

## LAVORO ORIGINALE

## AUTOTRAPIANTO DI CELLULE STAMINALI DA TESSUTO ADIPOSO PER IL TRATTAMENTO DELL'ULCERA DIABETICA – COMUNICAZIONE PRELIMINARE

*Paolo Mingazzini, Massimo Del Bene, Luca Rovati  
e il "Gruppo Inter-Disciplinare sul Piede Diabetico"*

*Azienda Ospedaliera San Gerardo di Monza - Università degli Studi di Milano – Bicocca*

**GOI "piede diabetico":** Felice Paleari, Paolo Mingazzini, Giorgio Annoni, Donatella Bonaiuti, Carlo Conti, Rocco Corso, Massimo Del Bene, Luca Fattori, Davide Leni, Clara Maino, Giuseppe Minciotti, Andrea Sampaolo, Andrea Stella, Vittorio Villa

### Riassunto

L'ulcera diabetica, che fa parte del quadro patologico del "Piede Diabetico", costituisce una complicanza grave, poiché generalmente si associa alla malattia multiorgano caratteristica degli stadi avanzati del Diabete. Il trattamento di tale malattia è necessariamente multidisciplinare e deve essere orientato in modo sistemico, specie agli organi vitali colpiti dal diabete. La terapia dell'ulcera e la sua guarigione riveste grande importanza per prevenire complicanze maggiori che possono a loro volta condurre all'amputazione. Abbiamo associato, in alcuni pazienti, alle terapie tradizionali il trapianto intorno all'ulcera di lipociti prelevati dal soggetto stesso, notando un'accelerazione del processo di guarigione. Le cellule staminali totipotenti, presenti nel tessuto adiposo, favoriscono la neoangiogenesi e la rigenerazione cellulare e quindi la guarigione dell'ulcera

### Summary

**TRANSPLANT OF AUTOLOGOUS ADIPOSE-DERIVED STEM CELLS FOR THE TREATMENT OF DIABETIC ULCER – PRELIMINARY COMMUNICATION**

Diabetic ulcer takes part to the pathology of the "Diabetic Foot", it is a serious complication, because is expression of a multi-organ disease, typical of the advanced phase of Diabetes.

The treatment of diabetic pathology is necessarily via a Multi-Disciplinary systemic approach, focused on vital organs affected by such disease.

Care of ulcer prevents major complications and possible amputation. Transplant of autologous lipocytes around ulcer was associated in several patients to more traditional treatment, and a faster wound healing was observed. Multipotent adipose-derived stem cells favour neoangiogenesis and proliferation and consequent ulcer healing.

**Parole chiave:** Ulcera Diabetica, Piede Diabetico, Cellule Staminali, Adipociti

**Key Words:** Diabetic Ulcer, Diabetic Foot, Stem Cells, Adipose Cells

### Introduzione

Abbiamo già descritto, su questa stessa rivista, le diverse cause che stanno alla base della frequente comparsa, negli stadi avanzati della malattia diabetica, di lesioni ulcerose alle estremità (1). Tali cause concorrono a creare un complesso quadro morboso, denominato "Piede Diabetico".

I fattori patogenetici principali sono l'alterato metabolismo legato sia alla malattia diabetica di base, sia ai disturbi trofici causati dalle macroangiopatia e microangiopatia diabetica, che colpiscono i grossi vasi arteriosi degli arti inferiori e le arteriole in maniera generalizzata, predisponendo quindi alle lesioni ischemiche delle estremità (2).

A ciò si aggiunge la neuropatia diabetica che altera il normale neuro-trofismo tissutale: neuropatia autonoma, con diminuzione della secrezione sudoripara, fragilità e secchezza della cute già distrofica; neuropatia motoria, con alterazione del normale tono e trofismo dei muscoli propri del piede, che determina deformità delle estremità, modificazione dell'appoggio plantare e lesioni da iper-pressione e da decubito (1). La progressiva insensibilità agli stimoli dolorifici (neuropatia sensitiva) aggrava inoltre le conseguenze di traumi ripetuti, che non sono avvertiti dai pazienti.

La suscettibilità all'infezione, propria del Diabete ed accentuata dal cattivo trofismo cutaneo, con rottura della naturale barriera e protezione contro i batteri, sta alla base della quasi costante sovra infezione delle lesioni cutanee, che ne impedisce la guarigione favorendone invece l'estensione ai piani profondi ed ai tessuti circostanti, con flemmoni, ascessi e necrosi colliquativa causata dalle proteasi batteriche.

La guarigione delle lesioni ulcerose del "piede diabetico", come concordemente confermato nelle Linee Guida delle Società Scientifiche delle Discipline coinvolte, non può avvenire, se non attraverso la correzione di tutti i vari fattori patologici che concorrono alla loro determinazione (3).

Non sarà dunque sufficiente una terapia topica dell'ulcera, con trattamento vulnologico e medicazioni mirate al tipo di lesione, ma si dovrà intervenire in modo sistemico sulle

malattie concomitanti. Ottenere compenso metabolico del diabete in prima istanza, con dieta e terapia farmacologica; valutare le condizioni generali del soggetto: la funzione cardiorespiratoria e renale saranno prioritariamente accertate e, se necessario, trattate; esse condizioneranno anche spesso le indicazioni ad ogni altra procedura.

Un cattivo appoggio plantare sarà corretto dall’Ortopedico con calzature apposite, eventuale ortesi, sino ad interventi chirurgici di artroplastica correttiva.

In caso di macroangiopatia, con ischemia dell’estremità, è indispensabile una rivascolarizzazione chirurgica attraverso endoarteriectomia o bypass quando indicati, od attraverso metodiche meno invasive di Angioplastica e stenting per via percutanea, sotto controllo radiologico, i cui risultati sono progressivamente migliorati con il perfezionamento di tecniche e materiali.

L’infezione sarà eradicata con trattamento antibiotico mirato e con procedure chirurgiche di necrosectomie, drenaggio e plastica via via necessarie.

Tali criteri costituiscono la base non rinunciabile del Trattamento Multidisciplinare del Piede Diabetico e fanno parte di un definito Protocollo Diagnostico-Terapeutico da tempo adottato dalla nostra Azienda Ospedaliera.

Recentemente, a seguito di risultati positivi riferiti in letteratura e confermati dall’esperienza personale in differenti patologie dei Chirurghi Plastici che collaborano nel nostro Gruppo, abbiamo associato alle consuete metodiche tecniche di autotrapianto di adipociti, di cui vogliamo riferire i primi risultati.

### Razionale

La neoangiogenesi rappresenta una tappa fondamentale nella guarigione delle ferite, garantendo l’apporto di ossigeno e sostanze metaboliche necessarie al processo rigenerativo e la rimozione dei cataboliti. Le cellule staminali embrionarie hanno una spiccata attività neo-angiogenetica, favoriscono quindi i normali processi di neovascolarizzazione e formazione di tessuto di granulazione, essenziali nella guarigione delle ferite (4, 5, 6, 7).

Risultati positivi, con accelerazione del processo di guarigione, sono infatti riferiti in letteratura attraverso il trattamento locale delle ulcere con insemiazione di cellule staminali (8, 9, 10).

Numerose ricerche sperimentali hanno inoltre provato che il tessuto adiposo nell’uomo è ricco di cellule staminali con capacità rigenerativa ed angiogenetica, confermandone dunque la qualità di sorgente facilmente accessibile per il prelievo di queste (11-17). Anche nell’individuo adulto diabetico il tessuto adiposo presenta una quantità sufficiente di cellule staminali (18).

La stessa ipossia infine, che perlopiù è presente nelle ulcere diabetiche, ed anzi ne costituisce uno dei fattori patogenetici, è stata dimostrata favorire, nelle cellule staminali derivate dal tessuto adiposo, i processi di proliferazione e di produzione di fattori di crescita per l’endotelio vascolare ed i fibroblasti (VEGF e BFGF) (14).

La presenza di un’irrorazione sufficiente è però fattore indispensabile per la guarigione delle ulcere diabetiche, qualora necessario dovrà essere pertanto ottenuta attraverso interventi di rivascolarizzazione tramite bypass od angioplastica (11), ma la contemporanea o successiva applica-

zione di cellule staminali adipose è in grado di accelerare il processo di guarigione, ancor più se aggiungendo concentrato piastrinico (12).

### Metodica ed esperienza preliminare

Le cellule adipose vengono prelevate sterilmente, generalmente dalle regioni anterolaterali dell’addome, con la tecnica adottata abitualmente per la liposuzione: microincisione cutanea ed introduzione di apposito ago a punta smussa, con fenestrazione laterale, che viene avanzato e re-tratto durante l’aspirazione in siringa.

L’autotrapianto di lipociti è stato introdotto da Illouz nel 1986, successivamente Coleman nel 2005 ha proposto la centrifugazione del lipoaspirato, per concentrarne la parte cellulare.

La diffusione della metodica è avvenuta soprattutto in Chirurgia Estetica dove il “Lipofilling” viene utilizzato per riempire e rimodellare i tessuti (lipo-struttura).

Nel 2007 Rigotti ha descritto la presenza di cellule staminali totipotenti nel grasso aspirato. Tali cellule possono differenziarsi nei vari tessuti, soprattutto se iniettate in tessuti distrofici come cicatrici, tessuti irradiati od ulcere.

L’applicazione da noi effettuata è proprio allo scopo di migliorare il trofismo intorno all’ulcera ed indurre una rigenerazione tissutale.

Nei primi casi trattati, di ulcere croniche in pazienti diabetici, con condizioni irroratorie compromesse e scarsa tendenza alla guarigione, abbiamo notato reazione iperemica da neovascolarizzazione nelle zone d’inoculazione, con notevole accelerazione del processo di rigenerazione a livello dei margini dell’ulcera, miglior granulazione a livello del fondo ulceroso e rapida riepitelizzazione (vedi foto).

### Conclusioni

Le ulcere trofiche alle estremità inferiori costituiscono una grave complicanza della malattia diabetica in stato avanzato e preludono a conseguenze peggiori, che caratterizzano il quadro patologico del “Piede Diabetico”. L’ulcera diabetica, se non adeguatamente curata, porta ad un’evoluzione maligna, con facile sovrainfezione, ascessualizzazione ed estensione della necrosi con frequente necessità di amputazioni, anche maggiori.

Il piede diabetico non è solo grave di per se stesso, ma soprattutto come campanello d’allarme per uno squilibrio metabolico ed una patologia multi organo della malattia diabetica avanzata.

Solo il trattamento multidisciplinare delle varie patologie associate può garantire risultati efficaci in questi pazienti, con controllo della malattia, evitando le complicanze più gravi, quali infarti miocardici, gangrene degli arti, insufficienza renale ecc.

Il trattamento dell’ulcera diabetica allo stadio precoce riveste dunque una grande importanza, anche per evitare complicanze maggiori. Abbiamo praticato in alcuni soggetti l’autotrapianto di adipociti e cellule staminali nei tessuti peri-ulcerosi, con miglioramento del trofismo locale e minor tempo di guarigione. Le prime osservazioni appaiono assai promettenti, riteniamo tuttavia che la metodica vada attentamente verificata per stimolarne un’utilizzazione clinica sistematica



Fig.1: donna diabetica di 85 anni.  
Amputazione 5° dito piede destro per  
gangrena



Fig.2: necrosi ischemica del lembo e  
4° dito



Fig.3: reazione iperemi-  
ca dopo amputazione 4° dito e  
lipofilling



Fig.4: buona granulazione della ferita



Fig. 5: progressiva guarigione



Fig.6: ferita quasi rimarginata

#### Bibliografia

- 1) Mingazzini P, Paleari F, Annoni G, et al. Il Trattamento del “ Piede Diabetico”. Il Bassini 2009; 29(1): 32-35.
- 2) Stratton IM, Adler AI, Neil HA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ* 2000;321:405-412
- 3) Associazione Medici Diabetologi (AMD) – Società Italiana di Diabetologia (SID) Standard Italiani per la Cura del Diabete Mellito – 2009-2010 Ed. Infomedica 2010
- 4) Greenhalgh D. Wound healing and diabetes mellitus. *Clin Plast Surg* 2003;30: 37
- 5) Velasquez OC. Angiogenesis and vasculogenesis: inducing the growth of new blood vessels and wound healing by stimulation of bone marrow derived progenitor cell mobilization and homing. *J Vasc Surg* 2007;45(A):39-47
- 6) Bauer SM, Bauer RJ, Velasquez OC. Angiogenesis, vasculogenesis and induction of healing in chronic wounds. *Vasc Endovasc Surg* 2005; 39(4):293-306
- 7) Galiano RD, Tepper OM, Pelo CR. Topical vascular endothelial growth factor accelerates diabetic wound healing through increased angiogenesis and by mobilizing and recruiting bone marrow derived cells. *Am J Pathol* 2004; 164: 1935
- 8) Zuk PA, Zhu M, Hiroshi M. Multi-lineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng.* 2001;7: 211-228
- 9) Rehman J, Traktuev D, Li J. Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. *Circulation* 2004; 109: 1292-1298
- 10) Blanton MW, Hadad I, Johnstone BH, et al. Adipose stromal cells and platelet rich plasma therapies synergistically increase revascularization during wound healing. *Plast Reconstr Surg* 2009; 123(S): 56-64
- 11) Treiman GS, Oderich GS, Ashrafi A, Schneider PA. Management of ischemic heel ulceration and gangrene: an evaluation of factors associated with successful healing. *J Vasc Surg* 2000; 31: 1110-1118
- 12) Mischen BT, Follmar KE, Moyer KE, et al. Metabolic and functional characterization of human adipose-derived stem cells in tissue engineering. *Plast Reconstr Surg* 2008; 122: 725-738
- 13) Margolis DJ, Kantor J, Santanna J, et al. Effectiveness of platelet releasate for the treatment of diabetic neuropathic foot ulcers. *Diabetes Care* 2001; 24:483
- 14) Lin CD, Allori AC, Macklin JE, et al. Topical lineage negative progenitor cell therapy for diabetic wounds. *Plast Reconstr Surg* 2008;122: 1341-1351
- 15) Zuk PA, Zhu M, Ashjian P. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 2002; 13: 4279
- 16) Kakudo N, Shimotsuna A, Kusumoto K. Fibroblast growth factor 2 stimulates adipogenic differentiation of human adipose derived stem cells. *Biochem Biophys Res* 2007;359:239
- 17) Rodriguez AM, Elabd C, Amri EZ, et al. The human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Biochimica* 2005; 87: 125
- 18) Harris LJ, Zhang P, Abdollahi H, et al. Availability of adipose derived stem cells in patients undergoing vascular surgical procedures. *J Surg Res* 2010 163(2): 105-112