



Università Campus Bio-Medico di Roma

Corso di dottorato di ricerca in Scienze Biomediche

Integrate e Bioetica

XXXI ciclo a.a. 2015-2016

Impiego del PRP (Platelet-Rich Plasma)

combinato con gli innesti di tessuto

adiposo nella prevenzione e nel

trattamento delle ulcere da decubito

Dottorando

Dott. Vito Toto

Coordinatore

Prof. Paolo Pozzilli

Tutors

Prof. Paolo Persichetti

Dott. Giovanni Marangi

20 Marzo 2019

INDICE

CAPITOLO I	3
PIAGHE DA DECUBITO.....	3
<i>Bibliografia</i>	<i>26</i>
CAPITOLO II	29
VALUTAZIONE ULTRASONOGRAFICA DELLE PIAGHE DA DECUBITO.....	29
<i>Bibliografia</i>	<i>34</i>
CAPITOLO III	35
PLATELET-RICH PLASMA	35
<i>Bibliografia</i>	<i>42</i>
CAPITOLO IV.....	43
IL TESSUTO ADIPOSO	43
<i>Bibliografia</i>	<i>50</i>
CAPITOLO IV.....	51
L'INNESTO DI TESSUTO ADIPOSO	51
<i>Bibliografia</i>	<i>64</i>
CAPITOLO V.....	67
STUDIO SPERIMENTALE	67
<i>Bibliografia</i>	<i>88</i>

Tesi di dottorato in Scienze biomediche integrate e bioetica, di Vito Toto,
discussa presso l'Università Campus Bio-Medico di Roma in data 20/03/2019.
La disseminazione e la riproduzione di questo documento sono consentite per scopi di didattica e ricerca,
a condizione che ne venga citata la fonte.

CAPITOLO I

Piaghe da decubito

DEFINIZIONE E DIMENSIONI DEL PROBLEMA

Le lesioni da pressione non sono un fenomeno nuovo. Le prime segnalazioni in letteratura risalgono a migliaia di anni fa, ne sono state ritrovate infatti tracce inequivocabili su una mummia egizia; inoltre nel papiro di Smith (3000 a.C.) si consiglia di trattare le lesioni da pressione con impiastri di rame, mentre un diverso papiro consiglia un trattamento a base di miele. Guglielmo da saliceto (XIII sec.) descrivendo per la prima volta le gravi complicanze trofiche e viscerali dei mielolesi da frattura vertebrale, accenna al rischio di insorgenza di tali lesioni. Ambrogio Paré, considerato il più grande chirurgo di tutti i tempi si occupò non solo di ferite d'arma da fuoco, come è a tutti noto, ma anche di lesioni da pressione che trattava con una medicazione a base di zucchero. Brown Séquard (1853), studiando animali resi sperimentali emiplegici fu il primo a scoprire che le lesioni da pressione possono essere evitate abolendo la pressione sulla cute esercitata decubendo a lungo nella stessa posizione; nel 1873 Sir James Ambrogio Paré ideava il primo letto ad acqua allo scopo di evitare le lesioni. Il notevole numero di mielolesi durante la Prima Guerra Mondiale portò allo studio dei rapporti fra innervazione e trofismo cutaneo: sempre in questo periodo compaiono i primi lavori che segnalano la necessità di un trattamento generale nei pazienti portatori di lesioni. Scarff (1957) e Munro (1940) compiono studi sui fattori neurotrofici nei mielolesi; sempre nello stesso anno Munro pubblica un lavoro in cui dimostra che è possibile evitare le lesioni da pressione in questi pazienti variandone la posizione ogni ora. Nel 1943 Mulholland pubblica il primo studio che dimostra inequivocabilmente il diretto rapporto fra scompenso metabolico e rischio di insorgenza di lesioni. Sempre nello stesso periodo ancora Munro osserva che il personale addetto al cambio di posizione nei pazienti non si attiene alle prescrizioni ricevute, ciò nonostante le lesioni compaiono solo in quei pazienti che decubano sullo stesso lato per oltre due ore; pertanto pubblica un secondo lavoro (1945) in cui stabilisce il termine massimo di due ore oltre il quale il paziente deve essere mobilizzato, e tale termine è tuttora valido. Negli anni più recenti sono notevolmente aumentate le conoscenze di fisiopatologia delle lesioni da pressione e sono enormemente accresciuti i farmaci e i presidi tecnici per i pazienti a rischio o già con le lesioni da pressione; ciò nonostante i due concetti fondamentali

espressi 60 anni fa da Mulholland e da Munro (importanza delle condizioni generali, importanza della mobilizzazione) restano tuttora alla base della prevenzione e della cura di questa patologia. I termini precedentemente attribuiti per definire lesioni cutanee e tissutali di questo tipo erano ulcere da pressione o ulcere da decubito¹⁻²

La piaga da decubito è una lesione tissutale che interessa la cute e/o gli strati sottocutanei, generalmente localizzata al di sopra di una prominenza ossea, con evoluzione necrotica fino a raggiungere, negli stadi più gravi, i muscoli e le ossa. Essa è la conseguenza diretta ma non esclusiva di una elevata e/o prolungata compressione o di forze di taglio (o stiramento) causanti uno stress meccanico ai tessuti e la strozzatura dei vasi sanguigni³. I dati di maggior rilievo relativi alla prevalenza di questo problema si riscontrano nei pazienti ospedalizzati lungodegenti in cui essa oscilla tra il 4.7% e il 32.1%⁴⁻⁷. I reparti con la maggior prevalenza risultano essere la rianimazione, la neurochirurgia e la geriatria⁸; la percentuale diminuisce nei pazienti di ortopedia, chirurgia e di riabilitazione. I ricoveri correlati alle piaghe da decubito sono aumentati del 63% negli ultimi 10 anni. La mortalità, nei casi più gravi, va anche oltre il 68%⁹. Tali risultati, pur utilizzandoli con le dovute cautele per l'estrema variabilità delle metodologie di indagine, confermano che le piaghe da decubito rappresentano sicuramente un problema sanitario e sociale di primaria importanza, soprattutto considerando i costi legati ad esso che, in base alle statistiche negli USA, possono superare i 43000 dollari.

ANATOMIA E FISIOLOGIA DELLA CUTE

L'apparato tegumentario è il sistema di rivestimento del nostro corpo costituito sostanzialmente da annessi cutanei e cute; di fatto è l'organo più esteso ed il più evidente, si sviluppa all'esterno e all'interno del nostro corpo andando a rivestire le cavità interne esposte nel lume (che di fatto è da considerare spazio esterno).

L'apparato tegumentario adempie a numerose funzioni tra cui:

- protezione del corpo: separa le parti intime del nostro organismo da eventuali agenti patogeni.
- assorbimento e secrezione: tramite numerose ghiandole ed eventuale filtrazione di sostanze lipofile.
- omeostasi termica: dispersione di calore in caso di aumento di temperatura, tipico della febbre, nonché isolamento termico delle parti interne del corpo in caso di temperatura esterna troppo bassa.
- ricezione di stimoli esterni: in particolare meccano-recezione, ma non solo.

Caratteri anatomico macroscopici: A livello visivo la cute presenta:

- Superficie di circa 2 metri quadrati;
- Peso di circa 15 kg, può variare in relazione al peso dell'individuo stesso (con peso standard di 70kg) e dal fatto che alcune definizioni escludono dalla cute il terzo strato, l'ipoderma, considerandolo una struttura adiposa a sé stante;
- Spessore molto variabile e dipendente sostanzialmente dal livello funzionale richiesto;
- Mobilità molto elevata rispetto ai tessuti sottostanti, che generalmente sono strutture di tipo muscolare scheletrico striato, rivestite da fasce muscolari funzionali al mantenimento della integrità strutturale ed allo stesso tempo della mobilità. L'unico punto in cui non vi è mediazione nella relazione fra muscolo e cute è il viso: i muscoli mimici, che hanno una sensibilità estrema esprimendo movimenti anche minimi, sono in diretto rapporto con la cute;
- Colore variabile in relazione a razza, regione del corpo ed all'esposizione ai raggi ultravioletti.

La pelle è prevalentemente liscia a livello macroscopico, ma presenta delle irregolarità naturali che a volte possono presentare natura patologica, in particolare: depressioni puntiformi in corrispondenza della emersione dalla sottostante epidermide del complesso sebopilifero (si sviluppano in particolare in pubertà), sono sede soprattutto in età puberale di infiltrazioni batteriche che possono generare foruncoli, pericolosi in particolare se si sviluppano nella regione neurocranica, in quanto in questa regione i vasi sanguigni vicini all'infezione sono sovente in comunicazione con l'encefalo e possono essere veicolo di infezioni più gravi (meningite); solchi superficiali: per esempio nelle parti distali delle dita sede delle impronte digitali; solchi profondi: sul palmo della mano; creste: si tratta di punti nei quali il derma compenetra l'epidermide; pieghe: si presentano a livello delle articolazioni, nell'anziano sono più accentuate per la perdita di alcune componenti importanti a livello strutturale.

La cute è organizzata in tre strati:

1-Epidermide: epitelio pavimentoso pluristratificato cheratinizzato (o cheratinizzante). 2-Derma: strato connettivale fibrillare denso, in fibre intrecciate ricco in glicosamminoglicani e proteoglicani funzionali a mantenere la idrofilicità dell'ambiente, che deve essere idratato per garantire lo scorrimento della struttura sulle fibre muscolari sottostanti e alla buona diffusione delle molecole nutritizie a livello dell'epidermide (che non è vascolarizzata). Nel derma si collocano anche le parti più profonde (adenomeri) di due tipologie di ghiandole: Sebacee: si tratta di ghiandole di tipo acinoso ramificato, producono una sostanza particolarmente ricca in lipidi per secrezione olocrina (separazione della intera cellula dall'adenomero) funzionale alla protezione della cute da stress termici e da infiltrazioni batteriche e virali. Sudoripare: principalmente a secrezione eccrina di struttura glomerulare, producono sudore.

3-Ipoderma: si tratta di un tessuto connettivale adiposo funzionale alla protezione termica del corpo e detto anche pannicolo adiposo; in caso di condizioni di nutrizione insufficiente il tessuto adiposo può trasformarsi in tessuto connettivale lasso.

Analizziamo ora nel dettaglio i tre strati cutanei: Epidermide: Struttura altamente funzionale, ha uno spessore compreso tra i 50 µm e 1,5 µm ed è caratterizzata dalla presenza di più strati a formare un epitelio pavimentoso pluristratificato squamoso o

cheratinizzato: si tratta di un epitelio formato da cellule cheratinizzate; la cheratina è una proteina dura caratterizzata dalla presenza di una grande quantità di ponti solfuro. Le cheratine si trovano anche nelle zone più alte dell'apparato digerente (bocca) per proteggerlo da stress di tipo meccanico (in alcuni animali arrivano fino all'esofago).

I citotipi presenti sono molti, ma in particolare si ricordano: cheratinociti, melanociti cellule di Langerhans, cellule di Merkel: I cheratinociti subiscono un processo di trasformazione graduale che si esemplifica a livello dell'epidermide in una serie di strati diversi. Partendo dalla porzione profonda verso la superficie si possono riconoscere 5 strati distinti: STRATO BASALE O GERMINATIVO che è lo strato più profondo dell'epidermide ed è sostenuto da una membrana basale che lo separa dal derma sottostante. È costituito da un singolo strato di cellule cubiche o cilindriche, ancorate alla membrana basale mediante giunzioni dette emidesmosomi. Le cellule che formano questo strato sono parzialmente indifferenziate; paragonabili di fatto a cellule staminali, sono quindi oggetto di una intensa attività mitotica. Proprio per il fatto di essere indifferenziate, queste cellule sono in grado di moltiplicarsi, dividendosi per mitosi e rimpiazzando le cellule superficiali della pelle, perse o desquamate durante la giornata. Le cellule proliferative dello strato basale sono inoltre affiancate da melanociti e cellule di Merkel. STRATO SPINOSO È uno strato spesso, formato da più file di cellule poliedriche, date dalla divisione del sottostante strato germinativo. Tali cellule (chiamate cheratinociti) risalgono gradualmente verso la superficie; durante tale migrazione il citoplasma delle cellule epiteliali più superficiali si riempie progressivamente dei precursori della cheratina (componente basilare di peli ed unghie). A livello delle giunzioni tra le varie cellule, i filamenti di cheratina assomigliano vagamente a delle spine, da cui il nome “strato spinoso”. Tali punti di contatto vengono chiamati desmosomi. Lo strato spinoso contiene anche cellule di Langerhans, che derivano da un precursore nel midollo osseo e sono implicate nella risposta immunitaria. STRATO GRANULARE: i cheratinociti, più appiattiti rispetto allo strato spinoso sottostante, contengono nel loro citoplasma numerosi granuli di cheratoialina, da cui il nome “strato granuloso”. I nuclei mostrano segni di degenerazione, le cellule sono meno vitali ma continuano

a produrre la cheratina, che si accumula nella cellula stessa rendendola meno permeabile. Queste cellule contengono anche degli organuli, chiamati granuli di Odland o corpi lamellari, particolarmente ricchi di fosfolipidi. STRATO LUCIDO: si trova solo nella cute spessa (palmo della mano e pianta dei piedi). È formato da cheratinociti ripieni di cheratina e strettamente adesi tra di loro, ormai privi di nucleo ed organuli.

STRATO CORNEO: è lo strato più superficiale dell'epidermide. Chiamato volgarmente cute, è costituito da molti strati di cellule estremamente appiattite e embricate tra loro (disposte, cioè, come le tegole di un tetto), generalmente morte e disposte su più strati. In linea generale si possono considerare due porzioni: una più profonda e compatta in cui le cellule (corneociti) sono unite tra loro, ed uno superficiale in cui le cellule (dette squame cornee) sono disgiunte e tendono a staccarsi per desquamazione. La struttura vera e propria dell'epidermide è la membrana basale la quale si colloca praticamente sempre fra uno strato di natura epiteliale e uno strato di natura connettivale; è costituita da tre strati: -lamina lucida: si tratta di una lamina che garantisce l'ancoraggio alla struttura cellulare superiore. - lamina densa: lamina intermedia caratterizzata dalla presenza di: -collagene di tipo IV. -fibronectina. -laminina. -proteoglicani. -lamina reticolare o fibroreticolare: fibrille di ancoraggio costituite di collagene VII.

ETIOPATOGENESI

Nella eziopatogenesi delle piaghe da decubito si riconoscono cause locali e sistemiche.

La **pressione**, intesa come forza applicata perpendicolarmente a un'unità di superficie, è certamente il *fattore locale* più importante. Il punto critico dello sviluppo di una piaga da decubito si raggiunge quando la forza comprimente tra superficie corporea e piano di appoggio è superiore alla pressione del sangue nel distretto arteriolo-capillare, per cui si viene a creare una condizione di ischemia persistente. Ciò si verifica quando su una superficie cutanea si applica una forza pressoria superiore a 32 mmHg (pressione media nel distretto arteriolo-capillare) per un periodo di tempo sufficientemente prolungato a tal punto da sviluppare un meccanismo a cascata: ipossia, acidosi, danno endoteliale, edema ed emorragia interstiziale (comparsa di eritema fisso), accumulo di cataboliti tossici, autolisi e necrosi cellulare¹⁰⁻¹³. Durante il periodo di ischemia, i tessuti riducono il loro metabolismo per diminuire il danno ischemico e ipossico e al fine di preservare le funzioni tissutali; nella successiva fase di riperfusione, la liberazione dei radicali liberi determina l'attivazione di una risposta infiammatoria e contribuisce al peggioramento del danno cellulare¹⁴. L'ipossia induce anche un danno dei vasi linfatici; conseguentemente, il drenaggio linfatico viene compromesso determinando un accumulo di prodotti di scarto del metabolismo e quindi la necrosi tissutale¹⁵. L'aumento della temperatura locale, aumentando il metabolismo cutaneo, esacerba invece gli effetti dell'ischemia.

La compressione dei tessuti fra il piano d'appoggio e la prominenza ossea produce un cono di pressione la cui base corrisponde alla superficie ossea (FIG. 1). La maggior suscettibilità del muscolo al danno ischemico e la teoria del cono di pressione spiegano come, in profondità, si possano riscontrare fenomeni di necrosi più estesi che non in superficie. In pratica, l'ischemia è particolarmente grave nelle zone adiacenti alla sporgenza ossea e la necrosi tissutale si realizza negli strati più profondi prima che il problema si manifesti in superficie.

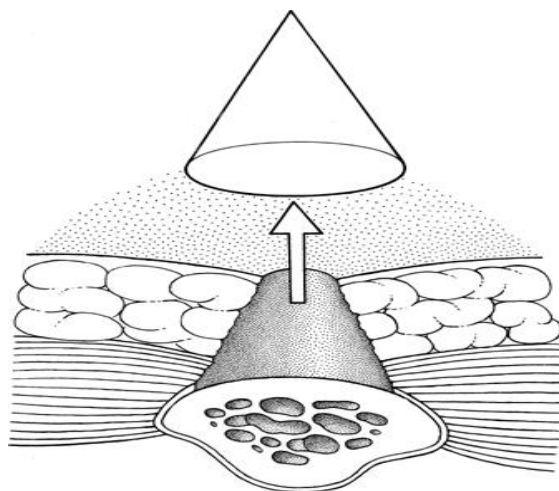


Figura 1 - Teoria del cono di pressione. Essa spiega come, in profondità, si possano riscontrare fenomeni di necrosi più estesi che non in superficie poiché l'ischemia è più grave nelle zone adiacenti alla sporgenza ossea.

Importante per la formazione dell'ulcera da pressione è il fattore tempo. Norton identificò in due ore l'intervallo ottimale per modificare la posizione del paziente sul piano di appoggio ai fini di prevenire l'insorgenza della lesione¹⁶. In condizioni normali la soglia pressione-tempo non viene mai superata poiché il sistema nervoso sensitivo è in grado di percepire gli aumenti localizzati di pressione persistenti per tempi prolungati prima che si determini ischemia locale. In via riflessa tali stimoli nervosi inducono un immediato cambio di posizione. Questo meccanismo fisiologico è presente anche durante il sonno. La sua alterazione, tanto nella componente sensitiva quanto in quella motoria, aumenta quindi significativamente il rischio di una lesione da decubito (ad esempio, pazienti mielolesi e parkinsoniani).

Un altro fattore locale, possibile causa di ulcere da pressione, è rappresentato dalle **forze di stiramento o di taglio** che si generano quando i vari segmenti corporei scivolano da una posizione ad un'altra determinando, a livello della cute interessata, microtrombosi locali, ostruzione e recisione dei piccoli vasi, con conseguente necrosi tissutale profonda. Vari autori hanno rilevato come, nei soggetti allettati, costretti su sedia a rotelle, profondamente defedati e magri, nei quali la cute è lassa o scarsamente aderente ai piani ossei sottostanti, queste forze siano almeno tre volte superiori a quelle che si possono riscontrare in soggetti più giovani¹⁷⁻¹⁸. La mancanza di grasso sottocutaneo aumenta, inoltre, il danno provocato dallo stiramento¹⁹. Le

forze di stiramento agiscono parallelamente al piano interessato e sono più intense a livello sacrale nella posizione semiseduta, in cui il corpo tende a scivolare in avanti e in basso fino a raggiungere la posizione supina.

L'**attrito** o **frizione** non è un fattore determinante, ma può giocare un ruolo importante asportando gli strati superficiali dell'epidermide e rendendo più suscettibile la cute agli eventi lesivi. Gli effetti che si generano sono potenziati inoltre dall'esposizione prolungata della cute all'umidità, determinata da incontinenza urinaria non controllata, diarrea e sudorazione. Una osservazione recentemente confermata dall'esame ultrasonografico ad alta risoluzione mostra che, a differenza degli altri fattori, la frizione determina un danno a carico esclusivamente della componente dermica mentre gli strati profondi rimangono intatti²⁰.

Tra i *fattori sistemici* invece grande importanza riveste l'**età** (> 70 anni) a causa delle modificazioni della cute legate all'invecchiamento quali la diminuzione del tessuto adiposo sottocutaneo, la diminuita percezione del dolore, la ridotta risposta immunitaria cellulo-mediata, il rallentamento nella guarigione delle ferite e l'alterata proprietà di membrana. La gran parte di queste alterazioni, inoltre, amplifica gli effetti locali della pressione.

La **malnutrizione** associata a stati ipermetabolici, iperpiressie prolungate, cachessia neoplastica e le **malattie croniche** quali il diabete, l'insufficienza renale, le malattie febbrili e le malattie arteriose sono anch'esse associate a incremento dell'incidenza di sviluppo di lesioni da decubito.

LOCALIZZAZIONE DELLE LESIONI

Le piaghe da decubito si sviluppano più frequentemente nella porzione inferiore del corpo. In particolare, le sedi generalmente coinvolte sono in ordine il sacro (43%), il tallone (11%), i malleoli laterali (6%), le tuberosità ischiatiche (5%)²¹. Potenzialmente, però, le ulcere da pressione si possono sviluppare in tutti i punti di contatto del corpo con il piano di appoggio (FIG. 2).

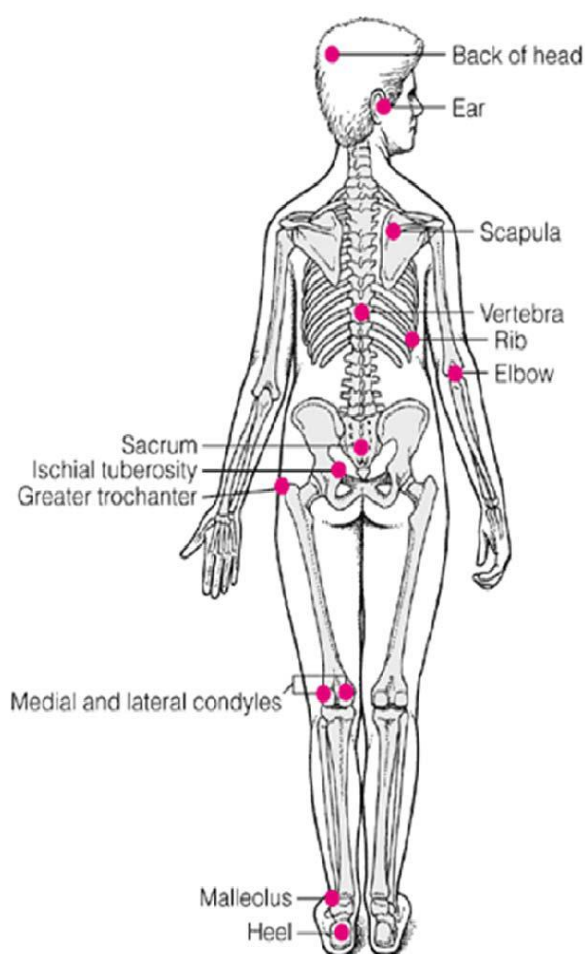


Figura 2 – Sedi di localizzazione più frequenti delle piaghe da decubito

CLASSIFICAZIONE

La necessità di uniformare il trattamento delle lesioni da decubito, per valutarne l'efficacia e per razionalizzare i costi, suggerisce di dotarsi di uno strumento atto a classificare le lesioni in base a caratteristiche note. Per raggiungere questo scopo, infatti, sono stati sviluppati numerosi sistemi di classificazione. Il primo a definire un preciso metodo di stadiazione è stato Shea nel 1975²². La classificazione da lui proposta definiva ogni stadio in base al danno localizzato a livello dei tessuti molli, stabilendo 4 gradi di ulcera da pressione (TABELLA 1).

GRADO I	Limitata all'epidermide con esposizione del derma
GRADO II	Derma a tutto spessore fino al grasso sottocutaneo
GRADO III	Fascia profonda con scollamento della cute
GRADO IV	Interessamento del tessuto osseo
PIAGHE DA DECUBITO CHIUSE	Necrosi ischemica grasso sottocutaneo senza ulcerazione della cute che determina la formazione di una cavità chiusa piena di detriti necrotici con eventuale fistola cutanea.

Tabella 1 – Stadiazione secondo Shea

Altri sistemi di classificazione sono stati proposti da Barton nel 1981²³, Daniel nel 1985²⁴, la Wound, Ostomy, Continence Nurses' Society (WOCN) nel 1988²⁵, Yarkony GM nel 1990²⁶; ciononostante la classificazione di Shea è stata quella più largamente utilizzata negli USA sino alla fine degli anni '80. Anche l'European Pressure Ulcer Advisory Panel (EPUAP) ha proposto una sua classificazione nel 1998 basata anch'essa su 4 gradi di severità della lesione²⁷. Sebbene non ci sia ancora un sistema di stadiazione dotato di un alto livello di evidenza²⁸, la classificazione delle piaghe da decubito ad oggi più utilizzata, però, è quella proposta

dal National Pressure Ulcer Advisory Panel (NPUAP), durante la Consensus Development Conference del 1989²⁹. Essa è di facile e veloce interpretazione perché si fonda su alcune caratteristiche facilmente individuabili semplicemente osservando la lesione (TABELLA 2).

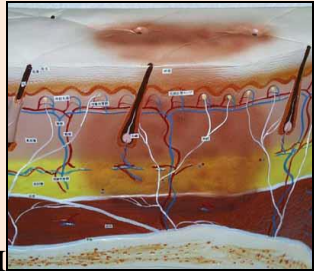
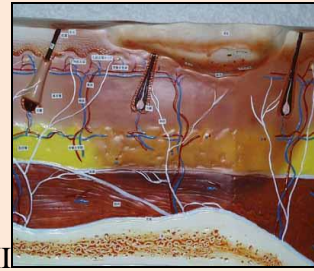
<p style="text-align: center;">STADIO</p>  <p>I</p>	<p>Cute intatta ma arrossata dopo un'ora dalla sospensione dello stimolo pressorio</p>
<p style="text-align: center;">STADIO</p>  <p>II</p>	<p>Ferita a spessore parziale che coinvolge l'epidermide e/o il derma, con o senza infezione. La lesione è superficiale e clinicamente si presenta come un'abrasione, una vescicola o un cratere poco profondo</p>
<p style="text-align: center;">STADIO</p>  <p>III</p>	<p>Ferita a tutto spessore che implica danno o necrosi del tessuto sottocutaneo che si può estendere fino alla sottostante fascia muscolare senza però attraversarla. L'ulcera si presenta clinicamente come una profonda cavità che può o non può essere sottominata e/o infetta.</p>
<p style="text-align: center;">STADIO</p>	<p>Ferita a tutto spessore con estesa distruzione dei tessuti, necrosi e danno a muscoli, ossa o strutture di supporto (tendini, capsule articolari). La presenza di tratti sottominati o fistolosi è spesso associata a questo stadio di lesione che</p>



Tabella 2 – Stadiazione secondo NPUAP (National Ulcer Advisory Panel)

La NPUAP Consensus Conference del 2005 ha aggiunto due nuovi stadi alla precedente classificazione da loro stessi stilata^{3,30}. Focalizzando l'attenzione sulla patogenesi delle lesioni da decubito e basandosi sulla teoria del cono di pressione, gli autori hanno inserito un primo stadio denominato **sospetto danno tessutale profondo** (DTI, *deep tissue injury*) e definito come un'area localizzata violacea o marrone di cute intatta scolorita o con vescica piena di sangue dovuta a un danno dei tessuti molli sottostanti causato da pressione e/o forze di taglio. L'area può essere preceduta da un tessuto doloroso, compatto, cedevole, umido, caldo o più fresco comparato al tessuto adiacente. Il danno del tessuto profondo può essere difficile da individuare in individui con cute nera. L'evoluzione può includere una vescica sottile sopra un letto di ferita scuro. La ferita può evolvere ulteriormente e coprirsi di un'escara sottile. L'evoluzione può essere rapida con l'esposizione di altri strati di tessuto anche con un trattamento ottimale. La patogenesi e le manifestazioni cliniche correlate a questo stadio sono da ricollegarsi alla maggiore tolleranza della cute all'ischemia rispetto al tessuto adiposo sottocutaneo e al muscolo sottostanti³¹⁻³².

Un secondo stadio individuato è quello denominato **non stadiabile/non classificabile** caratterizzato da perdita di cute a spessore totale o perdita di tessuto/profondità sconosciuta e definito come perdita di tessuto a spessore totale in cui la profondità dell'ulcera è completamente oscurata da *slough* (giallo, marrone chiaro, grigio, verde o marrone) e/o dall'escara (marrone chiaro, marrone o nero) sul letto della ferita. Fino a che lo slough e/o l'escara non vengono rimossi esponendo la base della ferita, la profondità reale non può essere determinata ma sarà di Stadio III

o IV. L'escara stabile (asciutta, aderente, intatta senza eritema o fluttuante) sui talloni serve come “corpo naturale (biologico) di copertura” e non dovrebbe essere rimossa.

COMPLICANZE

Infezioni, disidratazione, anemia, squilibri idroelettrolitici, deplezione proteica e degenerazione carcinomatosa (ulcera di Marjolin) sono le complicanze più frequenti nei soggetti con lesione da decubito.

L'infezione può manifestarsi come sepsi generalizzata, osteomielite o pio artrite³³. In più del 30% dei casi si ha una batteriemia polimicrobica in cui spesso sono inclusi batteri Gram-negativi quali il *Proteus mirabilis*, l'*Escherichia Coli*, lo *Pseudomonas aeruginosa*, la *Klebsiella*, Gram-positivi quali gli *Staphylococchi* e anaerobi come il *Bacteroides fragilis*. La contaminazione batterica è stata da più fonti considerata naturale nelle lesioni croniche, in quanto solitamente una ferita tollera contaminazioni batteriche fino a 10^5 (100000 batteri/g di tessuto). Come per altri agenti patologici, però, anche questo può essere causa di complicanze nel caso di un'alterata o ridotta risposta dell'organismo.

Le lesioni da decubito possono essere, soprattutto se complicate, la causa di morte nel paziente anziano: è stato stimato che la mortalità dovuta a infezioni originate dalle lesioni da decubito può raggiungere anche il 38% ed è particolarmente elevata negli ultrasessantenni e nei portatori di lesioni multiple³⁴.

INTERVENTI PREVENTIVI

Primo obiettivo dell'intervento preventivo delle piaghe da decubito è l'identificazione del *paziente a rischio*, di quel malato cioè che, a causa di fattori generali o locali legati a una patologia o a una sua complicanza, presenta maggiori possibilità di sviluppare lesioni da decubito e recidive dopo riparazione chirurgica, e per questo necessita di un piano assistenziale mirato. Le classi di pazienti maggiormente a rischio sono³⁵:

- anziani, soprattutto di età maggiore di 70 anni, sia per le modificazioni della cute legate all'invecchiamento sia per le condizioni generali spesso compromesse;
- mielolesi, per la riduzione della sensibilità;
- miastenici, per la diminuzione della forza di contrazione muscolare e per l'astenia che porta il soggetto a muoversi poco e a mantenere a lungo la stessa posizione;
- soggetti con sclerosi multipla, per presenza di parestesie e spasticità;
- pazienti oncologici o affetti da AIDS, perché immunodepressi;
- soggetti in coma, per immobilità assoluta;
- diabetici, per danni al microcircolo e alla sensibilità;
- portatori di apparecchi gessati, per ridotta mobilità e compressione sulle prominente ossee;
- pazienti malnutriti;
- pazienti che abbiano già subito un trattamento chirurgico per piaga da decubito;
- politraumatizzati, per limitata mobilità e per compromissione dello stato generale.

Per favorire una valutazione corretta dei pazienti che hanno bisogno di assistenza sono stati inseriti i parametri fisiopatologici in griglie, costruendo così degli INDICI DI VALUTAZIONE DEL RISCHIO. Tra quelli presenti e raccomandati in letteratura sono da ricordare l'indice di Norton¹⁶, l'indice di Norton modificato secondo Stotts³⁶ e l'indice di Braden³⁷.

L'indice di Norton (TABELLA 3) è un sistema sensibile creato e adottato per la prima volta in Inghilterra ormai da un trentennio. È facile da applicare e il suo uso è ormai di routine. Questo metodo prende in considerazione parametri quali: lo stato fisico generale, lo stato mentale, la deambulazione, la motilità e l'incontinenza del paziente. A ciascuno di questi criteri sono assegnate delle variabili: si deve attribuire cioè un punteggio da 1 (peggiore) a 4 (migliore). Il rischio di contrarre lesioni da decubito è lieve con un punteggio da 14 a 12. È elevato se inferiore o uguale a 11. Il rischio diminuisce quasi linearmente con l'aumentare del punteggio.

PUNTEGGIO	CONDIZIONI GENERALI	STATO MENTALE	DEAMBULAZIONE	MOBILITÀ	INCONTINENZA
4	Buone	Lucido	Normale	Piena	Assente
3	Discrete	Apatico	Cammina con aiuto	Moderatamente limitata	Occasionale
2	Scadenti	Confuso	Costretto su sedia	Molto limitata	Abituale (urine)
1	Pessime	Stuporoso	Costretto a letto	Immobile	Doppia

Tabella 3 – Indice di Norton. Scala di valutazione del rischio per lesioni da decubito.

Nell'indice di Norton modificato secondo Stotts i criteri analizzati sono gli stessi ma, oltre alle variabili, sono espresse delle indicazioni/definizioni, riferite ai medesimi parametri, che rendono ancora più oggettive le valutazioni e quindi più sicuro l'indice da errate interpretazioni.

L'indice di Braden prende in esame i seguenti criteri: percezione sensoriale, umidità, attività fisica, mobilità, nutrizione, frizione e scivolamento. Per ogni criterio vi è una variabile da 1 a 4 e a ogni variabile è espressa una definizione. Vi è un rischio di contrarre lesioni da decubito con un punteggio uguale o inferiore a 16.

Oltre all'uso sistematico delle scale sopra descritte per individuare i pazienti a rischio, gli ulteriori interventi da attuare per una corretta prevenzione sono:

- valutare la capacità di alimentarsi correttamente;
- pianificare una sistematica e corretta mobilizzazione;
- effettuare una corretta igiene della cute;
- controllare l'incontinenza;

- utilizzare correttamente i presidi e gli ausili antidecubito.

L'alimentazione è importante non solo nella fase di prevenzione ma anche in quella di trattamento delle piaghe da decubito. Valori di albumina sierica inferiori a 3.5 g/dl costituiscono un fattore di rischio di per sé. Una volta individuati i pazienti con problemi nutrizionali, la dieta dovrà essere corretta e opportunamente integrata. In genere essa sarà ipercalorica, iperproteica, con un apporto vitaminico e di sali minerali, con almeno un grammo di vitamina C nelle 24 ore e adeguato apporto idrico³⁸. L'obiettivo essenziale è supplire all'incapacità di alimentarsi nel soggetto non autosufficiente, aiutandolo o stabilendo una corretta alimentazione enterale o parenterale, dove se ne presenti la necessità. A conferma dell'importanza di quanto detto, esistono in letteratura dati che indicano che l'anemia, la disproteidemia e i markers di infiammazione ritornano in un range di normalità dopo l'intervento chirurgico, suggerendo che questi indici, più che fattori di rischio, rappresentino delle conseguenze legate alla piaga da decubito³⁹.

Il movimento è considerato la prima difesa dell'organismo contro i danni da compressione: al paziente a rischio deve essere applicato un protocollo personalizzato di cambiamenti di postura, a seconda delle caratteristiche e dei suoi bisogni, affinché si alternino le zone sottoposte a compressione e si prevenga la necrosi delle stesse. È consigliata la rotazione periodica delle posture ogni 2 ore. Si è dimostrato, infatti, che è questo l'intervallo di tempo medio necessario perché si instauri sofferenza cutanea con danni al microcircolo¹¹. La postura alternativa più utilizzata è quella sul fianco sinistro o destro: è di solito utilizzata per garantire un periodo di riposo alle zone cutanee sottoposte a pressione durante il decubito supino. Ottenuta la posizione laterale occorre però tenere presente che le nuove zone sottoposte a maggiore pressione sono: orecchio, zigomo, gomito, anca, parte esterna del ginocchio e malleolo dell'emisoma su cui il paziente è stato posizionato.

Anche per i soggetti posti in carrozzina o su sedia è necessario predisporre un piano di mobilizzazione. In questo caso le zone maggiormente a rischio sono rappresentate da scapola, sacro, coccige, tuberosità ischiatiche, talloni, pianta del piede e cavo popliteo. Gli individui costretti su sedia dovrebbero essere educati a cambiare posizione ogni 15 min, se ne sono capaci.

Di fondamentale importanza nella prevenzione delle piaghe da decubito sono le cure igieniche e il controllo dell'incontinenza al fine di mantenere una cute integra, asciutta e ben idratata. Le linee guida⁴⁰, sulla base di ricerche sperimentali e sul parere di esperti raccomandano:

- la pulizia della cute deve essere effettuata con attenzione; lavaggi frequenti rimuovono i lipidi cutanei; utilizzare saponi neutri per mantenere stabile il pH. Non utilizzare agenti irritanti come acqua calda o alcol;
- evitare l'eccessiva secchezza della cute usando creme emollienti e idratanti.
- utilizzare, in caso di incontinenza, prodotti barriera o film protettivi.

Per ausili antidecubito si intendono quelle attrezzature o prodotti tecnologici di aiuto al personale sanitario, tramite i quali possono essere prevenute e risolte lesioni da decubito senza ricorrere a presidi costosi. Sotto tale dicitura, pertanto, si possono annoverare un gran numero di sistemi, più o meno sofisticati e complessi rappresentati da archetto alzacoperte, spondine di contenimento, letti articolati, cuscini a cuneo, cuscini antidecubito per carrozzine, sovrामaterassi e materassi ad acqua, in gomma piuma e ad aria, letti a cuscini d'aria, fluidizzati e basculanti⁴¹.

TRATTAMENTO: OBIETTIVI

Un efficace trattamento delle lesioni da decubito può essere ottenuto grazie ad un lavoro d'équipe che coinvolga il paziente, i familiari e l'intero personale sanitario. Esso deve prevedere i seguenti interventi³⁵:

- la riduzione del carico tissutale
- il trattamento della colonizzazione batterica e dell'infezione
- la prevenzione dello sviluppo di lesioni in altre sedi
- l'eventuale riparazione chirurgica della lesione

TRATTAMENTO NON CHIRURGICO

Il trattamento non chirurgico delle piaghe da decubito può essere rapportato allo stadio di lesione osservato oltre che alle caratteristiche intrinseche della lesione stessa⁴².

1. **PRIMO STADIO** – L'obiettivo preposto fino ad oggi è quello di ridurre la compressione tissutale, proteggendo contemporaneamente la cute da eventuali insulti esterni. La cute deve essere mantenuta pulita e asciutta utilizzando presidi assorbenti come pannoloni e traverse monouso, morbida, elastica e protetta mediante l'applicazione di prodotti a effetto barriera in grado di esercitare un'azione non macerante, emolliente e protettiva (pomate a base di ossido di zinco e gli spray al silicone). Sono inoltre indicati i film trasparenti in poliuretano e le medicazioni idrocolloidali ultrasottili; queste medicazioni sono in grado di mantenere un ambiente sottostante umido, favorendo il mantenimento del trofismo, temperatura e pH cutanei.
2. **SECONDO STADIO** – Si pone come obiettivo la riparazione dello strato tissutale coinvolto. Localmente è necessario continuare a proteggere la cute con prodotti a effetto barriera; la medicazione della lesione deve essere

effettuata con soluzioni saline. Tra le classi di prodotti attualmente sul mercato trovano indicazione in questa fase soprattutto gli idrocolloidi, le schiume e i film in poliuretano (FIG. 3).

3. TERZO STADIO – A questo stadio di frequente riscontro è la presenza di un'escara, cioè di una placca di tessuto alterato che si forma nel momento in cui un processo [necrotizzante](#) colpisce la cute o le mucose. Essa si caratterizza per la consistenza dura, il colore nero e l'incassamento nei tessuti sottostanti e rappresenta un terreno favorente la crescita batterica. Quando cade lascia un'[ulcerazione](#) profonda che si ripara lasciando però cicatrici. È proprio da questa fase, quindi, che riveste grande importanza il *debridement*, termine di derivazione anglosassone con cui si intende l'eliminazione della necrosi dalla superficie della ferita⁴³. Il debridement può essere chirurgico, enzimatico, idrolitico, meccanico e biochirurgico. La rimozione chirurgica è la forma di debridement più conosciuta che viene effettuata tramite escarectomia. Altra modalità di rimozione necrotica è quella enzimatica; questa tecnica prevede l'utilizzo di enzimi litici che agiscono sui legami delle fibre collagene e viene effettuata con prodotti a base di collagenasi e proteasi aspecifiche da applicare ogni 8-12 ore. Il debridement idrolitico è effettuato utilizzando idrogel, prodotti con un alto contenuto di acqua, che agiscono sul tessuto necrotico per idrolisi, favorendo cioè la naturale eliminazione della necrosi con la macerazione.
4. QUARTO STADIO – Prevede il controllo e la gestione di eventuali complicanze e la riparazione parziale o totale dell'integrità cutanea. La chirurgia in questo caso rappresenta spesso l'unica possibilità di guarigione.

Ancora nessun trattamento standardizzato è stato proposto per i nuovi gradi di classificazione proposti dal NPUAP.

TRATTAMENTO CHIRURGICO

Il trattamento chirurgico delle piaghe da decubito è riservato generalmente ai casi di lesione severa (stadi III e IV) e prevede una fase di debridement chirurgico a cui segue una eventuale ricostruzione della perdita di sostanza⁴⁴. Le principali indicazioni al trattamento chirurgico sono⁴⁵:

- rimozione del focolaio settico;
- rimozione dell'infezione locale per diminuire la carica batterica, ridurre la probabilità di sviluppare antibiotico-resistenza e ottenere adeguati campioni per esame colturale;
- raccogliere campioni colturali, prelevati dopo il debridement, nei tessuti residui più profondi per valutare la presenza di un'infezione persistente e, quindi, intraprendere un trattamento antibiotico sistemico;
- stimolazione del letto della ferita per favorire la guarigione e la riparazione con innesti o lembi.

La letteratura scientifica ha visto un sostanziale incremento della varietà di mezzi di ricostruzione delle lesioni da decubito.

Dal momento che le ulcere da pressione costituiscono un deficit tessutale, la ricostruzione tramite l'utilizzo di lembi ben vascolarizzati rappresenta la strategia ricostruttiva di scelta per la maggior parte dei pazienti. La chiusura della ferita chirurgica per prima intenzione, infatti, non è raccomandata per l'elevata incidenza di recidive ad essa correlate; lo stesso vale per la ricostruzione tramite l'utilizzo di innesti cutanei poiché non garantiscono un ripristino del volume iniziale.

La scelta del lembo con cui ricostruire la perdita di sostanza richiede la considerazione di numerosi fattori quali la sede della piaga da decubito, il profilo del lembo e la localizzazione dello stesso relativamente alla zona da coprire.

Per praticità e attinenza allo studio da noi effettuato, verranno considerati in questa trattazione solo i lembi utilizzati nella riparazione delle piaghe da decubito sacrali e ischiatiche. I più adoperati sono rappresentati dal lembo postero mediale di coscia, il lembo di bicipite femorale associato al lembo fasciocutaneo postero mediale di coscia, i lembi muscolare e fasciocutaneo di gluteo, il lembo di retto del femore,

quello di muscolo gracile, il lembo di tensore della fascia lata, lembi di avanzamento in V-Y, lembi liberi (parascalpale, gran dorsale, serrato anteriore).

Ad oggi non esiste una forte evidenza che suggerisca l'utilizzo di un determinato lembo per la ricostruzione chirurgica post-debridement, ma si sostiene che in prima istanza si dovrebbe utilizzare un lembo proveniente dall'arto inferiore per preservare il lembo di gluteo qualora si dovesse verificare una recidiva.

Da un'analisi della letteratura, l'incidenza di complicanze associate alla ricostruzione tramite lembi quali sepsi, deiscenza della ferita chirurgica, ematoma, sieroma, infezione e necrosi parziale o totale del lembo stesso, risulta fortunatamente in diminuzione⁴⁶⁻⁴⁷. Nel postoperatorio, un graduale e definito programma di riabilitazione dovrebbe essere intrapreso a partire dalla terza o sesta settimana dall'intervento.

Bibliografia

1. **Lowthian, P.** Pressure sores: a search for definition. *Nurs Stand.* 1994, Vol. 9, pp. 30–32.
2. **Lowthian, P.** The distinction between superficial pressure ulcers and moisture lesions. *Skinmed.* 2007, Vol. 6, pp. 111-112.
3. **Black, Joyce, Baharestani, Mona Mylene and Cuddigan, Janet.** National Pressure Ulcer Advisory Panel's Updated Pressure Ulcer Staging System. 2007, pp. 269 - 274.
4. **AISLeC.** Profilassi delle lesioni da decubito e cambio posturale: ricerca multicentrica, linee guida. s.l. : ANIN-NEU, 1995.
5. **Horn, SD, Nender, SA, Bergstrom, N.** Description of the National Pressure Ulcer Lon-Term Care Study. *J Am Geriatr Soc.* 2002, Vol. 50, pp. 1816-25.
6. **Reddy, M.** Pressure ulcers. *Wounds.* 2011, Vol. 5.
7. **Kaltenhaler, E, Whitfield, MD and Walters, SJ.** UK, USA, and Canada: how do their pressure ulcer prevalence and incidence data compare? *J Wound Care.* 2001, Vol. 10, pp. 530-535.
8. **Di Giulio, P.** La presenza delle lesioni da decubito nei pazienti ospedalizzati. 1985, Vol. 2.
9. **Brown, G.** Long-term outcomes of full-thickness pressure ulcers: healing and mortality. *Ostomy Wound Manage.* 2003, Vol. 49, pp. 42-50.
10. **Husain, T.** An experimental study of some pressure effects on tissues, with reference to the bed-sore problem. *J Pathol Bacteriol.* 1953, Vol. 66, pp. 347-358.
11. **Cucinotta, D.** Fisiopatologia delle lesioni da decubito. [book auth.] E., Trabucchi M Zanetti. Aspetti cruciali nel nursing geriatrico. Napoli : Gnocchi, 1995.
12. **Dinsdale, SM.** Decubitus ulcers: Role of pressure and friction in causation. *Arch Phys Med Rehabil.* 1974, Vol. 55, pp. 147-152.
13. **Medina, A, Scott, P and Ghahary, A.** Pathophysiology of chronic nonhealing wounds. *J Burn Care Rehabil.* 2006, Vol. 26, pp. 306-319.
14. **Peirce, SM, Skalak, TC and Rodeheaver, GT.** Ischemia-reperfusion injury in chronic pressure ulcer formation: a skin model in the rat. *Wound Rep Reg.* 2000, Vol. 8, pp. 68-76.
15. **Krouskop, TA.** A synthesis of the factors that contribute to pressure sore formation. *Med Hypothesis.* 1983, Vol. 11, pp. 255–267.
16. **Norton, D, McLaren, R, Exton, S.** An investigation of geriatric nursing problems in hospital. Edimburg : s.n., 1962.
17. **MR, Bliss.** Aetiology of pressure sores. *Rev Clin Gerontol.* 1993, Vol. 3, pp. 379–397.
18. **Collier, M and Moore, Z.** Etiology and risk factors. [book auth.] M Romanelli. Science and Practice of Pressure Ulcer Management. London, UK : Springer, 2006, pp. 27–36.
19. **Reuler, IB, Coonery, TJ.** The pressure sores: pathophysiology and principles of management. *Ann. Int. Med.* 1981, Vol. 94.

20. **Quintavalle, PR, et al.** Use of high-resolution, high-frequency diagnostic ultrasound to investigate the pathogenesis of pressure ulcer development. *Adv Skin Wound Care*. 2006, Vol. 19, pp. 498-505.
21. **Giuglea, C, Marinescu, S, Florescu, IP, Jecan, C.** Pressure sores – a constant problem for plegic patients and a permanent challenge for plastic surgery. *Journal of Medicine and Life*. 2010, Vol. 3, 2, pp. 149-153.
22. **Shea, JD.** Pressure sores classification and management. *Clin Orthop Relat Res*. 1975, Vol. 112, pp. 89-100.
23. **Barton, AA.** The pathogenesis of skin wounds due to pressure. [book auth.] RM, Cowden, JM, Scales, JT Kenedi. *Bedsore Biomechanics*. London : Macmillan, 1976.
24. **Daniel, RK, Wheatley, D, Priest, D.** Pressure sores and paraplegia: an experimental model. *Ann Plast Surg*. 1985, Vol. 15, pp. 41-7.
25. **International Association of Enterostomal Therapists.** Dermal wounds: pressure sores. Philosophy of the IAET. *J Enterostomal Ther*. 1988, Vol. 15, pp. 4-17.
26. **Yarkony, G M.** Classification of pressure ulcers. *Archives of Dermatology*. 1990, Vol. 126, pp. 1218-1219.
27. **EPUAP.** <http://www.epuap.org/gltreatment.html>. [Online]
28. **Kottner, J, et al.** A systematic review of interrater reliability of pressure ulcer classification systems. *J Clin Nurs*. 2009, Vol. 18, pp. 315–336.
29. **National Pressure Ulcer Advisory Panel.** Pressure ulcer prevalence, cost, and risk assesment: consensus development conference statement. *Decubitus*. 1989, Vol. 2, pp. 24-8.
30. **NPUAP and EPUAP.** Treatment of Pressure Ulcers: Quick Reference Guide. www.npuap.org. [Online] 2009.
31. **Kokate, JY, et al.** Critical thresholds for pressure ulcer formation in a porcine model. *Wounds*. 1997, Vol. 9, pp. 111-21.
32. **Nola, GT and Vistness, LM.** Differential response of skin and muscle in the experimental production of pressure sores. *Plast Reconstr Surg*. 1980, Vol. 66, pp. 728-733.
33. **Marriott, R and Rubayi, S.** Successful truncated osteomyelitis treatment for chronic osteomyelitis secondary to pressure ulcers in spinal cord injury patients. *Ann Plast Surg*. 2008, Vol. 61, pp. 425–429.
34. **Editorial.** Preventing pressure sores. *Lancet*. 1990, Vol. 335, p. 1311.
35. **Tchanque-Fossuo, CN and Kuzon, WM Jr.** An Evidence-Based Approach to Pressure Sores. *Plast Reconstr Surg*. 2011, Vol. 127, pp. 932-9.
36. **Stotts, NA.** Nutritional parameters at hospital admission as predictors of pressure ulcer development in elective surgery. *J of parenteral and enteral nutrition*. Vol. 11, p. 298.
37. **Braden, BJ and Berstrom, N.** Clinical utility of the Braden scale for predicting pressure sore risk. *Decubitus*. 1989, Vol. 2, p. 44.
38. **Langer, G, et al.** Nutritional interventions for preventing and treating pressure ulcers. *Cochrane Database Syst Rev*. 2003, Vol. 4.

39. **Scivoletto, G, et al.** Pressure sores and blood and serum dysmetabolism in spinal cord injury patients. *Spinal Cord*. 2004, Vol. 42, pp. 473-476.
40. **Agency for Health Care Policy and Research** . Skin care and early treatment in pressure ulcers in adults: prediction and prevention. *Clinical Practice Guideline*. 1992, Vol. 3.
41. **Bellingeri, A and Zanetti, E.** Le lesioni da decubito nel paziente anziano. [book auth.] F Cavazzuti and G Cremonini. *Assistenza geriatrica oggi*. Milano : C.E.A., 2002.
42. **Fonder, M, Lazarus, G and Cowan, D.** Treating the chronic wound: a practical approach to the care of nonhealing wounds and wound care dressings. *J Am Acad Dermatol*. 2008, Vol. 58, pp. 185-206.
43. **Cannon, B.** An approach to the treatment of pressure sores. *Ann Surg*. 1950, Vol. 132, pp. 760-78.
44. **Foster, RD, Anthony, JP and Mathes, SJ.** Flap selection as a determinant of success in pressure sore coverage. *Arch Surg*. 1997, Vol. 132, pp. 868-73.
45. **Schiffman, J, Golinko, MS and Yan, A.** Operative Debridement of Pressure Ulcers. *World J Surg*. 2009, Vol. 33, pp. 1396-1402.
46. **Mandrekas, AD and Mastorakos, DP.** The management of decubitus ulcers by muscolocutaneous flaps: a five-year experience. *Ann Plast Surg*. 1992, Vol. 28, pp. 167-74.
47. **Ahluwalia, R, Martin, D and Mahoney, JL.** The operative treatment of pressure wounds: a 10-year experience in flap selection. *International Wound Journal*. 2009, Vol. 6, 5, pp. 355-58.

Tesi di dottorato in Scienze biomediche integrate e bioetica, di Vito Toto,
discussa presso l'Università Campus Bio-Medico di Roma in data 20/03/2019.
La disseminazione e la riproduzione di questo documento sono consentite per scopi di didattica e ricerca,
a condizione che ne venga citata la fonte.

CAPITOLO II

VALUTAZIONE

ULTRASONOGRAFICA DELLE

PIAGHE DA DECUBITO

Il riconoscimento e la classificazione di una piaga da decubito che si presenti in uno stadio molto precoce, quando cioè vi sia soltanto un danno tessutale profondo senza manifestazioni cliniche superficiali, comporta a volte delle difficoltà se le metodiche di indagine si basano esclusivamente sui reperti obiettivi. Se l'individuazione dello stadio I della piaga da decubito è possibile grazie alla semplice valutazione clinica, infatti, la diagnosi di DTI (*deep tissue injury*) non può essere accertata a meno che non si utilizzino metodi diversi dalla semplice ispezione visiva.

I dati della letteratura sull'evoluzione delle ulcere da pressione, inoltre, mostrano che le ulcere di grado I e di grado II progrediscono, rispettivamente nel 10% e nel 12% dei casi, verso gli stadi più avanzati nonostante un trattamento medico e/o chirurgico adeguati¹. Da questa premessa emerge, quindi, l'importanza e l'utilità di riuscire a diagnosticare la piaga da decubito fin dai primissimi stadi (DTI) e a valutarne conseguentemente la prognosi. La possibilità di studiare dettagliatamente i tessuti che si trovano al di sotto della lesione alla ricerca di eventuali alterazioni, infatti, permetterebbe a tutto il personale sanitario di effettuare tempestivamente un intenso e adeguato trattamento al fine di prevenire il deterioramento della stessa.

Il crescente interesse verso questo campo ha indotto negli ultimi anni numerosi autori a ricorrere all'uso di diverse tecniche radiologiche quali la tomografia computerizzata², la risonanza magnetica³⁻⁴ e l'ultrasonografia⁵⁻⁷ al fine di individuare e definire il danno sottocutaneo presente nelle lesioni da decubito. Tra queste, l'ecotomografia si è rivelata la metodica più sicura, economica, meno invasiva e utile in quanto può essere facilmente eseguita e riproducibile anche a letto del paziente. Ancora insufficienti, però, sono gli studi e le informazioni riguardo i reperti ecografici caratteristici del danno tissutale profondo come l'edema e la necrosi tissutale, e la correlazione tra gli stessi, le manifestazioni cliniche e la prognosi delle piaghe da decubito⁵⁻⁸. Nel 2009 Aoi et al. hanno condotto uno studio in cui hanno riconosciuto quattro tipi di segni ecografici correlati con il sospetto danno tissutale profondo (DTI)⁹. In base a quanto da loro affermato, quando anche uno soltanto dei criteri sia presente, si può porre diagnosi di DTI. In particolare, hanno dimostrato che il riscontro di una struttura sottocutanea a strati poco chiara, della presenza di una lesione ipoecogena nel sottocute, della discontinuità della fascia superficiale e/o profonda e di un'area ipoecogena eterogenea, rappresentano dei fattori predittivi di

peggioramento del danno da pressione. Una **struttura a strati poco chiara** è definita da una condizione del sottocute nella quale non si riconoscono distintamente lo strato di tessuto adiposo, la fascia superficialis, quella profonda, lo strato muscolare, la borsa e l'osso sottostante (FIG. 1); ciò potrebbe riflettere l'iniziale reazione sottocutanea, costituita principalmente dall'edema e dall'infiammazione, al danno nel tessuto sottocutaneo indotto dallo stimolo pressorio o di taglio. I risultati relativi a questo reperto suggeriscono che esso, oltre che un fattore predittivo, sia un indicatore della elevata sensibilità di questa metodologia nell'individuare l'esistenza del DTI.

La **lesione ipoecogena**, invece, è una piccola lesione avente margini relativamente netti, con segnale assente o fortemente ridotto e potrebbe corrispondere a un'area non vascolarizzata, quale può essere un ematoma, un sieroma o tessuto necrotico (FIG. 1).

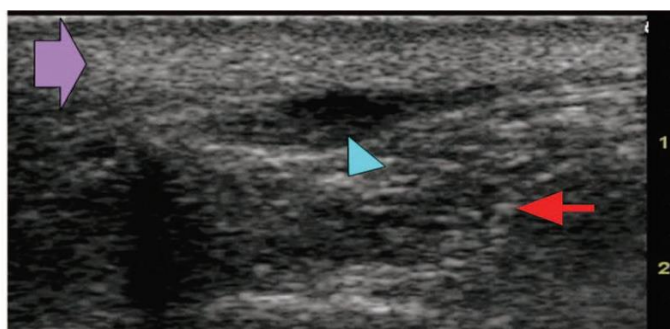


Figura 1 – Immagine ultrasonografica specifica di danno tessutale profondo (DTI) nelle ulcere da pressione. La struttura a strati poco chiara (ULS) con una texture ecografica grossolana (freccia viola) è molto frequente nelle ulcere da pressione, mentre una lesione ipoecogena (HEL) (punta della freccia blu), benché ugualmente rilevabile, si sospetta che rifletta una piccola raccolta di liquido, come un sieroma o un ematoma.

La **discontinuità della fascia** è identificata da un'interruzione del segnale iperecogeno prodotto dagli strati fibrosi laminati superficiali e profondi, che corrono nel sottocute amalgamandosi principalmente nel derma reticolare, che verosimilmente corrisponde al danno di natura ischemica e/ infiammatoria, all'interruzione anatomica provocata dall'edema o alla rottura della fascia (FIG. 2).

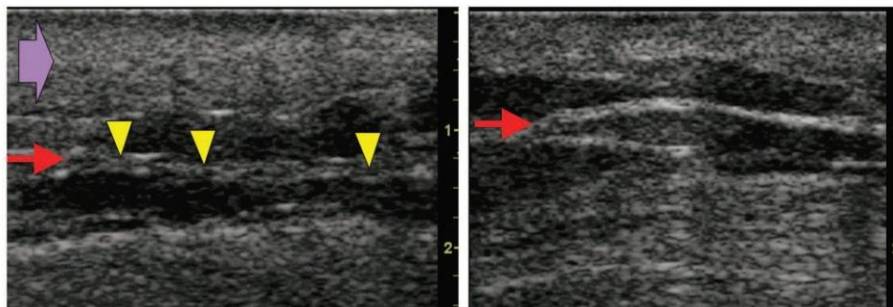


Figura 2 – Reperto ecografico di fascia superficialis. L'integrità della fascia superficialis situata al di sopra del muscolo si vede chiaramente come una linea iperecogena sulle immagini ad ultrasuoni (freccia rossa, destra), mentre una fascia superficiale o profonda discontinua (DCF) (punte di freccia gialla) è rappresentata da una linea spezzata o discontinua con segnali eco eterogenei (freccia rossa, sinistra).

L'area ipocogena eterogenea è costituita da un'area di forma circolare o ovale con un eco interno eterogeneo, che interrompe la normale struttura a strati tipica del sottocute. Essa rappresenterebbe un'area di necrosi contenente tessuto necrotico, detriti e materiale fluido (FIG. 3).

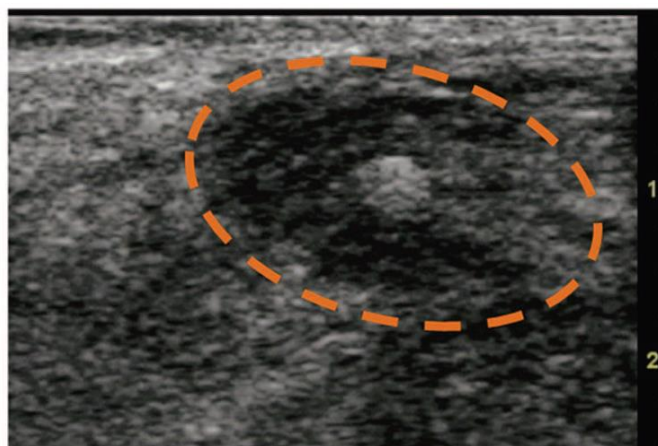


Figura 3 – Un'area ipocogena eterogenea (HHA) è indicata da un cerchio arancione tratteggiato. Essa rappresenterebbe un'area di necrosi contenente tessuto necrotico, detriti e materiale fluido.

I risultati ottenuti da Aoi hanno suggerito che la discontinuità della fascia e l'area ipocogena eterogenea rappresentano i principali fattori predittivi di futuro deterioramento di una piaga da decubito diagnosticata nello stadio di sospetto danno tessutale profondo. Altri autori come Yabunaka hanno ipotizzato che

l'infiammazione e l'edema presenti nella piaga da decubito esplicassero il loro effetto lesivo prevalentemente a livello del tessuto adiposo sottocutaneo¹⁰. Il grasso sottocutaneo e la fascia superficialis, infatti, giocano un ruolo fondamentale nella protezione del muscolo e dell'osso dalle forze esterne. In base alla loro ipotesi, nello studio da loro proposto, sono andati alla ricerca dell'edema infiammatorio nel tessuto adiposo sottocutaneo in pazienti con piaga da decubito di stadio I o con sospetto danno tessutale profondo. Normalmente il tessuto adiposo sottocutaneo compreso tra la fascia superficialis e quella profonda è evidenziato all'ecografia da una serie di strati ben definiti. Le valutazioni ecografiche da loro effettuate delle ulcere da pressione di stadio iniziale si proponevano come obiettivo il riconoscimento di uno strato adiposo sottocutaneo più spesso dovuto all'edema o di un'area ipoecogena eterogenea indicativa di necrosi tessutale. Gli autori notarono inoltre che all'edema erano associate la scomparsa della fascia superficialis e la presenza di una struttura a strati poco chiara. Nel processo di guarigione, in cui si assiste alla riduzione del processo infiammatorio, le immagini ecografiche mostravano che la struttura a strati diveniva più chiara, indicando che le modificazioni individuate nel tessuto adiposo erano reversibili. La metodica ultrasonografica, pertanto, in base agli studi finora eseguiti, risulta essere un'utilissima risorsa in grado di determinare e individuare le alterazioni che si verificano nei tessuti che si trovano al di sotto della piaga da decubito, prima ancora che si manifestino i segni clinici della lesione suddetta. Inoltre, la medesima tecnica, grazie alle sue caratteristiche di minima invasività e riproducibilità, sarebbe uno strumento importantissimo anche nel follow-up delle ulcere da pressione.

Bibliografia

1. **Donnelly, J.** National Pressure Ulcer Advisory Panel. Should we include deep tissue injury in pressure ulcer staging system? The NPUAP debate. *J Wound Care*. 2005, Vol. 14, p. 207-10.
2. **Firooznia, H, et al.** Computed tomography of pressure sores, pelvic bases, and osteomyelitis in patients with spinal cord injury. *Arch Phys Med Rehabil*. 1982, Vol. 63, p. 545-548.
3. **Stekelenburg, A, et al.** Compression-induced deep tissue injury examined with magnetic resonance imaging and histology. *J Appl Physiol*. 2006, Vol. 100, p. 1946-1954.
4. **Stekelenburg, A, et al.** Role of ischemia and deformation in the onset of compression-induced deep tissue injury: MRI-based. *J Appl Physiol*. 2007, Vol. 102, p. 2002-2011.
5. **Konya, C, Sanada, H e Sugama, J.** Assessing the effectiveness of ultrasound for pressure ulcer staging. *Jpn J Pressure Ulcer*. 1999, Vol. 1.
6. **Quintavalle, PR, et al.** Use of high-resolution, high-frequency diagnostic ultrasound to investigate the pathogenesis of pressure ulcer development. *Adv Skin Wound Care*. 2006, Vol. 19, p. 498-505.
7. **Lyder, C.** The use of technology for improved pressure ulcer prevention. *Ostomy Wound Manage*. 2007, Vol. 53, p. 14-16.
8. **Kanno, N, et al.** Low-echoic lesions underneath the skin in subjects with spinal-cord injury. *Spinal Cord*. 2009, Vol. 47, p. 225-229.
9. **Aoi, N, Yoshimura, K e Kadono, T.** Ultrasound Assesment of Deep Tissue Injury in Pressure Ulcers: Possible Prediction of Pressure Ulcer Progression. *Plast Reconstr Surg*. 2009, Vol. 124, p. 540-50.
10. **Yabunaka, K, et al.** Can ultrasonographic evluation of subcutaneous fat predict pressure ulceration? *Journal of Wound Care*. 2009, Vol. 18, 5.

Tesi di dottorato in Scienze biomediche integrate e bioetica, di Vito Toto,
discussa presso l'Università Campus Bio-Medico di Roma in data 20/03/2019.
La disseminazione e la riproduzione di questo documento sono consentite per scopi di didattica e ricerca,
a condizione che ne venga citata la fonte.

CAPITOLO III

PLATELET-RICH PLASMA

Il Platelet-Rich Plasma, plasma arricchito in piastrine comunemente indicato con l'acronimo P.R.P., è un prodotto di derivazione ematica studiato da numerosi anni in diverse branche della medicina, il cui razionale d'uso risiede nel fatto che le piastrine, di cui è ricco il P.R.P., rilasciano numerose sostanze che promuovono la riparazione tissutale e influenzano il comportamento di altre cellule modulando l'infiammazione e la neoformazione di vasi sanguigni. Le piastrine infatti giocano un ruolo fondamentale nel mediare la guarigione del tessuto danneggiato grazie alla capacità di liberare fattori di crescita, tra i quali il PDGF, il TGF β , il VEGF, l'IGF-1, l'FGF, e l'EGF¹. I granuli contenuti nelle piastrine sono anche una fonte di "citochine", "chemochine" e molte altre proteine variamente coinvolte nello stimolare proliferazione e maturazione cellulare, nel modulare l'infiammazione e attivare altre cellule regolando l'omeostasi tissutale ed i processi rigenerativi. Responsabili di tali processi riparativi sono i cosiddetti fattori di crescita piastrinici (Pdgf, Tgf- β , Igf I/II, Fgfb, EGF). I coaguli che si formano in condizioni normali sono composti dal 95% di eritrociti (i globuli rossi), 4% di piastrine e 1% di leucociti (i globuli bianchi); il PRP invece è un gel in cui la percentuale di piastrine è elevatissima (95%), mentre ridotte sono le percentuali di globuli rossi (4%) e globuli bianchi (1%); il PRP è quindi una sostanza ricchissima di fattori di crescita piastrinici. Vista l'alta presenza di fattori di crescita piastrinici, il PRP è in grado di stimolare una rigenerazione tissutale molto più rapida del normale.

Le piastrine possono anche avere proprietà antimicrobiche e di modulazione immunitaria che aiutano a ridurre l'infezione della ferita e facilitano la guarigione. Alcuni studi hanno rilevato una guarigione migliorata e tempi di guarigione ridotti di innesti cutanei a spessore spaccato quando usati in combinazione con PRP e guarigione migliorata se usati come trattamento primario per le ferite croniche. Quando il grasso e il PRP sono usati in combinazione, può esserci un aumento della sopravvivenza del trapianto di grasso che può a sua volta aumentare le proprietà curative delle cellule staminali derivate dal tessuto adiposo. Si ritiene che ciò sia dovuto agli effetti pro-angiogenici del PRP, che consentono una precoce vascolarizzazione del grasso, invertendo quindi la fase ischemica precoce dell'innesto. Un altro effetto pro-sopravvivenza può essere il rilascio di chemochine antinfiammatorie che aiutano a ridurre l'infiammazione e il gonfiore che favoriscono

la degenerazione dell'innesto. Esistono anche ipotesi che suggeriscono che il PRP possa fornire supporto nutrizionale alle cellule adipose attraverso il suo componente plasmatico e che il componente fibrinoso consenta la formazione di un'impalcatura per le cellule adipose. Alcuni studi hanno dimostrato che, se usato in combinazione, il PRP può aumentare il mantenimento degli innesti di grasso per le procedure di modellamento. I fattori di crescita sono proteine coinvolte nei meccanismi di comunicazione intercellulare: trasmettono le loro informazioni interagendo con specifici recettori localizzati sulla membrana cellulare; esse attivano meccanismi biologici che svolgono un ruolo chiave nei processi di riparazione e rigenerazione tissutale: stimolare la replicazione e regolare la differenziazione delle cellule di origine mesenchimale responsabili dei processi riparativi: fibroblasti, osteoblasti e cellule endoteliali;

CARATTERISTICHE E BIOLOGIA

I fattori di crescita piastrinici o PRP sono in grado di esercitare un'azione chemiotattica verso cellule ad azione antinfiammatoria: macrofagi, monociti e polimorfonucleati². Le piastrine circolanti nel nostro sangue contengono una grande quantità di fattori di crescita (PDGF, TGF alfa e beta, IGF-I e II, EGF, VEGF), essi sono immagazzinati all'interno di granuli intracellulari. In conclusione, possiamo paragonare le piastrine a dei laboratori cellulari circolanti che elaborano, immagazzinano e rilasciano, nella sede di lesione, numerosi fattori di crescita (Growth Factors o GFs) capaci di stimolare la replicazione cellulare, innescando a loro volta vari meccanismi di rigenerazione tissutale, tra cui l'angiogenesi, la chemiotassi dei macrofagi e la sintesi del collagene; ciò determina una più rapida ricrescita cellulare e quindi anche una riparazione con tessuto neovascolarizzato e non solo fibrotico. Il bersaglio dei fattori di crescita contenuti nelle piastrine sono proprio quelle cellule staminali presenti in tutti i nostri tessuti e che, una volta attivate, hanno la capacità di dare origine a strutture diverse in base al tessuto in cui vengono richiamate.

Il PRP contiene, quindi, numerose molecole che rivestono un ruolo fondamentale nel processo di riparazione dei tessuti; alcune di queste molecole sono fattori contenuti negli alfa granuli delle piastrine, altri invece sono proteine del sangue, come la fibrina, la fibronectina e la vitronectina. Recenti trials clinici hanno dimostrato che il PRP, oltre alle sue proprietà rigenerative, legate principalmente alla stimolazione dei fibroblasti, possiede in vitro la capacità di far aumentare il numero delle ASCs contenute negli innesti di tessuto adiposo.

In vivo, il PRP incrementa la sopravvivenza e la funzione degli innesti di tessuto adiposo, anche attraverso la stimolazione della neoangiogenesi e dell'attività fibrogenica dei fibroblasti, con una conseguente più adeguata organizzazione tridimensionale degli adipociti.

Recenti studi sperimentali hanno dimostrato che l'indagine ecografica dei tessuti superficiali e profondi delle regioni anatomiche ad alto rischio, permette di identificare la presenza di fattori prognostici negativi per lo sviluppo di piaghe da decubito, come edema e disomogeneità strutturale del tessuto adiposo sottocutaneo, presenti nelle fasi iniziali di un'ulcera da decubito. Tali reperti sono reversibili e regrediscono con la guarigione della lesione, a differenza della necrosi tissutale, evidenziata sempre tramite immagine ecografica, che permane quando l'ulcera da decubito è in stadio avanzato. Per cui, l'ecografia è una tecnica efficace per la precoce identificazione di genesi e progressione dell'ulcera da decubito

METODICHE DI PREPARAZIONE

Durante la fase infiammatoria la piastrina agisce su diversi fronti: ad esempio ha effetto antimicrobico, d'induzione della cascata della coagulazione e di retrazione del coagulo, rilascia fattori di crescita e citochine. La secrezione di fattori di crescita è stimolata dalla cascata della coagulazione, pertanto il PRP deve essere ottenuto da sangue trattato con anticoagulante, in modo che le piastrine rimangano vitali un tempo sufficiente a consentire il trattamento³. Generalmente il trattamento con anticoagulante garantisce un mantenimento del PRP per circa otto ore, ma è comunque consigliabile effettuare il trattamento quanto prima. La preparazione del

PRP deve avvenire in modo da separare efficacemente le piastrine dagli eritrociti e concentrarle senza danneggiare le piastrine stesse. Il metodo scelto è importante poiché i fattori di crescita contenuti all'interno degli alfa granuli si attivano nel momento in cui i granuli stessi si fondono con la membrana piastrinica. Questa fusione si può verificare anche nel caso in cui le piastrine vengano danneggiate durante la produzione del PRP. Applicando particolari trattamenti al sangue periferico è possibile ricavare diversi prodotti: PRP puro, PRP ricco di leucociti, PRP povero di leucociti ma ricco di fibrina, PRP ricco di leucociti e di fibrina. Questi sistemi sono stati sviluppati in medicina umana e ciascuno presenta i propri vantaggi e svantaggi; pertanto non è ancora stato sviluppato un metodo ottimale per ottenere PRP da pazienti umani.

I sistemi manuali

Attualmente i sistemi manuali comprendono il metodo dell'aferesi, il metodo del buffy coat e il tube metode. –il metodo dell'aferesi permette di ottenere, con l'ausilio di un'apposita macchina, una specifica componente del sangue. Generalmente è necessario un volume di sangue maggiore rispetto alle altre tecniche (circa 450 ml). È molto efficace nel concentrare piastrine e fattori di crescita, presenta un bassissimo rischio di contaminazione batterica del prodotto e l'unico svantaggio risiede nel fatto che sono richiesti operatori esperti e l'impiego di una tecnologia avanzata; pertanto non è applicabile in ambito ambulatoriale. L'apparecchiatura impiegata immette il sangue in un circuito sterile e, mediante centrifugazione e filtrazione separa il plasma e le piastrine dagli altri emocomponenti. Le piastrine a questo punto vengono concentrate tramite un processo discontinuo di centrifugazione che consente il ricircolo del sangue in modo da aumentare l'efficienza di raccolta di piastrine. Dopo l'aferesi è possibile filtrare le piastrine per ottenere una concentrazione ancora maggiore. Il metodo del buffy coat consente mediante centrifugazione, la separazione del sangue in tre fasi (plasma povero, buffy coat ed eritrociti) e un'ottima concentrazione delle piastrine e dei leucociti. In commercio sono reperibili kit monouso che permettono di ottenere il PRP in modo semplice e veloce; pertanto sono adatti a un impiego ambulatoriale. Inoltre presentano un rischio di contaminazione batterica maggiore, ma comunque limitato, rispetto a quello

dell'aferesi. Il tube metode manuale prevede la raccolta del sangue in apposite provette contenenti anticoagulante e la sua centrifugazione. Il sangue viene processato con diverse centrifugazioni a diverse velocità per ottenere la separazione degli emocomponenti. È una tecnica semplice ed economica, ma richiede il rispetto di una stretta asepsi per evitare le contaminazioni batteriche del prodotto. La scelta della metodica per la preparazione del PRP dipende dalla capacità della tecnica di concentrare le piastrine e i singoli fattori di crescita; sono disponibili in commercio appositi kit ELISA (Quantikine, R&D System, Minneapolis USA) che consentono di dosare i singoli GFs⁴. In uno studio eseguito da Sutter nel 2004, il metodo dell'aferesi e del buffy coat sono descritti come sistemi validi in egual misura per ottenere la concentrazione di piastrine e GFs utilizzando campioni di sangue intero equino. Il tube metode consente la concentrazione di un minor numero di piastrine e fattori di crescita, rispetto al buffy coat e all'aferesi, ma anche di un minor numero di leucociti (Carmona, 2006; Dohan, 2009).

I sistemi semi-automatizzati

In commercio sono disponibili numerosi sistemi semi-automatizzati per concentrare le piastrine e, normalmente, sono composti di un sistema di centrifugazione e di kit monouso. Sono di norma più rapidi e pratici di quelli manuali. I diversi dispositivi di centrifugazione utilizzano la forza centrifuga e una tecnica di elutriazione contro corrente (consente di purificare una sostanza mediante aggiunta di un solvente alla soluzione iniziale che in seguito viene travasata per separare il prodotto desiderato dalle sostanze indesiderate non disciolte) oppure un sistema di separazione basato sul peso specifico. I primi sono dispositivi monouso e di conseguenza molto costosi. Questa tecnica mantiene la massa eritrocitaria durante la decantazione del plasma e del buffy coat poi, grazie alla centrifugazione, il PRP si concentra tra il plasma povero di piastrine sovrastante e il buffy coat leucocitario. Solitamente i diversi dispositivi disponibili in commercio permettono di ottenere dei PRP con concentrazioni piastriniche variabili da due a sei volte rispetto ai normali valori ematici. Tuttavia, poiché le piastrine sono suscettibili a ogni tipo di evento stressante, durante la fase di lavorazione e applicazione del PRP anche la concentrazione dei GFs può essere influenzata dalla manipolazione. Pertanto sarebbe importante

valutare non solo la capacità di concentrare la popolazione piastrinica nel prodotto finale, ma anche l'effettiva concentrazione dei singoli fattori crescita, per verificare che siano presenti in numero sufficiente a ottenere l'effetto terapeutico desiderato.

Produzione di gel piastrinico

Addizionando trombina al concentrato piastrinico è possibile gelificare il composto: il prodotto che ne deriva ha una residua capacità adesiva, dovuta in gran parte ai livelli elevati di fibrinogeno. Per evitare reazioni anticorpali legate all'utilizzo della trombina bovina, si utilizzano di norma metodi alternativi per ottenere gel piastrinico, come la trombina bovina sottoposta ad ulteriore purificazione, la trombina umana ricombinante, la trombina autologa o altre sostanze come il cloruro di calcio⁵. Una volta ottenuto il gel può essere posizionato direttamente sulla lesione e fungere come supporto per l'applicazione di ulteriori medicinali. Il prodotto può essere aliquotato e congelato a meno 40° C per utilizzarlo in diverse applicazioni nel tempo⁶.

Bibliografia

1. **Smith, OJ, et al.** Protocol for a systematic review of the efficacy of fat grafting and platelet-rich plasma for wound healing. *Syst Rev.* 2017, Vol. 6.
2. **Marx, RE.** Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004, Vol. 64, p. 489-96.
3. **Black, J, et al.** National Pressure Ulcer Advisory Panel's Updated Pressure Ulcer Staging System. *Adv Skin Wound Care.* 2007, Vol. 20, p. 269-74.
4. **Stekelenburg, A, et al.** Role of ischemia and deformation in the onset of compression-induced deep tissue injury: MRI-based. *J Appl Physiol.* 2007, Vol. 102, p. 2002–2011.
5. **Konya, C, et al.** Assessing the effectiveness of ultrasound for pressure ulcer staging. *Jpn J Pressure Ulcer.* 1999, Vol. 1.
6. **Quintavalle, PR, et al.** Use of high-resolution, high-frequency diagnostic ultrasound to investigate the pathogenesis of pressure ulcer development. *Adv Skin Wound Care.* 2006, Vol. 19, p. 498-505.

CAPITOLO IV

IL TESSUTO ADIPOSO

CARATTERISTICHE E BIOLOGIA

Il tessuto adiposo è un insieme di cellule di origine mesodermica definite adipociti disposte in ammassi (lobuli adiposi), tenute assieme da connettivo lasso, che funge da aggregante e che contiene vasi sanguigni e fibre nervose vegetative amieliniche. Gli adipociti costituiscono più del 90% del volume tessutale a causa delle loro dimensioni (il diametro varia da 50 a 130 μm) ma rappresentano solo il 50% della componente cellulare del tessuto adiposo¹. Recenti studi hanno suggerito che la percentuale riferita al numero di cellule sia addirittura inferiore al 30%². Complessivamente nell'uomo il grasso partecipa al peso corporeo nella percentuale del 15-20% mentre nella donna del 20-25%³, potendo subire forti variazioni in più o in meno, che sfociano in stati patologici quali l'obesità e l'anoressia. Alla nascita, il neonato presenta un pannicolo sottocutaneo fortemente sviluppato e continuo che, successivamente, si modella distribuendosi quantitativamente in modo differente nelle varie regioni corporee, soprattutto in conseguenza dello sviluppo sessuale e col progredire dell'età. Nell'adulto il tessuto adiposo è distribuito:

- circa il 50% è localizzato nel pannicolo sottocutaneo (tessuto adiposo di copertura);
- il 45% è variamente dislocato nella cavità addominale (tessuto adiposo interno);
- il 5% costituisce il grasso di infiltrazione del tessuto muscolare, agevolando l'espletamento della funzione biomeccanica dei muscoli.

Il tessuto adiposo va distinto in tessuto di deposito e tessuto di sostegno: il primo varia considerevolmente in relazione allo stato di nutrizione dell'organismo mentre il secondo si trova solo in alcune articolazioni, nell'orbita, nella pianta del piede, nel palmo della mano, è meno soggetto a variazioni quantitative e non scompare mai completamente, anche se può diminuire in caso di forte dimagrimento. Studi di dissezione anatomica hanno dimostrato che le cellule adipose sono contenute in depositi sottocutanei e viscerali, che presentano una chiara autonomia anatomica dal resto dell'organismo; si configura cioè il concetto di un vero e proprio **ORGANO ADIPOSO A DEPOSITI MULTIPLI**, in cui ciascun deposito è provvisto di propri

peduncoli vascolo-nervosi e contiene due differenti tipi di cellule adipose (bianche e brune), che sono distinte morfologicamente e funzionalmente e che, pur avendo una comune origine mesenchimale, derivano da precursori differenti⁴. Il tessuto adiposo bruno (BAT) è particolarmente presente negli animali ibernanti che vanno in letargo, mentre nell'uomo è prevalente nel feto e presente solo in residui nell'adulto (regione del collo e interscapolare)⁵⁻⁶. Il colore scuro, da cui prende il nome, è dovuto prevalentemente alla ricca rete vascolare capillare che lo percorre e al cospicuo numero di mitocondri, che contengono nelle loro creste citocromi molto colorati. L'adipocita del grasso bruno è una cellula poligonale di 60 μm con nucleo centrale e abbondante citoplasma, che presenta accumuli di lipidi organizzati a formare molteplici goccioline (da qui la denominazione di adipocita multivacuolare).

Il tessuto adiposo bianco (WAT), invece, forma la gran parte dell'adipe nell'uomo, è meno vascolarizzato e innervato rispetto al BAT, ed è disposto prevalentemente nelle regioni omentale, mesenterica, retroperitoneale, nello strato sottocutaneo, sui fianchi, sulle natiche ed inoltre nel seno e nelle cosce soprattutto nella donna, a livello del collo e delle spalle prevalentemente nell'uomo. Gli adipociti bianchi sono elementi cellulari di forma sferica, le cui dimensioni sono assai variabili a seconda dello stato funzionale⁷. Nelle biopsie del tessuto sottocutaneo di un individuo adulto a normale BMI (indice di massa corporea che si ottiene dividendo il peso espresso in kg per il quadrato dell'altezza espressa in metri) a digiuno da circa 12 ore, il diametro dell'adipocita si aggira intorno ai 100 μm . Al microscopio ottico tali cellule appaiono come elementi rappresentati per oltre il 90% del loro volume da un'unica goccia lipidica (cellule univacuolari), che schiaccia il nucleo alla periferia; il citoplasma è scarso e i mitocondri meno rappresentati che nel BAT.

FUNZIONI

La funzione principale del BAT è la produzione di calore, derivante dalla degradazione dei lipidi immagazzinati, grazie all'azione di una proteina di membrana presente sui mitocondri, capace di disaccoppiare i processi di ossidazione e fosforilazione e che prende il nome di uncoupling protein 1 (UCP1, TERMOGENINA).

Il tessuto adiposo bianco svolge numerose funzioni:

1. **FUNZIONE TERMOISOLANTE** – per le caratteristiche chimico-fisiche costituisce un sistema di rivestimento coibente, che evita la dispersione del calore interno e, per tale motivo, si trova a rivestire la superficie dell'organismo nello strato sottocutaneo
2. **FUNZIONE MECCANICA E DI SOSTEGNO** – occupa interstizi (anche a livello del midollo osseo), riveste nervi, vasi, foderà alcuni muscoli e contribuisce a determinare la forma di alcuni organi
3. **FUNZIONE DI RISERVA** – rappresenta una notevole riserva di materiali energetici
4. **FUNZIONE TROFICA**: la cellula adiposa si trova in stretta connessione con la rete vasale; essa riceve lipidi esogeni sotto forma di chilomicroni e lipidi endogeni sintetizzati dal fegato e trasportati nel sangue sotto forma di lipoproteine plasmatiche; dopo che la lipoprotein lipasi, presente sul versante esterno intraluminale del plasmalemma vasale, scinde i lipidi dalle proteine vettrici, gli acidi grassi vengono assunti dall'adipocita mediante pinocitosi o trasporto con albumina, per poi essere riesterificati con il glicerolo a formare trigliceridi all'interno della cellula. L'adipocita è, inoltre, in grado in qualsiasi momento di idrolizzare i trigliceridi in acidi grassi liberi e glicerolo, utilizzando una lipasi sensibile sia a catecolamine che ad ormoni; in particolare il glucagone, l'ormone somatotropo, l'ACTH, la tiroxina, i glucocorticoidi, l'epinefrina e la noradrenalina stimolano la lipolisi, mentre l'insulina stimola la lipogenesi.

Solo di recente è stato riconosciuto il ruolo *dinamico* del tessuto adiposo, rivelando la sua partecipazione in una vasta gamma di processi fisiologici che includono l'apoptosi, l'infiammazione, l'angiogenesi, la coagulazione, la fibrinolisi, l'immunità e l'omeostasi vascolare e, inoltre, implicazioni dirette o indirette nella regolazione dei fenomeni di proliferazione⁸ regolati dalle adipose-derived stem cells (ASCs) (FIG. 1).

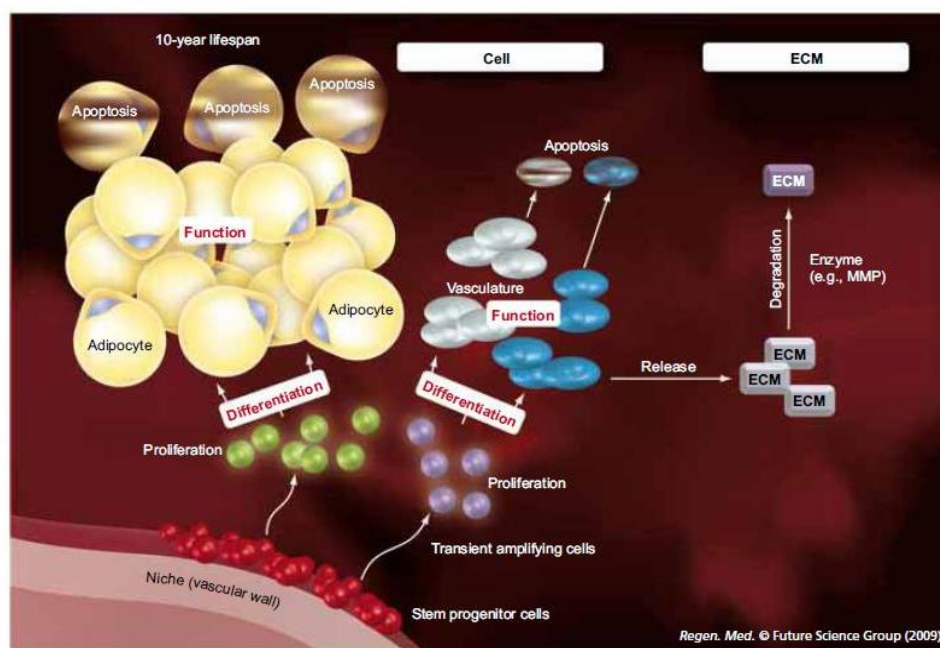


Figura 3 - Turnover del tessuto adiposo. È stato recentemente scoperto che il turnover del tessuto adiposo è lento e che le ASCs sono localizzate in sede perivascolare. La durata media della vita di un adipocita è lunga e varia in un range di 2-10 anni⁹⁻¹⁰.

ECM: Matrice extracellulare; MMP: Metalloproteinasi di matrice.

La teoria secondo la quale il tessuto adiposo è una riserva energetica utilizzata solo durante le fasi di digiuno, è stata ormai giudicata erranea; numerosi studi, utilizzando traccianti isotopici, hanno definitivamente stabilito che i lipidi conservati sono continuamente demoliti e rinnovati anche in individui con equilibrio calorico.

Negli ultimi anni il concetto di tessuto adiposo è stato totalmente rivisto e ad oggi la cellula adiposa è considerata un vero e proprio organo endocrino ad azione autocrina e paracrina. L'adipocita è una cellula secernente in grado di rilasciare numerose

molecole fondamentali per l'omeostasi dell'intero organismo: leptina (ormone proteico coinvolto nei meccanismi di sazietà, immunità, fertilità, riproduzione, angiogenesi); adiponectina, TNF α , IL-6, IL-8 e resistina (coinvolti nel metabolismo glucidico e nei meccanismi di insulino-resistenza); angiotensinogeno e PAI-1 (influiscono sul sistema cardiovascolare)¹¹⁻². Il tessuto adiposo ha anche la capacità di trasformare alcuni ormoni, in particolare gli steroidi sessuali, e tale proprietà è legata alla presenza di aromatasi sulla superficie dell'adipocita; ciò può contribuire a modificare l'equilibrio ormonale in alcune condizioni, come ad esempio la mascolinizzazione delle donne obese. A sua volta la distribuzione dell'adipe nel corpo è almeno in parte regolata dagli ormoni sessuali, oltre ad essere correlata ad una predisposizione genetica; il testosterone tende a far accumulare il grasso principalmente nell'addome, mentre l'estrogeno tende a distribuirlo soprattutto sui fianchi.

Dagli studi e dalle scoperte effettuati finora, inoltre, comincia a delinearsi una visione dell'obesità come una condizione di infiammazione cronica di basso grado.

ISTOGENESI

Per quanto riguarda l'istogenesi del tessuto adiposo, è quasi certo che inizi a partire da una popolazione di origine mesenchimale di elementi precursori, i prolipoblasti e che, passando attraverso gli stadi di lipoblasto e preadipocita, si giunga alla formazione dell'adipocita. Durante questo processo di sviluppo e differenziazione, si assiste ad una prima fase di intensa moltiplicazione cellulare fino allo stadio di preadipocita (non in grado di moltiplicarsi), e ad una seconda fase caratterizzata soprattutto da citodifferenziamento che implica: drastica riduzione del RER, aumento del glicogeno intracellulare, modico sviluppo del REL; nel passaggio da uno stadio al successivo le cellule diventano più globose, il nucleo si fa più ovoidale, nel citoplasma affiorano le goccioline lipidiche, che pian piano aumentano di volume, divenendo confluenti; le singole goccioline stabiliscono strette relazioni con il citoscheletro, che ne regola la confluenza, favorendone la fusione e contribuendo alla progressiva formazione dell'unica goccia lipidica che, accrescendosi, spinge il nucleo ad un polo della cellula, deformato sul versante, che guarda la goccia. È probabile che i precursori degli adipociti siano periciti in grado di evolvere rapidamente verso lo stadio di prolipoblasti; i preadipociti, invece, pur essendo cellule morfologicamente simil-fibroblastiche, sono tuttavia differenti per vari aspetti, soprattutto funzionali, da tale linea cellulare.

Bibliografia

1. **Suga, H, Matsumoto, D e Inoue, K.** Numerical measurement of viable and nonviable adipocytes and other cellular components in aspirated fat tissue. *Plast Reconstr Surg.* 2008, Vol. 122 , 1, p. 103–114.
2. **Yoshimura, K, Suga, H e Eto, H.** Adipose-derived stem/progenitor cells: roles in adipose tissue remodeling and potential use for soft tissue augmentation. *Regen. Med.* 2009 , Vol. 4, 2, p. 265-273.
3. **Wheater, PR, Heath, JW e Young, B.** Wheater's Functional Histology. NY : Churchill Livingstone, 1993, p. 61-75.
4. **Albright, A e Stern, J.** Adipose tissue. Encyclopedia of sports medicine and science. <http://www.sportsci.org>. [Online] 1998.
5. **Cannon, B e Nedergaard, J.** Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol. Rev.* 2004, Vol. 84, p. 277-359.
6. **Lindsay, DT.** *Functional Human Anatomy*. St Louis : s.n., 1996.
7. **Tanzi, MC e Farè, S.** Adipose tissue engineering: state of the art, recent advances and innovative approaches. *Expert Rev. Med. Devices.* 2009, Vol. 6, p. 533-551.
8. **Fruhbeck, G.** Overview of adipose tissue and its role in obesity and metabolic disorders. *Methods Mol. Biol.* 2008, Vol. 456, p. 1-22.
9. **Spalding, KL, Arner, E e Westermark, PO.** Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature.* 2008, Vol. 453, 7196, p. 783-787.
10. **Strawford, A, et al.** Adipose tissue triglyceride turnover, de novo lipogenesis, and cell proliferation in humans measured with 2H₂O. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2004, Vol. 286, 4, p. E577–E588.
11. **Trayhurn, P, Wang, B e Wood, IS.** Hypoxia in adipose tissue: a basis for the dysregulation of tissue function in obesity? *Br. J. Nutr.* 2008, Vol. 100, 2, p. 227–235.

Tesi di dottorato in Scienze biomediche integrate e bioetica, di Vito Toto,
discussa presso l'Università Campus Bio-Medico di Roma in data 20/03/2019.
La disseminazione e la riproduzione di questo documento sono consentite per scopi di didattica e ricerca,
a condizione che ne venga citata la fonte.

CAPITOLO IV

L'INNESTO DI TESSUTO ADIPOSO

STORIA DELL'INNESTO DI TESSUTO ADIPOSO COME PRODOTTO DI RIEMPIMENTO

L'utilizzo del tessuto adiposo come prodotto di riempimento in chirurgia plastica, ricostruttiva ed estetica risale alla fine del XIX secolo e, ancora oggi, rappresenta l'oggetto di numerosi studi¹. A partire dall'inizio nel suo iter storico è possibile individuare tre distinti periodi:

- 1) Epoca "a cielo aperto", precedente alla lipoaspirazione (1889-1977)
- 2) Epoca della scoperta della lipoaspirazione ma "non purificata" (1977-1994)
- 3) Epoca della lipoaspirazione "purificata, atraumatica", successiva ai lavori di Coleman (dal 1994 ad oggi)

L'epoca "a cielo aperto" rappresenta il periodo dei tentativi sperimentali, della scoperta di tecniche e di indicazioni. La prima utilizzazione del tessuto adiposo risale al 1889, quando Van der Meulen realizza una interposizione epato-diaframmatica del grande epiploon allo scopo di trattare un'ernia diaframmatica².

Nel 1893 Neuber utilizza degli innesti di tessuto adiposo prelevati dall'avambraccio per il riempimento di una cicatrice depressa del volto, secondaria ad un danno dei tessuti molli del viso, introducendo per la prima volta il concetto di prelievo di piccole dimensioni, precisando che innesti di dimensioni maggiori a quelle di una mandorla non davano buoni risultati³. Nel 1910 Lexer preleva un innesto adiposo di 12 x 3 cm dall'addome, utilizzandolo per la prima volta a scopo estetico per il riempimento della regione malare e delle rughe del viso⁴; lo stesso autore 15 anni più tardi, descrive un caso di riempimento del contorno facciale in un paziente affetto da sindrome di Rombergh. Nel 1910 Laubier colma con tessuto adiposo una cavità oftalmica dopo exenteratio⁵. Nel 1911 Brunning innesta dei piccoli segmenti di tessuto adiposo nel sottocute per la correzione di difetti secondari ad interventi di rinoplastica⁶. Nel 1917 Koll utilizza del grasso per la riparazione di perdite di sostanza perineo-vaginali e per colmare una loggia di orchietomia⁷. Nel 1954 un chirurgo maxillo-facciale, Grandin, colma una cavità di enucleazione di una cisti mandibolare⁸.

In tutta questa prima epoca i dati riguardanti la sopravvivenza a lungo termine degli innesti adiposi sono contrastanti e la maggior parte dei chirurghi riporta una sopravvivenza variabile dal 20% al 90%⁹⁻¹¹. Pertanto in questo stesso periodo Sawhney inizia a sperimentare gli innesti composti dermoadiposi ritenendo che la ricca vascolarizzazione presente nel derma favorisca la sopravvivenza della componente adiposa innestata; tuttavia egli nota in quasi tutti i casi una percentuale di fibrosi elevata, con possibili e frequenti complicanze quali retrazioni pseudo-cicatriziali e talvolta incarcerazione di follicoli piliferi e ghiandole sebacee. Lo stesso autore nel 1960 effettua degli studi istologici su maiali e uomini che, concordando anche con quelli di Peer, dimostrano che i frammenti di tessuto adiposo innestati perdono in media il 50% della loro dimensione e del loro volume a distanza di un anno dal postoperatorio¹².

Nel 1977 Illouz utilizza la liposuzione per cannulazione, già descritta da Miller nel 1926¹³, dando inizio all'epoca della lipoaspirazione "non purificata"¹⁴; il tessuto adiposo può dunque essere ottenuto in un modo differente dall'asportazione chirurgica e può essere "innestato". Quest'epoca rappresenta tuttavia un momento di riflessione; durante questi anni l'interesse nei confronti dell'innesto di adipociti diminuisce fortemente, soprattutto per la diffusione di sostanze artificiali utilizzate come prodotti di riempimento quali la paraffina, il silicone ed il Silastic, fino all'introduzione dei metacrilati. Solo alcuni chirurghi continuano a sperimentare l'impiego di adipociti, come Bircoll che nel 1986 presenta diversi casi di ipoplasia e simmetrizzazione mammaria post-oncologica, iniettando piccole quantità di adipe in differenti sedute, oppure Fournier, che nel 1989 propone con scarsi risultati una tecnica di infiltrazione del lipoaspirato non purificato che denomina "lipofilling"¹⁵.

Negli ultimi vent'anni si è assistito ad un graduale ritorno all'utilizzo dell'innesto di adipociti come prodotto di riempimento nei difetti volumetrici in quanto i "filler" artificiali si sono dimostrati, a lungo termine, poco affidabili, portando spesso a complicanze inaccettabili, dovute prevalentemente alla possibilità di migrazione, formazione di granulomi e insorgenza di processi infiammatori cronici. Nel 1991 la Food and Drug Administration ha proibito l'impiego del silicone liquido e gli adipociti sono nuovamente diventati il fulcro di numerosissimi studi. Nel 1994 Coleman pubblica la sua tecnica chiamata *Lipostructure* dando inizio alla nuova

epoca della lipoaspirazione “purificata, atraumatica”¹⁶⁻¹⁷. Egli corregge i metodi e i risultati dei suoi predecessori e standardizza un protocollo, il cui principio di base è il carattere atraumatico della manipolazione adiposa; codifica perfettamente le differenti fasi della tecnica: il prelievo, la purificazione mediante centrifugazione e la reinfiltrazione; tutte le manovre traumatiche sul tessuto adiposo devono essere evitate; gli adipociti non devono essere filtrati, lavati, aspirati o iniettati ad alta pressione, né manipolati a contatto con l'aria o congelati. La tecnica di Coleman è stata presentata in Europa per la prima volta nel 1998; inizialmente destinata al trattamento dell'invecchiamento facciale, è oggi ormai estesa a differenti domini della chirurgia plastica¹⁸.

LIPOSTRUCTURE: IL METODO COLEMAN

La Lipostrutturazione è una tecnica che consiste nel trasferimento, nello stesso paziente, di adipociti prelevati e purificati in maniera completamente atraumatica, da un sito donatore ad un sito ricevente. Il tessuto adiposo presenta tutte le caratteristiche di una ideale sostanza riempitiva: autologo, biocompatibile, disponibile quasi sempre in quantità adeguate, removibile se necessario, e potenzialmente permanente, se manipolato con cura, seguendo protocolli molto rigidi ed ovviamente tenendo conto della differente risposta dei singoli pazienti.

Il prelievo deve riguardare gli steatomi del tessuto adiposo profondo di riserva; solo nei pazienti molto magri il prelievo può interessare tutte le zone del tessuto adiposo. Sono da preferire come aree donatrici la regione addominale, quella trocanterica o il lato interno delle cosce; tali sedi sono facilmente accessibili, presentano quasi sempre una cospicua quantità di adipe da prelevare ed inoltre migliorano notevolmente dal punto di vista estetico in seguito alla lipoaspirazione. Il rispetto dell'asepsi è imperativo. Per preparare il sito di donazione al prelievo, viene effettuata una infiltrazione con soluzione di Ringer Lattato fredda e adrenalina (1:400.000), mediante l'impiego di una cannula smussa di Klein. Il prelievo viene effettuato con una cannula specifica di 3 mm di diametro e 15 cm di lunghezza, con estremità smussa e doppi orifizi, larghi al punto da permettere il facile passaggio degli adipociti, dopo aver praticato con lama da bisturi una piccola incisione di circa 2 – 3 mm. Tale cannula è montata su una siringa avvitata (LuerLock) di 10 ml; il vuoto viene creato manualmente e progressivamente, per evitare una pressione negativa eccessiva imposta agli adipociti. Non vanno mai utilizzati apparecchi automatici per lipoaspirazione. Applicando dunque una delicata pressione di aspirazione, si realizzano dei tunnel multipli al fine di diminuire il trauma e l'emorragia. Una volta effettuato il prelievo, le siringhe da 10 ml vengono otturate con tappi "Coleman LuerLock Caps"; si ritirano i pistoni e si pongono in dei rack sterilizzabili ad autoclave, che vengono poi sistemati in una centrifuga a rotore centrale, impostando un ciclo di centrifugazione con i seguenti parametri: 3000 gpm per 3 minuti (FIG. 1).



Figura 4 – Purificazione del lipoaspirato. Per ottenere il “purificato”, il tessuto adiposo prelevato viene centrifugato a 3000 gpm per 3 minuti.

Dopo la centrifugazione, in ciascuna siringa è possibile distinguere tre strati a differente densità:

- 1) Strato superiore a bassa densità: si tratta di uno strato oleoso che deriva dalla rottura di parte degli adipociti e liberazione di trigliceridi
- 2) Strato centrale a densità intermedia: tessuto adiposo da innestare
- 3) Strato inferiore ad elevata densità: contiene detriti di cellule ematiche, componenti del sangue, acqua e anestetico locale.

Per ricavare gli adipociti purificati da iniettare, è necessario eliminare lo strato superiore e quello inferiore; lo strato oleoso viene eliminato mediante l'utilizzo di un tamponcino; lo strato inferiore viene eliminato per sgocciolamento, dopo aver svitato i “Coleman LuerLock Caps”. È fondamentale limitare al minimo l'esposizione del grasso all'aria, in quanto dopo 15 minuti si verifica adipocitolisi fino al 50% delle cellule. A questo punto il tessuto adiposo viene trasferito dalle siringhe da 10 cc a quelle da 1 cc LuerLock con l'aiuto di un rubinetto a due vie; tale operazione deve essere condotta con la massima delicatezza possibile, con l'aiuto del vuoto creato manualmente nella siringa da 1cc e senza esercitare alcuna pressione sul pistone della siringa da 10cc, al fine di non danneggiare le fragili membrane degli adipociti.

Dopo aver effettuato dei piccoli forellini di 2 – 3 mm si inizia ad innestare il grasso mediante cannule 17 – 18 G di forma e lunghezza variabili; le cannule presentano l'estremità smussa per ridurre gli ematomi a livello del sito ricevente, ed inoltre l'orifizio d'iniezione è laterale al fine di evitare il rischio di una iniezione intravascolare intempestiva. La cannula viene introdotta completamente seguendo il piano ipodermico, e gli adipociti vengono depositati ritirando la cannula in senso retrogrado. L'innesto deve avvenire a diversi livelli di profondità cominciando dal piano più profondo e ciascuna siringa da 1cc deve consentire il deposito di 6 – 8 tunnel che si incrociano tra loro, andando a costituire un reticolo tridimensionale e andando a ricercare una ipercorrezione. Le incisioni cutanee vengono suturate con fili da cute 6/0. Un rimodellamento delicato con le dita può rifinire il risultato estetico. Alla fine dell'intervento è perentoria l'applicazione di ghiaccio sulla zona innestata e una medicazione compressiva a livello dell'area donatrice.

COMUNI IMPIEGHI DEL LIPOFILLING

Chirurgia Ricostruttiva:

- Atrofia Emifacciale
- Pectus Excavatum
- Difetti Post-traumatici e Post-chirurgici
- Lesioni Radiodermitiche
- Ustioni
- Contratture Capsulari Periprotetiche
- Lipodistrofie in Soggetti HIV+ (in trattamento con farmaci inibitori delle proteasi)
- Lipodistrofie Localizzate (da iniezioni ripetute di insulina in soggetti diabetici)

Chirurgia Estetica:

- Incremento Volumetrico di Labbra e Zigomi
- Ringiovanimento Viso (FIG. 2) e Mani
- Rimodellamento Glutei
- Rimodellamento seno
- Cicatrici da Acne
- Aumento della Circonferenza Peniena



Figura 5 - Trattamento di ringiovanimento del viso con innesto di tessuto adiposo in una donna di 56 anni. Pre-operatorio (sinistra) e risultato nel post-operatorio (destra)¹⁹

CARATTERISTICHE DEL LIPOASPIRATO

Il lipoaspirato è costituito da una popolazione eterogenea di cellule rappresentata per i 2/3 da adipociti maturi. Il restante 1/3 può essere identificato con l'acronimo *SVF* (stromal vascular fraction), in cui sono presenti preadipociti, cellule di derivazione ematica, progenitori di cellule endoteliali, periciti, cellule muscolari lisce, fibroblasti, diversi tipi di progenitori immaturi di cellule già in parte committed e ASCs (adipose-derived stem cells), quest'ultime identificate dall'IFATS (International Federation for Adipose Therapeutics and Science)²⁰ come una popolazione di cellule multipotenti in grado di differenziarsi facilmente verso diversi tipi cellulari della linea mesenchimale. Queste proporzioni restano costanti al variare dell'età e del BMI (body mass index).

Se lasciamo sedimentare una provetta contenente materiale di lipoaspirazione, è possibile distinguere due strati (FIG. 3):

1. uno strato superiore meno denso, di consistenza semisolida, di colore giallo, che rappresenta il tessuto adiposo prelevato (FATTY PORTION);
2. uno strato inferiore più denso, liquido, di colore rossastro, costituito da soluzione salina, anestetico, sangue e cellule derivate dal tessuto adiposo (FLUID PORTION)



Figura 6 - Lipoaspirato dopo centrifugazione.

Yoshimura et al., dell'università di Tokyo, hanno effettuato nel 2006 un ampio studio sulla componente cellulare sia della porzione grassa che fluida del lipoaspirato

ulteriormente completato negli anni successivi²¹⁻²⁴. I risultati di tali studi sono i seguenti:

- una quota significativa di progenitori cellulari può essere isolata sia dalla porzione liquida che grassa del lipoaspirato;
- nell'ambito della SVF, le cellule derivanti dalla porzione liquida vengono denominate LAF-cells (liposuction aspirate fluid cells), mentre quelle derivate dalla porzione grassa PLA-cells (processed lipoaspirate cells);
- l'analisi citofluorimetrica ha distinto nella SVF 4 principali tipi di cellule:
 1. leucociti di derivazione ematica (CD45⁺) che costituiscono il 37% del lipoaspirato;
 2. ASCs (CD31⁻, CD34⁺, CD45⁻, CD90⁺, CD105⁻, CD146⁻) il 35%;
 3. progenitori di cellule endoteliali (CD31⁺, CD34⁺, CD45⁻) il 15%;
 4. altre cellule (CD31⁻, CD34⁻, CD45⁻)
- La maggiore quota di ASCs si trova nella porzione grassa del lipoaspirato.

Un limite indiscutibile ma superabile della procedura di lipofilling è l'attecchimento dell'innesto adiposo. Secondo la "teoria della sopravvivenza adipocitaria" di Peer²⁵, fortemente sostenuta anche da Coleman, gli adipociti innestati sopravvivono in quantità variabile a livello del sito ricevente. Nei primi giorni dopo l'innesto, le cellule vanno incontro ad una fase di ischemia, in quanto la nutrizione è sostenuta solo dall'essudato mediante fenomeni di imbibizione; dal quarto giorno la rivascularizzazione dell'innesto è affidata ad una rete microvascolare che si forma per neoangiogenesi. Tale meccanismo avviene in modo centripeto dalla periferia, ed è questo il motivo per cui la probabilità di attecchimento delle cellule è inversamente proporzionale alla quantità di tessuto adiposo che viene innestata. Alcuni autori invece, considerando che le cellule della SVF (1/3 del lipoaspirato) hanno un consumo metabolico inferiore agli adipociti e una maggiore resistenza all'ischemia, ritengono che queste siano le uniche cellule a sopravvivere al trapianto²⁶.

ADIPOSE-DERIVED STEM CELLS (ASCS)

Le cellule staminali umane offrono considerevoli opportunità nell'ambito della terapia genica, della ricerca farmacologica e della medicina rigenerativa, se si considera la loro capacità di provvedere alla differenziazione cellulare²⁷.

L'“organo” adiposo rappresenta una cospicua risorsa di cellule staminali; è stato calcolato che tale tessuto è in grado di fornire fino a 5000 staminali per grammo²⁸. Tale dato è particolarmente significativo, se si considera che il midollo osseo contiene da 100 a 1000 cellule staminali per ml²⁹. Così come le cellule staminali midollari, anche le ASCs presentano delle differenze nei tassi di proliferazione e di suscettibilità all'apoptosi legate all'età; a queste si aggiungono quelle relative alla localizzazione anatomica dei depositi adiposi proprie delle ASCs³⁰. Si tratta di cellule con morfologia simil-fibroblastica, capaci di autorinnovarsi, che ad oggi conservano ancora molti aspetti non del tutto chiariti. Il primo dubbio nasce sulla localizzazione di tali cellule; si suppone che alcune siano localizzate nel tessuto connettivo lasso che funge da aggregante nell'ambito del tessuto adiposo, altre si trovino sparse tra gli adipociti, altre ancora disposte attorno alla trama micro/macrovascolare^{24,31}; quest'ultima sembra essere la più probabile. Inoltre le ASCs sono state inizialmente classificate come cellule staminali multipotenti³² (FIG. 4). Tuttavia è stato dimostrato che tali cellule sono in grado di differenziarsi non soltanto in linee mesenchimali (adipociti, condrociti, osteociti, miociti, cardiomiociti)³³ ma anche in cellule neuronali³⁴ ed epatociti³⁵. Ciò fa dedurre con elevata probabilità che, pur trattandosi di cellule staminali adulte multipotenti, queste siano tuttavia dotate di un'elevata flessibilità connessa verosimilmente a processi di transdifferenziazione, che attribuirebbero a tali cellule la denominazione di pluripotenti piuttosto che di multipotenti.

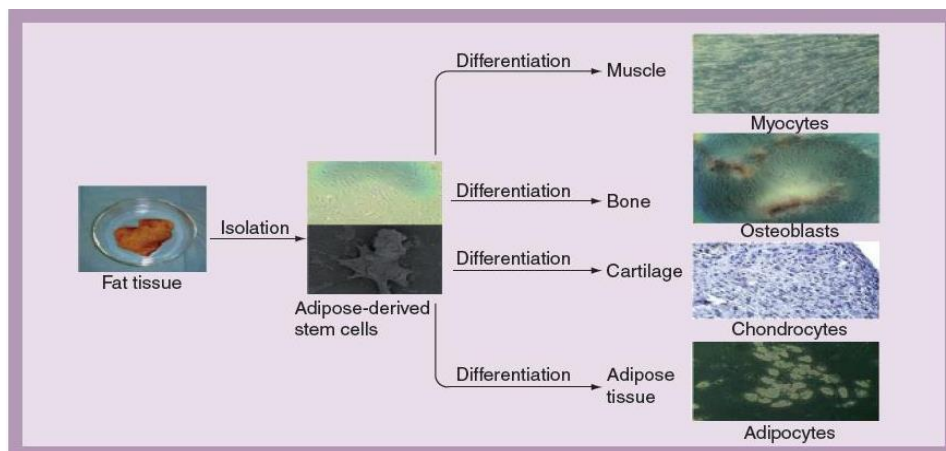


Figura 7 - Differenziazione mesenchimale delle ASCs (33)

È stato dimostrato inoltre che, in condizioni di ischemia, le ASCs presentano caratteristiche proangiogenetiche, rilasciando direttamente o stimolando il rilascio di fattori di crescita angiogenetici e differenziandosi in cellule endoteliali vascolari³⁶⁻⁴⁰ (FIG. 5). Pertanto, le ASCs vengono considerate oggi cellule progenitrici di numerose linee cellulari tra cui vengono annoverate anche quelle endoteliali vascolari, benché la differenziazione in queste ultime non sia stata ancora fortemente confermata in studi effettuati *in vivo*, né sia stato stabilito ancora un protocollo standardizzato per ottenere la differenziazione endoteliale *in vitro*³⁹.

L'uso clinico di ASCs autologhe è ormai praticato largamente a livello internazionale.

In Asia, Yoshimura et al. hanno riportato i risultati dell'utilizzo di una nuova tecnica da loro proposta, chiamata *cell-assisted lipotransfer* (CAL), applicata nella ricostruzione mammaria. Nel loro studio le ASCs, previo isolamento, venivano integrate al grasso autologo; il composto ottenuto veniva innestato nella mammella. Questa tecnica permette di convertire un tessuto adiposo relativamente più povero di ASCs (il lipoaspirato) rispetto al tessuto adiposo prelevato senza aspirazione, in un altro arricchito di cellule staminali. Pressoché tutte le pazienti sottoposte a questo trattamento furono soddisfatte del risultato estetico raggiunto⁴¹.

Kim et al hanno scoperto il ruolo delle ASCs nella proliferazione dei fibroblasti dermici; la loro azione deriverebbe da un contatto diretto cellulare e da un'attivazione paracrina indotta dalla secrezione di fattori proliferativi; l'effetto finale è un'accelerazione significativa della riepitelizzazione delle ferite cutanee. I

topi trattati con ASCs hanno beneficiato di una chiusura della ferita più veloce, senza mostrare alterati processi di guarigione quali granulazione ipertrofica o iperplasia epidermica⁴².

In Europa, Rigotti et al. hanno utilizzato le ASCs nella riparazione di difetti della parete toracica e di lesioni croniche dovute al trattamento oncologico radioterapico⁴³. In questo studio pilota i tessuti danneggiati dalla radioterapia, invece di essere eliminati, sono stati conservati; la terapia con cellule staminali ha determinato un cambiamento strutturale radicale a tal punto da trasformare il tessuto danneggiato in tessuto normale. Le ASCs in questo caso non sono state separate, come invece avevano fatto Yoshimura et al., dalle altre componenti cellulari della SVF.

Negli USA Coleman, come già descritto, è stato il pioniere dell'utilizzo dell'innesto di tessuto adiposo nella riparazione dei deficit di tessuto molle; in tutti i pazienti trattati secondo la sua tecnica si è riscontrato un miglioramento sia nel volume che nella forma della zona trattata. Nel follow-up a lungo termine, inoltre, l'autore ha osservato che l'innesto di tessuto adiposo può determinare una correzione permanente, anche se ciò risulta molto operatore e tecnica-dipendente.

In conclusione, l'uso clinico finora effettuato dell'innesto di tessuto adiposo, soprattutto dopo aver riconosciuto l'importanza, l'efficacia e il ruolo delle ASCs, da fiducia sulla possibilità di ampliare i campi di applicazione a una vasta gamma di distretti corporei e di condizioni fisiopatologiche.

Bibliografia

1. **Mojallal, A e Foyatier, JL.** Historical review of the use of adipose tissue transfer in plastic and reconstructive surgery. *Chir Plast Esthétique*. 2004, Vol. 49, p. 419-425.
2. **Meulen, Van der.** *Considérations générales sur les greffes graisseuses et séro-graisseuses épiploïques et leurs principales applications*. Paris : s.n., 1919.
3. **Neuber, GA.** Fettrasplantation. *Bericht uber die Verhandlungen der Deutsch Gesellsch Chir.* 1893, Vol. 22, p. 66.
4. **Lexer, E.** Freie Fett transplantation. *Dtsch Med.Wochenschr.* 1910, Vol. 36.
5. **Laubier, H.** Über Enukleation mit Fettimplantation. *Ztschr Augenh.* 1910, Vol. 23, p. 426.
6. **Brunning, P.** Contribution à l'étude des greffes adipeuses. *BullMémAcadRMéd Belg.* 1919, Vol. 28, p. 440.
7. **Koll, IS.** Transplantation of fat in prostatic and kidney surgery. *JAMA.* 1917, Vol. 68, p. 536.
8. **Grandin, P e Deroubaix, P.** Traitement d'un volumineux kyste paradentaire du maxillaire inférieur par greffe de graisse. *Rev Odontostomatol.* 1954, Vol. 1, p. 1087.
9. **Nguyen, A.** Comparative study of survival of autologous adipose tissue taken and transplanted by different techniques. *Plast Reconstr Surg.* 1990, Vol. 85, 3, p. 378-386.
10. **Rohrich, RJ, Sorokin, ES e Brown, SA.** In search of improved fat transfer viability: a quantitative analysis of the role of centrifugation and harvest site. *Plast Reconstr Surg.* 2004, Vol. 113, 1, p. 391-395.
11. **Boschert, M.** Analysis of lipocyte viability after liposuction. *Plast Reconstr Surg.* 2002, Vol. 109, 2, p. 761-765.
12. **Sawhney, CP, Banerjee, TN e Chakravarti, RN.** Behaviour of dermal fat transplants. *Br J Plast Surg.* 1969, Vol. 22, p. 169-176.
13. *Cannula Implants and Review of Implantation Techniques in Esthetic Surgery.* **Miller, C.** Chicago : s.n., 1926.
14. **Illouz, YG.** The fat cell "graft": A new technique to fill depressions. *Plast Reconstr Surg.* 1986, Vol. 78, p. 122.
15. *Liposculpture: The Syringe Technique.* **Fournier, PF.** Paris : Arnette-Blackwell, 1991.
16. **Coleman, SR.** The technique of periorbital lipoinfiltration. *Oper Tech Plast Reconstr Surg.* 1994, Vol. 1, p. 20.
17. —. Facial recontouring with lipostructure. *Clin Plast Surg.* 1997, Vol. 24, p. 347-367.
18. —. Structural Fat Grafting: More Than a Permanent Filler. *Plast Reconstr Surg.* 2006, Vol. 118S, p. 108S-120S.
19. **Mojallal, A.** Improvement of Skin Quality after Fat Grafting: Clinical Observation and an Animal Study. *Plast. Reconstr. Surg.* 2009, Vol. 124.
20. **Bunnell, BA, et al.** Adipose-derived stem cells: isolation, expansion and differentiation. *Methods.* 2008, Vol. 45, p. 115-120.

21. **Yoshimura, K, Shigeura, T e Matsumoto, D.** Characterization of freshly isolated and cultured cells derived from the fatty and fluid portions of liposuction aspirates. *J Cell Physiol.* 2006, Vol. 208, 1, p. 64-76.
22. **Yoshimura, K e Asano, Y.** Fat injection to the breasts: cosmetic augmentation, implant replacement, inborn deformity, and reconstruction after mastectomy. [aut. libro] EJ Hall-Findlay e GRD Evans. *Aesthetic and Reconstructive Surgery of the Breast.* London : Elsevier Ltd, 2008.
23. **Yoshimura, K, Suga, H e Eto, H.** Adipose-derived stem/progenitor cells: roles in adipose tissue remodeling and potential use for soft tissue augmentation. *Regen Med.* 2009, Vol. 4, 2, p. 265-273.
24. **Matsumoto, D, et al.** Cell-Assisted Lipotransfer: Supportive Use of Human Adipose-Derived Cells for Soft Tissue Augmentation with Lipoinjection. *Tissue Engineering.* 2006, Vol. 12, 12.
25. **Peer, LA.** Loss of weight and volume in human fat graft, with postulation of a "cell survival theory". *Plast Reconstr Surg.* 1950, Vol. 5.
26. **Wolter.** Cryopreservation of mature human adipocytes: in vitro measurement of viability. *Ann.Plast.Surg.* 2005, Vol. 55.
27. **Nelson, TJ, Behfar, A e Yamada, S.** Stem cell platforms for regenerative medicine. *Clin Transl Sci.* 2009, Vol. 2, p. 222-27.
28. **Strem, BM, Hicok, KC e Zhu, M.** Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells. *Keio J Med.* 2005, Vol. 54, 3, p. 132-141.
29. **Strem, BM e Hicok, KC.** Multipotential differentiation of adipose-derived stem cells. *Keio J.Med.* 2005, Vol. 54.
30. **Shipper, BM, Marra, KG e Zhang, W.** Regional anatomic and age effects on cell function of human adipose-derived stem cells. *Ann Plast Surg.* 2008, Vol. 60, p. 538-544.
31. **Traktuev, D, Merfeld-Clauss, S e Li, J.** A population of multipotent CD34-positive adipose stromal cells share pericyte and mesenchymal surface markers, resid in a periendothelial location, and stabilize endothelial networks. *Circ Res.* 2008, Vol. 102, p. 77-85.
32. **Zuk, PA, Zhu, M e Ashjian, P.** Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell.* 2002, Vol. 13, p. 4279-4295.
33. **Cherubino, M e Marra, KG.** Adipose-derived stem cells for soft tissue reconstruction. *Regen Med.* 2009, Vol. 4, 1.
34. **Kokai, LE, Rubin, JP e Marra, KG.** The potential of adipose-derived adult stem cells as a source of neuronal progenitor cells. *Plast Reconstr Surg.* 2005, Vol. 116, p. 1453-60.
35. **Talens-Visconti, R, Bonora, A e Jover, R.** Human mesenchymal stem cells from adipose tissue: Differentiation into hepatic lineage. *Toxicol In vitro.* 2007, Vol. 21, 2, p. 324-329.
36. **Thangarajah, H, Vial, IN e Chang.** Adipose stromal cells adopt a proangiogenic phenotype under the influence of hypoxia. *Stem Cells.* 2008.
37. **Miranville, A, Heeschen, C e Sengenès, C.** Improvement of postnatal neovascularization by human adipose tissue-derived stem cells. *Circulation.* 2004, Vol. 110, 3, p. 349-355.
38. **Kondo, K, Shintani, S e Shibata, R.** Implantation of adipose-derived regenerative cells enhances ischemia-induced angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008, Vol. 29, 1, p. 61-66.

39. **Sorrell, J, Baber, M e Caplan, A.** Influence of adult mesenchymal stem cells on in vitro vascular formation. *Tissue Eng Part A*. 2009, Vol. 15, p. 1751-1761.
40. **Rehman, J, Traktuev, D e Li, J.** Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. *Circulation*. 2004, Vol. 332, p. 1292-1298.
41. **Yoshimura, K, et al.** Cell-assisted lipotransfer for cosmetic breast augmentation: supportive use of adipose-derived stem/stromal cells. *Aesthetic Plasr Surg*. 2008, Vol. 32, 1, p. 1862-1871.
42. **Kim, WS, Park, BS e Sung, JH.** Wound healing effect of adipose-derived stem cells: a critical role of secretory factors on human dermal fibroblasts. *J Dermatol Sci*. 2007, Vol. 48, p. 15-24.
43. **Rigotti, G, Marchi, A e Galiè, M.** Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: a healing process mediated by adipose-derived adult stem cells. *Ann Plast Surg*. 2007, Vol. 119, 5, p. 775-785.

Tesi di dottorato in Scienze biomediche integrate e bioetica, di Vito Toto,
discussa presso l'Università Campus Bio-Medico di Roma in data 20/03/2019.
La disseminazione e la riproduzione di questo documento sono consentite per scopi di didattica e ricerca,
a condizione che ne venga citata la fonte.

CAPITOLO V

STUDIO SPERIMENTALE

INTRODUZIONE

Le piaghe da decubito sono lesioni tissutali con evoluzione necrotica, che interessano l'epidermide, il derma e gli strati sottocutanei, fino a raggiungere, nei casi più gravi, la muscolatura e le ossa. La patogenesi di queste lesioni è nota ed è da attribuirsi all'ischemia dei tessuti superficiali e profondi indotta principalmente dalla elevata e/o prolungata compressione del distretto arteriolo-capillare¹. Gli studi effettuati fino ad oggi hanno confermato che la sede più frequentemente coinvolta è la regione sacrale e che i pazienti con ridotta mobilità presentano un rischio aumentato di sviluppare piaghe da decubito². Il sistema di stadiazione ad oggi più utilizzato è quello proposto dal National Pressure Ulcer Advisory Panel (NPUAP) nel 1989, e recentemente aggiornato durante la Consensus Conference del 2005³.

Ad oggi, non esiste un gold standard per la terapia delle ulcere da pressione. Gli approcci comunemente utilizzati sono rappresentati, in ambito medico⁴, da terapie infusionali, nutrizionali, antibiotiche, medicazioni avanzate e da un'accurata detersione locale (es. Vacuum Assisted Closure)⁵⁻⁶, in ambito chirurgico, invece, dalle tecniche ricostruttive che spaziano dagli innesti dermo-epidermici ai lembi compositi (fascio cutanei, miocutanei e muscolari) a quelli liberi e che rappresentano il trattamento d'elezione quando la guarigione spontanea non è possibile, specialmente a causa delle sovrainfezioni che possono svilupparsi⁷. Il trattamento chirurgico, però, prevede interventi invasivi e costosi, richiede lunghi periodi di riabilitazione con ulteriore peggioramento della qualità di vita del paziente, e non è esente da recidive.

Recenti studi sperimentali hanno dimostrato che l'indagine ecografica dei tessuti superficiali e profondi delle regioni anatomiche ad alto rischio per lo sviluppo di piaghe da decubito, permette di identificare la presenza di fattori prognostici negativi. Aoi⁸ e Yabunaka⁹, infatti, hanno dimostrato la presenza di alcuni reperti ultrasonografici caratteristici dei primi stadi della piaga da decubito (stadio I), anche quando essa non abbia una mera manifestazione clinica (DTI, danno tissutale profondo), localizzati a livello del tessuto adiposo sottocutaneo e rappresentati da: struttura a strati poco chiara, lesione ipoecogena, discontinuità della fascia superficiale o profonda, area ipoecogena eterogenea, edema di natura infiammatoria.

Questi reperti hanno la caratteristica di essere reversibili in quanto regrediscono con la guarigione della lesione, a differenza della necrosi tissutale, tipica degli stadi avanzati ed evidenziata sempre tramite immagine ecografica, che presenta caratteri di irreversibilità.

L'identificazione della piaga da decubito già nei suoi stadi più precoci, permetterebbe, quindi, l'instaurazione di un piano terapeutico adeguato fin dall'inizio.

Negli ultimi tempi anche l'innesto di tessuto adiposo trova un campo di applicazione nel trattamento delle piaghe da decubito; finora, però, il suo utilizzo è limitato agli stadi avanzati (a partire dallo stadio II sec. NPUAP) e non vi sono ancora trials clinici che dimostrino con certezza il suo ruolo terapeutico, bensì solo case reports dai risultati incoraggianti¹⁰⁻¹¹.

L'idea dello studio nasce dalla sempre più accreditata e accertata convinzione che il tessuto adiposo sia anche una fonte di cellule staminali dell'adulto (ASCs), capaci di differenziarsi verso diverse linee cellulari. Analisi di campioni di lipoaspirato hanno dimostrato, infatti, la presenza di ASCs, cellule endoteliali, leucociti e altri elementi cellulari che, nell'insieme, costituiscono la *Stromal Vascular Fraction* (SVF). Studi sperimentali hanno confermato, inoltre, le caratteristiche proangiogenetiche delle ASCs che si esplicano attraverso il rilascio di fattori di crescita e di fattori proangiogenetici (es. bFGF, VEGF e IL-8) e la capacità di differenziarsi in cellule endoteliali vascolari¹²⁻¹⁴.

Recenti trials clinici hanno dimostrato che il PRP, oltre alle sue proprietà rigenerative, legate principalmente alla stimolazione dei fibroblasti, possiede in vitro la capacità di far aumentare il numero delle ASCs contenute negli innesti di tessuto adiposo. In vivo, il PRP incrementa la sopravvivenza e la funzione degli innesti di tessuto adiposo, anche attraverso la stimolazione della neoangiogenesi e dell'attività fibrogenica dei fibroblasti, con una conseguente più adeguata organizzazione tridimensionale degli adipociti.

Da qui l'idea di combinare il PRP con gli innesti di tessuto adiposo, in modo incrementare la percentuale di attecchimento degli innesti di tessuto adiposo e ridurre il numero di sessioni.

OBIETTIVI DELLO STUDIO SPERIMENTALE

Obiettivi primari dello studio sono stati:

- 1) Valutare i potenziali benefici del PRP combinato con gli innesti di tessuto adiposo autologo, nel trattamento delle ulcere da decubito con DTI e Grado I (sec. NPUAP), in regione sacro-ischiatica, trocanterica e calcaneale, in soggetti con ridotta mobilità.
- 2) Valutare i potenziali benefici del PRP combinato con gli innesti di tessuto adiposo autologo nella prevenzione della formazione delle ulcere da decubito, in regione sacro-ischiatica, trocanterica e calcaneale in soggetti con ridotta mobilità, quando, pur non essendo le ulcere da pressione clinicamente evidenti, si riscontri la presenza di precisi fattori prognostici ecografici che facciano sospettare una predisposizione della regione indagata allo sviluppo delle lesioni suddette.

Obiettivi secondari:

- 1) Valutare le modificazioni dei tessuti superficiali e profondi dell'area anatomica di interesse (ulcera da decubito o zona predisposta alla formazione di lesioni da pressione) e delle zone limitrofe in termini di:
 - Colore cutaneo
 - Elasticità e distensibilità cutanea
 - Grado di vascolarizzazione
 - Spessore cutaneo e sottocutaneo
 - Integrità della fascia superficialis
 - Trofismo e tonicità muscolare

MATERIALI E METODI

Il progetto di ricerca, di tipo sperimentale longitudinale prospettico a singolo cieco, è stato condotto su 32 soggetti di entrambi i sessi, di età compresa tra 18 e 65 anni, aventi un'ulcera da decubito di grado I (sec. NPUAP) in regione sacro-ischiatica, trocanterica o calcaneare o che, pur non avendo un'ulcera da pressione rilevabile clinicamente, presentavano, all'esame ecotomografico delle suddette regioni, fattori prognostici negativi indicativi di una tendenza alla formazione di ulcere da decubito (DTI), che avessero subito alterazioni della mobilità tali da determinare un periodo di decubito obbligato supino o ortopnoico, afferenti all'Unità Operativa di Chirurgia Plastica del Policlinico Universitario Campus Bio-Medico, dal Gennaio 2016 al Dicembre 2017.

Criteri di inclusione:

- Età compresa tra 18 e 65 anni
- Presenza di ulcera da decubito di Grado I (sec. NPUAP) in regione sacro-ischiatica, trocanterica o calcaneale, tendente alla progressione verso gli stadi clinici successivi
- Evidenza di peculiari fattori prognostici negativi, apprezzabili ad un accurato esame ecotomografico dei tessuti superficiali e profondi della regione sacro-ischiatica, trocanterica o calcaneale, in pazienti che non hanno un'ulcera da decubito clinicamente evidente ma che presentano un alto rischio di sviluppare queste lesioni (DTI)
- Pazienti che abbiano subito alterazioni della mobilità tali da determinare un periodo di decubito obbligato supino o ortopnoico

Criteri di esclusione:

- Presenza di ulcera da decubito di Grado > I (sec. NPUAP)
- Comorbidità severa:
 - Diabete scompensato (HbA1 > 7 mg/dl)
 - Neoplasie in atto e/o in trattamento con antitumorali

- Scompenso cardiaco (classe NYHA III-IV)
- Ipertensione arteriosa grave o non controllata (PA > 180/110 mmHg)
- Arteriopatia obliterante periferica agli arti inferiori di grado severo (Fontaine IV o ischemia critica agli arti inferiori)
- Malattie autoimmunitarie
- Infezione sistemica e/o loco-regionale da microorganismi patogeni
- Insufficienza renale (Creatinina > 2 mg/dL) e/o epatica (transaminasi > 3 volte i valori normali)
- Controindicazioni ad anestesia locale (allergie ad anestetico)
- Alterazioni del profilo coagulativo
- Alterazioni del profilo elettrolitico (Potassio plasmatico < 2,5 mEq/L)
- Pazienti non orientati nel tempo e nello spazio (MMSE < 23)
- Pazienti inclusi in altri protocolli di ricerca o che non abbiano firmato il consenso informato allo studio

Valutazione clinica pre-operatoria della lesione

Tutti i pazienti sono stati sottoposti preliminarmente a una visita di screening V0, nel corso della quale è stata effettuata un'accurata valutazione anamnestica ed obiettiva ed è stata valutata l'adesione ai criteri di inclusione ed esclusione. All'esame obiettivo sono stati valutati colorito, integrità, temperatura ed elasticità cutanea in generale e, quando la piaga da decubito fosse stata clinicamente apprezzabile, ne sono state misurate le dimensioni (Tab. 2). Si è, inoltre, presa visione degli esami ematici (emocromo, glicemia, elettroliti, coagulazione, funzione epatica e renale, elettroforesi siero-proteica, indici di flogosi), effettuati durante il ricovero (entro 25 giorni dalla visita V0) al fine di valutare la presenza di eventuali criteri di esclusione e/o controindicazioni alla procedura. Nella stessa visita è stato somministrato il Mini-Mental State Examination Test al fine di escludere la presenza di deficit cognitivi, nonché gli accertamenti propedeutici alla procedura chirurgica (analisi cliniche, ECG e visita anestesiologicala) per verificare la presenza di eventuali controindicazioni alla procedura.

Sono state scattate delle fotografie della zona da trattare, in posizione ortostatica o prona (se il/la paziente era in decubito obbligato a letto), ad una distanza di 50 cm e in proiezione sagittale, utilizzate per la valutazione delle modificazioni temporali (pre- e post-trattamento) della regione indagata.

La visita clinica ha permesso di classificare la piaga da decubito in base ai parametri del NPUAP del 2005; pertanto, sono stati arruolati soltanto i pazienti che presentavano:

- un'area localizzata violacea o marrone di cute intatta scolorita o con vescica piena di sangue a causa di un danno dei tessuti molli sottostanti causato dalla pressione e/o forze di taglio. L'area può essere preceduta da un tessuto che si presenta doloroso, compatto, cedevole, umido, caldo o più fresco comparato al tessuto adiacente (DTI = 10 pazienti).
- una iperemia della cute intatta e che non scompare alla digitopressione, con presenza di aree di fine desquamazione (stadio I = 24 pazienti).

Esame ultrasonografico pre-operatorio

Tutti i pazienti, i cui criteri clinici di inclusione fossero risultati soddisfatti, sono stati quindi sottoposti, presso gli ambulatori di Radiologia del nostro Policlinico, ad ecografia pre-operatoria (Philips HD11 XE con sonda lineare 7,5-15/13,5 MHz; preset soft tissues) sia della regione sacro-ischiatica che della zona controllo sana (regione trocanterica). Nell'esame ecografico sono stati indagati in entrambe le sedi i seguenti parametri:

- Spessore cutaneo in mm
- Spessore del tessuto sottocutaneo in mm
- Continuità Vs discontinuità della fascia superficialis
- Rapporto di vascolarizzazione strato sottocutaneo/strato muscolare

Quest'ultimo parametro è stato espresso in base ad una scala di 5 gradi (Tab. 1). È stato considerato fisiologico un valore pari a 3.

GRADO	RAPPORTO VASCOLARIZZAZIONE
1	sottocute >> strato muscolare
2	sottocute > strato muscolare
3	sottocute = strato muscolare
4	sottocute < strato muscolare
5	sottocute << strato muscolare

Tabella 4 – Rapporto di vascolarizzazione tra strato sottocutaneo e strato muscolare. È stata indagata la differenza di vascolarizzazione tra lo stato sottocutaneo e lo strato muscolare sottostanti la piaga da decubito. Poiché in una situazione fisiologica la pervietà vasale è la stessa si è assunto come valore di riferimento il grado 3.

Pazienti	32
Età media	48 anni
Sede della piaga da decubito	
Ischio	22
Sacro	9
Trocantere	1
Patologia primaria	
Paraplegia	14
Spina bifida	3
Sclerosi multipla	8
Allettamento post-ictale	5
Tetraplegia	4
Stadio NPUAP	
DTI	11
I	21

Tabella 5 – Dati anamnestici ed obiettivi dei 32 pazienti arruolati.

NPUAP, National Pressure Ulcer Advisory Panel; SM, Sclerosi Multipla; DTI, deep tissue injury

Qualora tutti i criteri di inclusione fossero stati così soddisfatti, i soggetti sono stati arruolati nello studio previa firma del consenso informato, precedentemente approvato dal Comitato Etico di riferimento.

Procedura chirurgica

Per poter garantire omogeneità, uniformità, qualità dei risultati e delle procedure, e conformi alla Good Clinical Practice, la procedura chirurgica è stata effettuata dalla stessa équipe e con la stessa tecnica.

Al termine dell'esame strumentale ecografico, il medico dell'Unità Operativa di Medicina Trasfusionale, ha proceduto alla preparazione del PRP, mediante il prelievo di una piccola quantità di sangue del paziente.

Dopo aver rispettato tutte le procedure per garantire la sterilità dell'ambiente in cui è stata effettuata la procedura e previa disinfezione con Betadine dei siti donatore e ricevente, è stata dapprima infiltrata una soluzione di anestetico locale in corrispondenza degli stessi. In particolare inizialmente si è proceduto ad infiltrazione (ca. 1 cc per ogni cc di lipoaspirato previsto) nella regione donatrice del tessuto adiposo. Tale soluzione rispetta la formula tumescente di Klein costituita da:

- 1000 mL di NaCl 0,9%
- 50 mL di lidocaina 1%
- 12,5 mL di bicarbonato di sodio 8,4%
- 1 cc di epinefrina 1:1000

Successivamente è stato infiltrato, in corrispondenza del sito ricevente, un pomfo di soluzione anestetica costituita da lidocaina 1% ed epinefrina 1:200000.

Si è proceduto quindi dapprima all'aspirazione del tessuto adiposo dal sito donatore (addome, fianchi o regione crurale) secondo la tecnica di Coleman (Fig. 1).



Figura 8 – Lipoaspirazione in corrispondenza dei fianchi. Immagine intraoperatoria

Successivamente si è proceduto a centrifugazione del lipoaspirato contenuto nelle siringhe a 3000 gpm per 1 minuto.

Dopo aver prelevato le siringhe dalla centrifuga, la componente liquida e oleosa del lipoaspirato sono state drenate, residuando soltanto la parte solida rappresentata, come già detto, dagli adipociti vitali (Figg. 2 e 3).



Fig. 2 – Lipoaspirato prima della centrifugazione

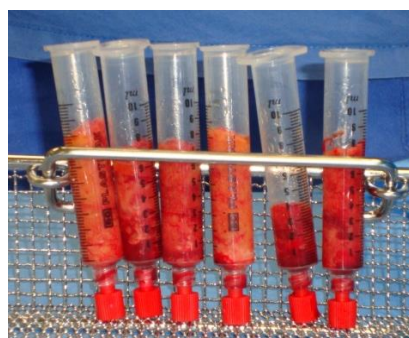
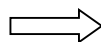


Fig. 3 – Lipoaspirato dopo la centrifugazione

In seguito mediante una cannula da 17 Gauge, si è proceduto a combinare il PRP preparato in precedenza ed attivato mediante Ca^{2+} , con il tessuto adiposo (ca. 30 cc), precedentemente prelevato, nel sito in cui era localizzata l'ulcera da decubito o che presentava dei fattori prognostici negativi per la formazione della lesione predetta (DTI). In particolare si è innestato di 1 cc di tessuto adiposo combinato con il PRP per cm^2 di area ricevente.

Al termine della procedura i margini dei siti di incisione sono stati riaccostati con due punti di sutura di filo non riassorbibile e rimossi dopo una settimana.

Valutazione post-operatoria

I criteri ecostrutturali indagati nella visita V0 sono stati nuovamente rivalutati a 3 mesi (visita V1), contestualmente ad un accurato esame obiettivo, in cui sono stati riconsiderati gli stessi parametri clinici della visita precedente.

Modalità di acquisizione, analisi statistica dei dati e conservazione dei raw data, rispetto delle norme di privacy

La raccolta dei dati è stata effettuata con una CRF dedicata cartacea. Una statistica di tipo descrittivo è stata usata per descrivere le variabili cliniche al basale. I dati sono stati espressi come media \pm DS o in percentuale ove appropriato. Le differenze tra i risultati ottenuti sono state analizzate con il *test T di Student* per le variabili parametriche e con il *test di Fisher* per le variabili non parametriche. La significatività è stata determinata da un p value < 0.05 .

RISULTATI

In seguito alla visita V0, soddisfacevano i parametri di inclusione e/o di esclusione 32 pazienti, tutti sottoposti successivamente ad intervento chirurgico di innesto di tessuto adiposo autologo.

In tutti i casi trattati, ad un follow-up di 3 mesi, si è ottenuto un miglioramento della condizione clinica rispetto alla situazione di partenza, in assenza di complicanze rilevanti.

In tutti i casi la cute sovrastante l'area innestata ha mostrato:

- una diminuzione o scomparsa dell'eritema fisso;

- una maggiore elasticità, distensibilità e morbidezza;
- un aumento di spessore;

che si traducono in un effettivo miglioramento funzionale ed estetico della zona trattata (Figg. 4 e 5).



Fig. 4 – Preoperatorio (V0)

Fig. 5 – Postoperatorio a 3 mesi (V1)

In seguito al trattamento chirurgico lo spessore cutaneo della piaga, in partenza diminuito rispetto al controllo in quasi tutti i casi con $p = 0,006$ tale da giustificare il trattamento, è risultato aumentato ma in maniera non significativa ($p = 0.49$).

Lo spessore del tessuto sottocutaneo è risultato di gran lunga aumentato rispetto al pre-operatorio, raggiungendo quasi i valori della zona controllo (Tab. 3) (Figg. 6 e 7).

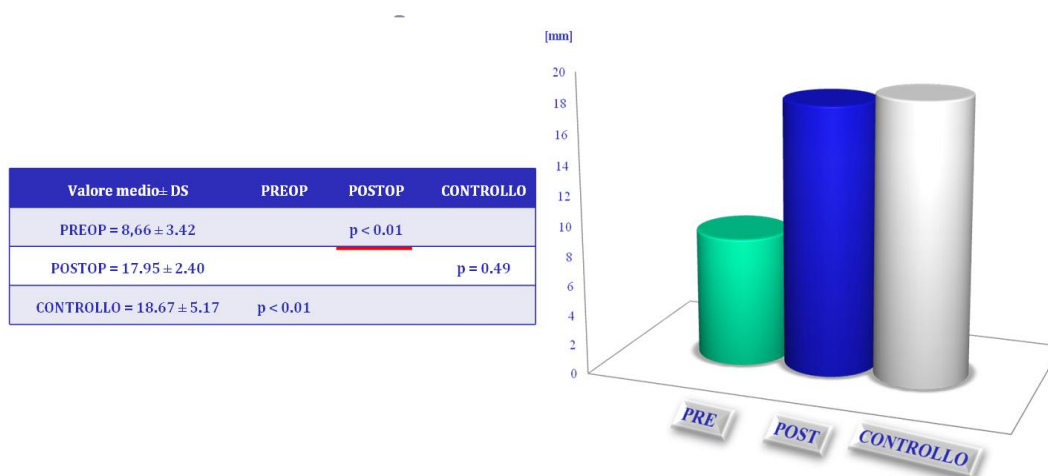


Tabella 3 - Dati ecografici dello spessore del tessuto sottocutaneo

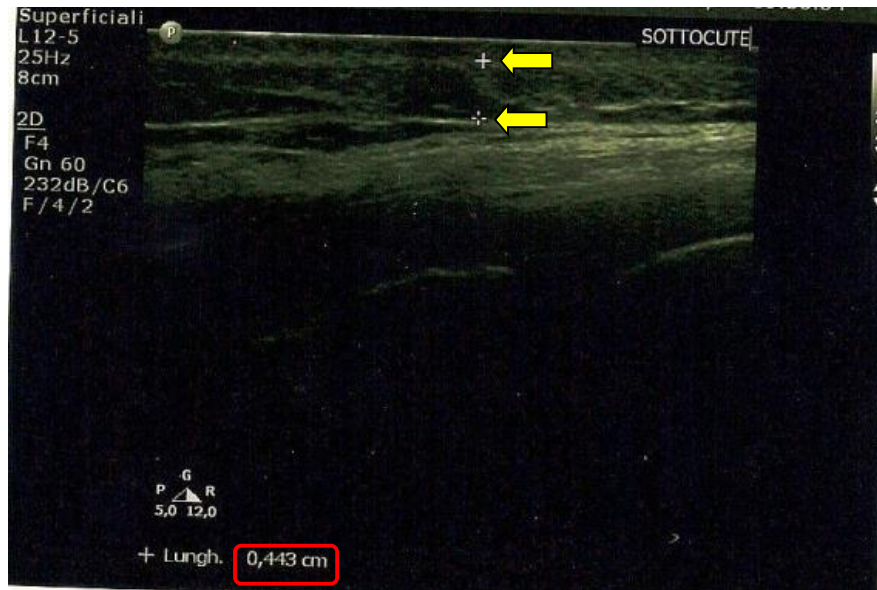


Fig. 6 – Ecografia sottocute preoperatoria (V0)

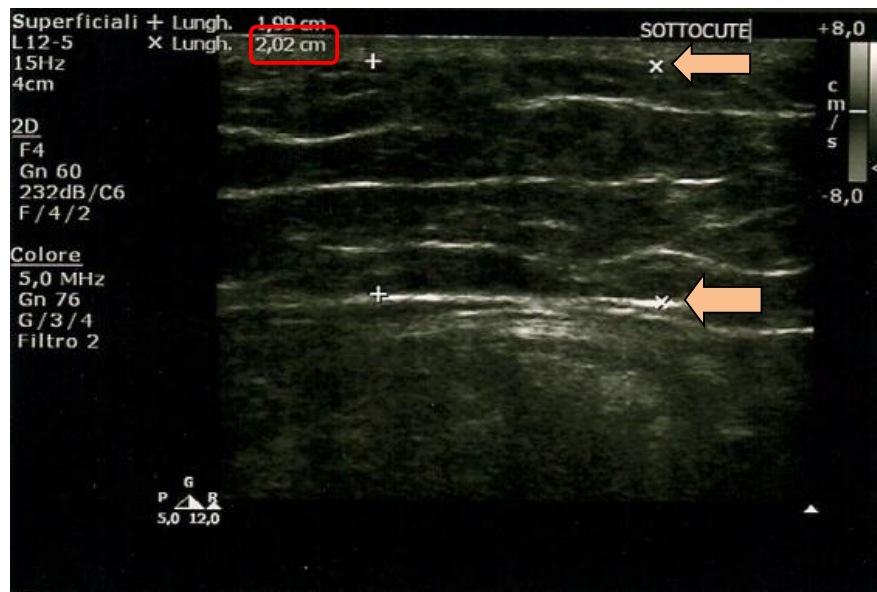


Fig. 7 – Ecografia sottocute a 3 mesi (V1)

La valutazione del rapporto di vascolarizzazione tra strato sottocutaneo e strato muscolare ha riportato i seguenti risultati (Tab. 4) (Figg. 8 e 9):

Valore medio \pm DS	PREOP	POSTOP	CONTROLLO
PREOP = 4,06 \pm 0,79		<u>p < 0.01</u>	
POSTOP = 3,16 \pm 0,47			p = 0.97
CONTROLLO = 3,16 \pm 0,51	p < 0.01		

GRADO	RAPPORTO VASCULARIZZAZIONE
2	sottocute >> strato muscolare
1	sottocute > strato muscolare
0	sottocute = strato muscolare
-1	sottocute < strato muscolare
-2	sottocute << strato muscolare

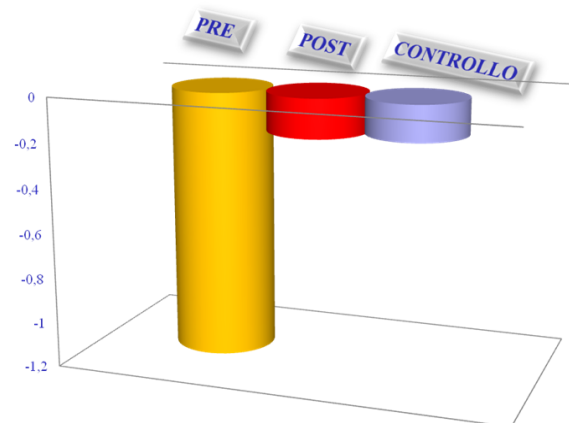


Tabella 4 – Dati ecografici del rapporto di vascolarizzazione tra strato sottocutaneo e strato muscolare sottostanti la piaga da decubito

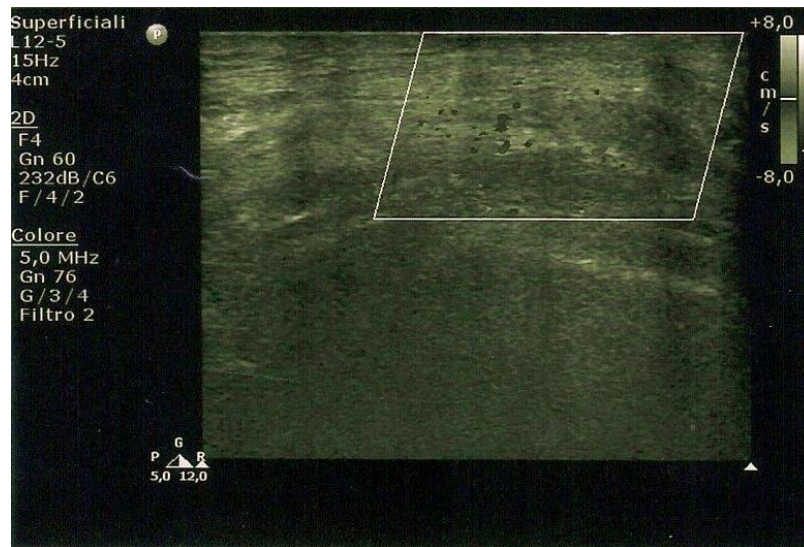


Fig. 8 – Ecografia doppler preoperatoria (V0)

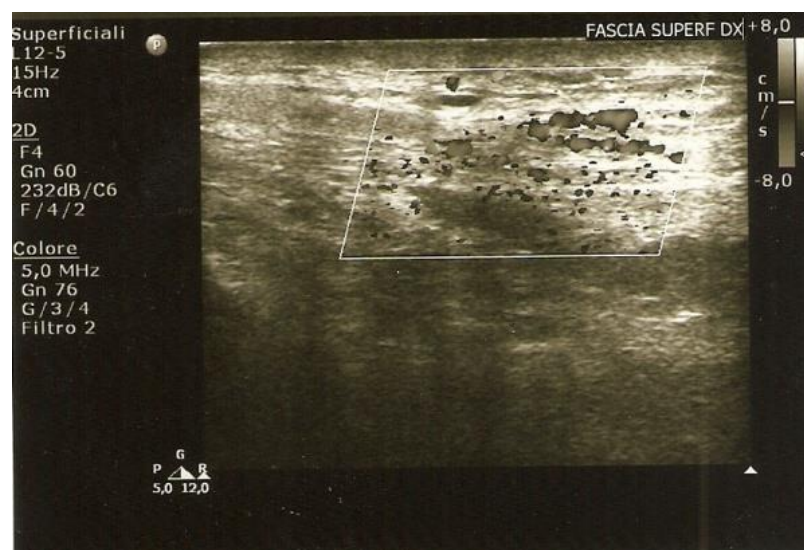


Fig. 9 – Ecografia doppler a 3 mesi (V1)

I dati inerenti la fascia superficialis sono riassunti nelle tabelle sottostanti (Tab. 5) (Figg. 10-11):

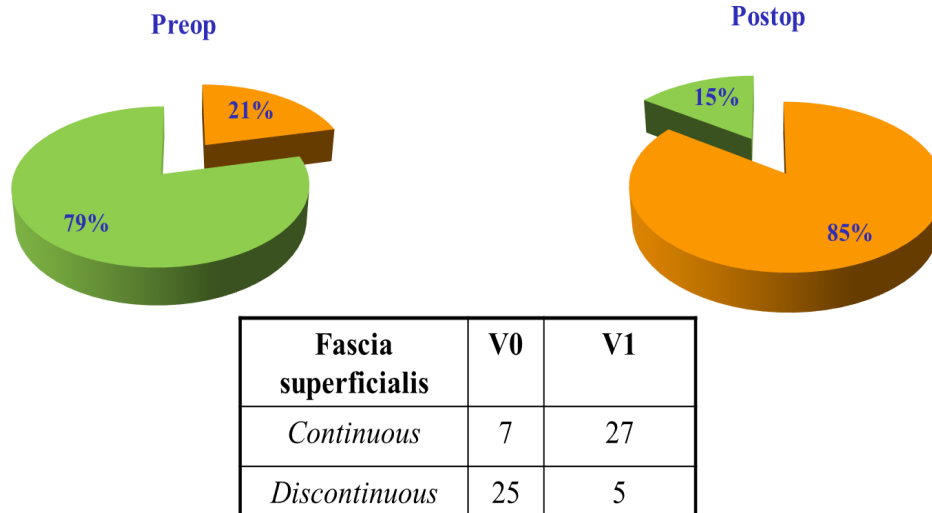


Tabella 5 – Dati ecografici sulle variazioni delle caratteristiche della fascia superficialis



Fig. 10 – Discontinuità della fascia superficialis all'esame ultrasonografico preoperatorio (V0)



Fig. 11 – Continuità della fascia superficialis all'esame ultrasonografico a 3 mesi (V1)

DISCUSSIONE

Le piaghe da decubito rappresentano una condizione clinica che richiede grande impegno, sia dal punto di vista gestionale che terapeutico, da parte di tutto il personale sanitario, tra cui notevole importanza rivestono i chirurghi plastici, nonché estremo disagio per il paziente, soprattutto quando esse si presentino in uno stato avanzato¹⁵⁻¹⁶.

Ad oggi, non esiste ancora un gold standard per la terapia delle ulcere da pressione. Gli approcci variano in base allo stadio della lesione e alle eventuali complicanze che possono incorrere. Se la guarigione spontanea e/o con trattamento medico di queste lesioni non è possibile, l'approccio chirurgico rappresenta spesso dunque il trattamento d'elezione¹⁷. Esso, però, prevede interventi invasivi e costosi, richiede lunghi periodi di riabilitazione con ulteriore peggioramento della qualità di vita del paziente, e non è esente da recidive. La possibilità di trattare già dai primissimi stadi le ulcere da pressione e di prevenirne il peggioramento, pertanto, costituisce la soluzione più auspicata e ricercata. I recenti risultati riportati sulla potenziale utilità dell'ultrasonografia nel diagnosticare il danno tissutale profondo e prevedere il peggioramento della piaga da decubito ci hanno spinto ad avvalorare l'ipotesi suddetta.

Inoltre è ormai opinione comune considerare l'innesto di tessuto adiposo una procedura chirurgica mininvasiva che consente non soltanto di correggere i deficit di volume, ma anche di rigenerare i tessuti che accolgono l'innesto adiposo, nonché i tessuti sovrastanti¹⁸. La rigenerazione dei tessuti, che accolgono l'innesto adiposo, è strettamente dipendente dalle capacità di sopravvivenza, proliferazione e differenziazione delle ASCs, che si sono dimostrate essere cellule staminali pluri- e multipotenti in grado di differenziare in adipociti, condrociti, osteociti, miociti, cardiociti, epatociti, cellule neuronali ed endoteliali.

In una situazione di diminuzione della componente adiposa e di alterazione della normale architettura del tessuto sottocutaneo, associata ad una condizione di ischemia locale, propria delle piaghe da decubito in stadio iniziale, trova quindi a nostro parere ideale indicazione il trattamento con innesto di tessuto adiposo autologo, finora mai utilizzato per questo scopo. Le capacità rigenerative del tessuto

adiposo innestato, d'altronde, hanno trovato conferma nell'aumento dello spessore cutaneo e sottocutaneo, nella riparazione-rigenerazione della fascia superficialis e nel miglioramento di colorito, elasticità e trofismo cutanei, ottenuti dopo il trattamento in corrispondenza della piaga da decubito. Tutto ciò è stato implementato e coadiuvato dall'aumentata vascolarizzazione del tessuto sottocutaneo, dimostrata dall'esame doppler, indotta dal lipoaspirato infiltrato, ricco di cellule staminali di derivazione adiposa (ASCs). Le caratteristiche di minivasività della procedura chirurgica, di riproducibilità e facilità di esecuzione della metodica ultrasonografica di indagine, associate a quelle del tessuto adiposo tali da renderlo una ideale sostanza riempitiva, permette di definire il protocollo descritto come una efficace metodica di trattamento degli stadi iniziali delle piaghe da decubito.

L'utilizzo del PRP combinato con gli innesti di tessuto adiposo ha dimostrato, buoni risultati in termini di attecchimento degli innesti e di numero di sedute. Ad ogni modo, sarebbe opportuno effettuare una comparazione con i risultati di un precedente analogo studio, nel quale sono stati utilizzati solamente innesti di tessuto adiposo.

Dai risultati emersi, inoltre, sorge l'idea che l'innesto di tessuto adiposo autologo possa costituire un trattamento multi-step in quei pazienti cronicamente sottoposti a uno stimolo pressorio, senza che ciò implichi un peggioramento delle condizioni cliniche di base.

L'esiguo numero di soggetti analizzati, associata al breve periodo di follow-up, suggeriscono che sono necessari ulteriori approfondimenti dello studio richiedenti un numero di pazienti e un periodo di osservazione maggiori, per poter introdurre questo protocollo come gold standard del trattamento delle piaghe da decubito di stadio precoce.

CONCLUSIONI

Lo studio da noi condotto ha dimostrato che l'utilizzo del PRP combinato all'innesto di tessuto adiposo autologo rappresenta una efficace misura terapeutica nei pazienti con piaga da decubito di grado I o con sospetto danno tessutale profondo. Le modificazioni da essi indotti nei tessuti sede della piaga da decubito, inoltre, ne giustificano anche il ruolo di metodica di prevenzione del peggioramento delle lesioni stesse verso gli stadi più avanzati.

Ciononostante, considerando l'importanza della Evidence Based Medicine e quindi della imperativa necessità di metodiche sempre più oggettive, e nel rispetto della Good Clinical Practice, sono necessari ulteriori approfondimenti che coinvolgano un maggior numero di pazienti per determinare in maniera ancora più ferma la validità del trattamento da noi utilizzato e la possibilità di annoverarlo tra le misure gold standard di terapia delle piaghe da decubito di stadio iniziale.

Bibliografia

1. **Yarkony, G M.** Classification of pressure ulcers. *Archives of Dermatology*. 1990, Vol. 126, pp. 1218-1219.
2. **Thorfinn, J, Sjöberg, F and Lidman, D.** Sitting pressure and perfusion of buttock skin in paraplegic and tetraplegic patients, and in healthy subjects: a comparative study. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*. 2002, Vol. 36, pp. 279–283.
3. **Black, Joyce, Baharestani, Mona Mylene and Cuddigan, Janet.** National Pressure Ulcer Advisory Panel's Updated Pressure Ulcer Staging System. 2007, pp. 269 - 274.
4. **Fonder, M, Lazarus, G and Cowan, D.** Treating the chronic wound: a practical approach to the care of nonhealing wounds and wound care dressings. *J Am Acad Dermatol*. 2008, Vol. 58, pp. 185-206.
5. **Mustoe, T, O'Shaughnessy, K and Kloeters, O.** Chronic wound pathogenesis and current treatment strategies: a unifying hypothesis. *Plast Reconstr Surg*. 2006, Vol. 117, pp. S35-S41.
6. **Argenta, L and Morykwas, M.** Vacuum-assisted closure: a new method for wound control and treatment: clinical experience. *Ann Plast Surg*. 1997, Vol. 38, pp. 563-576.
7. **Tchanque-Fossuo, CN and Kuzon, WM Jr.** An Evidence-Based Approach to Pressure Sores. *Plast Reconstr Surg*. 2011, Vol. 127, pp. 932-9.
8. **Aoi, N, Yoshimura, K and Kadono, T.** Ultrasound Assesment of Deep Tissue Injury in Pressure Ulcers: Possible Prediction of Pressure Ulcer Progression. *Plast Reconstr Surg*. 2009, Vol. 124, pp. 540-50.
9. **Yabunaka, K, et al.** Can ultrasonographic evaluation of subcutaneous fat predict pressure ulceration? *Journal of Wound Care*. 2009, Vol. 18, 5.
10. **Villani, F.** Current applications and safety of autologous fat grafts: a report of the ASPS fat graft task force. *Plast Reconstr Surg*. 2010, Vol. 125, pp. 758-759.
11. **Klinger, M.** Scars: A review of emerging and currently available therapies. *Plast Reconstr Surg*. 2009, Vol. 124, p. 330.
12. **Yoshimura, K, Suga, H and Eto, H.** Adipose-derived stem/progenitor cells: roles in adipose tissue remodeling and potential use for soft tissue augmentation. *Regen Med*. 2009, Vol. 4, 2, pp. 265–273.
13. **Pallua, N.** Content of the Growth Factors bFGF, IGF-1, VEGF, and PDGF-BB in Freshly Harvested Lipoaspirate after Centrifugation and Incubation. *Plast Reconstr Surg*. 2009, Vol. 123, pp. 826-833.
14. **Bucky, LP and Percec, I.** The Science of Autologous Fat Grafting: Views on Current and Future Approaches to Neoadipogenesis. *Aesthetic Surgery Journal*. 2008, Vol. 28, pp. 313-321.
15. **Schryvers, OI, Stranc, MF and Nance, PW.** Surgical treatment of pressure ulcers: 20-year experience. *Arch Phys Med Rehabil*. 2000, Vol. 81, pp. 1556–1562.

16. **Allman, RM, et al.** Pressure ulcers, hospital complications, and disease severity: impact on hospital costs and length of stay. *Adv Wound Care*. 1999, Vol. 12, pp. 22-30.
17. **Schiffman, J, Golinko, MS and Yan, A.** Operative Debridement of Pressure Ulcers. *World J Surg*. 2009, Vol. 33, pp. 1396-1402.
18. **Mojallal, A, et al.** Improvement of Skin Quality after Fat Grafting: Clinical Observation and an Animal Study. *Plast Reconstr Surg*. 2009, Vol. 124, pp. 765-774.