



Le cellule staminali: impiego clinico

F. Vandenbulcke^{1,2,a} (✉), G. Beltrame¹, N.D. Vitale^{1,2}, B. Di Matteo^{1,2}, E. Kon^{1,2,3}

¹Department of Biomedical Sciences, Humanitas University, Rozzano (MI), Italia

²Humanitas Clinical and Research Center, Rozzano (MI), Italia

³First Moscow State Medical University – Sechenov University, Mosca, Russia

^afilippo.vandenbulcke@humanitas.it

ABSTRACT – THE CLINICAL APPLICATION OF MSCs IN ORTHOPAEDICS

A systematic review of clinical applications of MSCs in the treatment of knee osteoarthritis (OA). Twenty-three papers were included in the final analysis (10 on BMAC and 13 on SVF). Of these, only 4 were randomised controlled trials (RCTs). The Coleman Score, used for bias risk evaluation, revealed an overall poor quality of the studies. In terms of clinical application, despite the apparent safety and the short-term positive clinical outcomes, clinicians reported different preparation and administration methods. The available literature is not sufficient to make any recommendation on the use of either product in clinical practice, even though they have both shown to be safe and have some short-term beneficial effects.

Publicato online: 22 ottobre 2019

© Società Italiana Ortopedici Traumatologi Ospedalieri d'Italia 2019

Introduzione

L'interesse per l'applicazione della medicina rigenerativa nel trattamento dell'artrosi di ginocchio è in aumento [1], non solo per i casi di artrosi giovanile con una limitata indicazione chirurgica, ma anche nei pazienti attivi di mezza età, che aspirano a mantenere il loro stile di vita e ritardare o evitare l'impianto di protesi. Tuttavia, ad oggi, nessun trattamento è in grado di ristabilire le caratteristiche originali dell'articolazione né di migliorare il danno articolare diffuso [2, 3].

Terapie innovative, quali il platelet-derived growth factor (GFs) e terapie cell-based (talvolta combinate con biomateriali) sono state proposte come possibili soluzioni per questi pazienti [4, 5] e stanno emergendo come opzione terapeutica anche le cellule mesenchimali (MSCs), grazie alla loro differenziazione multilineare [6]. Le MSCs sono infatti in grado di differenziarsi in diverse linee cellulari, quali osteoblasti, condrociti e adipociti, e sono caratterizzate da elevata plasticità, limitata capacità riproduttiva e un'azione immunosoppressiva e anti-infiammatoria [7]. Inoltre, rilasciano fattori di crescita, citochine, lipidi bioattivi e microvescicole che hanno numerosi effetti benefici tra i quali un'azione angiopoietica e anti-apoptotica. Molti studi hanno dimostrato la presenza di MSCs in numerosi tessuti differenziati, tra i quali quello adiposo e muscolare, il derma, il periosteo, la membrana sinoviale, il fluido sinoviale e la cartilagine articolare [8]. La medicina rigenerativa ha concentrato la sua

attenzione soprattutto sulle cellule mesenchimali di derivazione adiposa (adipose-derived stem cells, ASCs) e su quelle derivate da midollo osseo (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) [9, 10].

L'applicazione clinica delle MSCs è rigorosamente disciplinata, in particolare nel caso di cellule espanse. Queste ultime, nonostante siano un prodotto autologo, sono considerate “farmaci” e, di conseguenza, il loro utilizzo nella pratica quotidiana è molto limitato sia in Europa sia negli Stati Uniti [11]. Con l'intenzione di trovare nuove strategie per l'utilizzo delle MSCs, è stato sviluppato il concetto di “cellule minimamente manipolate”. Se le cellule non sono espanse, ma solamente manipolate all'interno o nelle vicinanze della sala operatoria, la loro applicazione è più semplice e possono essere somministrate senza i dettami degli studi clinici (approvazione delle autorità locali e del Ministero della Salute). Seguendo questo ragionamento sono emerse due possibilità terapeutiche: concentrati midollari (BMAC) e Frazione Vascolare Stromale di derivazione adiposa (SVF). I concentrati midollari (BMAC) si ottengono con agoaspirazione del midollo osseo (solitamente si preleva dalla cresta iliaca, ma si possono usare vari siti) e successiva concentrazione del ricavato mediante apposite centrifughe che possono essere trasportate e usate all'interno della sala operatoria [7, 12]. La raccolta di SVF di derivazione adiposa si articola invece in diverse fasi; prima di tutto si esegue una liposuzione per ottenere del tessuto adiposo. Si aggiunge dunque al lipoaspi-

rato l'enzima collagenasi per isolare le ASCs dalla matrice extracellulare (ECM) [13]. In seguito, l'enzima collagenasi è rimosso tramite diluizione, ovvero aggiungendo della soluzione salina, seguita (in alcuni casi) da una centrifugazione sterile. Si ottiene dunque la frazione vascolare stromale, pronta per essere somministrata al paziente. L'intenzione di questa revisione sistematica è quella di valutare le applicazioni cliniche delle MSCs minimamente manipolate (quali BMAC e SVF) nel trattamento dell'artrosi di ginocchio.

Materiali e metodi

Abbiamo svolto questa revisione sistematica in accordo con le linee guida di Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) [14]. Due autori indipendenti (N.D.V. e F.V.) hanno svolto una revisione sistematica di tre database online (PubMed, Science Direct and Google Scholar) dal 1998 al 20 ottobre 2018. Per raggiungere la massima sensibilità nella ricerca, abbiamo combinato i termini "Knee Osteoarthritis" o "Knee OA" con "(Bone marrow aspirate) O (bone marrow concentrate)" o con "(adipose derived mesenchymal stem cells) O (adipose derived stromal cells) O (stromal vascular fraction) O (SVF)" come parole chiave o termini MeSH. Gli articoli identificati sono stati revisionati utilizzando i criteri di inclusione ed esclusione riportati sotto.

Sono stati ritenuti idonei ad essere inseriti nella presente revisione sistematica gli studi riguardanti l'uso intra-articolare di cellule minimamente manipolate BMAC o SVF nel trattamento dell'artrosi di ginocchio. La scrematura iniziale di titolo e abstract è stata svolta mediante i seguenti criteri di inclusione: studi di qualsiasi livello di evidenza, scritti in inglese e riportanti risultati clinici successivi all'uso intra-articolare di BMAC o SVF in artrosi di ginocchio. Al contrario, sono stati esclusi gli articoli su cellule mesenchimali espanse o altrimenti manipolate, così come quelli sull'uso di MSCs utilizzate con altri fini (es. difetti cartilaginei focali). Inoltre, abbiamo deciso di escludere tutti gli articoli doppi, gli articoli provenienti da riviste non-peer-reviewed, editoriali e opinioni di esperti.

Tutti i dati sono stati estratti da testi, tabelle e figure. Due investigatori hanno indipendentemente revisionato ogni articolo (F.V. e N.D.V.), mentre i risultati finali sono stati analizzati da *senior investigators* (B.D.M. e E.K.) che hanno posto il giudizio finale. La valutazione del rischio di bias dei vari articoli è stata fatta seguendo lo score metodologico di Coleman, modificato da Kon-Verdonk [15].

Risultati

Seguendo i criteri di inclusione ed esclusione sopracitati, 23 articoli sono stati inclusi nella presente revisione sistematica. Tredici articoli analizzano l'uso di SVF e 10 l'uso di BMAC.

BMAC

Metodi applicativi e valutazione della qualità della letteratura
I risultati della valutazione della qualità degli studi, ottenuti mediante il Coleman methodology score, modificato da Kon-Verdonk riportano un punteggio medio di 37,4 su 100, mostrando una carenza di metodologia nella letteratura disponibile.

I 10 studi che indagano l'utilizzo di BMAC includono 1.710 ginocchia, ovvero 1.386 pazienti affetti da OA. Il concentrato di midollo osseo è stato iniettato nel compartimento intra-articolare in 8 studi [16–23] e nell'osso subcondrale tibiale e femorale in altri 2 studi [24, 25]. In entrambi i casi, dopo la centrifugazione e prima dell'infiltrazione, il composto non è stato manipolato, coltivato o espanso.

Il protocollo terapeutico di 5 articoli prevede una singola infiltrazione: due di questi analizzano un'infiltrazione di BMAC subcondrale [24, 25], mentre i rimanenti 3 si concentrano su un'infiltrazione intra articolare [16–18], di cui uno di questi ultimi studia l'esecuzione di 4 infiltrazioni in 3 mesi [17]. Altri autori somministrano BMAC e PRP nella stessa seduta [19, 21, 22], o PRP da solo dopo un certo periodo di tempo come *booster* [20]. Infine, due autori utilizzano BMAC associato a tessuto adiposo [22, 23].

Risultati clinici

Il principale risultato emerso dagli articoli revisionati è una diminuzione del dolore e un miglioramento nella funzionalità di quasi tutti i gruppi. Ciò nonostante non si è dimostrata una superiorità rispetto ai trattamenti usuali, quali viscosupplementazione o corticosteroidi. Shapiro et al. [19] hanno svolto l'unico studio clinico randomizzato con un gruppo di controllo a cui è stato somministrato un placebo e non hanno trovato alcuna differenza statisticamente rilevante tra l'uso di BMAC o di soluzione salina. Inoltre, studi su RM hanno riportato risultati contrastanti; mentre Shapiro e colleghi [19] non hanno evidenziato la presenza di alcuna rigenerazione cartilaginea alla RM, Vad et al. [24] nel loro studio pilota hanno osservato un aumento in media del 14% dello spessore della matrice extracellulare, soprattutto nei pazienti giovani. I risultati alla RM sono di gran lunga superiori nei pazienti con osteonecrosi, nei quali si osserva una riparazione della cartilagine e dell'osso subcondrale, con una riduzione del danno midollare del 40% [25]. In ogni caso, sembra che una più alta concentrazione di cellule BMAC sia associata a risultati superiori [21].

Inoltre, Shaw e colleghi suggeriscono che infiltrazioni multiple potrebbero essere più efficaci rispetto ad un'infiltrazione isolata, dal momento che ogni trattamento successivo offre un ulteriore beneficio al paziente [17]. Al contrario, la somministrazione di BMAC congiunto a tessuto adiposo non ha mostrato alcun vantaggio rispetto all'infiltrazione di solo BMAC [22].

SVF

Metodi applicativi e valutazione della qualità della letteratura
Il punteggio medio del Coleman Methodology score (modificato da Kon-Verdonk) dei 13 studi riguardanti SVF è stato di 47 su 100 e, di conseguenza, leggermente migliore rispetto a quello ottenuto dagli studi su BMAC ma ancora insufficiente per definire gli studi “metodologicamente” solidi.

Negli studi con SVF sono stati usati diversi approcci terapeutici; solo 4 [26–29] degli studi inclusi in questa revisione utilizzano un’infiltrazione intra-articolare di SVF, senza alcun altro tipo di trattamento. Al contrario, in altri 3 studi [30–32] il concentrato di SVF, sempre iniettato nel compartimento intra-articolare, è coadiuvato da un concentrato di PRP. Si è osservato, inoltre, che la maggior parte degli autori preferisce somministrare SVF dopo un’artroscopia. Tre degli autori, poi, svolgono prima un debridement o un lavaggio artroscopico [33–35]. Koh e collaboratori [36] eseguono un lavaggio artroscopico prima di iniettare SVF e PRP congiunti; Nguyen e colleghi [37], invece, somministrano SVF sospeso in un concentrato di PRP dopo aver effettuato delle microfratture nell’osso artrosico subcondrale. Solo uno studio [32] riporta il ricorso all’artrotomia nel piano terapeutico; l’infiltrazione di SVF+PRP è successiva a un’osteotomia tibiale prossimale in aggiunta. Per quanto riguarda i risultati ottenuti, solo uno dei tredici studi [26] non riporta una valutazione specifica del paziente mediante questionari quali: WOMAC, IKDC, KOOS, Lysholm Score o Tegner Activity. Nello studio di Hudetz et al. [26], nessuno di questi score è stato considerato; tuttavia, tale studio è stato l’unico a considerare misurazioni di laboratorio. Gli autori hanno esaminato gli effetti ottenuti nella sintesi di proteoglicani del fluido sinoviale in seguito all’infiltrazione di tessuto adiposo autologo microframmentato. Solamente nello studio di Roato e colleghi [29] si analizzano dati immunoistochimici. In quasi tutti gli studi è stata utilizzata la scala di VAS per valutare il dolore artrosico dopo aver somministrato SVF. I cambiamenti alla RM, una volta terminato il protocollo terapeutico, sono stati valutati da sette studi [26, 29–31, 33, 37, 38], mentre una seconda revisione artroscopica è stata eseguita in quattro diversi studi [34–36]. La nostra revisione della letteratura ha rivelato una scarsità di studi randomizzati sull’utilizzo clinico di SVF nel trattamento dell’artrosi, poiché solo due dei tredici studi analizzati sono RCTs [28, 33], nove sono studi clinici prospettici, di cui tre comparativi [34, 35, 37]. I rimanenti sono studi retrospettivi.

Risultati clinici

La presente revisione dei risultati presenti in letteratura ha portato alla luce alcuni aspetti importanti sull’utilizzo clinico di SVF. Innanzitutto, per quanto riguarda la sua sicurezza nel trattamento di artrosi di ginocchio, nessun evento avverso è stato riportato nei tredici studi valutati, ad eccezione di

lievi gonfiori e dolori riportati da alcuni pazienti nei primi giorni dopo l’infiltrazione. La liposuzione è ben tollerata dal paziente, soprattutto grazie al prelievo di quantità di adipe limitate. In secondo luogo, la somministrazione di SVF ha mostrato dei buoni risultati clinici negli studi analizzati; in tutti i tredici studi si è visto un significativo miglioramento nel range di movimento, nel dolore e nella funzione articolare durante le attività quotidiane (misurate mediante i più comuni e validati questionari, quali: WOMAC, IKDC, KOOS, Lysholm Score, Tegner Activity Scale, indice di VAS per il dolore) al controllo finale. In terzo luogo, alla RM si nota un miglioramento [26, 30, 31, 33, 38] (incluso il RC-Ts di Hong), con segni di una parziale rigenerazione della cartilagine articolare. Similmente, Nguyen [37] descrive una notevole riduzione dell’edema osseo nei pazienti trattati con microfratture seguite da infiltrazioni di PRP+SVF, rispetto al gruppo di controllo (trattato solamente con microfratture). Al contrario, Roato e colleghi [29] non riportano una differenza significativa nei punteggi dell’Outerbridge score (parametro quantitativo di intervallo 1–4 che considera il grado di artrosi del ginocchio affetto) della RM eseguita prima del trattamento con SVF e quella eseguita a 18 mesi dall’infiltrazione. Lo stesso studio considera anche i risultati istologici di due pazienti che hanno abbandonato lo studio dopo 12 e 14 mesi, rispettivamente, per sottoporsi ad un’artroplastica. Dopo aver eseguito le biopsie, sono state comparate con quelle collezionate da pazienti (comparabili per età, sesso e grado di artrosi) che si sono direttamente sottoposti a trattamento di artroplastica. Gli autori hanno rilevato la presenza di nuovo tessuto in entrambe le articolazioni precedentemente trattate con SVF, al contrario di quelle trattate solo con artroplastica.

Questi incoraggianti risultati sull’infiltrazione di tessuto adiposo non espanso sono tuttavia indeboliti dalla presenza di numerosi bias nei protocolli di studi; in solo quattro dei tredici studi [26–29] il tessuto adiposo è stato somministrato da solo. Nei rimanenti scritti sono state eseguite contemporaneamente altre infiltrazioni (viscosupplementazione, PRP) o procedure chirurgiche, portando a risultati non utilizzabili.

Discussione

La principale constatazione che segue questa revisione sistematica, circa l’applicazione di BMAC e SVF nel trattamento di artrosi di ginocchio, è la mancanza di valutazioni metodologiche forti, come dimostrato dal *Coleman methodology score*. L’insufficienza di studi randomizzati attualmente pubblicati ci impedisce di giungere a una conclusione solida sul potenziale terapeutico di queste nuove tecniche rispetto a quelle più tradizionali.

Nonostante i risultati clinici sembrino essere positivi, la letteratura scientifica ha delle carenze che emergono quando si valutano i bias degli studi. Il punteggio medio del Coleman

methodology score (modificato da Kon-Verdonk) è significativamente basso, per lo più a causa di un limitato follow-up e a causa della natura retrospettiva degli studi (solo 4 studi sono RCTs [19, 25, 28, 33] e solo 8 prospettici). Inoltre, in molti studi non sono riportati i criteri di inclusione ed esclusione dei pazienti e il processo di selezione, introducendo dunque un ulteriore bias. È necessario considerare anche che, nonostante tutti gli autori abbiano descritto in maniera adeguata la procedura, nella maggior parte degli studi i pazienti si sono contemporaneamente sottoposti a trattamenti chirurgici quali debridement artroscopico, microfratture o osteotomia tibiale, impedendo una valutazione attendibile dell'azione delle cellule mesenchimali. Inoltre, mentre i criteri utilizzati per l'analisi sono sempre definiti e riportati in modo chiaro, garantendo una buona affidabilità e sensibilità, le procedure utilizzate per analizzare i risultati clinici non sono state pienamente elucidate. Inoltre, i risultati alla RM sono stati riportati solo in 11 studi (10/23, 43,5%).

La generale mancanza di metodo, associata ai pochi studi randomizzati, non è un'anomalia nel campo dei trattamenti biologici applicati all'artrosi. Se consideriamo il recente passato, numerose biotecnologie sono state rilasciate sul mercato senza fornire una sufficiente evidenza scientifica: un esempio paradigmatico è il PRP che ha "invaso" la pratica clinica sull'onda di un'ampia esposizione mediatica, più che su una solida evidenza scientifica [39]. Uno dei motivi che sta alla base di questi esiti è la possibilità di intraprendere delle scorciatoie in ambito regolamentare, come l'esenzione 510(k) [40] riguardante nuovi dispositivi medici, "sostanzialmente equivalenti" ad altri già presenti sul mercato. In questo caso è possibile evitare la procedura standard per l'approvazione della FDA. Grazie a questo "escamotage" hanno iniziato a diffondersi numerosi kit per la preparazione di PRP che, tuttavia, portano a risultati diversi in termini biologici, rendendo impossibile una standardizzazione dell'uso di PRP nel trattamento di artrosi o altre condizioni muscolo-scheletriche. Lo stesso rischio incombe ora sulle tecniche riguardanti le cellule staminali, in particolare quelle "minimamente manipolate", che non sono interessate dai limiti regolamentari che devono rispettare le cellule espanse in laboratorio. Di conseguenza, BMAC e SVF stanno emergendo come soluzione più semplice per l'utilizzo di MSCs nella pratica clinica, poiché si estraggono direttamente in sala operatoria e sono immediatamente somministrate al paziente in vari modi, quali infiltrazioni intra-articolari (talvolta in associazione a PRP o acido ialuronico), infiltrazioni intra-ossee a livello della rima articolare, applicazione topica su un difetto locale o come potenziamento di vari scaffold, ecc. [25, 34, 38].

Le possibili applicazioni sono numerose e proprio per questo ad oggi manca una chiara indicazione su quale sia il metodo migliore ai fini terapeutici. Il concomitante utilizzo, inoltre, di altri agenti biologici e il ricorso ai "convenzionali" interventi chirurgici prima della somministrazione di BMAC

o SVF causano un ulteriore bias e rendono impossibile un confronto attendibile con un eventuale gruppo di controllo. Anche i pochi RCTs pubblicati presentano rilevanti bias, per lo più relativi al fatto che i pazienti sono stati spesso trattati bilateralmente [19, 25, 33], rendendo difficile la valutazione di un ginocchio indipendentemente dal controlaterale. Un simile bias è difficile da controllare anche quando si usano test statistici dedicati [41].

Molte domande ancora rimangono senza risposta, tra le quali: quante cellule somministrare, il numero ottimale di infiltrazioni per raggiungere il miglior risultato terapeutico possibile e la superiorità di un metodo di preparazione rispetto agli altri. Nonostante gli sforzi, in letteratura non sono ancora presenti studi ben progettati con l'obiettivo di rispondere a queste domande. Similmente non è stato possibile stabilire quale delle due fonti, tra tessuto adiposo o midollo osseo, garantisca risultati migliori. Nonostante sia stato dimostrato che l'immuno-fenotipo di BMSCs e ASCs coincida per più del 90% [42, 43], esistono delle caratteristiche distintive, per esempio i marker di superficie cellulare, il potenziale di differenziazione e la loro distribuzione nel corpo umano. Le analisi in vitro hanno rivelato che il maggior vantaggio di SVF è la sua abbondanza: se si comparano 100 g di SVF e 100 ml di aspirato midollare, nel primo si reperisce 300 volte il numero di cellule presenti nell'aspirato midollare [44, 45]. In ogni caso, nessuna correlazione dose-effetto è stata stabilita e, di conseguenza, questo vantaggio di SVF rimane teorico. Infine, non sono state considerate le differenti caratteristiche dei pazienti che giocano un ruolo focale nel successo delle terapie biologiche (alcuni "profili particolari" possono rispondere in maniera diversa alla terapia rispetto ad altri). Questa mancanza sottolinea ancor più la necessità di svolgere nuove ricerche, mirate allo studio di caratteristiche specifiche dei prodotti contenenti MSCs, finalizzati al trattamento di specifiche condizioni articolari in determinati pazienti.

Da un punto di vista "chirurgico" entrambe le procedure (liipoaspirazione e aspirazione del midollo osseo) sono semplici da svolgere e con effetti collaterali minimi (nella prima tecnica gli effetti collaterali sono leggermente più seri, poiché sono associati al rischio di ematomi e dolore al sito della liipoaspirazione). Attualmente, la scelta tra uno o l'altro è puramente legata alle preferenze del chirurgo, alla sua esperienza e, considerando l'aspetto commerciale, alla diversa disponibilità di materiale nei diversi Paesi. Tuttavia, negli ultimi anni sempre più industrie hanno iniziato a rilasciare sul mercato dei kit di loro proprietà per la preparazione di BMAC e SVF con dei nuovi metodi ancora in via di sviluppo, come l'utilizzo di una micro-frammentazione meccanica del tessuto adiposo per ottenere un "impianto di adipose" contenente delle nicchie stromali vascolari intatte, con MSCs e altre cellule coinvolte nella modulazione dell'omeostasi articolare [46]. L'aumento in commercio dei kit di preparazione ha contribuito con il passare del tempo a una di-

minuzione dei costi, aumentando tuttavia il rischio di commerciare prodotti dalle dubbie prestazioni e senza sufficienti dati scientifici a supporto della loro capacità di concentrare MSCs nel rispetto del concetto di “minimamente manipolato”. Inoltre, la rapida espansione dei prodotti biologici nel trattamento dell’artrosi di ginocchio non è stata supportata da alcuna evidenza solida. Espandere il numero delle opzioni terapeutiche disponibili per i pazienti affetti da artrosi di ginocchio non sempre corrisponde a un miglioramento nel livello di cure, specialmente se non ci sono studi comparativi che evidenzino una maggior efficacia del nuovo trattamento, rispetto a quello standard.

Attualmente, i prodotti di MSCs rappresentano sicuramente una tecnologia in espansione, dai costi tuttora troppo elevati per essere sostenuti dal Sistema Sanitario Nazionale e, a causa dell’assenza di dati attendibili che ne garantiscano l’efficacia, non può essere considerata un trattamento di routine per la degenerazione cartilaginea. Da un punto di vista clinico, nonostante i limiti metodologici sopra citati, l’uso di BMAC e SVF per il trattamento dell’artrosi di ginocchio sembra essere sicuro e in grado di offrire buoni risultati clinici. Di conseguenza, sia BMAC sia SVF possono essere considerate potenziali opzioni terapeutiche, minimamente invasive, in quei pazienti che non sono eleggibili a un trattamento invasivo. Bisogna inoltre considerare che i promettenti risultati mostrati sono stati valutati nel breve periodo ed è necessario valutare se mantengono tali risultati anche nel lungo periodo. Fino a quel momento, l’uso di MSCs minimamente manipolate, sia BMAC che SVF, rappresenta un’opzione terapeutica da valutare a fondo per evitare altre soluzioni invasive e non deve essere considerato come una “procedura di salvataggio”.

Conclusioni

La letteratura a disposizione non fornisce studi di alta qualità; inoltre, nei pochi studi randomizzati si seguono protocolli differenti e anche le circostanze cliniche appaiono non comparabili. Questi aspetti rendono impossibile qualsiasi suggerimento nell’utilizzo di una delle due tecniche analizzate. Tuttavia, considerando i risultati clinici, BMAC e SVF si sono mostrati sicuri e in grado di portare alcuni benefici, nel breve periodo, nel trattamento della degenerazione cartilaginea in un contesto di artrosi di ginocchio. Attualmente non è stata rilevata una superiorità nell’utilizzo di tessuto adiposo rispetto a quella di midollo osseo (e viceversa) come fonte di MSCs.

CONFLITTO DI INTERESSE Gli autori F. Vandenbulcke, G. Beltrame, N.D. Vitale, B. Di Matteo e E. Kon dichiarano di non avere alcun conflitto di interesse.

CONSENSO INFORMATO E CONFORMITÀ AGLI STANDARD ETICI Tutte le procedure descritte nello studio e che hanno coinvolto esseri umani sono state attuate in conformità alle norme etiche stabilite dalla dichiarazione di Helsinki del 1975 e successive modifiche. Il consenso informato è stato ottenuto da tutti i pazienti inclusi nello studio.

HUMAN AND ANIMAL RIGHTS L’articolo non contiene alcuno studio eseguito su esseri umani e su animali da parte degli autori.

Bibliografia

1. Poole AR (2003) What type of cartilage repair are we attempting to attain? *J Bone Jt Surg, Am* 85-A(Suppl):40–44
2. Richards MM, Maxwell JS, Weng L et al (2016) Intra-articular treatment of knee osteoarthritis: from anti-inflammatory to products of regenerative medicine. *Phys Sportsmed* 44(2):101–108
3. Heijink A, Gomoll AH, Madry H et al (2012) Biomechanical considerations in the pathogenesis of osteoarthritis of the knee. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 20(3):423–435
4. Vos T, Flaxman AD, Naghavi M et al (2012) Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 380(9859):2163–2196
5. Yoshimura K, Shigeura T, Matsumoto D et al (2006) Characterization of freshly isolated and cultured cells derived from the fatty and fluid portions of liposuction aspirates. *J Cell Physiol* 208(1):64–76
6. Verbus EA, Kenyon JD, Sergeeva O et al (2017) Expression of miR-145-5p during chondrogenesis of mesenchymal stem cells. *J Stem Cell Res (Overl Park)* 1(3):1–10
7. DiMarino AM, Caplan AI, Bonfield TL (2013) Mesenchymal stem cells in tissue repair. *Front Immunol* 4:201
8. Caplan AI (2007) Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. *J Cell Physiol* 213(2):341–347
9. Wu L, Cai X, Zhang S et al (2013) Regeneration of articular cartilage by adipose tissue derived mesenchymal stem cells: perspectives from stem cell biology and molecular medicine. *J Cell Physiol* 228(5):938–944
10. Filardo G, Madry H, Jelic M et al (2013) Mesenchymal stem cells for the treatment of cartilage lesions: from preclinical findings to clinical application in orthopaedics. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 21(8):1717–1729
11. US Food and Drug Administration (2018) Regulatory considerations for human cells, tissues, and cellular and tissue-based products: minimal manipulation and homologous use. Guidance for industry and Food and Drug Administration Staff www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/CellularandGeneTherapy/UCM585403.pdf. Accessed February 2018
12. de Girolamo L, Kon E, Filardo G et al (2016) Regenerative approaches for the treatment of early OA. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 24(6):1826–1835
13. Pak J, Lee J, Pak N et al (2018) Cartilage regeneration in humans with adipose tissue-derived stem cells and adipose stromal vascular fraction cells: updated status. *Int J Mol Sci* 19(7):2146
14. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG (the PRISMA Group) (2009) Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Med* 6(7):e1000097
15. Kon E, Verdonk P, Condello V (2009) Matrix-assisted autologous chondrocyte transplantation for the repair of cartilage defects of the knee systematic clinical data review. *Am J Sports Med* 2009:156–166

16. Themistocleous GS, Chloros GD, Kyrantzoulis IM et al (2018) Effectiveness of a single intra-articular bone marrow aspirate concentrate (BMAC) injection in patients with grade 3 and 4 knee osteoarthritis. *Heliyon* 4(10):e00871
17. Shaw B, Darrow M, Derian A (2018) Short-term outcomes in treatment of knee osteoarthritis with 4 bone marrow concentrate injections. *Clin Med Insights Arthritis Musculoskelet Disord*. <https://doi.org/10.1177/1179544118781080>
18. Rodriguez-Fontan F, Piuze NS, Kraeutler MJ, Pascual-Garrido C (2018) Early clinical outcomes of intra-articular injections of bone marrow aspirate concentrate for the treatment of early osteoarthritis of the hip and knee: a cohort study. *Phys Med Rehabil J* 10(12):1353–1359
19. Shapiro SA, Arthurs JR, Heckman MG et al (2019) Quantitative T2 MRI mapping and 12-month follow-up in a randomized, blinded, placebo controlled trial of bone marrow aspiration and concentration for osteoarthritis of the knees. *Cartilage* 10(4):432–443
20. Sampson S, Vincent H, Aufiero D (2016) Intra-articular bone marrow concentrate injection protocol: short-term efficacy in osteoarthritis. *Regen Med* 11:511–520
21. Centeno CJ, Al-Sayegh H, Bashir J et al (2015) A dose response analysis of a specific bone marrow concentrate treatment protocol for knee osteoarthritis. *BMC Musculoskelet Disord* 16:258
22. Centeno C, Pitts J, Al-Sayegh H, Freeman M (2014) Efficacy of autologous bone marrow concentrate for knee osteoarthritis with and without adipose graft. *BioMed Res Int* 2014:370621
23. Kim J-D, Lee GW, Jung GH et al (2014) Clinical outcome of autologous bone marrow aspirates concentrate (BMAC) injection in degenerative arthritis of the knee. *Eur J Orthop Surg Traumatol* 24:1505–1511
24. Vad V, Barve R, Linnell E, Harrison J (2016) Knee osteoarthritis treated with percutaneous chondral-bone interface optimization: a pilot trial. *Surg Sci* 7:1–12
25. Hernigou P, Auregan JC, Dubory A et al (2018) Subchondral stem cell therapy versus controlateral total knee arthroplasty for osteoarthritis following secondary osteonecrosis of the knee. *Int Orthop* 42:2563–2571
26. Hudetz D, Bori I, Rod E et al (2017) The effect of intra-articular injection of autologous microfragmented fat tissue on proteoglycan synthesis in patients with knee osteoarthritis. *Genes (Basel)* 8(10):E270
27. Yokota N, Yamakawa M, Shirata T, Kimura T (2017) Clinical results following intra-articular injection of adipose-derived stromal vascular fraction cells in patients with osteoarthritis of the knee. *Regen Ther* 6:108–112
28. Jones IA, Wilson M, Togashi R et al (2018) A randomized, controlled study to evaluate the efficacy of intra-articular, autologous adipose tissue injections for the treatment of mild-to-moderate knee osteoarthritis compared to hyaluronic acid: a study protocol. *BMC Musculoskelet Disord* 19(1):383
29. Roato I, Belisario DC, Compagno M et al (2018) Concentrated adipose tissue infusion for the treatment of knee osteoarthritis: clinical and histological observations. *Int Orthop* 43(1):15–23
30. Bansal H, Comella K, Leon J et al (2017) Intra-articular injection in the knee of adipose derived stromal cells (stromal vascular fraction) and platelet rich plasma for osteoarthritis. *J Transl Med* 15(1):141
31. Bui KH, Duong TD, Nguyen NT et al (2014) Symptomatic knee osteoarthritis treatment using autologous adipose derived stem cells and platelet-rich plasma: a clinical study. *Biomed Res Ther* 2014(1):02
32. Koh Y, Kwon O, Kim Y, Choi Y (2014) Comparative outcomes of open-wedge high tibial osteotomy mesenchymal stem cell treatment: a prospective study. *Arthroscopy* 30(11):1453–1460
33. Hong Z, Chen J, Zhang S et al (2018) Intra-articular injection of autologous adipose-derived stromal vascular fractions for knee osteoarthritis: a double-blind randomized self-controlled trial. *Int Orthop* 43(5):1123–1134
34. Kim YS, Hospital YS, Suh DS et al (2015) Mesenchymal stem cell implantation in osteoarthritic knees: is fibrin glue effective as a scaffold? *Am J Sports Med* 43(1):176–185
35. Koh YG, Choi YJ, Kwon OR (2014) Second-look arthroscopic evaluation of cartilage lesions after mesenchymal stem cell implantation in osteoarthritic knees. *Am J Sports Med* 42(7):1628–1637
36. Kwon YK (2013) Clinical results and second-look arthroscopic findings after treatment with adipose-derived stem cells for knee osteoarthritis. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 23(5):1308–1316
37. Nguyen PD, Tran TD-X, Nguyen HT-N et al (2016) Comparative clinical observation of arthroscopic microfracture in the presence and absence of a stromal vascular fraction injection for osteoarthritis. *Stem Cells Transl Med* 6:187–195
38. Koh Y-G, Jo S-B, Kwon O-R et al (2013) Mesenchymal stem cell injections improve symptoms of knee osteoarthritis. *Arthroscopy* 29(4):748–755
39. Di Matteo B, Kon E (2019) Editorial commentary: biologic products for cartilage regeneration—time to redefine the rules of the game? *Arthroscopy* 35(1):260–261
40. Hadley CJ, Shi WJ, Murphy H et al (2019) The clinical evidence behind biologic therapies promoted at annual orthopaedic meetings: a systematic review. *Arthroscopy* 35(1):251–259
41. Di Matteo B, Marcacci M, Kon E (2018) Letter to the editor concerning the article: “Intra-articular injection of autologous adipose-derived stromal vascular fractions for knee osteoarthritis: a double-blind randomized self-controlled trial” (Hong et al. *International Orthopaedics* doi:10.1007/s00264-018-4099-0). *Int Orthop* 43(3):751–752
42. Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA (2007) Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circ Res* 100(9):1249–1260
43. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P et al (2002) Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 13(12):4279–4295
44. Aust L, Devlin B, Foster SJ et al (2004) Yield of human adipose-derived adult stem cells from liposuction aspirates. *Cytotherapy* 6(1):7–14
45. Oedayrajsingh-Varma MJ, van Ham SM, Knippenberg M et al (2006) Adipose tissue-derived mesenchymal stem cell yield and growth characteristics are affected by the tissue-harvesting procedure. *Cytotherapy* 8(2):166–177
46. Vezzani B, Shaw I, Lesme H et al (2018) Higher pericyte content and secretory activity of microfragmented human adipose tissue compared to enzymatically derived stromal vascular fraction. *Stem Cells Transl Med* 2018:876–886