Fabio Valerio Sciarretta^{1,3} (foto)Claudio Ascani²Carolina Fossati³Silvana Campisi³

¹ Clinica Nostra Signora della Mercedes, Roma; ² UOC I Traumatologia I.P. Chirurgia della Spalla e del Gomito, Ospedale CTO, Roma; ³ Accademia Biomedica della Rigenerazione, Clinica Assunzione di Maria Santissima, Roma

LIPO-AMIC: descrizione tecnica e studio pilota su 18 pazienti della tecnica AMIC[®] modificata con aggiunta di cellule mesenchimali da tessuto adiposo

LIPO-AMIC: technical description and eighteen pilot patients report on AMIC[®] technique modified by adipose tissue mesenchymal cells augmentation

Riassunto

Questo studio pilota descrive le fasi tecniche della tecnica chirurgica ed i risultati preliminari della tecnica AMIC[®] (*autologous matrix-induced chondrogenesis*) modificata con l'aggiunta delle cellule mesenchimali autologhe da tessuto adiposo, definita come tecnica LIPO-AMIC, per il trattamento dei difetti della cartilagine del ginocchio. La tecnica LIPO-AMIC è stata utilizzata per il trattamento dei difetti focali sintomatici di III e IV grado secondo la classificazione ICRS del ginocchio. Diciotto pazienti sono stati valutati prospettivamente nel corso di due anni, sia clinicamente che mediante la valutazione con risonanza magnetica. I pazienti hanno mostrato un significativo miglioramento clinico progressivo di tutti i punteggi (IKDC, Lysholm, KOOS e VAS) già a partire dal follow-up iniziale a 6 mesi dalla esecuzione della procedura LIPO-AMIC e sono stati notati ulteriori miglioramenti degli scores fino all'ultimo follow-up a 24 mesi dopo l'intervento. I controlli di RM hanno mostrato la precoce ricrescita della lamina subcondrale, la progressiva maturazione del tessuto di riparazione ed il progredito riempimento dei difetti. In conclusione, la possibilità di ottenere un grande numero di cellule mesenchimali vitali da tessuto adiposo, con clusters e nicchie vascolo stromali intatte, con capacità condrogenica e paracrina elevate insieme all'uso di una membrana collagenica in grado di trattenere le cellule in situ e favorirne la trasformazione condrogenica, rendono ragione dei significativi miglioramenti riscontrati nei pazienti da noi trattati e consentono di convalidare questa tecnica quale procedura one-step semplice, sicura ed efficace per la riparazione dei difetti cartilaginei articolari.

Parole chiave: tecnica LIPO-AMIC, cellule mesenchimali da tessuto adiposo, difetti condrali ed osteocondrali, medicina rigenerativa

Summary

This pilot study describes the technical steps of the surgical technique and the preliminary outcomes of autologous matrix-induced chondrogenesis (AMIC[®]) combined with autologous adipose tissue derived stem cells, defined as LIPO-AMIC, for the treatment of knee cartilage defects. The LIPO-AMIC technique has been used for the treatment of ICRS degree III and IV focal cartilage defects in the knee. Eighteen patients have been prospectively evaluated during two years both clinically and by MRI evaluation. Patient showed progressive significant clinical improvement of all the scores (IKDC, Lysholm, Koos and VAS) as early as the initial 6 months follow-up after the LIPO-AMIC procedure and further increased values were noted till the last follow-up at 24 months postoperatively. MRI examination showed early subchondral lamina regrowth and progressive maturation of the repair tissue and filling of the defects. Overall, the possibility of obtaining a large number of viable mesenchymal cells from adipose tissue, with intact clusters and vascular stromal niches, with high chondrogenic and paracrine capacity together with the use of a collagen membrane capable of retaining the cells in situ and promoting their chondrogenic transformation, give reason of significant improvements found in treated patients and allow us to validate this technique as simple, safe and effective one-step procedure for the repair of articular cartilage defects.

Key words: LIPO-AMIC technique, mesenchymal adipose tissue cells, chondral and osteochondral defects, regenerative medicine

Indirizzo per la corrispondenza:

Fabio Valerio Sciarretta

Clinica Nostra Signora della Mercedes
via Tagliamento, 25

00198 Roma

E-mail: fvsciarretta@me.com

Introduzione

Nella cura dei difetti della cartilagine articolare le tecniche di stimolazione midollare sono state introdotte alcuni decenni fa, alla fine degli anni '50, quando Pridie¹ ha per la prima volta presentato il trattamento di resurfacing delle lesioni osteocondrali artrosiche del ginocchio mediante l'esecuzione delle perforazioni. Si trattava del primo riconoscimento delle potenzialità dell'utilizzo delle cellule mesenchimali per la stimolazione della riparazione del tessuto cartilagineo. Successivamente, Steadman^{2,3}, onde ridurre gli effetti negativi legati alla necrosi da calore provocata dalle perforazioni ha introdotto la tecnica delle microfratture. Esse consentono di ottenere la formazione di un coagulo, derivante dal sangue ottenuto dall'osso subcondrale, che contiene molti fattori di crescita e cellule mesenchimali in grado di favorire la riparazione e la ricrescita di un tessuto cartilagineo di riparazione, costituito da fibrocartilagine e cartilagine simil-ialina.

In seguito si è cercato di superare le limitazioni di questa tecnica proponendo varie modifiche al metodo originale. Infatti, le cellule ed i fattori di crescita derivati dalle microfratture non sono trattenuti in situ a livello della lesione ma sono liberi di diffondersi all'interno della articolazione rendendo il coagulo di nuova formazione instabile e incapace di sostenere i carichi e le forze di taglio. Pertanto negli ultimi anni è stata proposta una nuova tecnica di riparazione e ricrescita della cartilagine: la tecnica AMIC®. Tale tecnica AMIC® (*Autologous Matrix-Induced Chondrogenesis*) è stata sviluppata da Benthien e Behrens⁴ ed utilizza una membrana di collagene di tipo I e III naturale (Chondro-Gide, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Svizzera) per coprire l'area del difetto condrale trattata mediante le microfratture e stabilizzare il coagulo in via di organizzazione. Il razionale di tale tecnica chirurgica è stato approfondito e validato in diversi lavori scientifici⁵⁻⁸. Riassumendo, si può affermare che la presenza di uno scaffold collagenico consente di migliorare la stabilità meccanica del coagulo e può anche fornire uno supporto iniziale e un microambiente adeguato per il processo di differenziazione condrocitaria delle cellule mesenchimali ed avviare il processo di rigenerazione della cartilagine. La tecnica AMIC® ha poi il vantaggio di essere una tecnica one-step e di non richiedere alcuna espansione cellulare in vitro.

Proprio nell'ottica, sempre più attuale, di ricorrere a metodiche di riparazione one-step, la ricerca si è negli ultimi anni orientata verso le tecniche di medicina rigenerativa, tra cui, in particolare, il ricorso alle cellule mesenchimali da tessuto adiposo facilmente ottenibili in gran numero tramite un semplice intervento di liposuzione dell'addome⁹⁻¹¹. Tale tecnica ha, tra gli altri, anche il vantaggio di non necessitare di due interventi chirurgici, il primo di biopsia della cartilagine ed il secondo di impianto del materiale

LIPO-AMIC: descrizione tecnica e studio pilota su 18 pazienti della tecnica AMIC® modificata con aggiunta di cellule mesenchimali da tessuto adiposo

coltivato, così come nella tecnica di impiego dei condrociti autologhi (ACI) introdotta da Petersen¹².

Proprio perché il trattamento dei difetti cartilaginei rappresenta da sempre una sfida per i chirurghi ortopedici, in questo studio pilota, viene descritta una modificazione della tecnica AMIC® originaria, da noi definita LIPO-AMIC. Abbiamo utilizzato tale tecnica per il trattamento delle lesioni condrali ed osteocondrali del ginocchio. La membrana di collagene di tipo I e III viene imbevuta di cellule mesenchimali lipoaspirate dal tessuto adiposo periombelicale mediante l'impiego del sistema Lipogems® (Process Kit Lipogems International S.p.A., Milano, Italia) e le restanti cellule vengono successivamente infiltrate in situ. Questo ci permette di apportare un gran numero di cellule mesenchimali al centro della lesione stimolando la ben nota capacità paracrina e immunomodulante di dette cellule^{13,14}. È stato dimostrato che le cellule mesenchimali da tessuto adiposo e lo stesso tessuto adiposo microframmentato posseggono una importante capacità condrogenica¹⁵⁻¹⁷ e ciò ci ha spinto ad immaginare che l'aggiunta di tali elementi cellulari supportati dallo scaffold collagenico possa incrementare ed accelerare il processo di riparazione dei difetti cartilaginei, consentendo una più efficace differenziazione in condrociti e la formazione di nuovo tessuto cartilagineo sano.

In questo studio pilota presentiamo i risultati clinici, funzionali e di sollievo dal dolore, e l'evoluzione della riparazione mediante diagnostica per immagini con risonanza magnetica in 18 pazienti trattati con la tecnica LIPO-AMIC con lo scopo di confermare se tale tecnica sia adatta al trattamento dei difetti cartilaginei del ginocchio.

Materiali e metodi

I pazienti inclusi nello studio sono tutti stati edotti nel dettaglio della tecnica chirurgica ed hanno fornito la propria autorizzazione all'intervento firmando il consenso informato.

Indicazioni per la procedura LIPO-AMIC: sono state prese in considerazione le lesioni cartilaginee sintomatiche di III-IV grado secondo la classificazione della *International Cartilage Repair Society* (ICRS), dimensione del difetto da trattare superiore ad 1 cm² e difetti localizzati a livello dei condili femorali, mediale e laterale, della retrosuperficie della rotula o della troclea femorale in pazienti di età compresa tra i 30 ed i 60 anni.

I principali criteri di esclusione sono stati una osteoartrosi avanzata del ginocchio, un restringimento significativo delle interlinee articolari femoro-tibiali, una preesistente malattia reumatica, una pregressa meniscectomia totale, un sovrappeso importante (BMI > 35), la presenza di un malallineamento o di una instabilità articolare tibio-femorale

o patello-femorale non trattabili in maniera concomitante. 18 pazienti (maschi e femmine), di età compresa tra i 31 ed i 58 anni, sono stati trattati con la tecnica LIPO-AMIC ed hanno raggiunto i due anni di follow-up. La BMI dei pazienti è risultata pari a 25,5. In 10 casi è stato trattato il ginocchio sinistro ed in 8 casi il destro. Le lesioni cartilaginee sono sempre state evidenziate con la risonanza magnetica e confermate all'artroscopia di ginocchio che ne ha anche consentito la diagnosi quali lesioni di III o IV grado secondo la classificazione ICRS. Le lesioni erano localizzate a livello del condilo femorale mediale o laterale, della retro-superficie della rotula o della troclea femorale. Le patologie coesistenti (malallineamenti tibio-femorali, malallineamenti femoro-rotulei e lassità legamentose) sono state trattate durante la stessa procedura chirurgica. I pazienti hanno tutti seguito lo stesso protocollo riabilitativo post-operatorio, differenziato in base alla sede della lesione, e sono stati seguiti con controlli clinici regolari, ogni quindici giorni per i primi quattro mesi, quindi a 6 mesi, 12 mesi e 24 mesi e mediante esami di risonanza magnetica del ginocchio. Tutti i pazienti sono stati regolarmente valutati, nel pre-operatorio e nel post-operatorio, utilizzando lo score dell'*International Knee Documentation Committee* (IKDC), il *Lysholm Knee Score*, il *Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score* (KOOS), la *Visual Analogue Scale* (VAS) per la valutazione del dolore, fino ai 24 mesi di follow-up.

Tecnica chirurgica

Tutte le procedure chirurgiche sono state effettuate in un unico tempo chirurgico, in anestesia loco-regionale e dopo preparazione di routine del campo operatorio sterile. Il primo tempo chirurgico prevede, in anestesia locale, l'estrazione, previa infiltrazione di soluzione di Klein, mediante il semplice metodo della liposuzione, di 50-80 ml di lipoaspirato dal tessuto adiposo periombelicale, utilizzando un kit dedicato monouso disponibile in commercio per l'aspirazione e la successiva processazione (filtrazione e microframmentazione) ed innesto del tessuto adiposo (Process Kit Lipogems, Lipogems International S.p.A., Milano, Italia), per il cui impiego abbiamo seguito le istruzioni fornite dal produttore. Tale device riduce progressivamente le dimensioni dei clusters del tessuto adiposo, eliminando nel contempo i residui ematici e le sostanze oleose con capacità pro-infiammatorie, minimizzando, grazie alla effettuazione di tutto il processo all'interno di soluzione fisiologica, i rischi di danneggiare le cellule mesenchimali. Una volta terminato il prelievo adiposo, il secondo passo dell'intervento chirurgico è la riparazione del difetto focale condrale od osteocondrale. Una volta identificato (Fig. 1), il difetto condrale od osteocondrale viene accuratamente ripulito mediante delle curettes fino ad ottenere margini

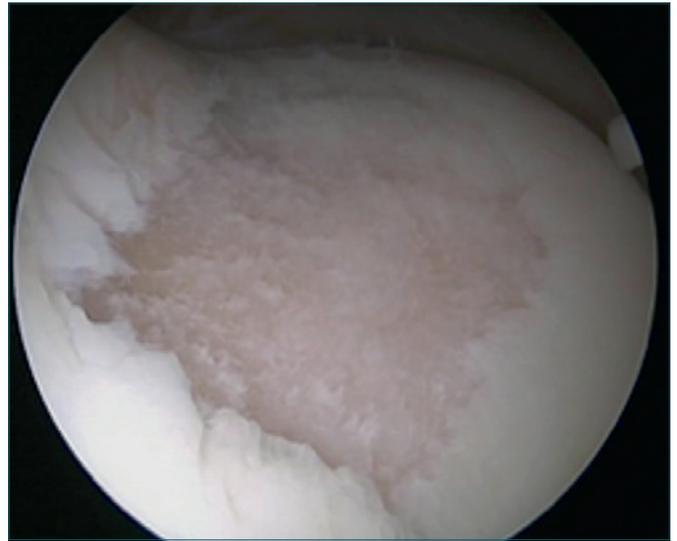


Figura 1. Difetto osteocondrale di IV della troclea femorale di dimensioni 2,0 cm per 2,3 cm.

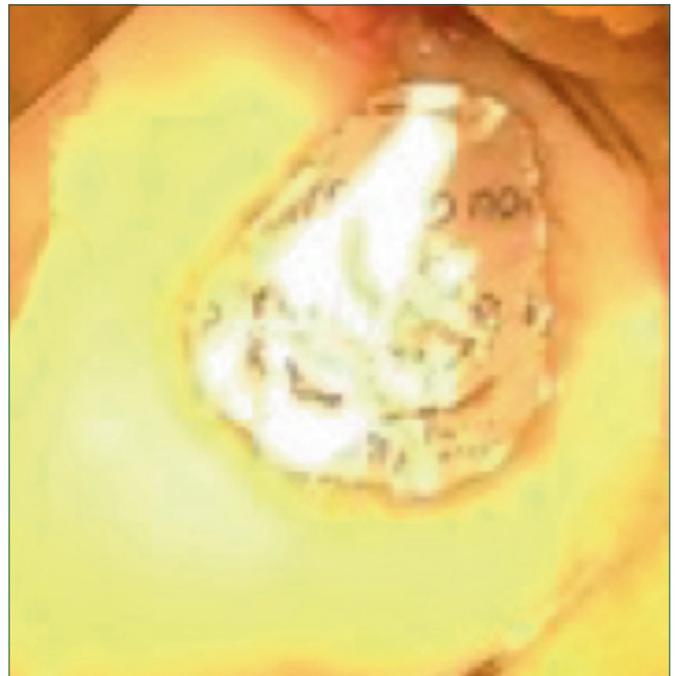


Figura 2. Terminato il debridement, viene, poi, ottenuta una copia perfetta del difetto utilizzando un modello di alluminio.

stabili, puliti e perpendicolari di cartilagine sana e viene quindi accuratamente misurato. Viene, poi, ottenuta una copia perfetta del difetto utilizzando un modello di alluminio (Fig. 2), da cui viene ritagliata l'impronta esatta del difetto. Si eseguono accuratamente le microfratture nel letto subcondrale della lesione avendo cura di distribuirle



Figura 3. La membrana collagenica che verrà utilizzata per la riparazione viene immersa per alcuni minuti nel tessuto adiposo microframmentato e nella frazione vascolare stromale estratta dal tessuto adiposo.

uniformemente dalla periferia al centro e rispettando sempre la distanza tra un foro e l'altro in modo da lasciare ponti ossei sani e resistenti. Successivamente si procede al taglio della membrana (Chondro-Gide®, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Svizzera) sulla base del modello e la si immerge per alcuni minuti nel tessuto adiposo microframmentato e nella frazione vascolare stromale estratta dal tessuto adiposo (Fig. 3). La membrana collagenica costituisce uno scaffold ideale in quanto la sua natura porosa permette alle cellule di annidarsi all'interno delle celle trovando così l'ambiente più idoneo alla crescita e alla differenziazione. A questo punto la membrana arricchita viene inserita nell'articolazione a coprire direttamente ed accuratamente il difetto (Fig. 4). La rimanente parte delle cellule ottenute dal tessuto adiposo viene infiltrata sulla sede della lesione e quindi sigillata con colla di fibrina (Tissucol, Baxter, Roma, Italia). In tal modo, la membrana verrà a svolgere una doppia azione: oltre a rappresentare la barriera in grado di trattenere le cellule mesenchimali provenienti dal sangue midollare costituisce uno scaffold arricchito ed attivato dalle cellule mesenchimali adipose per accelerare il processo di sviluppo condrocitario. Dopo aver posizionato la membrana di collagene a doppio strato ChondroGide® ed aver atteso alcuni minuti per essere certi della sua adesione, vengono praticati movimenti di flesso-estensione del ginocchio per verificare la stabilità dell'impianto e vengono chiuse le ferite chirurgiche come

LIPO-AMIC: descrizione tecnica e studio pilota su 18 pazienti della tecnica AMIC® modificata con aggiunta di cellule mesenchimali da tessuto adiposo

di routine ed il ginocchio immobilizzato in un bendaggio molle.

Le patologie coesistenti presenti (malallineamenti tibio-femorali, malallineamenti femoro-rotulei e lassità legamentose) sono state trattate durante la stessa procedura chirurgica.

Risultati

Tutti i pazienti trattati mediante tecnica LIPO-AMIC sono stati valutati sia clinicamente che tramite diagnostica per immagini mediante risonanza magnetica con follow-up progressivi a 6, 12 e 24 mesi. I pazienti sono stati valutati mediante gli scores IKDC, Lysholm, KOOS e VAS.

Tutti i pazienti hanno mostrato miglioramenti significativi di tutti gli scores di valutazione ai controlli di follow-up a 6, 12 e 24 mesi. Non sono state osservate reazioni avverse o complicazioni intra e postoperatorie.

Il valore pre-operatorio medio dello score IKDC soggettivo pari a 36 (range 24-44) è significativamente aumentato ad un valore medio a 6 mesi pari a 79 (range 70-90), a 12 mesi a 82 (range 74-92) e a 24 mesi a 86 (range 74-94).

Il valore pre-operatorio medio del *Lysholm Knee Score* di 44 (range 26-66) ha raggiunto al follow-up a 6 mesi il valore di 83 (range 65-93) a 12 mesi il valore di 88 (range 70-96) ed all'ultimo follow-up a 24 mesi il valore di 94 (range 72-98).

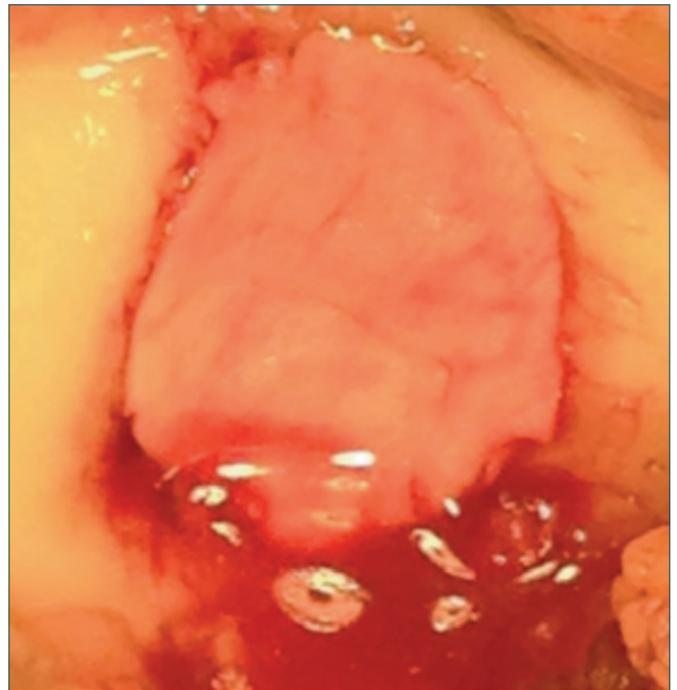


Figura 4. Aspetto finale della riparazione del difetto della troclea femorale mediante tecnica LIPO-AMIC.

Lo score KOOS scomposto nei sottogruppi ha evidenziato i seguenti risultati. Il punteggio di valutazione del dolore è passato da un punteggio pre-operatorio di 64 a 88,9 a sei mesi, 93 a 12 mesi e 94,2 a 24 mesi. La valutazione dei sintomi è variata da 66 nel pre-operatorio ad un punteggio di 86,8 a 6 mesi, 90,8 a 12 mesi e 92,8 a 24 mesi. La valutazione delle attività della vita quotidiana è passata da 68 a 90,9 a 6 mesi, a 95 a 12 mesi e 95,5 a 24 mesi. La valutazione della ripresa delle attività sportive ha visto un punteggio pre-operatorio di 43, passato a 68 a 6 mesi, 72 a 12 mesi e 73 a 24 mesi. Infine, la valutazione globale della qualità di vita pari a 38 punti nel pre-operatorio è migliorata nettamente già a 6 mesi (76 punti) per poi raggiungere i 77,9 punti a 12 ed i 78,6 punti a 24 mesi.

Lo score VAS per la valutazione del dolore è passato da un valore pre-operatorio di 6,5 ad un valore a 6 mesi di 1, per poi ulteriormente progredire nel miglioramento a 12 mesi (0,8) e 24 mesi (0,5).

La valutazione delle immagini di RM ha mostrato progressivamente nei controlli di follow-up la neoformazione della lamina subcondrale ed una riduzione significativa dell'area del difetto condrale, con riempimento completo del difetto nella maggioranza dei casi, in assenza di segni di ipertrofia od edema osseo (Fig. 5).

Discussione

Scopo di questo lavoro era di confermare la possibilità, la validità e l'efficacia della riparazione one-step dei difetti cartilaginei del ginocchio mediante cellule mesenchimali da tessuto adiposo adese ad una membrana di collagene di tipo I e III.

Kramer et al., nel 2006,¹⁸ hanno dimostrato in uno studio in vitro che una membrana collagenica è in grado di trattenere le cellule mesenchimali derivanti dal midollo osseo dopo le microfratture e che queste cellule hanno la capacità di differenziare verso la linea condrogenica, adipogenica ed osteogenica. Dickhut et al., hanno effettuato lavori in vitro che dimostrano che un carrier bifasico di collagene di tipo I e III, quale la membrana Chondro-Gide®, è in grado di favorire la condrogenesi delle cellule mesenchimali. Essa, confrontata con una membrana priva di collagene, fornisce una maggiore stabilità del tessuto di riparazione.^{19 20} Gille et al.²¹, in uno studio di 12 mesi su pecore, hanno dimostrato che quando si applica una membrana collagenica nella zona da riparare sottoposta a microfratture, si ottiene un tessuto di riparazione di maggiore spessore rispetto a quello ottenuto con le sole microfratture.

Per i nostri scopi, il principale interesse verso le cellule mesenchimali da tessuto adiposo (ADSC) deriva dal fatto che queste cellule sono multipotenti, quindi in grado di differenziare in diversi tipi di cellule compresi i condrociti.

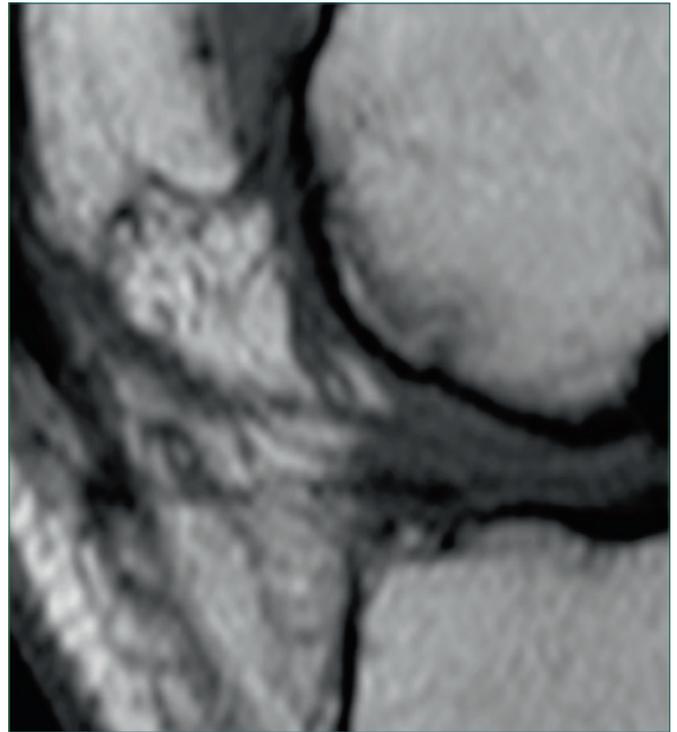


Figura 5. Immagine RM di controllo del difetto della troclea femorale mostrata in Figura 2 a 24 mesi dall'intervento chirurgico mediante tecnica LIPO-AMIC.

Il potenziale condrogenico delle cellule ADSC umane è stato, nel corso degli anni chiaramente dimostrato da diversi lavori. Nel 2002, dopo un processo di differenziazione in vitro, Erickson et al. (Erickson GR et al. 2002)²² hanno mostrato che le ADSC umane mantengono il fenotipo dei condrociti e formano il tessuto cartilagineo quando impiantate per via sottocutanea in vivo in topi immunodeficienti per un massimo di 12 settimane. In numerosi altri studi²³⁻²⁵ è stato dimostrato che, in determinate condizioni, le ADSC possono esprimere i geni e le proteine di diverse molecole specifiche della cartilagine, tra cui il collagene di tipo II e l'aggregano, senza espressione dei marcatori dei condrociti ipertrofici, quali il collagene di tipo X. Tuttavia, in diverse condizioni definite, le ADSC possono essere indotte a sintetizzare collagene di tipo I e tipo II, suggerendo che un fenotipo fibrocartilagineo è anche possibile. Quando mantenute in coltura pellet o incapsulate in perline di alginato e coltivate con 10 ng/ml di fattore di crescita TGF- β 1, ascorbato e desametasone, e hanno dimostrato di esprimere un fenotipo simil-condrocitario e sintetizzare il collagene di tipo II, l'aggregano, le proteine di collegamento (*link proteins*) ed il condroitinsolfato in modo dipendente dal tempo sulla base dell'analisi, della immu-

noistochimica, e della incorporazione dei radiotraccianti dell'mRNA, con un significativo aumento della sintesi dei proteoglicani e delle proteine, in condizioni condrogeniche. Winter et al. hanno riferito che il profilo di espressione genica delle ADSC in condizioni condrogeniche è simile a quello delle cellule mesenchimali ²³.

Le cellule mesenchimali da tessuto adiposo in questo momento possono, quindi, essere considerate sicuramente in grado di formare tessuto cartilagineo.

Nel corso degli anni sono stati proposti diversi metodi di processazione del lipoaspirato, che possono essere per comodità differenziati in due grandi linee: la tecnica di processazione enzimatica e non-enzimatica. I primi utilizzano enzimi quali la collagenasi, la tripsina o la dispasi per digerire il tessuto adiposo, con una certa variabilità per quanto concerne il numero di lavaggi, la concentrazione degli enzimi, i parametri di centrifugazione e di filtrazione ed i metodi di lisi eritrocitaria. La frazione in grado di aderire alla plastica, contenente le ADSC, viene ottenuta dopo i passaggi e può essere ulteriormente resa omogenea se coltivata per espansione.

Gli enzimi però possono modificare la sicurezza e l'efficacia del processo, oltre ad innalzare i costi, e non permettono il pieno rispetto delle normative di legge. Per questo motivo l'attenzione si è spostata sui metodi non-enzimatici di separazione cellulare che sfruttano steps meccanici, quali la centrifugazione, la pressione, la filtrazione per separare le cellule dal tessuto adiposo.

Tra questi il sistema Lipogems, un sistema di processazione del tessuto adiposo a ciclo chiuso innovativo che permette la manipolazione minima del tessuto (solo tramite azione meccanica), come consentito dalle norme di legge. Esso permette inoltre il mantenimento delle nicchie della frazione vascolo stromale, la riduzione dei clusters del grasso per consentire l'iniezione con aghi di calibro appropriato e la rimozione delle impurità permettendo di avere subito disponibile in sala un prodotto rigenerativo da applicare sul difetto e sullo scaffold.

La membrana Chondro-Gide® è una membrana di collagene riassorbibile, consistente in collagene di tipo I e III. Ha la particolarità di possedere una struttura a doppio strato, con uno strato compatto ed uno poroso. Lo strato compatto, che è occlusivo per le cellule, impedisce alle cellule di diffondersi oltre e le protegge anche da urti meccanici. Lo strato poroso è costituito da fibre di collagene con una disposizione lassa e porosa che favorisce l'invasione l'insediamento delle cellule. Questa matrice di collagene 3D, come anticipato precedentemente, è stato dimostrato essere in grado di stimolare le cellule autologhe impiantate a differenziarsi nel fenotipo condrocitario ed a produrre collagene di tipo II e GAG.

Questo lavoro ha confermato che la tecnica di riparazione definita LIPO-AMIC è in grado di migliorare significativa-

LIPO-AMIC: descrizione tecnica e studio pilota su 18 pazienti della tecnica AMIC® modificata con aggiunta di cellule mesenchimali da tessuto adiposo

mente la sintomatologia e la funzione delle ginocchia affette da difetti cartilaginei, a cominciare dal primo follow-up a sei mesi dall'intervento chirurgico. Tra le debolezze di questo studio devono, tuttavia, essere ricordate la mancanza di un gruppo di controllo ed il fatto che, in alcuni casi, l'intervento non sia stato eseguito in maniera isolata, ma associato ad altre procedure chirurgiche di correzione dell'allineamento o della instabilità del ginocchio. I risultati devono, infine, essere valutati ancora nell'ottica del breve termine, essendo i follow-up più lunghi ancora solamente a due anni e ciò non consente di conoscere l'efficacia di tale procedura nel prevenire la degenerazione artrosica. Tuttavia, i buoni risultati riportati nella letteratura più recente sull'utilizzo delle cellule mesenchimali da tessuto adiposo quale terapia infiltrativa nei pazienti affetti da artrosi del ginocchio ²⁶⁻²⁹, consentono di essere ottimisti a tale riguardo.

Conclusioni

Nell'insieme la possibilità di ottenere un grande numero di cellule mesenchimali vitali da tessuto adiposo, con clusters e nicchie vascolo stromali intatte, con capacità condrogenica e paracrina elevate insieme all'uso di una membrana collagenica in grado di trattenere le cellule in situ e favorirne la trasformazione condrogenica, rendono ragione dei significativi miglioramenti riscontrati nei pazienti da noi trattati e consentono di convalidare questa tecnica quale procedura one-step semplice, sicura ed efficace per la riparazione dei difetti cartilaginei articolari.

È, comunque, auspicabile l'effettuazione di uno studio clinico e di diagnostica per immagini con follow-up di più lunga durata per poter ancor più confermare e convalidare il potenziale di tale procedura chirurgica ricostruttiva.

Bibliografia

- 1 Pridie KH. *A method of resurfacing osteoarthritic knee joints.* J Bone Joint Surg Br 1959;41:618-9.
- 2 Steadman J, Rodkey W, Singleton S, et al. *Microfracture technique for full-thickness chondral defects: technique and clinical results.* Oper Tech Orthop 1997;7:300-4.
- 3 Steadman JR, Rodkey WG, Rodrigo JJ. *Microfracture: surgical technique and rehabilitation to treat chondral defects.* Clin Orthop Relat Res 2001;391:S362-369.
- 4 Benthien JP, Behrens P. *The treatment of chondral and osteochondral defects of the knee with autologous matrix-induced chondrogenesis (AMIC): method description and recent developments.* Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 2011;19:1316-9.
- 5 Gille J, Schuseil E, Wimmer J, et al. *Mid-term results of Autologous Matrix-Induced Chondrogenesis for treatment of*

- focal cartilage defects in the knee*. *Knee Surg Sport Traumatol Arthrosc* 2010;18:1456-64.
- 6 Kusano T, Jakob RP, Gautier E, et al. *Treatment of isolated chondral and osteochondral defects in the knee by autologous matrix-induced chondrogenesis (AMIC)*. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2012;20:2105-11.
- 7 Gille J, Behrens P, Volpi P, et al. *Outcome of Autologous Matrix Induced Chondrogenesis (AMIC) in cartilage knee surgery: data of the AMIC Registry*. *Arch Orthop Trauma Surg* 2013;133:87-93.
- 8 Zhang C, Cai YZ, Lin XJ. *One-step cartilage repair technique as a next generation of cell therapy for cartilage defects: biological characteristics, preclinical application, surgical techniques, and clinical developments*. *Arthroscopy* 2016;32:1444-50.
- 9 Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, et al. *Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies*. *Tissue Eng* 2001;7:211-26.
- 10 Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, et al. *Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells*. *Mol Biol Cell* 2002;13:4279-95.
- 11 Sciarretta FV, Ascani C. *Adipose tissue and progenitor cells for cartilage formation*. In: Doral MN, Karlsson J, eds. *Sports injuries: prevention, diagnosis, treatment and rehabilitation*. 2nd ed. Springer 2015, pp. 1845-1855.
- 12 Brittberg M, Peterson L, et al. *Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation*. *New Engl J Med* 1994;33:889-95.
- 13 Caplan AI, Correa D. *The MSC: an injury drugstore*. *Cell Stem Cell* 2011;9:11-15.
- 14 de Girolamo L, Lucarelli E, Alessandri G, et al; Italian Mesenchymal Stem Cell Group. *Mesenchymal stem/stromal cells: a new "cells as drugs paradigm". Efficacy and critical aspects in cell therapy*. *Curr Pharm Des* 2013;19:2459-73.
- 15 Bosetti M, Borrone A, Follenzi A, et al. *Human lipoaspirate as autologous injectable active scaffold for one-step repair of cartilage defects*. *Cell Transplant* 2016;25:1043-56.
- 16 Tremolada C, Palmieri G, Ricordi C. *Adipocyte transplantation and stem cells: plastic surgery meets regenerative medicine*. *Cell Transplant* 2010;19:1217-23.
- 17 Bianchi F, Maioli M, Leonardi E, et al. *A new nonenzymatic method and device to obtain a fat tissue derivative highly enriched in pericyte-like elements by mild mechanical forces from human lipoaspirates*. *Cell Transplant* 2013;22:2063-77.
- 18 Kramer J, Böhrnsen F, Lindner U, et al. *In vivo matrix-guided human mesenchymal stem cells*. *Cell Mol Life Sci* 2006;63:616-26.
- 19 Dickhut A, Gottwald E, Steck E, et al. *Chondrogenesis of mesenchymal stem cells in gel-like biomaterials in vitro and in vivo*. *Front Biosci* 2008;13:4517-28.
- 20 Dickhut A, Dexheimer V, Martin K, et al. *Chondrogenesis of human mesenchymal stem cells by local TGF-beta delivery in a biphasic resorbable carrier*. *Tissue Eng Part A* 2010 Feb;16:453-64.
- 21 Gille J, Kunow J, Boisch L, et al. *Cell-laden and cell-free matrix-induced chondrogenesis versus microfracture for the treatment of articular cartilage defects: a histological and biomechanical study in sheep*. *Cartilage* 2010;1:29-42.
- 22 Erickson GR, Gimble JM, Franklin DM, et al. *Chondrogenic potential of adipose tissue-derived stromal cells in vitro and in vivo*. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;290:763-9.
- 23 Winter A, Breit S, Parsch D, et al. *Cartilage-like gene expression in differentiated human stem cell spheroids: a comparison of bone marrow-derived and adipose tissue-derived stromal cells*. *Arthritis Rheum* 2003;48:418-29.
- 24 Gronthos S, Franklin DM, Leddy HA, et al. *Surface protein characterization of human adipose tissue-derived stromal cells*. *J Cell Physiol* 2001;189:54-63.
- 25 McIntosh K, Zvonick S, Garrett S, et al. *The immunogenicity of human adipose-derived cells: temporal changes in vitro*. *Stem Cells* 2006;24:1246-53.
- 26 Koh YG, Choi YJ. *Infrapatellar fat pad-derived mesenchymal stem cell therapy for knee osteoarthritis*. *Knee* 2012;19:902-7.
- 27 Koh YG, Jo SB, Kwon OR, et al. *Mesenchymal stem cell injections improve symptoms of knee osteoarthritis*. *Arthroscopy* 2013;29:748-55.
- 28 Franceschini M, Castellaneta C, Mineo G. *Injection of autologous micro-fragmented adipose tissue for the treatment of post-traumatic degenerative lesion of knee cartilage: a case report*. *CellR4* 2016;4:1-6.
- 29 Striano RD, Chen H, Bilboul N, et al. *Non-responsive knee pain with osteoarthritis and concurrent meniscal disease treated with autologous micro-fragmented adipose tissue under continuous ultrasound guidance*. *CellR4* 2015;3:1-7.

Gli Autori dichiarano di non avere alcun conflitto di interesse con l'argomento trattato nell'articolo.