

Silvia Scevola¹, Marco Mario Tresoldi^{2,3}, Angela Faga^{1,3,4}

Rigenerazione e Riabilitazione Esperienza di chirurgia plastica in un centro di riabilitazione

¹ Centro di ricerca interdipartimentale Tecnologie Applicate alla Medicina Rigenerativa e alla Chirurgia Induttiva (TAMeRiCI), Università degli Studi di Pavia, Italia

² Unità di Chirurgia Plastica, Dipartimento di Scienze Clinico Chirurgiche, Diagnostiche e Pediatriche, Università degli Studi di Pavia, Italia

³ Unità di Chirurgia Plastica, IRCCS Istituti Clinici Scientifici Maugeri, Pavia, Italia

⁴ Dipartimento di Medicina Molecolare, Università degli Studi di Pavia, Italia

RIASSUNTO. La Chirurgia Rigenerativa ha come obiettivo la rigenerazione di strutture e funzioni del corpo perdute per le più svariate ragioni e si avvale attualmente di quattro sostanziali modalità applicative: le energie fisiche, i biomateriali, i prodotti cellulari e le cellule staminali. Oggetto di questo studio è la presentazione delle moderne possibilità riabilitative della Chirurgia Plastica Rigenerativa, ricavate dalla disamina delle problematiche chirurgiche riabilitative trattate nell'Unità di Chirurgia Plastica dell'Università di Pavia, Istituti Clinici Scientifici Salvatore Maugeri dal 2007 al 2017, con tecniche rigenerative: le gravi perdite di sostanza acute, le ulcere croniche, le cicatrici disabilitanti e patologie degenerative a varia eziologia.

Le metodiche rigenerative rappresentano una realtà consolidata della corrente offerta terapeutica di una moderna Unità di Chirurgia Plastica. Tali metodiche possono essere impiegate sia come opzione esclusiva in caso di controindicazione clinica assoluta agli interventi chirurgici ricostruttivi tradizionali, sia come alternativa ad un trattamento chirurgico standard per ottenere il medesimo risultato con una invasività considerevolmente minore, che in abbinamento a metodiche chirurgiche di minore entità per ridurre l'invasività della procedura terapeutica complessiva.

Parole chiave: rigenerazione, chirurgia plastica, guarigione delle ferite, cicatrici.

ABSTRACT. REGENERATION AND REHABILITATION. PLASTIC SURGERY PRACTICE IN A REHABILITATION CENTRE. Regenerative Surgery aims at the restoration of the loss of structures and functions of the body using four innovative approaches: physical energies, biomaterials, cell products and stem cells. The Authors provide an overview of their experience with Regenerative Surgery procedures at the Plastic Surgery Unit of the University of Pavia, Istituti Clinici Scientifici Salvatore Maugeri, in a 10 years period, from 2007 to 2017, for the treatment of extensive acute soft tissue loss, chronic ulcers, disabling scars and degenerative pathologies with different aetiology. Regenerative Surgery is a well-established and effective practice in a modern Plastic Surgery Unit. Regenerative methods are effectively used both as exclusive options in case of absolute contraindication to traditional surgery and as alternative to the latter in order to provide the same outcome with less invasiveness or in combination with minor traditional surgical procedures to reduce the overall surgical burden.

Key words: regeneration, rehabilitation, plastic surgery, wound healing, scar.

Introduzione

L'incremento delle aspettative di vita, le nuove frontiere della chirurgia demolitiva, il miglioramento delle tecniche rianimatorie, portano attualmente alla sopravvivenza di un maggior numero di pazienti un tempo destinati a più precoce morte, ma nel contempo determinano aumento del numero di persone con bisogni riabilitativi. La riabilitazione si definisce come quella branca della medicina il cui fine è il recupero di una funzione compromessa così contribuendo significativamente al miglioramento della qualità di vita della persona. Essa costituisce una componente prioritaria ed irrinunciabile delle moderne procedure mediche e chirurgiche, affinché i successi terapeutici non siano limitati alla mera sopravvivenza ma comportino il miglior prosieguo possibile di una vita dignitosa, con relazioni personali gratificanti e pieno reinserimento nel contesto sociale.

La Chirurgia Plastica, che è arte antica ma scienza giovane ed in costante evoluzione, nasce proprio come chirurgia del recupero funzionale, dapprima soprattutto per la riabilitazione dei mutilati di guerra, più recentemente ancor più per sanare i postumi di traumi complessi a varia eziologia e della chirurgia oncologica demolitiva (1).

Tradizionalmente la Chirurgia Plastica attinge le proprie risorse ricostruttive dal corpo stesso per il tramite di trasferimenti tissutali sotto forma di innesti o trapianti cui, in epoca recente, si sono aggiunti gli impianti, materiali estranei che, inseriti nel corpo umano, ne sostituiscono o supportano strutture e/o funzioni.

I progressi della Chirurgia Plastica delle ultime decadi del secolo scorso avevano permesso la ricostruzione per sostituzione con livelli straordinariamente crescenti di raffinatezza tecnica, raggiungendo il limite del non ulteriormente perfezionabile (2,3).

In epoca recentissima, sotto la spinta dei progressi della ricerca scientifica in ambito biologico, si è assistito all'avvento di una nuovissima branca nell'ambito delle scienze mediche, la Chirurgia Rigenerativa, che ha come obiettivo la rigenerazione di strutture e funzioni del corpo perdute per le più svariate ragioni. Tale avvento ha segnato l'inizio di una autentica rivoluzione culturale nella Chirurgia Plastica: il passaggio dalla riparazione per sostituzione a quella per rigenerazione (4-6). L'ambizioso obiet-

tivo della rigenerazione *quo ante* di strutture e funzioni del corpo umano è naturalmente ben lungi dall'essere raggiunto, tuttavia un numero crescente di possibilità applicative già ad oggi concretamente permette la stimolazione della rigenerazione tissutale.

La Chirurgia Rigenerativa contemporanea si avvale di quattro sostanziali modalità applicative: le energie fisiche, i biomateriali, i prodotti cellulari e le cellule staminali (7).

Oggetto di questo studio è la presentazione delle moderne possibilità riabilitative della Chirurgia Plastica Rigenerativa, ricavate dalla disamina delle problematiche chirurgiche riabilitative della nostra corrente pratica clinica trattate con tecniche rigenerative: le gravi perdite di sostanza acute, le ulcere croniche, le cicatrici disabilitanti e patologie degenerative a varia eziologia.

Materiali e Metodi

Lo studio si basa sull'analisi retrospettiva dell'impiego delle diverse metodiche rigenerative finalizzate a trattare patologie disabilitanti nell'Unità di Chirurgia Plastica dell'Università di Pavia, Istituti Clinici Scientifici Salvatore Maugeri dal 2007 al 2017.

Sono stati inclusi nello studio pazienti portatori di gravi perdite di sostanza acute, ulcere croniche, cicatrici disabilitanti e patologie degenerative a varia eziologia trattati con procedure di chirurgia rigenerativa per controindicazione assoluta o relativa ai trattamenti ricostruttivi tradizionali.

Per quanto riguarda l'impiego delle energie fisiche abbiamo preso in considerazione i pazienti portatori di lesioni da pressione o ferite difficili trattate con la terapia a pressione negativa e i pazienti portatori di cicatrici inveterate trattate con un protocollo combinato di radiofrequenza, terapia a pressione negativa e stimolazioni elettriche (Biodermogenesi®).

Per quanto riguarda l'impiego dei biomateriali abbiamo preso in considerazione i pazienti portatori di perdite di sostanza cutanea trattate con sostituti cutanei e/o con feltri di acido ialuronico.

Quanto ai prodotti cellulari, abbiamo incluso nel nostro studio i pazienti portatori di lesioni da pressione e/o

ferite difficili trattate con fattori di crescita di derivazione piastrinica.

Infine, abbiamo considerato i casi di ferite difficili, cicatrici disabilitanti e patologie degenerative trattate con le cellule staminali di derivazione adiposa.

Risultati

Nel periodo di studio sono stati trattati con metodiche rigenerative un totale di 419 pazienti (Tabella I).

La terapia a pressione negativa è stata impiegata in un totale di 82 casi di ulcere croniche, di cui 30 lesioni da pressione e 52 ferite difficili. In tale ambito è stata una scelta obbligata in 24 casi nei quali sussisteva la controindicazione clinica assoluta all'intervento chirurgico ricostruttivo tradizionale, rappresentando, così, l'unica opzione terapeutica possibile. Essa ha trovato impiego in 42 casi come alternativa ad un trattamento chirurgico ricostruttivo tradizionale allo scopo di ottenere il medesimo risultato con una invasività chirurgica considerevolmente minore. La terapia a pressione negativa è stata, infine, impiegata in 16 casi in combinazione con trattamenti chirurgici tradizionali di minore entità allo scopo di ridurre l'invasività della procedura terapeutica complessiva. Il trattamento ha portato a piena guarigione in 54 casi; negli altri 28 casi ha comunque consentito di la crescita di sufficiente tessuto di granulazione adeguato ad essere ricoperto da un innesto sottile o a permettere la guarigione per terza intenzione (Figura 1).

L'associazione sequenziale di radiofrequenza monopolare capacitiva, stimolazione elettrica e pressione negativa è stata impiegata in 25 cicatrici inveterate permettendone il miglioramento del colorito, l'appianamento delle rugosità superficiali, l'incremento dell'elasticità ed il netto miglioramento della sintomatologia algica soggettiva (8).

I biomateriali utilizzati sono consistiti in due diverse tipologie di prodotti: sostituti cutanei, costituiti da uno strato profondo bioattivo destinato a fungere da scaffold e substrato per la rigenerazione connettivale ricoperto da uno strato inerte superficiale di silicone destinato a fungere da barriera provvisoria simil-epidermica, e feltri di acido ialuronico stabilizzato.

Tabella I. Sinopsi del campione per classi di patologia e trattamenti di chirurgia rigenerativa

		Gravi perdite di sostanze acute	Ulcere croniche	Cicatrici disabilitanti	Patologie degenerative a varia eziologia	TOTALE
Energie fisiche	TPN		82			107
	Biodermogenesi®			25		
Biomateriali	Sostituti dermici	116		11		138
	Feltri acido ialuronico	11				
Prodotti cellulari	PG		8			41
	PRP		33			
Cellule staminali	Lipofilling		40	88	5	133
TOTALE		127	163	124	5	419

Legenda: TPN: terapia a pressione negativa; PG: gel piastrinico; PRP: plasma arricchito di piastrine



Figura 1. A) Ferita post-traumatica con necrosi a pieno spessore dei tessuti molli della regione pretibiale superiore sinistra. B) Debridement chirurgico in tessuto sano con esposizione dell'osso tibiale. C) Applicazione di terapia a pressione negativa. D) Proliferazione di tessuto di granulazione dopo 2 settimane di applicazione di terapia a pressione negativa. E) Risultato finale dopo copertura con innesto dermo-epidermico sottile

I sostituti cutanei sono stati impiegati per riparare 116 perdite di sostanza cutanea a diversa eziologia ottenendo regolarmente la rigenerazione di un tessuto derma-like anche in perdite di sostanza estremamente ampie e profonde con esposizione di tessuti a scarsa vitalità, quali l'osso, le cartilagini ed i tendini privi rispettivamente del periostio, del pericondrio e del paratenon. In 11 casi i sostituti sono stati impiegati per ricostruire le perdite di sostanza conseguenti allo sbrigliamento di cicatrici gravemente invalidanti. Sul tessuto così rigenerato è stato successivamente possibile innestare un innesto dermo-epidermico sottile, riducendo così significativamente la complessità chirurgica necessaria alla riparazione del difetto (Figura 2).

I feltri di acido ialuronico sono stati, invece, impiegati per indurre la guarigione spontanea di 11 perdite di sostanza acute collocate in aree corporee ad alta valenza estetica ottenendo una riparazione esteticamente brillante di difetti non risolvibili con pari efficacia dalla chirurgia tradizionale (9).

Quanto ai prodotti cellulari, nella nostra attività abbiamo fatto ricorso regolarmente ai fattori di crescita di

derivazione piastrinica, omologa ed autologa, nella forma di gel piastrinico o plasma arricchito di piastrine (PRP). Con il gel piastrinico omologo abbiamo trattato 8 lesioni da pressione, resistenti ad altri trattamenti convenzionali ove ha dimostrato la capacità di indurre una precoce proliferazione del tessuto di granulazione (10).

Il plasma arricchito di piastrine (PRP) è stato impiegato in 33 casi di ferite difficili a varia eziologia ottenendo una analoga risposta proliferativa (Figura 3).

Le cellule staminali sono state regolarmente derivate dal tessuto adiposo sottocutaneo ed innestate insieme con la loro nicchia di adipociti nativi (lipofilling) in 133 casi, di cui 40 ulcere croniche, 88 cicatrici disabilitanti e 5 patologie degenerative. Esse hanno permesso il miglioramento del trofismo tissutale in aree instabili grazie al loro potente stimolo rigenerativo. Nelle cicatrici retraenti si è ottenuta una favorevole modulazione delle forze di tensione intrinseca, con diminuzione della retrazione e miglioramento della qualità della cute sovrastante; nei gravi dismorfismi post-traumatici della pianta del piede è stato recuperato un appoggio plantare fisiologico, sia statico che dinamico (11); nelle patologie osteo-articolari infiam-



Figura 2. A) Carcinoma basocellulare multifocale insorto su radiodermite cronica della regione periorale e mandibolare. B) Ampia perdita di sostanza successiva ad asportazione chirurgica radicale. C) Riparazione tramite sostituto dermico Integra®. D) Risultato finale dopo copertura con innesto dermo-epidermico sottile

matorie e degenerative croniche si è ottenuta una remissione del quadro flogistico con innescò di un processo rigenerativo; nella sclerodermia si è ottenuto non solo un migliorato trofismo dei tessuti ma anche un rallentamento della progressione locale della malattia; nella condrodermatite dolorosa dell'orecchio si è ottenuto il sollievo dalla sintomatologia dolorosa con remissione del quadro flogistico-degenerativo locale; nelle radiodermiti conseguenti a radioterapia post-mastectomia è stato possibile incrementare il trofismo dei tessuti toracici in preparazione ad impianto di protesi per la ricostruzione della mammella; nelle radionecrosi il recupero del trofismo tissutale ha permesso di effettuare in tempi successivi modeste procedure chirurgiche riparative (Figura 4); nelle perdite di sostanza del polpastrello si è ottenuta la *restitutio ad integrum*

grazie alla stimolazione della naturale capacità rigenerativa di tale sede anatomica; in pazienti para e tetraplegici il lipofilling è stato utilizzato con successo con finalità preventiva nelle zone a rischio di ulcerazione; in casi selezionati si è ottenuta la guarigione spontanea di lesioni da pressione fino al 3° stadio.

Discussione

La Chirurgia Plastica Ricostruttiva rappresenta oggi una parte irrinunciabile di un moderno percorso di alta riabilitazione in condizioni cliniche di rilevante frequenza epidemiologica ed elevato impatto socio-sanitario, al fine di ridurre e trattare le disabilità ad esse correlate (12).

Se, infatti, la Chirurgia Plastica viene definita come quella branca della chirurgia che si occupa di guarire, ricostruire o migliorare strutture anatomiche lesionate, deturpate o mutilate, allora essa è parte sostanziale di un progetto riabilitativo totale, laddove venga chiamata a sanare condizioni invalidanti.

Il presupposto fondamentale è che mediante le tecniche e le metodiche proprie della Chirurgia Plastica Ricostruttiva si realizzi la presa in carico globale del paziente e non della sola patologia. Tale approccio permetterà un miglioramento delle capacità di autonomia e della qualità di vita complessive del paziente. In tale visione, pertanto, uno o più trattamenti plastico-ricostruttivi faranno parte di un più ampio progetto riabilitativo individuale, confezionato sul singolo paziente e realizzato in maniera multidisciplinare attraverso un programma riabilitativo intensivo completo (13).

Le moderne innovative conoscenze in ambito rigenerativo offrono oggi alla Chirurgia Plastica nuove e maggiori affascinanti possibilità di superare i limiti della chirurgia tradizionale miscelando innovazioni biologiche, raffinatezza tecnica e sensibilità clinica.

Gli ambiti di applicazione delle metodiche rigenerative nella nostra pratica chirurgica riabilitativa sono stati quelli nei quali le tecniche tradizionali hanno manifestato i loro limiti più evidenti: le sequele invalidanti delle cicatrici, le ampie perdite di tessuto e le cosiddette ferite difficili.

La cicatrice è un tessuto connettivo neoformato che rappresenta l'unica modalità di riparazione e sostituzione delle



Figura 3. A) Prelievo di sangue periferico. B) Separazione delle frazioni dopo centrifugazione. La freccia evidenzia la zona di massima concentrazione di piastrine, all'interfaccia con il gel separatore tra il plasma arricchito e le altre componenti cellulari

perdite di tessuti corporei nell'essere umano. La cicatrice non ripete in alcun modo le caratteristiche dei tessuti persi e nel corso del suo processo di maturazione subisce un graduale ma inarrestabile processo di retrazione, di particolare gravità qualora si eserciti sulle commissure orifizioali, di cui ostacola lo normale chiusura e sulle superfici flessorie degli arti, di cui ostacola la libera escursione articolare. Indubbiamente le cicatrici di maggiore gravità sono quelle che conseguono alle ustioni profonde ed estese su vasti ambiti della superficie corporea. La correzione di tali retrazioni si avvale tradizionalmente di tutte le più consolidate procedure della Chirurgia Plastica, dalla confezione di plastiche a Z all'impiego di trapianti nativi o pre-espansi. A fronte di condizioni cliniche per cui l'approccio tradizionale non appariva adeguato, siamo ricorsi a tutte le

possibili opzioni rigenerative a nostra disposizione: abbiamo utilizzato preferenzialmente le energie fisiche nei casi di minore gravità clinica, in cui l'obiettivo principale era il miglioramento estetico e l'allentamento della rigidità dei tralci connettivali; l'innesto di cellule staminali è stato la prima scelta quando il fine prioritario era il recupero della naturale tessitura della cute, il ripristino dei volumi e la correzione dei reliquati ipotrofici; un audace impiego dei biomateriali è stato dedicato al recupero funzionale di retrazioni altamente invalidanti, trattate mediante ampia lisi chirurgica seguita da induzione della rigenerazione con l'ausilio della cute ingegnerizzata (14).

Le ampie perdite di sostanza che giungono all'attenzione del chirurgo plastico di regola conseguono ad inter-



Figura 4. A) Radionecrosi cronica della regione cervico-dorsale superiore. B) Risultato a 24 mesi dopo trattamento combinato con debridement sequenziali, innesto di cellule staminali di derivazione adiposa, terapia a pressione negativa, copertura con sostituti dermici a base di acido ialuronico ed innesto dermo-epidermico sottile.

venti chirurgici demolitivi per il trattamento di estese neoplasie o di gravi infezioni dei tessuti molli.

La riparazione di tali perdite di sostanza si avvale tradizionalmente di lembi ed innesti autologhi. La chirurgia dei lembi non è sempre praticabile specie nei casi in cui non siano disponibili siti donatori di adeguata estensione o il paziente sia in scadenti condizioni generali tali da controindicare un intervento chirurgico maggiore. L'innesto dermo-epidermico è una tecnica agevole che può fornire ampie quantità di cute ma il cui risultato può essere invalidato da gravi postumi retraenti e da instabilità. Il ricorso a cute da donatore è ad oggi gravata dalla irrisolta problematica del rigetto e pertanto al momento limitata a condizioni da considerarsi ancora sperimentali e non alla pratica clinica di routine (15).

L'integrazione della tradizionale tecnica dell'innesto dermo-epidermico con l'impiego dei sostituti dermici ci ha consentito di ottenere regolarmente la ricostruzione di un tessuto con caratteristiche assai vicine a quelle della cute nativa (16, 17).

In Italia, come in tutto il mondo tecnologicamente progredito, sono sempre più frequenti alcune patologie connesse con il rallentamento dei fisiologici processi riparativi e rigenerativi, che comporta l'emergere di patologie di carattere degenerativo, tra cui sono prevalenti le cosiddette "ferite difficili". Anche se a diversa eziologia, le ferite difficili sono tutte accomunate da un unico razionale di trattamento caratterizzato da un approccio integrato chirurgico-riabilitativo.

L'intervento di chirurgia plastica tradizionale consiste in un ampio debridement dei tessuti necrotici esteso, se necessario, ai tessuti ossei e ricostruzione. La riparazione del difetto cutaneo riduce al paziente la disabilità, aumentando la sua autonomia e la qualità di vita. Non infrequentemente, però, tali procedure ricostruttive sono molto invasive e quindi non praticabili in tutti i casi. Anche per tali patologie abbiamo fatto ricorso allo spettro di tecniche rigenerative a nostra disposizione ottenendo regolarmente un miglioramento e spesso la guarigione.

Numerose sono le energie fisico-chimiche di provata efficacia rigenerativa: tra quelle più frequentemente utilizzate si annoverano la pressione negativa (Negative Pressure Therapy, NPT), i laser a bassa intensità (Low Level Laser, LLL) (18), le radiofrequenze (RF), il plasma, (19), le onde d'urto (20), l'anidride carbonica (21), miscele di ossigeno ed ozono (22).

Le diverse energie fisiche promuovono la rigenerazione tissutale attraverso molteplici peculiari meccanismi d'azione: l'eccitazione molecolare, la liberazione di fattori umorali, la modulazione delle funzioni cellulari, la stimolazione della neogenesi vascolare e connettivale ed il controllo della proliferazione microbica. I migliori risultati sarebbero conseguibili integrando opportunamente l'applicazione delle diverse energie nelle diverse fasi cliniche del processo rigenerativo. Tuttavia, le nostre scelte terapeutiche in tale ambito sono state limitate da fattori contingenti tali da impedire la realistica possibilità di avere accesso all'intera gamma di tali tecnologie.

La terapia a pressione negativa altrimenti nota come vacuum terapia consiste in una pompa aspirante collegata

mediante circuito chiuso sterile alla lesione da trattare. L'evoluzione tecnologica ha permesso una notevole diversificazione e progressiva miniaturizzazione degli apparati, che attualmente possono essere agevolmente utilizzati anche al di fuori del contesto ospedaliero (23, 24).

Se applicata su perdite di sostanza preventivamente sottoposte a bonifica chirurgica delle porzioni di tessuto necrotico e/o infetto essa è in grado di indurre una più rapida neoformazione di tessuto di granulazione che permette una più celere obliterazione delle lesioni cavitari (25-27). L'applicazione protratta di pressione negativa su tessuti e organi sani si è inoltre dimostrata capace di indurre la rigenerazione degli organi medesimi come dimostrato dalla neoformazione combinata di tessuti cutaneo, adiposo e ghiandolare in mammelle ipotrofiche (28).

Le radiofrequenze (RF) sono onde elettromagnetiche non ionizzanti con frequenza da 100.000 Hz a centinaia di milioni di Hz. Le lunghezze d'onda variano da 100 km (a 3 kHz) a 1 mm (a 300 GHz). Come tutte le correnti elettriche, consistono in flussi di elettroni di un atomo verso gli orbitali di un atomo adiacente. Se gli elettroni nel loro flusso incontrano una resistenza generano calore secondo la legge di Ohm, ossia in quantità direttamente proporzionale all'intensità della corrente, all'impedenza del mezzo attraversato e al tempo. Ponendo costante la frequenza, gli ampères (ossia la quantità di elettroni) e l'impedenza, si può ottenere più o meno calore cambiando la forma dell'onda. All'aumentare della frequenza aumenta la penetrazione del campo elettrico; all'aumentare dell'area dell'elettrodo aumenta l'effetto di penetrazione; all'aumentare del tempo aumenta la diffusione dell'effetto termico.

Le RF impiegate con finalità rigenerativa hanno frequenze comprese tra 550 kHz e 880 kHz circa, generando un campo elettrico che ha il suo massimo a 4-5 mm provocando un'onda di calore che investe un volume cubico di tessuto in maniera gaussiana sia verso la profondità (fin quasi 1 cm) che verso la superficie, giungendo talora a provocare una contrazione della fascia muscolare. Il riscaldamento del collagene, che si attesta attorno ai 60-65°C, provoca la rottura dei legami intramolecolari sensibili all'effetto della temperatura e determina una modificazione della struttura delle fibrille, che diventano glomerulari, con collasso della molecola e quindi contrazione stereoscopica a 360°C (a causa del diverso orientamento delle fibrille collagene). Alla retrazione tridimensionale consegue una fase di neogenesi connettivale che si prolunga per numerosi mesi fino a giungere a un risultato stabile. Il calore determina infatti la produzione di Heat Shock Proteins (HSP 60 e HSP 70) da parte delle cellule connettivali; segue stimolazione dei linfociti T che generano TGFbeta1 (Transforming Growth Factor) e citochine fibrostimolanti (Interleuchina IL1beta, IL6, IL8, Monocyte Promoting Factor MCP1) che a loro volta richiamano monociti in grado di stimolare i fibroblasti attraverso il FGF1 (Fibroblast Growth Factor). I monociti vengono anche stimolati direttamente dalle HSP a sintetizzare TNF (Tumor Necrosis Factor), il quale amplifica la mitosi dei granulociti inducendoli a sintetizzare Colony Stimulating Factor (CSF), IL6 e IL8. Il collagene che viene sintetizzato è di tipo I: è stato infatti dimostrato l'aumento dell'mRNA specifico (29).

Numerosi sono i sostituti cutanei proposti dalla moderna tecnologia e si differenziano tra loro per le caratteristiche del tessuto simil-dermico che può essere costituito da derma umano o animale decellularizzato, membrana amniotica e dura madre decellularizzate, collagene estrattivo integrato da mucopolisaccaridi di varia origine, biomateriali di origine biotecnologica (acido ialuronico) o sintetica (acido polilattico/poliglicolico, ossido polietilene/tereftalato di polibutilene). Il loro comune meccanismo d'azione è basato sulla capacità di indurre la rigenerazione del connettivo con produzione di un tessuto neoformato con caratteristiche il più possibile simili a quelle del derma naturale.

Nella nostra pratica clinica ci siamo avvalsi regolarmente di tre prodotti di comune impiego: Integra®, Hyalomatrix® e Nevelia®.

Integra® è costituito da uno strato di fibre di collagene cross-linkato estratto dal tendine bovino integrato con condroitin-6-solfato derivato dalle pinne di squalo rivestito da una membrana semipermeabile di silicone. Tale costruito tridimensionale funge da scaffold ad un ricco infiltrato di macrofagi, linfociti e fibroblasti che proliferano costituendo un nuovo tessuto simile al derma umano maturo provvisto di una nuova rete vascolare (30). Il film di silicone funge da sostituto provvisorio dell'epidermide e viene rimosso a completamento della rigenerazione del neo-derma per essere sostituito da un auto-innesto dermo-epidermico sottile.

Hyalomatrix® è costituito da un feltro di acido ialuronico stabilizzato mediante estere benzilico (Hyaff®) ricoperto da una membrana semipermeabile di silicone. A contatto con il fondo della perdita di sostanza il feltro di acido ialuronico grazie alla sua elevata idrofilia consente il mantenimento di un adeguato spazio intercellulare in cui hanno luogo complesse interazioni mediate da specifici recettori di membrana (CD44, RHAMM, Lyve-1) (31). L'acido ialuronico esercita, inoltre, un'azione protettiva nei confronti dei radicali liberi ed orienta ordinatamente le fibre di collagene sintetizzate dai fibroblasti nativi. Nel corso del processo di degradazione dell'acido ialuronico si producono, inoltre, frammenti a basso peso molecolare (oligomeri composti da 8-10 subunità) in grado di stimolare una buona angiogenesi (32). Come per Integra® a completamento della neogenesi connettivale si rimuove il film superficiale di silicone e si procede alla copertura definitiva con un auto-innesto dermo-epidermico sottile.

Nevelia® è un sostituto dermico analogo ad Integra® dal quale si differenzia per l'assenza di glicosaminoglicani nel contesto dello strato di collagene bovino (33).

L'acido ialuronico in forma di feltro (Hyalofill®) è costituito da un costruito di soffici fibre di estere benzilico dell'acido ialuronico (Hyaff®) che, grazie alla sua stabilizzazione, è in grado di resistere per un periodo prolungato all'azione litica specifica dell'enzima ialuronidasi creando così un ambiente favorevole alla proliferazione cellulare (34-39).

L'impiego di prodotti cellulari a spiccata azione rigenerativa è pratica ormai consolidata a seguito della scoperta degli effetti favorevoli dei fattori di crescita conte-

nuti nelle piastrine circolanti. Le piastrine estratte da un prelievo di sangue periferico rappresentano la base per la preparazione di due prodotti di provato effetto rigenerativo: il plasma arricchito di piastrine (PRP) ed il gel piastrinico (PG) (40-42).

Diversi fattori di crescita, tra i quali il fibroblast growth factor, insulin-like growth factor-I, platelet-derived growth factor (PDGF), transforming growth factor- β (TGF- β) e la proteina BMP, presi singolarmente o in combinazione tra di loro, sono efficaci nello stimolare la proliferazione cellulare, la chemotassi e la sintesi della matrice extra-cellulare (43). Inoltre, i PDGFs sono in grado di reclutare in sede di applicazione le cellule staminali mesenchimali di derivazione midollare le quali si differenziano in miofibroblasti (44).

L'applicazione del PRP e del PG in campo rigenerativo risale all'inizio del XXI secolo con la scoperta della sua attività rigenerativa nel tessuto osseo; di conseguenza, sono stati utilizzati soprattutto per interventi di chirurgia dentale e maxillo-facciale. Oltre ai fattori di crescita e alle citochine infiammatorie, il PRP ed il PG presentano anche una buona concentrazione di fibrinogeno e fibrina, sostanze con un ruolo fondamentale nella rigenerazione tissutale in quanto in grado di migliorare l'adesione cellulare e la produzione di collagene. Infatti la fibrina funge da scaffold "adesivo" permettendo l'adesione e la concentrazione cellulare e compattando i fattori di crescita di cui regola il rilascio e la bioattività mentre il fibrinogeno influenza favorevolmente le proprietà meccaniche e chimiche del coagulo di PG. In ambito clinico il PRP ed il PG costituiscono un versatile strumento terapeutico in quanto permettono il mantenimento dell'omeostasi tissutale pur stimolando la rigenerazione, possiedono un buon rapporto costo/beneficio, sono di rapida e semplice preparazione. L'impiego dei prodotti di derivazione autologa è preferibile a quelli di derivazione allogenica in quanto non solo evita il pur basso rischio di trasmissione di infezioni e di induzione di reazioni allergiche ed anafilattiche ma è anche di attuazione estremamente agevole in quanto non insiste sulle attività ordinarie del centro trasfusionale di riferimento (45-49).

Dalla dimostrazione della presenza nel tessuto adiposo di una ricca componente di cellule staminali multipotenti (50), numerosissime sono state le indicazioni cliniche all'impiego di tali componenti cellulari con finalità rigenerativa. A tale scopo è stata sviluppata una tecnica chirurgica di modesta invasività consistente nell'innesto autologo di tessuto adiposo opportunamente manipolato allo scopo di trasferire la componente staminale stromale insieme con la propria indispensabile nicchia di adipociti (lipofilling). Dopo l'innesto, è dimostrata la sopravvivenza di parte degli adipociti trasferiti, i pre-adipociti maturano in adipociti e le cellule staminali multipotenti iniziano un percorso di sviluppo e differenziazione lungo molteplici linee evolutive rilasciando altresì fattori di crescita in grado di stimolare le cellule del sito ricevente (51-54). Pertanto l'efficacia del lipofilling è ormai largamente riconosciuta per il trattamento di tutte le condizioni in cui la capacità rigenerativa tissutale è scarsa (55-57) o addirittura assente (58).

Conclusioni

La nostra esperienza sull'impiego di metodiche rigenerative con finalità riabilitative ha seguito la naturale evoluzione di tale nuovissima branca della medicina: è stata dapprima prudente e sporadica e successivamente sempre più consistente e continua grazie alle sempre più numerose ed inequivocabili evidenze di efficacia. Così ad oggi le metodiche rigenerative rappresentano una realtà consolidata della nostra offerta terapeutica sia singolarmente, come opzione esclusiva o di alternativa, che in abbinamento a metodiche ricostruttive tradizionali.

Non tutte le possibili opzioni terapeutiche rigenerative potenzialmente possibili sono state, tuttavia, incluse nella nostra pratica clinica in ragione sia dei costi elevati di talune metodiche emergenti che della impossibilità di assimilare in tempo reale e completamente nell'uso corrente il tumultuoso sviluppo delle conoscenze in tale campo. La nostra esperienza di lungo periodo ha anche potuto dimostrare i limiti di talune metodiche rigenerative di più comprovata efficacia, così suggerendo opportuni orientamenti per la ricerca futura.

La rapidità nell'acquisizione di nuove conoscenze rende il futuro imprevedibile anche se certamente promettente. Alla luce dello stato attuale dei progressi in medicina rigenerativa non sono poche le linee di sviluppo della ricerca che più concretamente potranno produrre ricadute favorevoli nella Chirurgia Plastica: i trapianti da donatore decellularizzati, venendo colonizzati da cellule del ricevente, potranno finalmente superare il limite del rigetto immunitario; l'evoluzione della tecnologia di stampa tridimensionale (59) potrebbe permettere la realizzazione di costrutti tissutali a partenza da colture cellulari autologhe; infine, non va sottovalutato l'emergente ruolo del microbiota nella induzione e modulazione dei processi rigenerativi (60-62).

Bibliografia

- Morain WD (2006) - "Historical Perspectives". In: SJ Mathes (Ed.), "Plastic Surgery", pp. 27-34, Saunders Elsevier, Philadelphia Pa, USA, vol 1, chapter 2, 2nd edition.
- Wei FC (2006) - "Principles and Technique of Microvascular Surgery". In: SJ Mathes (Ed.), "Plastic Surgery", pp. 507-538, Saunders Elsevier, Philadelphia Pa, USA, vol 1, chapter 18, 2nd edition.
- Faga A, Nicoletti G, Carminati M. Perforator flaps: current concept and definition. Riv Ital Chir Plast - Clin Exper Plast Surg 2001; 33: 27-32.
- Orlando G, J Wood KJ, De Coppi P, et al. Regenerative medicine as applied to general surgery. Ann Surg 2012; 255(5): 867-880.
- Wong VW, Wan DC, Gurtner GC, Longaker MT. Regenerative surgery: tissue engineering in general surgical practice. World J Surg 2012; 36(10): 2288-2299.
- D'Amico RA, Rubin JP. Regenerative medicine and the future of plastic surgery. Plast Reconstr Surg 2014; 133(6): 1511-2.
- Mata A, Azevedo HS, Botto L, et al. New bioengineering breakthroughs and enabling tools in regenerative medicine. Curr Stem Cell Rep 2017; 3(2): 83-97.
- Nicoletti G, Perugini P, Bellino S, et al. Scar remodeling with the association of monopolar capacitive radiofrequency, electric stimulation, and negative pressure. Photomed Laser Surg 2017; 35(5): 246-258.
- Nicoletti G, Ghilardi CG, Scevola S, et al. Hyaluronan-induced cosmetic reconstruction of the nostril. Facial Plast Surg 2014; 30(1): 81-83.
- Scevola S, Nicoletti G, Brenta F, et al. Allogenic platelet gel in the treatment of pressure sores: a pilot study. Int Wound J 2010; 7(3): 184-190.
- Nicoletti G, Brenta F, Jaber O, et al. Lipofilling for functional reconstruction of the sole of the foot. Foot 2014; 24(1): 21-27.
- Pang C, Ibrahim A, Bulstrode NW, et al. An overview of the therapeutic potential of regenerative medicine in cutaneous wound healing. Int Wound J 2017; 14(3): 450-459.
- Mathes SJ (2006) - "Plastic Surgery: the problem-solving specialty". In: SJ Mathes (Ed.), "Plastic Surgery", pp. 1-25, Saunders Elsevier, Philadelphia Pa, USA, vol 1, chapter 1, 2nd edition.
- Faga A, Nicoletti G, Brenta F, et al. Hyaluronic acid three-dimensional scaffold for surgical revision of retracting scars: a human experimental study. Int Wound J 2013; 10(3): 329-335.
- Thaunat O, Badet L, Dubois V, et al. Immunopathology of rejection: do the rules of solid organ apply to vascularized composite allotransplantation? Curr Opin Organ Transplant 2015; 20(6): 596-601.
- Nicoletti G, Brenta F, Bleve M, et al. Long-term in vivo assessment of bioengineered skin substitutes: a clinical study. J Tissue Eng Regen Med 2015; 9(4): 460-468.
- Nicoletti G, Scevola S, Faga A. Bioengineered skin for aesthetic reconstruction of the tip of the nose: a case report. Dermatol Surg 2008; 34(9): 1283-1287.
- Hersant B, SidAhmed-Mezi M, Bosc R, et al. Current indications of low-level laser therapy in plastic surgery: a review. Photomed Laser Surg 2015; 33(5): 283-297.
- Heinlin J, Isbary G, Stolz W, et al. Plasma applications in medicine with a special focus on dermatology. J Eur Acad Dermatol Venereol 2011; 25(1): 1-11.
- Aschermann I, Noor S, Venturelli S, et al. Extracorporeal Shock Waves Activate Migration, Proliferation and Inflammatory Pathways in Fibroblasts and Keratinocytes, and Improve Wound Healing in an Open-Label, Single-Arm Study in Patients with Therapy-Refractory Chronic Leg Ulcers. Cell Physiol Biochem 2017; 41(3): 890-906.
- Brandi C, Grimaldi L, Nisi G, et al. The role of carbon dioxide therapy in the treatment of chronic wounds. In Vivo 2010; 24(2): 223-226.
- Borges GÁ, Elias ST, da Silva SM, et al. In vitro evaluation of wound healing and antimicrobial potential of ozone therapy. J Craniomaxillofac Surg 2017; 45(3): 364-370.
- Schaum KD. Home Health Agencies Can Now Bill Medicare Separately for Furnishing New Disposable Negative-Pressure Wound Therapy Devices. Adv Skin Wound Care 2017; 30(4): 154-156.
- Anderson CA, Hare MA, Perdrizet GA. Wound Healing Devices Brief Vignettes. Adv Wound Care 2016; 5(4): 185-190.
- Argenta LC, Morykwas MJ. Vacuum-assisted closure: a new method for wound control and treatment. Ann Plast Surg 1997; 38(6): 563-576.
- Bollero D, Driver V, Glat P, et al. The role of negative pressure wound therapy in the spectrum of wound healing. Ost Wound Manag 2010; 56(Suppl 5): 1-18.
- Bollero D, Malvasio V, Catalano F, et al. Negative pressure surgical management after pathological scar surgical excision: a first report. Int Wound J 2015; 12: 17-21.
- Smith CJ, Khouri RK, Baker TJ. Initial experience with the Brava nonsurgical system of breast enhancement. Plast Reconstr Surg 2002; 110(6): 1593-1595.
- Hantash BM, Ubeid AA, Chang H, et al. Bipolar fractional radiofrequency treatment induces neoenlastogenesis and neocollagenesis. Lasers Surg Med 2009; 41(1): 1-9.
- Wang H, Pieper J, Péters F, et al. Synthetic scaffold morphology controls human dermal connective tissue formation. J Biomed Mater Res A 2005; 74(4): 523-532.
- Chen WYJ, Abatangelo G. Functions of Hyaluronan in wound repair. Wound Rep Reg 1999; 7(2), 79-89.
- West DC, Kumar S. The effect of hyaluronate and its oligosaccharides on endothelial cell proliferation and monolayer integrity. Exp Cell Res 1989; 183(1): 179-196.
- Philandrianos C, Andrac-Meyer L, Mordon S, et al. Comparison of five dermal substitutes in full-thickness skin wound healing in a porcine model. Burns 2012; 38(6): 820-829.

- 34) Price RD, Berry MG, Navsaria HA. Hyaluronic acid: the scientific and clinical evidence. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2007; 60(10): 1110-1119.
- 35) Zavan B, Vindigni V, Lepidi S, et al. Neoarteries grown in vivo using a tissue-engineered hyaluronan-based scaffold. *FASEB J* 2008; 22(8): 2853-2861.
- 36) Motolese A, Vignati F, Brambilla R, et al. Interaction between a regenerative matrix and wound bed in nonhealing ulcers: results with 16 cases. *Biomed Res Int* 2013; 2013:849321.
- 37) Price RD, Das-Gupta V, Leigh IM, et al. A comparison of tissue-engineered hyaluronic acid dermal matrices in a human wound model. *Tissue Eng* 2006; 12(10): 2985-2995.
- 38) Hu M, Sabelman EE, Cao Y, et al. Three-dimensional hyaluronic acid grafts promote healing and reduce scar formation in skin incision wounds. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2003; 67(1): 586-592.
- 39) David-Raoudi M, Tranchepain F, Deschrevel B, et al. Differential effects of hyaluronan and its fragments on fibroblasts: relation to wound healing. *Wound Repair Regen* 2008; 16(2): 274-287.
- 40) Arora S, Agnihotri N. Platelet Derived Biomaterials for Therapeutic Use: Review of Technical Aspects. *Indian J Hematol Blood Transfus* 2017; 33(2): 159-167.
- 41) Pourmoussa A, Gardner DJ, Johnson MB, et al. An update and review of cell-based wound dressings and their integration into clinical practice. *Ann Transl Med* 2016; 4(23): 457.
- 42) Kobayashi M, Bishara M, Zhang Y, et al. Platelet-Rich Fibrin and Soft Tissue Wound Healing: A Systematic Review. *Miron RJ, Fujioka- Tissue Eng Part B Rev* 2017; 23(1): 83-99.
- 43) Everts PAM, Knape JTA, Weibrich G, et al. Platelet-Rich Plasma and Platelet Gel: A Review. *JECT* 2006; 38(2): 174-187.
- 44) Nedeau AE, Bauer RJ, Gallagher K, et al. A CXCL5 and bFGF-dependent effect of PDGF-B- activated fibroblasts in promoting trafficking and differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Exp Cell Res* 2008; 314(11-12): 2176-2186.
- 45) Andrade TA, Aguiar AF, Guedes FA, et al. Ex vivo model of human skin (hOSEC) as alternative to animal use for cosmetic tests. *Procedia Eng* 2015; 110: 67-73.
- 46) Kawase T. Platelet-rich plasma and its derivatives as promising bioactive materials for regenerative medicine: basic principles and concepts underlying recent advances. *Odontology* 2015; 103(2): 126-135.
- 47) Lebonvallet N, Jeanmaire C, Danoux L, et al. The evolution and use of skin explants: Potential and limitations for dermatological research. *Eur J Dermatology* 2010; 20(6): 671-684.
- 48) Masuki H, Okudera T, Watanebe T, et al. Growth factor and pro-inflammatory cytokine contents in platelet-rich plasma (PRP), plasma rich in growth factors (PRGF), advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), and concentrated growth factors (CGF). *Int J Implant Dent* 2016; 2: 19.
- 49) Okuda K, Kawase T, Momose M, et al. Platelet-Rich Plasma Contains High Levels of Platelet-Derived Growth Factor and Transforming Growth Factor- β , and Modulates the Proliferation of Periodontally Related Cells In Vitro. *J Periodontol* 2003; 74(6): 849-857.
- 50) Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Molecular Biology of the Cell* 2002; 13(12):4279-4295.
- 51) Dong Z, Peng Z, Chang Q, et al. The survival condition and immunoregulatory function of adipose stromal vascular fraction (SVF) in the early stage of nonvascularized adipose transplantation. *PLOS ONE* 2013; 8(11): e80364.
- 52) Torio-Padron N, Huotari AM, Eisenhardt SU, et al. Comparison of pre-adipocyte yield, growth and differentiation characteristics from excised versus aspirated adipose tissue. *Cells Tissues Organs* 2010; 191: 365-371.
- 53) Eto H, Kato H, Suga H, et al. The fate of adipocytes after nonvascularized fat grafting: evidence of early death and replacement of adipocytes. *Plast Reconstr Surg* 2012; 129(5): 1081-1092.
- 54) Zuk PA. The adipose-derived stem cell: looking back and looking ahead. *Molecular Biology of the Cell* 2010; 21(1): 1783-1787.
- 55) Schaffler A, Buchler C. Concise review: adipose tissue-derived stromal cells- basic and clinical implications for novel cell-based therapies. *Stem Cells* 2007; 25(4): 818-827.
- 56) Kikuchi Y, Ogihara T, Kaneda Y. Adipose tissue-derived stromal cells as a novel option for regenerative cell therapy. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* 2006; 13(2): 77-81.
- 57) Bertozzi N, Simonacci F, Grieco MP, et al. The biological and clinical basis for the use of adipose-derived stem cells in the field of wound healing. *Annals of Medicine and Surgery* 2017; 20: 41-48.
- 58) Klinger M, Marazzi M, Vigo D, et al. Fat injection for cases of severe burn out-comes: a new perspective of scar remodeling and reduction. *Aesth Plast Surg* 2008; 32(3): 465-469.
- 59) Jessop ZM, Al-Sabah A, Gardiner MD, et al. 3D bioprinting for reconstructive surgery: Principles, applications and challenges. *J Plast Reconstr Aesth Surg* 2017; 70(9): 1155-1170.
- 60) Kanno E, Kawakami K, Ritsu M, et al. Wound healing in skin promoted by inoculation with *Pseudomonas aeruginosa* PAO1: The critical role of tumor necrosis factor α secreted from infiltrating neutrophils. *Wound Repair Regen* 2011; 19(5): 608-621.
- 61) Kostarnoy AV, Gancheva PG, Logunov DY, et al. Topical bacterial lipopolysaccharide application affects inflammatory response and promotes wound healing. *J Interferon Cytokine Res* 2013; 33(9): 514-522.
- 62) Nicoletti G, Saler M, Pellegatta T, et al. Effects of a spring water on human skin fibroblast in vitro cultures: preliminary results. *Acta Vulnologica* 2016; 14(4): 196-201.

Corrispondenza: *Angela Faga, Unità di Chirurgia Plastica, IRCCS Istituti Clinici Scientifici Maugeri, Via Salvatore Maugeri 10, 27100 Pavia, Italy, Tel. +39 0382 592223, E-mail: angela.faga@unipv.it*