



**Azienda Ospedaliera
Istituto Ortopedico
GAETANO PINI**

Deliberazione n. **505** Del **13 NOV. 2015** Atti 131/2015

Oggetto: accettazione di un contributo liberale da parte di Novagenit S.r.l. per un progetto di ricerca da realizzarsi presso la S.C. Ortopedia e Traumatologia Pediatrica dell'Istituto.

IL DIRETTORE GENERALE

Premesso che:

- con nota 10.07.2015 il Direttore della S.C. Ortopedia e Traumatologia Pediatrica dott. Antonio Memeo, nell'intento di realizzare all'interno della Struttura da lui diretta il progetto intitolato *"Valutazione clinica, osservazionale prospettica, in aperto, per valutare l'efficacia dell'impiego del concentrato di cellule mononucleate autologhe di origine midollare in pazienti con ritardo di consolidazione delle fratture trattate con tecnica d'allungamento"*; verificava la disponibilità della società Novagenit S.r.l. di Mezzolombardo (TN) ad elargire un contributo liberale destinato al finanziamento del suindicato progetto;
- con nota 23.10.2015 prot. n. 13558, la società Novagenit S.r.l. accoglieva favorevolmente la richiesta del dott. Antonio Memeo effettuando una donazione liberale di € 10.000,00 a favore dell'attività di ricerca nel campo della rigenerazione tissutale che dovrà essere realizzata attraverso l'impiego, a mezzo di contratto libero professionale (durata nove mesi), ad un laureato in Medicina e Chirurgia specializzato in Ortopedia e Traumatologia Pediatrica;

dato atto che il contributo in questione:

- non obbliga in alcun modo, né potrà essere interpretato in modo da obbligare l'Azienda Ospedaliera Istituto Ortopedico Gaetano Pini, o alcuno dei suoi dipendenti o personale a contratto, ad usare, ordinare, acquistare o raccomandare l'uso, l'ordine o l'acquisto di qualsiasi prodotto di Novagenit S.r.l.;
- non incide in alcun modo sul giudizio professionale dell'Azienda Ospedaliera, sui prodotti ed i servizi di Novagenit S.r.l.;
- non è destinato all'utilizzo o vantaggio personale;
- è finalizzato a supportare l'attività di che trattasi, fatto salvo il diritto di Novagenit S.r.l. di revocare o sospendere la donazione in argomento in caso di improprio utilizzo della stessa da parte dell'Ente;

verificato che non sussistono collegamenti con esponenti dell'Azienda Ospedaliera tali da poter configurare situazioni di potenziale conflitto di interessi;



Azienda Ospedaliera
Istituto Ortopedico
GAETANO PINI

Deliberazione n. 505 Del 13 NOV. 2015 Atti 131/2015

visti i pareri favorevoli espressi, per quanto di rispettiva competenza, dal Direttore Amministrativo e dal Direttore Sanitario ai sensi degli artt. 3 e 3 bis del D. Lgs. 502/92 s.m.i.;

DELIBERA

per i motivi di cui in premessa che qui si intendono integralmente trascritti:

- 1) di accettare il contributo di € 10.000,00= (diecimila/00) da parte di Novagenit S.r.l., a titolo di finanziamento di un incarico libero professionale, della durata di mesi 9, da conferire ad un laureato in Medicina e Chirurgia specializzato in Ortopedia e Traumatologia Pediatrica, destinato alla realizzazione, presso la S.C. Ortopedia e Traumatologia Pediatrica, del progetto dal titolo: *“Valutazione clinica, osservazionale prospettica, in aperto, per valutare l'efficacia dell'impiego del concentrato di cellule mononucleate autologhe di origine midollare in pazienti con ritardo di consolidazione delle fratture trattate con tecnica d'allungamento”*, allegato al presente provvedimento quale parte integrante e sostanziale;
- 2) di dare mandato alla S.C. Gestione delle Risorse Economico-Finanziarie e Controllo di Gestione di acquisire il contributo di € 10.000,00= (diecimila/00) che verrà erogato da Novagenit S.r.l., da registrarsi sul conto economico n. 400.010.00010 "contributi da privati" del Bilancio d'esercizio 2015;
- 3) di dare incarico alla S.C. Gestione delle Risorse Umane e Relazioni Sindacali, subordinatamente all'acquisizione del contributo di cui trattasi, di emanare l'avviso pubblico, per soli titoli, per il conferimento del suindicato incarico libero professionale;
- 4) di nominare il Direttore della S.C. Ortopedia e Traumatologia Pediatrica dott. Antonio Memeo, quale referente aziendale per la gestione clinica e per ogni effetto connesso alla realizzazione del programma di studio e ricerca di che trattasi;
- 5) di dichiarare il presente provvedimento non soggetto a controllo preventivo, ai sensi dell'art. 17, comma 4, della L.R. n. 33/2009 (come modificato dalla L.R. 23/2015);



**Azienda Ospedaliera
Istituto Ortopedico
GAETANO PINI**

Deliberazione n. **505** Del **13 NOV. 2015** Atti 131/2015

- 6) di disporre la pubblicazione della presente deliberazione, dando atto che la stessa è immediatamente esecutiva, ai sensi dell'art. 17, comma 6, della L.R. n. 33/2009 (come modificato dalla L.R. 23/2015).

IL DIRETTORE GENERALE
(dott. Amedeo Tropiano)

CON I PARERI FAVOREVOLI DI COMPETENZA DEL
DIRETTORE AMMINISTRATIVO
(dott. Renato Malaguti)

DIRETTORE SANITARIO
(dott. Nunzio A. Buscino)

S.C. Affari Generali e Legali

Si attesta la regolarità amministrativa e tecnica del presente provvedimento
Responsabile del Procedimento: dott.ssa Marilena Moretti *Marilena Moretti*
Pratica trattata da: sig.ra Maria Cianchella *MC*



**Azienda Ospedaliera
Istituto Ortopedico
GAETANO PINI**

| | | | | | |
|------------------|-----|-----|--------------|------|----------|
| Deliberazione n. | 505 | Del | 13 NOV. 2015 | Atti | 131/2015 |
|------------------|-----|-----|--------------|------|----------|

RELAZIONE DI PUBBLICAZIONE

Si certifica che la presente deliberazione é pubblicata all'Albo Pretorio online di questa Azienda Ospedaliera, per rimanervi affissa per quindici giorni consecutivi.

Milano, li **13 NOV. 2015**

U.O. AFFARI GENERALI E LEGALI
L'ASSISTENTE AMMINISTRATIVO
(Maria Cianchella)

www.AlboPretorioonline.it 131/15

L'atto si compone di n. 14 (quattordici) pagine di cui n. 9 (nove) pagine di allegati..

Valutazione clinica, osservazionale prospettica, in aperto, per valutare l'efficacia dell'impiego del concentrato di cellule mononucleate autologhe di origine midollare in pazienti con ritardo di consolidazione delle fratture trattate con tecnica d'allungamento.

Bozza di protocollo

Ottobre 2015

Sperimentatore: Dott. Antonio Memeo – Dott. Fabio Verdoni

Centro: Divisione Ortopedia e Traumatologia Pediatrica – Istituto Ortopedico G. Pini – Milano

AZIENDA OSPEDALIERA
ISTITUTO ORTOPEDICO GAETANO PINI
STRUTTURA COMPLESSA DI ORTOPEDIA
E TRAUMATOLOGIA PEDIATRICA
Direttore: Dott. Antonio Memeo

Introduzione

La riparazione tissutale muscolo-scheletrica nell'adulto segue una cascata di eventi ben definiti. A partire dalla formazione dell'ematoma, sia esso causato naturalmente da trauma o in conseguenza di un intervento chirurgico, attraverso il richiamo di cellule competenti vi è lo sviluppo di azioni concatenate che portano alla riparazione del difetto. Non sempre al processo di riparazione tissutale consegue la guarigione clinica. In un certo numero di casi, se non vi sono condizioni locali adeguate, si assiste ad un rallentamento o impedimento allo sviluppo di questi processi, tale per cui nel tempo si instaura un fenomeno di "cronicizzazione" senza possibilità di evoluzione positiva.

In chirurgia ortopedica le condizioni locali che sono essenziali perché si ottenga il successo del processo ripartivo sono principalmente due: la stabilità e la vitalità biologica del tessuto da riparare. L'incorporazione del tessuto innestato (osso, cartilagine, tendini), sia autoplastico, sia omoplastico, sia sintetico, richiede una interazione cooperativa tra l'innesto e l'ospite. Un ruolo importante è svolto dal letto vascolare dell'ospite che fornisce sia le cellule mesenchimali (precursori cellulari), che i fattori fondamentali per la maturazione di questi precursori in cellule differenziate (osteoblasti, condroblasti, tenoblasti, etc..). L'attività riparativa può essere quindi definita come la contemporanea rivascolarizzazione e rivitalizzazione dell'impianto. Una rivascolarizzazione ritardata o insufficiente può inficiare l'incorporazione dell'impianto o addirittura causarne il fallimento.

IL CONCENTRATO MIDOLLARE AUTOLOGO

Il Concentrato Midollare contiene una quantità consistente di cellule mononucleate autologhe, tra le quali le cellule mesenchimali sopra menzionate, che svolgono un'azione fondamentale nella rigenerazione di nuovo tessuto muscolo scheletrico.

Le piastrine sono coinvolte nelle fasi precoci della formazione del nuovo tessuto e sono anch'esse presenti nel concentrato midollare in quantità quattro volte superiore alla concentrazione fisiologica nel sangue. Questi elementi figurati sono molto importanti per il processo rigenerativo perché formano il coagulo che impedisce l'emorragia e nello stesso tempo forniscono i fattori di crescita locali per lo sviluppo

del "callo osseo". Durante la degranulazione degli alfa granuli piastrinici, che con la fibrina completa la chiusura vasale, si libera un importante numero di fattori - i fattori di crescita -, che hanno la capacità di accelerare i processi di vascolarizzazione nel tessuto nel quale è in corso un'attività riparativa. Infatti le piastrine attivate rilasciano velocemente (entro 1 ora) e in grande quantità (circa il 95%) i fattori di crescita, che hanno un effetto stimolatorio diretto sulle cellule progenitrici.

La qualità del tessuto di riparazione dipende dalla presenza di citochine angiogeniche che hanno due funzioni principali: la proliferazione degli elementi staminali che confluiscono nell'ambiente dell'innesto e la loro differenziazione in precursori vasali. Questa attività angiogenetica è favorita in modo particolare dal PDGF (Platelet derived growth factor), dal VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) ed dal bFGF (basic Fibroblast growth Factor). Mentre, il TGF beta (Transforming Growth Factor), l'EGF (Epidermal Growth Factor) ed il IGF (Insulin-like Growth Factor) hanno una tendenza alla differenziazione cellulare in particolare stimolando la produzione di proteine strutturali dei tessuti di sostegno (collagene). In comune tutti questi fattori hanno la capacità di attrazione degli elementi cellulari circostanti (chemiotassi) e lo stimolo alla proliferazione cellulare (funzioni mitogene).

I processi riparativi possono avere minore efficacia in relazione a numerosi fattori legati al paziente, di cui certamente i più importanti sono: l'età, le malattie metaboliche, quali il diabete, e l'uso di medicinali o fattori tossici. In particolare in questi casi è importante avviare il processo riparativo dando un forte contributo iniziale allo sviluppo del normale processo fisiologico.

La capacità di concentrazione delle cellule nei sistemi commerciali presenti sul mercato è dell'ordine di 8 volte la concentrazione basale del midollo osseo. Questo risultato è molto importante perché l'elevata concentrazione di cellule progenitrici somministrate rappresenta un'altissima probabilità dell'ottenimento della rigenerazione tissutale. Contemporaneamente alle cellule mononucleate vengono concentrate e somministrate anche le piastrine presenti nel midollo originale. Queste ultime avranno un effetto diretto sulle stesse cellule multipotenti raccolte ed utilizzate per la terapia. In definitiva si tratta di una terapia a base di materiale biologico tra le più complete ed efficienti al momento disponibili.

Razionale

In questo studio clinico abbiamo individuato una situazione patologica, il ritardo di consolidazione in fratture trattate con l'allungamento osseo, nella quale intervenire con l'utilizzo del concentrato midollare autologo al fine di accelerare la guarigione. L'allungamento osseo consiste nella formazione di osso ottenuto per distrazione graduale in condizioni di stabilità meccanica. Per rigenerato osseo si intende il prodotto dell'apposizione di nuovo tessuto osseo fra due superfici vascolarizzate dovute ad una osteotomia e separate da una distrazione graduale e controllata. La progressione nella formazione del rigenerato osseo è direttamente correlata alla velocità e alla quantità dell'allungamento. Studi sperimentali clinici e radiografici asseriscono che la velocità ottimale di allungamento risiede in 1 mm al giorno.

La maturazione del rigenerato osseo può essere ottimizzata mediante alcune condizioni quali un periodo di latenza prima di iniziare l'allungamento, una velocità specifica e corretta di distrazione, una corticotomia e una fissazione stabile. Il tempo di consolidazione del rigenerato osseo può essere influenzato da differenti fattori quali un dismetabolismo del calcio, la mancanza di un corretto carico, l'insorgenza di infezioni superficiali o profonde, un eccessivo allungamento.

Il rigenerato osseo mostra delle differenze nell'organizzazione strutturale e nella partecipazione cellulare durante le diverse fasi di formazione e maturazione. La prima fase di distrazione (1 cm) presenta un tessuto fibroso orientato secondo l'asse longitudinale del segmento osseo in allungamento e ricco di cellule fibroblastiche e di derivazione macrofagica, vasi capillari e cellule di tipo cartilagineo. Questi elementi originerebbero dalle cellule mesenchimali indifferenziate presenti nei seni venosi e nelle formazioni vascolari del midollo. Nella seconda fase (distrazione sino a 2,5 cm), lungo l'asse longitudinale del segmento scheletrico si osserva un tessuto principalmente di tipo trabecolare circondato da tessuto fibroso. Nella terza fase si osserva una evoluzione dell'ossificazione che si evidenzia con una mineralizzazione in fase avanzata. A conclusione della fase di distrazione segue un periodo di consolidazione nel quale le colonne di osso neoformato creano collegamenti tra di loro e si assiste ad un'attività cellulare di reclutamento ed organizzazione mentre l'attività metabolica è ridotta.

Alla luce delle varie e differenti fasi della formazione del rigenerato osseo, in particolare quella iniziale, trova un razionale l'impiego del concentrato midollare autologo.

Gli obiettivi dell'impiego del concentrato midollare consistono principalmente nell'aumentare il numero dei casi che giungono a guarigione e nell'accelerare i tempi di guarigione. Ciò risponde ai criteri della rigenerazione tissutale che si propone di ridurre l'impatto chirurgico (via d'accesso, modalità, tempi) aumentando la percentuale di successo della procedura.

Obiettivi dello studio

Obiettivi primari

- Riduzione del tempo di formazione del rigenerato osseo;
- Riduzione del tempo di consolidazione del rigenerato osseo.

Obiettivi secondari

- Valutazione del tempo di guarigione;
- Valutazioni biologiche (qualità del neo tessuto formato);
- Valutazione dell'impatto del trattamento sulla qualità di vita del paziente;
- Valutazione dei costi indiretti per la struttura ospedaliera.

Disegno dello studio

Studio clinico prospettico, in aperto, per valutare l'efficacia e la tollerabilità del trattamento con concentrato di cellule mononucleate autologhe di origine midollare, somministrate tramite infiltrazione percutanea radio guidata o tramite associazione con osso di origine sintetica, eterologa o omologa da banca, in pazienti con ritardo di consolidazione di fratture trattate con allungamento.

Durata dello studio

24 mesi

Casistica

Saranno arruolati 30 pazienti in età pediatrica ed adulta che presentano ritardo di consolidazione di fratture trattate con tecnica d'allungamento.

I pazienti saranno trattati con concentrato midollare autologo somministrato tramite infiltrazione percutanea o tramite associazione con osso come descritto.

Criteri di selezione

CRITERI DI INCLUSIONE

- a) Pazienti di ambo i sessi, di età pediatrica ed adulta;
- b) Pazienti con ritardo di consolidazione di fratture trattato con allungamento;
- c) Consenso informato scritto dei genitori o di chi ne fa le veci quando il paziente è in età pediatrica.

CRITERI DI ESCLUSIONE

- a) Insufficienze d'organo gravi (renale, epatica);
- b) Presenza di infezioni superficiali o profonde richiedenti terapie antibiotiche;
- c) Insufficienza vascolare;
- d) Dismetabolismo del calcio;
- e) Diabete mellito;

Valutazione diagnostica:

Radiografica seriata con classificazione del rigenerato osseo secondo Li et al. 2006.

• **DEFINIZIONE DI GUARIGIONE**

Viene definito "indice di guarigione" il rapporto fra tempo di allungamento e tempo di consolidazione. Viene calcolato come il numero dei giorni di trattamento con fissatore esterno per i centimetri di allungamento effettuati.

Schema di trattamento

MATERIALE D'UTILIZZO:

Una confezione di IOR-G1 contiene un sistema automatico per la concentrazione di cellule mononucleate da impiegare in terapia umana (ResQ™ 60 BMC) con o senza associazione ad uno scaffold come descritto, oltre allo strumentario necessario ad ottenere l'aspirato midollare.

MODALITÀ DI APPLICAZIONE:

Il concentrato midollare autologo si ottiene a partire da un aspirato di sangue midollare dalla cresta iliaca di 60 ml, che viene centrifugato per un tempo di 12 minuti in un contenitore sterile, nel quale è stato inserito sterilmente l'aspirato midollare del paziente. Sempre per separazione gravimetrica si ottiene la

stratificazione dei diversi componenti del midollo osseo a seconda della loro forma e densità. Nel sistema chiuso e sterile è possibile recuperare un volume da 3 a 9 ml di concentrato di cellule mononucleate, che saranno utilizzate per il trattamento.

Il concentrato midollare può essere impiegato con due metodiche di applicazione:

- ✓ Infiltrazione percutanea radio-guidata: con il solo concentrato midollare;
- ✓ Infiltrazione percutanea (o a cielo aperto): con il concentrato midollare miscelato ad osso come descritto.

Valutazione dell'efficacia

La valutazione di efficacia avverrà dopo l'intervento ai seguenti tempi: tre, sei e dodici mesi .

Valutazione Clinica: incentrata su indici soggettivi ed indici oggettivi.

Valutazione Radiografica: valutazione della formazione, della consolidazione del rigenerato osseo ed eventualmente la comparsa di deviazioni assiali.

Radiografie seriali durante la fase di allungamento e successivamente ogni 30 giorni.

Valutazioni aggiuntive e complementari consistono nell'esame ecografico (per la valutazione della formazione del rigenerato osseo nelle fasi iniziale ed intermedia) e nell'esame densitometrico digitale a raggi X - DEXA - (per la valutazione quantitativa dell'evoluzione dei processi di riparazione ossea).

Considerazioni etiche

Lo studio sarà condotto in conformità alla Dichiarazione di Helsinki.

Prima di iniziare il trattamento e qualsiasi procedura prevista dal protocollo, lo sperimentatore deve ottenere il Consenso Informato scritto, dai genitori o da chi ne fa le veci in caso di pazienti in età pediatrica.

Il paziente o il parente del paziente dovrà essere esaurientemente informato delle finalità dello studio, dei rischi e benefici che potrebbero derivare dalla partecipazione alla ricerca.

Valutazione della Sicurezza

Raccolta ed analisi degli eventi avversi avvenuti durante lo studio.

Bibliografia

1. Hubbell JA Biomaterial science and high-throughput screening. *Nat Biotechnol.* 2004; 22(7): 828-829
2. Slater M, Patava J, Kingham K, Mason RS Involvement of platelets in stimulating osteogenic activity. *J Orthop Res.* 1995; 13(5):655-63
3. Tezono K, Sarker KP, Kikuchi H, Nasu M, et al Bioactivity of the vascular endothelial growth factor trapped in fibrin clots: production of IL-6 and IL-8 in monocytes by fibrin clots. *Haemostasis.* 2001; 31(2): 71-9
4. Leong DKC, Benedict BCLT, Chew KTL Autologous growth factors: a biological treatment in sports medicine. *Proceedings Singapore Healthcare.* 2010;19(3):229-236
5. Nash TJ, Howlett CR, Martin C, Steele J, et al Effects of platelet-derived growth factor on tibial osteotomies in rabbits. *Bone.* 1994; 15(2):203-8
6. Lucarelli E, Fini M, Beccheroni A, Giavaresi G, et al Stromal stem cells and platelet-rich plasma improve bone allograft integration. *Clin Orthop Relat Res.* 2005 Jun; (435): 62-8
7. Lucarelli E, Beccheroni A, Donati D, Sangiorgi L, et al Platelet-derived growth factors enhance proliferation of human stromal stem cells. *Biomaterials.* 2003; 24(18):3095-100
8. Manes E, Manes C, Cantò L, Erasmo R Le cellule staminali ed i fattori di accrescimento in ortopedia e traumatologia. *G.I.O.T.* 2005; 31:197-205
9. Lopez-Vidriero E, Goulding KA, Simon DA, Sanchez M, et al The use of platelet-rich plasma in arthroscopy and sports medicine: optimizing the healing environment. *Arthroscopy.* 2010; 26(2):269-78
10. Weibrich G, Hansen T, Kleis W, Buch R, et al Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration. *Bone.* 2004;34(4):665-71
11. Di Bella C, Dozza B, Frisoni T, Cevolani L, et al Injection of demineralized bone matrix with bone marrow concentrate improves healing in unicameral bone cyst. *Clin Orthop Relat Res.* 2010; 468(11):3047-3055
12. Capanna R, De Biase P, Campanacci DA, Beltrami G, et al Evidenza clinica nell'utilizzo delle cellule staminali in ortopedia. *G.I.O.T.* 2009;35(suppl.2):S64-S67
13. Memeo A, Cristini E La valutazione della solidità del rigenerato osseo. *Archivio di Ortopedia e Reumatologia.* 2006;117(2):19-20
14. Biasibetti A Applicazioni cliniche sull'osso: allungamenti ossei. *G.I.O.T.* 2010;36:190-195
15. Peretti G, Memeo A, Formentoni A, et al Gli allungamenti degli arti inferiori: il valore della ecografia nella valutazione delle varie fasi del rigenerato osseo. *Chir Org Mov.* 1987;73:53-58
16. Li R, Saleh M, Yang L, Coulton L Radiographic classification of osteogenesis during bone distraction. *J Orthop Res.* 2006;24:339-347
17. Hamanishi C, Yasuwaki Y, Kikuchi H, et al. Classification of callus in limb lengthening. Radiographic study of 35 limbs. *Acta Orthop Scand.* 1992;63:430-433
18. Aronson J The biology of distraction osteogenesis. Williams & Wilkins, London. 1991; pag.42-52
19. Paley D Current techniques of limb lengthening. *J Pediatric Orthop.* 1988;8:73-92
20. Choi IH, Chung CY, Cho TJ et al. Angiogenesis and mineralization during distraction osteogenesis. *J Korean Med Sci.* 2002;17:435-47
21. Albisetti W, Briatico Vangosa L, Viganò C, Piras MAV Formazione del rigenerato osseo negli allungamenti. *Archivio di Ortopedia e Reumatologia.* 2006;117(2):17-18
22. Perren SM Evolution of internal fixation of long bone fractures. The scientific basis of biological internal fixation: choosing new balance between stability and biology. *J Bone Joint Surg Br.* 2002;84:1093-1110

23. McKibbin B The biology of fracture healing in long bones. *J Bone Joint Surg Br.* 1978;60:150-162
24. Choi IH, Chung CY, Cho TJ, Yoo WJ Angiogenesis and mineralization during distraction osteogenesis. *J Korean Med Sci.* 2002;17:435-447

571175
AZIENDA OSPEDALIERA
ISTITUTO ORTOPEDICO GASTANO PINI
STRUTTURA COMPLESSA DI ORTOPEDIA
E TRAUMATOLOGIA PEDIATRICA
Direttore: Dott. Antonio Memeo

www.Albopretorionline.it