

## CELLULE STAMINALI IN ORTOPEDIA: INDICAZIONI E LIMITI NORMATIVI

*Riccardo Ferracini, Luca Maccari, Emilia Margherita Tiraboschi*

### 7.8 Introduzione

L'uso delle cellule staminali ha avuto, negli ultimi anni, un intenso sviluppo e ha suscitato un crescente interesse in vari campi della medicina. In particolare, questo trattamento si è sviluppato anche in ambito ortopedico a causa dell'aumento dell'aspettativa di vita e delle sempre maggiori esigenze funzionali dei pazienti, ma soprattutto per la facilità di gestione dei nuovi sistemi di estrazione utilizzabili direttamente in sala operatoria e per la virtuale assenza di complicanze dei trattamenti.

Le cellule staminali adulte presentano capacità auto-rigenerativa, differenziativa e paracrina. Per il potenziale differenziativo esse si suddividono in totipotenti, pluripotenti, multipotenti, oligopotenti e unipotenti. La capacità autorigenerativa non viene utilizzata nelle applicazioni ortopediche e pertanto non verrà considerata in questo capitolo se non marginalmente, mentre risulta di grande interesse la capacità differenziativa e paracrina. Le cellule staminali utilizzate in ambito ortopedico sono mesenchimali adulte multipotenti, ovvero cellule in grado di differenziarsi nei tessuti connettivali di origine mesodermica, come il tessuto osseo, cartilagineo, adiposo, muscolare, connettivale e vascolare (1).

Il ruolo delle cellule staminali mesenchimali (MSC) è in generale molto complesso. In

passato si credeva che fossero direttamente responsabili del ruolo ricostruttivo e rigenerativo sul tessuto danneggiato; più recentemente si pensa che la secrezione paracrina di numerose citochine, fattori di crescita e peptidi bioattivi produca una stimolazione indotta delle cellule stanziali, attivandole all'interno del tessuto danneggiato. Un'altra caratteristica sostanziale, che è alla base dell'efficacia delle MSC nelle malattie infiammatorie, sia nei modelli di neuropatie di origine autoimmune (2) che in particolare nell'artrosi, è l'effetto immunomodulante, realizzato grazie alla produzione di citochine anti-infiammatorie e alla capacità di inibizione delle cellule natural killer, linfociti T e cellule dendritiche (3,4).

### 7.9 Indicazioni di utilizzo

In ambito ortopedico il trattamento con cellule staminali è indicato in numerose patologie degenerative, ma anche per applicazioni in traumatologia in ambito ricostruttivo. Le indicazioni principali e maggiormente circostanziate dalla letteratura internazionale riguardano l'osteonecrosi idiopatica della testa del femore, il trattamento delle pseudoartrosi e, più recentemente, il trattamento dell'artrosi del ginocchio (5,6). Infine, le MSC in ambito ortopedico possono essere indicate per trattamenti di rigenerazione

tendinea o legamentosa (in particolare del crociato anteriore) (7), per lesioni cartilaginee od osteocondriti dissecanti (8,9), per la ricostruzione del tessuto muscolare o per la ricostruzione dopo demolizione in chirurgia oncologica del tessuto osseo.

### 7.9.1 Trattamento dell'osteonecrosi della testa femorale

L'osteonecrosi della testa femorale (Onfh) rappresenta una patologia derivante da una crisi vascolare che provoca una lesione della componente cellulare ossea osteo-produttrice (osteoblasti) e delle cellule mesenchimali locali. Al danno vascolare segue un progressivo deficit strutturale dovuto alla carenza di turnover osseo. Il trattamento delle fasi precoci della lesione consiste nella carotatura del collo del femore, definita dagli autori anglosassoni *core decompression*. Essa mira alla ripresa della vascolarizzazione attraverso la riduzione della pressione e dell'edema intra-osseo (10). Nel 2002 Hernigou ha pubblicato il primo studio pilota che associava l'utilizzo della carotatura associato all'iniezione di cellule staminali da aspirato di midollo osseo autologo da cresta iliaca, negli stadi precoci della lesione (11). Il follow-up tra i 5 e i 10 anni dimostrava l'efficacia e l'assenza di complicanze di questo trattamento. I risultati clinici erano direttamente proporzionali al numero di cellule iniettate da midollo a parità di stadio della malattia. Il razionale consisteva nella stimolazione da parte delle cellule infuse di una neo-angiogenesi associata a un aumento della potenzialità ricostruttiva del tessuto

osseo da parte degli elementi staminali midollari. Nel corso degli anni, gli studi clinici sull'argomento hanno confermato i dati di Hernigou, pertanto attualmente il trattamento con staminali da midollo autologo per l'osteonecrosi della testa del femore è diventato il "gold standard" terapeutico (6). Attualmente non si fa più uso dell'estratto crudo midollare da cresta iliaca, ma l'aspirato midollare viene sottoposto a un sistema di purificazione degli elementi figurati del midollo che si basa sulla centrifugazione frazionata che produce un concentrato cellulare contenente uno strato mononucleato concentrato di cellule staminali (circa 4.000 MSC per ml). In relazione allo studio di Hernigou e a studi più recenti si è considerata la possibilità di aumentare il numero di MSC; questo può essere eseguito attraverso un pre-trattamento *in vitro* mediante farmaci o tecniche di terapia genica oppure grazie all'amplificazione cellulare *ex vivo*, a condizione che venga eseguito in una *cell factory* per uso umano. Il pre-trattamento può essere eseguito somministrando *in vitro* fattori di crescita, quali il VEGF o l'HGF, proteine bioattive come la BMP o farmaci tipo la vitamina E. La stimolazione a basse dosi di HGF, in particolare, favorisce il differenziamento in senso osteogenico delle MSC, mentre l'alta concentrazione ne stimola la proliferazione; viceversa la vitamina E presenta un ruolo anti-apoptotico utile per il mantenimento dell'attività proliferativa e chemiotattica delle MSC. Altri più recenti studi prevedono inoltre l'infusione delle staminali attraverso tre diverse vie di som-

ministrazione: iniezione nell'arteria circonflessa capsulare del collo femorale; infusione di cellule durante la *core decompression* usando aghi sottili e infondendo MSC con *carrier* che stabilizzino le cellule *in situ*; l'impianto di cilindri formati da *scaffold* solidi usando trocar che sostituiscano la carota di tessuto malato con una carota di tessuto osseo caricato di staminali *ex vivo* (12). I *carrier* e gli *scaffold* dovrebbero presentare caratteristiche di osteointegrazione, biodegradabilità e osteoconduzione. I *carrier* includono matrice ossea demineralizzata, xenotrapianti, colla di fibrina, sottomucosa di intestino tenue e *buffy coat* da aspirato di midollo. Gli *scaffold* invece possono essere xenotrapianti, sintetici o autotrapianti e presentano il vantaggio di garantire anche un apporto strutturale per ridurre il rischio di crollo della testa femorale.

L'uso delle MSC autologhe è già entrato nella normale pratica clinica per il trattamento dell'osteonecrosi della testa femorale. L'utilizzo di cellule da midollo aspirate da cresta iliaca rappresenta infatti un sistema a minima manipolazione, che utilizza cellule autologhe in un sistema omotopico e omofunzionale, ove le cellule midollari sono inserite nel midollo e riprendono nel sito di trapianto la stessa attività biologica che svolgevano nel sito di prelievo. In considerazione di alcuni svantaggi dell'utilizzo di MSC autologhe prelevate da midollo (morbilità del sito donatore e bassa resa delle cellule staminali), l'attenzione si è anche rivolta verso le MSC da tessuto adiposo. Studi pre-clinici su conigli dimostrano un aumento del volume

e della densità trabecolare nell'area necrotica dopo somministrazione di MSC da tessuto adiposo nel tunnel formato dalla *core decompression* (13). Tali dati incoraggianti aprono nuove prospettive terapeutiche per il trattamento dell'osteonecrosi asettica della testa del femore.

Per quanto riguarda il trattamento dei ritardi di consolidazione e di pseudoartrosi, è ormai tecnica consolidata l'uso di MSC da midollo osseo estratto dopo centrifugazione. Tale uso si basa sulla nota e documentata efficacia di trattamenti adiuvanti delle pseudoartrosi che associano a una reosteosintesi l'utilizzo di impianti di tessuto cortico-spongioso o spongioso, prevalentemente da cresta iliaca, che è stato dimostrato possano favorire la rivalizzazione del tessuto riparativo locale aggiungendo nuovi elementi cellulari attivi. Sono in fase sperimentale ulteriori studi che utilizzano MSC di origine midollare dopo espansione *in vitro*, come descritto per l'osteonecrosi della testa femorale, allo scopo di aumentare la potenzialità riparativa del trapianto. La maggior parte degli studi considerano esclusivamente cellule autologhe, ma sono comunque in corso studi volti allo sviluppo di cellule omologhe (da donatore) per questi trattamenti. L'intento è quello di produrre delle MSC commerciali che possano sostituire l'autotrapianto nell'applicazione clinica. In genere, le cellule, dopo la proliferazione, come per l'osteonecrosi della testa femorale, sono infuse localmente in presenza di *carrier* o *scaffold* a base di idrossiapatite o altro materiale biologicamente compatibile.

La fonte originaria delle MSC adulte era dunque storicamente il midollo osseo, grazie agli studi ematologici e all'uso delle MSC nelle malattie linfoproliferative. Le MSC si ottenevano, in ambito ortopedico, esclusivamente dopo l'aspirazione del midollo osseo, con la purificazione mediante centrifugazione o dopo espansione *in vitro*. In particolare, tutti gli studi fatti con infusione delle MSC, come abbiamo visto nella osteonecrosi del femore e nei ritardi di consolidazione e le pseudoartrosi, sono stati eseguiti con questi tipi di cellule e con queste procedure. Il vantaggio dell'origine midollare di queste cellule, come vedremo estensivamente più avanti, è la comune origine delle MSC rispetto al tessuto ricevente. Più recentemente è stato dimostrato che le MSC sono presenti in buona percentuale anche in altri tessuti quali il sangue periferico, il tessuto adiposo, il tessuto tendineo e sinoviale. Il tessuto nel quale sono presenti in maggiori quantità prelevabili è senz'altro il tessuto adiposo. Le caratteristiche antigeniche delle cellule di origine adiposa sono un po' diverse da quelle derivanti dal midollo osseo. Quindi in ultima analisi si tratta di due tipi cellulari diversi. Per quanto riguarda in particolare la capacità osteo- e condro-differenziativa, è stato però dimostrato che le MSC derivate da tessuto adiposo hanno un potenziale comparabile alle MSC derivanti da midollo osseo (14,15). Il tessuto adiposo contiene di per sé un'altissima concentrazione di staminali rispetto al midollo osseo e i volumi di tessuto adiposo prelevabile sono in media molto maggiori rispetto ai volumi di

estrazione di sangue midollare di un prelievo standard, pertanto l'espansione *in vitro*, usando MSC di origine adiposa, non è più considerata indispensabile. Al suo posto si preferisce utilizzare l'estratto crudo di tessuto adiposo, che consiste in una "minima manipolazione" del tessuto estratto, o la frazione vascolare stromale (SVF) che contiene anche le MSC. Tale frazione si ottiene dopo la digestione estensiva del tessuto adiposo con collagenasi e l'estrazione delle cellule con centrifugazione di frazionamento. Come vedremo più avanti questo genere di trattamento richiede l'uso di una manipolazione estensiva per la quale l'estratto viene definito dagli organi regolatori "terapia cellulare avanzata" che è soggetta a una regolamentazione molto rigida. Al contrario gli estratti crudi a "minima manipolazione" sono soggetti alla regolamentazione dei trapianti autologhi di tessuti e la loro regolamentazione è molto più snella. Il grande interesse suscitato inizialmente dall'utilizzo della SVF infusa a livello articolare del ginocchio per il trattamento delle condropatie si è progressivamente ridotto nell'ultimo decennio, a favore dei trattamenti che prevedono una manipolazione minima, su base meccanica, da eseguire in sala operatoria utilizzando kit appositi composti da sistemi sigillati e facilmente riproducibili (16).

### 7.9.2 Trattamento dell'artrosi di ginocchio

L'evoluzione dei sistemi di estrazione di MSC dal tessuto adiposo si è sviluppata assieme agli studi per il trattamento dell'artrosi in particolare a livello del ginocchio.

La ricerca di strategie innovative per il trattamento dell'artrosi del ginocchio infatti è di crescente interesse (17), in particolare per identificare alternative alla sostituzione protesica. Questo è particolarmente vero in pazienti con quadri iniziali di gonartrosi sintomatica (grado Kellgren Lawrence I-II-III) o comunque giovani o non molto anziani (entro i 70 anni) o con richieste funzionali incompatibili con l'artroplastica. Nell'immaginario collettivo e nella letteratura medica, l'uso di cellule staminali di origine adiposa sta diventando un'opzione terapeutica diffusa per le forme iniziali dell'artrosi del ginocchio (16,18,19).

È stato ampiamente dimostrato che l'artrosi è un fenomeno la cui evoluzione patologica dipende dalla componente infiammatoria immuno-mediata. Nell'anziano l'evoluzione artrosica è promossa ulteriormente dalle cellule senescenti che attivano indipendentemente dei percorsi infiammatori alternativi e potenti (20). Il tessuto adiposo infiltrato a livello intra-articolare assume molteplici ruoli tra i quali riteniamo preponderante l'effetto anti-infiammatorio e immunomodulatorio. La capacità anti-infiammatoria dipende dalla presenza di linfociti T soppressori, dal rilascio di citochine e fattori anti-infiammatori (21) da parte delle MSC. Più recentemente, sulla base di studi sul tessuto sinoviale sano del ginocchio di recente pubblicazione, è comparso un nuovo attore dell'effetto anti-infiammatorio: il macrofago interstiziale. Questa cellula, già estensivamente studiata nell'ambito della immunologia dei tumori, è presente fisiologicamente

nello strato interno della sinovia ed è assente nei quadri infiammatori sinoviali, negli stadi avanzati dell'artrosi e nell'artrosi senile (22). La sua presenza è abbondantemente documentata nel tessuto connettivale adiposo. L'argomento è affascinante e attualmente oggetto di intenso studio per gli ovvi potenziali risvolti terapeutici. Altre azioni risultate rilevanti nel risultato clinico sono l'azione viscosupplementante, l'effetto rigenerativo dovuto al potenziale differenziativo; l'effetto paracrino e stimolatorio verso le cellule mesenchimali presenti *in situ*. L'effetto viscosupplementante si basa sulla presenza di abbondante tessuto connettivale lasso estratto dal tessuto adiposo e la sua azione è più durevole rispetto ai farmaci a base ialuronica, esso è comunque meno efficace dello ialuronico iniettabile per quanto riguarda strettamente l'effetto fisico di viscosupplementazione. L'effetto rigenerativo si basa sull'osservazione per cui le cellule staminali hanno capacità di differenziarsi *in vitro*, a seguito di appropriati stimoli in coltura, in condrociti od osteoblasti. Si assume che lo stesso fenomeno possa accadere a seguito di infusione intra-articolare. L'effetto paracrino mediato dalle citochine rilasciate dalle MSC è alla base della ipotesi di Caplan sul ruolo delle MSC come "medicinal cells", che descrive il loro ruolo come stimolatori del potenziale rigenerativo locale.

I risultati ottenuti *in vitro*, in sistemi animali e nei primi trial su pazienti con artrosi, hanno evidenziato come il trattamento con SVF fosse efficace nel favorire la rigenerazione cartilaginea nei pazienti con ampie lesioni

cartilaginee focali o con artrosi diffusa (21). Inoltre, sono stati riportati buoni risultati clinici sul controllo della sintomatologia algica e sulla funzionalità articolare. Alcuni studi a lungo termine hanno dimostrato effetti positivi anche sulla ricostruzione osteocondrale documentabili alla RMN. Tali effetti sono comunque visibili, per ora, solo con macchine ad alta definizione usando sequenze specifiche e con follow-up superiore a un anno (23). Quello che più chiaramente è documentabile a livello di imaging è il blocco della evoluzione artrosica ai controlli seriati nel tempo in confronto ai pazienti non trattati, specie per intervalli di follow-up tra i 12 e i 36 mesi.

Ma nel tempo cosa realmente succede alle cellule di origine adiposa e in particolare alle MSC quando vengono infiltrate nell'articolazione? In letteratura non ci sono ancora dati certi sul destino che attende le MSC una volta infuse all'interno dell'articolazione (24,25,26). Alcuni studi istologici descrivono la proliferazione di cellule nelle zone di sofferenza osteocondrale, sebbene sia difficile dimostrarne l'origine cellulare diretta. D'altra parte, in seguito a infusione articolare molte cellule di origine adiposa vanno ad aderire alle superfici sinoviali, restando vitali a lungo. Il loro ruolo potrebbe essere quello, già accennato nell'introduzione, di organizzare l'attivazione dei meccanismi ricostruttivi e immunomodulatori alla base dei risultati clinici descritti (3,4). I risultati di questi trattamenti nell'osteoartrosi del ginocchio sono ben riassunti dall'analisi della letteratura recentemente pubblicata da Kon

e collaboratori (17). La letteratura disponibile si basa su vari criteri di trattamento che sono difficili da confrontare tra loro e talvolta manca di gruppi di controllo ben disegnati. Infine, la maggior parte degli studi sono retrospettivi e non prospettici, non sono randomizzati, presentano follow-up brevi e i pazienti trattati sono selezionati in modo non rigoroso. Inoltre, mancano dettagli biologici su quantità e qualità delle cellule usate, dettagli istologici o di imaging sui risultati a lungo termine. Ciononostante, da tutti gli studi eseguiti, appare evidente che questi trattamenti sono privi di complicanze maggiori e presentano un risultato favorevole e riproducibile a breve e medio termine specialmente sul dolore, ma anche su funzionalità e qualità di vita dei pazienti trattati (16,18,19).

Attualmente, grazie a una potente azione mediatica, il trattamento con cellule staminali sta riscuotendo un sempre maggior successo, nonostante spesso manchino solide evidenze scientifiche negli specifici ambiti di uso e sulle specifiche procedure. Per tale motivo si sta assistendo ad una proliferazione dei kit commerciali, che avvantaggiandosi dell'attuale legislazione utilizzano preparazioni di tessuto adiposo arricchito di staminali a "minima manipolazione". Le indicazioni alle modalità di trattamento sono attualmente lasciate alla discrezione dello specialista. Per questa ragione è fondamentale approfondire la conoscenza su questi argomenti, non solo attraverso la letteratura e le pubblicazioni delle agenzie regolatorie governative italiane ed europee (Centro

Nazionale Trapianti, Agenzia Nazionale del Farmaco e European Medicinal Agency), ma anche disegnando studi clinici che possano produrre informazioni clinicamente rilevanti e utili a confermare e rafforzare i risultati disponibili attualmente in letteratura.

### 7.10 Aspetti regolatori

Dal punto di vista normativo l'uso del tessuto adiposo in ortopedia è giuridicamente complesso. La materia può ricadere sia nell'ambito della regolamentazione prevista per i prodotti cellulari che in quello dei prodotti tissutali. I prodotti cellulari sono considerati farmaci a tutti gli effetti e sono regolamentati dall'Agenzia italiana del farmaco (Aifa) mentre i prodotti tissutali sono considerati trapianti e sono regolamentati attraverso in Centro nazionale trapianti (Cnt). La differenza tra i due tipi di prodotti dipende dalle modalità di preparazione. Se il tessuto è processato con una manipolazione minima, che prevede per esempio lo smembramento e la centrifugazione, eliminando solo la componente oleosa e le componenti ematiche, esso mantiene le caratteristiche di tessuto. Se il tessuto viene destrutturato con l'uso di digestione enzimatica o sonicazione, anche se propriamente non si tratta di proliferazione o di ingegnerizzazione genetica, il tipo di manipolazione è considerata di alto grado e l'estratto cellulare ottenuto è un farmaco a tutti gli effetti e il suo uso viene regolamentato come tale.

Il tessuto adiposo può essere utilizzato sullo

stesso paziente (trapianto autologo) mentre l'estratto cellulare può anche essere considerato per l'utilizzo su pazienti diversi dal donatore (allogenico). In quest'ultimo caso il trattamento è soggetto ad ulteriori restrizioni normative. Infine, il trattamento con tessuto adiposo si può considerare omotopico quando il tessuto adiposo viene trasferito ad una zona ricevente che contenga tessuto adiposo (per esempio il sottocute), mentre si considera non omotopico quando viene trasferito in una regione non contenente tessuto adiposo (per esempio un'articolazione). Pertanto il ginocchio, dal punto di vista esclusivamente normativo, viene considerato omotopico per il trapianto di tessuto adiposo, poiché al suo interno è presente la nota formazione adiposa corpo di Hoffa le cui staminali residenti possiedono un elevato potenziale in senso condrogenico (come ampiamente dimostrato da numerosi studi (10,26,27,28,29). Da un punto di vista normativo quindi anche l'infusione di staminali nell'anca può essere considerata omotopica, possedendo infatti al suo interno tessuto adiposo nel pulvinar.

Il legislatore europeo ha aggiunto oltre al concetto di omotopico il concetto di omofunzionale o non omofunzionale inserendo i limiti di utilizzo di un tessuto alla stessa funzione essenziale del tessuto di origine: "L'uso non omofunzionale di tessuti, per quanto minimamente manipolati, viene considerato come Prodotto per Terapia Avanzata a causa dell'aumentato rischio per il paziente, con la conseguenza che il tessuto in questione, ancorché

con minima manipolazione o in assenza di manipolazione, diventa a tutti gli effetti un medicinale per terapie avanzate.” Sullo stesso tema, già nel 2010, si è espresso, con raccomandazioni non vincolanti, il Committee for Advanced Therapies (CAT) che è un organismo che fa parte dell’EMA. Nel capitolo “Reflection paper on classification of advanced-therapy-medicinal-products” datato 21 maggio 2015 (EMA/CAT/600280/2010 Rev.1) viene introdotto il concetto di utilizzo omofunzionale. Questo documento non rappresenta una normativa ma una semplice raccomandazione per l’uso. Esso raccomanda quindi che le cellule estratte da un tessuto debbano mantenere la loro funzione originale in un tessuto istologicamente omologo utilizzando un meccanismo cellulare sovrapponibile a quello di origine. In particolare, però, le cellule mesenchimali adulte non possono considerarsi alla stregua delle cellule beta delle isole pancreatiche o degli epatociti, su cui si applica bene il concetto di omofunzionalità. Al contrario, le MSC per definizione sono cellule multifunzionali per la loro potenzialità differenziativa e gli stessi esperti del CAT sottolineano questo aspetto riguardo alla difficoltà di definire per esse il concetto di omofunzionalità.

In una nota del 2015 invece il CNT italiano ritiene che l’estratto adiposo sia da considerarsi un trapianto (ai sensi del D.Lgs. 191/2007) in quanto l’azione dell’estratto sarebbe di tipo biomeccanico e riempitivo “*esplicando una funzione di protezione e ammortizzazione dei tessuti/organi circo-*

*stanti*”; in questo modo però il suo ruolo si ridurrebbe a un’attività visco-supplementativa analoga a quella dall’acido ialuronico. Alla luce di quest’ultima interpretazione sembrerebbe possibile utilizzare un estratto di tessuto adiposo minimamente manipolato per qualsiasi patologia articolare. Se da un lato quest’interpretazione consente da un punto di vista normativo l’utilizzo del prodotto in maniera estremamente ampia, dall’altra ne riduce drasticamente gli aspetti biologici precedentemente descritti, pertanto quest’interpretazione dovrà trovare un superamento normativo che sia più confacente alla reale funzione di questi estratti a livello dell’articolazione. Attualmente, infine, si può desumere che, in attesa di pronunciamento ulteriori da parte degli enti regolatori (Aifa, Cnt e Istituto superiore di Sanità), in Italia il trattamento con staminali nel ginocchio ricade nel novero delle pratiche cliniche consolidate e pertanto il clinico debba solamente attenersi alle norme della buona pratica clinica (GCP) e a uno specifico consenso informato riguardo all’uso del tessuto adiposo estratto. Per quanto riguarda invece il trattamento con staminali nelle altre articolazioni si deve configurare o come sperimentazione clinica regolata dal Comitato Etico competente (30,31) oppure come terapia innovativa “*con l’unico specifico obiettivo di apportare giovamento al paziente, decisa dal medico in singoli casi*” (32).

La terapia innovativa, al contrario della sperimentazione clinica, non prevede l’acquisizione di nuove conoscenze che possano essere successivamente applicate alla comu-



ne pratica clinica e prescinde da qualsivoglia autorizzazione preventiva.

Il Codice deontologico medico 2014, all'articolo 15 dichiara: *“Il medico può prescrivere e adottare, sotto la sua diretta responsabilità, sistemi e metodi di prevenzione, diagnosi e cura non convenzionali nel rispetto del decoro e della dignità della professione. Il medico non deve sottrarre la persona assistita a trattamenti scientificamente fondati e di comprovata efficacia. Il medico garantisce sia la qualità della propria formazione specifica nell'utilizzo dei sistemi e dei metodi non convenzionali, sia una circostanziata informazione per l'acquisizione del consenso di terzi non medici nelle discipline non convenzionali riconosciute quali attività esclusive e riservate alla professione medica”*.

La terapia innovativa infine richiede un consenso informato specifico e molto articolato e la responsabilità del medico nella scelta di tale trattamento deve avere un supporto scientifico e di esperienza clinica che giustifichi la scelta terapeutica.

### 7.11 Conclusioni

L'ambito dei trattamenti con staminali mesenchimali è dunque ampio e i vari campi di utilizzo presentano risultati clinici definitivi in alcuni casi, incompleti in altri o del tutto preliminari in altri ancora. In generale, la letteratura più recente manca di studi definitivi e rigorosi e in particolare sono carenti gli studi prospettici con i relativi bracci di controllo e gli articoli di metanalisi compa-

rativa dei vari studi clinici, quelli cosiddetti di livello I, le revisioni sistematiche di tutti gli studi randomizzati controllati (Rct). Gli studi Rct presentano difficoltà di carattere strutturale, economico e regolatorio che possono venire superate grazie a sforzi collaborativi multicentrici e a finanziamenti importanti. Tale complessità non deve scoraggiare chi sia interessato a iniziare una sperimentazione clinica perché tale processo è alla base evolutiva di nuove terapie, tra le quali l'uso di MSC rappresenta un grande capitolo. I professionisti che vorranno fare uso di questi strumenti innovativi senza dover affrontare il fardello della sperimentazione dovranno attenersi alle indicazioni della buona pratica clinica e dovranno discutere a fondo con i pazienti i tipi di trattamenti proposti con informazioni circostanziate e attuali.

### Bibliografia

1. Fraser JK, Wulur I, Alfonso Z, Hedrick MH. Fat tissue: an underappreciated source of stem cells for biotechnology. *Trends Biotechnol.* 2006 Apr;24(4):150-4.
2. Bowles AC, Wise RM, Gerstein BY, Thomas RC, Ogelman R, Febbo I, Bunnell BA. Immunomodulatory Effects of Adipose Stromal Vascular Fraction Cells Promote Alternative Activation Macrophages to Repair Tissue Damage. *Stem Cells.* 2017 Oct;35(10):2198-2207.
3. Caplan AI, Correa D. The MSC: an injury drugstore. *Cell Stem Cell.* 2011 Jul 8;9(1):11-5.
4. Kokai LE, Marra K, Rubin JP. Adipose stem cells: biology and clinical applications for tis-

- sue repair and regeneration. *Transl Res.* 2014 Apr;163(4):399-408.
5. Pak J. Regeneration of human bones in hip osteonecrosis and human cartilage in knee osteoarthritis with autologous adipose-tissue-derived stem cells: a case series. *J Med Case Rep.* 2011 Jul 7;5:296.
6. Hernigou P, Guerin G, Homma Y, Dubory A, Chevallier N, Rouard H, Flouzat Lachaniette CH. History of concentrated or expanded mesenchymal stem cells for hip osteonecrosis: is there a target number for osteonecrosis repair? *Int Orthop.* 2018 Jul;42(7):1739-1745.
7. Figueroa D, Espinosa M, Calvo R, Scheu M, Vaisman A, Gallegos M, Conget P. Anterior cruciate ligament regeneration using mesenchymal stem cells and collagen type I scaffold in a rabbit model. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2014 May;22(5):1196-202.
8. Gabusi E, Manferdini C, Paoletta F, Gambari L, Kon E, Filardo G, Mariani E, Lisignoli G. Focal Defects of the Knee Articular Surface: Evidence of a Regenerative Potential Pattern in Osteochondritis Dissecans and Degenerative Lesions. *Biomed Res Int.* 2017;2017:9036305.
9. Freitag J, Ford J, Bates D, Boyd R, Hahne A, Wang Y, Cicuttini F, Huguenin L, Norsworthy C, Shah K. Adipose derived mesenchymal stem cell therapy in the treatment of isolated knee chondral lesions: design of a randomised controlled pilot study comparing arthroscopic microfracture versus arthroscopic microfracture combined with postoperative mesenchymal stem cell injections. *BMJ Open.* 2015 Dec 18;5(12):e009332.
10. Pierce TP, Jauregui JJ, Elmallah RK, Lavernia CJ, Mont MA, Nace J. A current review of core decompression in the treatment of osteonecrosis of the femoral head. *Curr Rev Musculoskelet Med.* 2015 Sep;8(3):228-32.
11. Hernigou P, Beaujean F. Treatment of osteonecrosis with autologous bone marrow grafting. *Clin Orthop Relat Res.* 2002 Dec;(405):14-23.
12. Wang Y, Ma X, Chai W, Tian J. Multiscale Stem Cell Technologies for Osteonecrosis of the Femoral Head. *Stem Cells Int.* 2019 Jan 8;2019:8914569.
13. Abudusaimi A, Aihemaitijiang Y, Wang YH, Cui L, Maimaitiming S, Abulikemu M. Adipose-derived stem cells enhance bone regeneration in vascular necrosis of the femoral head in the rabbit. *J Int Med Res.* 2011;39(5):1852-60.
14. De Ugarte DA, Morizono K, Elbarbary A, et al. Comparison of multi-lineage cells from human adipose tissue and bone marrow. *Cells Tissues Organs.* 2003;174(3):101-9.
15. Strioga M, Viswanathan S, Darinskas A, Slaby O, Michalek J. Same or not the same? Comparison of adipose tissue-derived versus bone marrow-derived mesenchymal stem and stromal cells. *Stem Cells Dev.* 2012 Sep 20;21(14):2724-52.
16. Roato I, Belisario DC, Compagno M, Lena A, Bistolfi A, Maccari L, Mussano F, Genova T, Godio L, Perale G, Formica M, Cambieri I, Castagnoli C, Robba T, Felli L, Ferracini R. Concentrated adipose tissue infusion for the treatment of knee osteoarthritis: clinical and histological observations. *Int Orthop.* 2019 Jan;43(1):15-23.
17. Di Matteo B, Vandenbulcke F, Vitale ND, Iacono F, Ashmore K, Marcacci M, Kon E. Minimally Manipulated Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Knee Osteoarthritis: A Systematic Review of Clinical Evidence. *Stem Cells Int.* 2019 Aug 14;2019:1735242.
18. Perdisa F, Gostyska N, Roffi A, Filardo G,

- Marcacci M, Kon E. Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Articular Cartilage: A Systematic Review on Pre-clinical and Clinical Evidence. *Stem Cells Int.* 2015;2015:597652.
19. Pak J, Lee JH, Park KS, Park M, Kang LW, Lee SH. Current use of autologous adipose tissue-derived stromal vascular fraction cells for orthopedic applications. *J Biomed Sci.* 2017 Jan 31;24(1):9.
20. Jeon OH, David N, Campisi J, Elisseff JH. Senescent cells and osteoarthritis: a painful connection. *J Clin Invest.* 2018 Apr 2;128(4):1229-1237.
21. Roato I, Alotto D, Belisario DC et al. Adipose Derived-Mesenchymal Stem Cells Viability and Differentiating Features for Orthopaedic Reporative Applications: Banking of Adipose Tissue. *Stem Cells Int.* 2016;2016:4968724.
22. Culemann S, Grüneboom A, Nicolás-Ávila JÁ, Weidner D, Lämmle KF, Rothe T, Quintana JA, Kirchner P, Krljanac B, Eberhardt M, Ferrazzi F, Kretschmar E, Schicht M, Fischer K et al. Locally renewing resident synovial macrophages provide a protective barrier for the joint. *Nature.* 2019 Aug;572(7771):670-675.
23. Pak J, Lee JH, Park KS, Park M, Kang LW, Lee SH. Current use of autologous adipose tissue-derived stromal vascular fraction cells for orthopedic applications. *J Biomed Sci.* 2017 Jan 31;24(1):9.
24. Cui Q, Botchwey EA. Emerging ideas: treatment of precollapse osteonecrosis using stem cells and growth factors. *Clin Orthop Relat Res.* 2011 Sep;469(9):2665-9.
25. Santelli J, Lechevallier S, Baaziz H et al. Multimodal gadolinium oxysulfide nanoparticles: a versatile contrast agent for mesenchymal stem cell labeling. *Nanoscale.* 2018 Sep 13;10(35):16775-16786.
26. Dragoo JL, Samimi B, Zhu M, Hame SL, Thomas BJ, Lieberman JR, Hedrick MH, Benhaim P. Tissue-engineered cartilage and bone using stem cells from human infrapatellar fat pads. *J Bone Joint Surg Br.* 2003 Jul;85(5):740-7.
27. Wickham MQ, Erickson GR, Gimble JM, Vail TP, Guilak F. Multipotent stromal cells derived from the infrapatellar fat pad of the knee. *Clin Orthop Relat Res.* 2003 Jul;(412):196-212.
28. Khan WS, Tew SR, Adesida AB, Hardingham TE. Human infrapatellar fat pad-derived stem cells express the pericyte marker 3G5 and show enhanced chondrogenesis after expansion in fibroblast growth factor-2. *Arthritis Res Ther.* 2008;10(4):R74.
29. Ahearne M, Liu Y, Kelly DJ. Combining freshly isolated chondroprogenitor cells from the infrapatellar fat pad with a growth factor delivery hydrogel as a putative single stage therapy for articular cartilage repair. *Tissue Eng Part A.* 2014 Mar;20(5-6):930-9.
30. Fabris EP. La sperimentazione clinica: profili giuridici, in: *I Diritti in Medicina – Trattato di Biodiritto*, Vol III, Milano, Giuffrè Editore 2011 p 643 e ss.
31. Moradacci R. *Bioetica della sperimentazione.* Milano, Franco Angeli, 1997, p. 52.
32. Zatti P. *La libertà di cura tra sperimentazione e terapia innovativa.* Milano, Giuffrè Editore, 2009, p. 283.