un nuovo tessuto da trapiantare nel paziente [15], [16].

Lo scaffold quindi, realizzato in materiali biodegradabili o bioassorbibili, ha un ruolo transitorio. Nella prima fase del processo deve fornire supporto fisico per l'adesione e la crescita cellulare, al termine lascerà il posto ad un tessuto neoformato e sarà quindi completamente assorbito. Le cellule necessarie alla semina e alla colonizzazione, se fornite dal paziente permetteranno l'impianto del tessuto neoformato senza lo sviluppo di una reazione immunitaria di rigetto. In aggiunta a questo, stanno studiando il comportamento e l'interazione di cellule di tipo staminale per la semina, che saranno indotte a differenziarsi in vitro in un particolare

fenotipo tissutale, come osso, cartilagine, muscolo, adipe per tessuto mammario, così da avere una maggiore quantità di precursori per i diversi tessuti. Oltre al compito di mettere a punto sostituti biologici che restituiscano, mantengano e migliorino le funzioni tessutali, l'ingegneria tissutale dovrà occuparsi di controllare la risposta cellulare ai materiali impiantati, la biologia dell'ambiente in guarigione, la riproduzione di cellule e tessuti da trapiantare nel corpo e la loro biochimica [16]. Così da creare un'ottima connessione tra biomateriale e cellule vive, per permettere al primo di guidare, sostenere e stimolare l'attività delle cellule vive che a loro volta saranno indirizzate a riformare un tessuto. L'ingegneria tissutale, per riassumere, si basa quindi sull'interazione di tre componenti principali, che ne costituiscono la cosiddetta triade:

1. Lo scaffold, un sostegno e supporto, necessario per promuovere la crescita e lo sviluppo del tessuto;
2. Una sorgente di cellule che può essere autologa od eterologa;
3. Fattori di crescita e/o bioreattori che favoriscano, all'interno dello scaffold, la crescita cellulare e il differenziamento (figura 2.1.1) [15]

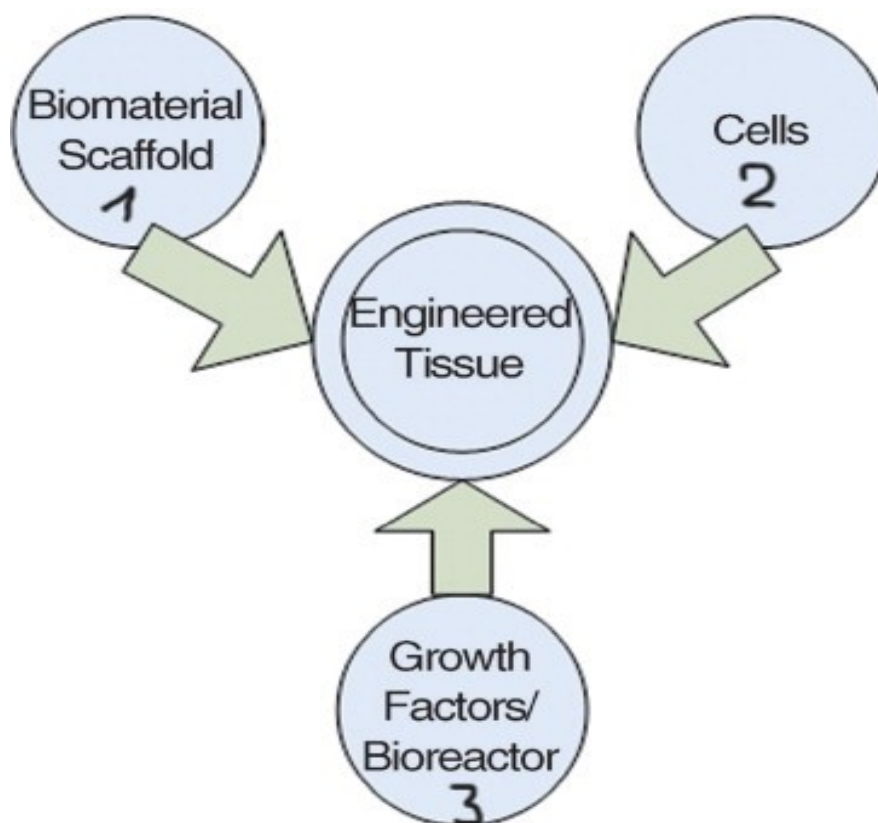


FIGURA 2.1.1 – Triade dell'ingegneria tissutale

2.2 Biomateriali per la realizzazione dello scaffold

Uno degli obiettivi principali dell'ingegneria tissutale è quello di fornire un buon biomateriale per la costruzione dello scaffold, che fornisca un supporto al processo rigenerativo del tessuto mammario, in particolare quello adiposo. Gli obiettivi del biomateriale sono quindi sostituire, aumentare ed eseguire lo scopo naturale del seno utilizzando determinate tecniche che consentono l'interazione con il sistema biologico. L'attuale definizione di comune accordo stipulato dalla società europea per i biomateriali è “un materiale destinato a interfacciarsi con sistemi biologici per valutare, trattare, aumentare o sostituire qualsiasi tessuto, organo o funzione del corpo” [15]. Questo implica una grande influenza da parte del biomateriale sui processi biologici, pertanto gli sono richieste specifiche caratteristiche e proprietà, per poter interagire con il corpo umano. La capacità di usura, la biodegradazione, la biocompatibilità, la non tossicità, l'anallergicità, la compatibilità del sangue e il non scatenare reazioni infiammatorie, sono tra le proprietà principali prese in considerazione. Diversi biomateriali naturali, sintetici o una combinazione di entrambi (compositi) sono stati utilizzati per un'efficace progettazione di materiali per impalcature nell'ingegneria del tessuto adiposo (ATE).

2.2.1 Biomateriali naturali

Il primo approccio utilizzato è l'uso di materiali biologici come biomateriali scaffold. Una loro caratteristica fondamentale è l'essere biologicamente attivi, la loro presenza nella composizione dei tessuti umani li porta ad essere meno immunogenici e biocompatibili, oltre a possedere già incorporate sequenze per specifiche interazioni cellulari. Sono biodegradabili e quindi promuovono adesione e crescita cellulare, permettendo alla cellula ospite di generare la propria matrice extracellulare per poi essere sostituita allo scaffold degradato. Tuttavia, hanno anche importanti svantaggi: possiedono scarse proprietà meccaniche, il che ne limita il loro uso e versatilità per applicazioni mediche. I biomateriali naturali comunemente usati e prodotti principalmente sotto forma di proteine sono il collagene, la gelatina, la seta, mentre quelli sotto forma di polisaccaridi sono substrati a base di alginato e chitosano e l'acido ialuronico.

- a) La proteina del *collagene* è un polipeptide elicoidale con sequenze ripetute di glicina, prolina e idrossiprolina. Offre un'ottima resistenza alla trazione per la crescita dei tessuti, essendo un componente principale della matrice extracellulare. I domini di adesione dei recettori transmembrana del collagene fibrillare promuovono l'adesione e la proliferazione cellulare. È prodotto dai fibroblasti per rimarginare più rapidamente le

ferite ed è il biomateriale naturale più abbondantemente prodotto. Sono disponibili quasi ventotto tipi diversi di collagene, ma i due maggiormente presenti nei tessuti sono quello di tipo I e III;

- b) La *gelatina* presenta una struttura a singolo filamento derivante dalla scomposizione della tripla elica del collagene. Ha la proprietà di essere un materiale meno immunogenico e di consentire una maggiore adesione cellulare grazie alla presenza di sequenze di acido arginina – glicinaaspartico. Possiede un buon potenziale anche nei processi di guarigione delle ferite e ustioni;
- c) La *seta* è una classica proteina fibrosa in natura derivata dai bachi da seta. La seta si può trovare sotto forma di due proteine, la sericina (idrofila) e la fibroina (idrofobica), quest'ultima è altamente biocompatibile e biodegradabile, permette alle sostanze nutrienti di raggiungere tutte le molecole grazie alla sua permeabilità e dà luogo a reazioni infiammatorie minime. Gli scaffold a base di fibroina di seta preparati mediante elettrofilatura promuovono una migliore diffusione di un altro biomateriale naturale: il collagene e l'adesione cellulare sulla loro superficie. Per merito di queste proprietà è altamente utilizzata in ambito ingegneristico tissutale;
- d) Di diversa derivazione è il *chitosano*, un polisaccaride omoglicano, è il biomateriale polisaccaridico più popolare e deriva dalla chitina, un componente importante dell'esoscheletro di artropodi e gusci di crostacei. È composto da residui di β -D-glucosammina (1-4) legati disordinatamente a gruppi *N*-acetil-D-glucosammina. Ha proprietà emostatiche, antimicrobiche, antimicotiche, stimola la proliferazione dei fibroblasti, la produzione di citochine con l'attivazione dei macrofagi e l'angiogenesi. In aggiunta a questo, favorisce la sintesi e la deposizione del collagene e dell'acido ialuronico, due importanti biomateriali della matrice extracellulare. Nonostante le sue caratteristiche ioniche gli scaffold a base di chitosano garantiscono una migliore adesione, proliferazione, differenziazione delle cellule e una migliore vascolarizzazione e formazione di tessuto;
- e) L'*alginato*, un altro biomateriale di origine polisaccaridica eteroglicano solubile in acqua, è composto da unità ripetute di α -L-guluronato e β -D-mannuronato. È segnalato per un uso favorevole in scaffold per rigenerazione tissutale grazie alla sua solubilità in acqua;
- f) L'*acido ialuronico* è un glicosaminoglicano polisaccaride, uno tra i maggiori componenti della matrice extracellulare dei tessuti connettivi. È formato da acido glucuronico ripetuto e *N*-acetilglucosammina. Gli scaffold a base di acido ialuronico hanno un ruolo primario nella direzione della rigenerazione tissutale in quanto

supportano l'angiogenesi. La produzione di scaffold di acido ialuronico con la tecnica dell'elettrofilatura è limitata dall'elevata viscosità e tensione superficiale del materiale, dunque sostituita con la tecnica di soffiaggio d'aria.

2.2.2 Biomateriali sintetici

Il secondo approccio utilizzato nella realizzazione di scaffold è mediante l'utilizzo di biomateriali sintetici. Possono essere fabbricati con la tecnica dell'elettrofilatura, che consente di produrre scaffold nanofibrosi in grado di mimare la componente fibrosa proteica della matrice extracellulare, la cui morfologia e composizione influenza l'adesione, la proliferazione e il differenziamento cellulare. L'elevata porosità delle strutture elettrofilate permette un'efficiente diffusione di sostanze e cellule nello scaffold e nella sede di impianto. Tra i loro vantaggi abbiamo quello di avere una degradazione controllata variando il polimero stesso o la composizione del singolo polimero e di poter personalizzare in modo specifico le loro proprietà meccaniche, chimiche e di degradazione. Tra i biomateriali biodegradabili sintetici, troviamo i poliesteri alifatici, i più comuni e noti per le loro ottime proprietà meccaniche come un'elevata resistenza meccanica, una grande flessibilità e una facile lavorabilità, ma soprattutto per la loro degradazione non tossica. I più noti e utilizzati per le rigenerazioni tessutali della ghiandola mammaria sono l'*acido polilattico* (PLA), che si degrada in acido lattico, una sostanza presente in natura che il corpo può rimuovere facilmente mediante ossidazione in anidride carbonica e acqua o convertire in glucosio per il glicogeno; l'*acido poli(lattico-co-glicolico)* (PLGA), il *policaprolattone* (PCL) e i loro copolimeri, che presentando una natura idrofobica inibiscono la biocompatibilità dei materiali rendendoli così meno efficaci per le applicazioni di ingegneria tissutale in vivo. Troviamo anche l'impiego del *glicole polietilenico* (PEG), del *polipropilene* (PP) e del *poliuretano* (PUR). Sebbene questi materiali offrono ottime possibilità di resa dello scaffold, dall'altra parte presentano degli svantaggi tra cui il rischio di rigetto dovuto a ridotta bioattività, la possibile comparsa di necrosi cellulare e tissutale dovuta alla reazione di idrolisi prodotta dalla degradazione di alcuni biomateriali che comporta la produzione di anidride carbonica e abbassamento del pH locale.

I problemi sopra descritti riguardano l'uso di scaffold fabbricati da questi biomateriali in una sola fase, e questo ha condotto la ricerca alla soluzione di un utilizzo di *scaffold compositi* comprendenti più fasi, che combinano diverse proporzioni di biomateriali sintetici con biomateriali naturali. Alcuni hanno combinato polimeri sintetici con polimeri naturali per aumentare la loro capacità biologica, e viceversa per migliorare le loro proprietà meccaniche.

Nonostante questo ogni scaffold sarà costituito da una fase che non si trova naturalmente nel corpo e porterà quindi a confrontarsi con problemi legati alla biocompatibilità e alla biodegradabilità [15], [17].

2.3 Scaffold

La costruzione di un tessuto ingegnerizzato comincia con la progettazione e la realizzazione di una struttura biomimetica che supporti la crescita delle cellule che daranno origine al nuovo tessuto con struttura fisiologica e biochimica equivalente a quello danneggiato e/o rimosso. Lo scaffold è quindi una struttura di supporto capace di guidare la riorganizzazione e la crescita cellulare. Deve garantire e mantenere uno spazio tridimensionale adeguato a sostenere la rigenerazione del nuovo tessuto, con fattori di crescita e/o bioreattori stimolare la crescita, la migrazione e l'organizzazione cellulare, supplire temporaneamente alle caratteristiche funzionali di cui il tessuto in formazione risulta deficitario. Uno scaffold ideale deve replicare la struttura e le funzioni della matrice extracellulare naturale. Fondamentali per il suo impiego nell'ingegneria tessutale, lo scaffold deve soddisfare dei requisiti irrinunciabili [2], [15]:

1) Biocompatibilità:

è il criterio fondamentale di qualsiasi supporto ingegneristico tissutale, le cellule devono aderire, migrare sulla superficie e attraverso l'impalcatura e proliferare. La non tossicità unita alla capacità di interagire con la risposta immunitaria dell'organismo prevenendo il rigetto, far fronte alla reazione infiammatoria o all'incapsulamento, sono caratteristiche che rientrano nello stabilire se uno scaffold può essere definito biocompatibile.

2) Biodegradabilità:

lo scaffold è progettato come impianto non permanente, dunque deve essere biodegradabile per permettere alle cellule di generare il nuovo tessuto e di essere sostituito. Il tempo di degradazione dei biomateriali che costituiscono l'impalcatura deve essere strettamente coordinato a quello di generazione del nuovo tessuto. Tempi troppo lunghi inducono la formazione imperfetta e incompleta di tessuto attorno allo scaffold, al contrario tempi troppo rapidi non permettono la formazione di un tessuto resistente e ben ancorato. I sottoprodotti di degradazione devono non essere tossici ed espulsi senza interferire con altri organi circostanti.

3) Architettura dell'impalcatura:

per permettere un'efficace diffusione dei nutrienti alle cellule ancorate all'interno del supporto e alla nuova matrice extracellulare formata e garantire una buona penetrazione cellulare, gli scaffold dovrebbero avere una struttura altamente porosa. Importante è la dimensione dei pori, devono essere abbastanza grandi da consentire alle cellule di migrare nella struttura, dove entrano in contatto con l'impalcatura tramite gruppi chimici, i ligandi, che sono situati sulla superficie del materiale. Se lo scaffold è di origine naturale, i ligandi sono già compresi nella struttura sotto forma di sequenze di legame Arg-Gly-Asp, altrimenti in scaffold sintetici vengono incorporati attraverso l'adsorbimento di proteine. La densità del ligando è influenzata dalla superficie disponibile a cui le cellule possono aderire in un poro. I pori al contempo devono essere abbastanza piccoli da poter garantire una superficie disponibile sufficientemente elevata per le cellule, per consentire un legame efficiente di un numero critico di cellule allo scaffold. È necessaria una buona interconnessione tra i pori per permettere ai prodotti di scarto di essere espulsi fuori dalla struttura, senza interferire con gli organi circostanti. A seconda del tipo di cellula e tessuto ingegnerizzato esistono dimensioni critiche dei pori.

4) Proprietà meccaniche:

lo scaffold ideale dovrebbe possedere proprietà meccaniche coerenti con il sito anatomico da sostituire, e nel momento del suo impianto in vivo dovrebbe essere sufficientemente robusto e stabile da consentire la manipolazione chirurgica e resistere alle condizioni di carico tipiche di sollecitazioni presenti nei tessuti in vivo. Durante la sua degradazione deve conservare un'integrità strutturale sufficiente in modo tale che il neo-tessuto possa sostituire la sua funzione portante. Un buon equilibrio tra proprietà meccaniche e architettura porosa per permettere sia allo scaffold di resistere a tensioni sia di consentire l'infiltrazione cellulare e la vascolarizzazione, sono la soluzione per un utilizzo benefico dell'impalcatura.

5) Tecnologia di produzione:

per rendere lo scaffold a tutti gli effetti un'impalcatura vendibile e disponibile deve essere economicamente conveniente e prodotto non singolarmente per volta. La sua facile lavorabilità e resistenza ai processi di sterilizzazione, ai quali deve essere obbligatoriamente sottoposto ogni dispositivo, gli permettono l'utilizzo in ambito clinico. Deve essere facilmente trasportabile e confezionabile.

Tutte queste caratteristiche rendono uno scaffold un'ottima ed efficace struttura ingegnerizzata per la rigenerazione tessutale e dipendono dalla scelta del biomateriale da cui lo scaffold dovrà essere fabbricato (descritto nel paragrafo precedente 2.2) [15].

Buone impalcature, progettate per la rigenerazione di tessuto adiposo della ghiandola mammaria, richiedono quindi biocompatibilità, degradabilità, formazione di sottoprodotti non citotossici e proprietà meccaniche dei tessuti molli, che forniscono la corretta vascolarizzazione. Di seguito saranno illustrati vantaggi e svantaggi di scaffold naturali, sintetici e biologici, così definiti dalla diversa natura del biomateriale d'origine, progettati per supportare l'adipogenesi.

2.3.1 Scaffold naturali

Gli scaffold originati da materiali naturali hanno proprietà simili alla matrice extracellulare, quelli in collagene possono essere realizzati con un'architettura a microsfele, sottoforma di spugne o idrogel, o essere direttamente iniettati. Promuovono la differenziazione e vascolarizzazione delle cellule staminali di derivazione adiposa (ADSC) impiantate, grazie anche alla porosità modificabile del supporto ed alla possibile aggiunta di fattori di crescita che stimolino il processo. Verificato e accertato con prove effettuate prima in vitro e poi in vivo su topi [18]. Può essere utilizzato contemporaneamente con altri scaffold e gode della concessione in licenza per usi clinici. Dall'altra parte presenta delle limitazioni come il rapido degrado che non permette la corretta formazione del nuovo tessuto e una resistenza meccanica limitata. Inoltre favorisce la formazione di capsula fibrotica quando viene impiantato in vivo. Scaffold in seta realizzati come idrogel, film sottili, spugne e dischi; hanno buone proprietà meccaniche, una tendenza alla bassa immunogenicità e incrementano l'espressione di fattori di crescita e angiogenici; si degradano lentamente e questo gli permette di mantenere più a lungo le dimensioni e la struttura dei pori. Può essere utilizzato per uso clinico. Contrariamente se l'impianto viene asportato da vitro in vivo al momento della degradazione non si conosce la tossicità e la stabilità dei prodotti di scarto. Scaffold di gelatina possiedono un'ottima biocompatibilità e capacità di adattamento con il tessuto naturale, non sono tossici durante la loro degradazione. Possono essere fabbricati come idrogel, spugne o con la biostampa 3D. Consentono la propagazione rapida a tutta l'impalcatura di fattori di crescita pronti ad interagire con le cellule impiantate e può essere incorporato con altri tipi di scaffold. Viceversa non offre una buona resistenza meccanica agli sforzi e si degrada rapidamente, garantisce migliori risultati se combinato con un'altra impalcatura. Strutture in alginato sono disponibili per uso clinico in medicazioni sottoforma di idrogel o microsfera. Se combinati con altri scaffold

o con fattori di crescita possono essere facilmente modificati per supportare la crescita tessutale. È stato verificato come scaffold di microsferi di alginato abbinato al collagene consentano la formazione di lobuli grassi dall'impianto di cellule staminali di derivazione adiposa, tanto da garantire un successo se trasferiti da vitro a vivo, dovuto anche alla loro buona biocompatibilità [19], assicurando un'ottima vascolarizzazione del neo-tessuto. Come tutti gli scaffold naturali, che da una parte beneficiano di una migliore biocompatibilità con l'ambiente circostante, dall'altra ha scarse proprietà meccaniche e una rapida degradazione che possono compromettere la rigenerazione corretta del tessuto in questione. Infine scaffold di acido ialuronico in spugna o in idrogel sono meno disponibili in commercio clinico per il loro costo elevato di fabbricazione, nonostante favoriscano una buona differenziazione degli adipociti e un aumento notevole della matrice extracellulare in formazione, che rispetto a quelli in collagene, si diffonde più omogeneamente [2], [6], [10].

SCAFFOLD NATURALI	Fabbricazione	Vantaggi	Limitazioni
Collagene	Microsfere, idrogel, spugne, direttamente iniettati	Promuovono differenziazione di ADSC e vascolarizzazione; Porosità modificabile; Aggiunta di fattori di crescita; Abbinato ad altri scaffold; Concessione licenza per uso clinico	Rapido degrado; Proprietà meccaniche scarse; Formazione capsula fibrotica in vivo
Seta	Idrogel, film sottili, spugne, dischi	Buone proprietà meccaniche; Bassa immunogenicità; Espressione di fattori di crescita e angiogenici; Lento degrado; Mantenimento struttura e dimensioni dei pori; Concessione licenza per uso clinico	No conosciuta la stabilità e tossicità dei prodotti della degradazione
Gelatina	Idrogel, spugne, biostampa 3D	Ottima biocompatibilità; No tossicità;	No buona resistenza meccanica; Rapida degradazione;

		Abbinato ad altri scaffold; Propagazione dei fattori di crescita	Migliore se abbinato ad altri scaffold
Alginato	Idrogel, microsferi	No tossicità; Facilmente modificabile con fattori di crescita o altri scaffold; Microsferi di alginato/collagene consentono la formazione di lobuli di grassi da ADSC	Scarse proprietà meccaniche; Rapida degradazione
Acido ialuronico	Spugna, idrogel	Buona differenziazione degli adipociti; Diffusione omogenea e rapida formazione della matrice extracellulare	Costo elevato di fabbricazione

FIGURA 2.3.1 – Tabella riassuntiva dei vantaggi e limitazioni degli scaffold naturali per rigenerazione di tessuto adiposo (ADSC = cellule staminali di derivazione adiposa)

2.3.2 Scaffold sintetici

La maggior parte degli scaffold sintetici è sintetizzata da polimeri termoplastici, le cui proprietà biomeccaniche e biochimiche hanno un impatto e influenza nella proliferazione e migrazione degli adipociti [10]. Scaffold di PLA (acido polilattico) sono prodotti tramite tecniche per architettura a spugne, sono facilmente riproducibili e modificabili sulla superficie. Possiedono una buona resistenza meccanica contrapposta però ad una degradazione rapida e incontrollata. Molteplici tecniche di fabbricazione sono adoperate per scaffold in PLGA (acido poli): idrogel, stampa 3D, spugne, sfere iniettabili; che permettono la produzione in serie della struttura. Nonostante l'impalcatura sia di un biomateriale sintetico, è biodegradabile e può subire modificazioni tramite l'aggiunta di gruppi o alterazioni della topografia per migliorare le adesioni e proliferazioni cellulari. In vivo stimola la differenziazione adipogenica di ADSC [6]. Tanti sono i suoi punti di forza quanti quelli deboli come la veloce degradazione che genera prodotti ad alta probabilità infiammatoria. In vivo può causare la formazione di capsula fibrotica e per ottimizzare la crescita e differenziazione cellulare necessita di modifiche superficiali. Scaffold di PCL (policaprolattone) realizzati con stampa 3D, o con un'architettura a spugne o reti elettrofilate sono limitati a causa della loro idrofobicità durante la loro colonizzazione da

parte delle cellule mammarie ed inoltre la loro degradazione è instabile, non si riesce a prevedere. Contrapposti hanno anche buoni punti di forza queste strutture come: buone proprietà meccaniche, protocolli di fabbricazione riproducibili, la modificazione tramite aggiunta di gruppi o alterando la topografia per migliorare le sue caratteristiche biochimiche e biomeccaniche e la promozione adipogenica delle ADSC in vivo [6]. Troviamo anche prodotti scaffold in PEG (glicole polietilenico) che al contrario di quelli in policaprolattone vantano una buona solubilità in acqua e quindi favorevoli all'ambiente su cui interfacciarsi e sono degradabili. I prodotti di scarto durante la degradazione hanno una bassa tossicità anche se questa si svolge in modo troppo rapido e sono dei buoni promotori della rigenerazione adiposa tessutale. Sono limitati nell'uso da scarse proprietà meccaniche e dalla necessità di avere una struttura ben reticolata per favorire al meglio l'azione dello scaffold. Un altro tipo di scaffold proposto per la rigenerazione del tessuto adiposo è quello di propilene (PP), ha una struttura a maglie, non scatena reazioni infiammatorie nel corpo umano e mantiene la forma quando impiantato, possiede una buona biocompatibilità con l'ambiente circostante e si adatta facilmente a ogni tipo di forma. Purtroppo non riesce ad essere ben assorbito e ad integrarsi nel momento dell'impianto. Scaffold in poliuretano (PUR), gli ultimi analizzati, sono prodotti con una struttura a spugna, sono molto elastici e quindi facilmente adattabili e in vivo hanno un ruolo fondamentale nell'adipogenesi e angiogenesi, anche se ci sono stati evidenti problemi con il trapianto dell'impalcatura evidenziati dalla formazione della capsula fibrotica [2], [6], [10].

SCAFFOLD SINTETICI	Fabbricazione	Vantaggi	Limitazioni
PLA	Spugne	Facilmente riproducibili; Facilmente modificabile la superficie; Buone proprietà meccaniche	Rapida e incontrollata degradazione
PLGA	Stampa 3D, idrogel, spugne, sfere iniettabili	Biodegradabile; Modifiche con l'aggiunta di gruppi o alterazioni della topografia per migliorare adesione e proliferazione cellulare; Stimola la differenziazione adipogenica di ADSC <i>in vivo</i>	Degrada velocemente; Prodotti di scarto infiammatori; Formazione di capsula fibrotica <i>in vivo</i> ; Necessita di modifiche superficiali per ottimizzare la crescita cellulare

PCL	Stampa 3D, reti elettrofilate, spugne	Buone proprietà meccaniche; Protocolli di fabbricazione riproducibili; Modifiche con l'aggiunta di gruppi o alterazioni della topografia per migliorare caratteristiche biochimiche e biomeccaniche; Promuove adipogenesi delle ADSC <i>in vivo</i>	Idrofobicità, Degradazione instabile
PEG		Biodegradabile; Solubile in acqua; Bassa tossicità i prodotti della degradazione; Promuove rigenerazione tessutale adiposa	Rapida degradazione; Necessitano di una struttura ben reticolata; Scarse proprietà meccaniche
PP	Maglie	Non infiammatorio; Mantiene la forma; buona biocompatibilità	Difficoltà di assorbimento e integrazione con l'ambiente
PUR	Spugne	Elastico; Ruolo fondamentale in adipogenesi e angiogenesi	Problemi nel trapianto <i>in vivo</i> con formazione di capsula

FIGURA 2.3.2 – Tabella riassuntiva dei vantaggi e limitazioni degli scaffold sintetici per rigenerazione di tessuto adiposo (ADSC = cellule staminali di derivazione adiposa, PLA = acido polilattico, PLGA = acido poli(lattico-co-glicolico), PCL = policaprolattone, PEG = glicole polietilenico, PP = propilene, PUR = poliuretano)

2.4 Matrice extracellulare (ECM)

Un'impalcatura tridimensionale naturale che possiede tutte le caratteristiche richieste ad uno scaffold o ad un biomateriale ingegnerizzato tissutale ideale, è la matrice extracellulare (ECM). Presente nel corpo umano in grandi quantità, fornisce sostegno e regola l'attività delle cellule incorporate. È costituita da una miscela di cellule e componenti non cellulari che si distribuiscono formando reti ben organizzate. Le molecole funzionali e strutturali forniscono i mezzi con cui le cellule adiacenti comunicano tra loro e con l'ambiente esterno [20]. A seconda della sua localizzazione nei tessuti, varie componenti cellulari come per la maggiore i fibroblasti, adipociti, elementi endoteliali e il microambiente cellulare circostante generano una composizione e topologia unica di matrice e le sue proprietà biochimiche, meccaniche e protettive variano da un tessuto ad un altro. Fondamentale non solo per la sua funzione di sostegno ma anche per la morfogenesi, la differenziazione, l'omeostasi dei tessuti, la sopravvivenza e adesione cellulare, la resistenza alla trazione e alla compressione, l'elasticità e la protezione. La sua interazione con i recettori localizzati sulla superficie delle cellule promuove la trasduzione del segnale e la trascrizione genica. Le cellule aderiscono alla matrice grazie alla presenza in quest'ultima di recettori transmembrana come le integrine. La dinamicità della struttura, che viene rimodellata continuamente e talvolta degradata grazie a modifiche post-traduzionali e ad enzimi prodotti dai suoi componenti, preserva e favorisce l'intensa ed eterogena attività della matrice extracellulare [21]. L'ECM è costituita principalmente da acqua, proteine, glicoproteine e polisaccaridi e può essere classificata in due tipi principali che differiscono per struttura, composizione e posizione topografica: le matrici pericellulari che migliorano l'attaccamento cellulare e interstiziali che forniscono integrità tissutale. Un esempio di matrice pericellulare è la membrana basale, si trova a stretto contatto con l'ambiente cellulare nell'interfaccia tra tessuto connettivo e tessuto specifico di un organo. Permette alle cellule del tessuto specifico epiteliale di ancorarsi per non disperdersi nell'ambiente circostante, grazie alla presenza di strutture specifiche chiamate emidesmosomi, dati dall'interazione tra integrine di superficie e laminine componenti della matrice [22].

Due classi di macromolecole sono dominanti nella matrice extracellulare: i proteoglicani (PG) e le proteine fibrose. I proteoglicani sono catene di glicosamminoglicani (GAG), lunghi eteropolisaccaridi a carica altamente negativa, legate in modo covalente a uno specifico nucleo proteico (proteine core). Per la maggior parte si trovano sotto forma di gel idratato come riempitivi dello spazio interstiziale extracellulare di un tessuto per renderlo resistente alle forze di compressione. Interagendo con numerosi fattori di crescita attraverso le loro catene laterali GAG o le proteine core prendono parte a diverse azioni cellulari, fondamentali requisiti per uno

scaffold come: la segnalazione cellulare, la migrazione, la differenziazione, l'apoptosi, la proliferazione e l'adesione. Inoltre contribuiscono al sostegno e organizzazione della matrice, costituendo l'impalcatura e incorporando le cellule al suo interno [22].

Un glicosamminoglicano con composizione e funzioni distinte è l'acido ialuronico (HA). Non è infatti legato a un nucleo proteico e non è legato covalentemente ai proteoglicani. La sua capacità di assorbire grandi quantità di molecole d'acqua gli permette di conferire ai tessuti plasticità. Svolge un ruolo fondamentale anche nell'embriogenesi e nella riparazione, rigenerazione e omeostasi tissutale. A seconda della sua concentrazione, dimensione ed interazione modula le funzioni, offrendo una grande versatilità alla matrice [23].

Le proteine fibrose principali della matrice sono collagene, elastina, fibronectina e laminina.

Il collagene costituisce il principale componente della matrice, oltre il 30% è occupato da questo. Funziona come materiale tissutale di supporto, fornisce resistenza alla trazione e regola l'adesione cellulare. Inoltre guida lo sviluppo dei tessuti. Ad oggi sono stati identificati circa 28 tipi di collagene suddivisi in non-fibrillari e fibrillari nella matrice extracellulare.

L'elastina è una proteina strutturale sintetizzata in forma di tropoelastina, suo precursore solubile, per poi essere convertita in elastina, proteina insolubile e idrofoba. Se i tessuti vengono sollecitati da tensioni meccaniche, l'elastina permette loro di deformarsi e assicura elasticità. Deriva dai fibroblasti e da cellule muscolari lisce. Fondamentale per l'allungamento del tessuto è il legame tra l'elastina con le fibrille di collagene.

La fibronectina (FN), è coinvolta nell'organizzazione della matrice extracellulare interstiziale, viene prodotta sotto forma di dimero solubile e si raggruppa in fibrille. Regola inoltre l'adesione cellulare (legandosi alle integrine) e le proprietà meccaniche durante i cambiamenti conformazionali delle sue fibre.

La laminina è una glicoproteina eterotrimerica a forma di croce, composta da tre catene: α , β e γ e la sua distribuzione è tessuto-specifica, ovvero per ogni tipo di tessuto diverso troveremo un diverso tipo di laminina. Ad oggi 16 sono le isoforme esistenti. Influenzano l'adesione, la migrazione, la differenziazione cellulare e l'angiogenesi, in quanto componenti importanti delle membrane basali endoteliali [21], [22], [23].

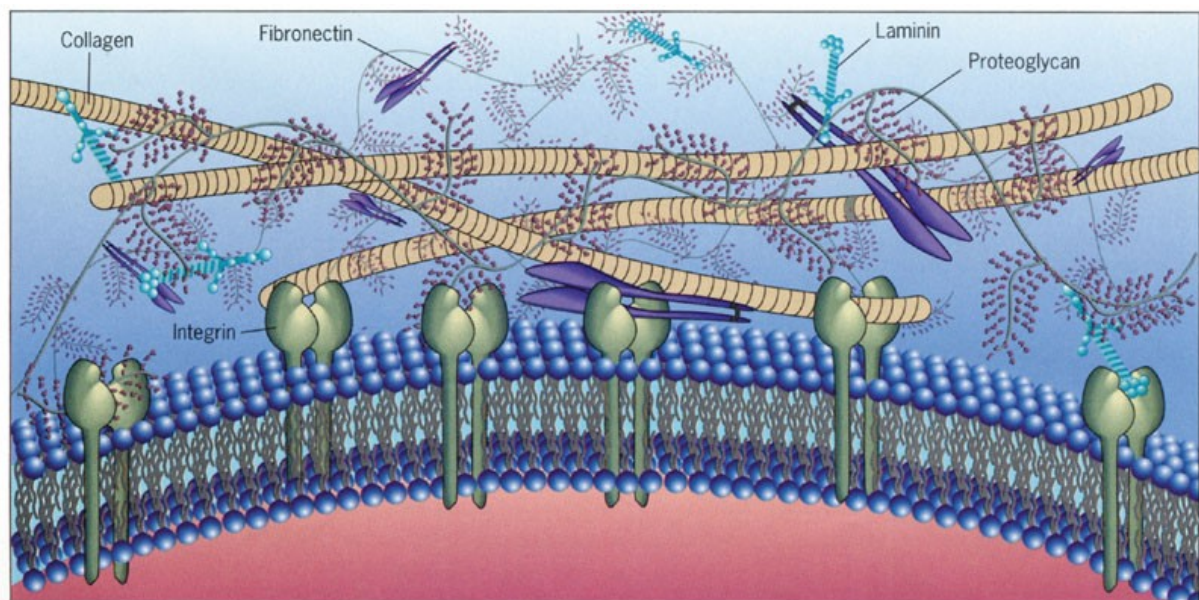


FIGURA 2.4.1 – *Rappresentazione semplificata della matrice extracellulare*

2.5 Scaffold biologici

Di notevole interesse clinico sono gli scaffold biologici, composti da ECM (matrice extracellulare) decellularizzata. Essendo costituiti da matrice extracellulare, componente dei tessuti umani se impiantati garantiscono una risposta infiammatoria minima. Possono provenire da diverse aree di tessuto di una donna, come seno, regione addominale sottocutanea o altre parti. Queste impalcature presenterebbero già rigidità e deformabilità simili ad un seno naturale, questo perché il tessuto da cui viene prelevato lo scaffold stabilirà le proprietà meccaniche e le caratteristiche strutturali. Non subirebbero modifiche da agenti chimici che produrrebbero legami proteici innaturali per stimolare e favorire l'adesione o la proliferazione cellulare. Sono in grado di facilitare il rimodellamento costruttivo dei tessuti grazie al comportamento viscoelastico, alle proprietà meccaniche dei componenti della ECM e attraverso i ligandi di collagene, fibronectina e laminina che si ritrovano già incorporati a supportare l'attaccamento della cellula ospite. È la conservazione di un'entità strutturalmente organizzata di un modello naturale che permette di raggiungere una rigenerazione tissutale ottimale. In concomitanza però anche gli scaffold biologici presentano limiti per il loro utilizzo come la loro rapida degradazione enzimatica e idrolitica, che allo stesso tempo svolge il ruolo di dispositivo per il rilascio controllato delle molecole native della ECM. Questo meccanismo di rilascio termina solo alla completa degradazione dello scaffold, e i prodotti degradati avviano una serie di eventi di rimodellamento. Un altro svantaggio di queste impalcature è il lungo processo di

decellularizzazione per preparare adeguatamente la matrice e processare i tessuti, che può influenzare le proprietà meccaniche e biologiche e se non completamente portato a termine può rendere alto il rischio di immunogenicità della struttura. Un'altra difficoltà è durante il prelievo dal tessuto donatore, che deve essere effettuato delle dimensioni e forma esatte del tessuto danneggiato. Le dimensioni non possono essere modificate visto il mantenimento della struttura della matrice per gli scaffold biologici [6], [10], [20].

SCAFFOLD BIOLOGICI	Fabbricazione	Vantaggi	Limitazioni
Matrice decellularizzata	Seno o regione addominale sottocutanea o altre parti	Risposta infiammatoria minima; Deformabilità e rigidità; Comportamento viscoelastico; Supportano attacco cellulare attraverso ligandi incorporati; Conservazione di un'entità strutturalmente organizzata	Rapida degradazione enzimatica e idrolitica; Lungo processo di decellularizzazione; Alto rischio di immunogenicità; Prelievo delle misure esatte dell'impalcatura non strutturalmente modificabile

FIGURA 2.5.1 - Tabella riassuntiva dei vantaggi e limitazioni degli scaffold biologici per rigenerazione di tessuto adiposo

CAPITOLO III

DESCRIZIONE DI BREVETTI ATTUALMENTE REALIZZATI CON IMPIEGO DI SCAFFOLD

3.1 Introduzione

Le linee guida del National Institute of Clinical Excellence [10] assicurano che ad ogni donna sottoposta ad un intervento chirurgico di rimozione del tumore al seno, con conseguente asportazione del parenchima mammario, venga offerta una ricostruzione mammaria immediata. Attualmente esistono tre metodi principali per la chirurgia ricostruttiva: ricostruzione basata su impianto protesico, ricostruzione con tessuto autologo e ingegneria tissutale de novo. I primi due sono utilizzati maggiormente, l'ultimo invece è un metodo scoperto più recentemente per questo sarà necessario testarlo con ulteriori applicazioni prima di garantire la sua efficacia in ambito di applicazioni mediche.

La ricostruzione con impianti protesici è un approccio chirurgico relativamente semplice, che richiede dalle 2 a 3 ore di intervento. Gli impianti sono adatti per pazienti sottoposte a mastectomia con risparmio della pelle o del capezzolo. Gli impianti sono vantaggiosi per la loro produzione in ampia gamma di varietà di dimensioni e forma. Esistono due tipi principali di impianti protesici: espansori tissutali e impianti a volume fisso. I primi vengono posizionati sotto il muscolo toracico attraverso un'incisione relativamente piccola nella loro forma collassata e attraverso una valvola verranno riempiti con una soluzione salina per settimane o mesi. Preparando il muscolo toracico ad aumentare le proprie dimensioni. Successivamente sarà sostituito con un impianto permanente a base di soluzione salina o silicone. Gli impianti a volume fisso sono protesi in elastomero di silicone che vengono riempite con una soluzione salina durante la collocazione e dopo l'operazione non sarà possibile modificarne il volume. Un grande svantaggio associato all'uso di questi impianti è la formazione di un tessuto fibroso causato da risposta autoimmunitaria dell'organismo ospite (la *capsula periprotetica*) attorno ad essi, che, se eccessivamente sviluppato, porta ad una irritazione dei tessuti molli e dal punto di vista estetico ad un aspetto emisferico innaturale del seno. Altre problematiche associate alle protesi sono possibili deformazioni, rotture, spostamenti e formazione di sieroma. Un riempimento aggressivo può portare a una forma più sferica e smerlatura lungo il bordo dell'impianto con palpabilità simile a una nocca.

La ricostruzione con tessuto autologo impiegata per ricostituire la forma del seno dopo mastectomia si basa sul trapianto di grasso autologo o di lembi di trasferimento di tessuto libero. Nel caso di grasso autologo la liposuzione permette di traferire il grasso del paziente da un sito donatore ad una regione del seno. Tuttavia senza un supporto strutturale, il grasso iniettato perderà il volume dopo un po' di tempo dal trasferimento, obbligando a sedute aggiuntive per ricostituirlo. La differenza dei lembi di trasferimento di tessuto libero rispetto al grasso autologo, è l'incorporazione dei vasi sanguigni che saranno poi ricollegati a quelli nel sito ricevente. Tra i lembi disponibili i favoriti all'uso sono: il lembo muscolocutaneo trasverso del retto addominale (TRAM) e il lembo del perforatore epigastrico inferiore profondo (DIEP). Anche questa pratica può portare a complicanze come la necrosi del tessuto del lembo dovuta a coaguli formati.

L'ingegneria tissutale adiposa è un nuovo approccio basato sulla semina di cellule staminali di derivazione adiposa su uno scaffold biodegradabile, le quali favoriranno la formazione di tessuto adiposo nuovo. Il grande vantaggio è la biodegradabilità dello scaffold che in un primo momento fornisce un supporto strutturale, per poi rimodellare il tessuto senza la presenza di corpi estranei. Un grande limite però è la loro difficile vascolarizzazione.

Un'ulteriore cura preventiva o risolutiva al cancro mammario può essere l'utilizzo di dispositivi che rilasciano agenti attivi, incaricati di limitare o ridurre l'espressione di recettori degli estrogeni, coinvolti nello sviluppo del tumore. Di seguito saranno presi in considerazione tre diversi brevetti, nella cui realizzazione e progettazione si serviranno dell'uso di scaffold. Il primo, costituito da un telaio e uno scaffold di idrogel, verte sul suo impiego per la rigenerazione di tessuto mammario in una cavità di rimozione, a seguito di chirurgia mammaria. Il secondo brevetto, creato con biomateriali riassorbibili, è realizzato con lo scopo di fornire un adeguato supporto e proprietà meccaniche, per consentire la crescita del tessuto necessario a mantenere la posizione di una protesi mammaria o di un espansore tissutale. L'ultimo brevetto descritto è un impianto per la somministrazione localizzata di farmaci, volti a bloccare o ridurre l'espressione di estrogeni maggiormente attivi durante lo sviluppo di un tumore [10], [24], [25].

3.2 Dispositivo impiantabile a base di idrogel

Numero di pubblicazione US20210220522A1

La rimozione di tessuto mammario per cause tumorali porta alla creazione di una cavità in un sito della resezione. Il dispositivo è stato progettato per essere inserito in una cavità di

rimozione. Il nome dell'inventore è Danielle Niremberg. Se la cavità viene lasciata libera, il nuovo tessuto rigenerato può assumere conformazioni anomale portando a delle deformità evidenti che influenzano l'estetica e/o la sensazione al tatto del seno; una soluzione a questo problema è il dispositivo impiantabile a base di idrogel (numero 100 nella fig. 3.2.1).

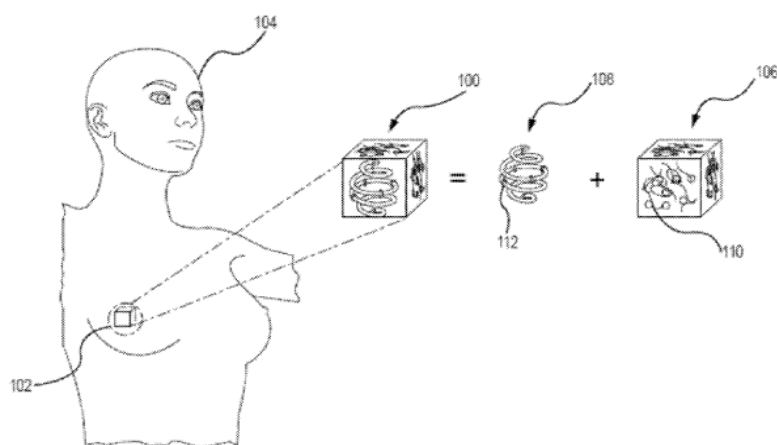


FIGURA 3.2.1 – Configurazione esemplificativa di un dispositivo impiantabile a base di idrogel

Questo impianto può essere costituito: da uno scaffold (impalcatura) di idrogel (numero 106 nella fig. 3.2.1) con cellule incorporate che ha il compito di assumere la funzione di un bioreattore per interagire e indurre le cellule del tessuto ospite a migrare, aderire e proliferare portando ad una integrazione tissutale. Da un telaio (numero 108 nella fig. 3.2.1) avente una o più porzioni circondate almeno parzialmente dall'impalcatura di idrogel che fornisce un supporto strutturale temporaneo nel processo di rigenerazione tissutale e consente il tracciamento del sito in questione.

Lo scaffold di idrogel è una rete tridimensionale biocompatibile di catene polimeriche idrofile reticolate che simulano un ambiente di matrice extracellulare nel quale le cellule possono essere incorporate. Cellule che derivano da tessuto sano del paziente rimosso durante una biopsia evitando così reazioni di rigetto da parte del paziente stesso. L'impalcatura di idrogel, (figura 3.2.2) in base al materiale di composizione, può essere modificata per ripristinare adeguatamente la densità di uno specifico tessuto mammario ed allo stesso tempo può fornire segnali chimici e meccanici che regolano il comportamento delle cellule impiantate. I segnali chimici indicano alle cellule native del seno il punto su cui ancorarsi alla struttura e quelli meccanici dirigono il differenziamento cellulare. L'interazione tra cellule native del seno

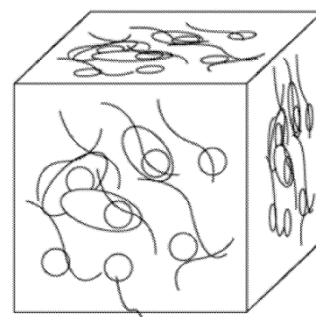


FIGURA 3.2.2 – Esempio di impalcatura di idrogel

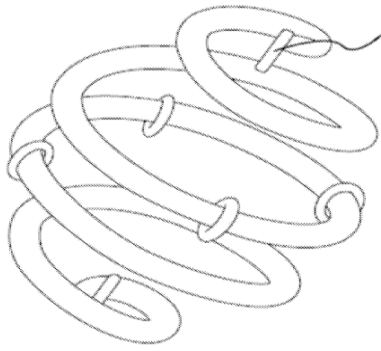


FIGURA 3.2.3 – Telaio
esemplificativo

e cellule incorporate nello scaffold favorirà l'aumento della velocità di rigenerazione del tessuto mammario e nel corso del tempo l'impalcatura grazie alla sua bioassorbibilità potrà essere assimilata dal corpo del paziente per lasciare spazio al neo-tessuto. La preparazione dell'impalcatura può avvenire con una soluzione di precursore di idrogel composta da uno o più polimeri sintetici come: poli(2-idrossietilmetacrilato) (pHEMA), polivinilpirrolidone (PVP), poli(alcool vinilico) (PVA) o da polimeri naturali come: collagene, fibrina e alginato oppure da polimeri ibridi dati dalla mescolanza di polimeri sintetici con naturali. Prima della gelificazione della soluzione di precursore, le cellule possono essere miscelate per favorire una loro migliore distribuzione in tutto lo scaffold. Nella soluzione possono essere incorporati anche fattori di crescita, per sollecitare la crescita cellulare e soluzioni tampone, che tengono sotto controllo il valore del pH della soluzione. La gelificazione si effettua grazie a variazioni di pH, temperatura o con la fotopolimerizzazione e trasforma la soluzione di precursore in un materiale semisolido. Il telaio (fig. 3.2.3) integrato con uno scaffold di idrogel può avere una struttura chiusa o parzialmente aperta. È un materiale bioassorbibile e questo gli permette di fornire supporto strutturale temporaneo all'interno della cavità, senza essere ostacolato dalla parziale copertura dell'impalcatura di idrogel. Una o più parti del telaio sono almeno parzialmente circondate dall'impalcatura. Se il telaio è una struttura parzialmente aperta funge da stampo e la soluzione di precursore avvolgerà il telaio in alcune parti; se la struttura è completamente aperta la soluzione potrà essere versata internamente e successivamente gelificata così da formare l'impalcatura all'interno del telaio oppure il telaio potrà essere completamente immerso nella soluzione di precursore. In base alla dimensione e forma del sito rimosso e dove inizialmente ha luogo la crescita del tessuto mammario, il telaio può essere scelto di dimensioni, forma e struttura diverse. La sua velocità di assorbimento è stabilita dal diverso tipo di biomateriale di composizione. Troviamo telai con struttura chiusa a forma di croce, sfera, ellisse o stella; telai con struttura parzialmente aperta a forma di cono cavo o piramide cava; telai con struttura aperta a forma di ellisse (fig 3.2.3). In alcuni casi il telaio può ospitare per un periodo di tempo lungo su una o più parti, marcatori di materiale radiopaco non bioassorbibile, che permettono tramite processi di imaging di identificare il sito di resezione. Una volta che il telaio e l'impalcatura di idrogel saranno combinati assieme per costituire il dispositivo impiantabile, dopo l'operazione chirurgica e la rimozione del tessuto mammario da un sito, potranno essere introdotti nella cavità formata, garantendo così una buona rigenerazione tessutale, grazie all'interazione delle cellule native con le cellule incapsulate e all'aiuto di fattori

di crescita. Lo stato attuale del brevetto in ambito commerciale è “pending”, ovvero “in attesa” di essere approvato e concesso il suo utilizzo in ambito medico, dopo la sua avvenuta pubblicazione il 22 luglio 2021. L’attuale assegnatario è l’industria Hologic, situata a Marlborough, MA(US) [26].

3.3 Protesi riassorbibili per chirurgia plastica

Numero di pubblicazione EP3019206B1

Ogni anno numerosi interventi di chirurgia plastica per recuperare o correggere forma e funzione del seno vengono eseguiti. Se in un primo momento si correggevano i difetti del seno come l’abbassamento dovuti all’invecchiamento naturale e alla gravità, con tecniche che si basavano sull’uso dell’involucro cutaneo preesistente come sistema di supporto. Ad oggi sono state realizzate diverse soluzioni per l’uso nelle procedure di mastopessi o per ricostruzione mammaria successiva a mastectomia, dove è necessario mantenere la posizione di una protesi mammaria o di un espansore tissutale.

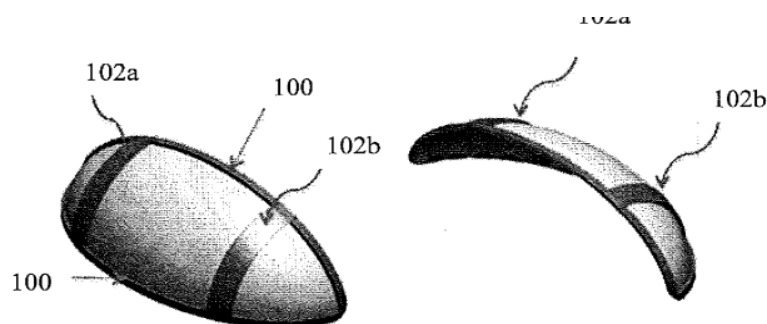


FIGURA 3.3.1 – Esempio di impianto tridimensionale a forma di cupola parziale rinforzato con nervature del corpo attorno al bordo e nella regione della cupola centrale

Sono stati sviluppati diversi tipi di impianti riassorbibili per le applicazioni mediche in chirurgia mammaria, costituiti da un’impalcatura (scaffold) polimerica porosa biodegradabile, che sono conformi al tessuto mammario e alla parete toracica circostante e forniscono un adeguato supporto e proprietà meccaniche per consentire la crescita interna del tessuto nell’impianto e supportare un seno ricostruito (un esempio di impianto fig. 3.3.1). Il tessuto ospite rigenerato sarà in grado di sostituire l’impianto degradato, che funge da sospensorio artificiale, liberando la pelle dal peso del seno e garantendo l’eliminazione di linee di stress dovute al solo utilizzo di tecniche di sollevamento con sola sutura. L’impianto è composto da biomateriali, resistenti

e flessibili, biocompatibili e controllati nel riassorbimento. La riassorbibilità gli permette di essere degradato e i suoi prodotti di degradazione sono eliminati o espulsi dal corpo grazie a processi metabolici e di idrolisi, senza interferire con gli organi circostanti e la tossicità, ed evitando così infiammazioni croniche, contrazioni e rigetti dovute a corpi estranei presenti per lungo tempo. La scelta del biomateriale per la realizzazione di impianti riassorbibili che garantisce migliori prestazioni è ricaduta sul poli-4-idrossibutirato (P4HB) o su un suo copolimero. Gli impianti a loro volta sono costituiti da impalcature, che nel tempo possono essere sostituite con tessuto ospite rigenerato in grado di supportare un seno rivisto chirurgicamente. Hanno proprietà meccaniche sufficienti a supportare il carico del seno e di qualsiasi impianto mammario, e un profilo della forza di ritenzione adatto a promuovere il passaggio graduale da supporto di tessuto mammario dell'impianto al nuovo tessuto rigenerato, senza evidenti perdite. L'impianto è in grado di sostenere un carico di almeno 5 N, più preferibilmente di 60 N in condizioni di movimento e attività sportiva. La struttura dell'impalcatura è porosa, così da offrire al tessuto formato un'area superficiale più ampia su cui aderire e proliferare; il diametro dei pori dovrà essere di almeno 10 μm . Il neo-tessuto che sostiene il seno ricostruito può sopportare una pressione di almeno 0,1 kPa. Al momento dell'impianto la struttura sarà ancorata alla parete toracica in quattro o più punti, così da distribuire il carico più uniformemente lungo tutto l'impianto. La forza di estrazione della sutura, calcolata mediante una macchina per prove di trazione che determina il carico di picco massimo, sarà maggiore di almeno 10 N. Un'ulteriore caratteristica fondamentale dell'impalcatura, conferita dall'orientamento del biomateriale, è la capacità di deformazione e allungamento. Fino al 30% della sua lunghezza iniziale l'impalcatura può subire una variazione, per permettere al chirurgo di mettere in tensione il seno durante l'impianto. Allo stesso tempo, garantisce flessibilità nel momento del suo impianto e maggiore rigidità nel corso del tempo per permettere al tessuto in formazione di avere un supporto rigido. Questa combinazione di flessibilità e rigidità è data dal valore calcolato per la rigidità Taber (inferiore a 100 unità di rigidità Taber). Diverse combinazioni di forme: a rete, a tessuto, a strisce, a maglia intrecciata, con pori, posizione delle linguette, dello spessore, asimmetria dell'impalcatura e tipo di materiale, danno luogo a maggiori proprietà meccaniche. Gli impianti sagomati tridimensionali sono impianti con memoria di forma. La memoria di forma è una proprietà dell'impianto che consente al chirurgo al momento dell'inserimento della struttura nel sito di interesse di comprimerla, tirarla, arrotolarla, piegarla temporaneamente per facilitarne l'entrata. Successivamente il dispositivo sarà in grado di recuperare la forma preformata dopo l'inserimento. Il bordo esterno se auto-rinforzato, contribuisce al recupero della forma dopo l'impianto. Può essere rivestito da fattori che stimolano l'adesione e la crescita delle cellule

come polipeptidi di qualsiasi proteina della matrice extracellulare (fibronectina, laminina, collagene I, II e V) e da agenti che migliorano la bagnabilità. Allo stesso tempo l'incorporazione di agenti bioattivi nella sua struttura che includono agenti antimicrobici, proteine come collagene e anticorpi, polisaccaridi come chitosano, alginato e acido ialuronico, stimolano la crescita interna delle cellule, la migrazione, la divisione, la proliferazione e la deposizione della matrice extracellulare. Di seguito, due rappresentazioni per la fabbricazione di protesi riassorbibili: la prima di una forma metallica per la realizzazione di impianti riassorbibili tridimensionali di P4HB, la seconda una protesi a forma semiellissoide tridimensionale. Gli impianti sopra descritti sono stati testati anche in vivo con ottimi risultati, mostrando come la struttura venga sostituita da tessuto ospite rigenerato con una pressione di scoppio sufficiente per supportare un seno ricostruito [27].

La figura 3.3.2 rappresenta un diagramma di una forma metallica divisa (numero 20 della fig.), costituita da una metà curvata verso l'interno (numero 22 della fig.) e una metà curvata verso l'esterno (numero 24 della fig.) con al centro una scanalatura semicircolare (numero 26 della fig.) situata nel bordo esterno della metà curvata verso l'interno, usato per realizzare impianti che possono assumere una forma tridimensionale da soli dopo l'inserimento nel corpo.

Un impianto tridimensionale a forma di un semiellissoide deve rispettare le dimensioni definite dai tre assi "a", "b", e "c" (figura 3.3.3). Le dimensioni del parametro "a" devono essere comprese in un intervallo tra 2 e 10 cm; il parametro "b" tra 3 e 10 cm e il parametro "c" tra 2,5 e 12 cm.

Questi impianti riassorbibili commercialmente non sono ancora disponibili per l'uso in applicazioni mediche, poiché il loro stato depositato è in attesa ("pending") di concessione, dopo la sua pubblicazione il 4 dicembre 2019. L'attuale assegnatario è l'industria Tepha, situata a Lexington, MA(US) [27].

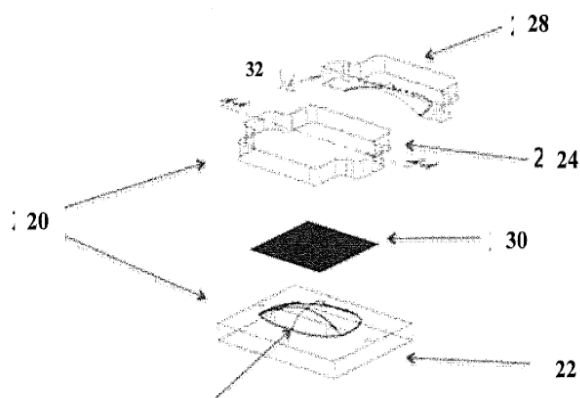


FIGURA 3.3.2 – Diagramma di una forma metallica divisa, utilizzata per realizzare impianti tridimensionali

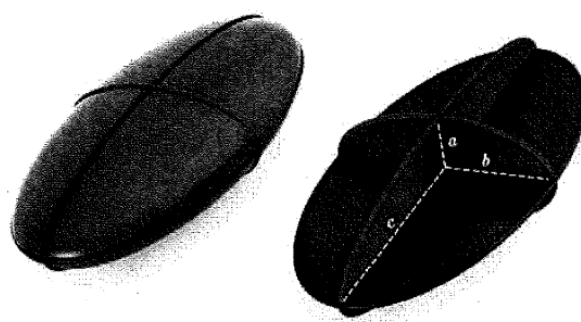


FIG. 4A **FIG. 4B**
FIGURA 3.3.3 – Diagramma di una forma di impianto semiellissoide

3.4 Impianto per la somministrazione localizzata di farmaci

Numero di pubblicazione EP3183026B1

I trattamenti di cura ai quali le donne sono sottoposte per combattere il cancro al seno prevedono oltre la rimozione chirurgica delle mammelle (es. mastectomia), la sospensione farmacologica sistemica degli estrogeni, attraverso la somministrazione localizzata di antiestrogeni.

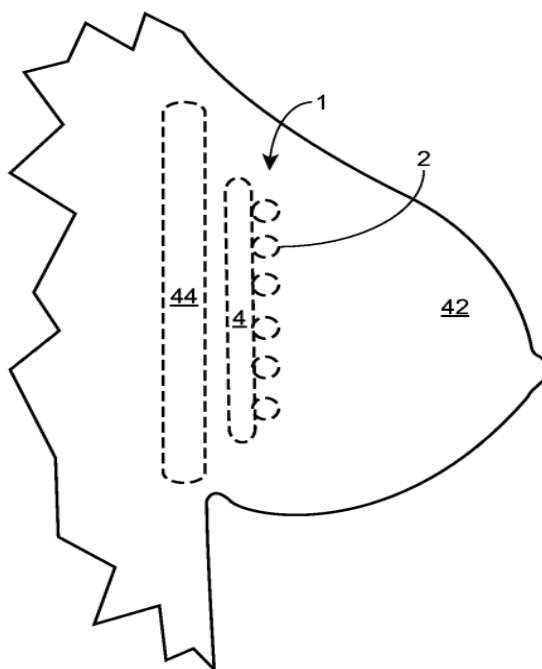


FIGURA 3.4.1 – *Illustrazione di un impianto per il rilascio di un agente attivo impiantato in un tessuto mammario*

Sono stati progettati e realizzati impianti che erogano un agente attivo idrofobo a un tessuto bersaglio/patologico. Includono un'impalcatura biocompatibile, che permette il contatto prolungato con un tessuto in un soggetto senza causare tossicità. Lo scaffold (numero 4, fig. 3.4.1) permette all'impianto (numero 1, fig. 3.4.1) di essere posizionato chirurgicamente sopra il muscolo pettorale (numero 44, fig. 3.4.1) e sotto il tessuto mammario (numero 42, fig. 3.4.1). La superficie dello scaffold anteriore dove è ancorato il tubo in silicone (numero 2, fig. 3.4.1) contenente l'agente attivo, è rivolta verso il tessuto mammario e quella posteriore impermeabile all'agente attivo verso il muscolo pettorale (fig. 3.4.1), impedendo la diffusione del farmaco al muscolo pettorale e la sua circolazione nel sangue.

L'impalcatura sarà solida ma flessibile per permettere l'arrotolamento e/o il piegamento nel momento dell'inserimento della struttura attraverso un'incisione chirurgica. Dovrà essere sufficientemente resistente alla degradazione per conservare più a lungo possibile la sua funzione di supporto e barriera. La scelta del materiale di composizione dell'impalcatura sarà

fondamentale per assicurarle determinate proprietà: dovrà essere compatibile con l'ambiente del sito per impianto e con l'agente attivo da somministrare; facile da fabbricare e resistente all'ambiente. Molti sono i polimeri adatti a soddisfare questi requisiti, più della metà sono omopolimeri, copolimeri e derivati lineari di derivazione sintetica a catena ramificata o reticolata come: poli(etilene), poliuretano, alcool polivinilico, poli(metilmetacrilato) e tanti altri. L'impalcatura in questione (figura 3.4.2) ha una forma circolare con un diametro medio nell'intervallo tra 0,1 cm e 100 cm ed uno spessore compreso tra 0,01 e 30 mm; dimensioni che variano a seconda del sito di impianto, tessuto bersaglio e alla quantità di tubo contenuta per il rilascio del farmaco. Il tubo in silicone, approvato come dispositivo biomedico sicuro per l'impianto nel corpo umano dalla Food and Drug Administration [28], sarà fissato allo scaffold mediante adesivi biocompatibili o dispositivi di fissaggio. A sua volta l'intero impianto grazie a linguette di sutura sarà ancorato al tessuto nel sito in esame. Il tubo in silicone è permeabile ad un agente attivo idrofobico, questo può essere della famiglia degli steroidi come: estrogeno, progestinico, testosterone, corticosteroide, colesterolo o antiestrogeno. Il tubo si distribuisce a spirale (figura 3.4.2), creando un disegno tortuoso, al centro si trova un ritorno tra la prima e la seconda estremità del tubo, così da avere un ampio serbatoio per il farmaco distribuito su un'area minore della lunghezza totale del tubo. Il diametro interno del tubo è di 0,76 mm, mentre quello esterno di 1,65 mm.

Le estremità dei tubi sono collegate a due camere della porta di riempimento comprendente due fori di riempimento (numero 8, fig. 3.4.2), che è situata al di fuori dell'impianto per via sottocutanea. Questa permette di accedere direttamente al volume interno del tubo in silicone, controllando la quantità di accesso e uscita del farmaco da somministrare.

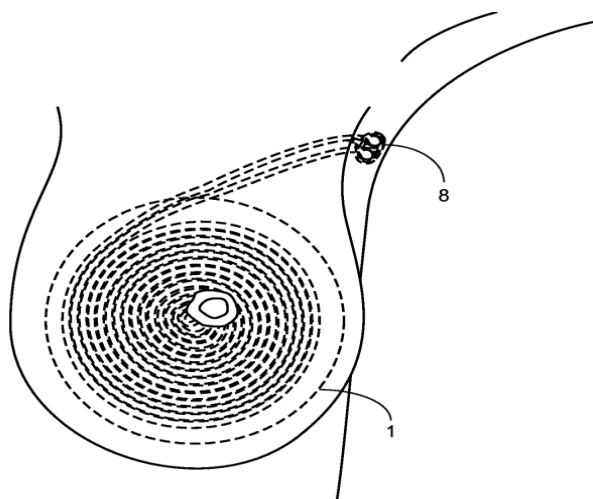


FIGURA 3.4.2 - *Illustrazione di un impianto per il rilascio di un agente attivo impiantato in un tessuto mammario*

Il dispositivo può essere caricato prima o dopo il suo impianto, e rilasciare una singola dose per un periodo di tempo compreso tra 5 e 60 giorni, colpendo il livello di espressione di un recettore bersagliato e/o inibendo la proliferazione di cellule tumorali. La soluzione potrà avanzare nel tubo grazie alla gravità o per una pressione applicata. L'agente attivo sarà disponibile nella superficie interna, dopo la rimozione del solvente per evaporazione.

La configurazione funzionale sarà quella che permetterà un rilascio unidirezionale localizzato dell'agente attivo al bersaglio. L'impianto potrà essere modificato per aumentare o diminuire il dosaggio del farmaco oppure rimosso completamente, dando come esito migliore la riduzione delle dimensioni del tumore, il rallentamento dello sviluppo del tumore o la completa eliminazione. Il suo stato attuale in ambito commerciale è "pending", ovvero il suo utilizzo in ambito medico è "in attesa" di essere approvato e concesso. La data di pubblicazione del brevetto è il 30 ottobre 2019. L'attuale assegnatario è l'University of California.

Sono state testate diverse applicazioni di questi dispositivi, per permettere di fornire una descrizione su come realizzarli e utilizzarli, apprezzandone i risultati positivi raggiunti [28]. Un'applicazione di un dispositivo silastic® (lunghezza 9 cm, DE 1,65 mm, DI 0,76 mm) ha mostrato l'efficienza del tubo come deposito di un agente attivo idrofobo: il fulvestrant. Il terreno di coltura tissutale contenente il farmaco rilasciato dai tubi fino a 30 giorni è stato aggiunto a cellule di cancro al seno MCF7 ER-positive e fatto crescere per circa 72 ore. Il risultato ha evidenziato come le concentrazioni rilasciate del farmaco (10-50 nM) erano sufficienti per bloccare la segnalazione e proliferazione del recettore degli estrogeni. Come conferma positiva le cellule tumorali sono state attaccate direttamente con 100 nM di fulvestrant, concentrazione sufficiente a ridurre l'espressione di ER e arrestare la crescita cellulare (figura 3.4.3) [28].

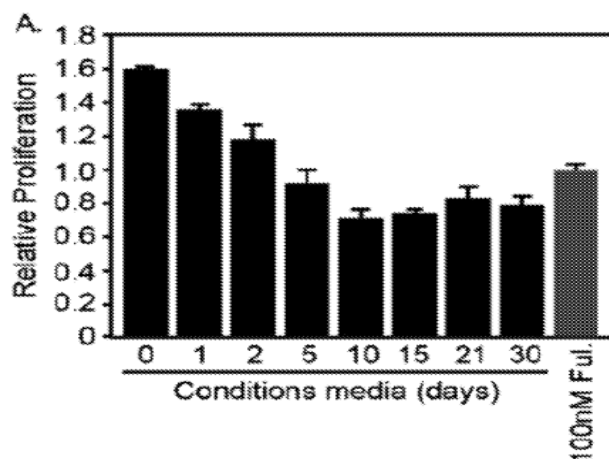


FIGURA 3.4.3 – Grafico illustrante l'attività misurata di fulvestrant eluito in mezzo da un tubo di silastic® caricato con fulvestrant

CONCLUSIONI

Il continuo sviluppo nel campo dell'ingegneria dei tessuti ha permesso e permette tutt'ora di superare le principali criticità sperimentate con le terapie convenzionali (mastectomia, terapia conservativa del seno) per la ricostruzione del seno dopo la resezione del tumore. Offre in questo modo alle donne colpite da carcinoma una soluzione riparatrice che possa soddisfare il risultato estetico mediante la rigenerazione di tessuto adiposo. A causa della eterogeneità delle cellule presenti nel tessuto mammario, la sua rigenerazione è piuttosto complessa. Il fattore chiave dell'ingegneria dei tessuti è l'utilizzo di scaffold, biocompatibili e bioassorbibili per supportare la crescita e lo sviluppo cellulare fino alla completa formazione di un tessuto maturo e stabile, che sostituisca le funzioni e la struttura di quello rimosso. Sono state realizzate e sperimentate diverse tipologie di scaffold, come visto nel capitolo secondo. Quelli fabbricati con biomateriali naturali, la cui stretta somiglianza con la matrice extracellulare naturale, li rende biocompatibili e facili da degradare, evitando reazioni tossiche da parte dell'organismo e quindi sono più adatti alla crescita delle cellule. Al contrario gli scaffold sintetici sono più efficaci e ottimali nel conservare buone proprietà meccaniche. Una possibile sfida futura, a mio parere sarà quella di trovare il giusto equilibrio tra composizione naturale e sintetica, in modo tale che lo scaffold possa usufruire dei vantaggi di entrambi, cercando di ridurre il più possibile le limitazioni. L'attenzione è volta all'uso di materiali biomimetici, degradabili e capaci di fornire segnali chimici e biologici che imitino quelli prodotti dalla matrice extracellulare. Sfruttare le relazioni tra struttura e funzione del biomateriale dello scaffold potrà garantire un maggior utilizzo dell'impalcatura in diversi siti. Un altro punto a favore dell'impiego di queste impalcature ingegnerizzate è la disponibilità di cellule staminali multipotenti, come quelle di derivazione adiposa, che dopo essere state incorporate nello scaffold, potranno avviare la rigenerazione del nuovo tessuto adiposo. Importante sarà riuscire a garantire lo stesso volume del tessuto danneggiato, cercando di prevedere la quantità del tessuto adiposo trapiantato che sopravviverà, ostacolando il suo riassorbimento. La scarsa o mancata vascolarizzazione del costruito ingegnerizzato è un limite importante sul quale il campo dell'ingegneria tissutale sta prestando molta attenzione, nonostante la struttura porosa dello scaffold permetta alle cellule un buon apporto di nutrienti e ossigeno. L'impiego di queste impalcature come rivestimento di strutture o telai è già stato preso in considerazione, al fine di garantire una migliore incorporazione dell'intera struttura (brevetti illustrati nel terzo capitolo) nel sito in questione, favorita dall'adesione, proliferazione e differenziazione di cellule che andranno a rigenerare il tessuto.

Diversi esempi di applicazioni di scaffold soli o incorporati con altre strutture sono stati testati prima in vitro, ottenendo buoni risultati per assicurare un loro futuro utilizzo su pazienti. Sarà importante, a parer mio, che i medici continuino le sperimentazioni anche in vivo per acquisire dati validi che possano migliorare i risultati clinici in futuro e offrire alle pazienti diverse soluzioni efficaci. Eliminando tutte le possibili complicanze dovute a protesi al silicone, come la formazione della capsula periprotetica, la permanenza di materiale estraneo per lungo tempo, la contrattura e l'irrigidimento dei tessuti molli e dovute a trapianto di tessuti autologhi, come la morbilità del tessuto donatore. Ad oggi sebbene i progressi nel settore dell'ingegneria dei tessuti sono in crescita esponenziale, lo si può osservare dal numero crescente di biomateriali venduti e sottoposti a sperimentazioni cliniche che superano già i 240 milioni di dollari all'anno [15]; la ricerca di un equilibrio tra porosità, composizione, pattern, proprietà meccaniche, biologiche e fisico-chimiche, vascolarizzazione, costi, a mio avviso sarà la tecnica vincente per garantire ottime soluzioni rigenerative del tessuto mammario.

BIBLIOGRAFIA

- [1] P. J. Bazira, H. Ellis, and V. Mahadevan, "Anatomy and physiology of the breast."
- [2] C. Conci *et al.*, "Tissue engineering and regenerative medicine strategies for the female breast," *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, vol. 14, no. 2. John Wiley and Sons Ltd, pp. 369–387, Feb. 01, 2020. doi: 10.1002/term.2999.
- [3] Isabella Barajon, Vincenzo Benagiano, and Autori vari, "Anatomia Mammella," in *Anatomia Umana Topografica*, Edi.Ermes, Ed., Seconda edizione. Peschiera Borromeo (MI), 2019, pp. 270–276.
- [4] A. Gefen and B. Dilmoney, "Mechanics of the normal woman's breast," IOS Press, 2007.
- [5] "i tessuti," *Franco Lucisano Editore (Zanichelli)*, 2012.
- [6] E. J. Combellack *et al.*, "Adipose regeneration and implications for breast reconstruction: Update and the future," *Gland Surgery*, vol. 5, no. 2. AME Publishing Company, pp. 227–241, Apr. 01, 2016. doi: 10.3978/j.issn.2227-684X.2016.01.01.
- [7] G. Tosello, M. R. Torloni, B. S. Mota, T. Neeman, and R. Riera, "Breast surgery for metastatic breast cancer," *Cochrane Database of Systematic Reviews*, vol. 2018, no. 3. John Wiley and Sons Ltd, Mar. 15, 2018. doi: 10.1002/14651858.CD011276.pub2.
- [8] Y. S. Sun *et al.*, "Risk factors and preventions of breast cancer," *International Journal of Biological Sciences*, vol. 13, no. 11. Ivyspring International Publisher, pp. 1387–1397, 2017. doi: 10.7150/ijbs.21635.
- [9] A. G. Waks and E. P. Winer, "Breast Cancer Treatment: A Review," *JAMA - Journal of the American Medical Association*, vol. 321, no. 3. American Medical Association, pp. 288–300, Jan. 22, 2019. doi: 10.1001/jama.2018.19323.
- [10] M. Abdul-Al, A. Zaernia, and F. Sefat, "Biomaterials for breast reconstruction: Promises, advances, and challenges," *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, vol. 14, no. 11. John Wiley and Sons Ltd, pp. 1549–1569, Nov. 01, 2020. doi: 10.1002/term.3121.
- [11] "new CASes OF BreASt CAnCer per 100,000 women* DeAthS CAuSeD By BreASt CAnCer per 100,000 women* 2020 new cases (incidence) and deaths (mortality) estimates Breast cancer burden in EU-27." [Online]. Available: <https://cancer-code-europe.iarc.fr>
- [12] V. Galimberti *et al.*, "Nipple-sparing and skin-sparing mastectomy: Review of aims, oncological safety and contraindications," *Breast*, vol. 34, pp. S82–S84, Aug. 2017, doi: 10.1016/j.breast.2017.06.034.

- [13] T. A. Moo, R. Sanford, C. Dang, and M. Morrow, "Overview of Breast Cancer Therapy," *PET Clinics*, vol. 13, no. 3. W.B. Saunders, pp. 339–354, Jul. 01, 2018. doi: 10.1016/j.cpet.2018.02.006.
- [14] K. L. Maughan, M. A. Lutterbie, and P. S. Ham, "Treatment of Breast Cancer," 2010. [Online]. Available: www.aafp.org/afpAmericanFamilyPhysician1339
- [15] "Biomaterials & scaffolds for tissue engineering," 2011.
- [16] P. C. M. M. L. F. Luigi Donati and M. G. W. G. M. K. E. M. A. M. M. O. R. S. E. T. U. A. Mariapia Ferrone, "Ingegneria tessutale cutanea: dal laboratorio all'applicazione clinica," Università degli Studi di Milano, Milano, 1999.
- [17] A. A. Chaudhari *et al.*, "Future prospects for scaffolding methods and biomaterials in skin tissue engineering: A review," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 17, no. 12. MDPI AG, Dec. 01, 2016. doi: 10.3390/ijms17121974.
- [18] G. A. Ferraro *et al.*, "Human adipose CD34+CD90+ stem cells and collagen scaffold constructs grafted in vivo fabricate loose connective and adipose tissues," *J Cell Biochem*, vol. 114, no. 5, pp. 1039–1049, May 2013, doi: 10.1002/jcb.24443.
- [19] R. Yao, R. Zhang, F. Lin, and J. Luan, "Injectable cell/hydrogel microspheres induce the formation of fat lobule-like microtissues and vascularized adipose tissue regeneration," *Biofabrication*, vol. 4, no. 4, Dec. 2012, doi: 10.1088/1758-5082/4/4/045003.
- [20] S. F. Badylak, D. O. Freytes, and T. W. Gilbert, "Extracellular matrix as a biological scaffold material: Structure and function," *Acta Biomaterialia*, vol. 5, no. 1. Elsevier BV, pp. 1–13, 2009. doi: 10.1016/j.actbio.2008.09.013.
- [21] C. Frantz, K. M. Stewart, and V. M. Weaver, "The extracellular matrix at a glance," *Journal of Cell Science*, vol. 123, no. 24. pp. 4195–4200, Dec. 15, 2010. doi: 10.1242/jcs.023820.
- [22] A. D. Theocharis, S. S. Skandalis, C. Gialeli, and N. K. Karamanos, "Extracellular matrix structure," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 97. Elsevier B.V., pp. 4–27, Feb. 01, 2016. doi: 10.1016/j.addr.2015.11.001.
- [23] N. K. Karamanos *et al.*, "A guide to the composition and functions of the extracellular matrix," *FEBS Journal*, vol. 288, no. 24, pp. 6850–6912, Dec. 2021, doi: 10.1111/febs.15776.
- [24] "US20210030528A1".
- [25] G. Patrick Maxwell and A. Gabriel, "Breast implant design," *Gland Surg*, vol. 6, no. 2, pp. 148–153, Apr. 2017, doi: 10.21037/gs.2016.11.09.
- [26] "W H I N E."

- [27] "EUROPEAN PATENT SPECIFICATION (54) ABSORBABLE IMPLANTS FOR PLASTIC SURGERY
ABSORBIERBARE IMPLANTATE FÜR DIE PLASTISCHE CHIRURGIE IMPLANTS RÉSORBABLES DE
CHIRURGIE PLASTIQUE (84) Designated Contracting States: AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES
FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO," 2014.
- [28] "EUROPEAN PATENT SPECIFICATION AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE
IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO RS SE SI SK SM TR," 2017.