

Approfondimento

IL SISTEMA DI PERFUSIONE AWAYR: VALIDAZIONE BIOLOGICA

Awyr arricchisce innesti ossei di componenti cellulari in quantità significativamente maggiore rispetto alla semplice imbibizione.



Dalla Redazione Bioteck Academy

In Ingegneria dei Tessuti il concetto di triade tissutale è centrale: l'innesto ideale dovrebbe apportare al sito anatomico oggetto di rigenerazione delle cellule e dei fattori di crescita integrati in uno *scaffold* con caratteristiche chimico-fisiche e biologiche ottimali per promuovere la ricostruzione della lesione.

Idealmente, per garantire una rigenerazione tissutale omogenea, l'intero volume dello *scaffold* dovrebbe essere permeato da cellule e fattori di crescita. Inoltre, la presenza di eventuali bolle d'aria nell'innesto rappresenta un ostacolo alla rigenerazione e può condurre, all'aumentare del volume innestato, anche al fallimento completo del processo ricostruttivo¹.

L'imbibizione dello *scaffold* con fluidi biologici, quali sangue o concentrato midollare, mira appunto al suo arricchimento con cellule e fattori di crescita, oltre che alla sua idratazione. Benché di prassi, l'imbibizione non è però efficace nel far penetrare il liquido nelle porosità più profonde del biomateriale, dove le bolle d'aria presenti impediscono la risalita per capillarità del liquido stesso. Lo stesso dicasi per l'infiltrazione, effettuata con l'ausilio di semplici siringhe. Queste pratiche sono efficaci solo per innesti di dimensioni molto ridotte, o in forma di granulo fine, ma non sono sufficienti per innesti porosi di maggiori dimensioni quali, ad esempio, gli innesti ossei di uso comune in ambito maxillofaciale, ortopedico e neurochirurgico. Bioteck propone una soluzione efficace ed innovativa: la perfusione sotto-vuoto attraverso il sistema Awyr, un dispositivo medico di ultima generazione che permette l'estrazione monodirezionale dell'aria dall'innesto, garantendone la saturazione completa con qualsiasi fluido.

1. Bassett CA. Clinical implications of cell function in bone grafting. *Clin Orthop Relat Res*, 87, 49-59 (1972)

Materiali

Quando una siringa è utilizzata per infiltrare un innesto con un fluido biologico, l'aria estratta dall'innesto durante l'aspirazione tende spontaneamente a rientrarvi, vanificando parzialmente l'operazione.

Awyr, apparentemente una semplice siringa, racchiude al suo interno una soluzione tecnologica avanzata che permette di risolvere definitivamente questo problema. Uno speciale filtro labirintico, costituito da minuscoli canali del diametro di pochi micron, permette la fuoriuscita dell'aria ma non del liquido di perfusione.

Nella pratica, il sistema può essere impostato in due stati, chiuso o aperto. Nello stato chiuso, il sistema è sigillato ermeticamente e il movimento di aspirazione dello stantuffo realizza una forte depressione che permette l'estrazione dell'aria dall'innesto e l'ingresso nello stesso della soluzione desiderata; nello stato aperto l'aria defluisce attraverso il filtro labirintico al di fuori della siringa senza poter ritornare all'interno dell'innesto. La ripetizione per due volte del ciclo "chiuso-aspirazione-aperto-deflusso" permette l'eliminazione completa dell'aria e una distribuzione uniforme del liquido all'interno dell'innesto.



Fig. 1 – Il perfusore Awyr. Partendo dal basso si può osservare il tappo all'interno del quale trova alloggiamento l'attacco luer-lock, il corpo siringa con il setto mobile di colore blu a delimitare la zona in cui inserire il biomateriale (camera di perfusione), il pistone sollevato e, in cima ad esso, la valvola che permette di mantenere il sistema aperto o chiuso.

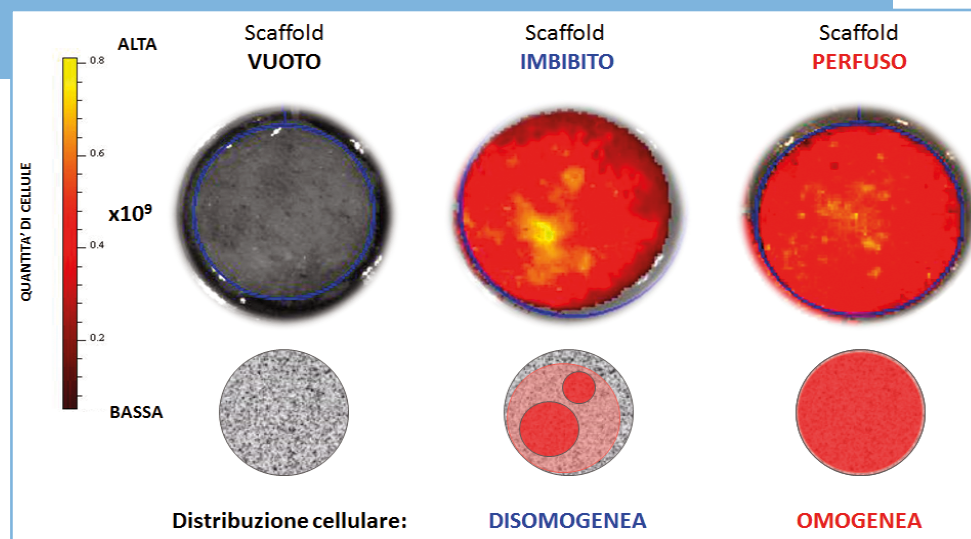


Fig. 2 – Esperimento di imbibizione (centro) o perfusione (destra) con una sospensione cellulare di cellule osteoblasto-simili rispetto ad un controllo privo di cellule (sinistra). In tutti i casi viene utilizzato lo stesso tipo di innesto osseo come scaffold. La marcatura in fluorescenza permette di valutare la distribuzione degli elementi cellulari all'interno del biomateriale. La perfusione, a differenza dell'imbibizione, permette di ottenere una distribuzione omogenea di cellule in tutto l'innesto.

IL SISTEMA DI PERFUSIONE AWAYR: VALIDAZIONE BIOLOGICA



Away arricchisce innesti ossei di componenti cellulari in quantità significativamente maggiore rispetto alla semplice imbibizione.

La validazione biologica

La validazione del sistema Awayr è stata eseguita sia attraverso studi fisici che biologici. Lo scopo di questa scheda è descrivere come Awayr sia stato validato da un punto di vista biologico.

L' esperimento è consistito nell'imbibire per immersione o per fondere, utilizzando Awayr, un innesto osseo (Osteoplant Flex, Bioteck) con una sospensione cellulare. Si è quindi valutata la distribuzione e la quantità delle cellule all' interno dell'innesto nelle due condizioni. Le cellule utilizzate erano cellule osteoblasto-simili M63; per rendere maggiormente significativo il confronto, la sospensione utilizzata per per fondere l'innesto con Awayr aveva una concentrazione simile a quella del midollo osseo in toto ($0,665 \times 10^6$ cellule/ml), ed inferiore di circa quattro volte rispetto a quella utilizzata per l'imbibizione ($2,66 \times 10^6$ cellule/ml). Il volume di sospensione utilizzato era tale per cui il numero di cellule non variava nelle due condizioni. Per facilitare l'analisi di distribuzione ed il conteggio cellulare, le cellule sono state marcate utilizzando una sonda fluorescente (Vybrant Dil).

I risultati hanno mostrato l'indubbia capacità di Awayr di far penetrare la sospensione cellulare all'interno dell'innesto, in modo significativamente più efficace che con la sola imbibizione. Da un punto di vista qualitativo, infatti, si è osservato come lo *scaffold* imbibito presentasse una distribuzione disomogenea degli elementi cellulari, in netto contrasto con la distribuzione omogenea osservata nello *scaffold* perfuso con Awayr. Da un punto di vista quantitativo, la ritenzione cellulare all'interno del materiale, misurata in cellule/ml, è risultata la medesima nelle due condizioni: considerando che la concentrazione della sospensione utilizzata per per fondere l'innesto con Awayr era quattro volte inferiore a quella utilizzata per imbibirlo, questo risultato dimostra che la perfusione con Awayr utilizzando un estratto midollare non concentrato equivale all'imbibizione eseguita con un estratto midollare concentrato 4X. Awayr dunque non solo favorisce una distribuzione cellulare omogenea all'interno dei biomateriali, ma il suo utilizzo determina un vero e proprio arricchimento cellulare dell'innesto perfuso rispetto alla procedura di sola imbibizione.

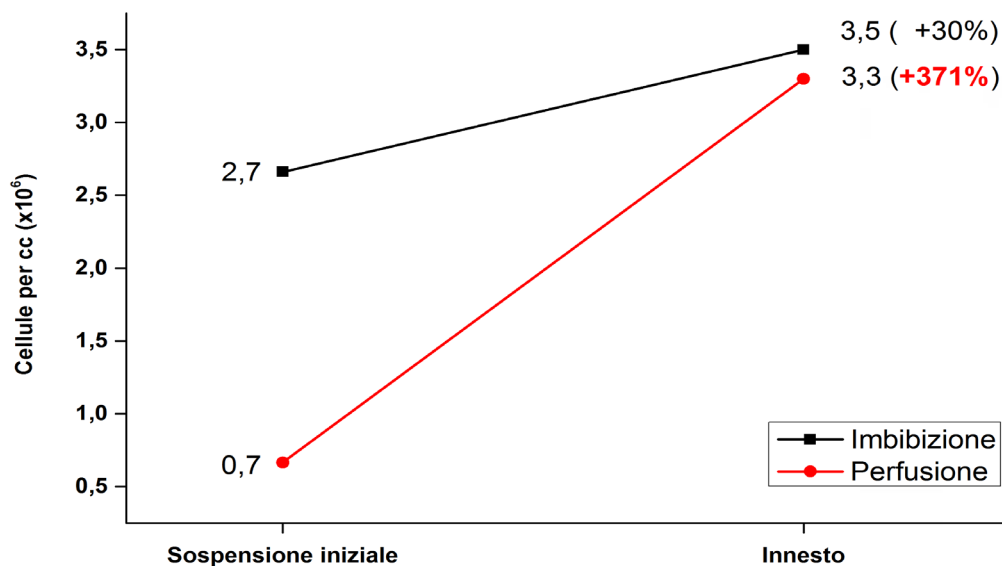


Fig. 3 – Analisi della quantità di cellule trattenute all'interno dello stesso innesto dopo imbibizione (nero) o perfusione (rosso). La concentrazione iniziale di cellule nella sospensione utilizzata per la perfusione era volutamente minore (di circa 4 volte) a quella impiegata per l'imbibizione. Nonostante questo, la perfusione ha distribuito all'interno dell'innesto una quantità di cellule equivalente di quella del biomateriale imbibito con fluido concentrato, dimostrando come la perfusione con Awayr permetta di ottenere un significativo arricchimento cellulare degli innesti.



Visita www.bioteckacademy.com per altre schede cliniche e per accedere alla sempre aggiornata letteratura scientifica.