

Studio sull'efficacia dell'innesto autologo di cellule staminali mesenchimali nelle lesioni degenerative vulvari.

D. De Vita, A. Russo, C. Lubrano Lobianco, M. Marino, V. Stefanelli, M. Scotti, M. Di Stefano, E. Coppola, M. Giglio, P. Carbone, P. Cifone, V. Giacoia, M. Piro.
UOC Ostetricia-Ginecologia PO A. Rizzoli di Ischia ASL NAPOLI 2 NORD

Riassunto

Il lichen scleroso è una patologia rara che si manifesta con irregolarità della cute, di colore chiaro e molto sottile. Tale patologia può colpire qualunque parte della cute, ma molto spesso interessa la cute della vulva, del pene e della regione perianale. È una patologia infiammatoria cronica, ad eziologia sconosciuta; l'ipotesi più accreditata è quella autoimmune anche se non è stata mai dimostrata. Tende ad essere una patologia recidivante, senza una terapia risolutiva. Una paziente di anni 50, veniva presso l'ambulatorio di Uroginecologia e del Dolore Pelvico Cronico del PO A. Rizzoli di Iacca Ameno, Ischia, con pizzicore e dolore vulvare. Durante il periodo di 12 mesi la sintomatologia della paziente è andata progressivamente peggiorando, con la comparsa di disuria, dischezia, emorroidi e dispareunia. L'ispezione mostrava piccole labbra, clitoride ed introito vaginale sottili, biancastri e brillanti; le lesioni si estendevano alla forchetta, al perineo ed alla cute perianale. La cute appariva sottile e fragile con struttura simile a cellophane; l'aspetto clinico deponeva per una diagnosi di lichen scleroso vulvare; la diagnosi differenziale include il lichen planus, il pemphigo cicatriziale, la sclerodermia morphea, e la neoplasia intraepiteliale. È stata sottoposta a biopsia vulvare, l'esame istopatologico descriveva degenerazione idropica delle cellule dello strato basale, edema, omogeneizzazione del collagene ed intenso infiltrato infiammatorio del derma sottostante, confermando la diagnosi di lichen scleroso. I tamponi cervicali, vaginali ed uretrali effettuati (con metodo Gram) mostravano cellule epiteliali e lattobacilli regolari senza segni di flogosi. La terapia con diflucortolone 21 valerato due volte al giorno per 2 mesi ha migliorato solo moderatamente le lesioni e la sintomatologia dolorosa. L'effetto positivo è stato limitato nel tempo, come anche il trattamento con clorachina per via orale 250-mg per 4 mesi in combinazione con terapia estrogenica locale e con tretinoina allo 0,025%; per cui l'unica possibilità ci è sembrata trovare una terapia alternativa efficace e ben tollerata che potesse darci come obiettivo una remissione completa ed a lungo termine. Abbiamo sottoposto la paziente a trapianto di tessuto adiposo autologo a livello vulvare mediante metodo di processazione "Lipogems", con miglioramento significativo della sintomatologia e della condizione clinica a distanza di 12 mesi.

Introduzione

Il lichen scleroso vulvare è una patologia degenerativa, abbastanza diffusa, che condiziona in maniera significativa la qualità di vita delle pazienti, la sintomatologia è caratterizzata da dispareunia e vulvodinia. Essendo una patologia che interessa prevalentemente lo strato cutaneo è classificata anche come "dermatite atopica", caratterizzata da un progressivo assottigliamento dello spessore cutaneo, perdita di elasticità, atrofia vulvare e comparsa di abrasioni e lesioni superficiali; spesso si associa a dolore pelvico cronico. La patogenesi è sconosciuta, ma rientra nelle patologie ad eziologia immunitaria; è spesso associata ad infezioni virali, patologie reumatiche ed endometriosi. I trattamenti tradizionali sono la terapia medica con applicazione locale di creme e/o unguenti a base di cortisone, testosterone propionato al 2%, vitamina E ed estrogeni locali. Spesso la terapia medica non è sufficiente e si verificano riacutizzazioni della patologia.

La complessità strutturale della vulva risulta dalla sua origine embriologica, infatti la vulva deriva da tutte le tre placche del disco embrionario: l'epitelio di rivestimento dall'endoderma, le strutture connettivali dal mesoderma ed il vestibolo vaginale dall'ectoderma. Ampia variabilità morfologica ed istologica è data anche dal diverso sviluppo del clitoride che prende origine dal tubercolo

genitale, le piccole labbra dalle pliche labio uretrali e le grandi labbra dai rilievi labio-scrotali. Il termine “lichen” è prettamente di natura clinico-dermatologica, utilizzato per lesioni tra loro diverse ma che presentano caratteristiche comuni, come la presenza di papule ravvicinate, che somigliano ai licheni, e cute ispessita. Il termine “lichenificazione”, che ne deriva, indica un ispessimento uniforme della cute. Con il termine di “lichen sclerosus” si intende un alterato trofismo e maturazione epiteliale; la sede maggiormente interessata è la vulva (90%), l’incidenza è 6 volte più frequente nelle donne rispetto agli uomini, nel 90% si presenta in età perimenopausale e menopausale, nel 10% in età infantile. La diagnosi necessita di un prelievo biotico, che può escludere una neoplasia o VIN sovrapposta, la biopsia è fondamentale per la diagnosi differenziale con vitiligo, lichen planus, atrofia senile e dermatiti irritative. La sintomatologia si presenta con prurito, bruciore, secchezza e dispareunia. L’istopatologia mostra la presenza nel derma di infiltrato infiammatorio (linfociti, cellule dendritiche, macrofagi) con atrofia progressiva dell’epidermide che diventa sottile e piatta, ed ispessimento progressivo del derma per sclerosi, cioè deposizione aumentata di collagene.

Caso Clinico: Paziente MN, anni 50, affetta dal lichen scleroso ed atrofia vulvare da diversi anni, con la seguente sintomatologia: dispareunia, disuria conseguente al contatto delle urine con la cute abrasa e dolore al tatto, già trattata da circa 18 mesi con terapia locali a base di cortisone mediante gli schemi tradizionali a giorni alterni per tre mesi con intervalli di 2 mesi, seguiti da testosterone propionato al 2%, vitamina E, terapia ormonale locale e terapia sistemica con vitamina A. E’ stata sottoposta a biopsia vulvare che confermava la diagnosi di lichen scleroso con negatività per neoplasie. La sintomatologia della paziente è andata progressivamente peggiorando, per cui onde evitare di continuare a trattare la paziente con terapie locali e sistemiche, ormonali ed antinfiammatorie, con puntuali recidive, considerato anche la resistenza alle terapie farmacologiche ed il peggioramento del quadro locale con abrasioni della forchetta e delle piccole labbra, con una iniziale retrazione fibrosa della vulva e della cute perianale (foto 1), veniva a tal punto proposto alla paziente una terapia innovativa ovvero il “trapianto di cellule staminali mesenchimali (prelevate dal tessuto adiposo autologo) impiantate in sede vulvare”, con l’obiettivo di promuovere la proliferazione e la differenziazione cellulare, nonché di stimolare la neovascolarizzazione della sede danneggiata da un processo cronico degenerativo, promuovendo la rigenerazione del tessuto compromesso, sia mediante differenziamento che secrezione paracrina di fattori antiinfiammatori.



Foto 1 Lichen scleroso vulvare

Le cellule staminali, che possiedono una spiccata plasticità funzionale ed un potenziale differenziativo multilineare, con la capacità di oltrepassare i confini differenziativi segnati dal tessuto di appartenenza “developmental plasticity”; sono state ricavate mediante metodo enzimatico

(Sistema LIPOGEMS®), costituito da un kit monouso per lipoaspirazione, processazione ed innesto di tessuto adiposo. L'intera procedura avviene in un unico tempo chirurgico, attraverso una minima manipolazione "enzyme free", in un sistema chiuso e asettico, si procede a una progressiva riduzione dei cluster adiposi e all'eliminazione dei residui oleosi ed ematici a contenuto pro-infiammatorio (foto 2).



Foto 2 Lipogems, dispositivo per la processazione delle cellule adipose

L'intero processo avviene in un sistema ad immersione in soluzione fisiologica, che consente di minimizzare qualsiasi azione traumatica a carico dei prodotti cellulari, con la proprietà di mantenere le nicchie vasculo stromali intatte, che contengono cellule mesenchimali e periciti.

Il prodotto così ottenuto è un tessuto adiposo microfratturato non espanso, destinato a un uso autologo.

La paziente nell'ottobre 2018 veniva sottoposta in anestesia loco-regionale, a prelievo di tessuto adiposo autologo grasso in sede addominale previa infiltrazione di soluzione fisiologica contenente anestetico locale ed adrenalina, infiltrata nel pannicolo adiposo sottocutaneo, rapidamente seguita da lipoaspirazione mediante prelievo del tessuto adiposo con apposita cannula mediante processazione non enzimatica (Lipogems) del materiale cellulare prelevato, si procedeva ad iniezione delle cellule staminali mesenchimali in sede vulvare prevalentemente nelle zone più danneggiate come la forchetta, le piccole e grandi labbra ed in sede perianale, nella stessa seduta (foto 3).



Foto 3. Infiltrazione di cellule mesenchimali autologhe in sede vulvare

La paziente è stata dimessa entro le 24 ore senza nessuna complicanza postoperatoria anche a distanza. Il rapido miglioramento è comparso già dopo 15 giorni dalla trattamento, con guarigione

al follow up a 12 mesi, oggettivamente assenza di lesioni cutanee sulle grandi labbra e sulla forchetta, assenza di retrazione fibrosa perivulvare e perianale, colorito roseo della cute e soffici ta dei tessuti vulvovaginali ed assenza di emorroidi (foto4). Soggettivamente la paziente ha riferito assenza di disuria per la risoluzione delle lesione cutanee, assenza del dolore vulvare.



Foto 4. Controllo a 2 mesi

Discussione:

L'esclusivit  di questo caso clinico sta' nel fatto che   il primo caso pubblicato di utilizzo di trapianto di tessuto adiposo autologo, processato con metodo non enzimatico a livello vulvare nel lichen scleroso vulvo-ale severo associato ad emorroidi di II grado. Il razionale che ci ha spinto ad sperimentare tale procedura nel lichen sclero atrofico vulvare sta nell'utilizzare le caratteristiche proliferative, differenziative, immunosoppressive ed immunomodulatorie delle cellule staminali particolarmente necessarie ai tessuti colpiti da questa patologia altamente debilitante (1-2). Le cellule mesenchimali sono cellule staminali multipotenti non emopoietiche, che hanno la capacit  di differenziarsi, rigenerare e riparare i vari tessuti come: cartilagini e ossa, tessuto cardiaco e muscoli scheletrici, tendini ed altri tessuti (es. quello adiposo) (3). Sono le cellule staminali adulte, piu' studiate in quanto presentano caratteristiche proprie in aggiunta a quelle di staminali derivanti da altri tessuti e organi, facilmente isolabili grazie alla loro capacit  adesiva, facilmente separabili da altre tipologie cellulari, facilmente espandibili in vitro in quanto presentano elevato potenziale replicativo ed in grado di espletare funzioni immunosoppressive ed immunomodulatorie attraverso la migrazione spontanea nei tessuti di origine ed anche selettivamente nei tessuti danneggiati (multiorgan homing capacity). L'effetto rigenerativo e terapeutico che si e' avuto nel caso descritto con assenza di lesioni cutanee sulle grandi labbra e sulla forchetta, assenza di retrazione fibrosa perivulvare e perianale, colorito roseo della cute e soffici ta dei tessuti vulvovaginali ed assenza di emorroidi   stato determinato proprio dall'attivit  proliferativa ed immunospressiva delle cellule mesenchimali autologhe prelevate dal tessuto adiposo, che hanno favorito il "self-renewal" e l'espansione delle mesenchimali stesse, giocando un ruolo fondamentale nella comunicazione cellula-cellula attraverso un'interazione coi loro recettori, attraverso il trasferimento dalla cellula d'origine di diverse molecole bioattive tra cui gli esosomi, che hanno permesso l'induzione e la riprogrammazione delle cellule sopravvissute del tessuto danneggiato a rientrare nel ciclo cellulare e quindi favorire la rigenerazione del tessuto. Il tessuto adiposo processato con la metodica LIPOGEMS contiene una quantit  di esosomi (frammenti circolari di membrana o microvescicole, di diametro 40–100 nm rilasciati dal compartimento endosomico oppure dalla membrana cellulare), nettamente superiore al tessuto trattato enzimaticamente e ci  spiegherebbe la sua migliore efficacia, infatti permette di ottenere dei cluster tissutali che mantengono le cellule in un ambiente pi  "nativo", che supporta quindi meglio la funzionalit  cellulare tra cui la secrezione di esosomi, importanti mediatori di comunicazione cellula-cellula in termini di proliferazione, rigenerazione tissutale ed infiammazione. A differenza del metodo enzimatico che digerisce la matrice extracellulare affliggendo il pattern secretorio, la digestione danneggia le cellule stesse in termini di

funzionalità e vitalità, risultando troppo aggressivo distruggendo gli esosomi durante il processamento (4).

In conclusione, il miglioramento della sintomatologia nella paziente trattata con trapianto di tessuto adiposo autologo a livello vulvare nel lichen scleroso vulvo- anale severo associato ad emorroidi di II grado, costituisce un possibile strumento terapeutico in quei casi di lichen scleroso vulvare non responsivo alle terapie farmacologiche tradizionali. Sicuramente, tale proposta terapeutica necessita di uno studio con un numero di pazienti adeguato per poter dimostrare la sua efficacia e tollerabilità in tale condizione morbosa. La tendenza ora è di usare cellule staminali adulte sia per problematiche etiche di non sacrificare un embrione sia per la sicurezza oncologica, inoltre possono essere usate con totale sicurezza in autologous setting escludendo il problema della risposta immunologica e del rigetto.

Bibliografia:

1. Ding G, Wang W, Liu Y, Zhang C, Wang S.: “Mesenchymal stem cell transplantation: a potential therapy for oral lichen planus”. *Medicine Hypotheses*, 2011, 76(3), 322-324.
2. Striano R. D., Chen H., Bilbool N., Azatullah K., Hilado J., Horan K.: “Case Study: Non-Responsive Knee Pain with Osteoarthritis and Concurrent Meniscal Disease Treated With Autologous Micro-Fragmented Adipose Tissue Under Continuous Ultrasound Guidance” *CellR4* 2015; 3 (5): e1690
3. Tremolada C, Beltrami G, Magri A, Bianchi F, Ventura C, Di Vito C, Campanella R, Navone SE, Marfia G, Caplan AI.: “Adipose mesenchymal stem cells and “regenerative adipose tissue graft “ (Lipogems) for musculoskeletal regeneration”. *EUROPEAN JOURNAL OF MUSCULOSKELETAL DISEASES*, 2014, 3, (2), 57-67.
4. García-Contreras M, Messaggio F, Jimenez O, Mendez A.: “Differences in exosome content of human adipose tissue processed by non-enzymatic and enzymatic methods”. *CellR4* 2015; 3 (1): 1423.