

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

**DOTTORATO DI RICERCA IN
SCIENZE BIOMEDICHE**

Ciclo XXIX

Settore Concorsuale di afferenza: 06/F4

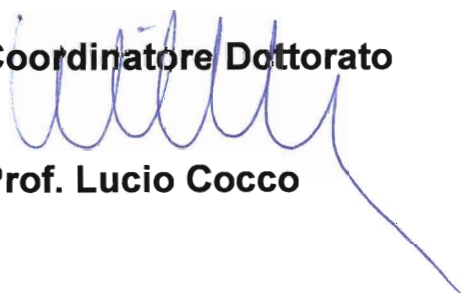
Settore Scientifico disciplinare: MED/33

**TRATTAMENTO DELLA OSTEONECROSI DELLA TESTA
FEMORALE CON TECNICA DI MEDICINA
RIGENERATIVA (CONCENTRATO MIDOLLARE
AUTOLOGO, GEL PIASTRINICO E MATRICE OSSEA
DEMINERALIZZATA) IN CHIRURGIA MINI INVASIVA**

Presentata da: Dott. Tommaso Frisoni

Coordinatore Dottorato

Prof. Lucio Cocco



Relatore

Prof. Davide Maria Donati

Esame finale anno 2015-2016

Sommario

INTRODUZIONE	6
CAPITOLO 1.....	12
L'ARTICOLAZIONE COXOFEMORALE	12
CAPITOLO 2.....	28
OSTEONECROSI.....	28
2.1 EPIDEMIOLOGIA	30
2.2 EZIOLOGIA E PATOGENESI	34
Traumatica.....	36
Malattia da decompressione:.....	36
Terapia steroidea	36
Abuso di alcool e fumo	38
Coagulopatie e predisposizione familiare	38
Mioglobinopatie	39
Hiv	40
2.3 ISTOLOGIA E BIOMECCANICA DELLA CARTILAGINE ARTICOLARE E DELL'OSSO SUBCONDRALE	41
2.3.1 Cartilagine	43
2.3.2 Struttura	47
2.3.3 Biomeccanica	50
2.4 STRUTTURA, FISIOLOGIA, ISTOLOGIA DEL TESSUTO OSSEO E ALTERAZIONI MACRO E MICROSCOPICA NELLA OSTEONECROSI DELLA TESTA DEL FEMORE	51
2.4.1 Componente cellulare.....	51
2.4.2 Matrice del tessuto osseo.....	52
2.4.3 Ossificazione endocondrale.....	53
2.4.4 Metabolismo dell'osso	54
2.4.5 Rinnovo e rimodellamento osseo	55
2.4.6 Necrosi.....	57
2.5 CLASSIFICAZIONE	59
2.5.1 Ficat e Arlet.....	59
2.5.2 Steinberg.....	63
2.5.3 A.R.C.O	65

2.6 DIAGNOSI.....	68
2.6.1 Obiettività e Sintomatologia	69
2.6.2 Imaging.....	69
2.6.2 A) Esame Radiografico	70
2.6.2 B) Tomografia Computerizzata.....	71
2.6.2 C) Risonanza Magnetica Nucleare.....	71
2.6.2 D) Scintigrafia Ossea.....	73
2.7 STORIA NATURALE ED EVOLUZIONE.....	74
CAPITOLO 3.....	76
TECNICHE DI TRATTAMENTO DELLA NECROSI DELLA TESTA DEL FEMORE: STATO DELL'ARTE	76
3.1 TRATTAMENTO CONSERVATIVO.....	79
3.1.1 Bifosfonati	81
3.1.2 Statine	82
3.1.3 Anticoagulanti e steroidi anabolizzanti.....	83
3.1.4 Vasodilatatori	83
3.1.5 Metodi biofisici	83
3.1.5 a) Magnetoterapia.....	84
3.1.5 b) Ossigenoterapia iperbarica.....	84
3.1.5 c) Terapia con onde d'urto	84
3.2 TRATTAMENTO CHIRURGICO	85
3.2.1 Core decompression	85
3.2.2 Osteotomie correttive	87
3.2.3 Chiodo in tantalio	90
3.2.4 Bone grafting	91
3.2.4 a) osso non vascolarizzato.....	92
3.2.4 b) osso vascolarizzato.....	94
3.2.5 cementazione	95
3.2.6 sostituzione protesica	96
CAPITOLO 4.....	98
MEDICINA RIGENERATIVA E NUOVE FRONTIERE DI BIOINGEGNERIA TISSUTALE.....	98
4.1 PRINCIPI GENERALI	100
4.2 ATTIVITÀ LOCALE DELLE CELLULE STAMINALI MESENCHIMALI	102
4.3 SCAFFOLDS	105

4.4 FATTORI DI CRESCITA.....	111
CAPITOLO 5.....	116
TRATTAMENTO DELL'OSTEONECROSI DELLA TESTA DEL FEMORE CON TECNICHE DI MEDICINA RIGENERATIVA	116
5.1 INTRODUZIONE	118
5.2 PROCEDURA.....	119
5.2.1 Produzione di gel piastrinico.....	119
5.2.2 Intervento.....	120
5.2.3 Protocollo riabilitativo.....	123
CAPITOLO 6.....	126
STUDIO SPERIMENTALE.....	126
6.1 MATERIALI E METODI.....	127
6.2 ANALISI ISTOLOGICA E MICROTTC	130
6.3 ANALISI STATISTICA.....	131
CAPITOLO 7.....	134
RISULTATI	134
CAPITOLO 8.....	144
DISCUSSIONE	144
CAPITOLO 9.....	156
CONCLUSIONI	156
BIBLIOGRAFIA	160

INTRODUZIONE

L'osteonecrosi è un processo patologico descritto inizialmente già nel 1925 come necrosi ischemica dell'anca e da allora ad essa sono stati attribuiti vari eponimi quali necrosi atraumatica, avascolare e idiopatica⁸⁴. Sebbene possa coinvolgere diverse articolazioni, si verifica più frequentemente a livello dell'anca¹⁰⁰. Nonostante una fisiopatologia non ancora del tutto chiarita, è ormai dimostrato che i pazienti in età giovane adulta (terza decade) sono a più elevato rischio con una prevalenza da 10000 a 20000 nuovi casi/anno negli Stati Uniti¹⁶⁵. Inoltre sono state evidenziate alcune cause ed eziologie che conducono allo sviluppo di questa patologia come terapie steroide ad elevati dosaggi nei soggetti trattati per neoplasie ematologiche o per condizioni cliniche che necessitano di tali terapie (malattie autoimmuni, malattie da accumulo), abuso di alcool, coagulopatie, anemia falciforme. La causa nella maggior parte dei casi non è chiaramente identificabile (necrosi idiopatica). Se non trattata, la storia naturale della patologia è una inesorabile progressione verso una degenerazione articolare completa e sintomatica in più dell'80% dei pazienti¹⁸⁴. L'osso necrotico è un tessuto estremamente suscettibile al danneggiamento e, in ragione anche delle scarse capacità riparative, il danno occorso è spesso irreversibile.

Questo comporta difficoltà anche nelle attività quotidiane con comparsa, all'avanzare della patologia, di artrosi precoce.

Le possibilità di trattamento si sono continuamente evolute sin dagli anni '80 e includono terapie conservative (come utilizzo di anticoagulanti, bisfosfonati, terapie con onde d'urto, ossigenoterapia iperbarica)^{4,9,45,55,57,76-802,123,124}, e chirurgiche; queste ultime possono essere tecniche di salvataggio della testa femorale (core decompression, osteotomie correttive, procedure di bone grafting mediante utilizzo di innesti ossei vascularizzati e non, chiodo in tantalio, borrhaggio con cemento)^{23,81,170,175,179,191,201,210,216,246} oppure soluzioni protesiche (sostituzione dell'articolazione)^{10,11,110}. Sebbene siano stati proposti numerosi algoritmi di trattamento per indirizzare il clinico verso la corretta indicazione, rimangono ancora diverse controversie riguardo al miglior trattamento relativamente allo stadio della malattia ed alle aspettative funzionali e di vita del paziente^{30,31,34,43,44,101}.

La tecnica più utilizzata per gli stadi precoci (pre collasso) è la core decompression mentre la procedura più eseguita per gli stadi avanzati (post collasso) risulta essere la sostituzione protesica (THA). Negli ultimi 15 anni il numero totale di procedure eseguite per questa patologia è aumentato quasi raddoppiando; la protesizzazione dell'anca dal 75% dei primi anni '90 ha raggiunto l'88% alla fine degli anni '00 con un relativo calo delle procedure non protesiche (dal 25% al 12%)^{1,110}. Questo dimostra tuttavia che sono aumentate in numero assoluto anche le procedure di preservazione della testa femorale, probabilmente in conseguenza all'aumento della sopravvivenza di questa coorte di pazienti.

Recenti lavori hanno riportato che le tecniche di core decompression modificate e innovate con le procedure di medicina rigenerativa hanno dimostrato risultati clinici ed outcome migliori rispetto al passato.

Con la bioingegneria, infatti, si è aperto un nuovo capitolo nel trattamento di questa patologia.

I tre fattori chiave in ingegneria tissutale per una rigenerazione ottimale dei tessuti sono rappresentati da cellule, scaffolds tridimensionali e fattori di crescita¹⁰⁷. Le cellule mononucleate midollari autologhe (CMM) hanno dimostrato ottime proprietà di replicazione e differenziazione in senso osteogenico. I biomateriali disponibili sono innumerevoli²⁶ e devono rispondere a determinate caratteristiche quali ad esempio porosità, biocompatibilità, biodegradabilità, permeabilità alle cellule da veicolare ed adesività al letto della lesione, nonché facile maneggiabilità. I fattori di crescita implicati nella differenziazione in senso osteogenico delle CMM sono il Vascular Endothelial Growth Growth Factor (VEGF) ed il Platelet Derived Growth Factor (PDGF)^{19,147,148,159}. Entrambi sono facilmente reperibili nel gel piastrinico, prodotto a partire da sangue venoso. L'utilità di questo nel favorire la replicazione cellulare, la differenziazione delle cellule pluripotenti in senso osteogenico, la rigenerazione ossea e di numerosi altri tessuti è stato dimostrato da numerosi autori^{147,148,152}.

L'utilità di questa metodica nel favorire la rigenerazione tissutale osteo-cartilaginea è stata dimostrata^{67-71,74,93}, tuttavia al momento non sono disponibili in letteratura risultati clinici e strumentali a medio termine.

Lo scopo di questa trattazione è presentare i risultati clinici a medio termine ottenuti con la tecnica di core decompression modificata con tecniche di medicina rigenerativa, mediante utilizzo di concentrato midollare, matrice ossea demineralizzata e gel piastrinico.

CAPITOLO 1

L'ARTICOLAZIONE COXOFEMORALE

1.1 ANATOMIA

L'articolazione coxofemorale è una enartrosi ed è di gran lunga l'articolazione sottoposta a maggiori sollecitazioni meccaniche durante la deambulazione. Ha una forma particolare in quanto è costituita da una coppa, la cavità acetabolare, e dalla testa femorale che si alloggia nella cavità. L'estrema congruenza di queste due superfici fornisce una stabilità ossea superiore a tutte le altre articolazioni^{54,115}.

La testa femorale è costituita per i 2/3 da una sfera di 40-50 mm di diametro. Attraverso il suo centro geometrico passano i tre assi dell'articolazione: asse orizzontale, asse verticale, asse antero-posteriore. La testa del femore è sostenuta dal collo femorale, che la unisce alla diafisi. L'asse del collo del femore è obliquo in alto, in dentro ed in avanti; forma così, con l'asse diafisario un angolo detto «d'inclinazione» di 125° nell'adulto; con il piano frontale forma un angolo detto «di declinazione» di 10-30° aperto in dentro ed in avanti, detto anche angolo di antiversione. In questo modo il piano frontale verticale passante per il centro della testa femorale e l'asse dei condili (piano P), lascia quasi interamente dietro di sé la diafisi femorale e la sua estremità superiore; questo piano P contiene l'asse meccanico dell'arto inferiore, che forma con l'asse diafisario un angolo di 5-7°.

La cavità acetabolare è rivestita al suo interno dalla cartilagine ed è circondata sul margine dal labbro acetabolare che, similmente al menisco nell'articolazione del ginocchio, funziona come una guarnizione articolare.

La cavità cotiloidea accoglie la testa femorale; è situata sulla faccia esterna dell'osso iliaco alla congiunzione delle sue tre parti costitutive. Ha la forma di una semisfera limitata nel suo contorno dal ciglio cotiloideo. Solo la parte periferica del cotile è rivestita da cartilagine : è questa la semiluna articolare, interrotta nella sua parte inferiore dalla profonda incisura ischio-pubica. La parte centrale del cotile è più profonda rispetto alla semiluna articolare e non entra dunque in contatto con la testa femorale : è il limite posteriore cotiloideo che una sottile lamina ossea separa dalla superficie endopelvica dell'osso iliaco (linea innominata).

Il cotile non è orientato direttamente in fuori, ma « guarda » anche in basso ed in avanti; in una sezione verticale questo orientamento del cotile verso il basso è ben visibile: l'asse forma un angolo di 30-40° con l'orizzontale; ciò implica che la parte superiore del cotile « deborda » della testa; ciò è misurato dall'angolo di copertura W che, normalmente, è di 30° (angolo di Wiberg). È a livello del tetto del cotile che la pressione esercitata dalla testa è massima e la cartilagine è più spessa sulla testa e sulla semiluna articolare (Fig. 1A).

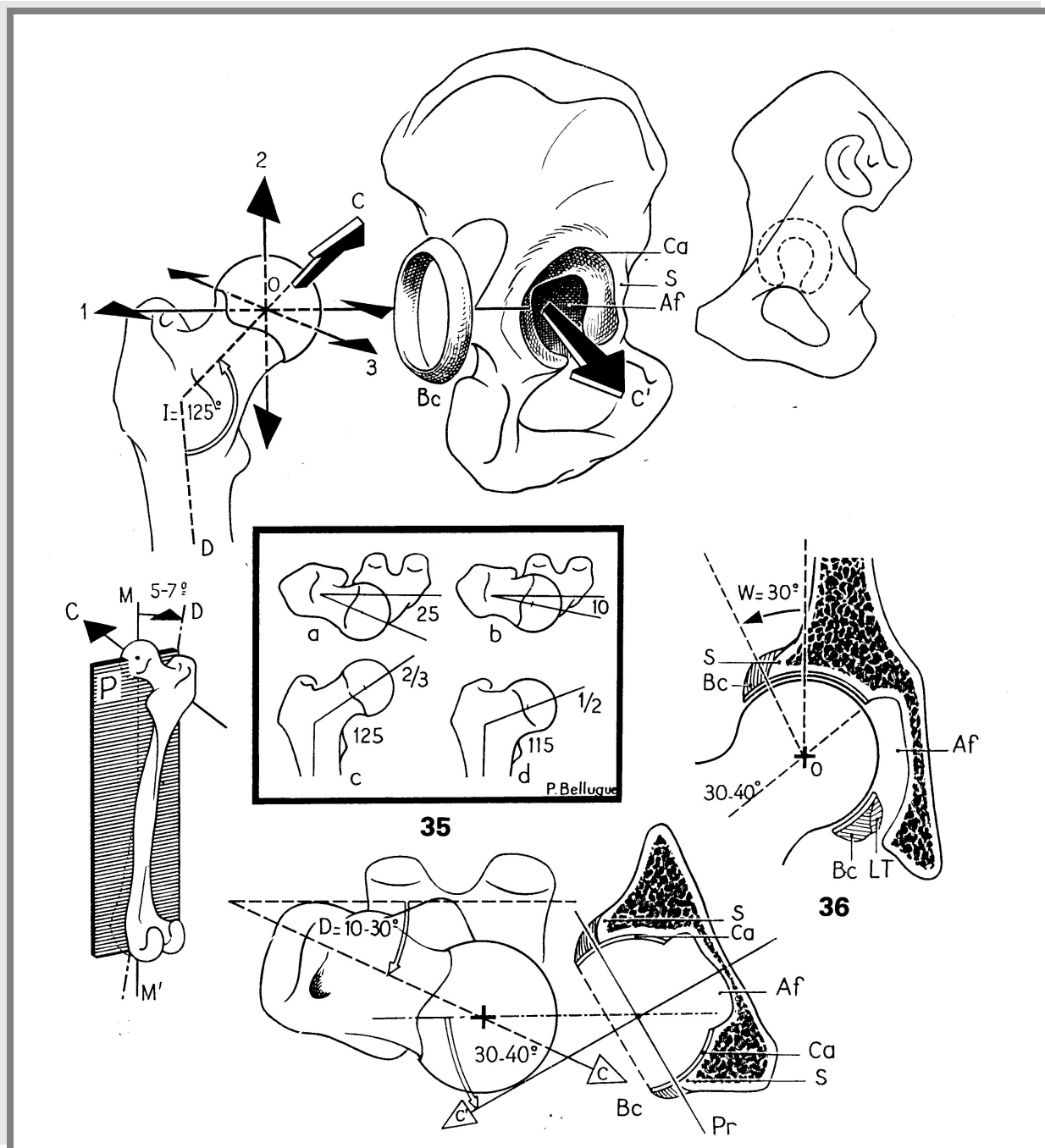


Figura 1A: anatomia morfo funzionale dell'articolazione coxo femorale

In sezione orizzontale si nota l'orientamento in avanti (antiversione): l'asse del cotile forma un angolo di 30-40° con il piano frontale. Si distingue anche il limite posteriore spostato all'indietro rispetto alla semiluna articolare e il cercine applicato sul ciglio cotiloideo. Il piano tangente al ciglio cotiloideo è obliquo in avanti ed in dentro⁴.

Il collo femorale connette la testa alla porzione principale del femore che prende il nome di diafisi. Presenta un angolo con l'asse della diafisi femorale compreso tra i 120° e i 135°. Rispetto alla testa femorale presenta un diametro minore rendendo così possibile il movimento senza entrare in conflitto con i margini dell'acetabolo e il labbro acetabolare.

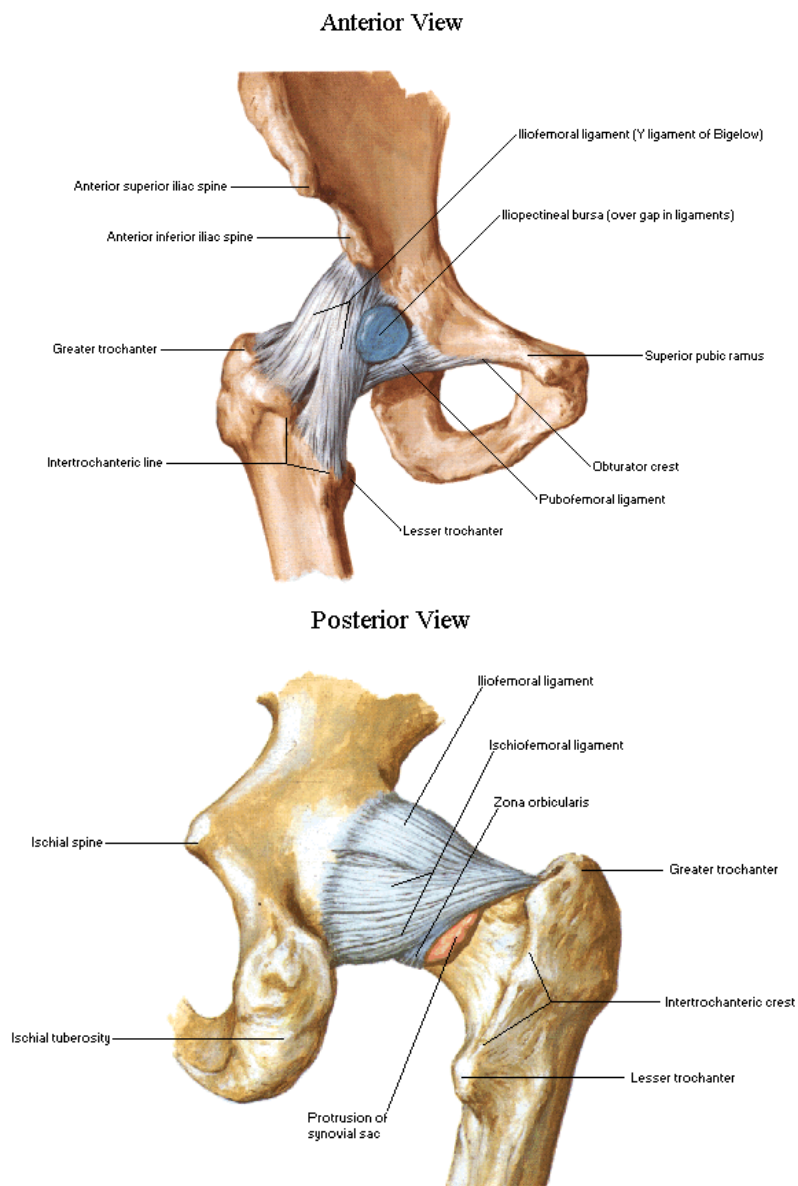


Figura 1B: la capsula articolare

La regione trocanterica è la continuazione prossimale della diafisi femorale. Presenta due tuberosità detti trocanteri, il grande trocantere è la sede di inserzione del muscolo gluteo medio e piccolo, sul piccolo trocantere si inserisce il muscolo ileopsoas. E' una zona molto interessante per chi si dedica allo studio della distribuzione delle forze sul femore. In questa zona infatti avviene il trasferimento del carico dalla regione testa-collo sulle due colonne, mediale e laterale, che costituiscono la diafisi femorale. Non dissociabili dalla capsula sono i legamenti di rinforzo longitudinali, ileofemorale, ischiofemorale e pubofemorale. Essi non sono altro che porzioni ispessite della capsula (Fig. 1B)

Accanto a questi si descrive la *zona orbicolare* che è un fascio di rinforzo profondo, con fibre ad andamento trasversale.

- Il *legamento ileofemorale* ha forma di ventaglio; origina al di sotto della spina iliaca anteriore inferiore, con due fasci che divergono a ventaglio, il *fascio obliquo*, diretto al margine anteriore del grande trocantere e il *fascio verticale*, verso la parte più bassa della linea intertrocanterica.
- Il *legamento pubofemorale* nasce dal tratto pubico del ciglio dell'acetabolo, dall'eminanza ileo-pettinea e dalla parte laterale del ramo superiore del pube per perdersi nella capsula davanti al piccolo trocantere.
- Il *legamento ischiofemorale* è triangolare e dal lato ischiatico del ciglio cotiloideo si porta in fuori, alla fossa trocanterica.
- La *zona orbicolare*, ricoperta dai precedenti legamenti, si stacca dal margine dell'acetabolo e dal labbro acetabolare, profondamente all'inserzione del legamento ileofemorale e, passando dietro al collo del femore che abbraccia ad ansa, ritorna a fissarsi al punto d'origine.

1.2 VASCOLARIZZAZIONE

La testa del femore riceve sangue arterioso da un duplice sistema di vascolarizzazione: quello iliaco esterno e quello iliaco interno, formato dall'arteria circonflessa laterale e mediale. Esse formano un'anastomosi a livello del collo femorale (Fig 1C).

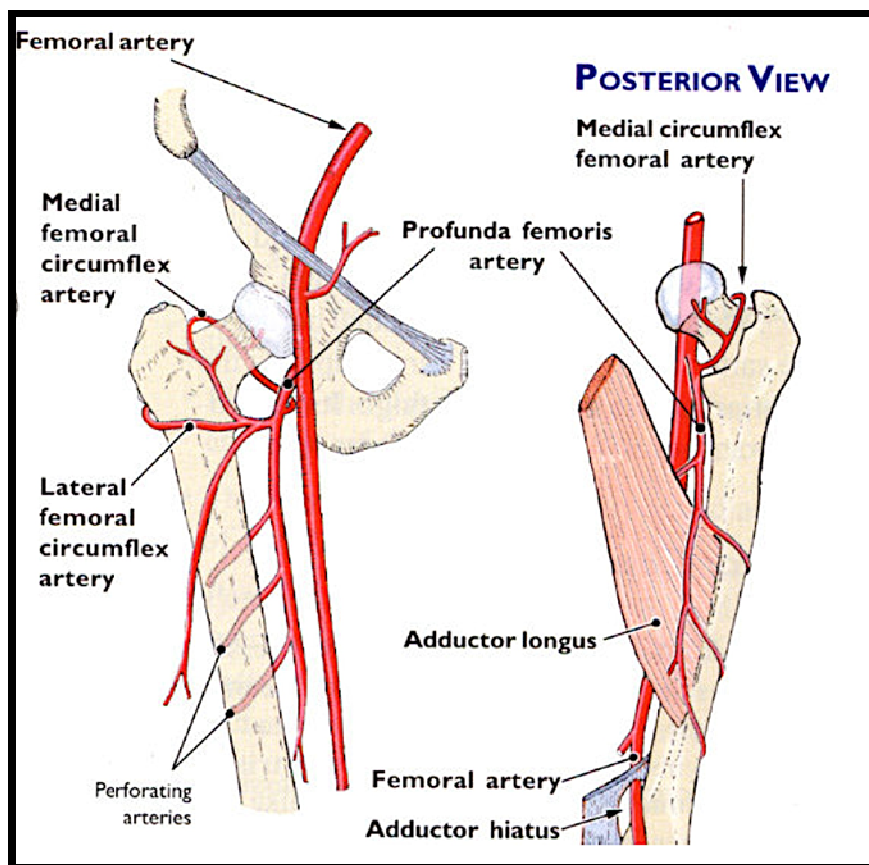


Figura 1C Arterie circonflesse mediale e laterale

ARTERIA CIRCONFLESSA MEDIALE (MCFA):

- Ascendente.
- Profonda (principale fonte della testa).
- Trocanterica.
- Perfora la capsula a livello del gemello superiore e dà da 2 a 4 arterie reticolari.

ARTERIA CIRCONFLESSA LATERALE (LCFA):

- La sua branca ascendente si anastomizza con la circonflessa mediale a livello del collo del femore (Fig. 2)

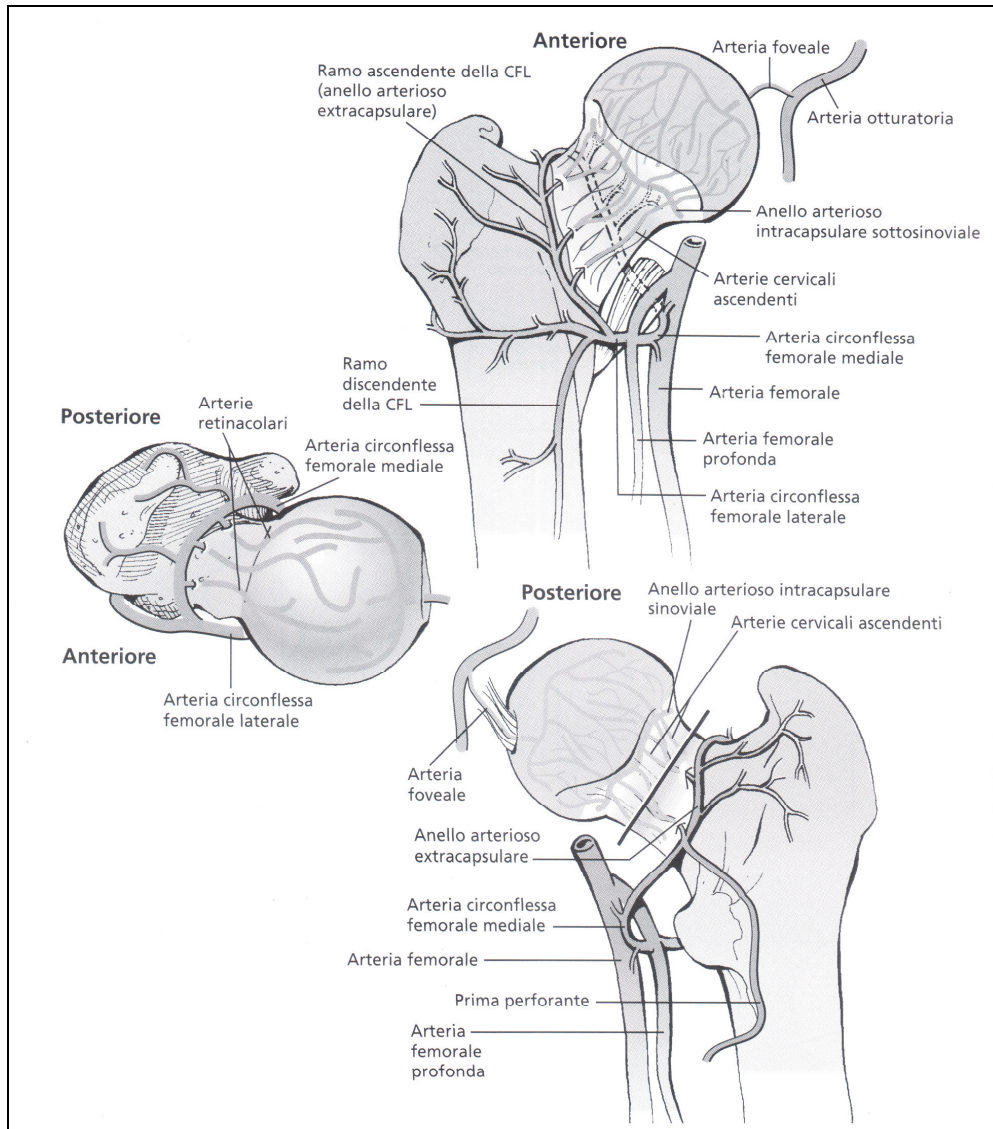


Figura 2: vascolarizzazione dell'epifisi e anastomosi tra ACM e ACL

L'arteria glutea inferiore è stata descritta contribuire alla vascolarizzazione dell'anca attraverso una anastomosi con la arteria circonflessa mediale. Il vaso terminale che deriva da questa anastomosi passa direttamente dietro alla capsula posteriore e termina nella regione superiore del collo femorale dando origine a vasi epifisario.

Quindi l'arteria circonflessa mediale riceve un contributo diretto dalla arteria glutea inferiore prima di gettarsi dentro la capsula articolare (Fig. 3). La conoscenza dettagliata della vascolarizzazione può aiutare a comprendere e spiegare la genesi della necrosi avascolare in particolare dopo traumi ed interventi chirurgici, suggerendo che la strategia preferibile per il trattamento della necrosi epifisaria del femore non preveda una chirurgia aperta, foriera di ulteriori danni vascolari^{81,112}.

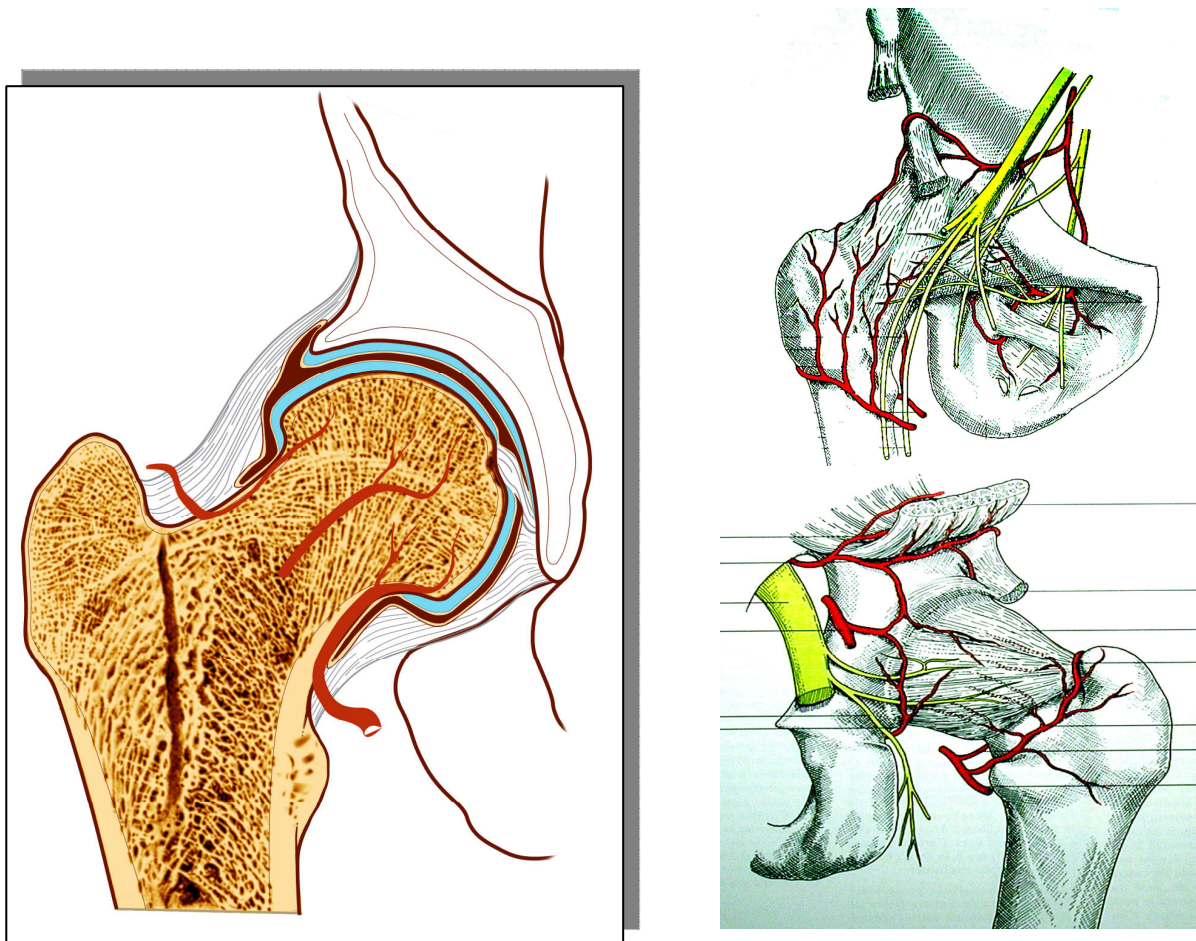


Fig. 3: vascolarizzazione intra epifisaria della testa femorale

1.3 FISILOGIA E BIOMECCANICA

L'anca è l'articolazione prossimale dell'arto inferiore ed ha pertanto la funzione di orientare l'arto in tutte le direzioni dello spazio, perciò possiede tre assi e tre gradi di libertà:

- un asse trasversale, situato in un piano frontale, su cui si effettuano i movimenti di flesso- estensione;
- un asse antero-posteriore, situato in un piano sagittale passante per il centro della articolazione, attorno al quale si effettuano i movimenti di abduzione-adduzione;
- un asse verticale, che quando l'anca è in posizione di riferimento si confonde con l'asse longitudinale OR dell'arto inferiore. Questo asse longitudinale permette i movimenti di rotazione esterna ed interna.

I movimenti dell'anca si realizzano a livello di una sola articolazione, la coxo-femorale; è questa una enartrosi a solido incastro. Essa rappresenta il contrario dell'articolazione della spalla, un vero complesso articolare al cui confronto la scapolo-omerale è un'enartrosi a debole incastro, dotata di un notevole movimento a scapito della stabilità.

La coxo-femorale è dotata invece di un movimento di minore ampiezza - compensato in una certa misura dal rachide lombare - però è molto più stabile - è infatti l'articolazione più difficile a lussarsi. Tali caratteristiche dell'anca sono condizionate dalla funzione che ha assunto l'arto inferiore di sostegno del peso del corpo e di locomozione.

La flessione dell'anca è il movimento che avvicina la superficie anteriore della coscia al tronco, cosicché la coscia e tutto l'arto inferiore si trovano al davanti di un piano frontale passante per l'articolazione.

L'ampiezza della flessione è condizionata da diversi fattori.

Generalmente la flessione attiva dell'anca è meno ampia della flessione passiva. Anche la posizione del ginocchio interviene sull'ampiezza della flessione: quando il

ginocchio è esteso la flessione è di 90° , mentre invece quando è flesso raggiunge e supera i 120° .

Per quanto riguarda la flessione passiva, la sua ampiezza supera sempre i 120° , ma anche qui è importante la posizione del ginocchio : se è esteso, la flessione è notevolmente meno ampia che a ginocchio flesso; in questo caso l'ampiezza supera i 140° e la coscia tocca quasi il torace.

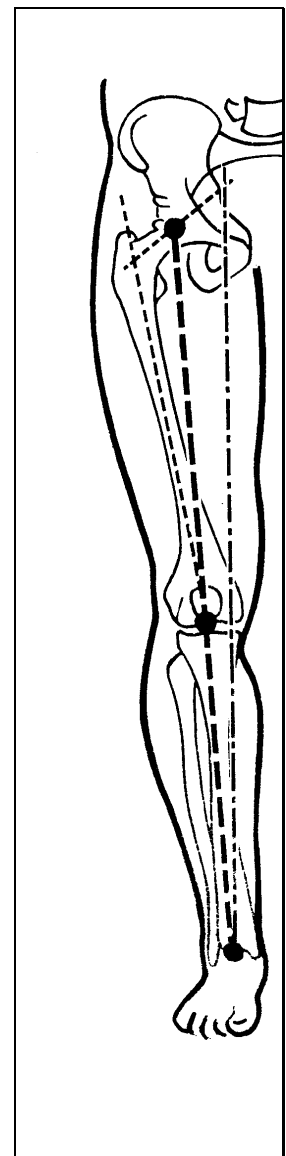
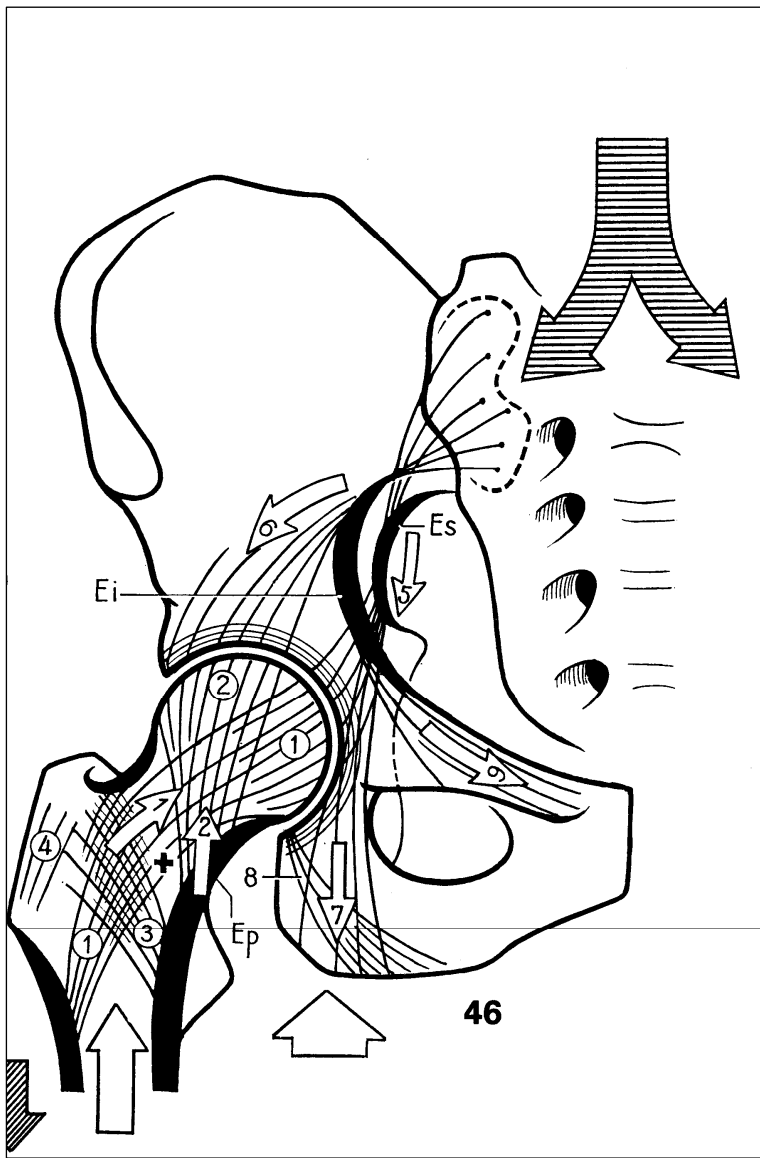


Figura 4

Figura 5

Fig. 4 e 5 Linee di forza secondo Wolf e asse meccanico/anatomico dell'arto inferiore

La flessione del ginocchio, infatti, rilasciando i muscoli ischiocrurali, permette una maggiore flessione dell'anca.

Se le due anche sono flesse passivamente e simultaneamente e le ginocchia sono anch'esse in flessione, la superficie anteriore delle cosce prende ampiamente contatto con il tronco; alla flessione delle coxo-femorali, si aggiunge il basculamento del bacino posteriormente per l'appianamento della lordosi lombare.

L'insieme di testa, collo e diafisi femorale realizza ciò che in meccanica viene chiamato un sistema a costruzione a sbalzo. In effetti, il peso del corpo applicato sulla testa femorale, è trasmesso alla diafisi con l'interposizione di un braccio di leva, il collo femorale. Lo stesso sistema di equilibrio si osserva in una risultante di forze (Fig. 4 e 5) dove la forza-peso verticale tende a « tagliare» la barra orizzontale a livello della sua unione con la componente verticale ed a chiudere l'angolo che formano i due bracci. Per evitare una tale evenienza, è sufficiente inserire obliquamente un sostegno.

Il collo femorale rappresenta la barra superiore ed in una visione d'insieme dello scheletro dell'arto inferiore constatiamo che l'asse meccanico sul quale sono allineate le tre articolazioni dell'anca, del ginocchio e della caviglia, lascia all'esterno l'asse di forza femorale. Le lamelle di osso spongioso sono orientate secondo due sistemi di travate che corrispondono a linee di forza meccaniche :

- un sistema principale formato da due fasci di lamelle che si irradiano verso il collo e la testa:

- il primo (1) origina dalla corticale esterna della diafisi e termina sulla parte inferiore della corticale cefalica. E il fascio arciforme di Gallois e Bosquette;
- il secondo (2) si dirama dalla corticale interna della diafisi e della corticale inferiore del collo dirigendosi verticalmente verso la parte superiore della corticale cefalica: questo è il fascio cefalico, o ventaglio di sostegno.

- un sistema accessorio formato da due fasci che si diramano nel gran trocantere:

- il primo (3) a partire dalla corticale interna della diafisi, fascio trocanterico;

- il secondo (4), di minore importanza, è formato da fibre verticali e parallele alla corticale esterna del grande trocantere.

Evidenziamo ora tre punti:

1. Nel massiccio trocanterico viene a costituirsi un sistema ogivale per la convergenza del fascio arciforme (1) e del fascio trocanterico (3). L'intreccio di questi due pilastri forma una massiccia chiave di volta che scende dalla corticale superiore del collo. Il pilastro interno è meno solido e si indebolisce con il passare degli anni per l'osteoporosi senile.

2. Nel collo e nella testa si viene a costituire un altro sistema ogivale per l'incrocio del fascio arciforme (1) e di quello cefalico (2). All'intersezione di questi due fasci la zona più spessa forma il centro della testa. Questo sistema cervico-cefalico si appoggia su di una zona estremamente solida, la spessa corticale inferiore del collo che forma lo sperone cervicale inferiore di Merkel detto anche arco di Adams o « Calcar » .

3. Tra il sistema ogivale del massiccio trocanterico ed il sistema di sostegno cervico-cefalico, esiste una zona di minor resistenza che l'osteoporosi senile rende ancor più fragile : è questa la sede delle fratture cervico-trocanteriche.

La struttura del bacino può essere studiata allo stesso modo realizzando un anello completamente chiuso che trasmetta le sollecitazioni verticali del rachide lombare verso le due articolazioni coxo-femorali (Fig. 6).

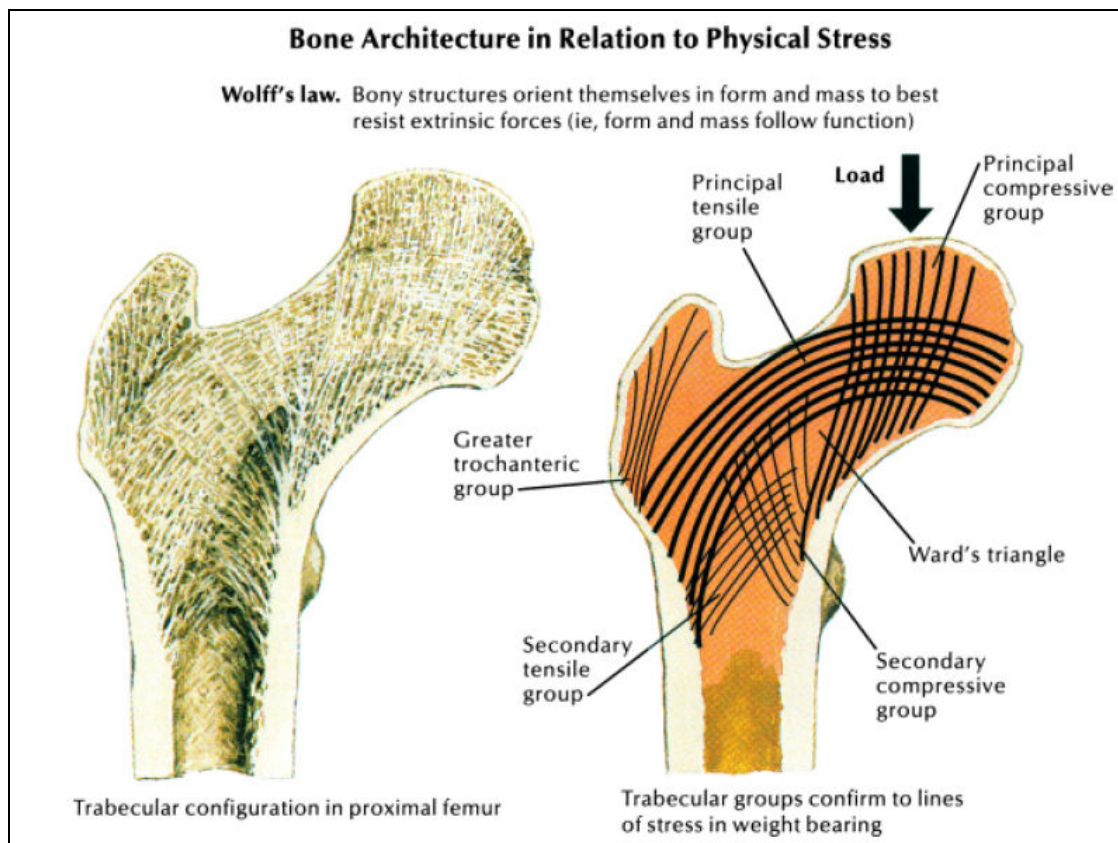


Fig. 6: Architettura dell'osso in funzione del carico

Esistono due principali sistemi trabecolari che trasmettono le forze a partire dalla faccetta articolare verso il cotile da un lato e verso l'ischio dall'altro.

- Le travate sacro-cotiloidee si organizzano in due sistemi di lamelle:

- il primo (5) che si origina dalla parte superiore della superficie auricolare e converge sul bordo posteriore dell'incisura ischiatica - formando lo sperone ischiatico (Es) - si riflette per diramarsi sulla parte inferiore del cotile, dove si continua con le travate di trazione del collo femorale.
- il secondo origina dalla parte inferiore della faccia articolare, si condensa a livello dello stretto superiore - dando origine allo sperone innominato si riflette per diramarsi nella parte superiore del cotile dove continua con le travate di pressione del fascio cefalico.

- Le travate sacro-ischiatìche originano dalla faccia auricolare assieme ai due fasci precedenti, per poi discendere fino all'ischio. Si incrociano con travate di trabecole che nascono dal ciglio cotiloideo. È questo sistema delle travate ischiatiche che

sostiene il peso del corpo nella posizione seduta. Infine le travate che nascono dallo sprone ischiatico si impegnano nella branca orizzontale del pube, completando così l'anello pelvico.

CAPITOLO 2

OSTEONECROSI

2.1 EPIDEMIOLOGIA

L'osteonecrosi della testa femorale è un disordine comune, con 20000 nuovi casi l'anno stimati nell'America del Nord, essendo responsabile poi del 5%-18% delle protesi d'anca sempre in quella regione¹⁶⁴. Un'incidenza in Italia non è mai stata stimata ma si pensa sia simile ai risultati riportati negli Stati uniti. Per quanto riguarda la localizzazione in oltre il 75% dei casi coinvolge la testa del femore, ma può colpire altre articolazioni (nell'ordine, ginocchio, spalla, caviglia e polso) (Fig.7).

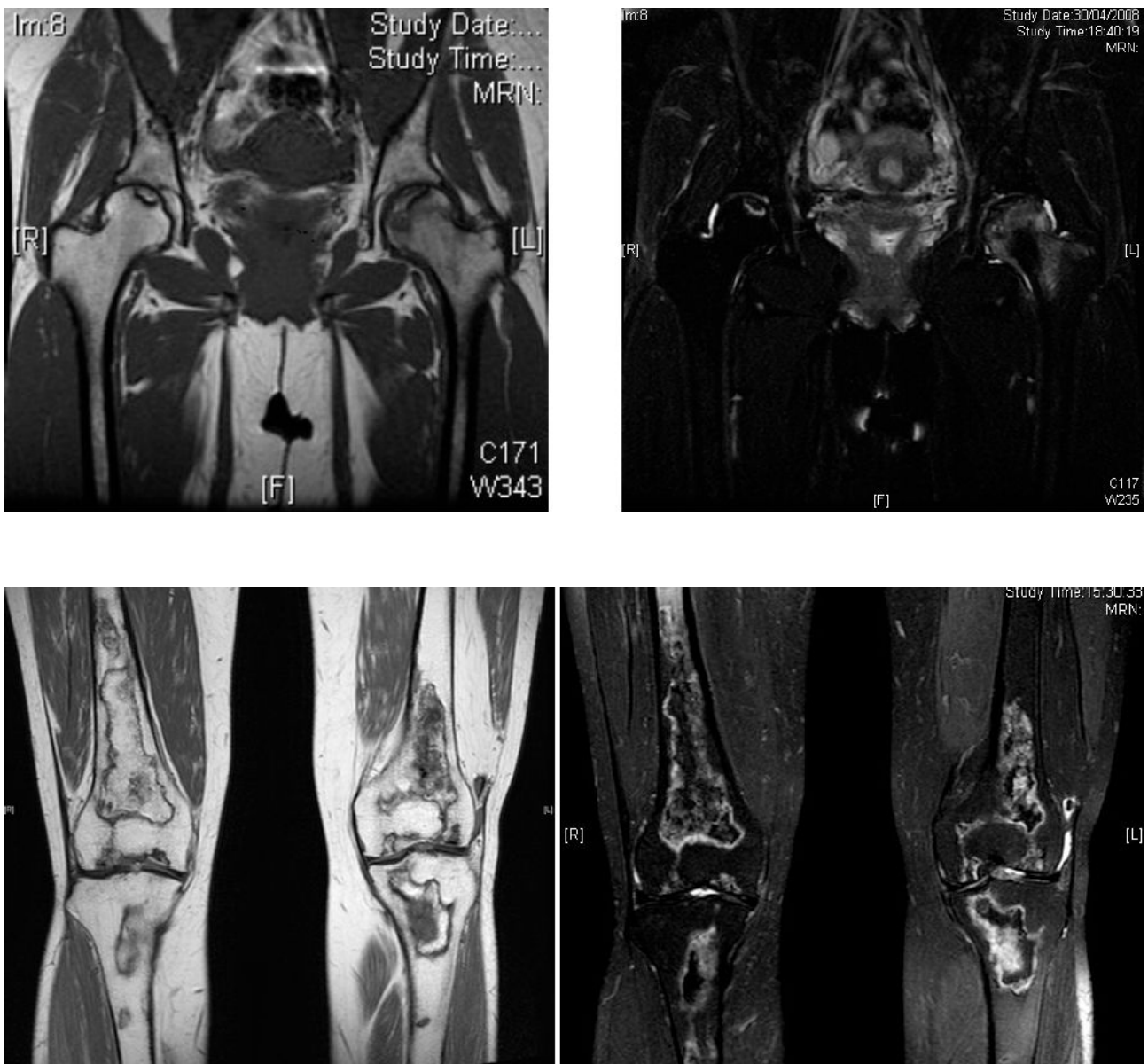


Fig. 7 Quadro di osteonecrosi avascolare della testa del femore e del ginocchio

Nelle necrosi non traumatiche asettiche, la bilateralità va dal 30% all'80% a seconda degli studi presi in esame. Sono stati riportati rari casi di osteonecrosi multipla idiopatica in più membri di una stessa famiglia, il che suggerisce che in alcuni casi vi possa essere una predisposizione ereditaria. L'incidenza della malattia si aggira tra gli 1 e 3/100.000 a seconda degli studi presi in esame; inoltre la probabilità che un soggetto sano vada incontro ad ON è stimata come inferiore ad 1 su 100.000. La necrosi avascolare idiopatica della testa del femore ha un rapporto maschio-femmina di 4-5:1. In USA l'incidenza è: 10.000 casi/anno. Se una persona è completamente sana, il rischio di osteonecrosi è minimo, probabilmente meno di uno su 100.000. Oltre alla forma primitiva spontanea o traumatica, la maggior parte delle osteonecrosi ha invece un'origine secondaria ad altre cause.

Varie condizioni cliniche sono associate allo sviluppo di osteonecrosi. Queste comprendono *l'interruzione traumatica dell'apporto ematico* (da lussazione della testa del femore e frattura del collo del femore), la *malattia da decompressione*, la *terapia corticosteroidica*, la *malattia di Cushing*, l'*alcolismo*, le *emoglobinopatie*, la *malattia di Gaucher* e la *irradiazione* (Tab 1).

Conditions that may cause or are related to ONFH

Trauma

- Femoral neck fracture
- Hip dislocation
- Extensive burns
- Vessel trauma

Non-traumatic osteonecrosis

- Deficit of antithrombin III
- Deficit of protein C
- Deficit of protein S
- Resistance to activated protein C
- Deficit of plasminogen activator
- Surpluse of inhibitor for plasminogen activator

Secondary conditions of hypercoagulation

- Intake of steroids
- Alcoholism
- Myelodysplastic syndromes
- Pregnancy
- Contraceptive use
- Hyperlipidemia
- Collagen diseases
- Ehler–Danlos syndrome
- Raynaud's disease
- Diabetes mellitus
- Antiphospholipidemic antibodies (APLA)

(segue)

Hematologic diseases
Hemophilia
Hemoglobinopathies
Polycythemia
Metabolic diseases
Hyperparathyroidism
Gout
Cushing disease
Gaucher disease
Alimentary system diseases
Pancreatitis
Ulcerative colitis
Chron's disease
Other risk factors
Smoking
Decompression disease
Radiation
Hemodialysis

Tab. 1 da "Osteonecrosis of the femoral head: etiology, imaging and treatment". Malizos KN, Karantanas AH, Varitimidis SE, Dailiana ZH, Bargiotas K, Maris T. Eur J Radiol. 2007 Jul;63(1):16-28. Epub 2007 Jun 6. Review.

2.2 EZIOLOGIA E PATOGENESI

La fisiopatologia dell'osteonecrosi della testa del femore non è stata completamente chiarita. Considerando che alcuni casi di malattia hanno chiaramente una causa direttamente correlabile come traumi, radiazioni o embolia gassosa, la fisiopatologia è incerta per la maggior parte dei casi. Molti studi hanno dimostrato la compresenza di compromissione vascolare, che porterebbe ad una alterata fisiologia dell'osso subcondrale e delle cellule residenti (osteoblasti e cellule staminali mesenchimali). Tale patologia è stata infatti soprannominata da Chandler come “la coronaropatia dell'anca”, in quanto riprodurrebbe la fisiopatologia dell'infarto miocardico^{29,70,178,243,244}.

Inoltre altre teorie e molte co-morbidità sembrano essere collegate a questa patologia. Molto è ancora sconosciuto riguardo alle varie condizioni e agenti associati all'osteonecrosi e soprattutto sui meccanismi che portano a ridurre il flusso sanguigno verso l'osso subcondrale. L'ipotesi più accettata al momento sulla genesi della patologia è quella di origine multifattoriale.

Sebbene diversi meccanismi patogenetici possano essere correlati allo sviluppo dell'osteonecrosi con notevole variabilità dei fattori eziologici, all'origine vi è sempre un evento ischemico (Fig. 8).

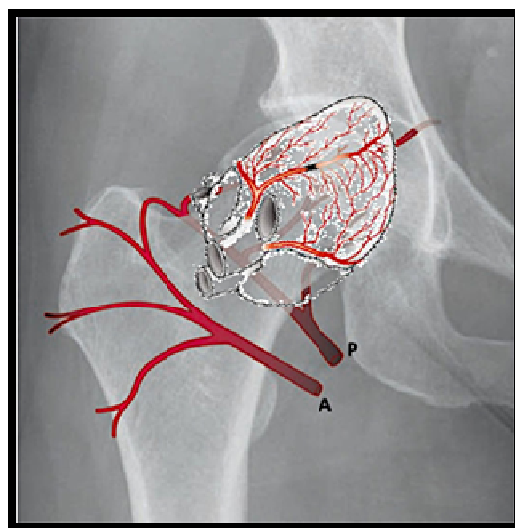


Fig. 8 mostra le alterazioni vascolari che coinvolgono l'epifisi femorale

In genere 6 ore di completa anossia sono sufficienti a causare la morte del midollo ematopoietico. Gli osteociti, gli osteoblasti e gli osteoclasti possono sopravvivere a 6-48 ore di anossia prima che avvenga il danno cellulare irreversibile e la morte. La completa autolisi dell'osteocita può richiedere da 48 ore a 4 settimane.

Numerosi autori hanno recentemente ipotizzato che l'osteonecrosi è correlata ad alterazioni delle popolazioni cellulari residenti. Il numero e l'attività delle cellule staminali mesenchimali sarebbero ridotte come anche la capacità replicativa degli osteoblasti. E' stato dimostrato inoltre come il processo apoptotico degli osteociti sia particolarmente aumentato nei soggetti trattati con steroidi; tale processo è presente, anche se di minore rilievo, nei casi di osteonecrosi da abuso di alcool o nella necrosi post traumatica.

La fase istologica iniziale dell'osteonecrosi è quindi caratterizzata dalla morte cellulare. Durante questa fase, l'aspetto macroscopico della testa femorale è invariato e la sezione della testa del femore non evidenzia cambiamenti strutturali dell'osso e della cartilagine. La morte dell'osso scatena una risposta infiammatoria al tessuto necrotico. Tra la zona necrotica e quella vitale si forma un'interfaccia reattiva con tessuto fibroso. Durante questa fase, le radiografie non rivelano alcuna modificazione della densità ma essa può essere rilevata solo con la RMN.

Nell'osteonecrosi da frattura del collo femorale dopo quattro settimane o più dall'evento, l'interfaccia reattiva diventa evidente alla RMN. Con l'ingresso ulteriore di vasi sanguigni nella zona necrotica, un processo riparativo consistente nel riassorbimento e nella neoformazione ossea provoca il quadro radiografico di iperdiafania e di sclerosi. La struttura ossea di supporto è indebolita dall'incessante riassorbimento dell'osso trabecolare.

Lo sforzo da carico può causare una frattura subcondrale con infrazione focale della cartilagine ed eventuale crollo (frattura subcondrale). E' questa la causa più probabile alla base della sintomatologia dolorosa, ovvero una microfrattura dell'osso trabecolare subcondrale e conseguente risposta infiammatoria alla necrosi ossea.

Tale evenienza è spesso evidenziabile alla RM come quadro di edema della midollare (“bone marrow oedema”) che entra in diagnosi differenziale con le sindromi algodistrofiche o con i quadri di edema acuto temporaneo.

La frammentazione e la compattazione dei detriti della frattura ossea subcondrale portano alla formazione di un’area lucente subcondrale lungo la linea di frattura detto “segno della mezzaluna” (“crescent sign”). Esso si osserva di solito sulle proiezioni laterali della testa del femore poiché spesso è localizzato nella porzione anteriore di essa. Il riassorbimento osseo può anche causare fratture profonde nella testa del femore portando a crollo segmentario.

L’infrazione e il collasso articolare provocano un’incongruenza della superficie articolare con comparsa di artrosi precoce.

L’osteonecrosi della testa del femore (asintomatica se nello stadio 1) di solito viene riscontrata in questo stadio come reperto accidentale nell’anca controlaterale durante la RMN eseguita per un’osteonecrosi sintomatica.

Ciò può essere non evidenziabile alla radiografia oppure può mostrare un segno della mezzaluna o un lieve appiattimento della testa femorale.

TRAUMATICA

Si sviluppa dopo una lussazione dell’anca o in seguito ad una frattura sottocapitata del collo femorale. In caso di lussazione una tempestiva riduzione dopo il trauma (entro 12 ore) può ridurre l’incidenza di osteonecrosi¹⁵¹.

MALATTIA DA DECOMPRESSIONE:

Si verifica nei lavoratori dei tunnel ad aria pressurizzata (malattia dei cassoni) ed in chi s’immerge ad elevate profondità per micro embolizzazione da azoto dopo rapida decompressione.

TERAPIA STEROIDEA

Uno dei fattori di rischio più comuni per l’osteonecrosi della testa del femore è l’uso di corticosteroidi^{36,105,252}. Sebbene molti pazienti in trattamento con corticosteroidi

abbiano almeno un altro fattore predisponente, l'analisi multivariata ha suggerito che l'impiego di corticosteroidi, specialmente in dosi elevate, è una variabile indipendente. Dosaggi tipicamente predisponenti sono > 2 g di prednisone, o suo equivalente, somministrati in un periodo di due o tre mesi. Dosaggi inferiori non sono stati direttamente legati allo sviluppo di osteonecrosi, e spesso si tratta di pazienti con molteplici fattori di rischio, come alcool o fumo^{38,75,97,244}. Inoue et al¹⁰⁵ riportano che l'osteonecrosi della testa del femore si è sviluppata in diciotto dei 287 pazienti sottoposti a trapianto renale trattati con prednisone per via orale a dosi $\geq 25,0$ mg / die. In uno studio su ventidue pazienti con diagnosi di osteonecrosi della testa del femore, Koo et al¹²⁸ hanno calcolato che la dose totale di corticosteroidi assunti fino al riscontro dell'osteonecrosi alla risonanza magnetica variava da 1800 a 15.505 mg (media 5928 mg) di prednisolone o suo equivalente.

Diversi studi hanno descritto un rischio dose-relato in pazienti con sindrome respiratoria acuta grave (SARS)^{80,99,213}. Griffith et al. hanno riportato un 5% di pazienti con SARS con osteonecrosi della testa del femore e che la dose cumulativa di prednisone era il fattore di rischio più importante, con un rischio crescente dallo 0,6% per i pazienti trattati con < 3 gr fino al 13% per quelli trattati con una dose > 3 gr.

Il periodo di rischio per lo sviluppo di osteonecrosi della testa del femore in seguito a terapia corticosteroidica è stato nel tempo più precisamente definito. Utilizzando la risonanza magnetica, Sakamoto et al.²⁰⁵ in uno studio prospettico hanno valutato le teste femorali in quarantotto pazienti (novantasei anche) in terapia con alte dosi di corticosteroidi per vari disturbi autoimmuni correlati trovando anomalie in trentuno (32%). I cambiamenti necrotici iniziali in media dopo 3,6 mesi (al massimo, dodici mesi) dopo l'inizio del trattamento con corticosteroidi.

Fink et al.⁶¹, analogamente, in uno studio prospettico di 43 pazienti trattati con corticosteroidi in seguito a trapianto renale, hanno osservato che l'osteonecrosi della testa del femore si verificava nel 9% dei pazienti entro tre mesi dal trapianto. La risonanza magnetica effettuata dodici mesi dopo il trapianto non rivelò altre lesioni.

Koo et al confermano che il periodo compreso tra l'inizio del trattamento con corticosteroidi e la diagnosi di osteonecrosi spazia tra 1-16 mesi (media di 5,3 mesi), Si può concludere che per la maggior parte dei pazienti sottoposti a terapia con corticosteroidi, il periodo di rischio per lo sviluppo di osteonecrosi della testa femorale è di dodici mesi.

Trascorsi dodici mesi dall'inizio della terapia il rischio di sviluppare osteonecrosi, in particolare della testa del femore, risulta essere praticamente nullo. Inoltre l'assunzione di dosi elevate, anche per brevi periodi, causa rischi più significativi rispetto ai dosaggi inferiori.

ABUSO DI ALCOOL E FUMO

L'abuso di alcol è un altro importante fattore di rischio^{36,97,156} per lo sviluppo dell'osteonecrosi della testa del femore. In uno studio retrospettivo Hirota ed al.⁹⁷ hanno evidenziato che il rischio di sviluppare osteonecrosi della testa del femore è più alto rispetto alla media nei bevitori occasionali che assumono < 8mL di alcool almeno una volta a settimana, ma comunque non quotidianamente e nei bevitori abituali che assumono > 8 mL di alcool al giorno.

Anche il fumo è stato implicato come fattore di rischio per l'osteonecrosi della testa del femore^{97,156}. Vi è infatti un aumento del rischio per i fumatori (OR = 1,047); tuttavia, un effetto cumulativo del fumo è evidente solo in forti fumatori o pazienti con associati fattori di rischio. Anche Matsuo et al trovarono un aumento del rischio per i fumatori (RR = 3.9). Vari studi hanno dimostrato che il fumo inibisce l'osteogenesi e determina delle alterazioni del microcircolo, contribuendo alla riduzione della vascolarizzazione locale¹⁵⁶.

COAGULOPATIE E PREDISPOSIZIONE FAMILIARE

I pazienti con disturbi della coagulazione ereditari possono essere a rischio per lo sviluppo di osteonecrosi della testa del femore. Alcuni studi hanno mostrato un'associazione con trombofilia e ipofibrinolisi^{34,57,133,137,140,224,235}. In uno studio di Jones sono stati analizzati nove fattori della coagulazione e trovato almeno un fattore

di coagulazione anormale in trentasette (82%) di quarantacinque pazienti con osteonecrosi della testa del femore rispetto al 30% dei controlli ($p < 0,0001$)¹¹¹.

Nel medesimo studio due o più anomalie sono state identificate in ventuno pazienti (47%) rispetto al 2,5% dei controlli ($p < 0,0001$).

Glueck et al.^{77,78,79} hanno invece rilevato un'elevata prevalenza di inibitore dell'attivatore del plasminogeno-1 in uno studio di cinquantanove pazienti con osteonecrosi della testa del femore. Perché alcune di queste alterazioni della coagulazione possono essere ereditarie in maniera autosomica dominante, potrebbe essere possibile esaminare gli individui a rischio.

Liu et al.¹⁴⁴ hanno individuato e studiato tre nuclei familiari con trasmissione autosomica dominante di osteonecrosi della testa del femore e mapparono la posizione cromosomica di una mutazione del collagene di tipo II gene (COL2A1 gene).

L'osteonecrosi della testa del femore è stata anche associata con determinati polimorfismi genetici, come enzimi responsabili del metabolismo dell'alcool e una proteina di trasporto^{5,92,166}. L'importanza di questi risultati è che potrebbero consentire l'avvio di misure in grado di prevenire lo sviluppo della malattia e potrebbero trovare implicazioni per il trattamento farmacologico.

MIOGLOBINOPATIE

In particolare l'anemia falciforme (emoglobina SS), la drepanocitosi da emoglobina SC e la talassemia, in seguito allo impilamento dei drepanociti all'interno del letto vascolare sinusoidale possono determinare un'occlusione funzionale del circolo metafisario con osteonecrosi^{53,65,85,86,94,104,155}.

HIV

I pazienti affetti da HIV hanno un più alto rischio di sviluppare osteonecrosi della testa del femore¹⁷⁴. Non è chiaro se il virus stesso sia responsabile di ciò o i farmaci assunti dai pazienti (inibitori della proteasi, chemioterapici, corticosteroidi). In uno studio su otto pazienti con infezione da HIV, Blacksin et al. notarono che l'osteonecrosi della testa del femore era direttamente correlata al virus, ma piuttosto all'uso di farmaci corticosteroidi.

2.3 ISTOLOGIA E BIOMECCANICA DELLA CARTILAGINE ARTICOLARE E DELL'OSSO SUBCONDRALE

Il tessuto cartilagineo, insieme a quello osseo, appartiene ai tessuti scheletrici o tessuti connettivi di sostegno, dotati di proprietà meccaniche^{8,24}.

I componenti di tale tessuto sono i condrociti e la matrice extracellulare, l'abbondante sostanza intercellulare formata da fibre extracellulari immerse in una matrice amorfa allo stato di gel (Fig. 9).

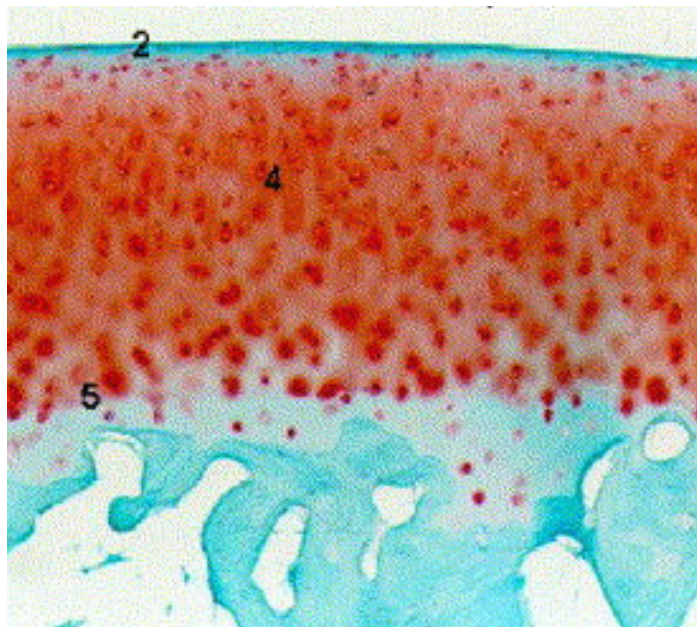


Fig. 9 Cartilagine Ialina sana, preparato istologico (Safranina O)

Si possono distinguere tre tipi di cartilagine in base alla natura ed alla preponderanza delle fibre immerse nella sostanza amorfa, ed in base all'abbondanza relativa di quest'ultima: cartilagine ialina, elastica e fibrosa. La cartilagine articolare o ialina appare come una massa traslucida, opalescente e di colore bianco-bluastro. Essa riveste le superfici articolari e costituisce inoltre le cartilagini costali, gli anelli tracheali, gran parte delle cartilagini laringee, le cartilagini bronchiali e le cartilagini del naso.

La cartilagine ialina articolare varia in termini di spessore, densità cellulare, proprietà meccaniche e composizione della matrice extracellulare non solo in articolazioni diverse ma anche a livello di distinte porzioni della medesima articolazione; ciononostante in tutte le articolazioni essa è formata dagli stessi componenti, ha la stessa struttura generale e svolge le medesime funzioni. Nonostante essa abbia uno spessore compreso tra 1 e 7 mm, ha straordinarie capacità di resistenza tensile e di elasticità; garantisce inoltre un'adeguata e bilanciata distribuzione dei carichi pressori sull'intera superficie articolare, minimizzando in questo modo le forze compressive che agiscono a livello dell'osso subcondrale.

Istologicamente la cartilagine ialina appare essere un tessuto inerte. Alla microscopia a luce polarizzata appare composta da matrice extracellulare con un solo tipo di cellule, i condrociti, e completamente sprovvista di apporto ematico, drenaggio linfatico ed innervazione. Rispetto a tessuti quali muscolo ed osso, la cartilagine presenta una ridotta attività metabolica ed una minore risposta ai cambiamenti nel carico ponderale ed alle lesioni. Tuttavia, nonostante il suo aspetto istologico e la sua bassa attività metabolica, studi mirati alla comprensione della morfologia e della biologia della cartilagine articolare, hanno evidenziato che essa possiede una struttura estremamente elaborata ed ordinata; per il mantenimento del tessuto sono fondamentali inoltre una serie di complesse interazioni tra i condrociti e la matrice.

2.3.1 CARTILAGINE

La cartilagine è costituita da:

- Condrociti
- Matrice extracellulare

I Condrociti

Rappresentano l'unica popolazione cellulare del tessuto cartilagineo. Sono contenuti in lacune circondate da matrice extracellulare e non prendono rapporti gli uni con gli altri (Fig. 10)

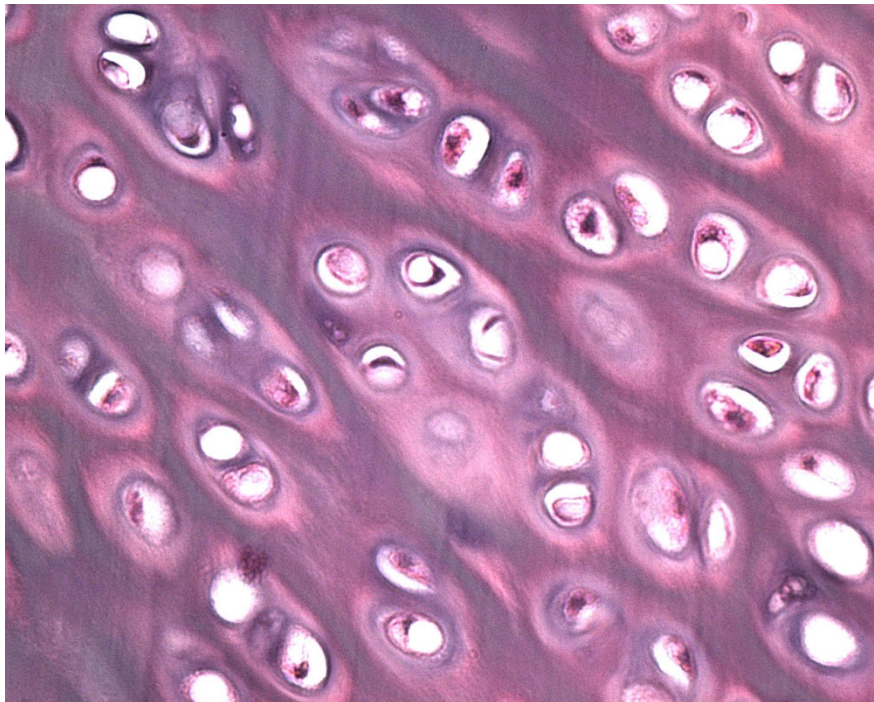


Fig 10: Cellule condrocitarie contenute nelle lacune.

Essi variano, per ciò che concerne dimensioni, forma e attività metabolica, tra porzioni distinte della stessa superficie articolare. Dal punto di vista ultrastrutturale sono caratterizzati dalla presenza di organelli deputati alla sintesi di matrice extracellulare: reticolo endoplasmatico e apparato di Golgi. Contengono inoltre filamenti intracitoplasmatici, lipidi, glicogeno, vescicole secretorie e ciglia che si

estendono dalle cellule alla matrice al fine di rilevare i cambiamenti meccanici di quest'ultima.

Di forma sferoidale, sono deputati alla produzione di Collagene di tipo II, proteoglicani e proteine non collageniche.

Secernendo tali macromolecole in proporzioni qualitative e quantitative adeguate, essi producono una trama rigorosa ed ordinata, la matrice extracellulare, la quale conferisce al tessuto cartilagineo forma e proprietà meccaniche. Essi garantiscono inoltre il mantenimento della superficie articolare e la variazione della stessa in risposta alle alterazioni pressorie che gravano su di essa. Questo è possibile grazie al rilevamento dei cambiamenti che avvengono a livello della matrice in conseguenza della degradazione delle macromolecole che la compongono.

I condrociti traggono i nutrienti indispensabili alle loro reazioni metaboliche direttamente dal liquido sinoviale. Per raggiungere le cellule intrappolate nelle lacune della matrici, tali molecole devono attraversare una doppia barriera composta da membrana e fluido sinoviale e dalla matrice extracellulare, che è selettiva sia in termini di grandezza dei metaboliti che di carica. Tale sistema obbliga i condrociti ad un metabolismo prevalentemente anaerobio in conseguenza della bassa concentrazione di ossigeno che li circonda.

La matrice extracellulare

La matrice extracellulare è composta dal fluido tissutale e dalle macromolecole strutturali che ne formano la trama.

Fluido tissutale:

L'acqua contribuisce per l'80 % al peso della cartilagine articolare e le sue interazioni con la trama di macromolecole strutturali influenzano in modo decisivo il comportamento del tessuto cartilagineo. Il fluido tissutale contiene gas, ioni, piccole proteine e metaboliti. Il volume, la concentrazione ed il comportamento del liquido

nel tessuto sono direttamente connessi alle macromolecole strutturali, in particolare i proteoglicani, che mantengono l'acqua all'interno del tessuto cartilagineo e ne regolano le concentrazioni ioniche. Gli ioni contenuti nel fluido tissutale sono sostanzialmente cationi, attratti dai gruppi carichi negativamente dei proteoglicani, e questo è correlato ad un aumento dell'osmolarità del fluido tissutale. La resistenza tissutale che segue all'aumento di pressione osmotica è da imputarsi alla trama collagenica che, insieme alle proteine non collageniche ed ai proteoglicani, prende parte alla costituzione della rete macromolecolare della matrice extracellulare.

Il movimento dei fluidi, da e verso la cartilagine articolare, è quindi un fattore critico per la lubrificazione articolare, la resistenza al carico ed il nutrimento della cartilagine. L'acqua componente il fluido tissutale viene espulsa nel momento in cui viene applicato un carico su di essa. In base alla teoria della lubrificazione a film liquido, il film si stratifica sulla superficie dell'area di contatto in modo da costituire una membrana protettiva che minimizza il contatto e l'usura cartilaginea. L'estrusione dell'acqua è limitata dalla bassa permeabilità della cartilagine articolare. La microarchitettura tissutale trattiene l'acqua anche dopo ore di carico costante. La deformazione tempo-dipendente è maggiore per carichi statici che per quelli ciclici. Ciò può essere spiegato con la parziale imbibizione della cartilagine nelle fasi in cui è fuori carico. La cartilagine appare molto vitale nelle condizioni di carico ciclico; questo suggerisce che, per assicurare il nutrimento ai condrociti, è necessaria la regolare alternanza di afflusso ed efflusso di liquidi. Il liquido sinoviale è essenzialmente un ultrafiltrato plasmatico arricchito con acido ialuronico. I nutrienti a basso peso molecolare passano agevolmente; la sola diffusione non è comunque sufficiente a fronteggiare le richieste metaboliche dei condrociti. Sembra che per il nutrimento di questi ultimi, siti all'interno della matrice cartilaginea avascolare, sia fondamentale il pompaggio di ultrafiltrato sinoviale dentro e fuori dalla cartilagine concomitante al carico ed allo scarico dell'articolazione.

Le Macromolecole Strutturali:

Le macromolecole strutturali contribuiscono per il 20% al peso totale della cartilagine articolare. Queste variano in termini di concentrazione tissutale e di contributo alle proprietà del tessuto. Il collagene costituisce circa il 60% del peso asciutto del tessuto cartilagineo, i proteoglicani rappresentano il 25-30% mentre le proteine non collageniche variano tra il 15% ed il 20%. Il collagene si dispone a formare una rete ordinata che è responsabile della forma e della resistenza tensile della cartilagine articolare, mentre i proteoglicani e le proteine non collageniche si legano alla rete di collagene, o rimangono meccanicamente intrappolati in questa, realizzando una complessa trama macromolecolare che, come detto, assicura la persistenza del liquido tissutale in seno alla matrice e ne determina le concentrazioni elettrolitiche.

Il Collagene:

Le fibrille di collagene assicurano la resistenza tensile e contribuiscono alla coesività del tessuto cartilagineo intrappolando i proteoglicani e le proteine non collageniche. Tali fibrille contengono vari tipi di collagene, il tipo II, VI, IX, X e XI. Il collagene più rappresentato nella cartilagine ialina è il collagene di tipo II, la cui percentuale ammonta a circa il 90-95% del totale. Tra gli altri tipi degni di menzione: il tipo IX ed il tipo XI sembrano essere coinvolti nella stabilità delle fibrille mediante legami covalenti che si realizzano con il collagene di tipo II; il collagene di tipo VI ha un ruolo nel legame matrice-condrociti; il tipo X sembra avere un ruolo importante nei processi patologici che prevedono mineralizzazione del tessuto articolare e soprattutto nel quarto strato cartilagineo, quello della cartilagine calcificata.

I Proteoglicani:

I proteoglicani sono responsabili della pressione di riempimento della cartilagine articolare. Tali molecole attraggono l'acqua a causa della loro elettronegatività, delle dimensioni, della struttura ramificata e del gran numero di gruppi idrossilici. Sono costituiti da un core proteico legato ad una o più catene glicosaminoglicaniche

(lunghe catene polisaccaridiche costituite da disaccaridi che si ripetono contenenti uno zucchero aminico). Ogni unità disaccaridica contiene un gruppo solfato o carbossilato negativo contribuendo così alla formazione di lunghe catene a carica negativa in grado di attrarre acqua e cationi, come il sodio, ed allontanare anioni, come il cloro.

I glicosamminoglicani rinvenuti nella cartilagine articolare con maggior frequenza sono rappresentati da condroitin-solfato, cheratan-solfato, dermatan-solfato e acido ialuronico. I proteoglicani della matrice si dividono in due classi: grandi aggregati di monomeri di proteoglicano, o aggregati, e piccoli proteoglicani come decorina, biglicano e fibromodulina.

2.3.2 STRUTTURA

La composizione, l'organizzazione e le proprietà meccaniche della matrice, così come la forma e la funzione dei condrociti, variano in relazione alla profondità del tessuto cartilagineo. In conseguenza di tali variazioni sono rilevabili quattro strati o zone che, dal più superficiale al più profondo, sono: la zona tangenziale o superficiale, la zona intermedia o transizionale, la zona profonda o radiale e la zona della cartilagine calcifica (Fig. 11). Nonostante da uno strato all'altro vi siano evidenti differenze morfologiche, i confini tra le zone non sono chiaramente rilevabili. Ciononostante numerosi studi hanno dimostrato l'importanza funzionale della stratificazione del manto cartilagineo.

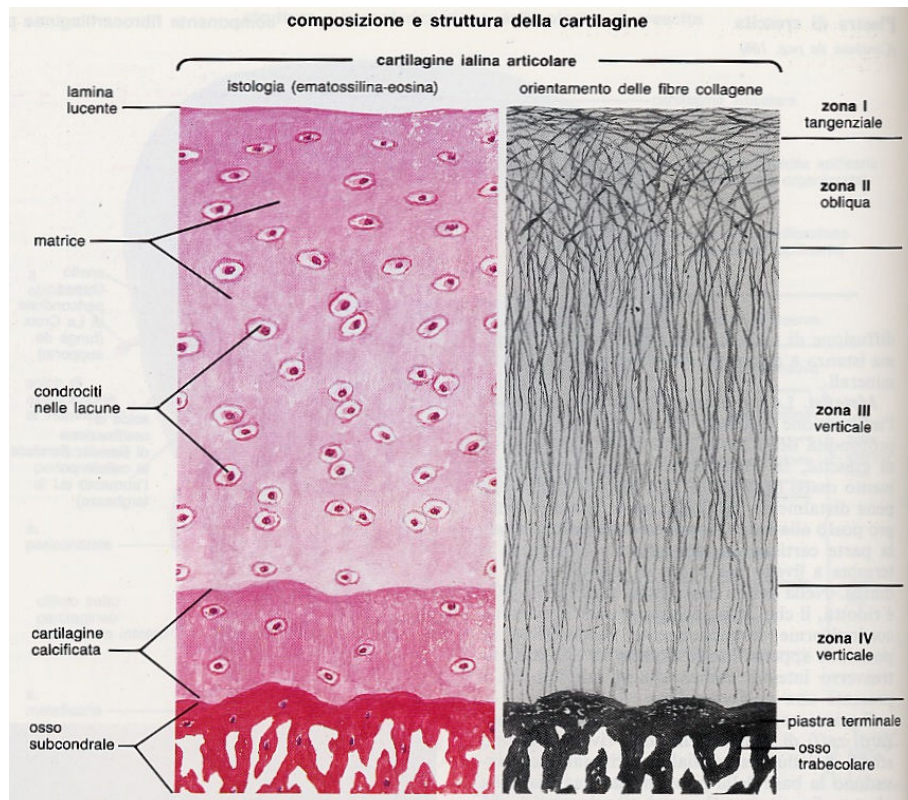


Fig. 11: *Composizione e struttura della cartilagine Ialina*

La *zona superficiale* è la più sottile delle quattro e si presenta costituita da due foglietti. Il più superficiale corrisponde alla lamina lucente (splendens) ed è costituito da fini fibrille collagene alternate a polisaccaridi senza evidenza di cellule. Il più profondo, invece, presenta cellule della linea condrocitaria che si dispongono con il loro asse maggiore parallele alla superficie articolare. La matrice prodotta e secreta da tali cellule a livello di questo strato, ha la maggior concentrazione di collagene e minore densità di proteoglicani riscontrabile nelle quattro zone. La densa matrice collagenea che decorre parallelamente alla superficie articolare (lamina splendens) concorre a determinare le proprietà meccaniche del tessuto e funge da barriera per il trasferimento di molecole dal liquido sinoviale al fluido della matrice cartilaginea. Le fibrille superficiali garantiscono una resistenza tensile maggiore di quanto non sia garantita nelle altre zone; conferisce inoltre alla cartilagine la capacità di opporsi efficacemente alle forze tangenziali cui viene sottoposta. La zona superficiale, per di più, offre un contributo decisivo alla risposta del tessuto alle forze compressive. La

rimozione di tale strato porta infatti ad un aumento della permeabilità con aumento del carico gravante sulla trama macromolecolare durante il carico. Si è dimostrato, infine, che la funzione di barriera del foglietto superficiale non è riservata ai soli metaboliti ma anche e soprattutto alle proteine anticorpali ed immunologiche. Appare dunque evidente come ciò conferisca protezione in relazione al potenziale sviluppo di fenomeni patologici autoimmuni.

La *zona transazionale*, come suggerito dal nome, ha caratteri intermedi tra la zona superiore ed inferiore. Ha un volume estremamente più esteso della zona superficiale e a differenza di questa presenta una matrice più ricca in proteoglicani e più scarsa di acqua e collagene; quest'ultimo, a differenza dello strato superiore, è composto da fibrille di diametro maggiore.

La *zona radiale* è caratterizzata dalla disposizione dei condrociti sferoidali che vanno a formare colonne perpendicolari alla superficie articolare. Questa zona contiene le fibrille collagene dal maggior diametro, la più alta concentrazione di proteoglicani e la più bassa concentrazione d'acqua. Le fibre collagene grandi e a direzione radiale passano una linea visibile al microscopio a luce polarizzata per la sua tenue basofilia che corrisponde alla zona di frontiera tra cartilagine non calcificata e calcificata.

La *zona della cartilagine calcificata* separa lo strato radiale dall'osso subcondrale. In essa l'attività metabolica dei condrociti è estremamente bassa e sovente essi si repertano imprigionati nei cosiddetti "sepolcri calcici" corrispondenti alle originali lacune della matrice calcificate.

2.3.3 Biomeccanica

La struttura funzionale della cartilagine articolare, dal punto di vista biomeccanico, è stata paragonata a quella di un materassino costituito da aria, un involucro per contenerla, una pompa per fornire l'aria e l'energia per far funzionare la pompa. Tutti questi elementi creano una struttura in grado di resistere ad un peso molto superiore rispetto ai suoi componenti. Un difetto di una qualsiasi delle parti costitutive porta al collasso della struttura.

Anche la cartilagine possiede una copertura. Le fibre collagene conferiscono alla cartilagine forma e resistenza tensile. Nel caso del tessuto cartilagineo, a differenza del materassino, il materiale di riempimento non è l'aria, ma l'acqua che costituisce l'80% del peso netto della cartilagine. L'acqua si trova sotto pressione. La pompa che genera tale pressione è costituita dagli aggregati. Essi si legano tra loro e allo ialuronato per formare enormi aggregati proteoglicanici. Questi aggregati, come detto, sono intrappolati nelle maglie di collagene. Le ramificazioni laterali di queste molecole hanno cariche negative che si respingono producendo la tendenza ad espandersi. Il richiamo di osmoliti cationici da parte dei gruppi solfato e carbossilato carichi negativamente e facenti parte della struttura proteoglicanica, causa un richiamo di liquido all'interno della trama macromolecolare con aumento della spinta espansiva. Tali processi collettivi producono una pressione di rigonfiamento che genera una tensione sulle fibre collagene, gonfiando, in tal modo, il "materassino" collagenico.

I condrociti, infine, costituiscono l'energia che attiva la pompa, sintetizzando e degradando i proteoglicani.

Per quanto un semplice materassino ad aria possa tollerare molte volte il peso dei suoi componenti, è possibile migliorarne l'efficienza mediante accorgimenti strutturali quali l'imperforabilità e la multistratificazione. Questi aspetti sono garantiti dalla presenza dei quattro strati cartilaginei descritti in istologia.

2.4 STRUTTURA, FISIOLOGIA, ISTOLOGIA DEL TESSUTO OSSEO E ALTERAZIONI MACRO E MICROSCOPICA NELLA OSTEONECROSI DELLA TESTA DEL FEMORE

2.4.1 COMPONENTE CELLULARE

Le cellule fondamentali del tessuto osseo, responsabili della sintesi dei componenti della matrice, sono gli osteoblasti: si tratta di cellule di forma tondeggianti che derivano dalla differenziazione delle cellule osteoprogenitrici, ossia cellule staminali determinate che rappresentano una prima differenziazione delle cellule mesenchimali. Gli osteoblasti, da cellule secernenti che si rispettano, sono caratterizzati dalla presenza di un reticolo endoplasmatico rugoso e di un apparato di Golgi molto esteso e responsabili da un punto di vista istologico della loro basofilia citoplasmatica. Similmente ai fibroblasti (le cellule fondamentali del tessuto connettivo propriamente detto), gli osteoblasti sono infatti costantemente impegnati, nelle fasi di formazione dell'osso, nella sintesi dei componenti molecolari che andranno a costituire sia le fibre che le glicoproteine della matrice. Tali composti vengono successivamente espulsi dalle cellule per esocitosi, e vengono quindi assemblati nella loro forma definitiva all'esterno della cellula.

Una volta completata la sintesi della matrice, ed una volta avvenuta la sua calcificazione, gli osteoblasti si sistemano in cavità ellissoidali non mineralizzate scavate nella matrice stessa definite lacune ossee. In questa fase prendono il nome di osteociti e, pur rimanendo cellule vitali, entrano in uno stato di quiescenza. Pertanto, gli osteociti rappresentano, analogamente ai fibrociti, un successivo momento funzionale di una stessa cellula, caratterizzati da Golgi e reticolo endoplasmatico granulare poco sviluppati. Tipici di queste cellule sono i lunghi prolungamenti citoplasmatici con cui la cellula attinge alle sostanze nutritive e che decorrono all'interno di microgallerie definite canalicoli ossei: al microscopio elettronico si può osservare che tra la matrice calcificata e la membrana plasmatica è presente uno spazio occupato da glicoproteine e liquido interstiziale. I canalicoli possono anche

intersecarsi tra loro cosicché non solo più osteociti sono in contatto tra loro ma anche il liquido interstiziale giunge a cellule poste lontano dalla sorgente nutritizia. Gli osteociti non rappresentano solo un mero alter ego degli osteoblasti: infatti, quest'ultimi possono essere controllati dai primi mediante opportuni segnali qualora vi sia bisogno di deporre matrice ossea. Inoltre, gli osteociti, possedendo recettori di membrana per l'ormone paratiroideo (PTH), controllano anche l'azione degli osteoclasti. Un altro tipo di cellule del tessuto osseo sono gli osteoclasti; una tipologia di cellule deputata a produrre e secernere enzimi che agiscono degradando la matrice calcificata, permettendo il riassorbimento dell'osso. Questi enzimi entrano in gioco sia nei processi di crescita, durante i quali è necessaria la sostituzione del tessuto osseo immaturo (non lamellare) in tessuto osseo lamellare adulto (vedi avanti), sia per permettere le successive rimodellazioni dell'osso.

2.4.2 MATRICE DEL TESSUTO OSSEO

Come tutti i diversi tipi di tessuto connettivo, il tessuto osseo è costituito, oltre che da cellule, da una abbondante matrice di natura proteica, prodotta dalle cellule del tessuto e nella quale le cellule stesse sono intersperse. Questa presenta una porzione di natura organica, grosso modo simile a quella degli altri connettivi, ed una componente minerale calcificata.

La frazione organica della matrice ossea è formata, similmente a quella del tessuto cartilagineo, da una componente fibrillare, costituita da fasci intrecciati di fibre, e da una componente amorfa di natura proteoglicanica. Quest'ultima, però, è nell'osso molto ridotta, tanto che la componente non minerale prevalente della matrice stessa (circa il 20% del suo peso secco) risulta essere il collagene di tipo I, che forma le fibre dette appunto collagene. Nell'osso adulto, tali fibre sono disposte secondo una organizzazione precisa ed ordinata, a costituire dei fasci che a loro volta formano una struttura ad elica che aumentano le doti di compattezza e resistenza del tessuto. L'organizzazione tridimensionale dei fasci di fibre e delle cellule forma, nell'osso maturo, delle strutture di forma lamellare.

Altri componenti della matrice, oltre a proteoglicani e collagene, sono glicoproteine di vario tipo, che hanno per lo più ruolo di proteine di adesione. Fra di esse possono essere menzionate la fibronectina, la trombospondina, l'osteopontina, tutte proteine che hanno il compito di ancorare le cellule alla matrice. Una proteina particolare della matrice ossea è invece l'osteocalcina, coinvolta presumibilmente nella sintesi del tessuto. Anche l'osteonectina è una proteina molto comune nella matrice ossea, ed il suo ruolo è quello di promuovere la mineralizzazione della matrice stessa.

Come già detto, una delle caratteristiche distintive del tessuto osseo, che lo differenzia dagli altri tipi di connettivi, è quella di possedere elementi minerali nella sua matrice, che vanno a costituire una impalcatura dura e compatta essenziale per le funzioni di sostegno e di locomozione proprie dell'osso stesso. Il processo di mineralizzazione inizia già durante lo sviluppo embrionale dei vertebrati, ma incrementa e giunge al completamento solo durante lo sviluppo postnatale; in un individuo adulto, la componente minerale costituisce circa il 65% del peso secco del tessuto osseo. Tale componente minerale è costituita principalmente da calcio, combinato con ossigeno, fosforo e idrogeno a formare una molecola cristallina definita idrossiapatite (formula bruta $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), un composto minerale che forma sottili cristalli a forma di prismi, della lunghezza di 20 nm e dello spessore di circa 2 nm. È importante notare come le diverse componenti della matrice, quella organica e quella minerale, conferiscano proprietà diverse ed interdipendenti al tessuto: la frazione calcificata è responsabile della durezza dell'osso, mentre quella fibrillare è responsabile della flessibilità e, dunque, della robustezza e della resistenza alla trazione del tessuto.

2.4.3 OSSIFICAZIONE ENDOCONDRALE

Detta anche indiretta, si costruisce su un precedente abbozzo cartilagineo, riassorbito e sostituito dal tessuto osseo. Nelle ossa lunghe la prima ossificazione avviene nella diafisi: dopo una fase di proliferazione, i condrociti si ipertrofizzano e si arricchiscono di glicogeno. Nella matrice si diffondono sali di calcio, collagene X e il

fattore angiogenico VEGF (un fattore che induce la formazione di vasi sanguigni), nonché condroclasti che degradano la matrice calcificata, creando ampie cavità comunicanti invase da vasi e cellule osteoprogenitrici del periostio che differenzieranno in osteoblasti. Questi ultimi cominciano a deporre matrice ossea (detta tessuto osteoide) intorno alle trabecole di matrice cartilaginea calcificata. Tali residui di tessuto cartilagineo vengono assorbiti per attività di condroclasti e pian piano anche il loro rivestimento osseo viene degradato ad opera di osteoclasti per formare un'ampia cavità midollare circondata da un sottile strato di tessuto osseo formato dagli osteoblasti subito al di sotto di quello che precedentemente costituiva il pericondrio ma che ora diviene a tutti gli effetti periostio per via del differenziamento di osteoblasti nel suo strato più profondo. Questo strato dopo una serie di successivi rimaneggiamenti costituirà lo strato di osso compatto che circonda la cavità midollare. Pertanto la cartilagine si ritira e il tessuto osseo aumenta in direzione delle epifisi, nelle quali si sviluppano nuovi centri di ossificazione che daranno origine a tessuto spugnoso lamellare. La zona intermedia di cartilagine ialina (detta Metafisi) viene completamente rimpiazzata da tessuto osseo soltanto al termine dello sviluppo. Nelle ossa brevi si ha lo stesso processo: l'ossificazione procede in tutte le direzioni e si arresta a livello delle superfici articolari dove permane la cartilagine articolare.

2.4.4 METABOLISMO DELL'OSSO

Responsabili del rinnovamento osseo sono due tipi di cellule, rispettivamente chiamate osteoclasti ed osteoblasti. I primi, polinucleati e ricchi di microvilli, secernono acidi ed enzimi proteolitici che, distruggendo la matrice ossea, liberano i minerali in essa contenuta.

L'azione erosiva dell'osteoclasto si manifesta con la formazione della lacuna di Howship. Formata una prima lacuna, l'osteoclasto si distacca dalla matrice, spostandosi per moto ameboide su una porzione di osso contigua a quella appena riassorbita. Qui, vi aderisce nuovamente e forma l'ennesima lacuna.

Grazie a tale processo, circa 500 mg di calcio vengono rimossi quotidianamente dall'osso (0,05% del calcio totale). Al momento del bisogno, inoltre, varie popolazioni di osteoclasti riescono a riassorbire porzioni anche cospicue di osso in un tempo relativamente breve.

In seguito al processo di erosione ossea, intervengono gli osteoblasti, cellule dalle funzioni diametralmente opposte. Essi, infatti, garantiscono la formazione e la deposizione di matrice organica nelle cavità generate dall'azione catabolica degli osteoclasti.

Non appena tale matrice raggiunge uno spessore sufficiente, viene prontamente mineralizzata, grazie all'interposizione di calcio. Questo processo di mineralizzazione va avanti per mesi, durante i quali la densità del nuovo osso aumenta progressivamente.

2.4.5 RINNOVAMENTO E RIMODELLAMENTO OSSEO

Tali processi avvengono per la riparazione delle microfratture da stress indotte dal normale sforzo fisico e per rinforzare il tessuto osseo in risposta a stimoli appropriati. In primo luogo, i processi di guarigione e ricambio cellulare avvengono continuamente nel nostro scheletro e i meccanismi interpellati nella consolidazione ossea non sono diversi da questi; in secondo luogo, ci sono da fare delle distinzioni a seconda che questo processo coinvolga l'osso spongioso o l'osso compatto.

Se si tratta di osso spongioso, le cellule presenti non si trovano mai distanti dai vasi sanguigni così che l'intero processo di apposizione di nuovo osso e sostituzione può aver luogo sulla superficie delle trabecole ossee, fenomeno noto con il nome di "creeping substitution".

Se siamo nell'osso compatto d'altra parte, la maggior parte delle cellule situate in profondità richiede la presenza dei sistemi Haversiani per essere sostituita e in queste circostanze si osserva una ben ordinata sequenza di eventi. Dapprima gli osteoclasti scavano un tunnel all'interno dell'osso morto, sotto il quale scorrono i vasi sanguigni, portando in situ gli osteoblasti che così depositano l'osso lamellare dei nuovi osteoni.

Può succedere che in un frattura, i monconi ossei siano così a stretto contatto tra loro che il fronte degli osteoblasti penetra direttamente nel frammento opposto, processo conosciuto come “unione ossea primaria” dal momento che non vi prendono parte cellule intermedie o elementi precursori.

Un altro elemento importante è conservare il perfetto allineamento delle estremità ossee non più vitali affinché possano essere di collegamento per ristabilire una continuità, così che le forze muscolari e le sollecitazioni del carico collaborino al rimodellamento. Questo consente all’osso di assumere la sua normale forma e configurazione, in base alle sollecitazioni alle quali viene esposto, in accordo con la legge di Wolff secondo cui l’osso non vitale può servire da ancoraggio passivo per le nuove trabecole ossee e attraverso l’erosione dell’osso morto tra esse, l’intero spessore viene convertito in osso spongioso vitale. Se invece si fosse in presenza di osso compatto, verrebbe rivitalizzato attraverso la penetrazione dei sistemi Haversiani, come detto in precedenza.

Le lamelle più spesse sono deposte dove le sollecitazioni sono elevate, l’osso in eccesso è eliminato, la leggera deformità è corretta e la cavità midollare è riformata. Ciò è in accordo con il concetto strutturale che sta alla base di un efficace processo di consolidazione chiamato “diamond concept” il quale attribuisce uguale importanza alle sollecitazioni meccaniche e agli stimoli biologici

2.4.6 NECROSI

Le aree necrotiche si presentano con trabecole che mostrano bordi anfrattuosi per il riassorbimento dell'osso. Su tale osso in parte eroso dal processo di riassorbimento, si depone osso neoformato in un tentativo di ricostruzione.

Nel tempo le zone di necrosi si svuotano di componente cellulare (osteoblasti ed osteociti); il tessuto osseo perde il suo aspetto lamellare e viene ridotto ad un detrito amorfo. Il tessuto connettivo degli spazi midollari è privo di sangue e necrotico.

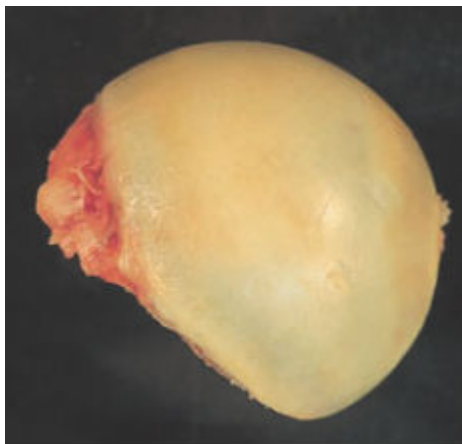


Fig. 12 A

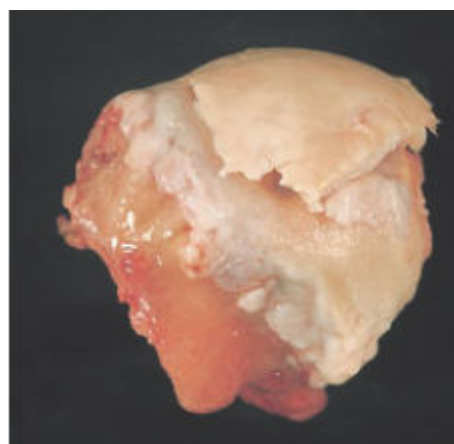


Fig. 12 B

*A e B. Profilo normale della testa femorale e sua sezione coronale.
La cartilagine articolare è intatta e l'osso subcondrale ben vascolarizzato.*

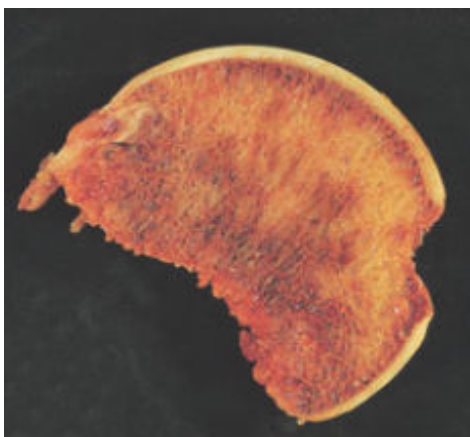


Fig. 12 C

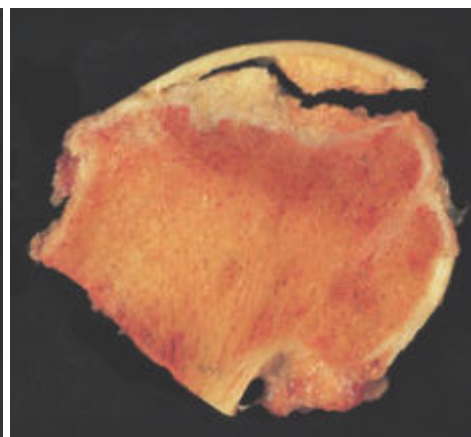


Fig. 12 D

C e D: In questa testa di femore con osteonecrosi la cartilagine è sollevata dall'osso subcondrale; la sezione coronale mostra che questo è dovuto ad una frattura/insufficienza dell'osso subcondrale nel dome della testa femorale.

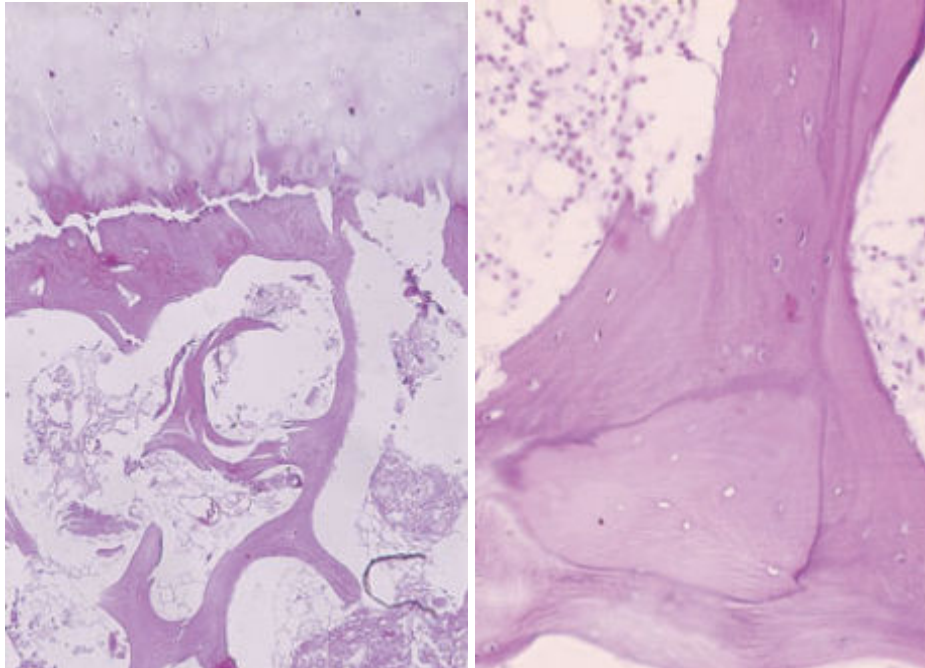
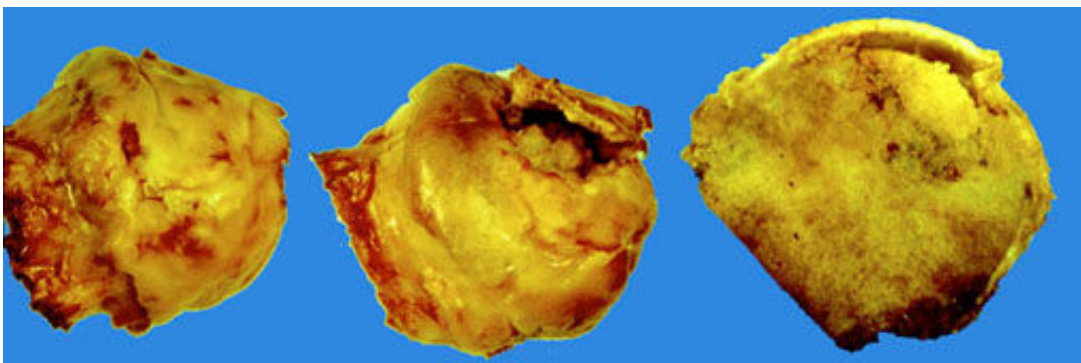


Fig. 12 E

Fig. 12 F

E ed F: la sezione istologica mostra il passaggio tra cartilagine articolare ed osso subcondrale, evidenziando condrociti vitali ma osso subcondrale necrotico.

Ad un maggiore ingrandimento è possibile visualizzare isole di osso necrotico con lacunae osteocitarie vuote circondate da woven bone (osso di nuova formazione, "creeping substitution").



2.5 CLASSIFICAZIONE

I sistemi di classificazione più utilizzati sono il Ficat e Arlet, Steinberg (Università della Pennsylvania) e ARCO (Association Research Circulation Osseous).

Il primo sistema di classificazione della necrosi della testa del femore è stato descritto nel 1960 da Ficat e Arlet e includeva tre stadi specifici. Un quarto stadio è stato poi aggiunto nel 1970. Questa è la classificazione più utilizzata anche se sono stati ulteriormente aggiunti uno stadio pre clinico (stadio 0) ed uno stadio transizionale. La risonanza magnetica non ha nessun ruolo in questa classificazione che non ha come obiettivo quello di quantificare l'area di necrosi o il coinvolgimento articolare. All'inizio degli anni '80 una nuova classificazione è stata sviluppata presso l'Università della Pennsylvania. Questa identifica sette stadi radiografici ed è stata la prima ad includere sia la risonanza magnetica che l'utilizzo della scintigrafia ossea con Tc^{99m} come anche la quantificazione dell'area necrotica ed il coinvolgimento articolare. Nel 1991 questa classificazione venne ripresa dal Committee on Terminology and Staging of the Association for Research on Circulation in Bone e nel 1992 anche dal Committee on the Hip of the American Academy of Orthopedic Surgeons.

Dagli anni '90 è ben stabilito che la prognosi e di conseguenza il trattamento delle anche affette da osteonecrosi è direttamente correlabile alla dimensione dell'area necrotica ed al coinvolgimento articolare. Tuttavia la clinica non è sempre correlabile allo stadio o alla dimensione dell'area necrotica^{35,83,95129,222,223}.

2.5.1 FICAT e ARLET

Nella classificazione Ficat e Arlet dell'osteonecrosi della testa del femore si possono distinguere cinque stadi successivi⁶⁰.

STADIO 0: questo stadio può essere definito come stadio preclinico e pre-radiografico. La diagnosi viene sospettata in un'anca quando l'altra è malata, data l'elevata incidenza di coinvolgimento bilaterale. Questo stadio viene anche definito

da alcuni stadio della "silent hip".

Hungherford successivamente³³ ha identificato questo stadio e ne ha descritto l'evoluzione riportando una serie di ventisette pazienti affetti da "silent hip". Di questi, 17 mostrarono un aumento della pressione intramidollare senza sintomi o segni radiografici; 11 di queste 17 svilupparono la malattia dopo un intervallo compreso tra uno e cinque anni, con conferma istologica in seguito a studi biotici. La necrosi si sviluppò nel 64.7% delle anche con un FEB (Functional Exploration of Bone) positivo. Un'anca negativa al FEB in seguito sviluppò la necrosi, con una incidenza totale del 44.4%.

STADIO I: Questo stadio rappresenta la manifestazione clinica più precoce. Il sintomo più comune, nel 50% dei casi, è rappresentato dal dolore all'inguine. Questo può essere progressivo e associato a segni radiologici e spesso peggiora di notte. Questa componente del dolore, che è tipica di uno stato ischemico, viene spesso trascurata in letteratura. Il dolore può essere esacerbato col colpo di tosse, e ci possono essere intermittenti disturbi vasomotori a livello dell'arto coinvolto.

All'esame l'articolazione mostra movimenti limitati; questa limitazione può essere in tutte le direzioni (multiplanare), o solo in una, in adduzione o abduzione. Anche se questa limitazione è variabile, è di grande importanza, perché permette di stabilire che il dolore ha origine articolare. È quindi essenziale registrare gli intervalli di flessione, abduzione e adduzione in posizione supina, e di estensione, ed entrambe le rotazioni in posizione prona; e poi confrontare questi con i corrispondenti campi di movimento dell'anca controlaterale.

Le radiografie standard anteroposteriori e laterali sono normali nello Stadio I o al mostrano solo minime alterazioni.

Il primo stadio dell'osteonecrosi deve essere sospettato in ogni soggetto con dolore localizzato alle anche, con limitazione funzionale di queste ultime e con radiografia normale; il FEB test deve essere fatto al più presto. Questi test sono la chiave per fare diagnosi differenziale tra i casi che si presentano in questo particolare stadio.

STADIO II: Questo stadio si protrae per diversi mesi e talvolta anche per più tempo. I segni clinici si mantengono o peggiorano, e le radiografie mostrano le tipiche alterazioni all'interno della testa del femore. Può comparire sclerosi diffusa, localizzata in determinate aree oppure in un arco lineare concavo superiormente e situato al polo supero esterno della testa femorale, dove si concentrano le forze di carico. La decalcificazione può essere presente in maniera generalizzata o localizzata in piccole cisti a livello della testa del femore, generalmente distante dallo spazio articolare. A volte è presente una forma mista che presenta sia sclerosi che cisti decalcificate. Questi reperti suggeriscono una diagnosi di osteonecrosi della testa del femore, ma essa può essere confermata con certezza soltanto dal FEB test.

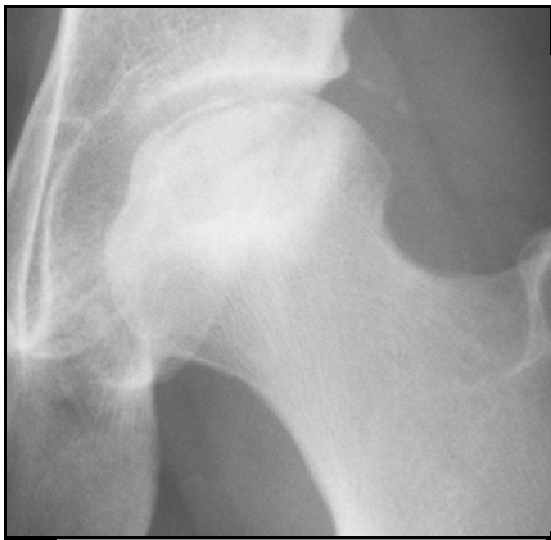


Fig. 13A Stadio IIA



Fig. 13 BStadio IIB "Crescent sign"

STADIO IIA: è presente dolore associato a segni radiografici di osteoporosi diffusa, sclerosi o cisti (Fig. 13A)

STADIO IIB: in questo stadio è evidente l'appiattimento della testa del femore (Fig. 13B).

STADIO III: questo stadio è caratterizzato per il patognomonico aspetto di "sequestro" alla radiografia. Il quadro clinico da questo momento presenta dolore persistente e in aumento, limitazione della funzionalità e dei movimenti articolari in ogni direzione, tanto da comportare un'andatura zoppicante che richiede l'utilizzo di sostegno esterno (Fig. 14A).



Fig. 14 A stadio III



Fig. 14 B stadio IV

STADIO IV: E' la fase terminale del processo necrotico, ed è caratterizzato dalla progressiva perdita di cartilagine articolare e lo sviluppo di osteofiti a livello dell'acetabolo (Fig. 14B).

I movimenti articolari sono diminuiti quasi del tutto e rimane solo un piccolo range in flessione. Questo stadio progredisce fino al collasso definitivo della testa del femore (Fig. 15).

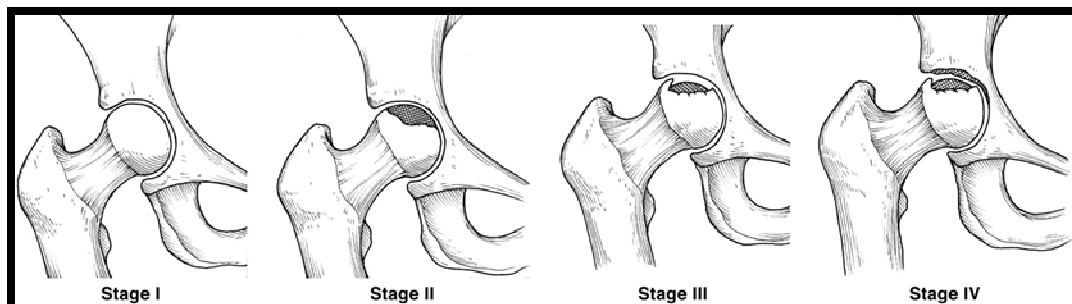


Fig. 15 Progressione della lesione negli stadi I-IV sec Ficat

Table 1 Ficat and Arlet four-stage radiological classification of osteonecrosis of the femoral head

Type of necrosis	Stages	Joint line	Femoral head contour	Trabeculae
Simple	I	Normal	Normal	Normal or very slight osteoporosis
	II	Normal	Normal	Osteoporosis/mixed sclerosis/porosis
Complicated by collapse	III	Normal	Flattened, subchondral infraction, collapse	Sequestrum formation
	IV	Narrowed	Collapsed	Destruction of superior pole

*Da: Skeletal Radiol. 2014 May;43(5):607-14. 2014 Feb 4.
How do radiologists evaluate osteonecrosis?
Lee GCI, Khoury V, Steinberg D, Kim W, Dalinka M, Steinberg M.*

2.5.2 STEINBERG

Esso consente la quantificazione precisa sia nelle fasi iniziali che in quelle successive²²⁴ (Fig. 16 A-F)

Stadio 0: La diagnosi viene eseguita tramite biopsia.

Stadio I: Il quadro radiografico appare normale. Sono presenti segni di osteonecrosi rilevati tramite la scintigrafia scheletrica Tc^{99m} o Risonanza Magnetica.

Stadio II: ci sono segni radiografici di osteonecrosi come aree di osteolisi e di osteosclerosi.

Stadio III: sono presenti segni di cedimento subcondrale e alla radiografia appare il “segno della semiluna” o “crescent sign”.

Stadio IV: compare l’appiattimento della testa femorale.

Stadio V: è presente il restringimento dello spazio articolare e l’interessamento della superficie articolare del cotile.

Stadio VI: inizia la degenerazione articolare.

Table 2 University of Pennsylvania Classification of osteonecrosis

STAGE	CRITERIA
0	Normal or nondiagnostic radiograph, bone scan, and MRI
I	Normal radiograph; Abnormal bone scan and/or MRI A – Mild (<15% of head affected) B – Moderate (15% to 30%) C – Severe (> 30%)
II	Lucent and sclerotic changes in femoral head A – Mild (< 15%) B – Moderate (15% to 30%) C – Severe (> 30%)
III	Subchondral collapse (crescent sign) without flattening A – Mild (<15% of articular surface) B – Moderate (15% to 30%) C – Severe (>30%)
IV	Flattening of femoral head A – Mild (<15% of surface and <2 mm depression) B – Moderate (15% to 30% of surface or 2 to 4 mm depression) C – Severe (>30% of surface or >4 mm depression)
V	Joint narrowing and/or acetabular changes A – Mild B – Moderate C – Severe { Average of femoral head involvement as determined in Stage IV, and estimated acetabular involvement
VI	Advanced degenerative changes

*Da: Skeletal Radiol. 2014 May;43(5):607-14. 2014 Feb 4.
 How do radiologists evaluate osteonecrosis?
 Lee GC1, Khoury V, Steinberg D, Kim W, Dalinka M, Steinberg M*



A) stadio 1



B) stadio 2



C) stadio 3

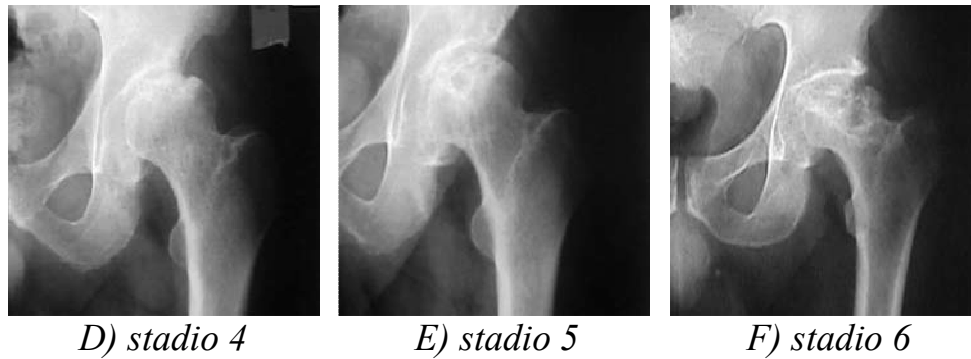


Fig. 16(A-F) Quadro radiografico degli stadi di osteonecrosi sec Steinberg

2.5.3 ARCO

Questa classificazione si basa sul riscontro diagnostico di necrosi utilizzando tecniche di diagnostica per immagini più evolute. Anche qui la classificazione è suddivisa in quattro diversi stadi⁷² (Fig. 17).

STADIO 0: In questo stadio, come anche descritto in precedenza parlando della classificazione di Ficat e Steinberg, non è possibile ottenere reperti diagnostici con tecniche di diagnostica per immagini, nemmeno con RMN e Scintigrafia ossea.

STADIO I: La radiografia standard e la Tomografia computerizzata non mostrano segni nemmeno in questa fase, però almeno un tra RMN e Scintigrafia ossea risultano positive; la diagnosi viene confermata con la biopsia.

Questo stadio viene a sua volta suddiviso in tre categorie, Mediale, Laterale e Centrale in base alla localizzazione ed estensione della lesione necrotica. L'entità della lesione può essere quantificata calcolando l'area di coinvolgimento della testa femorale. Essa risulta: minima se questa è minore del 15%, moderata se è tra 15 e 30% ed estesa se maggiore del 30%.

STADIO II: Non è presente nessuna frattura subcondrale e la radiografia mostra solo modeste anomalie. Queste sono rappresentate da un aspetto screziato, sclerosi, osteolisi e porosità focale. La testa del femore rimane sferica alla visione anteroposteriore e laterale sia alla radiografia sia alla TAC. Anche in questa fase la scintigrafia e la risonanza magnetica sono positive.

STADIO III: In questa fase alla Radiografia è evidenziabile il cosiddetto “Segno della mezzaluna” e la testa del femore risulta meccanicamente compromessa. La visione assiale alla radiografia mostra una sottile linea radiotrasparente rappresentante la frattura subcondrale, solitamente indicato come il "segno della mezzaluna ". Inoltre a questo punto si verifica un progressivo appiattimento della cupola femorale; in tal modo a mano a mano la configurazione sferica comincia a deteriorarsi fino a che non si ha un crollo di quest’ultima. La Radiografia mostra poi che la superficie articolare della testa femorale risulta schiacciata, senza però alcuna prova di restringimento della linea comune o di coinvolgimento acetabolare. Ci possono essere anche qui delle sotto classificazioni e la quantificazione dell’entità dell’appiattimento della cupola del femore viene calcolata così: in primo luogo si determina se il segno mezzaluna appare più evidente nella vista AP o laterale e, dopo avere selezionato la visuale migliore, la lunghezza della mezzaluna è espressa come percentuale nell’intera superficie articolare: minima se il coinvolgimento è minore del 15% e la depressione minore di 2mm; moderata se il coinvolgimento è compreso tra 15 e 30% e la depressione risulta di 2-4 mm; estesa se il coinvolgimento è maggiore del 30% e la depressione maggiore di 4 mm.

STADIO IV: Continua a progredire l’osteoartrite e radiologicamente è sempre visibile l’appiattimento della superficie articolare e lo spazio articolare inizia a restringersi. Sono presenti reperti di sclerosi, cisti e osteofiti; si prosegue fino alla distruzione completa dell’articolazione.

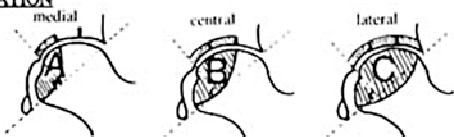
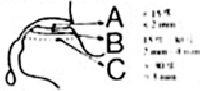
ARCO INTERNATIONAL CLASSIFICATION OF OSTEONECROSIS					
STAGE	0	1	2	3	4
FINDINGS	All present techniques normal or non-diagnostic	X-ray and CT are normal at least ONE of the below mentioned is positive	NO CRESCENT SIGN! X-RAY ABNORMAL: sclerosis, osteolysis, focal porosis	CRESCENT SIGN! on the X-ray and/or flattening of articular surface of femoral head	OSTEOARTHRITIS! joint space narrowing, acetabular changes, joint destruction
TECHNIQUES	X-ray, CT Scintigraph MRI	Scintigraph MRI *QUANTITATE on MRI	X-ray, CT Scintigraph MRI *QUANTITATE MRI & X-ray	X-ray, CT ONLY * QUANTITATE on X-ray	X-ray ONLY
SUBCLASSIFICATION	NO	LOCATION 			NO
QUANTITATION	NO	QUANTITATION % AREA INVOLVEMENT LENGTH of CRESCENT % SURFACE COLLAPSE & DOME DEPRESSION minimal A < 15% A < 15% A < 15% moderate B 15% - 30% B 15% - 30% B 15% - 30% extensive C > 30% C > 30% C > 30% 			NO

Fig. 17 Schema riassuntivo della classificazione dell'osteonecrosi ARCO

2.6 DIAGNOSI

La diagnosi, come detto in precedenza, si basa soprattutto sugli esami strumentali (scintigrafia ossea e RMN i più accurati) e su una attenta anamnesi ed esame obiettivo. Infatti, poiché la patologia si manifesta spesso in maniera subdola, quest'ultima gioca un ruolo molto importante e deve sempre essere completa e sistematica per differenziare forme traumatiche da quelle atraumatiche, informandoci su fattori come abuso di alcool, farmaci e presenza di patologie anche remote o alterazioni subcliniche. In caso di terapia corticosteroidica va sempre indagata la dose e la durata.

Dose rischio giornaliera	Dose rischio dosaggio di prednisone maggiore di 2 gr o l'equivalente distribuito nel mese per 3 mesi minimo .(36)
Cumulativa	Dose media cumulativa 4,57 gr questo risulta essere il solo fattore significativo di insorgenza della necrosi. (37)
Sopra i 4 gr	Dose rischio oltre i 200 mg die, dose rischio cumulativa oltre i 4000 mg. (38)

Tab. II: mostra i dosaggi di corticosteroidi a cui è presente il rischio di sviluppo di osteonecrosi.

La diagnosi precoce rimane comunque la chiave per il successo nel trattamento dell'osteonecrosi.

2.6.1 OBIETTIVITA' E SINTOMATOLOGIA

In genere l'esordio della malattia è caratterizzato da un dolore intenso all'anca, più frequentemente riferito all'inguine, spesso irradiato alla faccia anteriore o anteromediale della coscia e più raramente riferito al gluteo. Tale dolore inizialmente può essere legato al movimento e alle attività sotto carico, ma in seguito progredisce fino a insorgere anche a riposo ed essere aggravato dalla deambulazione. Il paziente evidenzia una zoppia e l'esame clinico mostra una riduzione dell'arco di movimento, soprattutto alla flessione e alla intra rotazione, con dolore ai gradi estremi. Il dolore inguinale è di solito intermittente e a comparsa graduale, ma occasionalmente compare all'improvviso.

2.6.2 IMAGING

Le radiografie standard possono evidenziare modeste alterazioni di densità con disomogeneità nella trama ossea o possono arrivare a mostrare franche alterazioni della morfologia della testa femorale che si deforma completamente (vedi fig. sottostante). I primi reperti radiografici dell'osteonecrosi possono essere evidenti anche dopo 2-3 mesi dall'inizio della sintomatologia dolorosa. Inizialmente infatti l'ischemia interessa la componente cellulare dell'osso, non quella minerale, per cui non emergono segni radiografici immediati. La TAC, grazie anche a metodiche di ricostruzione multiplanari, può aiutare nel definire meglio l'estensione della lesione e il grado di collasso osseo negli stati più avanzati, dettagli utili nel pianificare interventi conservativi ed applicazioni della medicina rigenerativa. Allo stato attuale tuttavia la TAC è stata ampiamente soppiantata dalla RMN, metodica strumentale di scelta poichè permette di rilevare più precocemente alterazioni tipiche della necrosi che non sono evidenziabili nelle radiografie standard. La diagnosi di osteonecrosi può essere fatta precocemente sui tagli coronali con una specificità del 90% e una sensibilità pari al 95%. La RMN si è dimostrata più sensibile e più specifica della

scintigrafia scheletrica con TC99, oltre ad essere più precisa nella definizione topografica della lesione.

2.6.2 A) ESAME RADIOGRAFICO

Esame di primo livello, esso permette di rilevare l'osteonecrosi e di individuarne lo stadio. L'esame deve essere eseguito in due proiezioni, antero-posteriore (AP) e laterale (LL). Nelle prime fasi della necrosi il reperto radiografico può essere negativo, successivamente si va modificando in base all'evoluzione della patologia. Questo giustifica la necessità di ripetere questi esami nel tempo. I principali reperti radiografici sono :

- Radiopacità dell'area necrotica che aumenta progressivamente in contrapposizione all'osso circostante che presenta un'opacità normale o può essere addirittura osteopenico.
- Anello radiolucido attorno all'area necrotica, dovuto al riassorbimento ed alla neoapposizione di osso sano (woven bone). Compare in una fase tardiva.
- Segno della "Mezzaluna" ("crescent sign"): di solito si evidenzia nello stadio III del sistema di classificazione Ficat e si presenta come una linea di radiotrasparenza subcondrale localizzata al polo superiore esterno della testa femorale. È un segno di progressione della malattia, che tende ad evolvere verso la degenerazione articolare (Fig. 18).

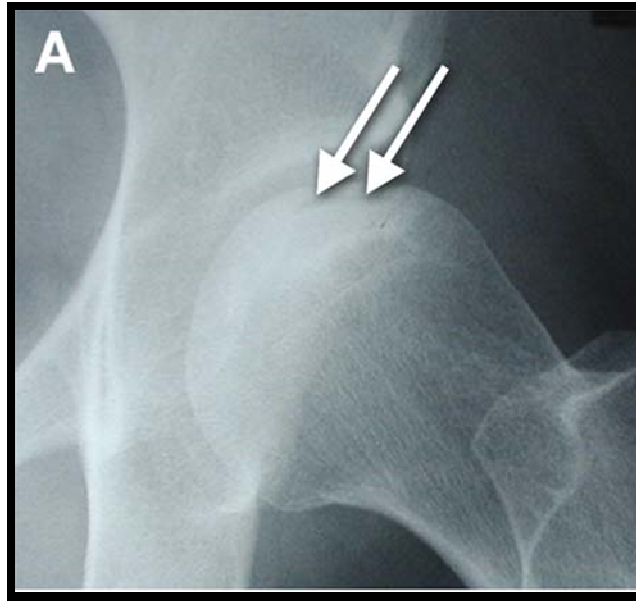


Fig. 18 Segno della “mezzaluna” o “crescent sign”

2.6.2 B) TOMOGRAFIA COMPUTERIZZATA

Questa tecnica d'imaging permette di rilevare segni di necrosi avascolare, confermando così il quadro radiografico. Si pone pertanto come indagine di secondo livello. La necrosi appare alla TC con aree d'iperdensità (sclerosi) sub condrale a delimitare la zona di necrosi nella fase riparativa. La TC permette inoltre di evidenziare, sempre durante la fase riparativa, aree di collasso, frattura subcondrali ed alterazioni della superficie articolare. Un altro vantaggio della TC è la possibilità di effettuare diverse proiezioni assiali (utile in questo caso è la scansione coronale).

In definitiva l'esame TC non è l'esame di elezione per valutare l'ostene necrosi della testa del femore (lo è la RMN) in quanto evidenzia bene solo i segni tardivi. Tuttavia, è utilizzata nella valutazione pre-operatoria per la capacità di evidenziare le aree di collasso, frammenti ed alterazioni morfologiche .

2.6.2 C) RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE

La RMN è il miglior metodo diagnostico nei casi in cui l'esame radiografico appare negativo o occulto, e ha dimostrato avere una sensibilità del 99% e una specificità del 98% per questa patologia³⁹⁻⁴⁰ (Fig. 19). Essa è in grado di individuare l'osteonecrosi

fin dalle fasi iniziali, evidenziando l'edema midollare. Possono essere acquisite scansioni in T1, T2 e STIR (soppressione del grasso). Nel primo caso l'osteonecrosi apparirà come un'area d'ipointensità, nel secondo caso come un'area d'iperintensità ma in ogni caso d'intensità diversa rispetto all'osso non necrotico e alle ossa circostanti.

Protocolli di screening rapido hanno permesso di ridurre il costo e il tempo di risonanza magnetica, rendendo possibili screening sequenziali e temporali.

Imaging con risonanza magnetica eseguita rapidamente e screening completo con la risonanza magnetica sono stati utilizzati per diagnosticare le lesioni e per determinare la loro dimensione, i due studi hanno mostrato accordo per 177 (98,9%) delle 179 anche⁴¹. May e Disler⁴⁰ hanno trovato che i risultati di un protocollo di screening rapido, avente un tempo di imaging minore di un minuto in pazienti che erano sospetti per la patologia con esami radiografici occulti, erano simili a quelli del protocollo di routine, che ha un tempo di imaging maggiore.

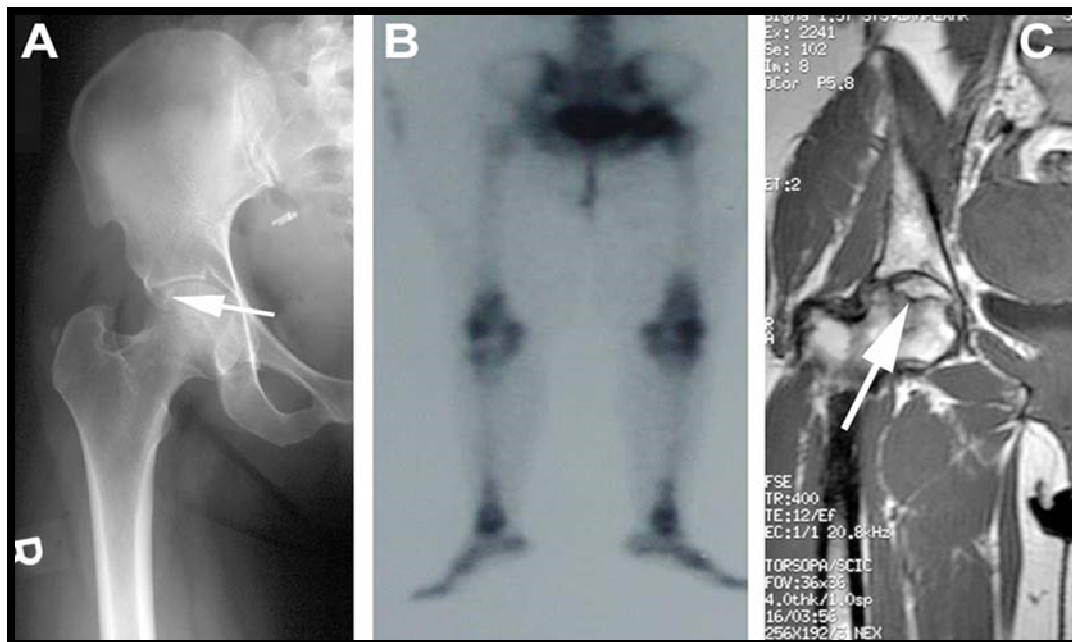


Fig. 19 A) I primi segni di una lesione osteonecrotica (freccia) sono mostrati dalla semplice radiografia. B: Una scintigrafia ossea normale o "a freddo" di entrambe le anche. C: La prova di una lesione osteonecrotica subcondrale (freccia) visibile alla risonanza magnetica.

Tuttavia la RMN, soprattutto per l'alto costo e per la scarsa disponibilità delle apparecchiature, viene di fatto utilizzata in quei casi con forte sospetto di osteonecrosi ed esame radiografico negativo.

2.6.2 D) SCINTIGRAFIA OSSEA

Per anni è stata impiegata la scintigrafia con Tc^{99m} nella diagnosi precoce dell'osteonecrosi; è un esame caratterizzato da elevata sensibilità, ma da bassa specificità. I reperti scintigrafici di aumentato uptake possono essere osservati ad esempio in caso di artrosi, contusione ossea, frattura. La diagnosi differenziale in questa fase include coxartrosi in fase iniziale, fratture da stress, artriti settiche, dolori neurologici, sinoviti, borsiti dello psoas, lesioni labrali.

2.7 STORIA NATURALE ED EVOLUZIONE

Senza trattamento più del 70% delle teste del femore con osteonecrosi collassa con necessità di sostituzione protesica entro 3-4 anni dalla diagnosi²²¹. Pertanto l'osteonecrosi della testa del femore è ritenuta una malattia evolutiva con un peggioramento che si esplica in un arco di tempo relativamente breve .

Anche nelle piccole lesioni la guarigione spontanea risulta difficile e solo il 23% delle lesioni molto piccole, asintomatiche, vanno incontro a guarigione spontanea e visibile alla RMN a 19-44 mesi dopo la diagnosi³².

Quando avviene, la guarigione è molto lenta anche in piccole lesioni, come ha dimostrato Hernigou⁹⁶ in uno studio effettuato su piccole lesioni (40 anche), dove l'88% alla fine presentava sintomi, mentre il 73% è andato incontro al collasso dopo 10 anni di follow-up, concludendo che anche piccole lesioni dovrebbero essere seguite nel tempo.

È stato dimostrato inoltre che l'assenza di carico a livello della testa del femore non è un fattore che diminuisce la progressione della patologia, ma ne rallenta soltanto l'evoluzione naturale^{96,168}.

Il peggioramento in assenza di terapia è tanto maggiore quanto più grave è il quadro radiografico alla diagnosi: nelle forme iniziali ("pre collapse") avviene dal 60% all'85% dei casi e nelle forme avanzate ("post collapse") dall'85% al 100% dei casi. Sei mesi è il tempo necessario prima del cambiamento del profilo della testa del femore e della comparsa del dolore, come ancora lo stesso Hernigou ha dimostrato⁴⁴. Questo dato suggerisce la necessità di un intervento precoce, all'inizio della comparsa sintomatologica. Infatti tecniche di "salvataggio" eseguite ad un tempo medio di 6 mesi hanno dato risultati migliori di quelle effettuate dopo 12 mesi¹⁷⁵.

CAPITOLO 3

TECNICHE DI TRATTAMENTO DELLA NECROSI DELLA TESTA DEL FEMORE: STATO DELL'ARTE

Se non trattata la necrosi avascolare della testa del femore ha una prognosi severa. L'obiettivo primario del trattamento è quello di un intervento tempestivo che eviti di dover ricorrere alla sostituzione protesica, considerando che la maggior parte dei pazienti sono soggetti giovani ed attivi. Questo è possibile solo quando la testa non si sia ancora deformata o nelle deformazioni iniziali se il paziente è disposto ad accettare un certo rischio d'insuccesso. Una volta che la testa femorale si è appiattita, la situazione evolve irreversibilmente verso l'artrosi. Se la testa femorale è deformata o sono già presenti segni radiografici artrosici, la protesi costituisce l'unica soluzione realmente efficace. Poiché questi pazienti sono solitamente più giovani rispetto a quelli affetti da coxartrosi primitiva, l'impiego di protesi conservative e/o di accoppiamenti a bassissima usura è altamente raccomandato.

In un recente lavoro Mont et al¹¹⁰ in una analisi retrospettiva dei dati relativi alle procedure eseguite negli U.S.A. in pazienti affetti da osteonecrosi femorale dal 1993 al 2010 hanno evidenziato come vi sia stato un incremento della indicazione alla sostituzione protesica (con una sopravvivenza degli impianti inferiore al 38% prima del 1993 e superiore all'80% dopo il 1993); tuttavia il numero di interventi di preservazione della testa femorale è contestualmente aumentato (in particolare interventi di core decompression e bone grafting), indicando come sia comunque incrementato il numero di pazienti trattati per questa patologia.

Se la testa femorale è ancora sferica, c'è la possibilità di mettere in atto procedure chirurgiche di salvataggio. Esistono diversi sistemi classificativi radiografici o RMN basati sulla localizzazione o sull'estensione dell'area di necrosi in grado di prevedere il crollo dell'area necrotica. Il sistema classificativo di Kerboul¹¹⁸ si basa sulla misura dell'angolo dell'arco descritto dall'area femorale necrotica. Esso viene misurato su due tagli RMN, uno coronale e l'altro sagittale. Dalla somma di questi due angoli è possibile individuare quattro gradi di rischio: grado I per angoli < 220° ; grado II per angoli da 200 ° a 249 °; grado III per angoli da 250° a 299°; grado IV per angoli pari a 300°. Le anche con angolo di Kerboul pari a 190° hanno un basso rischio di crollo;

tra 190° e 240 ° rischio intermedio; più di 240°, alto rischio.

Il rischio di crollo della testa femorale è collegato anche al grado di copertura dell'area necrotica da parte dell'estremità laterale dell'acetabolo. Se la lesione non presenta un buon grado di copertura da parte dell'estremità laterale dell' acetabolo, il rischio di crollo osseo è più alto¹¹. Secondo lo schema classificativo proposto dalla "Japanese Investigation Committee" vi sono tre tipi di lesioni osteonecrotiche (A, B, C) . Lo schema è basato sulla sezione coronale centrale della testa del femore nelle immagini T1 pesate. Le lesioni di tipo A occupano 1/3 o meno della superficie mediale sottoposta al carico; le lesioni di tipo B occupano 2/3 o meno della superficie mediale , mentre quelle di tipo C occupano più di 2/3 della superficie sottoposta al carico. Le lesioni di tipo A e B sono meno prone al crollo rispetto alle C .

Nelle lesioni di tipo A e B può essere giustificato un trattamento conservativo, poiché l'osteonecrosi potrebbe guarire senza evolvere in una frattura subcondrale o nel crollo. Qualora si osservi un'estensione dell'area infartuata, è necessario effettuare il trattamento. Più recentemente sono stati sviluppati programmi computerizzati per calcolare il volume della lesione necrotica e per prevederne l'eventuale crollo.

3.1 TRATTAMENTO CONSERVATIVO

La maggior parte dei metodi di trattamento non chirurgico sono volti a diminuire il carico sull'articolazione. Il trattamento più semplice ed immediato è l'utilizzo di bastoni, allo scopo di rallentare la progressione della malattia. Tuttavia, come già detto in precedenza, l'80% delle anche colpite progredisce fino al collasso della testa del femore entro 3-4 anni dalla diagnosi⁷⁴. La malattia, se diagnosticata nelle fasi iniziali, può essere suscettibile ad alcune modalità di trattamento incruento. Alcuni studi pubblicati recentemente sembrano giustificare il trattamento incruento delle piccole lesioni pre-collasso e asintomatiche, le quali possono migliorare la loro storia naturale⁴⁹.

Queste lesioni sono spesso diagnosticate nelle anche controlaterali dopo la

valutazione di un'anca sintomatica. Jergesen e Khan hanno riportato progressione della malattia in quattordici di diciannove anche asintomatiche con osteonecrosi della testa del femore non trattate con sviluppo della patologia entro cinque anni nella maggior parte di esse e dopo cinque anni dalla diagnosi nelle rimanenti¹⁰⁸. In uno studio prospettico di quaranta anche asintomatiche con una piccola lesione in fase iniziale non trattata, Hernigou et al. riportano un 88% di progressione (da asintomatiche a sintomatiche) ed un 73% di collasso ad un follow up di dieci anni (media, undici anni) dalla diagnosi⁹⁶. I fattori che sembrano giocare un ruolo nella risoluzione sono la precocità di diagnosi, il fatto di essere asintomatiche e di essere rappresentate da lesioni di piccola entità. In uno studio condotto da Yoshida et al.²⁵², ventiquattro pazienti asintomatici, con anche radiograficamente normali ma con quadro di osteonecrosi evidenziato alla risonanza magnetica, sono stati seguiti con la risonanza magnetica da dodici a 95 mesi (in media, 51 mesi). Quindici anche migliorarono durante il periodo di osservazione (verificandosi in più del 15% una riduzione del volume della necrosi), e tutte le anche in cui il volume della zona necrotica era minore del 25% mostrarono una diminuzione nella dimensione della lesione. Tuttavia una meta-analisi che ha preso in considerazione papers con i risultati di soggetti "protetti dal carico" evidenziò, su un totale di 819 pazienti, un tasso di fallimento maggiore dell' 80% ad una media di 34 mesi⁶⁷. Dato che la maggior parte dei pazienti necessita comunque di una sostituzione protesica, gli autori concludono che il trattamento conservativo non è appropriato, se non in casi altamente selezionati.

L'utilizzo di sostanze farmacologiche per il trattamento dell'osteonecrosi della testa femorale ha ricevuto notevole attenzione negli ultimi anni. Lo scopo di questi agenti, che includono farmaci ipolipemizzanti, anticoagulanti, vasodilatatori e bifosfonati, è quello di ridurre specifici fattori di rischio per l'osteonecrosi come embolia lipidica, accumulo di adipociti, trombosi venosa, alterazioni della coagulabilità, aumento della pressione intraossea ed il riassorbimento dell'osso.

3.1.1 BIFOSFONATI

I bifosfonati hanno mostrato risultati promettenti in piccole serie di casi^{2,32}.

Questi agenti, che inibiscono l'attività degli osteoclasti, e quindi limitano il riassorbimento osseo, potrebbero teoricamente rallentare la progressione della malattia sulla base dell'ipotesi che l'aumento del riassorbimento contribuisce al collasso della testa femorale. Tre recenti studi sperimentali preclinici su animale^{21,132,123,226} hanno dimostrato una riduzione della incidenza del collasso della testa del femore dopo trattamento con bisfosfonati.

Recenti studi dimostrano che *l'Alendronato* può essere potenzialmente utile per i pazienti con osteonecrosi della testa del femore. A una media di un anno (range, da tre mesi a cinque anni), dopo il trattamento di sessanta pazienti (100 anche) con questo agente (10 mg / die), Agarwala et al.² hanno riportato un miglioramento della sintomatologia clinica con una riduzione del punteggio di disabilità e soltanto sei pazienti hanno avuto necessità di intervento chirurgico.

Kuo-An Lai et al.¹³² in uno studio prospettico caso-controllo (alendronato vs placebo) di 40 pazienti con osteonecrosi della testa del femore allo stadio II o III sec Steinberg con area necrotica > 30 hanno riportato, dopo 24 mesi di follow up, un solo caso su 20 di crollo osseo rispetto a 19/20 del gruppo di controllo.

Questi studi aprono interessanti prospettive per l'utilizzo *dell'Alendronato* nella prevenzione dell'evoluzione dell'osteonecrosi della testa femorale e dimostrano la sua efficacia almeno nel ritardare il crollo dell'area necrotica.

Anche Koo and Kim sostengono che in pazienti con lesione osteonecrotica tipo c, in cui il crollo osseo avviene di solito entro 18 mesi dalla diagnosi, l'*alendronato* protegga dal rischio di crollo osseo almeno nei primi 24 mesi¹²³.

Recentemente il pamidronato è stato introdotto nel trattamento dell'osteonecrosi dei pazienti in terapia per leucemia linfoblastica acuta^{135,183,194}.

Come gli altri bifosfonati la sua azione è anti infiammatoria e anti riassorbimento dell'osso attraverso l'inibizione dell'attività degli osteoclasti e dell'apoptosi di

osteoblasti ed osteociti. Utilizzato inizialmente per il trattamento dell'osteoporosi, recenti studi hanno dimostrato la sua efficacia clinica nel trattamento dell'osteonecrosi sintomatica. Alos et al hanno riportato un miglioramento clinico significativo in una coorte di pazienti affetti da osteonecrosi in trattamento per leucemia linfoblastica acuta (LLA) con risoluzione della sintomatologia dolorosa nel 77% dei pazienti e miglioramento funzionale nel 59% dei casi dopo somministrazione di pamidronato (1-4 mesi). Il follow up a lungo termine ha mostrato assenza di dolore in un totale di 84.6% di pazienti e miglioramento della funzione nel 75% di essi. Tuttavia tale trattamento può solo rallentare la progressione della patologia che rimane inesorabile verso il crollo della testa femorale, soprattutto nei casi con stadi avanzati.

3.1.2 STATINE

Pazienti con Lupus Eritematoso Sistemico (LES), o con livelli elevati di colesterolo e lipidi nel siero sono stati trattati con agenti ipolipemizzanti^{45,194}. Con questo trattamento, basato su studi di laboratorio condotti da Wang et al.^{240,241}, sono state analizzate la capacità della *Lovastatina* di impedire la formazione di tessuto adiposo indotta dai corticosteroidi in vitro così come i suoi effetti sull'adipogenesi e sull'osteonecrosi della testa femorale in studi pre clinici. Questi studi hanno suggerito che, nei pazienti affetti da LES, l'osteonecrosi della testa del femore si può sviluppare come conseguenza di una fisiologica differenziazione di cellule staminali mesenchimali in cellule adipocitarie piuttosto che in osteoblastiche. Di conseguenza, il trattamento con *Lovastatina* può impedire la genesi dell'osteonecrosi, facendo in modo che le cellule seguano una normale differenziazione osteoblastica. Pritchett ha riportato che, a una media di 7,5 anni (minimo cinque anni), l'osteonecrosi della testa del femore si era sviluppata solo in tre (1%) di 284 pazienti che stavano assumendo corticosteroidi ad alto dosaggio insieme a diverse statine¹⁹⁴. Tale prevalenza risultava molto inferiore rispetto a quella riportata in pazienti in trattamento con alte dosi di

corticosteroidi ma senza uso di statine. Questo dato è molto interessante poiché le statine potrebbero costituire quindi un fattore di protezione nello sviluppo della osteonecrosi nei pazienti in terapia cronica con farmaci corticosteroidi^{57,171}.

3.1.3 ANTICOAGULANTI E STEROIDI ANABOLIZZANTI

Glueck et al.⁷⁷ hanno descritto uno steroide anabolizzante, lo *Stanozololo*, alla dose di 6 mg / die, per trattare quattro pazienti con ipofibrinolisi associata ad un alto livello di attività *dell'attivatore del plasminogeno* e un paziente che aveva un elevato livello di lipoproteine nel siero. Tutti e cinque i pazienti hanno mostrato una riduzione della sintomatologia ad un anno dall'inizio del trattamento.

Nel medesimo lavoro, è stato inoltre riportato l'utilizzo di *Enoxaparina* (60 mg / giorno per dodici settimane) per il trattamento di pazienti che avevano disturbi trombofilici o ipofibrinolitici e associata osteonecrosi della testa del femore in fase precoce. A due anni di follow up, l'89% dei pazienti trattati non solo non hanno richiesto alcun tipo di chirurgia ma è stata riportata una assenza di progressione verso gli stadi successivi della patologia.

3.1.4 VASODILATATORI

Gli effetti della prostaciclina derivata dall'*Iloprost*, usato come vasodilatatore, sono stati studiati in pazienti con osteonecrosi della testa del femore.

Diciassette pazienti con patologia in fase iniziale ebbero miglioramenti clinici e radiografici a un anno dal trattamento con questo agente^{77,163}.

3.1.5 METODI BIOFISICI

Sono state utilizzate varie tecniche di tipo biofisico, non invasive, per il trattamento dell'osteonecrosi della testa del femore. Queste includono: la terapia per mezzo di stimolazione elettromagnetica extracorporea, onde d'urto e ossigenoterapia iperbarica.

3.1.5 A) MAGNETOTERAPIA

La magnetoterapia può essere considerata come un trattamento adiuvante all'intervento chirurgico e può essere utilizzata negli stadi precoci della malattia a scopo condroprotettivo (azione antinfiammatoria locale con riduzione dell'edema midollare ed anticatabolica) e osteoinduttivo (promuovendo l'attività osteogenetica e prevenendo le fratture trabecolari e il collasso osseo subcondrale)^{130,211}.

3.1.5 B) OSSIGENOTERAPIA IPERBARICA

L'uso di ossigenoterapia iperbarica ha avuto risultati contrastanti ed è associato a costi elevati e a un vasto impegno di tempo^{25,122,225}. In studi preclinici su ratto, sono stati riportati buoni risultati con stabilizzazione della progressione verso il collasso della testa del femore¹⁸⁷. In un studio condotto da Reis et al.²⁰⁰, sono state trattate sedici anche in dodici pazienti con osteonecrosi in fase iniziale della testa del femore con ossigenoterapia iperbarica per 100 giorni. Tredici delle sedici anche hanno evidenziato la scomparsa di anomalie alla risonanza magnetica.

3.1.5 C) TERAPIA CON ONDE D'URTO

Negli ultimi anni è stato proposto l'utilizzo di onde d'urto per trattare pazienti con osteonecrosi¹⁴⁹. Interessante a tal proposito è soprattutto uno studio condotto da Wang CJ ed al.²³⁹ in cui venivano confrontati a distanza di 25 mesi dal trattamento i risultati ottenuti in due gruppi di pazienti allo stadio I, II, III. Il primo gruppo (29 pz) è stato sottoposto a un singolo trattamento con onde d'urto (6000 impulsi a 28 kv); il secondo (28 pz) a core decompression. Nel gruppo sottoposto a onde d'urto il controllo, a venticinque mesi evidenziava nel 79% un miglioramento degli score di valutazione clinico-funzionali, nell'11% stazionarietà, nel 10% peggioramento. Le immagini Rx ed RMN hanno invece mostrato una regressione della lesione in 5/13 pz allo stadio I o II, una progressione in 2/13, un quadro stabile nei restanti 6/13. Nei sedici pazienti allo stadio III non era evidente nessun segno di regressione, in 2/16 era presente una progressione della malattia, in 14/16 il quadro era invariato.

3.2 TRATTAMENTO CHIRURGICO

3.2.1 CORE DECOMPRESSION

La decompressione focale, proposta da Ficat, viene ampiamente utilizzata in quanto dà eccellenti risultati in particolare nei pazienti in stadio I e in parte in stadio II, con risultati contrastanti negli stadi più avanzati, ad eccezione di lesioni non molto estese.

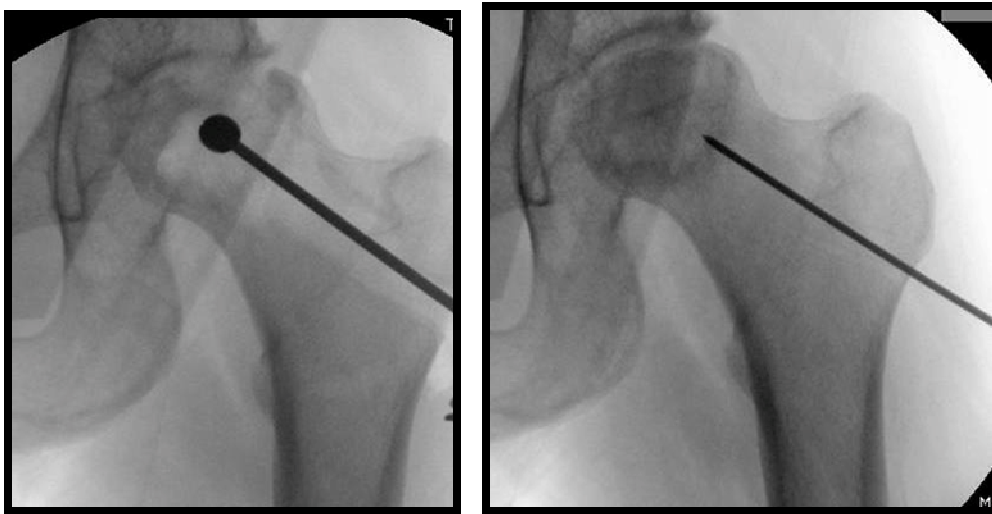


Fig. 20 e 21 Fasi dell'intervento di "core decompression"

La tecnica consiste nell'eseguire un foro coassiale all'asse del collo del femore mediante frese di diametro crescente (Fig. 20, 21, 22); quindi nel tunnel così eseguito può essere inserito un innesto osseo autologo, da perone o da cresta iliaca.

Lo scopo è quello di ridurre la pressione endossea, di indurre un processo di neo vascolarizzazione per mezzo della stimolazione di neo angiogenesi, di apportare un contingente di cellule vive nella zona necrotica ed infine fornire un supporto meccanico per scongiurare cedimenti strutturali.



Fig. 22 Tecnica della core decompression

In una meta-analisi sugli esiti della “core decompression” Mont et al¹⁶⁸ in 1206 anche trattate in ventiquattro studi pubblicati prima del 1995, hanno riportato i migliori risultati nel trattamento delle fasi iniziali della lesione Infatti l’84% dei pazienti con stadio I e il 65% dei pazienti con malattia allo stadio II secondo Ficat e Arlet hanno avuto un risultato positivo. Risultati analoghi sono stati successivamente pubblicati a partire dal 1996^{3,98,142,158,175}. In una recente meta-analisi di Castro et al⁸³ è stato evidenziato come il tasso di successo della “core decompression” sia significativamente superiore a quello del trattamento conservativo per i pazienti con malattia in stadio precoce con un tasso di reintervento del 16%, 37% e 71% dopo core decompression rispettivamente negli stadi I, II e III secondo Steinberg.

Stulberg et al²²⁵ hanno confermato questi dati riportando in uno studio prospettico un tasso di successo (valutato con score clinico-funzionale Harris Hip Score) più elevato per i pazienti trattati con core decompression nei confronti dei pazienti trattati conservativamente negli stadi da I a III.

Questa tecnica presenta quindi migliori risultati nelle anche con lesioni di dimensioni ridotte o segmentarie o che presentino integrità del pilone laterale con segni di

osteosclerosi subcondrale, indipendentemente dai fattori di rischio relativi. In questo caso è critica la selezione del paziente e la comprensione della prognosi/evolutive della lesione¹⁷⁴. Tecnica modificata della core decompression è rappresentata dalle perforazioni multiple, che hanno un tasso di successo superiore al 70% nello stadio I, tra il 30% ed il 70% nello stadio II e inferiore al 40% nello stadio III. Kim et al¹²⁴ hanno dimostrato che la tecnica del “*multiple drilling*” rispetto ha un minor rischio di collasso (14.3%) rispetto ad un'unica perforazione di diametro maggiore (45%). Comunque è dimostrato che la sola core decompression può portare ad un miglioramento dei sintomi e al controllo della sintomatologia dolorosa non influenzando tuttavia in alcun modo la progressione verso il crollo del profilo della testa femorale¹⁵⁴.

3.2.2 OSTEOTOMIE CORRETTIVE

Le osteotomie hanno lo scopo di correggere l'orientamento del collo femorale per determinare una zona di carico sulla testa femorale che non insista sull'area necrotica, riducendone quindi il rischio di collasso. Possono essere impiegate negli stadi da I a III. Si possono eseguire osteotomie di varizzazione, valgizzazione, combinate (con flessione) e di rotazione (Sugioka e varianti) a seconda dell'orientamento desiderato. Il tasso di successo varia dal 50% al 70%. Ci sono due tipi generali di osteotomie: intertrocanteriche angolari (varismo e valgismo) e transtrochanteriche rotazionali (Fig. 23).

Osteotomie di rotazione consentono ampi gradi di spostamento del segmento osteonecrotico^{12,58,81,170,212,216}.

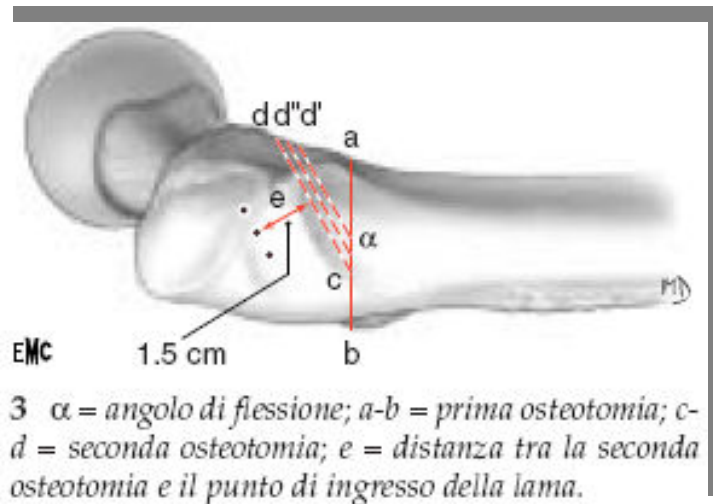


Fig. 23 Calcolo dell'angolo di correzione in varismo e flessione del collo femorale

Le osteotomie derotative possono avere un ruolo nella gestione di pazienti selezionati, sono inoltre tecnicamente difficili da eseguire e hanno un alto potenziale di morbilità, compreso insorgenza di pseudoartrosi⁶. Considerando che la sostituzione totale protesica è un evento che si verifica nel 60-70% dei casi, l'intervento di osteotomia può rendere più difficoltosa la successiva protesizzazione. Numerosi di questi autori hanno descritto un tempo operatorio più lungo, una maggior perdita di sangue, maggior difficoltà tecniche, e alti tassi di infezione in pazienti sottoposti a sostituzione protesica dopo interventi di osteotomia.

La Scuola Bernese ha riportato i risultati a lungo termine della tecnica di osteotomia intertrocanterica di varo-flessione associata a innesto vascolarizzato della cresta iliaca. A un follow-up medio di 13,5 anni, il 36% dei pazienti hanno eseguito successivamente un intervento di artroprotesi. Negli altri pazienti la valutazione clinica e radiografica ha evidenziato che nel 65% delle anche si è realizzata una progressione della necrosi con segni di degenerazione artrosica⁶⁶.



Fig. 24



Fig. 25

Fig. 24 e 25 Osteomie correttive derotative e applicazione di innesto osseo e lama placca

La valutazione preoperatoria dei pazienti include radiografie in proiezione anteroposteriore e laterale, risonanza magnetica e scintigrafia ossea. L'estensione della necrosi è determinata mediante il metodo descritto da Kerboul et al.⁹² e la posizione esatta della lesione è determinata mediante risonanza magnetica. Questa informazione viene utilizzata per determinare l'angolo di rotazione necessaria per l'osteotomia rotazionale transtrocanterica (Fig. 24 e 25). L'osteotomia derotativa anteriore è indicata se la lesione coinvolge meno di un terzo posteriore della testa femorale. Questa operazione comunque ha numerosi svantaggi, tra i quali l'elevazione o lateralizzazione del grande trocantere (variazione dell'off set e del braccio di leva del ventaglio gluteo) (Fig. 26)

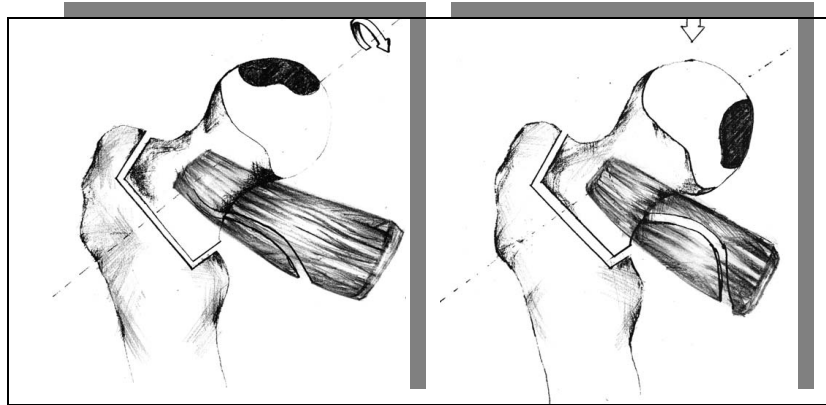


Fig 26 Osteotomia derotativa (schema)

3.2.3 CHIODO IN TANTALIO

Nel 2000 Poggie et al. hanno ideato e realizzato un dispositivo in tantalio che potesse comportarsi, dal punto di vista strutturale, come un trapianto osseo nel supportare la zona di necrosi della testa femorale¹⁹².

Il tantalio poroso è un nuovo materiale con una struttura metallica costituita da pori interconnessi (75%) e presenta un modulo di elasticità simile a quello dell'osso umano. Le proprietà meccaniche e biologiche del chiodo in tantalio rappresentano il razionale per il suo utilizzo nel trattamento degli stadi precoci della necrosi avascolare. Per la sua elevata porosità l'impianto consente la decongestione dell'osso spongioso e una osteointegrazione estremamente rapida²³⁶, mentre le sue proprietà strutturali offrono il supporto meccanico all'osso subcondrale. E' stata riportata una sopravvivenza delle anche trattate con questa tecnica fino al 70% a 6 anni di follow up²¹⁴. L'impiego del chiodo in tantalio presenta molti vantaggi clinici rispetto all'utilizzo dei trapianti ossei vascolarizzati. La tecnica chirurgica è semplice, l'anca non viene lussata, l'impianto è stabile grazie alla sua filettatura che lo fissa alla corticale laterale del femore e pertanto è possibile concedere un carico precoce sull'arto (Fig. 27).



Fig. 27 Chiodo in Tantalio all'interno della testa osteonecrotica

3.2.4 BONE GRAFTING

I risultati a distanza con gli innesti ossei non vascolarizzati evidenziano una percentuale del 90% di successo a un follow-up medio di 8 anni negli stadi I e II dell'osteonecrosi²⁰³; tuttavia il tasso di successo si riduce al 60% negli stadi III e IV²³. Utilizzando la “tecnica della finestra” (*trapdoor procedure*) a livello della giunzione testa collo per raggiungere e rimuovere il tessuto necrotico e impiegando proteina ossea morfogenetica (BMP) e sostituti ossei, Mont et al¹⁶⁷ hanno riportato che l'86% dei pazienti trattati, a un follow-up minimo di 36 mesi, aveva un soddisfacente risultato clinico-funzionale (valutato con Harris Hip Score) senza segni radiografici di progressione della patologia.

Per quanto riguarda gli innesti ossei vascolarizzati Scully et al.²¹⁰ hanno riportato in 614 anche (480 pazienti) trattate con decompressione e innesto osseo di perone vascolarizzato una sopravvivenza a 4 anni dall'intervento dell'89% negli stadi di necrosi pre-collasso e dell'81% nei casi con cedimento dell'osso subcondrale. I problemi dell'impiego del perone vascolarizzato sono rappresentati dalla complessità della procedura di prelievo e dall'incidenza delle complicanze postoperatorie

costituite da lesioni nervose e fratture del collo femore che può raggiungere anche il 19%^{48,234}.

PROCEDURA “TRAP DOOR”

In questo intervento si espone la testa femorale lussando l'articolazione, si apre uno sportello nell'area di cartilagine sovrastante alla regione necrotica, la si svuota e la si riempie con un innesto osseo autologo; al termine di richiude lo sportello e si ripristina la congruenza articolare. Questo intervento è indicato in soggetti giovani in stadio III e con angolo necrotico combinato di Kerboul inferiore a 200°, quindi con lesioni non troppo ampie. In pazienti selezionati, le probabilità di successo si avvicinano all'80%. Tutte le procedure chirurgiche non protesiche hanno tassi di insuccesso che aumentano mano a mano che lo stadio della malattia diviene più severo.

3.2.4 A) OSSO NON VASCOLARIZZATO

L'innesto di osso non vascolarizzato ha numerosi vantaggi teorici per il trattamento delle lesioni sia pre che post collasso, quando ancora la cartilagine articolare è relativamente intatta.

La procedura prevede decompressione e curettage dell'osso necrotico dalla testa femorale e inserimento di un supporto strutturale a sostegno dell'osso subcondrale^{141,203,225}.

Attualmente ci sono tre approcci distinti con cui introdurre il trapianto osseo:

- 1) L'inserimento di innesti ossei corticali dall'area petrocanterica attraverso un tramite lungo il collo del femore (tecnica di Phemister);
- 2) L'innesto eseguito attraverso la cosiddetta “trapdoor” attraverso la cartilagine articolare della testa femorale (la “botola” espone la lesione sottostante, l'osso necrotico viene rimosso, e la cavità riempita con osso spugnoso e / o innesto di osso corticale^{127,169} (Fig. 28).

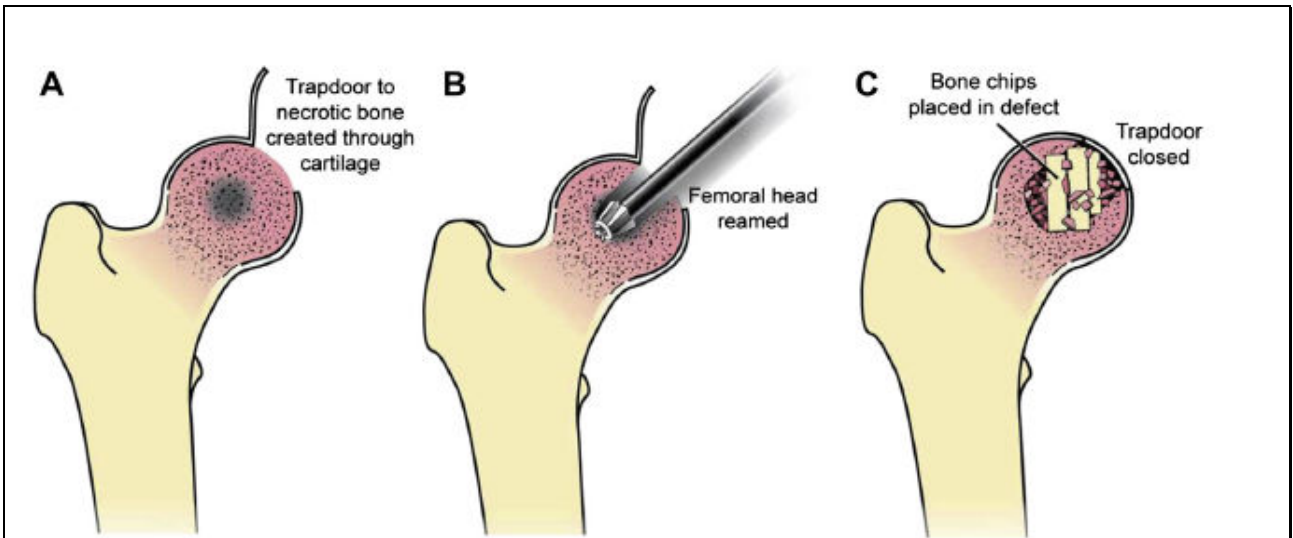


Fig. 28 In sequenza da A a C i passaggi della trapdoor procedure

3) L'innesto viene fatto attraverso una finestra realizzata nel collo femorale alla base la testa, l'area necrotica viene rimossa, e l' innesto osseo viene collocato nel difetto. In pazienti ben selezionati i tassi di successo hanno spaziato dal 24% al 100% da due a quindici anni dopo l'intervento (Fig. 29).

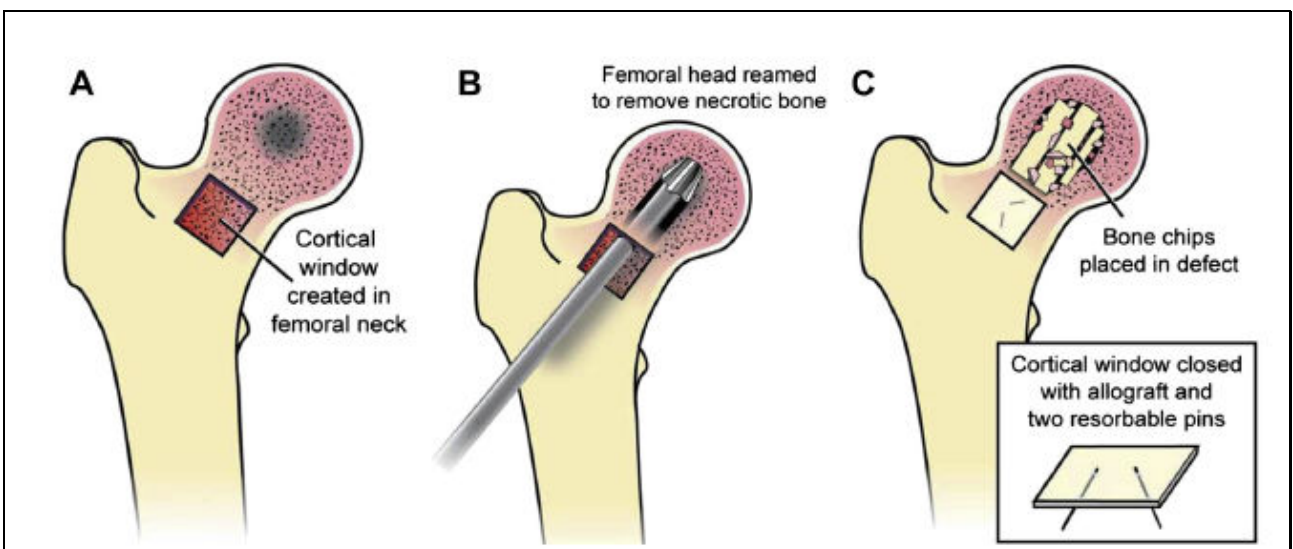


Fig. 29 In sequenza i passaggi della tecnica di Rosenwasser o light bulb

Rosenwasser et al.¹⁶⁹ hanno descritto una procedura di curettage della zona necrotica dalla base del collo femorale; essa consiste nell' apertura della finestra alla base del

collo, nel curettage con ausilio di “light bulb” e nel riempimento con innesti autoplastici prelevati dall’ala iliaca. Si ebbe un successo in 13 anche su 15 in stadio Ficat 2 e 3 a 12 anni di follow up medio.

Rijnen et al.²⁰¹ hanno invece descritto una tecnica analoga utilizzando un approccio laterale per rimuovere l'osso osteonecrotico dalla zona lesionata della testa femorale e borrhaggio con osso spongioso omoplastico e autologo per ripristinare la sfericità della testa del femore. In questo studio prospettico è stato riportato un fallimento del 29% delle anche trattate con un 90% di miglioramento clinico e 70% di progressione radiografica.

3.2.4 B) OSSO VASCOLARIZZATO

L’innesto con osso vascolarizzato risulta vantaggioso perché permette, in seguito alla decompressione della zona necrotica, di fornire un supporto strutturale e biologicamente attivo, migliorando lo status della vascolarizzazione e la ripopolazione dell’osso con osteoblasti e loro precursori (Fig. 30). Numerosi sono i lavori pubblicati sull'utilizzo del perone vascolarizzato^{35,66,87,114,153,173,180,191,250}.

Urbaniak et al.²³² hanno riportato i dati di 103 anche trattate con innesto di perone vascolarizzato seguiti per un minimo di cinque anni. I migliori risultati sono stati osservati dopo il trattamento di piccole e medie lesioni precollasso con l'81% di risultati soddisfacenti dopo la procedura. L'11%, 23% e 39% rispettivamente di lesioni pre collasso, post collasso senza depressione e stadio avanzato, è andato incontro a fallimento (protesizzazione).

Analogamente Berend et al.¹⁰⁹ hanno analizzato i risultati di lesioni post collasso trattate con perone vascolarizzato con un tasso di sopravvivenza del 64,5% ad una media di 4,3 anni (range 2-12 anni).

In sintesi, l’innesto di osso vascolarizzato può portare a risultati eccellenti nei pazienti con malattia in stadio pre collasso e può essere efficace anche per le lesioni più estese ma prima del collasso della testa femorale, soprattutto in pazienti con età inferiore a 55 anni. L’utilizzo degli innesti ossei vascolarizzati è tuttavia una

procedura tecnicamente difficile, che richiede una adeguata struttura ed equipe (microchirurgia), lunghi tempi operatori ed è quindi associata a più elevata morbilità (sito di prelievo, infezioni). Inoltre comporta un periodo prolungato di limitazione del carico¹¹⁴.

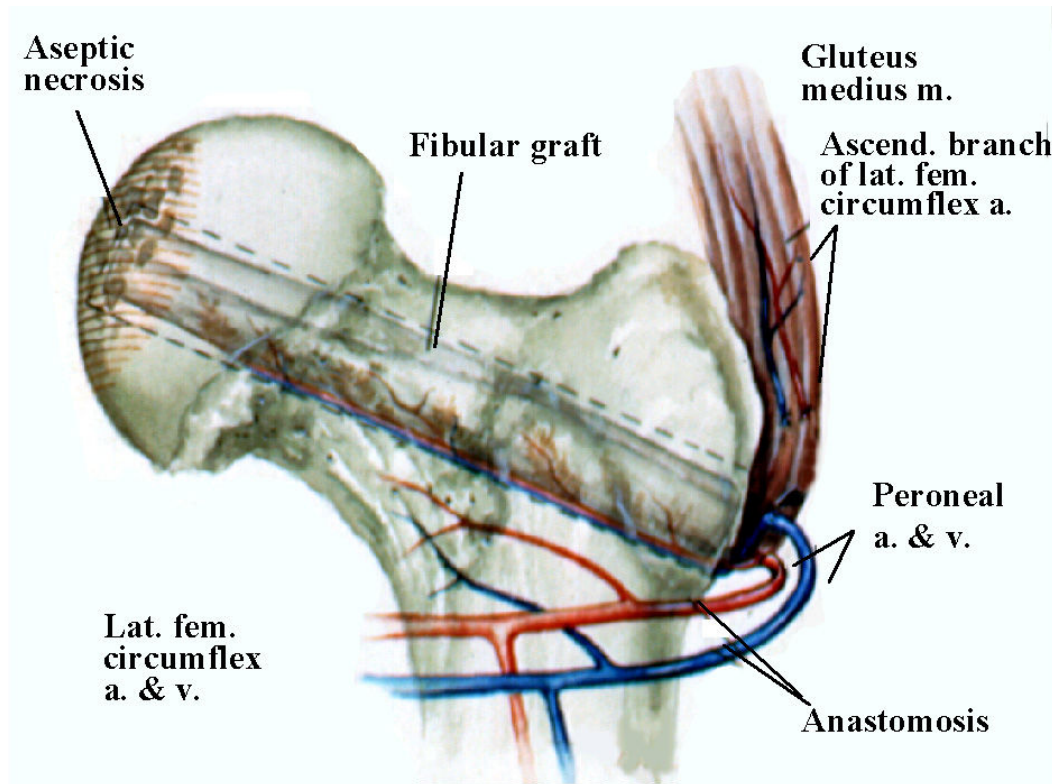


Fig. 30 Innesto di perone vascolarizzato

3.2.5 CEMENTAZIONE

E' un trattamento che prevede la rimozione dell'osso necrotico dalla testa del femore e la sua sostituzione con cemento osseo. Questa metodica è stata riportata nel 1993 da Hernigou et al⁹⁰, in una coorte di pazienti affetti da anemia falciforme, riportando risultati soddisfacenti a 5 anni di follow up medio (range 3-7 anni).

Wood et al.^{245,246} hanno analogamente riportato i risultati della cementazione in lesioni stadio III ARCO a due anni di follow up, con un tasso del 27% di fallimenti. Questa procedura ha indicazioni limitate, è preferibile per lesioni stadio II-III con un coinvolgimento inferiore al 30% della testa femorale e collasso inferiore a 4 mm.

3.2.6 SOSTITUZIONE PROTESICA

Dal punto di vista tecnico, la maggior parte delle procedure chirurgiche sopradescritte è più impegnativa rispetto alla protesizzazione dell'anca.

La protesi totale d'anca (THA) è spesso l'unico trattamento utile nel trattamento della necrosi della testa femorale, poiché permette di eliminare il dolore e ripristinare la funzione articolare (Fig. 31 A,B). E' stimato che negli USA circa il 10% delle protesi d'anca viene eseguito per osteonecrosi sintomatica. Il problema relativo alla protesizzazione d'anca in questa tipologia di pazienti è che era storicamente stato sempre gravato da risultati scarsi. Negli anni '80 e prima metà degli anni '90 numerosi studi riportavano fallimenti dal 37 al 53% a 5 anni^{28,43,220}. Studi recenti hanno invece dimostrato che attualmente la sopravvivenza degli impianti non si discosta da quella riportata nei pazienti protesizzati per osteoartrosi con sopravvivenza intorno al 97% a 5 anni e con peggiori risultati nei pazienti affetti da anemia falciforme ed esiti di trapianto d'organo. Questo "salto di qualità" è stato possibile grazie ai miglioramenti nei design protesici e nella tribologia (studio dei materiali)^{125,164}. Inoltre è stato anche dimostrato come i trattamenti chirurgici di preservazione della testa femorale negli stadi "pre-collasso" non impediscano nè inficino i risultati di una successiva protesizzazione^{7,44,74,116,160}.

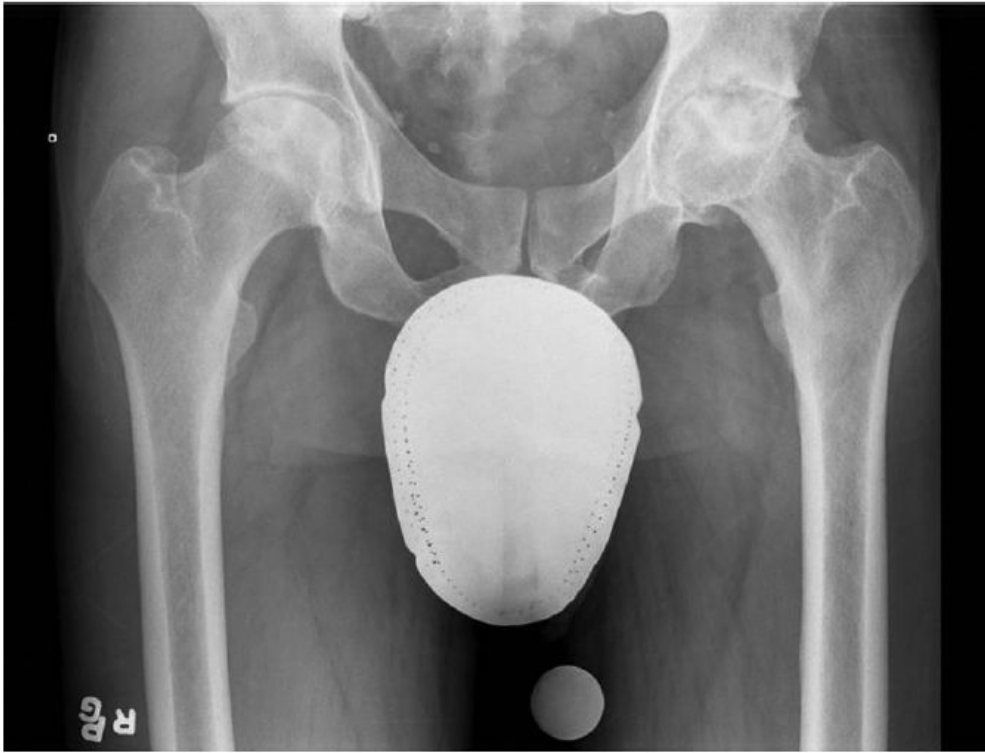


Fig. 30 Artroprotesi non cementata dell'anca

CAPITOLO 4

MEDICINA RIGENERATIVA E NUOVE FRONTIERE DI BIOINGEGNERIA TISSUTALE

4.1 PRINCIPI GENERALI

L'ingegneria tissutale è la scienza che studia la possibilità di ottenere la guarigione di un tessuto attraverso un prodotto costituito da cellule, materiali di supporto (scaffold) e proteine con funzione di fattori di crescita o differenziativi. Questo prodotto può essere costruito in laboratorio, all'interno di un bioreattore e, in qualità di tessuto definitivamente formato, essere inserito nel corpo umano in sostituzione della parte di tessuto danneggiata o persa.

Per medicina rigenerativa si intende l'applicazione, nel contesto di un tessuto danneggiato all'interno del corpo, degli stessi elementi che formano il tessuto in laboratorio (MSC, scaffold e fattori di crescita) ma, in questo caso, il bioreattore risulta lo stesso corpo umano.

Molti autori^{26,107,199} hanno dichiarato che l'approccio terapeutico mediante ingegneria tissutale è basato sulla stimolazione del processo di differenziazione di cellule embrionali o fetali. In realtà il microambiente all'interno di un tessuto maturo, così come le popolazioni di cellule disponibili in un tessuto adulto, precludono un processo di questo tipo. D'altro canto i tessuti embrionali, fetali e adulti condividono le stesse molecole segnale e le cellule bersaglio, nonostante la loro reattività cambi nel corso del processo ontogenetico. È quindi necessario istituire alcune modificazioni per ottenere un successo mediante ingegneria tissutale in un organismo adulto. Questo fenomeno si avvale della presenza delle cellule staminali mesenchimali (MSCs) che vengono inserite nella sede interessata ed indotte al differenziamento in senso osteoblastico.

E' ormai noto che le MSCs prelevate dal midollo osseo ed anche da altri tessuti quali il tessuto adiposo sono elementi pluripotenti¹⁰⁹, ovvero in grado di differenziarsi in numerose linee cellulari, non solo quelle appartenenti al tessuto di origine (Fig. 32).

Sebbene gran parte della letteratura sia in accordo su questa linea di pensiero, occorre esplicitare che la multipotenza verificata in vitro non trova sempre un corrispettivo in vivo; infatti la produzione di depositi di Alizarin red per verificare l'osteogenesi, di

Oil Red per la adipogenesi e di Alcian blu per la cartilagine, non predice la multipotenza in vivo se verificata in linee parallele di cellule prelevate dalle medesime colonie. In altre parole, non tutte le cellule staminali o presunte tali sono in grado di differenziarsi in osteoblasti, adipoblasti e condroblasti¹⁶. Queste cellule sono definite da un fenotipo prevalente che include alcuni markers come CD73, CD44, CD105 mentre prevede l'assenza di CD45 e CD34 markers tipici delle cellule staminali della linea ematopoietica. Simmons ha poi ampliato la famiglia dei marker di isolamento, aggiungendo l'espressione di Stro-1 e VCAM^{198,207}.

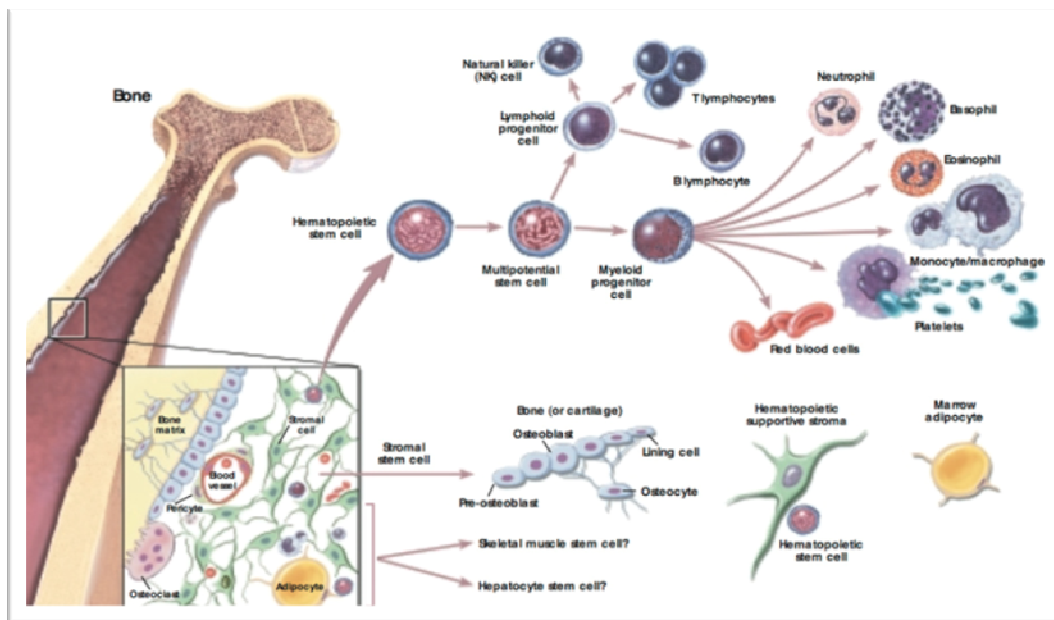


Fig. 32 Pluripotenza delle cellule staminali mesenchimali (MSCs)

L'identificazione dei marker specifici delle MSCs e l'isolamento di queste cellule è tuttora oggetto di discussione; attualmente per identificare le MSCs prelevate da midollo osseo si esegue una centrifugazione preliminare che porta alla separazione delle cellule nucleate da quelle non nucleate.

Successivamente si distinguono le cellule clonogeniche grazie alla loro capacità di formare colonie di cellule con caratteristiche di fibroblasto (CFU-F) aderendo alla piastra di coltura, mentre le cellule in sospensione vengono perse con il surnatante.

Questo passaggio può essere evitato attraverso una selezione con tecniche di immunofluorescenza attraverso la valutazione dei markers di membrana (MCAM o STRO-1)^{204,217,218}.

Infine, la multipotenza non è ancora stata provata in vivo o, comunque, non è stata dimostrata per tutte le CFU-Fs presenti in una coltura; ciò potrebbe essere legato al fatto che non siamo ancora in grado di distinguere colonie formate da cellule progenitrici da quelle costituite da cellule già parzialmente differenziate.

La conseguenza di questa considerazione è che le colture possono contenere cellule con differenziazione a vari livelli e quindi con attività differenti in termini di multi potenzialità.

4.2 ATTIVITÀ LOCALE DELLE CELLULE STAMINALI MESENCHIMALI

Come abbiamo visto le cellule staminali mesenchimali (MSCs) sono cellule rigeneranti, multipotenti e clonogeniche¹⁰². Le cellule clonogeniche sono singole cellule che in grado di generare una linea di cellule geneticamente identiche che hanno poi la capacità di originare colonie dei differenti tipi cellulari del tessuto in cui risiedono. Dopo la fase replicativa, la differenziazione cellulare procede di pari passo alla migrazione che porta alla costituzione del tessuto da rigenerare.

Il fenomeno di migrazione può avvenire partendo da cellule residenti o comunque presenti nell'intorno del tessuto in formazione, oppure arrivare dal torrente ematico attraverso il fenomeno dell'*homing*.

Non sono ancora stati completamente chiariti tutti i fenomeni che contribuiscono a questa proprietà; sicuramente esistono dei fattori che determinano una sovraespressione dei recettori per la E e la P selectina (famiglia delle glicoproteine comprendenti PSGL-1, CD34, CD44 e GlyCAM-1) sia nel midollo osseo che nel sito di richiamo. Inizialmente le chemochine si legano ai recettori sulla superficie dell'endotelio, poi il legame viene stabilizzato dalle integrine come VLA-4. Successivamente la cellula bersaglio (localmente le cellule dell'endotelio) viene

stimolata alla diapedesi attraverso il contributo di molecole di adesione (JAM: Junctional Adhesion Molecules), caderine e PECAM-CD31 (Platelet-Endothelial Cell Adhesion Molecules).

La direzione del movimento è garantita da un gradiente di chemochine; è stato dimostrato che questo fenomeno è tipicamente presente in un'area di flogosi. Infatti le chemochine sono rilasciate dopo il danneggiamento di un tessuto e le MSCs presenti o in arrivo esprimono recettori per i diversi tipi di chemochine.

Come già anticipato, fra le linee di differenziamento verso cui una MSC può indirizzarsi vi sono anche quelle comprendenti osteoblasti e condroblasti; questo è stato ampiamente dimostrato già da Fredestein¹⁸⁶ alla fine degli anni '80 e da Bruder²² negli anni '90 con esperimenti in vitro che evidenziavano l'espressione del fenotipo osteogenico indotto in cellule prelevate dal midollo osseo.

Se tale fenomeno avviene fisiologicamente nel caso di flogosi e fratture, occorre tuttavia che esso si verifichi anche nel sito di impianto di un innesto osseo omologo in modo ancora più intenso ed efficace.

Una caratteristica molto interessante è la multipotenzialità delle cellule staminali, cioè la capacità di differenziarsi virtualmente in qualunque altro tipo di tessuto: le cellule staminali derivate da osso, midollo osseo, muscolo e grasso hanno dimostrato di potersi differenziare in multipli fenotipi, incluso quello osseo, cartilagineo, tendineo, ligamentoso, grasso, muscolare e nervoso^{185,186}.

Le fonti di cellule staminali per il tessuto muscolo-scheletrico sono molte ed includono il midollo osseo, il periostio, la cartilagine, il muscolo, il grasso ed i periciti vascolari. La possibilità di prelievo da questi tessuti è influenzata dalle complicazioni che inevitabilmente la manovra comporta. In particolare, l'aspirazione di midollo osseo è associata alla minore morbidity e permette di ottenere una sospensione cellulare che può essere rapidamente processata anche intraoperatoriamente per un immediato reimpianto. Anche il tessuto adiposo è stato proposto come fonte a bassa morbidity ma richiede una processazione più laboriosa ed è stato dimostrato presentare un potenziale di osteogenesi e condrogenesi inferiore

rispetto alle cellule ottenute da midollo^{103,177}. Le differenze tra i progenitori del tessuto connettivo prelevati da differenti sedi ed individui si conoscono solo parzialmente. Queste differenze dipendono dalle caratteristiche funzionali e morfologiche dei tessuti e dalla funzione delle cellule staminali nel tessuto stesso. Queste variabili sono a loro volta influenzate da età, sesso, disordini locali o sistemici¹⁷⁷. Ad esempio la cellularità del midollo osseo ha dimostrato di decrescere con l'età, soprattutto nel sesso femminile¹⁵². Ad ogni modo, età e sesso influiscono solamente in percentuale ridotta rispetto alla variazione nella concentrazione e nella prevalenza di cellule progenitrici connettivali tra i diversi pazienti, con la conclusione che queste cellule possono essere efficacemente prelevate mediante aspirato midollare in pazienti di tutte le età.

L'aspirato midollare è la fonte di cellule progenitrici meglio caratterizzata. Esso contiene una media di 40 milioni di cellule nucleate e circa 2000 progenitori connettivali per millilitro¹⁵² (Fig 33). Recentemente si sono aperti nuovi orizzonti con l'utilizzo di cellule staminali di derivazione adiposa. I risultati preliminari di laboratorio sono promettenti, ma ad oggi manca una validazione di tipo clinico.

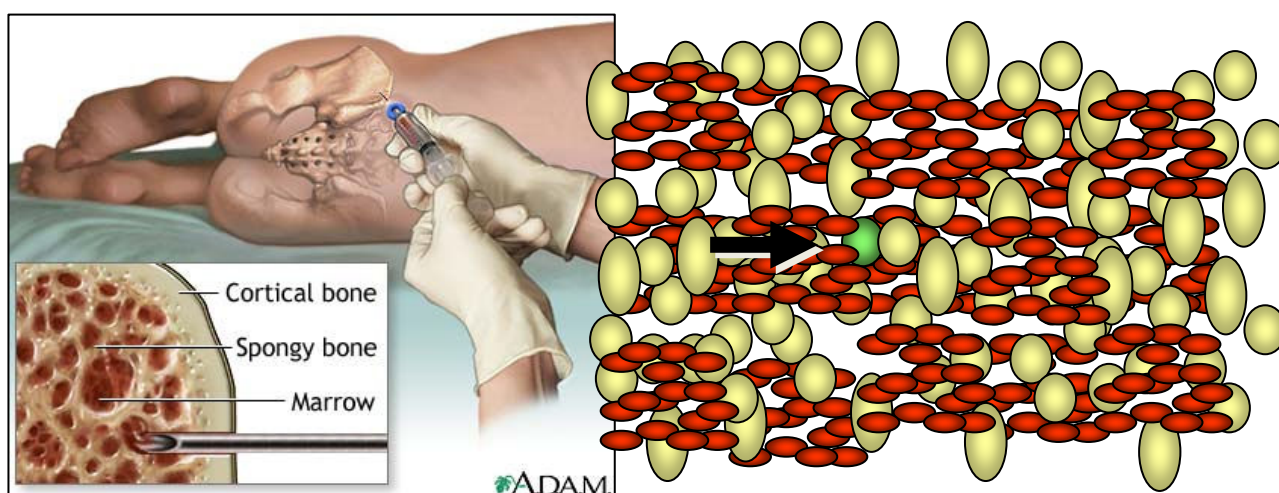


Fig. 33 MSCs e aspirato midollare

Oltre alla presenza delle cellule vi sono altri due elementi chiave per ottenere questo risultato: i fattori di crescita e lo *scaffold* (impalcatura) che hanno la funzione di mediatori della osteoinduzione e della osteoconduzione.

4.3 SCAFFOLDS

Numerosi sono gli studi sia sull'animale che sull'uomo a riguardo degli strumenti a supporto dei processi di integrazione ossea.

Le caratteristiche per l'individuazione di uno *scaffold* ideale sono: una rete di pori interconnessi per la crescita vascolare e cellulare, la biodegradabilità o la bioresorbibilità con una degradazione controllata o proporzionale alla crescita delle cellule, una superficie libera disponibile alla crescita ed alla differenziazione cellulare ed infine proprietà meccaniche per interfacciare i tessuti nel sito di impianto¹⁴⁶.

Esistono diversi tipi di materiali già esaminati o oggetto di studio come l'idrossiapatite corallina, strutture di seta, gli innesti ossei omoplastici, osso demineralizzato, osso deproteinizzato, ceramiche, spaziatori in cemento, BCB (Biphasic Calcined Bone) e materiali biorisorbibili.

L'architettura di uno scaffold si riferisce al modo in cui il materiale è distribuito nello spazio considerando dimensioni negli ordini di grandezza di molecole, cellule e tessuti. L'architettura ne definisce quindi la struttura meccanica, oltre che lo spazio vuoto inizialmente a disposizione dei progenitori connettivali per la formazione di nuovo tessuto. La maggior parte degli scaffolds è disegnata per avere una struttura interna porosa, con pori o canali delle dimensioni dai 50 ai 1000 μm ; tuttavia i più utilizzati hanno canali delle dimensioni dai 150 ai 500 μm , sufficienti per supportare la crescita vascolare, fondamentale per la rigenerazione del tessuto osseo.

Negli ultimi tempi gli scaffolds più utilizzati sono quelli riassorbibili e le loro performances sembrano influenzate da tre caratteristiche chiave: il ritmo al quale la matrice perde le sue proprietà meccaniche, il ritmo al quale è rimossa dalla sede di impianto, e la natura e concentrazione dei suoi prodotti di degradazione. In generale

si utilizzano scaffolds con tempo di riassorbimento dell'ordine di mesi, in modo da minimizzare i rischi da precoce cedimento strutturale anche a costo di un riassorbimento più lento.

L'interazione tra le cellule e lo scaffold avviene alla superficie ed è il risultato dell'ambiente creatosi. Le caratteristiche chimiche di superficie dipendono dal materiale ma non sono definite univocamente da esso: quasi tutti i materiali impiantati vengono ricoperti in tempi brevi da un rivestimento di proteine e lipidi (principali mediatori delle risposte cellulari alla maggior parte dei materiali). Le molecole adsorbite possono modificarsi o complessarsi con altre biomolecole oltre a sequestrare e cedere lentamente diverse sostanze, come ad esempio i fattori di crescita, creando una rete di interazioni difficilmente ipotizzabile a priori.

L'attecchimento, la sopravvivenza, la proliferazione e la differenziazione di cellule progenitrici può essere modulata in vitro se il materiale è stato pre-adsorbito con proteine bioattive selezionate. I differenti tipi di legame con cui queste molecole sono poste sulla superficie del biomateriale (interazioni non specifiche, legami covalenti) si correlano con la velocità di rilascio di queste sostanze e con la facilità con la quale sono modificabili dall'organismo.

Un materiale utilizzato per veicolare cellule vitali deve essere in grado di mantenere un pH ed un'osmolarità fisiologiche. Per la maggior parte degli scaffolds la semplice irrigazione con soluzione fisiologica prima del contatto con le cellule impedisce il danno cellulare. Al contrario, alcuni materiali non consentono la creazione di un ambiente isotonico per la veicolazione delle cellule. Fanno parte di questa categoria molti materiali composti da matrice ossea preparati mediante l'utilizzo di soluzioni contenenti elevate concentrazioni di sostanze a basso peso molecolare (glicerolo) e materiali che si dissolvono rapidamente in ambiente acquoso, creando un ambiente iperosmolare. Se questi materiali vengono uniti a cellule è lecito aspettarsi un insulto osmotico con riduzione o annullamento della vitalità. Matrici contenenti sostanze ad alto peso molecolare (cellulosa, ialuronato) non sembrano essere molto dannosi per la vitalità cellulare in virtù della pressione osmotica molto minore che generano.

Tutte le matrici biodegradabili liberano prodotti di degradazione che devono essere a loro volta degradati o eliminati. L'effetto che questi prodotti hanno sulle cellule del trapianto dipendono dalla loro concentrazione, dall'effetto che hanno sul pH locale e dalla loro relativa tossicità biologica.

4.3.1 IDROSSIAPATITE CORALLINA

E' costituita da carbonato di calcio (98-99%), aragonite, altri elementi in tracce e aminoacidi e la struttura del corallo è dotata di una porosità media di 250 micron (range 150-400 μm); è stata ottenuta dal *Porites* sp., una particolare specie di corallo. Vari modelli sperimentali, in particolare di pecora e di capra^{13,139}, nei quali ampi difetti ossei venivano ripristinati con idrossiapatite corallina, hanno dimostrato come l'elevato grado di analogia tra l'idrossiapatite corallina e la struttura del tessuto osseo spongioso sia degli animali che dell'uomo ne fa un materiale ad alta osteoconduttività; alcuni studi hanno poi anche evidenziato che il trattamento dello scaffold corallino con MSCs aumenta grandemente il potenziale osteogenico a livello della sede d'impianto¹⁷⁹.

4.3.2 SETA

La seta (estratta da *Bombix mori*) è stato uno dei materiali vegetali naturali più utilizzati per la sua unicità in alcune proprietà meccaniche; le sue caratteristiche ben si adeguano anche alla ingegneria tissutale grazie alla sua resistenza ed alla sua conformazione chimico-fisica che consta di fibre disposte a maglie larghe. Questa struttura determina una buona osteoconduttività tanto che si è rivelato un ottimo carrier di materiali ad azione osteoinduttiva; l'utilizzo di uno scaffold di seta addizionata ad un composto di glicina-arginina-alanina-aspartato-serina (GRGDS) sul quale vengono poste delle MSCs preventivamente isolate e messe in coltura determina, infatti, un aumento della quantità di calcio sullo scaffold a dispetto di una sua diminuzione in uno scaffold di controllo costituito da solo collagene¹⁶².

4.3.3 INNESTI OSSEI OMOPLASTICI

Gli innesti ossei omoplastici sono *scaffolds* “sui generis” poiché possiedono anche una lieve capacità osteoinduttiva, ma quest’ultima è così debole da non permettere sempre una efficace osteointegrazione tra l’osso ospite e l’innesto.

Questa caratteristica deriva dal trattamento cui è stato sottoposto l’innesto; infatti viene congelato semplicemente (*frozen bone*) o congelato a secco (*freeze-dried bone*), perdendo così le proprietà osteoinduttive ma permettendo di evitare alcuni problemi quali la trasmissione di malattie o una elevata immunogenicità⁶⁴.

Per questo motivo vengono comunemente utilizzati come materiali di supporto e spesso arricchiti con sostanze ad azione osteoinduttiva pura.

Sono utilizzabili sia innesti di corticale ossea che di spongiosa; quest’ultima ha una capacità integrativa maggiore legata alla sua struttura trabecolare che favorisce l’invasione di vasi e cellule, come dimostrato in alcuni studi¹⁴⁶.

Esistono però anche alcune metodiche per aumentare il potere osteoconduttivo dell’osso corticale, come la perforazione degli innesti e la *morcellizzazione*. Delloye⁴⁸ e altri autori quali Mankin⁴⁹, McKellop²¹⁵ e Moskalewski²²⁸ in modelli animali rispettivamente di pecora, coniglio e cane hanno riscontrato tale effetto, ipotizzando come spiegazione l’aumento della superficie e del numero di canali attraverso cui l’ospite e l’innesto possono interfacciarsi, favorendo l’invasione del tessuto impiantato da parte di vasi e cellule progenitrici o MSCs.

4.3.4 OSSO DEMINERALIZZATO (DBM)

L’osso demineralizzato è il risultato del trattamento di un innesto osseo omoplastico con sostanze acide; questo procedimento determina la perdita della maggior parte della componente mineralizzata e la liberazione di sostanze come collagene e proteine non collageniche, nonché proteine osteoinduttive che stimolano la formazione dell’osso per via endocrinale quali le Bone Morphogenetic Proteins (BMPs)^{119,145}. Questo può poi essere combinato con frammenti di osso non

demineralizzato, calcio fosfato, fosfato tricalcico o solfato di calcio che svolgono la funzione di osteoconduzione e che potenziano l'efficacia della rigenerazione ossea con una certa variabilità a seconda della sostanza utilizzata^{120,257}.



Fig. 34 Osso morcellizzato/demineralizzato (DBM)

4.3.5 OSSO DEPROTEINIZZATO

Rappresenta l'esatto contrario dell'osso demineralizzato; viene ottenuto dall'osso bovino dopo una particolare preparazione che determina la separazione della componente minerale da quella proteica, mantenendone però circa il 70% della struttura cristallina.

L'osso deproteinizzato non ha capacità osteoinduttiva, quindi viene utilizzato addizionandovi dei materiali osteoinduttivi come il midollo osseo; inoltre, poiché non ha proprietà meccaniche adeguate a sopportare lo stress, viene utilizzato in sedi non sottoposte al carico o ad un carico minimo.

4.3.6 CERAMICA

Sono identificabili tre tipi di ceramiche a seconda delle proprietà chimiche: bioassorbibile, bioattiva e bioinerte²²⁷. Le prime due hanno la capacità di creare dei legami con l'ospite, mentre l'ultima non ne è in grado. Normalmente in questa classe di impianti il riassorbimento precede la formazione dell'osso e sulla velocità di questo processo influisce moltissimo da un lato la composizione chimica (ad esempio il fosfato tricalcico (TCP) si riassorbe 10-20 volte più velocemente dell'idrossiapatite) e dall'altro la struttura cristallina e la porosità del materiale. È stato ampiamente dimostrato, però, che essa ha soltanto proprietà osteoconduttive, per cui può essere applicata solo come carrier o scaffold di composti ad azione osteoinduttiva⁴².

4.3.7 COLLAGENE

La matrice extracellulare è molto ricca in collagene; esso contribuisce alla deposizione minerale, alla rivascolarizzazione e al popolamento del tessuto da parte di cellule staminali o precursori quali osteoblasti o condroblasti. Non è un materiale molto efficace come innesto per le sue scarse proprietà meccaniche e strutturali, ma, se arricchito di fattori di crescita, coopera grandemente alla integrazione ossea⁶².

4.3.8 MATERIALI BIORIASSORBIBILI

Questi materiali come il PGA (acido poliglicolenico) ed il PLLA (acido poli-L-lattico), sono stati introdotti in sostituzione del cemento acrilico (PMMA-polimetimetacrilato). La loro caratteristica principale, legata alla lavorazione chimico-fisica, è quella di avere una buona funzione meccanica combinata ad una parziale riassorbibilità; questo permette la crescita di nuovo osso ed una riduzione della reazione da cellule giganti che spesso si osserva nell'osso ospite. Non si sono

però dimostrati degli scaffold ideali poiché non possiedono la porosità necessaria all'invasione cellulare e vascolare.

4.4 FATTORI DI CRESCITA

Fra i fattori di crescita oggi più utilizzati in clinica vi sono fattori naturali e di sintesi. Di seguito riportiamo i due principali prodotti che vengono impiegati nell'ambito della medicina rigenerativa e che possono essere applicati nel sito di impianto o addirittura lavorati assieme allo scaffold già in laboratorio.

4.4.1 PLATELET RICH PLASMA (PRP – PLASMA RICCO DI PIASTRINE)

Fra i fattori naturali più ricchi di proteine capaci di stimolare l'ambiente cellulare circostante vi è il PRP; esso è un prodotto derivato dalla centrifugazione del sangue periferico attraverso cui si ottiene un concentrato di piastrine le quali vengono poi mescolate con la trombina; questa innesca il processo di degranolazione piastrinica che porta alla liberazione delle proteine presenti nei granuli α , principalmente il VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) e FGF-2 (Fibroblast Growth Factor 2). Le MSCs vengono richiamate e stimolate da questi fattori diffusibili, in particolare stimolandone le capacità replicative.

Il PDGF stimola la chemiotassi e la mitosi di fibroblasti, glia e cellule muscolari lisce, oltre a regolare la secrezione di collagenasi e la sintesi di collagene. Il TGF- β modula la mitosi di cellule endoteliali, fibroblasti e osteoblasti, regola la secrezione di collagenasi e la sintesi di collagene, e modula gli effetti di altri fattori di crescita. Il PDEGF stimola la chemiotassi delle cellule endoteliali e l'angiogenesi, regola la secrezione di collagene e stimola la mitosi di cellule epiteliali e mesenchimali. L'IGF-1 stimola la crescita della cartilagine, la sintesi di matrice ossea e la replicazione degli osteoblasti agendo come un fattore autocrino e paracrino; in combinazione con il PDGF può esaltare le capacità di riparazione tissutale.

Combinando le azioni delle suddette molecole, risulta chiaro come il PRF giochi un ruolo importante nell'accelerare i processi di riparazione tissutale, considerando soprattutto che è un componente autologo: oltre a evitare il rischio di trasmissione di malattie infettive, non sussiste neanche la possibilità di reazioni immunologiche che quantomeno rallenterebbero la guarigione.

Numerosi studi, effettuati su modelli animali, hanno evidenziato un miglioramento della osteointegrazione nel sito di impianto grazie ad una precoce comparsa del callo e ad un rimodellamento osseo più accelerato^{219,147}. E' utile ricordare che all'interno del PRP non sono presenti proteine in grado di differenziare le cellule progenitrici osteoblastiche; l'effetto positivo sulla crescita ossea sembra essere legato prevalentemente alle capacità differenziali in senso angiogenetico ed allo stimolo alla proliferazione di elementi già differenziati presenti localmente.

4.4.2 BONE MORPHOGENETIC PROTEINS – BMPS

Fra i fattori di crescita di origine sintetica, ottenuti con tecniche di ingegneria genetica, le Bone Morphogenetic Proteins (BMPs) hanno suscitato un grande interesse per la loro efficacia come induttori della formazione di nuovo osso⁽⁵²⁾.

Urist & Reddi e poi Huggins^{198,233} dimostrarono che gli eventi cellulari che accadono nello sviluppo del tessuto osseo nell'embrione del ratto sono i medesimi che si verificano dopo l'impianto intramuscolare o sottocutaneo di matrice demineralizzata. Negli anni '80 lo stesso Reddi²⁰⁷ concluse che alla base di questo fenomeno c'erano alcune proteine osteogeniche che venivano liberate dal processo di demineralizzazione; inoltre scoprì che queste proteine sono conservate nelle specie mammifere e questo gli permise di identificarle ed isolarle anche nell'uomo.

Le BMPs sono glicoproteine a basso peso molecolare appartenenti alla famiglia del TGF- β , ad eccezione della BMP-1, che è una proteinasi C del procollagene.

Di questa famiglia fanno parte anche altre molecole, per un totale di 43 elementi²⁴⁷, deputate a diverse funzioni ma in particolare alla crescita ed al differenziamento

cellulare²⁵⁶. Sono state identificate almeno 16 differenti BMPs umane e classificate in sottofamiglie in base alle somiglianze strutturali delle molecole^{27,41,42,202,229,248} (Fig. 35).

BMP	Altro nome	Sottofamiglia	Autore
BMP2	BMP2A	BMP 2/4	Wozney 1988
BMP3	Osteogenina	BMP3	Reddi 1987
BMP3B	GDF10	BMP3	Kangava 1995
BMP4	BMP2B	BMP 2/4	Wozney 1988
BMP5	BMP5	OP1/BMP7	Celeste 1990
BMP6	Vgr1	OP1/BMP7	Lyons 1989
BMP7	OP1	OP1/BMP7	Celeste 1990
BMP8	OP2	OP1/BMP7	Ozkayanak 1992
BMP8B	OP3	OP1/BMP7	Zhao 1996
BMP9	GDF2	Miscellanea	Celeste 1994
BMP10	BMP10	Miscellanea	Celeste 1995
BMP11	GDF11	Miscellanea	Celeste 1994
BMP12	CDMP3/GDF7	CDMP/GDF	Storm 1994
BMP13	CDMP2/GDF6	CDMP/GDF	Celeste 1995
BMP14	CDMP1/GDF5	CDMP/GDF	Fang 1996
BMP15	BMP15	Altre	Celeste 1996
BMP16	BMP16	Altre	Murray 1997

Fig. 35. Tavola sinottica delle BMPs

Sono sintetizzati inizialmente precursori di dimensioni anche tre volte maggiori rispetto alla proteina definitiva e vengono poi processati proteoliticamente all'estremità carbossiterminale. Alcune di queste proteine hanno regioni di 100 aminoacidi molto simili in particolare un dominio di 7 cisteine²⁰⁶.

E' stato dimostrato che le proteine osteogeniche altamente purificate di derivazione bovina (peso molecolare 32-36 Kd) sono composte da dimeri legati da ponti disolfuro con subunità monomeriche di circa 18 e 16 kd.

I dati ottenuti dalla processazione del peptide (subunità 18 Kd e 16 Kd) indicano che la subunità di 18 Kd bovina è equivalente alla OP-1 (BMP-7) umana, mentre la subunità da 16 Kd bovina è equivalente alla BMP-2 umana. Come il TGF β , le BMPs hanno come recettori delle kinasi serina-treonina e le SMAD come secondo effettore⁸⁹.

Un solo sottogruppo di BMPs, comprendente BMP-2, BMP-3 (Osteogenina) e BMP-7 (Osteogenic Protein 1 o OP-1) ha mostrato la capacità di indurre la formazione di nuovo tessuto osseo per via encondrale.

Le diverse BMPs hanno un ruolo specifico nei vari stadi del processo differenziativo dei progenitori e delle MSCs. Infatti BMP-2, BMP-6 e BMP-9 sono molto importanti nella fase precoce del differenziamento delle cellule pluripotenti in preosteoblasti, mentre BMP-4 e BMP-7 agiscono come promotori dei preosteoblasti in osteoblasti³³.

Bostrom^{19,20} ha documentato la presenza delle BMPs in un modello di ratto durante la guarigione da fratture attraverso delle analisi di immunoistochimica basate su anticorpi anti-BMP; Ishidou¹⁰⁶ con i suoi studi sull'espressione dei recettori per le BMP nello sviluppo dell'embrione di topo e nelle fratture di ratto ha evidenziato una up-regulation dei recettori per queste molecole.

Attualmente sono state sviluppate due BMPs ricombinanti, rhBMP-2 (InFused della Medtronic – Memphis) e rhBMP-7 (OP-1 della Stryker Biotech – Massachusetts).

Yasko et al. hanno valutato la capacità di BMP-2 nella formazione encondrale di nuovo tessuto osseo in un difetto di 5 mm nel femore di ratto²⁴⁹, come anche altri ricercatori del campo in altri modelli sperimentali^{19,20,73,126}: tutti questi teams sono arrivati alla conclusione che l'impianto del BMP-2 conduce ad una buona consolidazione dei segmenti ossei a cavallo del difetto in tempi più rapidi rispetto alla norma.

Einhorn ha invece studiato l'effetto dell'iniezione percutanea di BMP-2 in fratture chiuse di diafisi femorali nel ratto e valutato a distanza di 7, 14, 21 e 28 giorni con il sacrificio dell'animale; è stato dimostrato un incremento significativo in rigidità e resistenza nei gruppi di studio rispetto ai controlli⁵⁶.

Per quanto riguarda OP-1 (BMP-7), essa è stata ed è tuttora molto studiata in modelli animali con difetti delle ossa lunghe; Cook ha effettuato una sperimentazione nel coniglio utilizzando un carrier di collagene ed osso allogenico per la riparazione di ampi difetti ossei (1,5 cm) nella diafisi ulnare. I dati clinici, radiografici, istomorfometrici e meccanici hanno mostrato un'ottima integrazione nell'arco di 8 settimane ed una qualità del nuovo tessuto osseo paragonabile all'osso intatto⁴¹. Lo stesso gruppo di lavoro ha poi dimostrato effetti analoghi anche in modelli canini e di scimmia³⁹.

Altri due gruppi di ricercatori hanno sperimentato l'efficacia in modelli animali con difetti ossei non critici; Cook e Poplich^{40,193} hanno creato difetti ossei bilaterali (3 mm) a livello del terzo medio dell'ulna di 35 cani adulti. Sono stati impiantati BMP-7 e una soluzione inerte nel gruppo di studio A e BMP-7 con un carrier di collagene carbossi metil cellulosa e collagene carbossi metil cellulosa nel gruppo di studio B e paragonati anche ad un gruppo di controllo. Dal quadro radiografico emerge la formazione di nuovo osso più precocemente (2 settimane) nei casi in cui era stata applicata BMP-7 rispetto a quelli con il solo collagene o la soluzione inerte; inoltre a 4 settimane nelle sedi di applicazione di BMP-7 si nota la formazione di ponti ossei che invece non compaiono prima della dodicesima settimana nelle altre sedi.

Sicuramente l'effetto osteoinduttivo tipico di OP-1 si verifica solo quando questo è supportato da un carrier che, nella maggior parte degli studi effettuati, è rappresentato da piccole quantità di collagene; esso deve non solo garantire la permanenza della molecola nel sito di applicazione evitandone la migrazione al di fuori del sito di impianto, cosa che potrebbe causare ossificazioni eterotopiche, ma anche permettere la crescita del nuovo tessuto osseo grazie alle sue caratteristiche di biocompatibilità, biorassorbibilità e resistenza meccanica.

CAPITOLO 5

TRATTAMENTO DELL'OSTEONECROSI DELLA TESTA DEL FEMORE CON TECNICHE DI MEDICINA RIGENERATIVA

5.1 INTRODUZIONE

Dati i risultati ottenuti con i diversi trattamenti descritti in precedenza, non chirurgici e chirurgici, che, ad eccezione dei rari casi in stadio precoce della patologia, portano inesorabilmente alla sostituzione protesica dell'articolazione, è nata la necessità di un nuovo trattamento. Nacque così l'idea di utilizzare le proprietà osteogeniche delle cellule staminali e l'ipotesi sempre più fondata sull'utilizzo della medicina rigenerativa.

Hernigou aprì la strada all'applicazione del concentrato di midollo osseo per il trattamento dell'osteonecrosi avascolare della testa del femore⁹³. La sua tecnica prevede perforazioni multiple nella zona necrotica seguite da iniezione di midollo osseo. Questo approccio è basato sull'ipotesi che la sospensione cellulare introdotta nell'area osteonecrotica possa ripopolare la struttura ossea ed indurre la rigenerazione dell'osso necrotico, come descritto precedentemente. In questo studio sono state trattate 189 anche con core decompression a mezzo di perforazioni multiple e applicazione di midollo osseo ottenuto dalla cresta iliaca con un follow-up da 5 a 10 anni. I risultati hanno mostrato che la procedura è efficace nel trattamento di pazienti con stadi precoci di osteonecrosi e che un maggior numero di cellule progenitrici è correlato con un miglior esito della malattia.

Dal momento che i risultati sembravano promettenti, altri hanno intrapreso il trattamento dell'osteonecrosi con tecniche analoghe. Uno degli studi più importanti e recenti è rappresentato da uno studio prospettico randomizzato condotto da Gangji et al.⁶⁸ Ad un follow up di 5 anni, confrontando il trattamento combinato con core decompression e innesto del midollo osseo con un gruppo di controllo rappresentato da pazienti trattati con sola core decompression, i dati confermano che l'iniezione di cellule di midollo osseo autologo nella zona necrotica risulta essere un trattamento efficace, soprattutto nei pazienti affetti da prime fasi di osteonecrosi.

5.2 PROCEDURA

La tecnica chirurgica per il trapianto di cellule mononucleate midollari prevede diverse fasi, tutte eseguibili nell'ambito della stessa seduta.

5.2.1 PRODUZIONE DI GEL PIASTRINICO

Il gel piastrinico da utilizzare può essere prodotto poche ore prima dell'intervento chirurgico. È preferibile utilizzare il gel piastrinico nella sua variante *Platelet Rich Fibrin* (PRF), in quanto ricco di fibrina: questa caratteristica conferisce una più rapida gelificazione del concentrato piastrinico rispetto al *Platelet Rich Plasma* (PRP), rendendolo più idoneo all'utilizzo in corso di intervento chirurgico (Fig. 36).



Fig. 36 Sistema Vivostat

Il PRF è stato prodotto con metodo automatico Vivostat. La procedura prevede il prelievo di 120 ml di sangue venoso del paziente. Il prelievo si esegue con ago-fistola da 16 collegato all'apposita bowl precedentemente preparata con soluzione anticoagulante, l'inserimento della bowl all'interno dell'apposito macchinario e la

selezione del programma “piastrine”. Al termine del ciclo di lavoro della macchina si estrae la provetta contenente 5 ml di PRF pronto per essere utilizzato. Nel caso in cui venga prodotto nei giorni precedenti l'intervento è necessario stoccare la provetta a -35°C. Il giorno dell'intervento occorre che il PRF sia scongelato lentamente 30 minuti prima del suo utilizzo.

5.2.2 INTERVENTO

Aspirazione di midollo osseo

Il prelievo delle cellule mononucleate midollari si esegue dalla cresta iliaca postero-superiore, con il paziente in decubito prono e già in anestesia generale o spinale. È possibile eseguirlo anche dalla cresta iliaca anteriore ma, a causa dell'accentuata convessità di quest'ultima e della vicinanza con la cavità peritoneale, si preferisce la cresta posteriore, più sicura. Viene allestito un campo operatorio sterile e si procede al prelievo in asepsi del midollo osseo. Si inserisce un ago da midollo 11 G x 100 mm nell'osso spongioso della cresta iliaca ad una profondità di circa 3 cm e si prelevano solamente 5 ml di sangue midollare utilizzando una siringa da 20 ml internamente lavata con soluzione calcio-eparinica anticoagulante (Fig. 37); l'aspirato viene iniettato in una sacca da prelievo contenente 500 U di eparina in 10 ml di soluzione fisiologica. Successivamente si ruota l'ago di 90° e si procede ad una nuova aspirazione di ulteriori 5 ml. Ruotando ed estraendo parzialmente l'ago si eseguono successive aspirazioni. Si ripete questa procedura in 3 o 4 perforazioni sulla cresta, utilizzando il medesimo accesso cutaneo, fino ad ottenere all'interno della sacca un totale di 60 ml di aspirato midollare. Il prelievo si effettua in piccole frazioni da differenti punti della cresta per massimizzare la raccolta delle cellule stromali utili per la rigenerazione, e minimizzare l'effetto di diluizione derivante dall'aspirazione di sangue periferico.

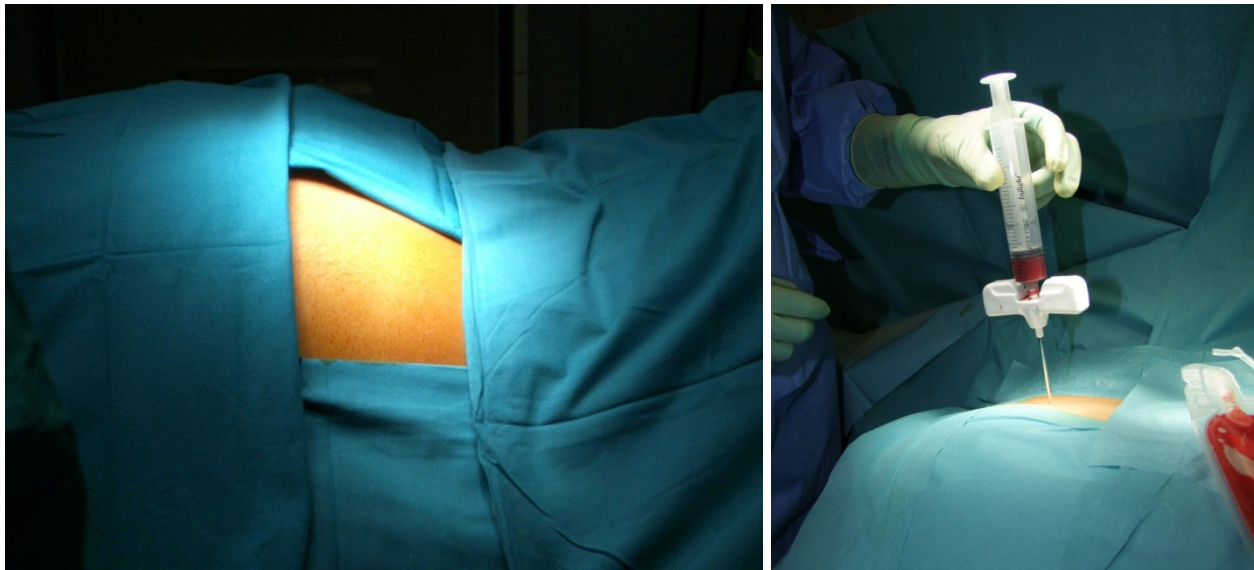


Fig. 37: Allestimento di un campo operatorio sterile in corrispondenza della cresta iliaca postero-superiore e prelievo di sangue midollare dalla cresta iliaca postero-superiore.

Concentrazione di midollo osseo

Il volume del midollo osseo precedentemente prelevato viene ridotto eliminando la maggior parte dei globuli rossi e del plasma, aumentando così la concentrazione di cellule mononucleate al suo interno. Questa operazione viene effettuata direttamente in sala operatoria al termine della fase di prelievo, utilizzando un separatore-concentratore cellulare (Harvest Smart PreP2, Harvest Technologies Corp, Plymouth, MA) oppure Kit IOR-G1 (Novagenit, Mezzolombardo, TN, Italy) e l'apposito kit sterile e monouso (BMAC, Harvest Technologies Corp, Plymouth, MA) oppure IOR-G1. I 60 ml di midollo prelevati in precedenza vengono iniettati nella camera posteriore dello specifico dispositivo a doppia camera; questo si posiziona poi verticalmente all'interno della centrifuga e si avvia il ciclo di lavoro. Dopo circa 15 minuti, al termine del processo, nella camera posteriore del dispositivo rimane la maggior parte delle cellule rosse, più pesanti, mentre nella porzione anteriore si trovano, stratificati, gli altri emocomponenti (Fig. 38): in basso le cellule mononucleate e più in superficie le piastrine ed il plasma, più leggeri.

Infine, parte del plasma viene rimosso dalla camera anteriore e la componente cellulare viene risospesa in un adeguato volume di plasma per ottenere 6 ml di concentrato cellulare.

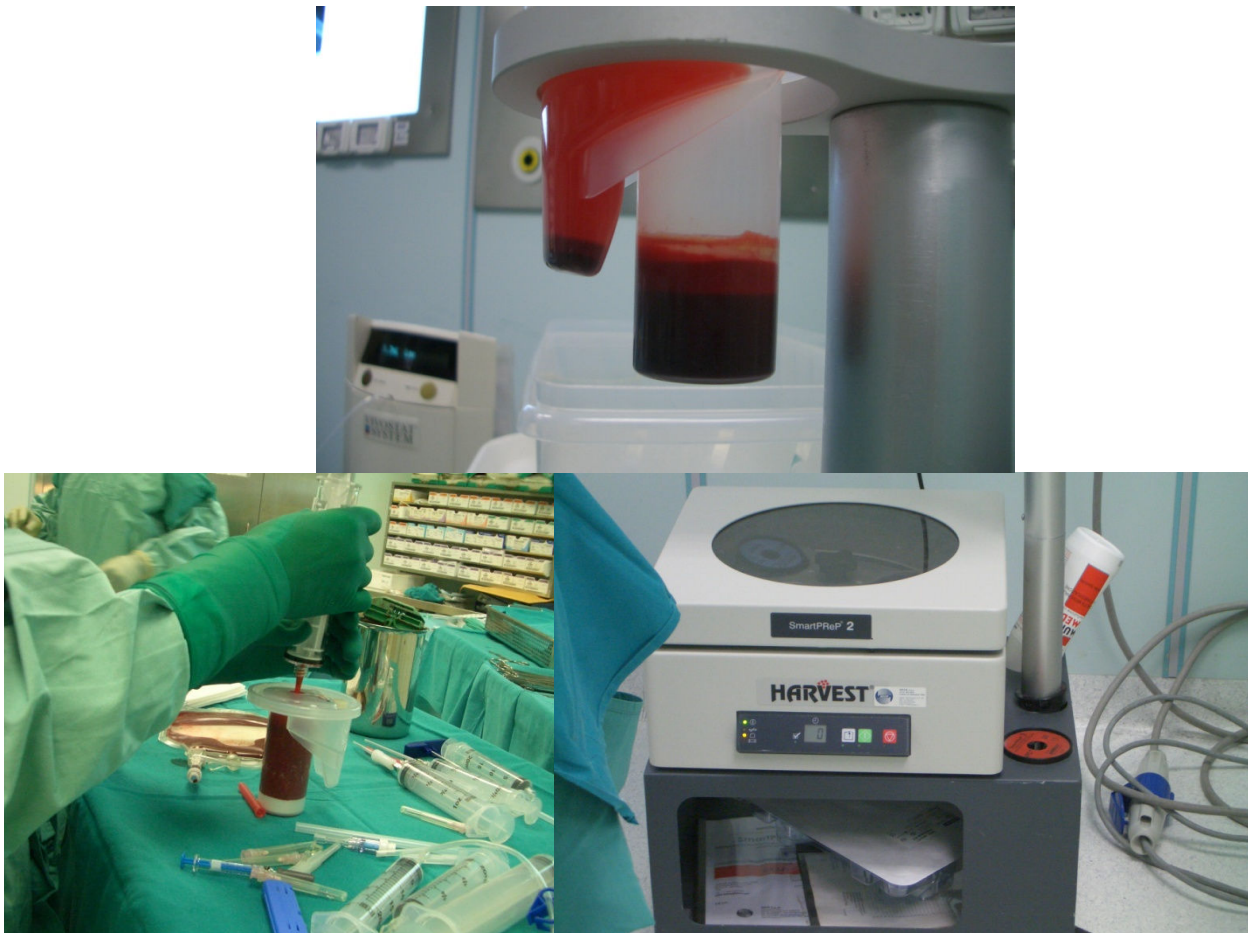


Fig. 38 Preparazione del concentrato midollare

Il paziente viene quindi posto in decubito supino su letto radiotrasparente in quanto necessario l'utilizzo dell'amplificatore di brillantezza. L'intervento viene effettuato in anestesia generale bilanciata o anestesia locoregionale subaracnoidea a seconda dei casi, valutando le condizioni del paziente. La stessa anestesia verrà sfruttata per effettuare la "core decompression" visto il breve tempo necessario per questo primo passaggio.

Viene praticata un'incisione di circa 3-4 cm a livello del femore prossimale in corrispondenza del gran trocantere. A questo punto si procede con diresi del

sottocute ed emostasi fino a sezionare la fascia lata e il vasto laterale. Per via smussa si arriva fino alla corticale laterale prossimale del femore. Sempre sotto controllo amploscopico s'infigge un filo di Kirschner attraverso il collo femorale fino alla zona di necrosi.

Viene quindi eseguito un carotaggio dell'osso (diametro di 9 mm) fino ad arrivare alla testa del femore nella sua porzione necrotica. Dallo stesso accesso chirurgico l'area necrotica viene curettata con fresa ad alta velocità e appositi strumentari. Quindi viene applicato il materiale rigenerativo (matrice ossea demineralizzata addizionata al concentrato midollare ed al gel piastrinico) attraverso il tramite, per mezzo di un ago trocar e di una particolare siringa, sviluppata per questo intervento chirurgico (Fig. 39 A,B). Non è necessario l'utilizzo di alcun drenaggio.

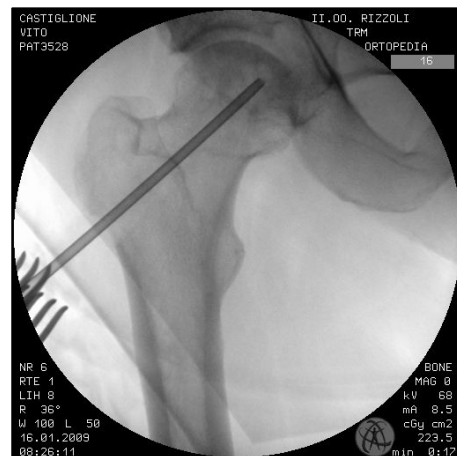
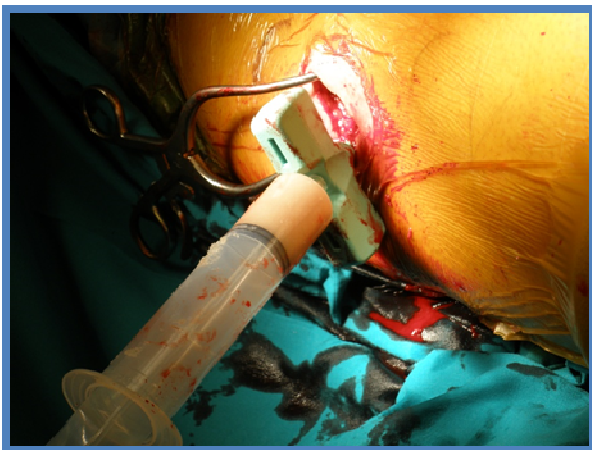


Fig. 39 A,B Infiltrazione del preparato nella testa del femore e sua visualizzazione al controllo amploscopico.

5.2.3 PROTOCOLLO RIABILITATIVO

Il protocollo post-operatorio prevede una precoce mobilizzazione dell'anca operata: dalla prima giornata postoperatoria il paziente esegue movimenti attivi e passivi secondo tolleranza. Il range di escursione articolare viene gradatamente aumentato

durante questa fase in relazione al dolore provato dal paziente. La deambulazione è concessa con l'ausilio di due bastoni antibrachiali senza caricare sull'arto operato per le prime 6 settimane; a seguire è concesso un graduale carico parziale ed il carico libero a 8-10 settimane. L'attività sportiva a basso impatto (nuoto, bicicletta) è concessa a 2 mesi dall'intervento chirurgico.

CAPITOLO 6

STUDIO SPERIMENTALE

6.1 MATERIALI E METODI

Presso l'Istituto Ortopedico Rizzoli (3 Clinica Ortopedica a prevalente indirizzo Oncologico) sono state trattate per osteonecrosi della testa del femore 53 anche in 45 pazienti tramite intervento di "core decompression" ed infiltrazioni di matrice ossea demineralizzata, concentrato midollare e plasma ricco di piastrine (PRFA).

Criteri di inclusione:

- Età compresa tra i 10 ei 55 anni, presenza di osteonecrosi uni o bilaterale in stadio I-IV secondo la classificazione Ficat.

Criteri di esclusione:

- Stato di gravidanza, precedenti fallimenti d'impianti o trattamenti, infezioni

Tutti i pazienti hanno aderito allo studio tramite consenso informato relativo al protocollo di ricerca ON-08 e AVN-13, che include l'informazione sulle possibili complicanze e sulla sicurezza delle procedure. La diagnosi di osteonecrosi è stata fatta tramite valutazione radiografica ed RM ed in alcuni casi confermata istologicamente nei casi andati incontro a fallimento e sostituzione protesica.

Di questi 45 pazienti rientrano nel nostro studio solamente pazienti aventi un periodo di follow-up di almeno 2 anni dall'intervento chirurgico, per un totale quindi di 30 anche in ventinove pazienti, di cui ventuno erano maschi e otto femmine.

La valutazione funzionale del paziente è stata eseguita utilizzando il sistema dell'Harris Hip Score (HHS) (Fig. 40), mentre la documentazione radiografica è stata valutata in base alla classificazione di Ficat da due chirurghi.

HARRIS HIP SCORE		Page 1 of 1
PATIENT ID: <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/>		
GENERAL INFORMATION		
PATIENT INITIALS: <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> <small>(If there is no middle initial please use "X")</small>	VISIT DATE: <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> / <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> / <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/>	
OPERATIVE SIDE: <input type="radio"/> Right <input type="radio"/> Left (Check One) <small>(use one form per side)</small>	VISIT: <input type="radio"/> Pre-Op <input type="radio"/> 6 Weeks <input type="radio"/> 1 Year <input type="radio"/> 2 Year <input type="radio"/> 5 Year	
I. PAIN		
A. PAIN (Check One) <input type="radio"/> None, or ignores it <input type="radio"/> Moderate pain, tolerable but makes concessions to pain. Some limitations of ordinary activity or work. May require occasional pain medication stronger than aspirin <input type="radio"/> Slight, occasional, no compromise in activities <input type="radio"/> Marked pain, serious limitation of activities <input type="radio"/> Mild, no effect on average activities, rarely moderate pain with unusual activity, may take aspirin <input type="radio"/> Totally disabled, crippled, pain in bed, bedridden		
II. FUNCTION / GAIT		
B. LIMP (Check One) <input type="radio"/> None <input type="radio"/> Slight <input type="radio"/> Moderate <input type="radio"/> Severe or unable to walk	C. SUPPORT (Check One) <input type="radio"/> None <input type="radio"/> Cane, long walks <input type="radio"/> Cane, most of the time <input type="radio"/> One crutch <input type="radio"/> Two canes <input type="radio"/> Two crutches or walker <input type="radio"/> Unable to walk	D. DISTANCE WALKED (Check One) <input type="radio"/> Unlimited <input type="radio"/> Six blocks <input type="radio"/> Two or three blocks <input type="radio"/> Indoors only <input type="radio"/> Bed and chair only
III. FUNCTIONAL ACTIVITIES		
E. STAIRS (Check One) <input type="radio"/> Normally without using a rail <input type="radio"/> Normally using a railing <input type="radio"/> In any manner <input type="radio"/> Unable to use stairs	F. SOCKS / SHOES (Check One) <input type="radio"/> With ease <input type="radio"/> With difficulty <input type="radio"/> Unable	G. SITTING (Check One) <input type="radio"/> Any chair, 1 hour <input type="radio"/> High chair, 1/2 hour <input type="radio"/> Unable to sit comfortably in any chair
H. PUBLIC TRANSPORTATION (Check One) <input type="radio"/> Able to use <input type="radio"/> Not able to use	I. DEFORMITY (Operative side only) Yes No Fixed adduction <input type="radio"/> <input type="radio"/> If yes <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> degrees Fixed internal rotation in extension <input type="radio"/> <input type="radio"/> If yes <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> degrees Leg length discrepancy <input type="radio"/> <input type="radio"/> If yes <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> mm Pelvic flexion contracture <input type="radio"/> <input type="radio"/> If yes <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> degrees	
IV. RANGE OF MOTION		
<small>Perform these measurements on the operative hip. Record 10 degrees of fixed adduction as -10 degrees of abduction and 10 degrees of adduction</small>		
<small>Similarly, record 10 degrees of fixed rotation as -10 degrees of internal rotation and 10 degrees of external rotation</small>		
<small>Also similarly, record 10 degrees of fixed external rotation with 10 degrees additional external rotation as -10 degrees of internal rotation and 20 degrees of external rotation</small>		
1. PERMANENT (FIXED) FLEXION <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> degrees	4. ADDUCTION TO <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> degrees	
2. FLEXION TO <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> degrees	5. EXTERNAL ROTATION IN EXTENSION TO <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> degrees	
3. ABDUCTION TO <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> degrees	6. INTERNAL ROTATION IN EXTENSION TO <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> degrees	
V. COMMENTS		
INVESTIGATOR NAME (PRINT): <input style="width: 90%; height: 15px;" type="text"/>	DATE: <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> / <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> / <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/>	
INVESTIGATOR SIGNATURE: <input style="width: 90%; height: 15px;" type="text"/>		

24.JUL2007

Fig. 40 Harris Hip Score

Per quanto concerne le cause di osteonecrosi nel nostro gruppo di pazienti, 17 erano causate da terapie steroidee, 8 idiopatiche, 3 traumatiche e 1 da abuso di alcool (Fig. 41).

Tra i 17 pazienti con osteonecrosi avascolare della testa del femore indotta da steroidi, sette pazienti erano stati sottoposti a dosi cumulative di steroidi a causa di

neoplasie ematologiche (6 leucemia linfoblastica acuta e 1 linfoma di Hodgkin), mentre 1 paziente era affetto da lupus eritematoso sistemico (LES).

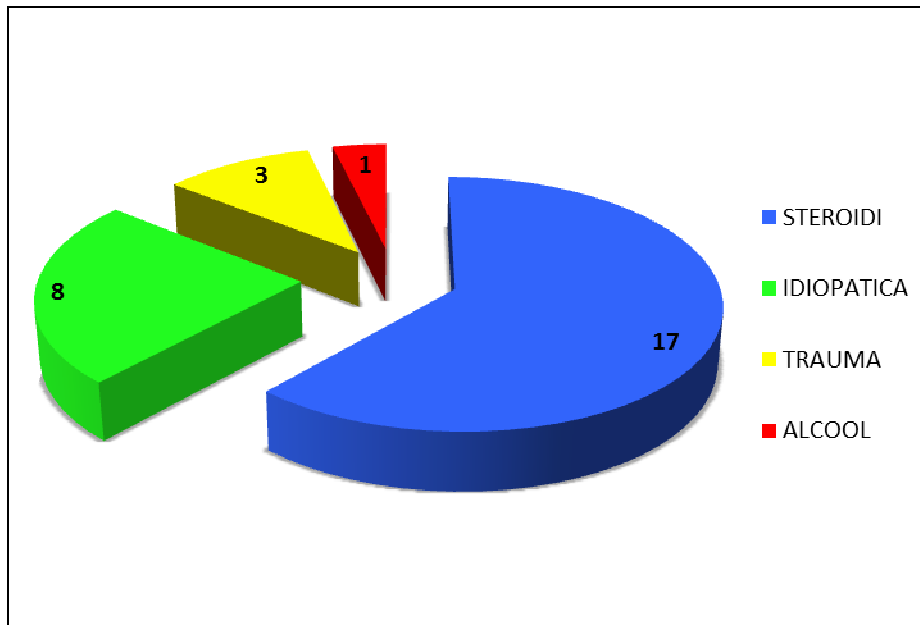


Fig. 41 Distribuzione della eziologia

Secondo le classificazioni di Ficat e Arlet, nel nostro gruppo di pazienti abbiamo avuto 12 anche in stadio IIA, 6 anche in stadio IIB, 8 in stadio III e 4 in stadio IV.

Ficat stage (30 pz)	HHS (media)		Progressione radiografica (%)	Fallimento (protesi) (%)
	Pre op	Post op (2 anni F.U.)		
IIA (n=12)	65 (38-89)	88 (73-100)	1 (8%)	2(25%)
IIB (n=6)	47 (37-72)	96 (-96)	5 (83%)	3(50%)
III (n=8)	59 (40-82)	86 (72-96)	2 (25%)	2(25%)
IV (n=4)	41 (13-69)	86 (80-96)	0 (0%)	-
Total	57(DS 20,12)	89(DS 13,7)	7 (27%)	8

Tab III Numero di anche trattate, suddivise in 4 sottogruppi secondo classificazione Ficat con rispettiva media pre e post operatoria dello score clinico funzionale (HHS)

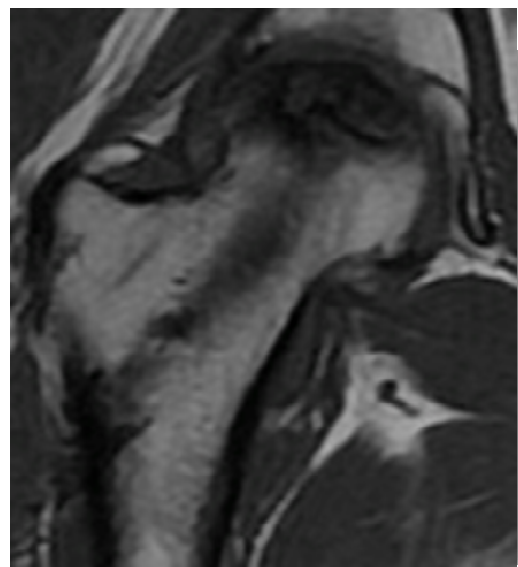
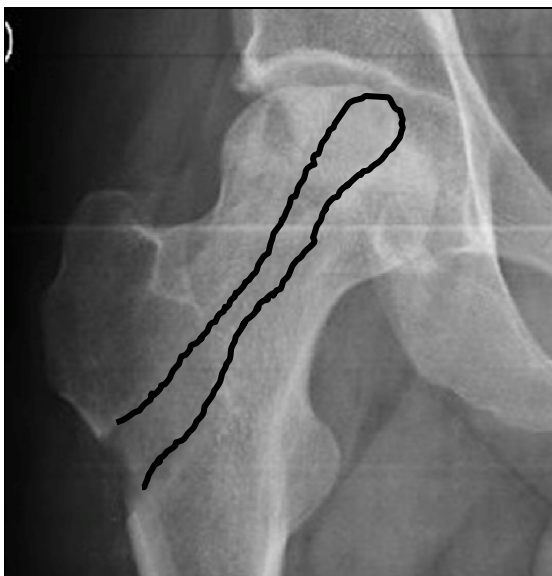
Abbiamo considerato come obiettivo primario il successo del trattamento ovvero. il tasso di sopravvivenza delle anche non convertite ad artroplastica o con indicazione di sostituzione protesica.

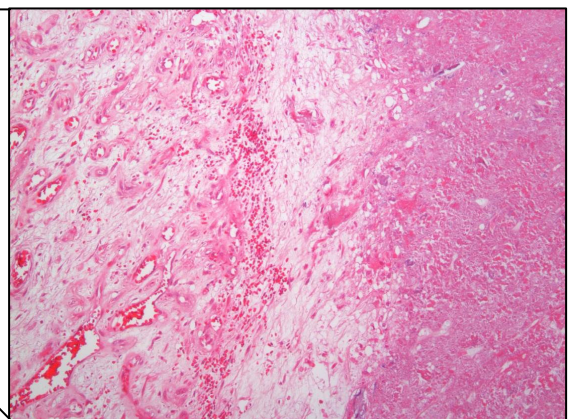
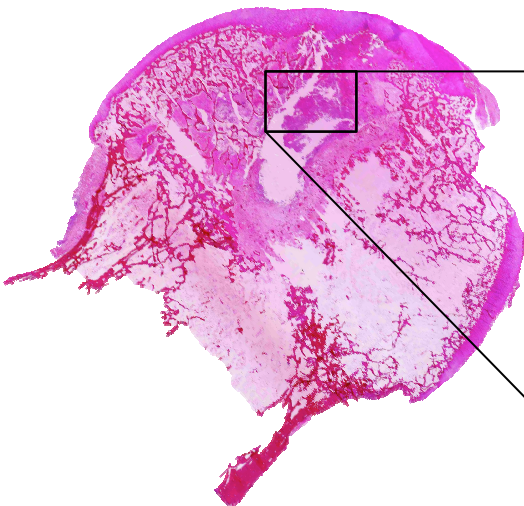
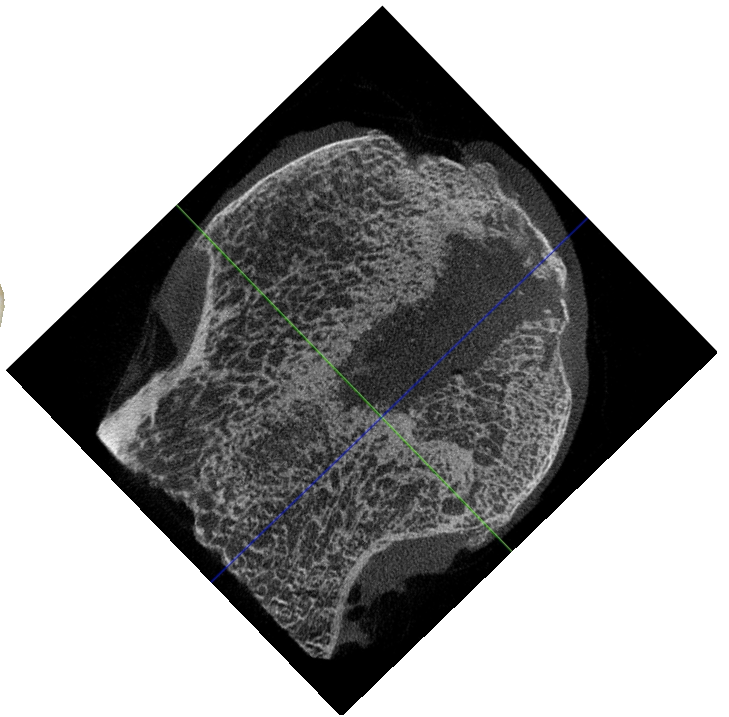
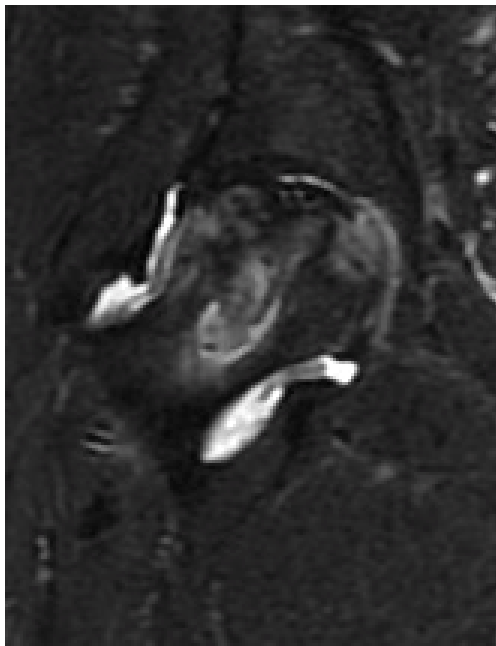
Gli obiettivi secondari sono stati considerati:

- La progressione radiografica, ovvero il crollo della superficie articolare della testa del femore in pazienti in stadio Ficat I-II e la degenerazione dell'acetabolo in pazienti con Ficat in stadio III.
- Il miglioramento dello score HHS comprendendo dolore, articularità, attività, e funzionalità dell'anca. Abbiamo pertanto raggruppato i pazienti in 4 classi funzionali: insufficiente (HHS meno di 70), medio (HHS 70-79), buono (HHS 80-89) ed eccellente (90-100).

6.2 ANALISI ISTOLOGICA E MICROTTC

Nei casi andati incontro a fallimento, i quali sono stati sottoposti a protesizzazione dell'anca, abbiamo eseguito una valutazione macro e microscopica (macrosezioni e sezioni istologiche) confrontandole con i rispettivi tagli in sequenze ottenute tramite microTC.





6.3 ANALISI STATISTICA

I risultati clinici e radiografici sono stati correlati statisticamente.

Tutte le variabili continue sono state espresse in termini di media e deviazione standard, le variabili categoriche sono state riassunte in termini di frequenza e percentuale di incidenza. Il t test per dati appaiati è stato utilizzato per valutare l'andamento del punteggio clinico lungo il follow up.

La curva di sopravvivenza al fallimento è stata costruita usando il modello attuariale con il metodo di Kaplan-Meier. I fattori di rischio sono stati confrontati con l'analisi univariata (log-rank test e Breslow test). Le analisi sono state effettuate usando il Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) software version 15.0 (SPSS Inc., Chicago, USA).

CAPITOLO 7

RISULTATI

Tutti i pazienti selezionati per lo studio sono stati controllati alle scadenze previste dal protocollo. Il follow up medio è stato $22 \pm 4,8$ mesi (min 3 – max 50).

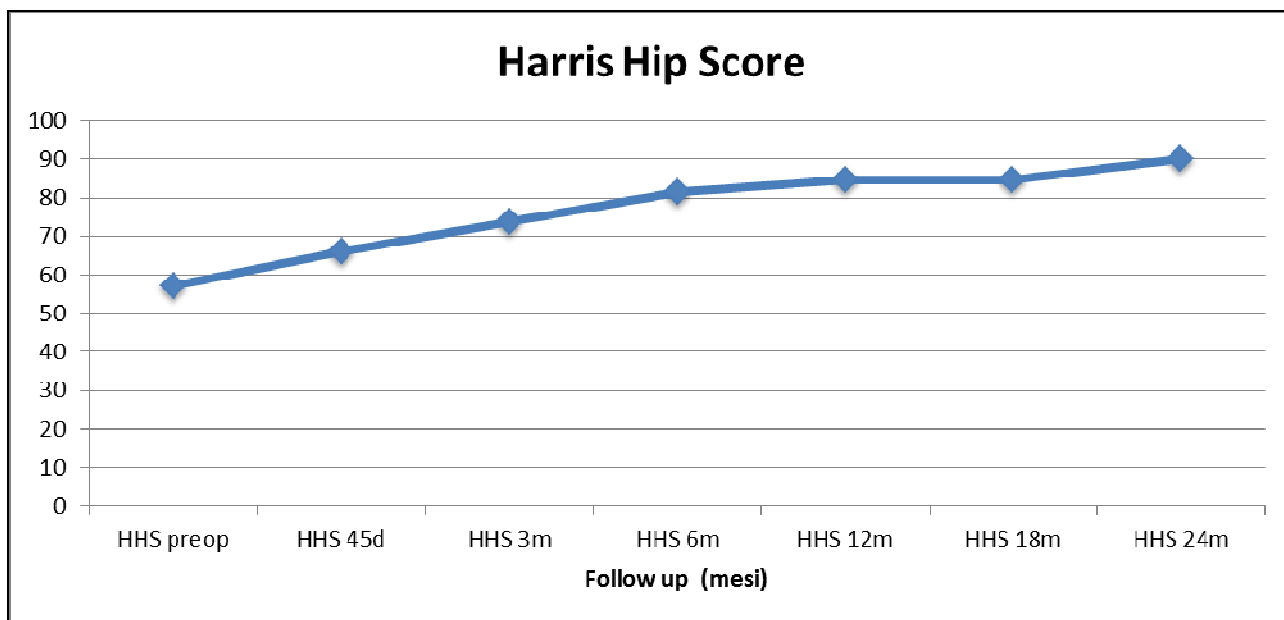


Fig. 42 Andamento dell'Harris Hip Score ai vari termini di follow up

Per quanto riguarda la valutazione funzionale, calcolata con l'Harris Hip Score, la media preoperatoria globale è stata $57 \pm 20,12$ punti (min 13 – max 89). I pazienti sono stati successivamente valutati a 45 giorni, 3, 6, 12, 18 e 24 mesi dall'intervento. Il punteggio clinico medio ha subito un miglioramento progressivo significativo dal pre-operatorio fino al follow up di 24 mesi, mantenuto nel tempo con un non significativo decremento fino al follow up massimo di 50 mesi (per 15 pazienti) (Fig. 42).

Le indicazioni alla sostituzione protesica dell'articolazione, considerata come fallimento del trattamento, sono state:

- Dolore persistente.
- Progressione radiografica sintomatica (collasso della testa del femore).
- Volontà del paziente.

Tenendo in considerazione questi fattori, nella nostra casistica il fallimento si è verificato in 8 pazienti su 30 (27%).

La causa è stata la persistenza del dolore in tutti i casi; di questi, in 4 (12%) si è associata progressione radiografica con crollo del profilo della testa femorale.

Tre pazienti avevano un HHS > 80 al momento dell'artroplastica; tra questi vi è stato anche 1 paziente in stadio III sec Ficat, che, nonostante il buon punteggio funzionale ed un modesto dolore alla valutazione clinica in assenza di progressione radiografica, ha manifestato una forte determinazione ad eseguire la sostituzione protesica.

Ficat stage (30 pz)	HHS (media)		Progressione radiografica (%)	Fallimento (protesi) (%)
	Pre op	Post op (2 anni F.U.)		
IIA (n=12)	65 (38-89)	88 (73-100)	1 (8%)	2(25%)
IIB (n=6)	47 (37-72)	96 (-96)	5 (83%)	3(50%)
III (n=8)	59 (40-82)	86 (72-96)	2 (25%)	2(25%)
IV (n=4)	41 (13-69)	86 (80-96)	0 (0%)	-
Total	57(DS 20,12)	89(DS 13,7)	7 (27%)	8

Tab IV Progressione radiografica (crollo) e fallimenti .

L'intervento di sostituzione protesica dell'anca è stato quindi indicato in 8 anche (27%) dopo un tempo medio di 10 mesi dall'intervento (min 3 – max 27), mentre la sopravvivenza a due anni è stata di $73 \pm 8\%$ (Fig. 43).

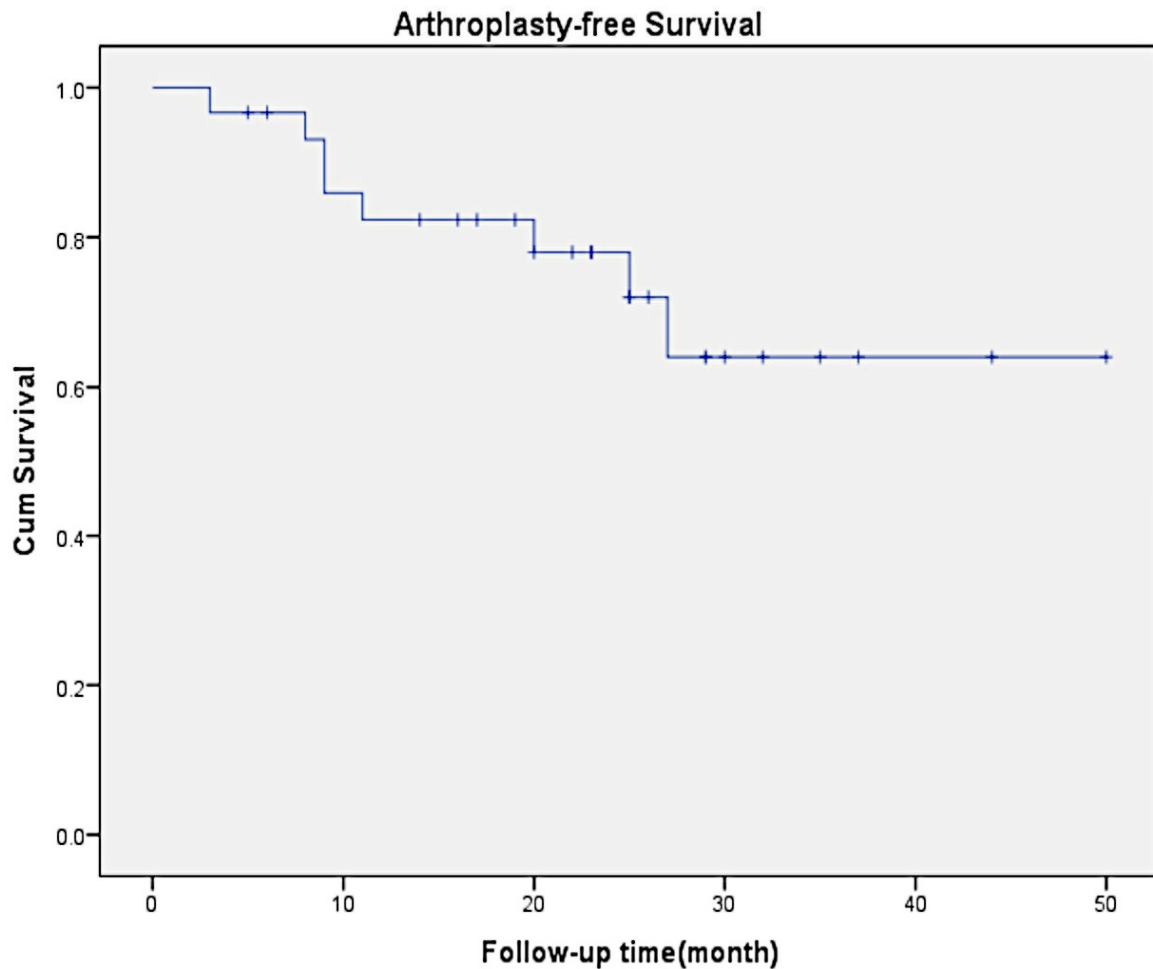


Fig. 43 Curva di sopravvivenza globale secondo Kaplan-Meier.

Tra gli 8 fallimenti, uno era in stadio IIA della classificazione Ficat e Arlet, 5 con stadio IIB, 2 con stadio III e nessuno stadio IV. Abbiamo riscontrato una differenza statisticamente significativa ($p=0,010$) nella sopravvivenza relativa agli stadi delle lesioni, con peggiori risultati nelle lesioni in stadio IIB rispetto agli altri stadi (Fig. 44).

	Chi-quadrato	df	Sig
Log Rank (Mantel-Cox)	11,323	3	,010
Breslow (Generalized Wilcoxon)	14,945	3	,002

Fig. 44 Test per l'uguaglianza delle distribuzioni di sopravvivenza per i diversi livelli di stadio Ficat pre op. (IIb vs altri)

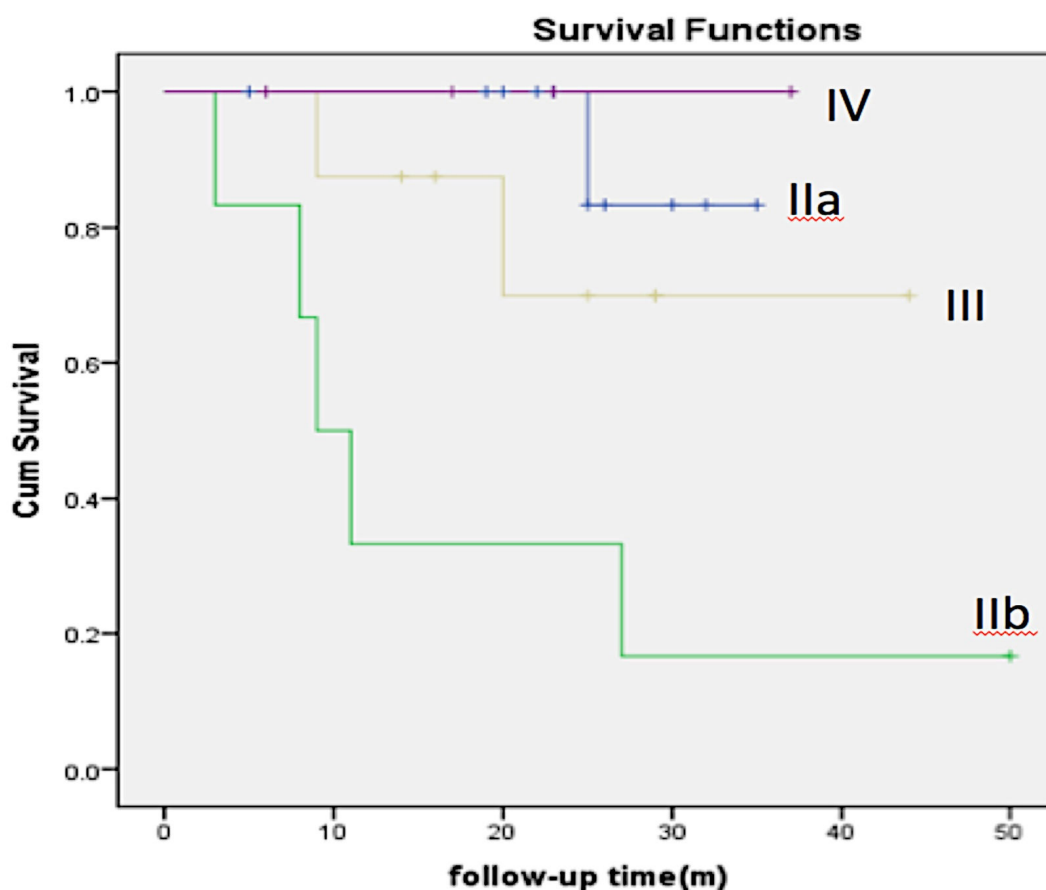


Fig. 45 Curva di sopravvivenza sec Kaplan-Meier nei diversi stadi secondo Ficat.

Abbiamo paragonato inoltre i dati dei pazienti nel gruppo pre-collasso con quelli post-collasso, notando che a due anni la sopravvivenza era del 76% per tutti i casi; 55% nel gruppo di pre-collasso e il 67% nel gruppo post-collasso, senza differenza statistica ($p = 0,567$) (Fig. 46).

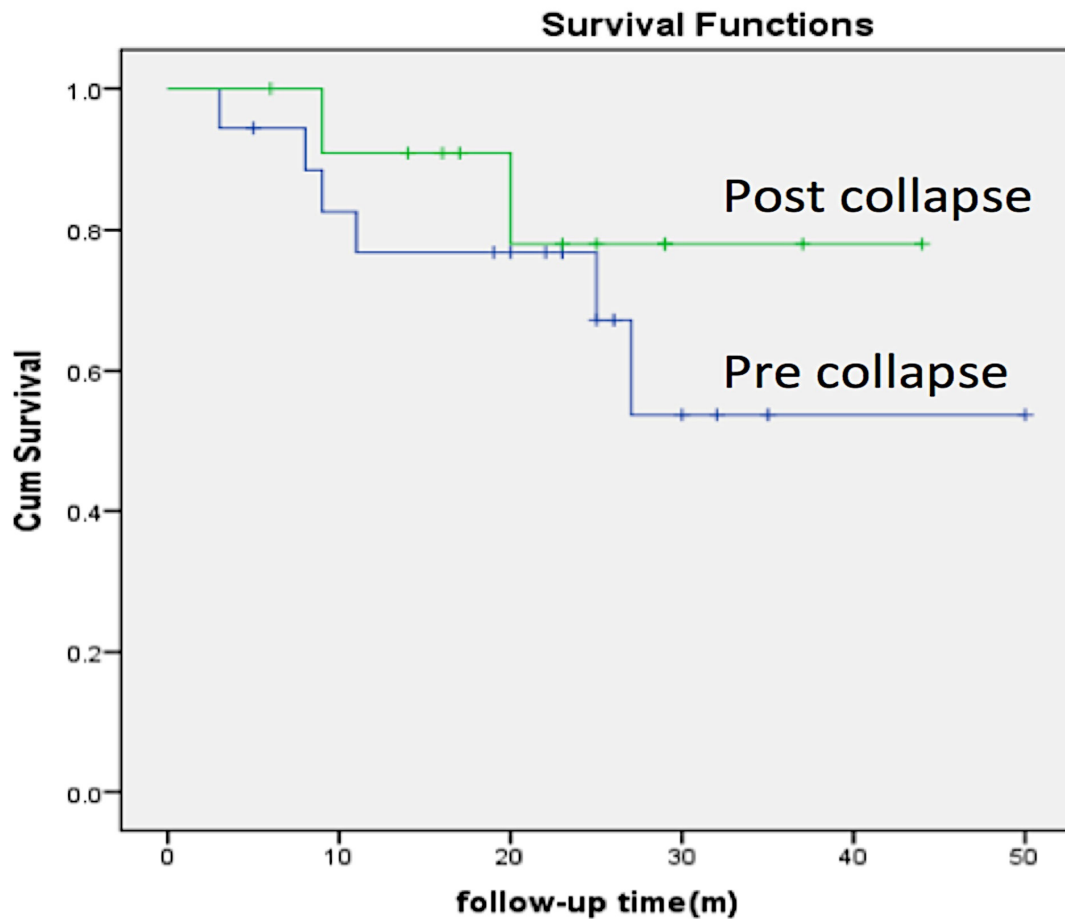


Fig. 46 Curva di sopravvivenza sec Kaplan-Meier negli stadi pre vs post collasso

Lo studio ha messo in evidenza anche che i pazienti con eziologia da steroidi hanno avuto risultati migliori dopo un follow-up di due anni nei confronti dei pazienti con altra eziologia, con differenza statisticamente significativa ($p=0,025$) (Fig. 47 e 48).

	Chi-quadrato	df	Sig
Log Rank (Mantel-Cox)	4,990	1	,025
Breslow (Generalized Wilcoxon)	7,703	1	,006

Fig. 47. Distribuzione di sopravvivenza per diversa eziologia (steroidi vs altre)

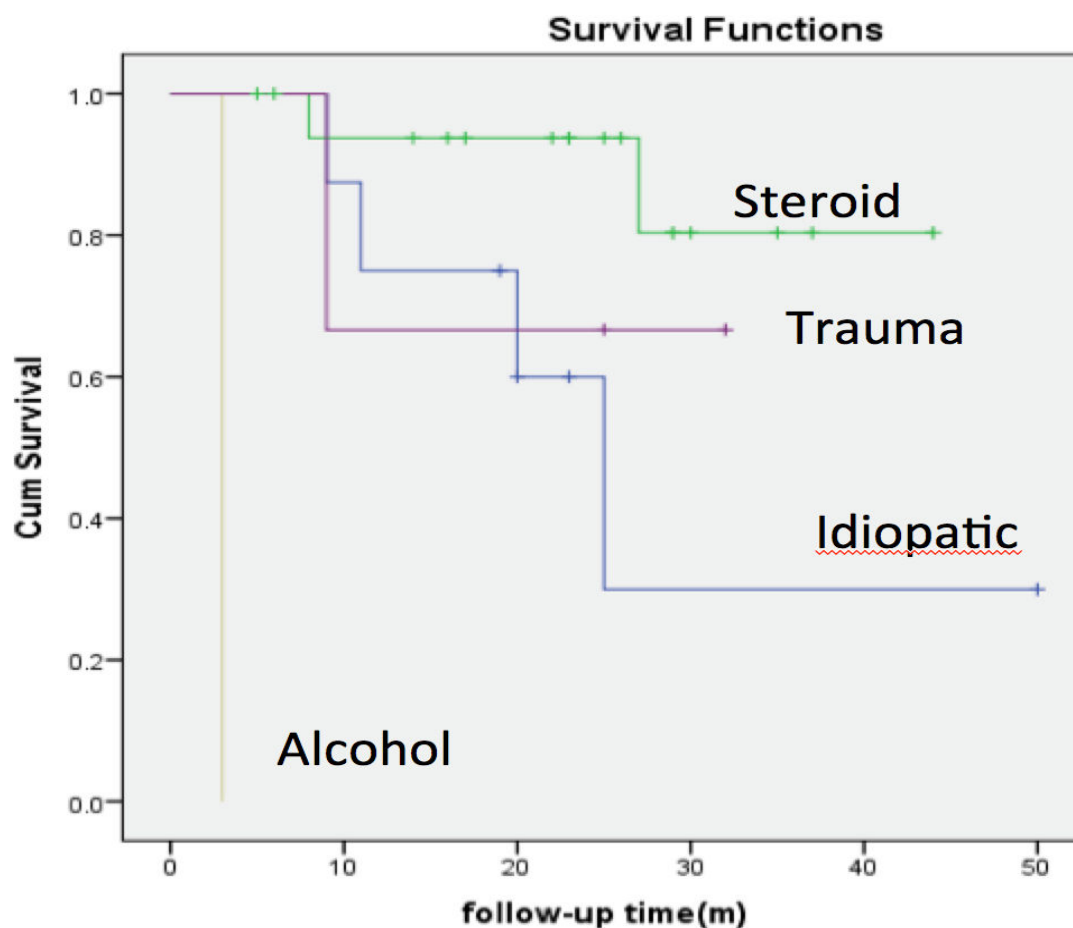


Fig. 48 Curva di sopravvivenza sec Kaplan-Meier secondo le differenti eziologie

Per quanto riguarda la progressione radiografica, questa è stata osservata in 7 anche su 30 (23%). Di queste, 3 facevano parte del gruppo in stadio IIA, 3 del IIB, 2 del gruppo in stadio III. Nessuna alterazione radiografica significativa è stata riscontrata nei pazienti avente la patologia in stadio IV, essendo già uno stato avanzato della patologia (Fig. 49).

Ficat e Arlet Stage	Pz	Pre op HHS	Convertite a THR	Progressione Radiografica
II A	12	65	1 (8%)	2 (25%)
II B	6	48	5 (83%)	3 (50%)
III	8	59	2 (25%)	2 (25%)
IV	4	42	0 (0%)	-
Tutte	30	57	8 (27%)	7 (23%)

Fig. 49. Tavola sinottica della progressione radiografica.

Per quanto riguarda l'analisi istopatologica e di correlazione con scansione microTC, abbiamo rilevato la presenza di woven bone a livello della spongiosa ossea, tuttavia la qualità di questo osso neoformato non è apparsa sufficiente ripristinare completamente il gap osseo creato dalla core decompression.

CAPITOLO 8

DISCUSSIONE

Numerose procedure e trattamenti sono stati descritti, sia di tipo conservativo che di tipo chirurgico, per il trattamento dell'osteonecrosi sintomatica della testa del femore volte al miglioramento clinico funzionale risparmiando la testa femorale. Infatti, dal momento che questa patologia colpisce in particolar modo soggetti giovani e attivi, è importante evitare o procrastinare nel tempo la sostituzione articolare protesica, che attualmente, escludendo pochi casi in stadio precoce della patologia, è il trattamento inesorabile e definitivo di questi pazienti.

Tuttavia la soluzione protesica, nonostante i continui miglioramenti nel design e nello studio dei materiali e della tribologia, poiché prevista in pazienti giovani e spesso aventi diversi fattori di rischio, ha un maggior tasso di fallimenti e complicanze e vantaggi clinico/funzionali inferiori rispetto a pazienti più anziani sottoposti a artroprotesi d'anca per altre patologie quali l'osteoartrosi¹¹⁰.

E' inoltre in aumento la sopravvivenza dei pazienti trattati con terapie steroidee a causa di malattie ematologiche, autoimmuni o sottoposti a trapianto; conseguentemente è in aumento anche l'incidenza delle patologie secondarie alle terapie^{195,209,251} e delle complicazioni a lungo termine dei trattamenti prima citati.

Risulta pertanto sempre più importante sviluppare tecniche di preservazione della testa femorale.

Per quanto riguarda i trattamenti conservativi, l'80% delle anche colpite progredisce fino al collasso della testa del femore entro 3-4 anni dalla diagnosi^{43,44}. La malattia, se diagnosticata nelle fasi iniziali, può essere suscettibile ad alcune modalità di trattamento incruento. Alcuni studi pubblicati recentemente sembrano giustificare il trattamento incruento delle piccole lesioni pre-collasso e asintomatiche, le quali possono migliorare la loro storia naturale^{100,118}.

Queste lesioni sono spesso diagnosticate nelle anche controlaterali dopo la valutazione di un'anca sintomatica

Lo scopo di questi trattamenti, che includono terapie farmacologiche (bifosfonati, farmaci ipolipemizzanti, anticoagulanti, vasodilatatori) e terapie fisiche (ossigenoterapia iperbarica, magnetoterapia, onde d'urto), è quello di intervenire su

alcuni fattori favorenti l'osteonecrosi come embolia lipidica, accumulo di adipociti, trombosi venosa, alterazioni della coagulabilità, aumento della pressione intraossea ed il riassorbimento dell'osso.

Fra i trattamenti chirurgici, la decompressione focale (core decompression), proposta da Ficat, viene ampiamente utilizzata in quanto dà eccellenti risultati in particolare nei pazienti in stadio I e in stadio II, con risultati contrastanti negli stadi più avanzati, ad eccezione di lesioni non molto estese.

Questa tecnica, eseguibile senza necessità di particolari strumentari in qualsiasi centro, è economica ma sembrerebbe presentare migliori risultati nelle anche con lesioni di dimensioni ridotte o segmentarie o che presentino integrità del pilone laterale con segni di osteosclerosi subcondrale, indipendentemente dai fattori di rischio relativi. In questo caso è critica la selezione del paziente e la comprensione della prognosi/evoluitività della lesione¹⁸⁴.

Le altre soluzioni chirurgiche sono invece gravate da una maggiore difficoltà tecnica e morbidità.

Il ricorso alle osteotomie correttive e derotative, tese a modificare la zona di carico che insiste sulla testa femorale, procrastinando il crollo o appiattimento del profilo articolare., richiede l'esecuzione da parte di "mani esperte" e presenta numerose complicanze

Le lesioni più estese possono essere trattate con decompressione o curettage dell'area necrotica e successiva sostituzione o borrhaggio con vari materiali al fine di ripristinare il bone stock e supportare l'osso subcondrale.

I risultati a distanza con gli innesti ossei non vascolarizzati evidenziano una percentuale del 90% di successo negli stadi I e II dell'osteonecrosi²⁰³, che si riduce al 60% negli stadi III e IV²³.

L'innesto con osso vascolarizzato risulta più vantaggioso dal punto di vista dell'outcome clinico radiografico perché permette, in seguito alla decompressione della zona necrotica, di fornire un supporto strutturale e biologicamente attivo, migliorando lo status della vascolarizzazione e la ripopolazione dell'osso con

osteoblasti e loro precursori^{35,66,87,114,153,173,180,191,250}. Tuttavia è una procedura chirurgica invasiva, con un elevato morbidità (sito donatore, anastomosi vascolare) e che richiede strutture specifiche e personale dedicato (micorchirurgia).

Il chiodo in tantalio, che si comporta, dal punto di vista strutturale come un trapianto osseo nel supportare la zona di necrosi della testa femorale^{70,236}, è costoso e può determinare diverse difficoltà nel caso di successive chirurgie

La core decompression rimane a nostro avviso il trattamento gold standard, sicuramente per gli stadi non avanzati di osteonecrosi, in quanto i risultati sono sovrapponibili a quelli ottenuti con tecniche più invasive, che sono invece da riservare agli stadi più avanzati fino alla sostituzione articolare protesica.

Il razionale della tecnica è quello di promuovere la riparazione dell'osso riducendo la pressione endomidollare e favorendo la formazione di nuova vascolarizzazione. Questa è la condizione necessaria alla migrazione, homing e successivo differenziamento dei precursori osteoblastici^{18,60,175,112,238,143,196, 205,255}.

E' stato tuttavia dimostrato come dopo la sola core decompression l'osso necrotico non sia in grado di riparare completamente a causa di un ridotto numero e alterata qualità/attività dei precursori osteoblastici residenti^{59,70,91,92}. Inoltre, soprattutto nei pazienti trattati con alti dosaggi di steroidi, è stata evidenziata una ulteriore carenza e attività biologica di tali cellule^{242,243}. Questo status locale rende la sola core decompression insufficiente a raggiungere lo scopo prefissato, avendo un tasso di fallimenti del 50% negli stadi II e del 66% negli stadi III secondo Ficat¹⁵⁴.

Nasce quindi l'idea di utilizzare le cellule staminali mesenchimali attraverso le loro proprietà osteogeniche ed osteoinduttive al fine di ripopolare la zona necrotica di precursori cellulari.

Hernigou ha aperto la strada all'applicazione del concentrato midollare per il trattamento dell'osteonecrosi avascolare della testa del femore⁹³ in seguito a perforazioni multiple della zona necrotica, dimostrando una correlazione diretta tra l'outcome del trattamento ed il numero di cellule e progenitori trapiantati. Tali dati sono stati supportati da studi più recenti e di tipo caso-controllo^{68,69} (Tab V), ove è

stata dimostrata la superiorità del trattamento di core decompression associata ad applicazione di concentrato midollare rispetto alla sola core decompression.

Dal momento che i risultati sembrano promettenti, abbiamo intrapreso questo studio includendo ed arruolando pazienti affetti da osteonecrosi, sia con stadi precoci che avanzati di malattia (Tab VI). Abbiamo inoltre trattato con questa tecnica anche giovani pazienti con esiti di malattie emolinfoproliferative grazie alla collaborazione del Centro Trasfusionale dell'Istituto Ortopedico Rizzoli.

Ci siamo proposti quindi di verificare l'efficacia e la sicurezza del trattamento in queste categorie di pazienti, apportando alcune modifiche alla core decompression, tecnica ampiamente descritta in letteratura, considerata il gold standard in quanto semplice da eseguire, con risultati sovrapponibili ai trattamenti più invasivi e minor tasso di complicanze e morbidità.

La tecnica è una procedura "one-step", nella quale, durante lo stesso ed unico ricovero ospedaliero e in un'unica seduta operatoria, si preleva e concentra il midollo osseo che viene poi addizionato a matrice ossea demineralizzata e gel piastrinico.

Il razionale sull'utilizzo dei composti supplementari, come matrice ossea demineralizzata e gel piastrinico, è sostenuto da dati di letteratura che ne dimostrano l'efficacia¹⁹⁷ e la sicurezza^{47, 50,52,117,136,147,148,188,189}.

La matrice demineralizzata è un materiale osteoinduttivo ed osteoconduttivo in grado di ripristinare la funzione meccanica e stimolare la produzione di osteoide da parte dei precursori osteoblastici, inducendone la differenziazione. I dati clinici di letteratura e di precedenti studi eseguiti presso l'Istituto Ortopedico Rizzoli per il trattamento di cisti ossee semplici, cisti aneurismatiche e ritardi di consolidazione sono incoraggianti. Se in alcuni studi è stata riportata una elevata percentuale di successi utilizzando un prodotto simile quale il GraftON¹⁹⁷, in altri viene scoraggiato l'uso del DBM come singolo agente⁸⁸. Abbiamo quindi deciso di utilizzare la matrice demineralizzata perché disponibile in uno stato fisico facilmente maneggiabile e iniettabile, per le sue proprietà meccaniche e per la sua funzione di scaffold. Ad essa abbiamo associato i fattori di crescita presenti nel gel ricco di piastrine i quali

aumentano la proliferazione delle cellule staminali mesenchimali fornite con il concentrato midollare.

Il gel di piastrine è ricco di fattori di crescita che inducono neo angiogenesi e proliferazione dei precursori osteoblastici^{218,138,253}; inoltre la reazione di gelificazione tramite la cascata di attivazione della fibrina conferisce al materiale una consistenza semisolido e con caratteristiche di adesività. Ciò permette di ottenere un composto facilmente iniettabile ma che permane nel sito desiderato una volta applicato.

Autori	Anno	Disegno Studio
P.Hernigou	2002	Prospettico
V.Gangji	2004	RCT CD alone vs CD+BMC
T.Yoshioka	2011	Retrospettivo
D.Zhao	2012	RCT CD alone vs CD+BMC
RK sen	2012	RCT CD alone vs CD+BMC
R. Civinini	2012	Prospettico
J. Guadilla	2012	Serie di casi
T.Wang	2012	Prospettico
C.Hendrich	2009	Prospettico
D.Donati	2014	Prospettico
L.Helbig	2012	Prospettico
Mao Q.	2013	Prospettico

Tab V Tipologia di studio eseguito dai diversi autori

Abbiamo registrato un trend positivo nella valutazione clinico-funzionale dei pazienti sottoposti al trattamento fino a 2 anni dalla chirurgia. Nel nostro caso il tasso di successo è stato del 73% con il riscontro di progressione radiografica del 21%, in linea con i dati riportati in letteratura. In controtendenza^{93,239} rispetto alla letteratura, la maggior parte dei fallimenti del trattamento si sono verificati in pazienti con stadio Ficat IIB (5 su 6); questi pazienti hanno sviluppato un appiattimento del profilo della testa del femore associata a frattura subcondrale, dolore, limitazione delle attività quotidiane fino alla necessità della sostituzione articolare protesica.

Autori	Stadio	Ficat	Gruppo studio	F/U
P.Hernigoy	Steinberg I-IV	I-III	189	7a
V.Gangji	ARCO I-II	I-IIA	18(10)	24m
T.Yoshioka	JOA1-3B	?	9 SLE	3a
D.Zhao	ARCO IC-IIC	I-IIA	93(50)	5a
RK sen	ARCO I-II	I-IIA	51	2a
R. Civinini	Steinberg I-III	I-IIB	37	20m
J. Guadilla	Steinberg I-IIA-C	I-IIA	4	14m
T.Wang	ARCO II-III	IIA-IIB	20	24m
C.Hendrich	N/A	N/A	37	
D.Donati	Ficat IIA-IV	IIA-IV	30	2a
L.Helbig	ARCO I-II	I-IIB	18	9a
Mao Q.	Ficat I-III	I-III	78	5a

Tab VI Stadi inclusi negli studi considerati

Solo 2 delle 8 anche (25 %) in stadio Ficat III hanno invece necessitato di una sostituzione totale dell'articolazione, nessuna delle quattro anche in stadio Ficat IV ne ha avuto bisogno. Due pazienti con lesioni in stadio III hanno avuto una progressione radiografica ma non clinica, e non hanno pertanto optato per la soluzione protesica a 2 anni di follow-up.

L'outcome clinico è stato influenzato significativamente da eziologia, età e stadio della lesione. Analizzando i dati, riteniamo che il miglior andamento clinico dei pazienti con eziologia da terapia steroidea anche in lesioni in stadio III/IV possa derivare da una migliore risposta biologica al trattamento in funzione rispettivamente di un ripristino della popolazione di cellule staminali residenti e della presenza di fattori di rischio misconosciuti (anomali di vascolarizzazione, coagulopatie, etc...) nei pazienti con osteonecrosi idiopatica nonché della minore età dei pazienti.

Come infatti sostenuto e dimostrato da Hernigou vi è un numero variabile di cellule midollari mononucleate ottenute da pazienti con differenti fattori di rischio: in particolare vi è una significativa riduzione del numero di cellule progenitrici raccolte

in pazienti con patologia indotta da corticosteroidi, da abuso di alcol, in pazienti sottoposti a trapianto d'organo, anemia falciforme e ad altre cause.

Riteniamo che il prelievo del midollo debba essere eseguito dalla cresta iliaca posteriore¹⁹⁰ in quanto il numero di cellule staminali ottenute è superiore a quello derivante dalla cresta iliaca anteriore, l'accesso è più agevole e meno rischioso (Tab VII).

Autori	Risultati			
	Fallimento chirurgico	Fallimento Radiografico	Score funzionale	Complicanze
P.Hernigoy	18%	33%	HHS 72(89)	1pneumonia, 1dolore, 1alloimmunizzazione
V.Gangji	25% vs 0%	62.5% vs 10%	VAS 37.8(16.3)	2 dolore, 1 infezione, 1 ematoma
T.Yoshioka	12.50%	33.30%	VAS 67(17) , HHS 68(89)	Nessuna
D.Zhao	11.6% vs 0%	22% vs 3.7%	HHS improve	Nessuna
RK sen	25% vs 5%		HHS 77.39(82.42)	Nessuna
R. Civinini	13.50%	21.60%	HHS 68(86)	Nessuna
J. Guadilla		20 wks better		
T.Wang	0%	20%	HHS 65(85)	Nessuna
C.Hendrich	3%			1 frattura
D.Donati	27%	27%	HHS 57 (84 success, 69 failed)	1 frattura, 1 infezione
L.Helbig	72%	14%	VAS 6.3; 1a3.1, 2a 4.1	Nessuna
Mao Q.	8%	43.59%	HHS 59(12m 75 24m 82, 36m 81, 48m 79)	

Tab VII Progressione radiografica, fallimenti, andamento HHS e complicanze

Anche la capacità di differenziamento osteogenico delle cellule staminali mesenchimali ottenute da pazienti con osteonecrosi sarebbe inferiore a quella dei precursori osteoblastici presenti in altre patologie o in pazienti con altri fattori di rischio. Tale procedura non prevede alcuna manipolazione al contrario delle metodiche di espansione *ex vivo*²⁵⁵, che possono fornire un numero considerevolmente superiore di cellule ma a scapito di costi estremamente elevati e con risultati non significativamente migliori.

Autori	Modalità d'intervento		
	CD	BMC-volume finale (N° di cellule)	MNC
P.Hernigou	3mm x1+ contrasto	150ml AIC-30ml (16.4m MNC,12.4CFU per million MNC=18,000- 102,000 CFU/injection)	16.4m
V.Gangji	3mm x 1	400ml AIC-50ml (2,000m MNC 1%CD34+fibroblast CFU 1/100,000)	2.000 m
T.Yoshioka	2.7mm x 3 poi 6mm	300 ml AIC-40ml	
D.Zhao	1 grande foro chiuso con nucleo osseo	10 ml & ex vivo exspansion-2ml (2m BMSC)	200m
RK sen	4mm x 3	120-180ml PIC-2ml (500mMNC=50mCD34+)	500m
R. Civinini	3.2mm reamed to 9mm	40 ml AIC-15-20ml BM	
J. Guadilla	8mm-assistito da artroscopio	AIC bone graft	
T.Wang	10 mm	450-500ml-40-50ml	
C.Hendrich	4.5 mm	60-120ml-7-10ml	
D.Donati	9 mm	60ml-6ml	
L.Helbig	6 mm	-	
Mao Q.	-	100ml-30-60ml	

Tab VII Modalità, sede e quantità prelievo midollo osseo e relativo trattamento chirurgico secondo i relativi autori

Il nostro studio ha tuttavia alcune limitazioni: (1) è uno studio prospettico senza un gruppo di controllo (anche se sono già stati riportati in letteratura dati a tal proposito^{68,197}). (2) Il campione è di ridotte dimensioni, come anche il numero di lesioni trattate per ogni stadio (3) il follow up è di soli 2 anni.

Per questi motivi consideriamo il nostro uno studio sperimentale pilota che necessita di ulteriore follow up e un numero di pazienti superiore per evitare bias relativi alla esiguità e disomogeneità del campione.

CAPITOLO 9

CONCLUSIONI

In conclusione, gli outcome clinici ad un follow up a medio termine consentono di affermare che la core decompression associata ad applicazione di concentrato midollare, matrice ossea demineralizzata e gel piastrinico è una procedura capace di offrire risultati soddisfacenti per il trattamento dell'ostenecriosi.

L'obiettivo di questo studio è stato quello di gettare le basi per mettere a punto un trattamento innovativo, apportando modifiche e migliorie a trattamenti pre esistenti e validati, al fine di evitare o comunque procrastinare la sostituzione articolare protesica in soggetti affetti a osteonecrosi avascolare della testa del femore.

Soprattutto ci siamo proposti di offrire ai pazienti più attivi e giovani, spesso affetti da esiti di malattie neoplastiche o autoimmuni, una soluzione che consenta un risparmio dell'osso anche considerando la maggior sopravvivenza di soggetti affetti da questo tipo di patologie.

E' una tecnica "one step", con una unica ospedalizzazione e che non prevede manipolazioni cellulari, relativamente semplice, mini invasiva e caratterizzata da bassa incidenza di complicanze. Queste caratteristiche la rendono idonea anche per quei pazienti che per ragioni legate al loro stato di salute generale o a eventuali comorbidità non possono sottoporsi a un intervento chirurgico più impegnativo.

Abbiamo confermato essere una procedura che può offrire risultati soddisfacenti nel ridurre il dolore articolare e nel migliorare la funzionalità articolare nei mesi successivi alla sua esecuzione. In controtendenza rispetto ai dati della letteratura abbiamo riscontrato inoltre una discreta efficacia negli stadi tardivi piuttosto che negli stadi precoci. Dalle valutazioni istomorfometriche eseguite abbiamo tratto la conclusione che potrebbe essere più indicato eseguire un carotaggio con fresa di diametro inferiore o evitare un ampio curettage, limitandosi a perforazioni multiple.

Tali conclusioni derivano tuttavia da un follow up limitato e da un esiguo gruppo di pazienti; sono pertanto da considerarsi risultati preliminari che necessitano di un ulteriore periodo di follow-up per confermare l'effettivo vantaggio del trattamento.

Nei soggetti con anamnesi di neoplasia maligna emolinfoproliferativa non si sono verificati nuovi eventi legati alla malattia di base; riteniamo pertanto che sia una tecnica sicura che possa essere utilizzata anche su questa coorte di pazienti.

Per confermare e validare questi dati preliminari abbiamo intrapreso un trial clinico randomizzato (AVN-13) multicentrico (che coinvolge diverse strutture della Regione Emilia Romagna) che ci permetterà di comprendere quale ruolo sia giocato dai vari fattori in campo e di arruolare un maggior numero di pazienti.

Bibliografia

1. Adelani MA, Crook K, Barrack RL, Maloney WJ, Clohisy JC What is the prognosis of revision total hip arthroplasty in patients 55 years and younger?. *Clin Orthop Relat Res.* 2014 May;472(5):1518-25.
2. Agarwala S, Jain D, Joshi VR, Sule A. Efficacy of alendronate, a bisphosphonate, in the treatment of AVN of the hip. A prospective open-label study. *Rheumatology (Oxford).* 2005;44:352-9. Erratum in: *Rheumatology (Oxford).* 2005;44:569.
3. Aigner N, Schneider W, Eberl V, Knahr K. Core decompression in early stages of femoral head avascular necrosis—an MRI-controlled study. *Int Orthop.* 2002;26:31-5.
4. Alves EM, Angrisani AT, Santiago MB. The use of extracorporeal shock waves in the treatment of osteonecrosis of the femoral head: a systematic review. *Clin Rheumatol.* 2009;28:1247–1251.
5. Asano T, Takahashi KA, Fujioka M, Inoue S, Ueshima K, Hirata T, Okamoto M, Satomi Y, Nishino H, Tanaka T, Hirota Y, Kubo T. Relationship between post renal transplant osteonecrosis of the femoral head and gene polymorphisms related to the coagulation and fibrinolytic systems in Japanese subjects. *Transplantation.* 2004;77:220-5.
6. Atsumi T, Kajiwara T, Hiranuma Y, Tamaoki S, Asakura Y. Posterior rotational osteotomy for nontraumatic osteonecrosis with extensive collapsed lesions in young patients. *J Bone Joint Surg* 2006; 88-A(Suppl): 42-7.
7. Ball ST, Le Duff MJ, Amstutz HC. Early results of conversion of a failed femoral component in hip resurfacing arthroplasty. *J Bone Joint Surg [Am]* 2007;89-A:735–741.
8. Basic Science, Clinical Repair and Reconstruction of Articular Cartilage Defects: Current Status and Prospects. A cura di S.Zanasi, M.Brittberg, M.Marcacci. Vol 1, pp.475-479. Timeo Editore, Bologna 2006
9. Bassett CA, Schink-Ascani M, Lewis SM. Effects of pulsed electromagnetic fields on Steinberg ratings of femoral head osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res.* 1989;246:172–185.
10. Beaulé PE, Amstutz HC, Le Duff M, Dorey F. Surface arthroplasty for osteonecrosis of the hip: hemiresurfacing versus metal-on-metal hybrid resurfacing. *J Arthroplasty.* 2004;19(Suppl 3): 54–58.
11. Beaulé PE, Schmalzried TP, Campbell P, Dorey F, Amstutz HC. Duration of symptoms and outcome of hemiresurfacing for hip osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res.* 2001;385:104–117.
12. Benke GJ, Baker AS, Dounis E. Total hip replacement after upper femoral osteotomy. A clinical review. *J Bone Joint Surg Br.* 1982;64:570-1.
13. Bensaïd W., Oudina K., Viateau V., Potier E., Blanchat C., Sedel L., Petite H. De novo reconstruction of functional bone by tissue engineering in the metatarsal sheep model. *Tissue Engineering* 2005; Volume 11, Number 5/6
14. Berend KR, Gunneson E, Urbaniak JR, Vail TP. Hip arthroplasty after failed free vascularized fibular grafting for osteonecrosis in young patients. *J Arthroplasty.* 2003;18:411–419.

15. Berend KR, Gunneson EE, Urbaniak JR. Free vascularized fibular grafting for the treatment of postcollapse osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am.* 2003;85:987-93.
16. Bianco P, Robey PG, Simmons PJ. Mesenchymal stem cells: revisiting history, concepts, and assays. *Cell Stem Cell.* 2008; 10, 2(4): 3 13-9
17. Bluemke DA, Zerhouni EA. MRI of avascular necrosis of bone. *Top Magn Reson Imaging.* 1996;8:231-46.
18. Bosnakovski D, Mizuno M, Kim G, Takagi S, Okumura M, Fujinaga T: Chondrogenic differentiation of bovine marrow mesenchymal stem cells (MSCs) in different hydrogels: influence of collagen type II extracellular matrix on MSC chondrogenesis. *Biotechnol Bioeng* 2006Apr 20;93(6):1152-63.
19. Bostrom M., Lane J., Tomin E. et al. Use of bone morphogenetic protein 2 in the rabbit ulnar non-union model. *Clin. Orthop.* 327: 272-282
20. Bostrom M.P., Camacho N.P. Potential role of bone morphogenetic proteins in fracture healing. *Clin Orthop Relat Res.* 1998; 355 (suppl): S274–S282
21. Bowers JR, Dailiana ZH, McCarthy EF, Urbaniak JR. Drug therapy increases bone density in osteonecrosis of the femoral head in canines. *J Surg Orthop Adv.* 2004;13:210-6.
22. Bruder S.R., Jaiswal N., Ricalton N.S., Mosca J.D., Kraus K.H., Kadiyala S. Mesenchymal stem cells in osteobiology and applied bone regeneration. *Clinical Orthop And Related Research* 1998; 355s: S247-S256
23. Buckley P.D., Gearen P.F., Petty R.W. Structural bone-grafting for early atraumatic avascular necrosis of the femoral head. *J. Bone J. Surgery,* 73A: 1357-64, 1991.
24. Buckwalter JA; Mankin HJ: Articular Cartilage Part 1: Tissue Design And Chondrocyte Matrix Interactions. *J Bone Joint Surg.* 1997;79:600-611.
25. Camporesi EM, Vezzani G, Bosco G, Mangar D, Bernasek TL. Hyperbaric oxygen therapy in femoral head necrosis. *J Arthroplasty* 2010; 25(6): 118-23.
26. Caplan AI: Tissue engineering strategies for mesenchymal or skeletal tissues. In: Ikada Y e Shimizu Y, Eds *Tissue Engineering for Therapeutic Use 4.* New York: Elsevier Science B. V.2000:67-74.
27. Celeste A.J., Iannazzi J.A., Taylor R.C., Hewick R.M., Rosen V., Wang E.A., Wozney J.M. Identification of transforming growth factor beta family members present in bone-inductive protein purified from bovine bone. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990; 87(24): 9843-7
28. Chandler HP, Reineck FT, Wixson RL, McCarthy JC. Total hip replacement in patients younger than thirty years old: a five-year follow-up study. *J Bone Joint Surg [Am]* 1981;63-A:1426–1434.
29. Chandler FA. Coronary disease of the hip. *J Int Coll Surg* 1949;11:34–6.
30. Chen CH, Chang JK, Huang KY, Hung SH, Lin GT, Lin SY. Core decompression for osteonecrosis of the femoral head at pre collapse stage. *Kaohsiung J Med Sci.* 2000;16:76–82.
31. Chen YW, Chang JK, Huang KY, Lin GT, Lin SY, Huang CY. Hip arthroplasty for osteonecrosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Kaohsiung J Med Sci.* 1999;15:697–703.
32. Cheng et al. Spontaneous resolution of osteonecrosis of the femoral head *JBJSa* 2004.

33. Cheng H., Jiang W., Phillips F.M., et al. Osteogenic activity of the fourteen types of human bone morphogenetic proteins (BMPs). *J Bone Joint Surg Am.* 2003; 85-A(8): 1544-1552
34. Cheras PA. Role of hyperlipidemia, hypercoagulability and hypofibrinolysis in osteonecrosis and osteoarthritis. In: Urbaniak JR, Jones JP, editors. *Osteonecrosis: etiology, diagnosis, and treatment.* Rosemont, IL: American Academy of Orthopaedic Surgeons; 1997. p 97-104.
35. Cherian SF, Laorr A, Saleh KJ, et al. Quantifying the extent of femoral head involvement in osteonecrosis. *J Bone Joint Surg (Am).* 2003;85:309–15.
36. Chernetsky SG, Mont MA, LaPorte DM, Jones LC, Hungerford DS, McCarthy EF. Pathologic features in steroid and nonsteroid associated osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res.* 1999;368:149-61.
37. Clarke HJ, Jinnah RH, Brooker AF, Michaelson JD. Total replacement of the hip for avascular necrosis in sickle cell disease. *J Bone Joint Surg Br.* 1989;71:465–470.
38. Colwell CW Jr, Robinson CA, Stevenson DD, Vint VC, Morris BA. Osteonecrosis of the femoral head in patients with inflammatory arthritis or asthma receiving corticosteroid therapy. *Orthopedics.* 1996;19:941-6.
39. Cook S., Baffes G.C., Woolfe M.V. et al. The effect of recombinant human osteogenic protein 1 on healing of large segmental bone defects. *J. Bone Joint Surgery* 1994; 76: 827-838.
40. Cook S.D. Acceleration of bone healing with OP-1 in a canine non-critical size defect model. 2nd International OP-1 conference, Boston, MA
41. Cook S.D. Preclinical and clinical evaluation of osteogenic protein-1 (BMP-7) in bony sites. *Orthopedics.* 1999; 22(7): 669-71. Review
42. Cornell C., Lane J. Current understanding of osteoconduction in bone regeneration. *Clin Orthop* 1998; 355(Suppl): S267-S273
43. Cornell CN, Salvati EA, Pellicci PM. Long-term follow-up of total hip replacement in patients with osteonecrosis. *Orthop Clin North Am* 1985;16:757–769.
44. Cuckler JM, Moore KD, Estrada L. Outcome of hemi resurfacing in osteonecrosis of the femoral head. *Clin Orthop Relat Res.* 2004;429:146–150.
45. Cui Q, Wang CJ, Su CC, Balian G. Lovastatin prevents steroid induced adipogenesis and osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res.* 1997;344:8-19.
46. D’Antonio JA, Capello WN, Manley MT, Feinberg J. Hydroxyapatite coated implants. Total hip arthroplasty in the young patient and patients with avascular necrosis. *Clin Orthop Relat Res.* 1997; 344:124–138.
47. Dallari D, Fini M, Stagni C, Torricelli P, Nicoli Aldini N, Giavaresi G. In vitro study on the healing of bone defects treated with bone marrow stromal cells, platelet-rich plasma, and freeze-dried bone allografts, alone and in combination. *J Orthop Res.* 2006;24:877–888.
48. Delloye C., Simon P., Nyssen-Behets C., Banse X., Bresler F., Schmitt D. Perforations of cortical bone allografts improve their incorporation. *Clinical Orthop And Related Research* 2002; 396: 240-247
49. Deutsch T., Mankin H. Improved osteoinduction of cortical bone allografts: a study of the effects of laser perforation and partial demineralization. *J Orthop Res* 1997; 15: 748-756

50. Di Bella C, Dozza B, Frisoni T, Cevolani L, Donati D Injection of demineralized bone matrix with bone marrow concentrate improves healing in unicameral bone cyst. *Clin Orthop Relat Res.* 2010 Nov;468(11):3047-55
51. Disch AC, Matziolis G, Perka C. The management of necrosis associated and idiopathic bone-marrow oedema of the proximal femur by intravenous iloprost. *J Bone Joint Surg Br.* 2005;87:560–564.
52. Donati D, Frisoni T, Dozza B, DeGroot H, Albisinni U, Giannini S. Advance in the treatment of aneurysmal bone cyst of the sacrum. *Skeletal Radiol.* 2011 Nov;40(11):1461-6
53. dos Santos JL, Lanaro C, Chin CM. Advances in sickle cell disease treatment: from drug discovery until the patient monitoring. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem* 2011;9:113–127.
54. EdiErmes, *Anatomia Umana*
55. Eftekhar NS, Schink-Ascani MM, Mitchell SN, Bassett CA. Osteonecrosis of the femoral head treated by pulsed electromagnetic fields (PEMFs): a preliminary report. *Hip.* 1983:306–330.
56. Einhorn T.A., Majeska R.J., Oloumi G. et al. Enhancement of experimental fracture healing with a local percutaneous injection of rhBMP-2 (Abstract). American Academy of Orthopaedic Surgeons Annual Meeting 1997
57. Etienne G, Mont MA, Ragland PS. The diagnosis and treatment of nontraumatic osteonecrosis of the femoral head. *Instr Course Lect.* 2004;53:67-85.
58. Ferguson GM, Cabanela ME, Ilstrup DM. Total hip arthroplasty after failed intertrochanteric osteotomy. *J Bone Joint Surg Br.* 1994;76:252-7.
59. Ferrara N. Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor. *J Mol Med.* 1999;77:527–543.
60. Ficat RP. Idiopathic bone necrosis of the femoral head: early diagnosis and treatment. *J Bone Joint Surg (Br).* 1985;67:3–9.)
61. Fink B, Degenhardt S, Paselk C, Schneider T, Modder U, Ruther W. Early detection of avascular necrosis of the femoral head following renal transplantation. *Arch Orthop Trauma Surg.* 1997;116:151-6.
62. Fleming Jr J.E., Cornell C.N., Muschler G.F. Bone cells and matrices in orthopedic tissue engineering. *Orthop Clin North Am* 2000; 31: 357-74
63. Franchini M, Dupplicato P, Ferro I, De Gironcoli M, Aldegheri R: Efficacy of platelet gel in reconstructive bone surgery. *Orthopedics* 2005;28(2)161-3.
64. Friedlaender G.E., Strong D.M., Tomford W., Mankin H.J. Longterm follow-up of patients with osteochondral allografts. A correlation between immunologic responses and clinical outcome. *Orthop Clin North Am* 1999; 30: 583-588.
65. Friedrich MJ. Advances reshaping sickle cell therapy. *JAMA* 2011;305:239–240.
66. Fuchs B, Knothe U, Hertel R, Ganz R. Femoral osteotomy and iliac graft vascularization for femoral head osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res.* 2003;412:84-93.
67. Galois L, Freyria AM, Herbage D, Mainard D: Cartilage tissue engineering: state-of-the-art and future approaches. *Pathol Biol Paris* 2005;53(10):590-8.

68. Gangji V, De Maertelaer V, Hauzeur JP. Autologous bone marrow cell implantation in the treatment of non-traumatic osteonecrosis of the femoral head: Five year follow-up of a prospective controlled study. *Bone*. 2011 Nov;49(5):1005-9.
69. Gangji V, Hauzeur JP, Matos C, De Maertelaer V, Toungouz M, Lambermont M. Treatment of osteonecrosis of the femoral head with implantation of autologous bone-marrow cells. *J Bone Joint Surg Am*. June 2004;86(6): 1153-60
70. Gangji V, Hauzeur JP, Schoutens A, Hinsenkamp M, Appelboom T, Egrise D (2003) Abnormalities in the replicative capacity of osteoblastic cells in the proximal femur of patients with osteonecrosis of the femoral head. *J Rheumatol* 30:348–51
71. Gangji V, Toungouz M, Hauzeur JP. Stem cell therapy for osteonecrosis of the femoral head. *Expert Opin Biol Ther*. 2005;5:437-42.
72. Gardeniers JWM: Report of the Committee of Staging and Nomenclature. *ARCO News Letter*, 5:n°2: 79-82, 1993
73. Gerhart T., Kirker-Head C.A., Kriz M.J. Healing segmental femoral defects in sheep using recombinant human bone morphogenetic protein. *Clin. Orthop* 1993; 293: 317-326
74. Gilbert RE, Cheung G, Carrothers AD, Meyer C, Richardson JB. Functional results of isolated femoral revision of hip resurfacing arthroplasty. *J Bone Joint Surg [Am]* 2010;92-A:1600–1604.
75. Glassman SD, Anagnost SC, Parker A, Burke D, Johnson JR, Dimar JR. The effect of cigarette smoking and smoking cessation on spinal fusion. *Spine*. 2000;25:2608-15.
76. Glueck CJ, Fontaine RN, Gruppo R, Stroop D, Sieve-Smith L, Tracy T, Wang P. The plasminogen activator inhibitor-1 gene, hypofibrinolysis, and osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res*. 1999;366:133-46.
77. Glueck CJ, Freiberg R, Glueck HI, Tracy T, Stroop D, Wang Y. Idiopathic osteonecrosis, hypofibrinolysis, high plasminogen activator inhibitor, high lipoprotein(a), and therapy with Stanozolol. *Am J Hematol*. 1995;48:213-20.
78. Glueck CJ, Freiberg RA, Fontaine RN, Sieve-Smith L, Wang P. Anticoagulant therapy for osteonecrosis associated with heritable hypofibrinolysis and thrombophilia. *Expert Opin Investig Drugs*. 2001;10:1309–1316.
79. Glueck CJ, Freiberg RA, Fontaine RN, Tracy T, Wang P. Hypofibrinolysis, thrombophilia, osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res*. 2001;386:19–33.
80. Griffith JF, Antonio GE, Kumta SM, Hui DS, Wong JK, Joynt GM, Wu AK, Cheung AY, Chiu KH, Chan KM, Leung PC, Ahuja AT. Osteonecrosis of hip and knee in patients with severe acute respiratory syndrome treated with steroids. *Radiology*. 2005;235:168-75.
81. Grigoris P, Safran M, Brown I, Amstutz HC. Long-term results of transtrochanteric rotational osteotomy for femoral head osteonecrosis. *Arch Orthop Trauma Surg*. 1996;115:127-30.
82. Grose AW1, Gardner MJ, Sussmann PS, Helfet DL, Lorich DG. The surgical anatomy of the blood supply to the femoral head: description of the anastomosis between the medial femoral circumflex and inferior gluteal arteries at the hip. *J Bone Joint Surg Br*. 2008 Oct;90(10):1298-303. doi: 10.1302/0301-620X.90B10.20983.
83. Ha Y-C, Jung WH, Kim J-R, Seong NH, Kim S-Y, Koo K-H. Prediction of collapse in femoral head osteonecrosis: a modified Kerboul method with use of magnetic resonance images. *J Bone Joint Surg (Am)*. 2006;88(Supp 3):35–40.

84. Haenisch H. [Arthritis of the hip] [in German]. *Zentralblatt*. 1925;52:1.
85. Hammer M, Geier KA, Aksoy S, Reynolds HM. Perioperative care for patients with sickle cell who are undergoing total hip replacement as treatment for osteonecrosis. *Orthop Nurs* 2003;22:384–397
86. Hanker GJ, Amstutz HC. Osteonecrosis of the hip in the sickle cell diseases. Treatment and complications. *J Bone Joint Surg Am*. 1988;70:499–506
87. Hasegawa Y, Sakano S, Iwase T, Iwasada S, Torii S, Iwata H. Pedicle bone grafting versus transtrochanteric rotational osteotomy for avascular necrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Br*. 2003;85:191-8.
88. Helbig L, Simank HG, Kroeber M, Schmidmaier G, Grutzner PA, Guehring T. Core decompression combined with implantation of a demineralized bone matrix for non-traumatic osteonecrosis of the femoral head. *Arch Orthop Trauma Surg* 2012; published online 8 may 2012.
89. Heldin C., Miyazono K., Dijke P. TGF- β signalling from cell membrane to nucleus trough SMAD proteins. *Nature* 1997; 390: 465-471
90. Hernigou P, Bachir D, Galacteros F. Avascular necrosis of the femoral head in sickle-cell disease. Treatment of collapse by the injection of acrylic cement. *J Bone Joint Surg Br*. 1993;75:875-80.
91. Hernigou P, Beaujean F, Lambotte JC. Decrease in the mesenchymal stem-cell pool in the proximal femur in corticosteroid-induced osteonecrosis. *J Bone Joint Surg Br*. 1999 Mar;81(2):349-55
92. Hernigou P, Beaujean F. Abnormalities in the bone marrow of the iliac crest in patients who have osteonecrosis secondary to corticosteroid therapy or alcohol abuse. *J Bone Joint Surg Am*. 1997;79:1047-53.
93. Hernigou P, Beaujean F. Treatment of osteonecrosis with autologous bone marrow grafting. *Clin Orthop Relat Res*. 2002;405:14-23.
94. Hernigou P, Daltro G, Filippini P, et al. Percutaneous implantation of autologous bone marrow osteoprogenitor cells as treatment of bone avascular necrosis related to sickle cell disease. *The open orthopaedics journal* 2008;2:62–5.
95. Hernigou P, Lambotte SC. Volumetric analysis of osteonecrosis of the femur: anatomical correlation using MRI. *J Bone Joint Surg (Br)*. 2001;83-B:672–5.
96. Hernigou P, Poignard A, Nogier A, Manicom O. Fate of very small asymptomatic stage-I osteonecrotic lesions of the hip. *J Bone Joint Surg Am*. 2004;86:2589-93
97. Hirota Y, Hirohata T, Fukuda K, Mori M, Yanagawa H, Ohno Y, Sugioka Y. Association of alcohol intake, cigarette smoking, and occupational status with the risk of idiopathic osteonecrosis of the femoral head. *Am J Epidemiol*. 1993; 137:530-8.
98. Holman AJ, Gardner GC, Richardson ML, Simkin PA. Quantitative magnetic resonance imaging predicts clinical outcome of core decompression for osteonecrosis of the femoral head. *J Rheumatol*. 1995;22:1929-33.
99. Hong N, Du XK. Avascular necrosis of bone in severe acute respiratory syndrome. *Clin Radiol*. 2004;59:602-8.
100. Hungerford DS, Mont MA. The natural history of untreated asymptomatic hips in patients who have non-traumatic osteonecrosis. *J Bone Joint Surg Am*. 1998;80:765-6.

101. Hungerford DS. Bone marrow pressure, venography and core decompression in ischemic necrosis of the femoral head. In: *The hip: proceedings of the seventh open scientific meeting of The Hip Society*. St Louis: CV Mosby, 1979: 2 18-37
102. Hunziker EB: Articular cartilage repair: basic science and clinical progress. A review of the current status and prospects. *Osteoarthritis Cartilage* 2002;10:432-63.
103. Im GI; Shin YW; Lee KB: Do adipose tissue-derived mesenchymal stem cells have the same osteogenic and chondrogenic potential as bone marrow-derived cells? *Osteoarthritis Cartilage*.2005;13(10):845-53.
104. Inati A. Recent advances in improving the management of sickle cell disease. *Blood Rev* 2009;23(Suppl):9–13.
105. Inoue S, Horii M, Asano T, Fujioka M, Ogura T, Shibatani M, Kim WC, Nakagawa M, Tanaka T, Hirota Y, Kubo T. Risk factors for nontraumatic osteonecrosis of the femoral head after renal transplantation. *J Orthop Sci*. 2003;8:751-6.
106. Ishdou Y., Kitajima I. Obama H et al. Enhanced expression of type I receptors for Bone Morphogenetic Proteins during bone formation. *J. Bone Mineralized Res*. 1995; 10, 1651-1659
107. Jackson DW; Simon TM: Tissue engineering principles in orthopaedic surgery. *Clin Orthop* 1999;367:S31-45.
108. Jergesen HE, Khan AS. The natural history of untreated asymptomatic hips in patients who have non-traumatic osteonecrosis. *J Bone Joint Surg Am*. 1997; 79:359-63.
109. Jiang Y., Balkrishna N., Jahagirdar R., Reinhardt L., Schwartz R.E., Keenek C.D., Xilma R., Ortiz-Gonzalez, Reyes M., Lenvik T., Lund T., Blackstad M., Jingbo Du, Aldrich S., Lisberg A., Lowk W.C., Largaespada D.A. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002; 418
110. Johnson AJ1, Mont MA, Tsao AK, Jones LC Treatment of femoral head osteonecrosis in the United States: 16-year analysis of the Nationwide Inpatient Sample. *Clin Orthop Relat Res*. 2014 Feb;472(2):617-23. doi: 10.1007/s11999-013-3220-3
111. Jones LC, Hungerford DS. Osteonecrosis: etiology, diagnosis, and treatment. *Curr Opin Rheumatol*. 2004;16:443-9.
112. Jones LC, Johnson AJ, Mont MA, Costa CR. Osteonecrosis of hip in adults. *Clinic Rev Bone Miner Metab*. 2011;9:13-22.
113. Kalhor M1, Horowitz K, Gharehdaghi J, Beck M, Ganz R Anatomic variations in femoral head circulation. *Hip Int*. 2012 May-Jun;22(3):307-12. doi: 10.5301/HIP.2012.9242.
114. Kane SM, Ward WA, Jordan LC, Guilford WB, Hanley EN Jr. Vascularized fibular grafting compared with core decompression in the treatment of femoral head osteonecrosis. *Orthopedics*. 1996;19:869-72.
115. Kapandji IA: *Fisiologia articolare*, vol.2 arto inferiore; Monduzzi Editore,2004
116. Kawasaki M, Hasegawa Y, Sakano S, Masui T, Ishiguro N. Total hip arthroplasty after failed transtrochanteric rotational osteotomy for avascular necrosis of the femoral head. *J Arthroplasty* 2005;20:574–579.
117. Kawasumi M, Kitoh H, Siwicka KA, Ishiguro N. The effect of the platelet concentration in platelet-rich plasma gel on the regeneration of bone. *J Bone Joint Surg Br*. 2008;90:966–972

118. Kerboul M, Thomine J, Postel M, D'Aubigne RM. The conservative surgical treatment of idiopathic aseptic necrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Br.* 1974;56:291–296.
119. Khan S,N,, Fraser J,F,, Sandhu H,S,, et al. Use of osteopromotive growth factors, demineralized bone matrix, and ceramics to enhance spinal fusion. *J Am Acad Orthop Surg.* 2005; 13(2): 129-37
120. Khan S.N., Cammisa F.P. Jr, Sandhu H.S., et al. The biology of bone grafting. *J Am Acad Orthop Surg.* 2005; 13(1): 77-86
121. Khanna AJ, Yoon TR, Mont MA, Hungerford DS, Bluemke DA. Femoral head osteonecrosis: detection and grading by using a rapid MR imaging protocol. *Radiology.* 2000;217:188-92.
122. Kim HJ. Hyperbaric oxygen therapy as a treatment for stage-I avascular necrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Br.* 2004;86:150-1.
123. Kim HK, Randall TS, Bian H, Jenkins J, Garces A, Bauss F. Ibandronate for prevention of femoral head deformity after ischemic necrosis of the capital femoral epiphysis in immature pigs. *J Bone Joint Surg Am.* 2005;87:550-7
124. Kim SY, Kim DH, Park IH, et al. Multiple drilling compared with core decompression for the treatment of osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg 86-B (Suppl)* 2004;149.
125. Kim YH, Choi Y, Kim JS. Cementless total hip arthroplasty with alumina-on-highly cross-linked polyethylene bearing in young patients with femoral head osteonecrosis. *J Arthroplasty* 2011;26:218–223.
126. Kirker-Head C.A., Gerhart T., Schellings S. et al. Long term healing of bone using recombinant human bone morphogenetic protein 2. *Clin. Orthop* 1995; 318: 222-230
127. Ko JY, Meyers MH, Wenger DR. “Trapdoor” procedure for osteonecrosis with segmental collapse of the femoral head in teenagers. *J Pediatr Orthop.* 1995; 15:7-15.
128. Koo KH, Kim R, Kim YS, Ahn IO, Cho SH, Song HR, Park YS, Kim H, Wang GJ. Risk period for developing osteonecrosis of the femoral head in patients on steroid treatment. *Clin Rheumatol.* 2002;21:299-303.
129. Koo KH, Kim R. Quantifying the extent of osteonecrosis of the femoral head: a new method using MRI. *J Bone Joint Surg (Br).* 1995;77:875–80.
130. Kotani H, Kawaguchi H, Shimoaka T, Iwasaka M, Ueno S, Ozawa H, Nakamura K, Hoshi K (2002) Strong static magnetic field stimulates bone formation to a definite orientation in vitro and in vivo. *J Bone Miner Res* 17(10):1814–1821
131. Kotecha RS, Powers N, Lee SJ, et al. Use of bisphosphonates for the treatment of osteonecrosis as a complication of therapy for childhood acute lymphoblastic leukaemia (ALL). *Pediatr Blood Cancer* 2010;54:934–940.
132. Lai KA, Shen WJ, Yang CY, Shao CJ, Hsu JT, Lin RM. The use of alendronate to prevent early collapse of the femoral head in patients with non traumatic osteonecrosis. *J Bone Joint Surg Am.* 2005;87:2155-9.
133. LaPorte DM, Mont MA, Mohan V, Jones LC, Hungerford DS. Multifocal osteonecrosis. *J Rheumatol.* 1998;25:1968-74.
134. Le Parc JM. Quantitative MRI predicts clinical outcome of core decompression for osteonecrosis of the femoral head. *J Rheumatol.* 1996;23:1117.

135. Leblicq C, Laverdière C, Décarie JC, Delisle JF, Isler MH, Moghrabi A, Chabot G, Alos N. Effectiveness of pamidronate as treatment of symptomatic osteonecrosis occurring in children treated for acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2013 May;60(5):741-7
136. Lee DH1, Ryu KJ, Kim JW, Kang KC, Choi YR. Bone Marrow Aspirate Concentrate and Platelet-rich Plasma Enhanced Bone Healing in Distraction Osteogenesis of the Tibia. *Clin Orthop Relat Res*. 2014 Mar 6. [Epub ahead of print]
137. Lee JS, Koo KH, Ha YC, Koh KK, Kim SJ, Kim JR, Song HR, Cho SH. Role of thrombotic and fibrinolytic disorders in osteonecrosis of the femoral head. *Clin Orthop Relat Res*. 2003;417:270-6.
138. Lee JS, Lee JS, Roh HL, Kim CH, Jung JS, Suh KT. Alteration in the differentiation ability of mesenchymal stem cells in patients with nontraumatic osteonecrosis of the femoral head: comparative analysis according to the risk factor. *J Orthop Res*. April 2006;24:604-9.
139. Lian Zhu, Wei Liu, Lei Cui and Yilin Cao. Tissue-engineered bone repair of goat femur defects with osteogenically induced bone marrow stromal cells. *Tissue Engineering* 2006; Volume 12, Number 3
140. Lieberman JR, Berry DJ, Mont MA, Aaron RK, Callaghan JJ, Rajadhyaksha AD, Urbaniak JR. Osteonecrosis of the hip: management in the 21st century. *Instr Course Lect*. 2003;52:337-55.
141. Lieberman JR, Conduah A, Urist MR. Treatment of osteonecrosis of the femoral head with core decompression and human bone morphogenetic protein. *Clin Orthop Relat Res*. 2004;429:139-45.
142. Lieberman JR. Core decompression for osteonecrosis of the hip. *Clin Orthop Relat Res*. 2004;418:29-33.
143. Liu Y, Liu S, Su X (2013) Core decompression and implantation of bone marrow mononuclear cells with porous hydroxyapatite composite filler for the treatment of osteonecrosis of the femoral head. *Arch Orthop Trauma Surg* 133(1):125–133
144. Liu YF, Chen WM, Lin YF, Yang RC, Lin MW, Li LH, Chang YH, Jou YS, Lin PY, Su JS, Huang SF, Hsiao KJ, Fann CS, Hwang HW, Chen YT, Tsai SF. Type II collagen gene variants and inherited osteonecrosis of the femoral head. *N Engl J Med*. 2005;352:2294-301.
145. Lohmann C.H., Andreacchio D., Köster G., Carnes D.L. Jr., Cochran D.L. Dean D.D., Boyan B.D., Schwartz Z. Tissue response and osteoinduction of human bone grafts in vivo. *Arch Orthop Trauma Surg* 2001; 121 :583-590
146. Longobardi L, O'Rear L, Aakula S, Johnstone B, Shimer K, Chytil A., et al.: Effect of IGF-I in the chondrogenesis of bone marrow mesenchymal stem cells in the presence or absence of TGF-beta signalling. *J Bone Miner Res*. 2006;21(4):626-36.
147. Lucarelli E, Beccheroni A, Donati D, Sangiorgi L, Cenacchi A, Del Vento AM, et al.: Platelet-derived growth factors enhance proliferation of human stromal stem cells. *Biomaterials* 2003;24(18):3095-100.
148. Lucarelli E., Fini M., Beccheroni A., Giavaresi G., Di Bella C., Nicoli Aldini N., Guzzardella G., Martini L., Cenacchi A., Di Maggio N., Sangiorgi L., Fornasari P.M., Mercuri M., Giardino R., Donati D. Stromal Stem Cells and Platelet-Rich Plasma Improve Bone Allograft Integration. *Clinical Orthopaedics And Related Research* 2005; Number 435, pp. 62–68

149. Ludwig J, Lauber S, Lauber HJ, Dreisilker U, Raedel R, Hotzinger H. High- energy shock wave treatment of femoral head necrosis in adults. *Clin Orthop Relat Res.* 2001;387:119-26.
150. Ludwig J, Lauber S, Lauber HJ, Dreisilker U, Raedel R, Hotzinger H. High-energy shock wave treatment of femoral head necrosis in adults. *Clin Orthop Relat Res.* 2001;387:119–126.
151. M. Zlotorowicz, J. Czubak, A. Caban, P. Kozinski, and R. Boguslawska-Walecka The blood supply to the femoral head after posterior fracture/dislocation of the hip, assessed by CT angiography. *Bone Joint J* November 2013 95-B:1453-1457.
152. Majors AK; Bohem CA; Nitto H; Midura RJ; Muschler GF: Characterization of human bone marrow stromal cells with respect to osteoblastic differentiation. *J Orthop Res.* 1997;15:546-57.
153. Malizos KN, Quarles LD, Dailiana ZH, Rizk WS, Seaber AV, Urbaniak JR. Analysis of failures after vascularized fibular grafting in femoral head necrosis. *Orthop Clin North Am.* 2004;35:305-14, viii.
154. Marker DR, Seyler TM, Ulrich SD, Srivastava S, Mont MA et al. Do Modern Techniques Improve Core Decompression Outcomes for Hip Osteonecrosis?, *Clin Orthop Relat Res.* 2008;466:1093-1103.
155. Marulanda GA, Minniti CP, Ulrich SD, Seyler TM, Mont MA. Perioperative management for orthopaedic patients with sickle cell anaemia. *J Orthop Surg* 2009;17:346–350
156. Matsuo K, Hirohata T, Sugioka Y, Ikeda M, Fukuda A. Influence of alcohol intake, cigarette smoking, and occupational status on idiopathic osteonecrosis of the femoral head. *Clin Orthop Relat Res.* 1988;234:115-23.
157. May DA, Disler DG. Screening for avascular necrosis of the hip with rapid MRI: preliminary experience. *J Comput Assist Tomogr.* 2000;24:284-7.
158. Mazières B, Marin F, Chiron P, Moulinier L, Amigues JM, Laroche M, Cantagrel A. Influence of the volume of osteonecrosis on the outcome of core decompression of the femoral head. *Ann Rheum Dis.* 1997;56:747-50.
159. Mazzucco L, Medici D, Serra M, Panizza R, Rivara G, Orecchia S, et al.: The use of autologous platelet gel to treat difficult-to-heal wounds: a pilot study. *Transfusion* 2004;44(7):1013-8.
160. McGrath MS, Marker DR, Seyler TM, Ulrich SD, Mont MA. Surface replacement is comparable to primary total hip arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res* 2009;467:94–100.
161. McGrory BJ, York SC, Iorio R, et al. Current practices of AAHKS members in the treatment of adult osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am* 2007;89(6):1194–204
162. Meinel L., Karageorgiou V., Hofmann S., Fajardo R., Snyder B., Chunmei Li, Zichner L., Langer R., Vunjak-Novakovic G., Kaplan D.L.. Engineering bone-like tissue in vitro using human bone marrow stem cells and silk scaffolds 2004; Wiley Periodicals, Inc
163. Meizer R, Radda C, Stolz G, Kotsaris S, Petje G, Krasny C, Wlk M, Mayerhofer M, Landsiedl F, Aigner N. MRI-controlled analysis of 104 patients with painful bone marrow edema in different joint localizations treated with the prostacyclin analogue iloprost. *Wien Klin Wochenschr.* 2005;117:278-86.

164. Min BW, Lee KJ, Song KS, Bae KC, Cho CH. Highly cross-linked polyethylene in total hip arthroplasty for osteonecrosis of the femoral head: a minimum 5-year followup study. *J Arthroplasty* 2013;28:526–530
165. Min BW, Song KS, Cho CH, Lee SM, Lee KJ. Untreated asymptomatic hips in patients with osteonecrosis of the femoral head. *Clin Orthop Relat Res.* 2008;466:1087–1092
166. Miyanishi K, Yamamoto T, Irida T, Noguchi Y, Sugioka Y, Iwamoto Y. Increased level of apolipoprotein B/apolipoprotein A1 ratio as a potential risk for osteonecrosis. *Ann Rheum Dis.* 1999;58:514-6.
167. Mont M.A., Etienne G., Ragland P.S., Outcome of non vascularized bone grafting for osteonecrosis of the femoral head. *Clin. Orthop.*, 417:84-92, 2003.
168. Mont MA, Carbone JJ, Fairbank AC. Core decompression versus non-operative management for osteonecrosis of the hip. *Clin Orthop Relat Res.* 1996;324:169-78
169. Mont MA, Einhorn TA, Sponseller PD, Hungerford DS. The trapdoor procedure using autogenous cortical and cancellous bone grafts for osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Br.* 1998;80:56-62.
170. Mont MA, Fairbank AC, Krackow KA, Hungerford DS. Corrective osteotomy for osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am.* 1996;78:1032-8.
171. Mont MA, Glueck CJ, Pacheco IH, Wang P, Hungerford DS, Petri M. Risk factors for osteonecrosis in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 1997;24:654-62.
172. Mont MA, Jones LC, Einhorn TA, Hungerford DS, Reddi AH. Osteonecrosis of the femoral head. Potential treatment with growth and differentiation factors. *Clin Orthop* 1998; 355: 314-335
173. Mont MA, Jones LC, Hungerford DS. Survival analysis of hips treated with core decompression or vascularized fibular grafting because of avascular necrosis. *J Bone Joint Surg Am.* 2000;82:290-1.
174. Mont MA, Jones LC, Pacheco I, Hungerford DS. Radiographic predictors of outcome of core decompression for osteonecrosis stage III. *Clin Orthop.* 1998;354:159–68.
175. Mont MA, Ragland PS, Etienne G. Core decompression of the femoral head for osteonecrosis using percutaneous multiple small-diameter drilling. *Clin Orthop Relat Res.* 2004;429:131-8.
176. Muschler GF; Midura RJ: Connective tissue progenitors: practical concepts for clinical applications. *Clin Orthop.* 2002;345:66-80.
177. Muschler GF; Nitto H; Bohem CA; Easley KA: Age- and gender-related changes in the cellularity of human bone marrow and the prevalence of osteoblastic progenitors. *J Orthop Res.* 2001;19:117-25
178. Mutijima E, De Maertelaer V, Deprez M, Malaise M, Hauzeur JP The apoptosis of osteoblasts and osteocytes in femoral head osteonecrosis: its specificity and its distribution. *Clin Rheumatol.* 2014 Apr 15. [Epub ahead of print]
179. Mygind T., Stiehler M., Baatrup A., Li H., Zou X., Flyvbjerg A., Kassem M., Bünger C. Mesenchymal stem cell ingrowth and differentiation on coralline hydroxyapatite scaffolds. *Biomaterials* 2007; 28(6): 1036-47
180. Nakamura Y, Kumazawa Y, Mitsui H, Toh S, Katano H. Combined rotational osteotomy and vascularized iliac bone graft for advanced osteonecrosis of the femoral head. *J Reconstr Microsurg.* 2005;21:101-5.

181. Nam KW, Kim YL, Yoo JJ, Koo KH, Yoon KS, Kim HJ. Fate of untreated asymptomatic osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am.* 2008;90:477–484
182. Neumayr LD, Aguilar C, Earles AN, Jergesen HE, Haberkern CM, Kammen BF, Nancarrow PA, Padua E, Milet M, Stulberg BN, Williams RA, Orringer EP, Graber N, Robertson SM, Vichinsky EP. Physical therapy alone compared with core decompression and physical therapy for femoral head osteonecrosis in sickle cell disease. Results of a multicenter study at a mean of three years after treatment. *J Bone Joint Surg Am.* 2006;88:2573–2582
183. Nguyen T, Zacharin MR. Pamidronate treatment of steroid associated osteonecrosis in young patients treated for acute lymphoblastic leukaemia—Two-year outcomes. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2006;19: 161–167.
184. Ohzono K, Natural history of non traumatic avascular necrosis of the femoral head. *JBJS* 1991
185. Oreffo RO, Cooper C, Mason C, Clements M: Mesenchymal stem cells: lineage, plasticity, and skeletal therapeutic potential. *Stem Cell Rev.* 2005;1(2):169-78
186. Owen M., Friedenstein A.J. Stromal stem cells: marrow-derived osteogenic precursors. *Ciba Found Symp.* 1988; 136: 42-60
187. Peskin B, Shupak A, Levin D, Norman D, Jacob Z, Boss JF, Misselevich I, Reis DN, Zinman C. Effects of non-weight bearing and hyperbaric oxygen therapy in vascular deprivation-induced osteonecrosis of the rat femoral head. *Undersea Hyperb Med.* 2001;28:187-94.
188. Pieri F, Lucarelli E, Corinaldesi G, Fini M, Aldini NN, Giardino R, Donati D, Marchetti C. Effect of mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma on the healing of standardized bone defects in the alveolar ridge: a comparative histomorphometric study in minipigs. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009 Feb;67(2):265-72. doi: 10.1016/j.joms.2008.06.036.
189. Pieri F, Lucarelli E, Corinaldesi G, Iezzi G, Piattelli A, Giardino R, Bassi M, Donati D, Marchetti C. Mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma enhance bone formation in sinus grafting: a histomorphometric study in minipigs. *J Clin Periodontol.* 2008 Jun;35(6):539-46
190. Pierini M, Di Bella C, Dozza B, Frisoni T, Martella E, Bellotti C et al. The posterior iliac crest outperforms the anterior iliac crest when obtaining mesenchymal stem cells from bone marrow. *J Bone Joint Surg Am.* 2013 19:95(12):1101-7.
191. Plakseychuk AY, Kim SY, Park BC, Varitimidis SE, Rubash HE, Sotereanos DG. Vascularized compared with non vascularized fibular grafting for the treatment of osteonecrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Am.* 2003;85:589-96.
192. Poggie R., Cohen R., Christie M., Heiner A., Brown T.: Biomechanical analysis and clinical study of a porous tantalum implant for intervening in femoral head avn. ARCO, Baltimore, October 5-6, 2000.
193. Poplich L.S., Salfed S.L., Rueger D.C., et al. Critical and non critical size defect healing with osteogenic protein 1. *Trans Orthop. Res. Soc.* 22, 600
194. Pritchett JW. Statin therapy decreases the risk of osteonecrosis in patients receiving steroids. *Clin Orthop Relat Res.* 2001;386:173-8.
195. Pui CH1, Pei D2, Campana D3, Cheng C2, Sandlund JT4, Bowman WP5, Hudson MM4, Ribeiro RC4, Raimondi SC6, Jeha S4, Howard SC4, Bhojwani D4, Inaba H4, Rubnitz JE4,

- Metzger ML⁴, Gruber TA⁴, Coustan-Smith E³, Downing JR⁶, Leung WH⁷, Relling MV⁸, Evans WE⁸ Leukemia. 2014 Apr 30 A revised definition for cure of childhood acute lymphoblastic leukemia..
196. Rajagopal M, Balch Samora J, Ellis TJ (2012) Efficacy of core decompression as treatment for osteonecrosis of the hip: a systematic review. *Hip Int* 22(5):489–493
 197. Ramesh Kumar Sen, MS, DNB, PhD,* Sujit Kumar Tripathy, DNB, Dip SICOT, MNAMS,* Sameer Aggarwal, MS,* Neelam Marwaha, MD,y Ratti Ram Sharma, MD,y and Niranjan Khandelwal, MDz. Early Results of Core Decompression and Autologous Bone Marrow Mononuclear Cells Instillation in Femoral Head Osteonecrosis. A Randomized Control Study. *The Journal of Arthroplasty* Vol. 27 No. 5 2012
 198. Reddi A.H., Huggins C.B. Biochemical sequences in the transformation of normal fibroblasts in adolescent rats. *Proc Natl Acad Sci* 1972; 69: 1601-1605
 199. Reddi A: Morphogenesis and tissue engineering of bone and cartilage: inductive signals, stem cells, and biomimetic biomaterials. *Tissue Eng.* 2000;6:351-9.
 200. Reis ND, Schwartz O, Militianu D, Ramon Y, Levin D, Norman D, Melamed Y, Shupak A, Goldsher D, Zinman C. Hyperbaric oxygen therapy as a treatment for stage-I avascular necrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Br.* 2003; 85:371-5.
 201. Rijnen WH, Gardeniers JW, Buma P, Yamano K, Slooff TJ, Schreurs BW. Treatment of femoral head osteonecrosis using bone impaction grafting. *Clin Orthop Relat Res.* 2003;417:74-83.
 202. Riley E.H., Lane J.M., Urist M.R., Lyons K.M., Lieberman J.R. Bone morphogenetic protein-2: biology and applications. *Clin Orthop Relat Res.* 1996; 324: 39-46
 203. Rosenwasser M.P., Garino J.P., Kiernan H.A., Michelsen C.B., Long term follow-up of thorough debridement and cancellous bone grafting of the femoral head for avascular necrosis. *Clin. Orthop.*, 306:17-27, 1994.
 204. Sacchetti B., Funari A., Michienzi S., Di Cesare S., Piersanti S., Saggio I., Tagliafico E., Ferrari S., Robey P.G., Riminucci M. and Bianco P. *Cell* 2007; 131: 324–336
 205. Sakamoto M, Shimizu K, Iida S, Akita T, Moriya H, Nawata Y. Osteonecrosis of the femoral head: a prospective study with MRI. *J Bone Joint Surg Br.* 1997; 79:213-9.
 206. Sakou T. Bone morphogenetic proteins: from basic studies to clinical approaches. *Bone* 1998; 22: 591-603
 207. Sampath T.K., Reddi A.H. Dissociative extraction and reconstitution of extracellular matrix components involved in local bone differentiation. *Proc Natl Acad Sci* 1981; 78: 7599-7602
 208. Scher MA, Jakim I. Late follow-up of femoral head avascular necrosis managed by intertrochanteric osteotomy and bone grafting. *Acta Orthop Belg.* 1999; 65 Suppl 1:73-7.
 209. Schrappe M, Beier R, Bürger B New treatment strategies in childhood acute lymphoblastic leukaemia.. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2002 Dec;15(4):729-40. Review.
 210. Scully SP, Aaron RK, Urbaniak JR. Survival analysis of hips treated with core decompression or vascularized fibular grafting because of avascular necrosis. *J Bone Joint Surg Am.* 1998;80:1270-5.
 211. Seber S, Omeroğlu H, Cetinkanat H, Köse N (2003) The efficacy of pulsed electromagnetic fields used alone in the treatment of femoral head osteonecrosis: a report of two cases. *Acta Orthop Traumatol Turc* 37(5):410–413

212. Shannon BD, Trousdale RT. Femoral osteotomies for avascular necrosis of the femoral head. *Clin Orthop Relat Res.* 2004;418:34-40.
213. Shen J, Liang BL, Zeng QS, Chen JY, Liu QY, Chen RC, Zhong NS. [Report on the investigation of lower extremity osteonecrosis with magnetic resonance imaging in recovered severe acute respiratory syndrome in Guangzhou]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2004;84:1814-7. Chinese.
214. Shuler MS, Rooks MD, Roberson JR. Porous tantalum implant in early osteonecrosis of the hip: preliminary report on operative, survival, and outcomes results. *J Arthroplasty* 2007; 22(1): 26-31.
215. Sigholm G., Gendler E., McKellop H., et al: Graft perforations favor osteoinduction: studies of rabbit cortical grafts sterilized with ethylene oxide. *Acta Orthop Scand* 1992; 63: 177-182
216. Simank HG, Brocai DR, Brill C, Lukoschek M. Comparison of results of core decompression and intertrochanteric osteotomy for nontraumatic osteonecrosis of the femoral head using Cox regression and survivorship analysis. *J Arthroplasty.*2001;16:790-4.
217. Simmons P.J., Masinovsky B., Longenecker B.M., Berenson R., Torok-Storb B., Gallatin W.M. Vascular cell adhesion molecule-1 expressed by bone marrow stromal cells mediates the binding of hematopoietic progenitor cells. *Blood* 1992; 80:388–95
218. Simmons PJ, Torok-Storb B. Identification of stromal cell precursors in human bone marrow by a novel monoclonal antibody, STRO-1. *Blood* 1991;78:55–62
219. Søballe K., Jensen T.B., Rahbek O., Overgaard S.. Platelet rich plasma and fresh frozen bone allograft as enhancement of implant fixation. An experimental study in dogs. *Journal of Orthopaedic Research* 2004; 22: 653-658
220. Stauffer RN. Ten-year follow-up study of total hip replacement. *J Bone Joint Surg [Am]* 1982;64-A:983–990.
221. Steinberg et al. The conservative management of avascular necrosis of the femoral head. In *Bone circulation* 1984.
222. Steinberg ME, Bands RE, Parry S, Hoffman E, Chan T, Hartman KM. Does lesion size affect the outcome in avascular necrosis? *Clin Orthop.* 1999;367:262–71.
223. Steinberg ME, Larcom PG, Strafford B, Hosick WB, Corces A, Bands RE, et al. Core decompression with bone grafting for osteonecrosis of the femoral head. *Clin Orthop Relat Res.* 2001;386:71–8.
224. Steinberg ME, Mont MA. Osteonecrosis. In: Chapman MW, editor. *Chapman’s orthopaedic surgery.* 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2001. p 3263.
225. Stulberg BN, Davis AW, Bauer TW, Levine M, Easley K. Osteonecrosis of the femoral head. A prospective randomized treatment protocol. *Clin Orthop Relat Res* 1991; 268: 140-51
226. Tagil M, Astrand J, Westman L, Aspenberg P. Alendronate prevents collapse in mechanically loaded osteochondral grafts: a bone chamber study in rats. *Acta Orthop Scand.* 2004;75:756-61.
227. Takao Y. Bone bonding behavior and clinical use of A-W glass ceramic in “Bone Grafts, Derivates and substitutes” 1994; Urist M et al; Butterworth-Heinemann Ltd, pp. 245-259
228. Tarsoly E., Ostrowski K., Moskalewski S., et al: Incorporation of lyophilized and radiosterilized perforated and unperforated bone grafts in dogs. *Acta Chir Acad Sci Hung* 1969; 10: 55-63

229. Termaat M.F., Den Boer F.C., Bakker F.C., et al. Bone morphogenetic proteins. Development and clinical efficacy in the treatment of fractures and bone defects. *J Bone Joint Surg Am.* 2005; 87(6): 1367-1378
230. Tetik C et al (2011) Comparison of early results of vascularized and non-vascularized fibular grafting in the treatment of osteonecrosis of the femoral head. *Acta Orthop Traumatol Turc* 45(5):326–334
231. Ting-Ting Tang A., Hua Lu B., Ke-Rong Dai. Osteogenesis of freeze-dried cancellous bone allograft loaded with autologous marrow-derived mesenchymal cells. *Materials Science and Engineering* 2002; C 20: 57–61
232. Urbaniak JR, Coogan PG, Gunneson EB, Nunley JA. Treatment of osteonecrosis of the femoral head with free vascularized fibular grafting. A long-term follow-up study of one hundred and three hips. *J Bone Joint Surg Am.* 1995;77:681-94.
233. Urist M.R. Bone formation by autoinduction. *Science* 1965; 150: 893-899
234. Vail T.P., Urbaniak J.R.: Proximal femur fractures after free vascularized fibular grafting to the hip. *J Bone J. Surgery*, 78A: 204-11,1996.
235. Van Veldhuizen PJ, Neff J, Murphey MD, Bodensteiner D, Skikne BS. Decreased fibrinolytic potential in patients with idiopathic avascular necrosis and transient osteoporosis of the hip. *Am J Hematol.* 1993;44:243-8.
236. Varitimidis SE, Dimitroulias AP, Karachalios TS, Dailiana ZH, Malizos KN. Outcome after tantalum rod implantation for treatment of femoral head osteonecrosis: 26 hips followed for an average of 3 years. *Acta Orthop* 2009; 80(1): 20-5.
237. Veillette C.J.H., McKee M.D. Growth factors — BMPs, DBMs, and buffy coat products: are there any proven differences amongst them? *Injury, Int. J. Care Injured* 2007; 38S1, S38-S48
238. Wang CJ et al (2012) Long-term results of extracorporeal shockwave therapy and core decompression in osteonecrosis of the femoral head with eight- to nine-year follow-up. *Biomed J* 35(6):481–485
239. Wang CJ, Wang FS, Huang CC, Yang KD, Weng LH, Huang HY. Treatment for osteonecrosis of the femoral head: comparison of extracorporeal shock waves with core decompression and bone-grafting. *J Bone Joint Surg Am.* 2005;87:2380-7.
240. Wang GJ, Cui Q, Balian G. The pathogenesis and prevention of steroid-induced osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res.* 2000;370:295-310.
241. Wang GJ, Cui Q. The pathogenesis of steroid-induced osteonecrosis and the effect of lipid-clearing agents on this mechanism. In: Urbaniak JR, Jones JP, editors. *Osteonecrosis: etiology, diagnosis, and treatment.* Rosemont, IL: American Academy of Orthopaedic Surgeons; 1997. p 159-66.
242. Weinstein RS, Jilka RL, Parfitt AM, Manolagas SC (1998) Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids. Potential mechanisms of their deleterious effects on bone. *J Clin Investig* 102:274–82
243. Weinstein RS, Nicholas RW, Manolagas SC (2000) Apoptosis of osteocytes in glucocorticoid-induced osteonecrosis of the hip. *J Clin Endocrinol Metab* 85:2907–12
244. Wing PC, Nance P, Connell DG, Gagnon F. Risk of avascular necrosis following short term megadose methylprednisolone treatment. *Spinal Cord.* 1998;36:633-6.

245. Wood ML, Kelley SS. Cement supplementation as a treatment for osteonecrosis. *Curr Opin Orthop.* 2003;14:23-9.
246. Wood ML, McDowell CM, Kerstetter TL, Kelley SS. Open reduction and cementation for femoral head fracture secondary to avascular necrosis: preliminary report. *Iowa Orthop J.* 2000;20:17-23.
247. Wozney J.M., Rosen V. Bone morphogenetic protein and bone morphogenetic protein gene family in bone formation and repair. *Clin Orthop Relat Res.* 1998; 346: 26-37. Review
248. Wozney J.M., Rosen V., Celeste A.J., et al. Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science* 1988; 16, 242(4885): 1528-15
249. Yasko A., Lane J., Fellingner E. The healing of segmental bone defects induced by recombinant human morphogenetic protein 2. A radiographic, histological and biomechanical study in rats. *J Bone Joint Surg* 1992; 74: 659-670
250. Yen CY, Lee SS, Yuan LJ, Fu TS, Chan YS, Chen CY, Tu YK, Ueng SW. Vascularized island pedicle iliac bone grafting for avascular necrosis of the femoral head. *Chang Gung Med J.* 2000;23:536-41.
251. Yeoh AE1, Tan D, Li CK, Hori H, Tse E, Pui CH Management of adult and paediatric acute lymphoblastic leukaemia in Asia: resource-stratified guidelines from the Asian Oncology Summit 2013 *Lancet Oncol.* 2013 Nov;14(12); Asian Oncology Summit 2013
252. Yoshida T, Kanayama Y, Okamura M, Negoro N, Inoue T, Yoshikawa J. Long- term observation of avascular necrosis of the femoral head in systemic lupus erythematosus: an MRI study. *Clin Exp Rheumatol.* 2002;20:525-30.
253. Yuan B, Liu Z. Treatment of osteonecrosis of the femoral head: combination of operation and multiple cellular mediators. *Med Hypotheses.* 2007;68(3):502-5.
254. Zhao D et al (2013) Tantalum rod implantation and vascularized iliac grafting for osteonecrosis of the femoral head. *Orthopedics* 36(6):789–795
255. Zhao D, Cui D, Wang B, Tian F, Guo L, Yang L et al. Treatment of early stage osteonecrosis of the femoral head with autologous implantation of bone marrow-derived and cultured mesenchymal stem cells. *Bone.* 2012;50:325-30.
256. Zhu H., Kavsak P., Abdollah S., Wrana J. L. & Thomsen G.H. A SMAD ubiquitin ligase targets the BMP pathway and affects embryonic pattern formation. *Nature* 1999; 400: 687-693
257. Ziran B., Cheung S., Smith W., et al. Comparative efficacy of 2 different demineralized bone matrix allografts in treating long-bone nonunions in heavy tobacco smokers. *Am J Orthop.* 2005; 34(7): 329-32