

Trattamento di un'ampia perdita di sostanza cutanea post-traumatica mediante colture cellulari. Case report

M.G. ONESTI, C. MONARCA, M.I. RIZZO, S. CARELLA, G. SPINELLI, N. SCUDERI

RIASSUNTO: Trattamento di un'ampia perdita di sostanza cutanea post-traumatica mediante colture cellulari. Case report.

M.G. ONESTI, C. MONARCA, M.I. RIZZO, S. CARELLA, G. SPINELLI, N. SCUDERI

La cute "ingegnerizzata" rappresenta un successo nella ricerca interdisciplinare applicata alla chirurgia ricostruttiva. Riportiamo la nostra esperienza nella ricostruzione di un'ampia perdita di sostanza di origine traumatica mediante l'utilizzo di cellule autologhe coltivate su un biomateriale di supporto. I vantaggi evidenziati sono stati una rapida riparazione del trauma e buoni esiti cicatriziali.

SUMMARY: Treatment of a wide cutaneous post-traumatic loss of substance by cell cultures. Case report.

M.G. ONESTI, C. MONARCA, M.I. RIZZO, S. CARELLA, G. SPINELLI, N. SCUDERI

Bioengineering skin represents a successful outcome in the interdisciplinary research applied to reconstructive surgery. In this study we report our experience in the reconstruction of a wide traumatic wound by autologous engineered skin, grown on a biomaterial scaffold. Advantages were rapid reparation of the trauma and good scars.

KEY WORDS: Ricostruzione cutanea - Tessuto ingegnerizzato - Fibroblasti autologhi - Biomateriale di supporto.
Skin reconstruction - Engineered tissue - Autologous fibroblasts - Biomaterial scaffold.

Introduzione

L'ingegneria tissutale è la scienza che studia la crescita di nuovo tessuto organico a partire da piccoli frammenti di tessuto sano, per ricostruire parzialmente o totalmente tessuti danneggiati, come già dimostrato dalle applicazioni cliniche di colture di cute, cornea, cartilagine. Lo sviluppo di queste tecniche fornisce notevoli vantaggi soprattutto nel trattamento delle lesioni cutanee e/o delle perdite di sostanza non facilmente risolvibili mediante l'impiego dei trattamenti convenzionali (1). I fondamenti dell'ingegneria tissutale riguardano: le sorgenti cellulari, le impalcature per l'espansione e la differenziazione cellulare, i fattori di

crescita. Affinché in questo campo si possano ottenere risultati validi, è indispensabile una stretta collaborazione tra medici e ricercatori (2).

Le cellule possono essere utilizzate in differenti stadi di maturazione: cellule differenziate in tessuti specifici, cellule progenitrici isolate da tessuti adulti e cellule staminali embrioniche (3). I biomateriali attualmente utilizzati in dermatologia si basano su esteri dell'acido ialuronico, con i quali è possibile realizzare costrutti monocellulari costituiti da lamine di fibroblasti e lamine di cheratinociti. Le lamine di fibroblasti vengono applicate in tempi successivi sino a creare uno spessore del derma idoneo a ricevere innesti cutanei o colture cellulari di soli cheratinociti. Nel Dipartimento di Chirurgia Plastica, Ricostruttiva ed Estetica della "Sapienza" Università di Roma, in collaborazione con *Fidia Advanced Biopolymers* (FAB® s.r.l.), utilizziamo spesso costrutti monocellulari per la ricostruzione del derma nel trattamento di varie patologie (ulcerative, traumatiche e/o cicatriziali). Riportiamo un caso di particolare rilevanza.

"Sapienza" Università di Roma
Dipartimento di Chirurgia Plastica Ricostruttiva ed Estetica
(Direttore: Prof. N. Scuderi)

© Copyright 2009, CIC Edizioni Internazionali, Roma

Caso clinico

Nel luglio 2003, in seguito ad un incidente stradale, D.P., 19 anni, di sesso maschile, riportava un politrauma con una vasta perdita di sostanza a livello della spalla destra, numerose fratture ossee (coste, omero, femore e tibia), una contusione della milza e lo scuoiamento dell'arto inferiore destro, dal terzo prossimale della coscia fino al dorso del piede. L'arto inferiore sinistro presentava una perdita di sostanza, a spessore parziale, del diametro di 4x8 cm, in regione sovramalleolare laterale. Ricoverato in urgenza, veniva sottoposto a splenectomia, ad applicazione di gesso braccio-carpale, a riduzione cruenta delle fratture dell'arto inferiore destro con posizionamento di due fissatori esterni. Inoltre, per l'ampia perdita di sostanza cutanea, veniva eseguito un prelievo di cute per invio alla FAB® per procedere alla coltivazione di fibroblasti *in vitro*.

Il 1° agosto 2003 il paziente veniva trasferito nel nostro Dipartimento per completare il trattamento delle lesioni cutanee traumatiche degli arti inferiori. Al momento del ricovero presentava febbre di tipo continuo-remittente, brividi, sudorazione profusa, disidratazione, oliguria, polso piccolo e molle, ipotensione arteriosa e tachicardia, come da sepsi diffusa; localmente era evidente lo scuoiamento da trauma che coinvolgeva in maniera ampia e diffusa tutto l'arto inferiore destro (Fig. 1) con assenza completa del tessuto cutaneo e sottocutaneo ed esposizione dei tessuti muscolo-fasciali, ricoperti da abbondante essudato muco-purulento, con diffuse aree di necrosi. Inoltre, si evidenziavano due recessi settici, uno in regione ischiatica e l'altro tra il ventre del muscolo bicipite femorale ed il suo tendine. L'esame fistolografico di quest'ultimo mostrava la diffusione del mezzo di contrasto sino al terzo prossimale della diafisi femorale. Per tale motivo si eseguivano ripetute toilette chirurgiche delle zone necrotiche e lavaggi con soluzione fisiologica e successivamente soluzioni disinfettanti di iodopovidone al fine di "diluire" la carica batterica e preparare al meglio il fondo della lesione. Venivano effettuati esami colturali delle secrezioni, che evidenziavano la presenza di *Candida spp.*, *Staphylococcus Aureus*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Proteus spp.* e *Aspergillus Flavus*. Pertanto si instaurava terapia antibiotica mirata sotto stretto controllo infettivologico.

Tali procedure portavano ad un miglioramento della situazione locale, con scomparsa delle secrezioni e formazioni di un normale tessuto di granulazione. Si procedeva quindi alla copertura dell'ampia perdita di sostanza mediante applicazione di Hyalomatrix® (un sostituto del derma acellulare costituito da Hyaff®11, un estere benzilico dell'acido ialuronico, fisicamente accoppiato ad una pellicola trasparente e flessibile di elastomero sintetico, che agisce da barriera semipermeabile agli agenti esterni).

Cinque giorni dopo si posizionavano 8 lamine di fibroblasti autologhi coltivati (Hyalograft 3D®) e, dopo tre settimane, altre 12 lamine (Fig. 2). Constatato il loro attecchimento e la conseguente presenza di un fondo ottimale, si procedeva all'ultimo intervento posizionando innesti dermo-epidermici in corrispondenza della regione posteriore di coscia e gamba destra. Non è stata considerata la possibilità di utilizzare cheratinociti coltivati, in quanto questi necessitano, per un attecchimento ottimale, dell'assenza certa di infezione e di colonizzazione batterica locale. Durante il ricovero il paziente è stato medicato esclusivamente con soluzione di Dakin® diluita (poco lesiva per i fibroblasti), applicando sopra gli innesti cutanei garze imbevute di paraffina, Connettivina® garze e una medicazione oclusiva. Nove giorni dopo l'ultimo intervento, gli innesti apparivano attecchiti sul 90% della superficie trattata. Si iniziava pertanto un trattamento fisioterapico di recupero osteo-muscolare che permetteva, a distanza di tre mesi, la dimissione del paziente in franco recupero morfo-funzionale e deambulatorio.

Durante il follow-up a medio termine, a 1, 2 e 9 mesi (Fig. 3) dall'ultimo intervento chirurgico, si sono osservati la ripitelizzazione delle isole di granulazione ed un esito cicatriziale favorevole,



Fig. 1 - Aspetto della ferita con estesa perdita di sostanza nell'agosto 2003.



Fig. 2 - Aspetto intraoperatorio con l'apposizione di lamine di Hyalograft 3D®.

confermati a lungo termine, ovvero ad 1 e 2 anni, con deambulazione completamente autonoma.

Discussione

Le ampie perdite di sostanza rappresentano da sempre una sfida per il chirurgo plastico, in quanto la cute disponibile per effettuare trapianti autologhi è spesso insufficiente, per cui si rendono necessari ripetuti interventi chirurgici con l'utilizzo, in via temporanea, di innesti omologhi e/o eterologhi, il cui potere antigenico, anche se parzialmente riducibile con tecniche crioprotettive, condiziona inevitabilmente l'evoluzione sfavorevole verso il rigetto (4).

L'ingegneria tissutale è un innovativo concetto scientifico, focalizzato sulla rigenerazione di tessuti a



Fig. 3 - Aspetto dell'arto nel settembre 2004.

partire da cellule sane, "supportate" da biomateriali e fattori di crescita.

La possibilità di sostituire tessuti persi o gravemente danneggiati è oggi una realtà grazie allo sviluppo di prodotti clinicamente vitali e commercializzati negli ultimi anni (5).

Nel nostro caso, un innesto ingegnerizzato di fibroblasti coltivati su un supporto di un estere dell'acido ialuronico (Hyafl®), ha permesso di riparare un'ampia perdita di sostanza di natura traumatica, creando le condizioni per la formazione di tessuto di granulazio-

ne idoneo all'attecchimento di successivi innesti cutanei. I nostri risultati confermano che l'applicazione di questa nuova tecnologia consente risultati migliori e più rapidi rispetto a quelli ottenibili con i trattamenti convenzionali.

Conclusioni

La possibilità di coltivare cellule autologhe *in vitro* per la realizzazione di lamine tissutali bioingegnerizzate ha aperto una nuova strada nel campo della chirurgia ricostruttiva della medicina cosiddetta rigenerativa, in cui biologi cellulari, ingegneri e chirurghi plastici collaborano in team integrato.

Nella nostra esperienza, il trattamento di perdite di sostanza cutanea, come ulcere, ustioni o lesioni post-traumatiche, ha dato buoni risultati con l'utilizzo di tessuto autologo ingegnerizzato costituito da fibroblasti. Tale procedura è possibile mediante prelievo preliminare di cellule sane del paziente stesso e pertanto non vi è alcun pericolo di rigetto. Rapidamente si può ottenere un buon tessuto di granulazione e concludere il trattamento con innesti cutanei o lamine di cheratinociti coltivati.

Riteniamo, pertanto, che le lamine di fibroblasti autologhi bioingegnerizzate rappresentino attualmente un successo reale nel campo della ricerca interdisciplinare applicata alla chirurgia ricostruttiva. Nel futuro si prospetta un sostituto cutaneo formato da derma ed epidermide a partire da cellule endoteliali, in grado di realizzare anche una rete vasale capillare, indispensabile apporto nutritivo per l'attecchimento del neotessuto.

Bibliografia

1. Arvelo F. Tissue engineering and construction of human skin *in vitro*. *Invest Clin* 2007; 48(3):367-75.
2. Ikada Y. Challenges in tissue engineering. *J R Soc Interface* 2006; 3(10):589-601.
3. Fodor WL. Tissue engineering and cell based therapies, from the bench to the clinic: the potential to replace, repair and regenerate. *Reprod Biol Endocrinol*. 2003;1:102.
4. Scuderi N, Rubino C. *Chirurgia Plastica*. II Edizione Piccin - Padova, 2004.
5. Metcalfe AD, Ferguson MW. Bioengineering skin using mechanisms of regeneration and repair. *Biomaterials*. 2007;28(34):5100-13.
6. Hench LL, Pollack JM. Third generation biomaterials. *Science* 2002;295:1015-1017.
7. Stewart J. Next generation products for wound management. *World Wide Wounds* Nov. 2002.
8. Fodor WL. Tissue engineering and cell based therapies, from the bench to the clinic: The potential to replace, repair and regenerate. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2003;1:102.
9. Onesti MG, Marcasciano F, Stacciali S. Utilizzo della matrice biologica rigenerante (Hyalomatrix®) nel trattamento di una perdita di sostanza traumatica a tutto spessore in età pediatrica. *Derm. Clinic*. 2004;XXII(3/4).
10. Onesti MG, Bisonti A, Troccola A, Scuderi N. Le medicazioni avanzate nel trattamento delle ferite difficili. *Derm Clinic*. 2006;XXVI(3).
11. Onesti MG, Troccola A, Anniboletti T, Bisonti A, Laporta R, Pacitti F, Mazzocchi M. Utilizzo combinato di medicazioni avanzate e trattamento chirurgico ricostruttivo nelle lesioni dell'arto inferiore: nostra esperienza. *Derm Clinic*. 2007;XXVII(12).