ARTICOLO DI AGGIORNAMENTO

Giornale Italiano di Ortopedia e Traumatologia
2015;41:228-237

Procedura one-step di resurfacing biologico – mediante microfratture, concentrato midollare e membrana collagenica di copertura – dei difetti osteocondrali della retrosuperficie della rotula: note di tecnica

One-step biological resurfacing procedure – by microfractures, autologous bone marrow concentrate and collagen membrane coverage – of osteochondral defects of the patella: technical notes

Fabio Valerio Sciarretta[1] *(foto)*
Claudio Ascani[2]

[1] Clinica Nostra Signora della Mercede, Roma; [2] UOC I Traumatologia I.P. Chirurgia della Spalla e del Gomito, Ospedale CTO, Roma

Riassunto

L'incidenza delle lesioni cartilaginee riscontrate occasionalmente durante un'artroscopia del ginocchio, secondo i dati riportati in letteratura, è compresa tra il 57,3 ed il 66%. La prevalenza delle lesioni cartilaginee a tutto spessore dell'articolazione femoro-rotulea è pari ad una percentuale compresa tra il 30% ed il 40% del totale, con una incidenza del 22-37,5% a livello della rotula e del 6-8% a livello della troclea femorale. Nel tentativo di rallentare od impedire la progressione di tali lesioni sono stati proposti numerosi trattamenti chirurgici, ma nessuno di essi è stato elevato a ruolo di "gold standard" che consenta di riprodurre la normale cartilagine ialina articolare. Negli ultimi anni, hanno preso sempre più piede le procedure di medicina rigenerativa che mirano a ripristinare la biologia articolare. In questo lavoro, presentiamo la tecnica chirurgica di riparazione "one step" dei difetti cartilaginei a tutto spessore della retrosuperficie della rotula mediante microfratture ed apposizione di membrana collagenica di copertura del difetto cartilagineo imbevuta di concentrato midollare ottenuto da prelievo di midollo osseo dalla cresta iliaca.

Parole chiave: difetto cartilagineo, rotula, troclea femorale, medicina rigenerativa, tecnica AMIC

Summary

The incidence of cartilage lesions observed occasionally during an arthroscopy of the knee, according to data reported in the literature, is between 57.3 and 66%. The prevalence of full thickness cartilage lesions of the patellofemoral joint is between 30% and 40% of the total, with an incidence of 22 to 37.5% at the level of the patella and of 6- 8% at the level of the femoral trochlea. In an attempt to slow down or prevent the progression of these lesions numerous surgical treatments have been proposed, but none of them was elevated to role of "gold standard" that allows to reproduce the normal hyaline articular cartilage. In recent years, regenerative medicine procedures that aim to restore the articular biology have become always more popular. In this paper, we present the surgical "one step" technique for repair of full-thickness cartilage defects of the patella by microfractures and implantation of a collagen membrane, soaked in concentrated bone marrow obtained through bone marrow harvest from the iliac crest, in order to cover the cartilage defect.

Key words: *cartilage defect, patella, femoral throclea, regenerative medicine, AMIC technique*

Indirizzo per la corrispondenza:
Fabio Valerio Sciarretta
Clinica Nostra Signora della Mercede
via Tagliamento, 25
00198 Roma
E-mail: fabio.sciarretta@tin.it

Introduzione

Durante l'esecuzione di un'artroscopia del ginocchio, le lesioni cartilaginee, di ogni grado, si presentano complessivamente con una frequenza riportata tra il 57,3% ed il 66% dei casi [1-4]. Tali dati si evincono da quattro studi citati in letteratura su più di 58.000 artroscopie del ginocchio: le "lesioni o difetti a tutto spessore della cartilagine articolare" sono state definite come lesioni di IV grado secondo Outerbridge da Curl et al. e Widuchosky et al. (6051 lesioni / 31516 soggetti, 19% [1]; 3014 lesioni / 25.124 soggetti, 12% [4]), lesione condrale od osteocondrale a tutto spessore da Hjelle et al. (116 lesioni / 1000 soggetti, 12%) [3], e lesione localizzata a tutto spessore, senza osteoartrosi da Aroen et al. (203 lesioni / 993 soggetti, 20%) [2]. Così, la prevalenza dei "difetti a tutto spessore della cartilagine articolare" rilevati durante un'artroscopia in questi ultimi studi nella popolazione generale è del 16% (9.384 / 58.633 soggetti). Nei pazienti di età inferiore ai 40 anni senza alcun altro riscontro patologico concomitante nel ginocchio ed una dimensione della lesione superiore a 1-2 cm^2, la prevalenza è del 5%. In particolare, poi, tra le sedi maggiormente colpite da tali lesioni è stata riscontrata la rotula, con una incidenza riportata tra il 22,5% ed il 37,5%. Infine, se si prendono in esame gli atleti, Flanigan et. al, nel 2010 [5], sono giunti alla conclusione che la prevalenza dei difetti condrali focali del ginocchio è, addirittura, pari al 37% tra tutti gli atleti e fino al 59% tra i corridori ed i giocatori di basket dell'NBA asintomatici; in particolare, questi ultimi presentavano una maggior incidenza di difetti rotulei.

Le lesioni cartilaginee a tutto spessore possono progredire in base alla combinazione di diversi fattori: concentrazione della tensione lungo il bordo di un difetto [6], cambiamenti strutturali dell'osso subcondrale [7], ed elevazione della concentrazione della citochina infiammatoria intra-articolare [8]. I numeri precedentemente descritti fanno capire come, sempre di più', i giovani adulti, di età inferiore ai 65 anni, si presentino sempre più spesso dai propri medici con una patologia già avanzata a carico della cartilagine articolare. Ed al di là delle terapie conservative e chirurgiche più conosciute, al fine di diminuire il dolore del paziente e migliorare la funzione dell'articolazione colpita, negli ultimi anni si sono sempre più fatte strada le terapie introdotte dalla medicina rigenerativa, che consentono di correggere le alterazioni biologiche alla base del processo patologico, piuttosto che affrontare solo i sintomi. I pazienti non vogliono ridurre i propri sintomi solo temporaneamente con una procedura chirurgica che sostituisce il tessuto danneggiato, ma richiedono la correzione e la riparazione della biologia sottostante per rigenerare il tessuto danneggiato ed alleviare i propri sintomi del tutto. Tale campo d'azione è stato denominato Ortobiologia proprio per sottolineare il fatto che si tratta di soluzioni terapeutiche a cielo aperto, artroscopiche o semplicemente iniettive che mirano a ripristinare l'ambiente biologico e/o le componenti strutturali del tessuto muscolo-scheletrico malato o danneggiato. Tra queste ultime va ricordato il concentrato di midollo osseo (BMC = *Bone Marrow Concentrate*). Il midollo osseo concentrato contiene, oltre alle cellule staminali ematopoietiche, cellule staminali mesenchimali (MSC), piastrine (che contengono fattori di crescita) e citochine. Le proprietà anti-infiammatorie e immunomodulatorie delle cellule staminali del midollo osseo (BMSCs) possono facilitare la rigenerazione del tessuto.

Per la riparazione dei difetti a tutto spessore della cartilagine sono stati, negli anni, proposti diversi trattamenti, ma ancora non è stato possibile identificare un gold standard che consenta di riprodurre la normale cartilagine ialina articolare. Un primo trattamento è la semplice condroplastica di abrasione in cui il difetto cartilagineo viene rasato e sottoposto ad esteso debridement. Nel 1994, Brittberg e Peterson [9] hanno introdotto la tecnica ACI o Autologous Choncdrocite Implantation: tecnica chirurgica in due tempi ove, al primo tempo di prelievo di un campione di cartilagine in un'area non sottoposta al carico, segue un secondo tempo chirurgico circa un mese dopo, ad avvenuta processazione in laboratorio del tessuto, di impianto dei condrociti nel difetto protetto da un flap periostale. Questa tecnica ha poi vissuto una seconda ed una terza generazione di impianti in cui al lembo periostale è stato preferito l'utilizzo di diversi scaffold sotto forma di membrane in modo da sostenere la crescita iniziale del tessuto ripartivo e fornire un letto di coltura per le cellule. Un'altra tecnica di cura prevede il trapianto di un cilindro osteocondrale prelevato da una zona fuori carico all'interno del difetto in una unica seduta operatoria ("OATS": *Osteochondral Autologous Transplantation*).

Nel 2001, il gruppo di Steadman et al. [10] ha introdotto le microfratture: nel difetto vengono creati dei fori di 3-4 mm di profondità ogni 4-5 mm al fine di stimolare il sanguinamento all'interno del difetto stesso e la sua riparazione con un tessuto fibrocartilagineo, senza copertura della lesione. Nel 2004 [11], Behrens et al. hanno introdotto la tecnica *Autologous Matrix Induced Chondrogenesis* (AMIC), in cui, in solo tempo chirurgico, vengono combinate le microfratture alla copertura del difetto con una membrana collagenica che ha il compito di fermare le cellule staminali mesenchimali migrate verso il basso lungo il tramite delle microfratture dall'osso subcondrale, proteggere il coagulo ematico e mantenere in sede le cellule staminali in esso contenute al fine di promuovere il processo di differenziazione del tessuto di riparazione.

Sebbene la tecnica AMIC sia ben consolidata nella terapia dei difetti della cartilagine, solo pochi lavori sono stati

pubblicati in letteratura. In uno studio di follow-up su 27 pazienti trattati con la tecnica AMIC nella sua forma originale, Gille et al. [12] hanno riportato un significativo miglioramento di tutti gli scores clinici e l'87% dei pazienti sono stati molto soddisfatti dei risultati dopo l'intervento. La risonanza magnetica ha, tuttavia, mostrato un riempimento solamente da moderato a completo del difetto con un segnale normale – talvolta iperintenso, nella maggior parte dei casi. Nel 2012, Kusano et al. [13] hanno riportato retrospettivamente sulla tecnica AMIC ad un follow-up medio di 28,8 mesi (range 13-51) ed hanno descritto un significativo miglioramento dei risultati clinici, soprattutto nei difetti osteocondrali, ma correlato sulla RM ad un riempimento non completo né omogeneo del difetto. Nel 2013 Gille et al. [14], riportando i risultati del registro AMIC, hanno concluso affermando che la tecnica AMIC sia sicura ed efficace, ma che siano ancora necessari studi a lungo termine per determinare se l'area trattata manterrà nel tempo la sua integrità strutturale e funzionale.

Ciò ha condotto ad apportare alcune modifiche della tecnica originale. In particolare nel 2011, Dhollander et al. [15] hanno descritto i dettagli della tecnica "AMIC plus", cioè combinata con il gel di plasma ricco di piastrine per il trattamento dei difetti della cartilagine rotulea del ginocchio ed hanno concluso che essa risulti indicata per il trattamento dei difetti rotulei sintomatici ed abbia permesso di ottenere un miglioramento clinico, ma non di RM, in tutti i pazienti.

Il midollo osseo, oltre a contenere cellule staminali ematopoietiche contiene un numero significativo, ma relativamente piccolo, di cellule staminali mesenchimali ed è anche una ricca fonte di fattori di crescita, tra cui il PDGF (*Platelet-derived growth factor*), il TGF-β (*Transforming growth factor-β*) ed il VEGF (*Vascular endothelial growth factor*), contenuti nelle piastrine e secreti dalle cellule staminali mesenchimali. L'utilizzo del concentrato midollare è stato dimostrato migliorare il trattamento con microfratture dei difetti a tutto spessore sia nei cavalli che nelle capre [16 17]. Nel primo caso, lo studio comparativo del gruppo di cavalli trattati con microfratture più concentrato midollare rispetto al gruppo trattato solo con microfratture, ha mostrato nel primo gruppo un tessuto di riparazione significativamente meglio integrato con la cartilagine sana normale, più spesso e con superficie più liscia a dispetto della presenza costante, nel gruppo trattato con sole microfratture, di una significativa mancanza del tessuto ripartivo nel versante prossimale-mediale dei difetti. Nel lavoro di Saw [17] sulle capre, il gruppo di animali trattato con iniezioni post-operatorie successive a perforazioni subcondrali di acido ialuronico + concentrato midollare ha mostrato una copertura quasi completa dei difetti osteocondrali con rigenerazione di cartilagine ialina.

In questo articolo presentiamo la tecnica di riparazione dei difetti a tutto spessore della retrosuperficie della rotula mediante microfratture ricoperte da membrana collagenica imbevuta di concentrato midollare autologo prelevato mediante tecnica mini-invasiva con strumentario dedicato dalla cresta iliaca.

Procedura chirurgica

Il paziente viene sottoposto alla procedura one-step di resurfacing biologico mediante microfratture, concentrato midollare e membrana collagenica di copertura del difetto a tutto spessore della retrosuperficie della rotula una volta confermata la presenza di un difetto idoneo a tale trattamento per via artroscopica. Il tracking rotuleo deve sempre essere ripristinato alla normalità. Controindicazioni alla procedura sono i malallineamenti in varismo o valgismo o le instabilità articolari che devono essere affrontate e corrette prima della procedura.

Il primo tempo della procedura prevede l'esecuzione di un normale esame diagnostico artroscopico attraverso i due portali antero-mediale ed antero-laterale standard. Durante tale fase, vengono ispezionati tutti i compartimenti del ginocchio, tra cui lo sfondato sovrarotuleo, la guancia mediale e quella laterale, l'articolazione femoro-rotulea, la gola intercondiloidea ed il pivot centrale, i compartimenti mediale e laterale, con particolare valutazione con palpatore dello stato del rivestimento cartilagineo dei condili femorali ed i corni posteriori dei menischi mediale e laterale. Viene, inoltre, posta particolare attenzione nella valutazione del tracking rotuleo, osservando l'eventuale presenza di patologie a carico dei legamenti alari laterali e la presenza di eventuali pliche sinoviali, che possono essere causa di aumentate ed alterate forze di compressione tra le superfici articolari, femorale e rotulea. In genere, sia durante l'effettuazione delle microfratture che durante il prelievo del midollo osseo, il tourniquet non viene utilizzato; viene, invece, modificata la pressione della pompa artroscopica in modo da controllare il sanguinamento. Terminato il tempo diagnostico, in cui si accerta anche la sede, l'estensione e la profondità del difetto condrale, si affrontano, durante il tempo chirurgico artroscopico, eventuali patologie associate meniscali o sinoviali.

Si esegue, quindi, una mini artrotomia anteromediale od anterolaterale, esponendo a cielo aperto il difetto (Fig. 1). Identificato il difetto cartilagineo a tutto spessore, si procede ad un accurato ed esteso debridement del difetto stesso. In questa fase, è estremamente importante porre l'attenzione nell'asportare tutto il tessuto cartilagineo danneggiato e/o instabile fino a raggiungere il tessuto cartilagineo sano circostante, creando dei solidi margini e netti. Per tale manovra, in genere, si utilizzano delle curettes curve o rette ed una fresa artroscopica full radius per

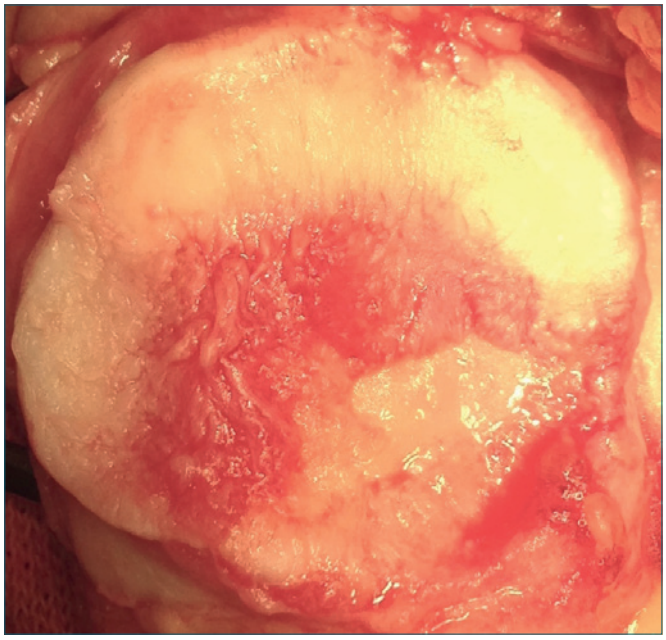

Figura 1. Ampio difetto osteocondrale a tutto spessore della retrosuperficie della rotula.

rimuovere la cartilagine degenerata o solo parzialmente ancora connessa ai margini (Fig. 2). Bisogna aver cura di rimuovere lo strato della cartilagine calcificata sempre con una curette, ponendo peraltro la massima attenzione nel non superare mai il piatto subcondrale.

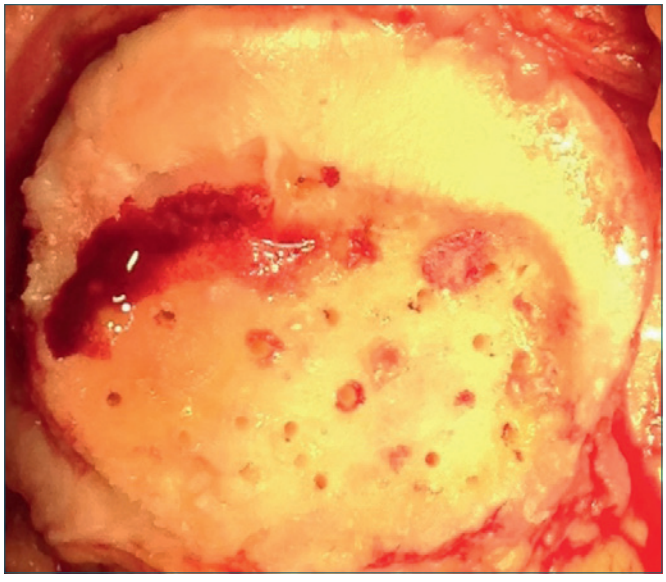

Figura 2. Aspetto del difetto a tutto spessore dopo accurato debridement e microfratture.

Una volta completato il debridement e l'accurata toilette della lesione cartilaginea, si misura il difetto e se ne crea una sagoma esatta mediante il template sterile in alluminio fornito nel kit della membrana collagenica che sarà utilizzata per la riparazione ed il rivestimento del difetto cartilagineo a tutto spessore (Fig. 3). Ricordarsi sempre di identificare il lato del template, e quindi della membrana, che verrà posto a contatto con il difetto, in modo da evitare di ottenere una membrana da applicare della forma sbagliata. Questo stesso template verrà poi impiegato per preparare lo scaffold utilizzato per il resurfacing biologico.
Terminata tale fase, si procede al prelievo del midollo osseo. Si prepara un campo sterile a livello della cresta iliaca. Per l'espianto midollare si utilizza la cannula da aspirazione midollare motorizzata Bio-MAC, disponibile in diverse misure di lunghezza, che contiene, lungo la sua estremità distale, otto ampie fenestrazioni lisce che consentono l'aspirazione del midollo osseo ed incorpora un componente a stantuffo che quando viene inserito lungo la cannula crea un vuoto che, insieme alle fenestrazioni, favorisce la fuoriuscita e l'aspirazione del midollo osseo. Come detto, la cannula ed il trocar vengono introdotti nella cresta iliaca con il trapano, attraverso una brevissima incisione cutanea di alcuni millimetri, riducendo il traumatismo di penetrazione dell'osso ed evitando la necessità di usare il martello. Introdotta fino al livello desiderato la cannula, si esegue un prelievo di circa 60 cc di midollo osseo, che

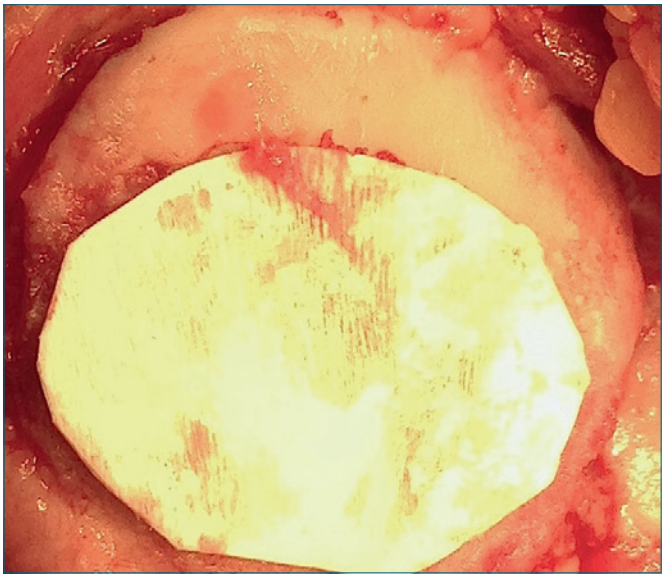

Figura 3. Creazione di una sagoma esatta mediante template sterile in alluminio del difetto cartilagineo a tutto spessore. Verifica della corretta dimensione della membrana collagenica ritagliata a misura ed adagiata sul difetto da riparare.

vengono immediatamente eparinizzati durante il prelievo stesso, e quindi processati, dopo minima manipolazione per filtrazione, per circa 18 minuti nella specifica centrifuga fino ad ottenere 8-10 ml di concentrato midollare, ricco di cellule staminali e fattori di crescita.
Posto il prelievo del midollo osseo nella centrifuga, nel frattempo si procede alla esecuzione delle microfratture fino a raggiungere l'osso subcondrale. Per le microfratture si utilizzano perforatori di diversa angolazione. In genere, a livello della rotula, se il letto del difetto è stato ben preparato mediante la fresa motorizzata, si può utilizzare un perforatore angolato a 90 gradi. Le microfratture vengono eseguite partendo dalla periferia del difetto procedendo concentricamente verso il centro del difetto stesso, mantenendo una distanza di 3-4 mm. tra una perforazione e l'altra e ponendo la massima cura nell'evitare la convergenza di una perforazione nell'altra. Una volta raggiunta la profondità appropriata, in genere 2-4 mm, si può scorgere la fuoriuscita di alcune goccioline di sangue o di grasso, che confermano la esecuzione corretta della tecnica. Una volta terminate le microfratture e verificato di aver penetrato l'intero difetto, si rimuovono accuratamente tutti i detriti prodotti dalla procedura delle microfratture.
Terminate le microfratture, si ritaglia la membrana collagenica a doppio strato Chondrogide (Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Svizzera) in modo che abbia esattamente le dimensioni e la forma della sagoma precedentemente preparata. Una volta ritagliata, la membrana asciutta viene adagiata sul difetto in modo da assicurarsi che le dimensioni siano perfette, anche in previsione dell'aumento di volume (del 10%-15%) della membrana in conseguenza della sua imbibizione con il concentrato midollare. Quella utilizzata è una membrana a doppio strato con un lato liscio, impermeabile ed in grado di trattenere le cellule, e l'altro rugoso e poroso. La membrana viene, quindi, imbevuta nel concentrato midollare autologo ottenuto, versando quest'ultimo progressivamente sul lato poroso (Fig. 4). Tale tempo richiede circa 5-10 minuti in modo che la membrana risulti uniformemente imbevuta del concentrato midollare. Si procede, quindi, alla riparazione del difetto. Tale fase prevede diversi steps sequenziali: dapprima si iniettano il concertato midollare e la colla di fibrina (Tissucol, Baxter) nel letto del difetto, lasciandoli aderire per qualche minuto in modo da favorire anche l'adesione delle cellule staminali mesenchimali [28]; vi si applica poi sopra la membrana collagenica ritagliata, con la faccia rugosa verso l'osso; la membrana viene ulteriormente fissata mediante della colla di fibrina, avendo l'accortezza di sigillare bene il tutto, accertandosi che abbia aderito perfettamente lungo tutti i margini del difetto (Fig. 5). In questo modo, il sangue derivante dal midollo osseo che riempie il difetto viene racchiuso dalla membrana collagenica riassorbile, a sua volta

Figura 4. La membrana collagenica che verrà impiegata per la riparazione del difetto viene imbevuta nel concentrato midollare.

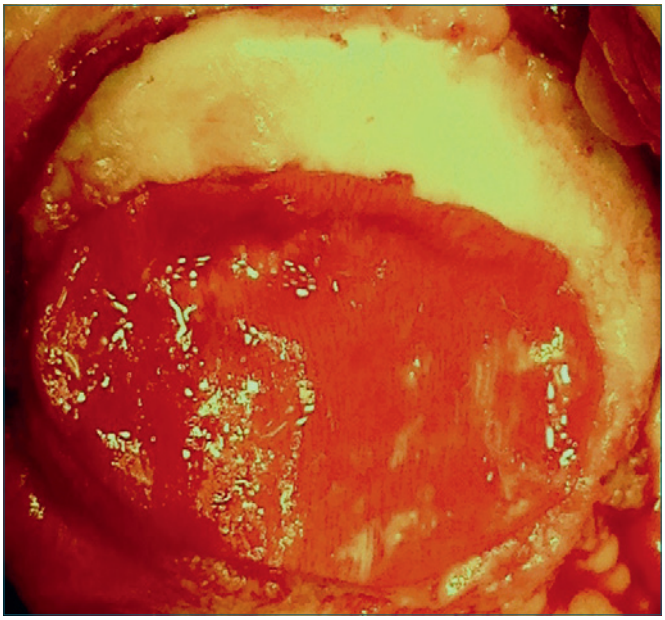

Figura 5. Resurfacing biologico mediante membrana collagenica di copertura, imbevuta di concentrato midollare prelevato dalla cresta iliaca, di difetto osteocondrale a tutto spessore della retrosuperficie della rotula.

imbevuta ed arricchita delle componenti cellulari midollari (cellule progenitrici, cellule staminali mesenchimali e cellule stromali) ottenute tramite l'espianto e la concentrazione del midollo osseo. Si aspettano 2-3 minuti che la colla di fibrina solidifichi; si riduce la rotula in situ e si effettuano dei movimenti di flesso-estensione del ginocchio dopo i quali si verifica la stabilità della membrana applicata. Terminata la procedura chirurgica, al paziente viene applicata una fasciatura compressiva.
Il protocollo post-operatorio prevede il carico immediato progressivo assistito da bastoni canadesi. Per quanto concerne il recupero dell'articolarità, esso viene iniziato immediatamente in prima giornata post-operatoria. La valutazione attenta delle caratteristiche di compliance di ciascun paziente fa propendere o meno per l'uso degli apparecchi per la mobilizzazione articolare passiva (CPM), che consentono di promuovere la guarigione cartilaginea favorendo la nutrizione articolare e riducendo la formazione delle aderenze intra-articolari. Per le prime tre settimane, l'articolarità mantenuta tra 0 e 60 gradi. Nelle successive due settimane vengono si lavora per il recupero progressivo dell'articolarità completa. Gli esercizi di rinforzo statici per il quadricipite vengono iniziati precocemente in modo da combattere l'ipotrofia quadricipite, associando movimenti attivi progressivi dell'anca e della caviglia. Recuperati il tono muscolare e l'articolarità completa del ginocchio, si procede nella rieducazione funzionale specifica per la ripresa della corsa e delle attività sportive.

Discussione

Già nel 1980, nuove lesioni condrali venivano riportate in circa 1 milione di americani ogni anno, rappresentando la causa del 5%-10% degli emartri di ginocchio riscontrati nei pazienti giovani attivi [18]. Come visto in precedenza, tali lesioni condrali possono essere riscontrate in circa i due terzi di tutte le artroscopie di ginocchio. Dalla letteratura emerge il fatto che dal 22% al 37,5% dei difetti condrali riscontrati interessa la sola rotula; a tale incidenza deve essere aggiunta l'incidenza meno definita dei difetti della troclea. L'apprezzamento di questi ultimi difetti è relativamente recente e merito della introduzione della diagnostica per immagini mediante risonanza magnetica. La prima descrizione di una serie di pazienti con lesione condrale della troclea femorale risale infatti al 1990 [8]. L'incidenza delle lesioni condrali della troclea è stata riportata essere pari al 6-8% [3 4], ma risulta essere quasi del 25% negli sportivi, a causa del sovraccarico funzionale esercitato [19 20]. Nell'insieme, quindi, la prevalenza dei difetti cartilaginei a tutto spessore dell'articolazione femoro-rotulea è pari ad una percentuale compresa tra il 30% ed il 45% del totale. Dato di rilievo assoluto.

L'origine dei difetti della cartilagine dell'articolazione femoro-rotulea può essere rappresentata da eventi traumatici o da episodi di instabilità oppure può trattarsi di lesioni secondarie dovute ad un sovraccarico funzionale del compartimento anteriore femoro-rotuleo. Nomura et al. nell'analisi compiuta per valutare l'incidenza delle lesioni della cartilagine articolare conseguenti ad una lussazione acuta della rotula, hanno riportato che, su 37 pazienti, 35 (95%) avevano riportato lesioni della cartilagine femoro-rotulea e due pazienti (5%) non avevano riportato lesioni cartilaginee. In tutte le 37 ginocchia, la lesione cartilaginea interessava la rotula, con le fratture osteocondrali localizzate prevalentemente nella faccetta mediale ed i "cracks" a livello della cresta centrale [6]. Qualora i difetti non vengano trattati, la storia naturale delle lesioni cartilaginee interessanti la rotula o la troclea è l'evoluzione verso una stabile e progressiva alterazione delle forze di carico agenti su tali segmenti scheletrici, con la tendenza ad una evoluzione degenerativa in osteoartrosi [21].
Grazie al progressivo miglioramento ed alla maggiore capacità di imaging della moderna diagnostica per immagini, la comprensione e lo studio dei difetti cartilaginei dell'articolazione femoro-rotulea ha fatto notevoli passi avanti, ma si tratta pur sempre di una patologia in cui i sintomi talvolta vaghi e la difficoltà di visualizzazione e localizzazione fanno si che spesso si tratti di una patologia riconosciuta inaspettatamente od incidentalmente ed accertata di maggior gravità del previsto durante un esame artroscopico effettuato per altro tipo di patologia.
Anche se l'algoritmo di trattamento ideale dei difetti cartilaginei non sia stato ancora definito in maniera certa, l'evoluzione tecnologica, dal canto suo, ha via via proposto diverse metodiche di trattamento dei difetti condrali ed osteocondrali della articolazione femoro-rotulea.
Il debridement mediante condroplastica artroscopica è in grado di fornire solamente un sollievo temporaneo dai sintomi. Federico et al. e Schonholtz et al. [22 23] hanno affermato che solo il 50% dei pazienti mostra un miglioramento a breve termine dei sintomi.
Le microfratture rappresentano spesso il primo tentativo di riparazione dei difetti cartilaginei, rappresentando spesso un trattamento di "prima-linea". I risultati hanno dimostrato un miglioramento dei sintomi che dura per i primi 18 mesi, ma con un significativo peggioramento clinico dopo i 18 mesi [24]. In particolare il peggioramento più significativo è stato riscontrato secondo lo score ICRS, soprattutto nei pazienti con difetti condrali localizzati a livello dell'articolazione femororotulea. Inoltre, i pazienti di età superiore ai 40 anni sono quelli che hanno mostrato minori miglioramenti clinici durante il periodo di osservazione di 36 mesi [24]. Nell'analisi, Kreuz et al. [22] hanno rilevato un deterioramento medio dei risultati tra i 18 ed i 36 mesi secondo

lo score dell'*International Cartilage Repair Society* pari a -0,68 e con lo score di Cincinnati pari a -0,69 nei difetti trocleari e pari, rispettivamente, a -0,82 e -0,37 nei difetti di rotula trattati con microfratture.

Per quanto concerne i risultati riportati ricorrendo alla tecnica ACI (*Autologous Chondrocyte Implantation*), sicuramente la tecnica più studiata, diversi lavori hanno presentato i risultati differenziati per compartimento trattato. Farr nel 2007 [25] ha riportato sulla tecnica ACI associata alla trasposizione della tuberosità tibiale anteriore con risultati eccellenti nel 23% dei casi, molto buoni nel 28% e buoni nel 28% ad un follow-up medio di 3,1 anni, ma associati complessivamente ad un tasso del 67% di reintervento. Gobbi et al. [26] in uno studio prospettico randomizzato, hanno dimostrato un miglioramento a 5 anni dei risultati del trattamento con ACI di seconda generazione – MACI (*matrix-induced autologous chondrocyte implantation*) con membrana Hyalograft-C (Fidia Advanced Biopolymers, Abano Terme, Italia) – ed in particolare che i casi trocleari isolati avevavo ottenuto un risultato "normale" o "quasi normale" pur partendo da una classificazione pre-operatoria "anormale" o "gravemente anormale". Valutando, però, nel complesso i 32 pazienti con lesioni della rotula o della troclea, sei su 32 hanno richiesto un reintervento a causa di sintomi meccanici.

Negli ultimi anni, tuttavia, il trattamento dei difetti cartilaginei, vista la scarsa durata dei risultati ottenuti con le microfratture e le difficoltà legate alla doppia procedura chirurgica necessaria per l'ACI ed ai relativi costi, il mondo scientifico si è sempre più diretto alla ricerca di una tecnica di trattamento in un solo tempo chirurgico, le cosiddette procedure "one-step". Sono stati così proposti diversi trattamenti che differiscono per il tipo di sostegno o scaffold utilizzato per ricoprire il difetto cartilagineo sia esso collagenico o a base di acido ialuronico od altro.

La tecnica AMIC, introdotta inizialmente da Behrens, è una procedura one-step che combina le microfratture con la possibilità della differenziazione condrocitaria dalle cellule staminali mesenchimali su una membrana collagenica. Essa è stata proposta e considerata un ulteriore sviluppo della tecnica delle microfratture. La caratteristica peculiare di tale tecnica risiede nel fatto che il coagulo ematico che si forma inizialmente quale esito delle microfratture viene protetto e che la membrana collagenica può rappresentare un utile scaffold per la formazione dei condrociti. Alcuni lavori hanno presentato i risultati a breve termine: è stato possibile rilevare un miglioramento dello score Lysholm fino a 2 anni (preop. 50,1, 1 aa postop. 79,9, 2 aa postop. 85,2) [14], in questo lavoro dal registro AMIC, su 57 pazienti valutati, 15 presentavano lesioni rotulee e 4 difetti trocleari. Successivamente, però, Gille et al., nel 2010, pur confermando i buoni risultati a breve termine a 2 anni, hanno rilevato un declino non significativo degli scores di valutazione successivi fino a 60 mesi [9]. Kusano et al., nell'evidenziare un incompleto riempimento dei difetti sui controlli di risonanza magnetica, hanno anche rilevato come più della metà dei loro casi trattati a livello della rotula, essendo andati incontro ad una rigidità, avessero richiesto una mobilizzazione del ginocchio in anestesia.

Recentemente, l'interesse degli studiosi si è diretto verso le possibili applicazioni delle cellule staminali mesenchimali (*Mesenchimal Stem Cells* – MSC), descritte nel 1991 da Caplan, ed in grado di differenziarsi verso la linea cellulare osteoblasti e condroblastica. Le cellule staminali multipotenti sono principalmente ottenute dal midollo osseo (BM-MSC) o dal tessuto adiposo (AT-MSC). Il Comitato di Studio delle cellule mesenchimali della Società Internazionale per la Terapia Cellulare ha definito il seguente set minimo di criteri standard per la caratterizzazione uniforme delle MSC: devono essere cellule aderenti alla plastica quando mantenute in condizioni di coltura standard; esse devono esprimere CD105, CD73, CD90 e devono mancare dell'espressione di superficie di CD45, CD34, CD14 (CD11b), CD79α (CD19), e HLA-DR; devono essere in grado di differenziarsi in cellule della linea mesodermica (condrociti, osteoblasti, adiposità). Gli studi su animali hanno confermato che il trapianto delle cellule mononucleate autologhe non coltivate derivate dal midollo osseo contribuisce alla riparazione della cartilagine ed è potenzialmente vitale per l'applicazione clinica [27-29]. Altri studi hanno dimostrato l'utilità della coltivazione delle cellule mesenchimali per raddoppiarne l'effetto [30]. È stato, anche dimostrato che le MSC ricevono sia segnali chimici ma anche segnali legati alla trasmissione dinamica delle forze. Infatti, visto che il movimento articolare è basato su una combinazione di deformazioni compressive, tensili e di taglio, è stato dimostrato che, l'applicazione oltre alla compressione assiale dinamica di una forza di taglio di superficie ha comportato un incremento dell'espressione genica e della differenziazione condrogenica delle MSC, mentre la compressione da sola o la forza di taglio da sola non sono state ingrado di promuovere tale differenziazione [31]. Ciò ovviamente può influenzare in maniera significativa lo sviluppo di protocolli post-operatori specifici successivi agli interventi di ricostruzione cartilaginea. L'impianto delle cellule staminali nei difetti della cartilagine articolare è stato sviluppato in associazione, come già osservato, all'uso di matrici o biomateriali (colla di fibrina, collagene, acido ialuronico-idrossiapatite, ceramica) che consentano di trasferire le cellule mesenchimali derivate dal midollo osseo e dal sangue periferico.

Fortier et al. hanno dimostrato che la centrifugazione dell'aspirato di midollo osseo ha dimostrato di essere in grado di moltiplicare le cellule mesenchimali staminali e

le cellule stromali derivate dal midollo e quindi può fornire un adeguato numero di cellule in grado di avviare la formazione di un tessuto simil-cartilagineo [16]. Il sangue periferico centrifugato è in grado di fornire un numero elevato di piastrine ricche di fattori di crescita noti per promuovere la differenziazione cellulare ed il metabolismo cellulare [32]. Questi rilievi assumono particolare importanza soprattutto nelle lesioni della cartilagine articolare della rotula, in cui il numero di cellule staminali è tanto limitato così come lo sono la perfusione e quindi l'afflusso dei fattori di crescita dopo la perforazione dell'osso subcondrale. L'approccio chirurgico per indurre la formazione di un tessuto rigenerato di qualità superiore da un punto di vista sia meccanico che istologico, si basa sulla fornitura di una elevata concentrazione di queste cellule mesenchimali staminali e stromali potenzialmente benefiche e dei fattori di crescita all'interno del difetto.

In letteratura, il trapianto delle cellule staminali mesenchimali derivate dal midollo osseo come cellule isolate o come concentrato midollare utilizzando quale scaffold la colla di fibrina [33 34] o il gel di fibrina arricchito in piastrine [35] ha rivelato miglioramenti clinici e soggettivi nei pazienti per 1-2 anni dopo l'intervento secondo gli scorse ICRS, IKDC, Lysholm. Questo è stato accompagnato dalla formazione di un tessuto di riparazione simil-ialino simile a quello della prima generazione di ACI [31] e con i risultati di risonanza magnetica che hanno mostrato un buon filling del difetto [35].

Lavori simili con MSC derivate dal midollo osseo come cellule isolate o come concentrati midollari su scaffold di acido ialuronico hanno ottenuto miglioramenti clinici e soggettivi a due anni dall'intervento secondo gli score SF-36, IKDC, KOOS e Lysholm [36 37]. In alternativa, il trapianto delle cellule staminali mesenchimali derivate dal midollo osseo come cellule isolate o come concentrati midollari su scaffold in collagene ha portato ad un miglioramento dei risultati clinici nei pazienti con follow-up compreso tra i 6 mesi e i 5 anni dopo l'intervento secondo gli score KOOS,IKDC e Lysholm [38-40]. I second-looks artroscopici hanno rivelato un buono riempimento del difetto con l'incorporazione nella cartilagine adiacente [38] e la formazione di un tessuto di riparazione fibrocartilagineo [41 42] o anche simil-ialino [43]. Le valutazioni RM hanno anche mostrato la ricostruzione della superficie cartilaginea ed una buona integrazione del tessuto di riparazione [39 40], mentre le biopsie hanno mostrato una matrice simil-ialina od un tessuto misto ialino e fibrocartilagineo [44].

Da questo background di esperienze pre-cliniche e cliniche ha preso origine la tecnica chirurgica presentata in questo lavoro circa la possibilità di riparare i difetti cartilaginei della rotula mediante resurfacing biologico con concentrato midollare, scaffold costituito da membrana collagenica a doppio strato di origine porcina e colla di fibrina.

Il razionale d'uso si basa sull'utilizzo delle cellule derivate dal midollo osseo e concentrate per riparare i difetti osteocondrali della retrosuperficie della rotula di grado III e IV e superare i limiti riscontrati nella tecnica ACI e nella iniziale tecnica AMIC.

Ne rappresentano le peculiarità: la tecnica chirurgica mini-invasiva con incisione cutanea minimale giusto sufficiente ad evertere la rotula, l'adozione di un sistema di concentrazione dell'espianto del midollo osseo, alternativo al sistema della cannula di Jamshidi, denominato Bio-Mac e l'utilizzo di una membrana collagenica a doppio strato di origine porcina, ricca in collagene dei tipi I-III (Chondrogide (Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Svizzera). La tecnica chirurgica mini-invasiva viene impiegata perché, come noto in letteratura, nei difetti cartilaginei retrorotulei vi è la difficoltà di riuscire ad effettuare il trattamento di riparazione per via artroscopica ed il trattamento con le semplici microfratture non è in grado di fornire risultati validi a lungo termine. Si è pensato di ricorrere per il prelievo e la concentrazione del midollo osseo al sistema BIO-mac perché esso presenta caratteristiche quali quelle di offrire un sistema quasi totalmente chiuso, ove è prevista esclusivamente una minima manipolazione del prelievo per effettuare una prima brevissima fase di filtrazione di avvio; un sistema di cannule di piccole diametro e di diverse lunghezze, specifiche per sede di prelievo, motorizzate e quindi meno traumatiche, tali da consentire di effettuare l'intervento di espianto midollare da solo in anestesia locale in regime ambulatoriale; l'impiego di una centrifuga, chiusa, in grado di fornire la quantità desiderata e richiesta del prodotto in pochi minuti, cioè un lasso di tempo assolutamente compatibile con le tempistiche di ricostruzione one-step dei difetti cartilaginei.

La membrana a doppio strato riassorbibile, con lo strato compatto, occlusivo che previene la diffusione delle cellule e le protegge anche dagli impatti meccanici e lo strato poroso, costituito da fibre collagene disposte in maniera lassa con disposizione che favorisce l'invasione e l'attecchimento cellulare presenta una matrice collagenica che favorisce la differenziazione condrocitaria e la produzione di collagene di tipo II e di glicosaminoglicani.

L'insieme delle caratteristiche della tecnica qui descritta rende possibile l'impianto dell'intero concentrato di origine midollare subito direttamente nel difetto osteocondrale, in un singolo atto chirurgico, grazie alla rapidità e alla semplicità della procedura di prelievo e alla brevità della fase di processazione, tutta svolta all'interno della sala operatoria in 15-20 minuti senza estesa manipolazione.

Le prime procedure chirurgiche sono state portate a termine senza problematiche tecniche né complicanze intraoperatorie o postoperatorie precoci. Non è, tuttavia,

ovviamente possibile fornire considerazioni di valutazione conclusive su questa tecnica, visto che l'esperienza deve maturare insieme al procedere del follow-up. La semplicità e la rapidità, insieme alla assenza di difficoltà intraoperatorie o di complicanze immediate e alla esperienza maturata da altri Autori dapprima negli animali poi nei primi casi sui difetti femorali rendono, però, possibile affermare che si possa trattare di una delle tecniche cui ricorrere per il trattamento one-step dei difetti cartilaginei del ginocchio, e della articolazione femoro-rotulea in particolare. I futuri lavori di follow-up ne confermeranno i risultati.

Bibliografia

1. Curl W, Krome J, Gordon ES, et al. *Cartilage injuries: a review of 31,516 knee arthroscopies.* Arthroscopy 1997;13:456-60.
2. Aroen A, Loken S, Heir S, et al. *Articular cartilage lesions in 993 consecutive knee arthroscopies.* Am J Sports Med 2004;32:211-5.
3. Hjelle K, Solheim E, Strand T, et al. *Articular cartilage defects in 1,000 knee arthroscopies.* Arthroscopy 2002;18:730-4.
4. Widuchowski W, Widuchowski J, Trzaska T. *Articular cartilage defects: study of 25,124 knee arthroscopies.* Knee 2007;14:177-82.
5. Flanigan DC, Harris JD, Trinh TQ, et al. *Brophy prevalence of chondral defects in athletes' knees: a systematic review.* Med Sci Sports Exerc 2010;42:1795-801.
6. Nomura E, Inoue M, Kurimura M. *Chondral and osteochondral injuries associated with acute patellar dislocation.* Arthroscopy 2003;19:717-21.
7. Lee KB, Wang VT, Chan YH, et al. *A novel, minimally-invasive technique of cartilage repair in the human knee using arthroscopic microfracture and injections of mesenchymal stem cells and hyaluronic acid – a prospective comparative study on safety and short-term efficacy.* Ann Acad Med Singapore 2012;41:511-7.
8. Gallo RA, Feeley BT. *Cartilage defects of the femoral throclea*. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 2009;17:1316-25.
9. Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A, et al. *Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation.* N Engl J Med 1994;331:889-95.
10. Steadman JR, Rodkey WG, Rodrigo JJ. *Microfracture: surgical technique and rehabilitation to treat chondral defects.* Clin Orthop Relat Res 2001;391:S362-369.
11. Behrens P, Bosch U, Bruns J, et al. *Indications and implementation of recommendation of the working group "Tissue regeneration and Tissue Substitution" for autolo- gous chondrocyte transplantation.(in German).* Z Orthop Ihre Grenzgeb 2004;142:529-39.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. Dhollander AA, Neve F, Almqvist KF, et al. *Autologous matrix-induced chondrogenesis combined with platelet-rich plasma gel: technical description and a five pilot patients report.* Knee Surg Sport Traumatol Arthrosc 2011;19:536-42.
16. Fortier LA, Potter HG, Rickey EJ, et al. *Concentrated bone marrow aspirate improves full-thickness cartilage repair compared with microfracture in the equine model.* J Bone Joint Surg A 2010;92:1927-37.
17. Saw KY, Hussin P, Loke SC, et al. *Articular cartilage regeneration with autologous marrow aspirate and hyaluronic acid: an experimental study in a goat model.* Arthroscopy 2009;25:1391-400.
18. Noyes FR, Bassett RW, Grood ES, et al. *Arthroscopy in acute traumatic hemarthrosis of the knee. Incidence of anterior cruciate tears and other injuries.* J Bone Joint Surg Am 1980;62:687-95, 757.
19. Kaplan LD, Schurhoff MR, Selesnick H, et al. *Magnetic resonance imaging of the knee in asymptomatic professional basketball players.* Arthroscopy 2005;21:557-61.
20. Walczak BE, McCulloch PC, Kang RW, et al. *Abnorma findings on knee magnetic resonance imaging in asymptomatic NBA players.* J Knee Surg 2008;21:27-33.
21. Insall JJ, Falvo KAK, Wise DWD. *Chondromalacia patellae. A prospective study.* J Bone Joint Surg Am 1976;58:1-8.
22. Federico DJ, Reider B. *Results of isolated patellar debridement for patellofemoral pain in patients with normal patellar alignment*. Am J Sorts Med 1997;25:663-9.
23. Schonholtz GJ, Ling B. *Arthroscopic chondroplasty of the patella.* Arthroscopy 1985:1:92-6.
24. Kreutz PC, Steinwachs MR, Ergellet C, et al. *Results after microfracture of full thickness chondral defects in different compartments of the knee.* Osteoarthritis Cartilage 2006;14:1119-25.
25. Farr J. *Autologous chondrocyte implantation improves patellofemoral cartilage tretament outcomes.* Clin Orthop Relat Res 2007;463:187-94.
26. Gobbi A, Kon E, Berruto M, et al. *Patellofemoral full-thickness chondral defects treated with Hyalograft-C: a clinical, arthroscopic and histologic review.* Am J Sports Med 2006;34:1763-73.
27. Chang F, Ishii T, Yanai T, et al. *Repair of large full-thickness articular cartilage defects by transplantation of autologous*

uncultured bone-marrow-derived mononuclear cells. J Orthop Res 2008;26:18-26.

28 Chanda D, Kumar S, Ponnazhagan S. *Therapeutic potential of adult bone marrow-derived mesenchymal stem cells in diseases of the skeleton.* J Cell Biochem 2010;111:249-57.

29 Koga H, Shimaya M, Muneta T, et al. *Local adherent technique for transplanting mesenchymal stem cells as a potential treatment of cartilage defect.* Arthritis Res Ther 2008;10:R84.

30 Lubis AM, Sandhow L, Lubis VK, et al. *Isolation and cultivation of mesenchymal stem cells from iliac crest bone marrow for further cartilage defect management.* Acta Med Indones 2011;43:178-84.

31 Schatti O, Grad S, Godhahn J, et al. *A combination of shear and dynamic compression leads to mechanically induced chondrogenesis of human mesenchymal stem cells.* Eur Cell Mater 2011;22:214-25.

32 Fortier LA, Barker JU, Strauss EJ, et al. *The role of growth factors in cartilage repair.* Clin Orthop Relat Res 2011;469:2706-15.

33 Nejadnik H, Hui JH, Feng Choong EP, et al. *Autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells versus autologous chondrocyte implantation: an observational cohort study.* Am J Sports Med 2010;38:1110-6.

34 Slynarski K, Deszczynski J, Karpinski J. *Fresh bone marrow and periosteum transplantation for cartilage defects of the knee.* Transplant Proc 2006;38:318-9.

35 Haleem AM, Singergy AA, Sabry D, et al. *The clinical use of human culture-expanded autologous bone marrow mesenchymal stem cells transplanted on platelet-rich fibrin glue in the treatment of articular cartilage defects: a pilot study and preliminary results.* Cartilage 2010;1:253-61.

36 Lee KB, Wang VT, Chan YH, et al. *A novel, minimally invasive technique of cartilage repair in the human knee using arthroscopic micro fracture and injections of mesenchymal stem cells and hyaluronic acid - a prospective comparative study on safety and short term efficacy.* Ann Acad Med Singapore 2012;41:511-7.

37 Buda R, Vannini F, Cavallo M, et al. *Osteochondral lesions of the knee: a new one-step repair technique with bone-marrow-derived cells.* J Bone Joint Surg Am 2010;92(Suppl 2):2-11.

38 Kasemkijwattana C, Hongeng S, Kesprayura S, et al. *Autologous bone marrow mesenchymal stem cells implantation for cartilage defects: two cases report.* J Med Assoc Thai 2011;94:395-400.

39 Skowronski J, Rutka M. *Osteochondral lesions of the knee reconstructed with mesenchymal stem cells – results.* Ortop Traumatol Rehabil 2013;15:195-204.

40 Skowronski J, Skowronski R, Rutka M. *Large cartilage lesions of the knee treated with bone marrow concentrate and collagen membrane – results.* Ortop Traumatol Rehabil 2013;15:69-76.

41 Wakitani S, Mitsuoka T, Nakamura N, et al. *Autologous bone marrow stromal cell transplantation for repair of full-thickness articular cartilage defects in human patellae: two case reports.* Cell Transplant 2004;13:595-600.

42 Wakitani S, Nawata M, Tensho K, et al. *Repair of articular cartilage defects in the patello-femoral joint with autologous bone marrow mesenchymal cell transplantation: three case reports involving nine defects in five knees.* J Tissue Eng Regen Med 2007;1:74-9.

43 Kuroda R, Ishida K, Matsumoto T, et al. *Treatment of a full-thickness articular cartilage defect in the femoral condyle of an athlete with autologous bone-marrow stromal cells.* Osteoarthritis Cartilage 2007;15:226-31.

44 Gigante A, Calcagno S, Cecconi S, et al. *Use of collagen scaffold and autologous bone marrow concentrate as a one-step cartilage repair in the knee: histological results of second-look biopsies at 1 year follow-up.* Int J Immunopathol Pharmacol 2011;24(1 Suppl 2):69-72.

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