

a cura di Carla Greco¹ e Luca D'Onofrio² per il gruppo YoSID

¹Unità di Endocrinologia, Dipartimento di Scienze Biomediche, Metaboliche e Neuroscienze, Università di Modena e Reggio Emilia; ²Unità di Diabetologia, AOU Policlinico Umberto I di Roma

Cellule staminali adipose: un nuovo approccio rigenerativo nelle malattie metaboliche e nel diabete •

Adipose stem cells: A new regenerative approach in metabolic diseases and diabetes

Giuseppe Palma¹, Sebastio Perrini² e Francesco Giorgino¹

¹Sezione di Medicina Interna, Endocrinologia, Andrologia e Malattie Metaboliche, Dipartimento di Medicina di Precisione e Rigenerativa e Area Jonica - (DiMePRE-J), Università degli Studi di Bari "Aldo Moro"; ²Libera Università Mediterranea "Giuseppe Degennaro", Casamassima (BA)

DOI: <https://doi.org/10.30682/ildia2502d>

ABSTRACT

In recent decades, metabolic diseases have reached epidemic proportions, significantly impacting quality of life and healthcare costs and highlighting the urgent need for new therapeutic strategies. Adipose-derived stem cells (ASC) offer promise for regenerative medicine due to their differentiation potential and paracrine activity. Preclinical and clinical studies suggest their therapeutic potential in diabetes and its complications. This work reviews ASC properties, molecular mechanisms, and recent clinical applications, addressing key challenges for their widespread use.

KEYWORDS

Adipose stem cells, regenerative medicine, metabolic diseases, diabetes.

1. INTRODUZIONE

Le malattie metaboliche rappresentano oggi una delle emergenze sanitarie più pressanti a livello globale, con un impatto significativo sulla qualità della vita e sui costi sanitari. L'incremento dei casi di obesità e diabete, strettamente legati a stili di vita moderni e a fattori ambientali, evidenzia la necessità di strategie terapeutiche innovative e integrate per fronteggiare questa crisi. La medicina rigenerativa sta rivoluzionando l'approccio terapeutico a diverse patologie croniche; in questo contesto, le malattie metaboliche rappresentano un potenziale campo di applicazione ancora inesplorato (1).

Le cellule staminali adipose (ASC) sono cellule mesenchimali derivate dal tessuto adiposo, caratterizzate da una notevole plasticità e da proprietà immunomodulatorie. Queste cellule, infatti, sono in grado di differenziarsi in numerosi tipi cellulari, tra cui adipociti, osteociti, condrociti e miociti, e rilasciano una varietà di mediatori che influenzano la rigenerazione tissutale e la modulazione dell'infiammazione (2).

Studi preclinici e clinici hanno evidenziato come le ASC possano contribuire al ripristino dell'omeostasi cellulare e alla rigenerazione dei tessuti danneggiati, aprendo la strada a nuove strategie terapeutiche che integrano approcci cellulari e farmacologici (1).

L'obiettivo di questo paper è fornire una panoramica esaustiva del ruolo delle ASC nella terapia delle malattie metaboliche, analizzando in dettaglio il loro impatto sul metabolismo, sulle complicanze del diabete di tipo 2 e sull'applicazione nel diabete di tipo 1.

2. IL RUOLO DELLE ASC NEL METABOLISMO E NEL TESSUTO ADIPOSO

La funzione del tessuto adiposo non si limita all'immagazzinamento dell'energia; esso svolge un ruolo attivo nella secrezione di numerosi fattori solubili, note come adipochine, che agiscono in modalità autocrina e paracrina per regolare la funzione stessa del tessuto adiposo, e in modalità endocrina influenzando organi bersaglio quali cuore, polmoni, pancreas (3-6). Inoltre, le adipochine sono in grado di modulare la secrezione di fattori in altri tessuti, determinando effetti pro- o anti-infiammatori in base al contesto biologico. Come dimostrato dal nostro gruppo di ricerca, sebbene appartengano ad un compartimento staminale indifferenziato, anche le ASC sono in grado di secernere fattori solubili e adipochine, con un profilo secretorio specifico a seconda del tessuto di provenienza (7).

Un altro ruolo fondamentale delle ASC è quello del controllo dei processi di adipogenesi e lipogenesi. L'equilibrio fra questi due processi è essenziale per il corretto funzionamento del tessuto adiposo e per l'omeostasi metabolica dell'organismo. L'adipogenesi avviene mediante l'attivazione di una serie di fattori di trascrizione come PPAR γ (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma) e C/EBP α (CCAAT/enhancer-binding protein alpha), che predispongono le ASC alla maturazione (8). La lipogenesi invece è un processo di accumulo lipidico intracellulare che si verifica prevalentemente a livello degli adipociti maturi, in quanto il compartimento staminale non possiede questa capacità; nonostante questo, le ASC sono in grado di esercitare un controllo indiretto attivando programmi trascrizionali che modulano la predisposizione dei futuri adipociti alla sintesi lipidica e, parallelamente, secernono fattori paracrini in grado di influenzare l'espressione dei geni chiave della lipogenesi nelle cellule in fase di differenziazione (9).

Questi meccanismi congiunti assicurano un bilanciamento ottimale tra la formazione di nuovi adipociti e la loro attività lipogenica, contribuendo così a mantenere l'omeostasi energetica e metabolica dell'organismo.

3. ASC E RINNOVAMENTO TISSUTALE

In relazione al loro potenziale rigenerativo, le ASC contribuiscono fisiologicamente al mantenimento dell'omeostasi tissutale. Questo avviene sia grazie alla capacità delle ASC di differenziare nel tessuto danneggiato/senescente, sia attraverso meccanismi paracrini e interazioni con le cellule residenti, stimolando la proliferazione, la differenziazione e la sostituzione delle cellule danneggiate mediante la secrezione di molecole bioattive (miRNA e citochine) (10). È ampiamente riconosciuto e consolidato che il meccanismo di rigenerazione mediato dalle ASC operi a livello adiposo, cutaneo, vascolare e nei tessuti connettivi e riempitivi che conferiscono forma, supporto e tonicità alla pelle (11, 12); tuttavia, recenti evidenze suggeriscono che questo processo rigenerativo si estenda anche ad altri tessuti. Il muscolo scheletrico riveste un ruolo fondamentale per la sensibilità insulinica, essendo direttamente coinvolto nella captazione del glucosio; studi su modelli murini hanno dimostrato che le ASC possono infiltrarsi nel muscolo attraverso un meccanismo piastrine-dipendente, riparando le fibre danneggiate (13). A livello cardiaco invece, studi in vivo hanno dimostrato che ASC residenti nel tessuto adiposo epicardico sono in grado di differenziarsi in cardiomiociti maturi, contribuendo al recupero e al mantenimento della funzione del miocardio (13). Altri studi hanno indicato che il tessuto adiposo avrebbe un potenziale rigenerativo anche nei compartimenti epatici e pancreatici, sebbene ulteriori ricerche siano necessarie per confermare il coinvolgimento diretto delle ASC (14, 15).

Complessivamente, le ASC si configurano come un elemento chiave del sistema di rigenerazione naturale, operando in sinergia con altri meccanismi endogeni per preservare l'integrità e la funzionalità di tessuti e organi.

Funzioni fisiologiche e patogenesi

In condizioni fisiologiche, le ASC supportano il rinnovamento cellulare, contribuendo a mantenere un equilibrio tra la formazione e la degradazione delle cellule adipose. Tuttavia, con l'invecchiamento, il compartimento staminale subisce un progressivo declino sia nella quantità che nella funzionalità cellulare. Questo fenomeno compromette la capacità rigenerativa delle ASC, rendendo i tessuti meno capaci di mantenere l'omeostasi e favorendo l'insorgere di patologie legate all'invecchiamento, come il diabete di tipo 2 (1). Numerosi studi hanno dimostrato che l'età avanzata

è associata alla senescenza delle ASC, un meccanismo che riduce la capacità di queste cellule di rispondere a stimoli rigenerativi e di modulare il microambiente tissutale (16-18). Questi meccanismi sono innescati da una aumentata attività della β -galattosidasi, dei regolatori del ciclo cellulare p16 e p21, e dall'accumulo di prelamina A a livello nucleare. Inoltre, si innesca uno switch funzionale che promuove un fenotipo secretorio associato alla senescenza (SASP) tramite il rilascio di citochine fibrotiche (TGF-alfa e beta) e metalloproteasi, che possono influenzare l'ambiente circostante e promuovere l'infiammazione (18). La combinazione di un numero ridotto di ASC e l'accumulo di cellule senescenti nel tessuto adiposo contribuisce ad una perdita di insulino-sensibilità e alla progressiva disfunzione del metabolismo lipidico, fattori che sono noti per favorire l'insorgenza del diabete di tipo 2 (19). Il deterioramento del tessuto adiposo, in particolare attraverso la senescenza delle ASC, compromette la capacità di immagazzinare energia e di regolare il metabolismo, generando un ambiente infiammatorio cronico che aggrava la resistenza insulinica. In parallelo, la perdita di insulino-sensibilità è una delle caratteristiche distintive della malattia metabolica, in particolare del diabete, e l'accumulo di adiposità viscerale, che aumenta con l'età, è strettamente correlata a questa condizione.

Il legame fra ASC e metabolismo nella patogenesi del diabete è in realtà ambivalente, in quanto non solo la senescenza delle ASC contribuisce ad una ridotta sensibilità insulinica, ma l'infiammazione sistemica di basso grado nei soggetti con disfunzioni metaboliche aggrava ulteriormente il deterioramento del compartimento staminale. Infatti, l'esposizione cronica a citochine pro-infiammatorie come TNF- α , IFN-gamma e RANTES, innescano uno stress ossidativo che riduce ulteriormente la capacità del compartimento staminale di rispondere efficacemente al danno tissutale (20). In questo modo, i disturbi metabolici diventano più pronunciati, facilitando il peggioramento della condizione clinica e aumentando la vulnerabilità al diabete di tipo 2.

Recenti evidenze suggeriscono che SIRT1, una deacetilasi dipendente dal NAD⁺ coinvolta nei meccanismi di regolazione dello stress cellulare e dell'invecchiamento, svolga un ruolo cruciale nel modulare la senescenza delle ASC (21, 22). Studi in vitro hanno evidenziato che una riduzione dell'espressione di SIRT1 nelle ASC è associata a un aumento dei marcatori di senescenza, come l'attività della β -galattosidasi e l'espressione degli inibitori del ciclo cellulare p16 e p21 (21). Al contrario, l'attivazione farmacologica di SIRT1 tramite composti come il resveratrolo è in grado di attenuare i processi senescenti, migliorando la capacità proliferativa e il potenziale rigenerativo delle ASC (23, 24). Queste evidenze supportano l'ipotesi che SIRT1 agisca come un regolatore chiave della senescenza nelle ASC, contribuendo a preservare la funzionalità cellulare durante il processo di invecchiamento.

Il ruolo di SIRT1 è stato valutato in maniera approfondita anche nel nostro Laboratorio di Ricerca. I nostri studi hanno dimostrato che le ASC del tessuto addominale viscerale di soggetti obesi presentano un aumento intrinseco dell'adipogenesi e dell'accumulo lipidico rispetto a quelle provenienti da soggetti non obesi, fenomeno correlato a una riduzione significativa dei livelli di SIRT1 e SIRT2. In particolare, mediante esperimenti in vitro abbiamo evidenziato che l'overespressione di SIRT1 e SIRT2 in ASC viscerali di soggetti obesi inibisce la differenziazione adipocitaria, mentre la downregolazione nelle ASC di soggetti non obesi ne promuove il processo. Questi risultati suggeriscono che SIRT1 e SIRT2 regolano l'espansione del tessuto adiposo viscerale nell'obesità, rappresentando un meccanismo chiave nella patogenesi delle disfunzioni metaboliche associate, come il diabete di tipo 2 (25).

4. ASC E POTENZIALE NELLA MEDICINA RIGENERATIVA

L'avvento della medicina rigenerativa, basata sull'impiego delle cellule staminali, ebbe inizio negli anni Sessanta grazie all'uso pionieristico delle cellule staminali del midollo osseo (Bone Marrow Stem Cells, BMSC) (26). Sebbene le BMSC siano state ampiamente studiate per il loro potenziale rigenerativo, l'utilizzo clinico di questa fonte staminale presenta alcuni limiti dovuti principalmente a:

- scarsa numerosità cellulare: è stato stimato che in 1ml di tessuto midollare sono presenti circa 6×10^6 cellule nucleate, di cui solamente lo 0.001-0.01% sono staminali (27). Inoltre, il loro numero si riduce all'avanzare dell'età del soggetto donatore (28);
- procedura di prelievo a livello della cresta iliaca relativamente invasiva (29).

Al contrario, il tessuto adiposo si è rilevato una fonte abbondante e facilmente accessibile di cellule staminali adipose (ASC), caratterizzato da una maggiore capacità proliferativa ed una abbondanza significativamente maggiore (27, 30, 31). Sebbene una ridotta disponibilità cellulare possa essere compensata ricorrendo a donatori allogenicici, la necessità di trattamenti immunosoppressivi e i potenziali rischi di rigetto ne riducono l'efficacia. Al contrario, il prelievo di ASC consente di ottenere quantitativi idonei per trapianti autologhi, sufficienti per terapie rigenerative su porzioni tissutali relativamente più estese. Inoltre, la procedura di prelievo delle ASC mediante lipoaspirazione è più semplice e meno invasiva rispetto alle BMSC midollari, dal momento che il tessuto adiposo si presta maggiormente all'agoaspirazione rispetto alla matrice dura e compatta del tessuto osseo.

Nonostante i vantaggi del trattamento autologo, alcuni dubbi sorgerebbero nei pazienti più anziani, che potrebbero presentare una incrementata senescenza del compartimento staminale. A tal proposito, uno studio in vitro ha valutato le capacità rigenerative di ASC provenienti da soggetti anziani confrontandole con quelle di soggetti più giovani, dimostrando che nonostante i processi di senescenza dovuti all'invecchiamento queste cellule potrebbero essere ugualmente efficaci per applicazioni cliniche, grazie alla capacità di preservare le proprietà clonogeniche e differenziative con l'avanzare dell'età (32).

5. ASC E TRATTAMENTO DELLE MALATTIE METABOLICHE

In considerazione del loro potere rigenerativo, le ASC potrebbero essere un candidato promettente per il trattamento delle malattie metaboliche (33). La possibilità di differenziarsi in diverse linee cellulari e di secernere fattori paracrini coinvolti nel rinnovamento tissutale rende le ASC idonee all'utilizzo per una vasta gamma di applicazioni cliniche. Queste proprietà sono particolarmente rilevanti nel contesto del diabete di tipo 2, in cui l'infiammazione cronica e la senescenza cellulare contribuiscono allo sviluppo dell'insulino-resistenza con effetti deleteri su diversi organi target (18).

Di seguito verranno discussi studi preclinici che hanno esplorato l'uso delle ASC nel diabete e altre patologie correlate.

ASC e diabete di tipo 2

Studi in vitro su ASC isolate da topi con diabete di tipo 2 hanno evidenziato che, sebbene queste cellule conservino una marcatura cellulare e una capacità differenziativa equivalente ai controlli, il tasso di proliferazione risultava significativamente ridotto. Ciononostante, una singola infusione endovenosa di queste ASC nel modello in vivo di topo diabetico portava a un miglioramento della sensibilità insulinica, a una riduzione dell'infiammazione e dell'accumulo lipidico nel tessuto adiposo e nel fegato, e a un incremento della massa delle cellule β -pancreatiche, effetto che è durato fino ad almeno 5 settimane dopo l'infusione. Questi dati suggeriscono che, nonostante il tessuto adiposo vada incontro a disfunzione nei soggetti diabetici, le ASC conservino un'efficace capacità di promuovere la sensibilizzazione insulinica e di proteggere il pancreas nei trattamenti autologhi (34).

Un approccio interessante per migliorare l'efficacia di queste terapie potrebbe includere interventi mirati a potenziare ulteriormente le capacità rigenerative. Zuo et al hanno evidenziato che il recettore adrenergico α_2 ($Adra_2\alpha$) regola le funzioni rigenerative delle ASC nel diabete di tipo 2: mentre l'attivazione del recettore riduce la proliferazione, la migrazione e la secrezione di fattori di crescita, il knockdown di $Adra_2\alpha$ potenzia queste proprietà, incrementandone i potenziali effetti benefici (35). Un grosso limite insito negli approcci di editing genetico, tuttavia, risiede nel potenziale rischio neoplastico e alle problematiche di ordine etico e normativo, rivelandosi poco praticabili in ambito clinico allo stato attuale. Più fattibili invece sembrerebbero i trattamenti in vitro attraverso molecole o fattori di crescita in grado di potenziare l'effetto rigenerativo delle ASC. In particolare, studi in vitro su cellule umane suggeriscono che il trattamento delle ASC con resveratrolo è in grado di ridurre i marcatori di senescenza e stress ossidativo attraverso l'attivazione di vie di segnale mediate da SIRT1 (36). Il nostro Gruppo di Ricerca ha inoltre dimostrato che questo signalling sembrerebbe avere un impatto positivo anche sull'obesità, dal momento che una maggiore espressione di SIRT1 da parte delle ASC è in grado di inibire l'espansione patologica del compartimento viscerale, che è notoriamente associato ad effetti deleteri sulla salute (25). Pertanto, il targeting di SIRT1 in pazienti con obesità potrebbe mediare

effetti benefici multipli, inibendo non solo la senescenza cellulare ma anche i meccanismi che favoriscono l'accumulo di grasso ectopico.

Complicanze del diabete di tipo 2

Le complicanze del diabete di tipo 2 rappresentano una delle principali cause di morbilità dei pazienti diabetici (37); fra queste è possibile annoverare il piede diabetico, la nefropatia e la retinopatia. Queste condizioni derivano da danni progressivi ai vasi sanguigni e ai nervi periferici, causati principalmente da iperglicemia persistente, resistenza all'insulina e alterazioni metaboliche croniche. L'elevata concentrazione di glucosio nel sangue porta a processi infiammatori e stress ossidativo, che a loro volta danneggiano l'endotelio e favoriscono la formazione di specie reattive dell'ossigeno. Nel contesto della neuropatia diabetica, l'accumulo di prodotti finali della glicazione avanzata (AGEs) e la disfunzione della microcircolazione nervosa compromettono l'integrità delle fibre nervose, causando perdita di sensibilità e dolore. Parallelamente, la vasculopatia diabetica, caratterizzata dall'infiammazione cronica e dall'ispessimento delle pareti dei vasi, riduce l'apporto di ossigeno e nutrienti ai tessuti, favorendo il sorgere di complicanze quali il piede diabetico - con ulcere, infezioni e, in casi gravi, amputazioni - nonché la nefropatia, che porta a una progressiva perdita della funzione renale, e la retinopatia, che può culminare in cecità. Questi meccanismi patogenetici evidenziano l'importanza di sviluppare strategie terapeutiche che, oltre al controllo glicemico, mirino a proteggere la microcircolazione e la funzione nervosa, al fine di prevenire l'insorgenza e la progressione delle gravi complicanze associate al diabete di tipo 2 (38). Le ASC hanno dimostrato un notevole potenziale terapeutico non solo per migliorare il controllo glicemico, ma anche per trattare le complicanze croniche del diabete.

- **Nefropatia diabetica:** la nefropatia diabetica è una delle principali cause di insufficienza renale cronica. Studi preclinici hanno evidenziato che l'uso di ASC può ridurre la progressione della nefropatia tramite effetti anti-infiammatori e anti-fibrotici. Un recente studio ha valutato l'efficacia delle "ASC sheet", ovvero sottili pellicole biologiche formate interamente da ASC. Questa tecnologia si basa sull'utilizzo di polimeri termosensibili nella piastra di coltura, che consentono il distacco delle cellule in maniera enzimatica-free, preservando i legami intercellulari che si formano durante la coltura in vitro. Il trapianto diretto di ASC sheet nei reni ha mostrato notevoli vantaggi rispetto ad altre modalità di somministrazione delle ASC, contribuendo alla riduzione significativa dei livelli di FABP e KIM-1, marker di danno urinario. Il vantaggio delle ASC sheet può essere attribuito alla conservazione dell'architettura cellulare e del microambiente locale che si genera attraverso i legami intercellulari. In questo modo si ottiene consentendo un potenziamento della risposta rigenerativa, migliorando la funzionalità del tessuto danneggiato e rallentando la progressione del danno (39).
- **Piede diabetico:** il piede diabetico è una complicanza del diabete caratterizzata da neuropatia periferica e microangiopatia, che compromettono sia la sensibilità che il rifornimento di sangue ai tessuti del piede. Questi processi portano a una riduzione della capacità di percepire lesioni, unita a un deteriorato processo di guarigione, rendendo il piede particolarmente vulnerabile a ulcere, infezioni e, nei casi più gravi, portando alla necessità di amputare l'arto. Un recente studio condotto su modelli diabetici di topo ha esaminato il meccanismo molecolare alla base dell'efficacia terapeutica della tecnologia ASC sheet caricato con esosomi contenenti l'Interferon Regulatory Factor 1 (IRF1). Attraverso un'analisi condotta sull'attività trascrizionale di questo fattore, è stato scoperto che IRF1 è in grado di modulare specifici miRNA coinvolti nella proliferazione dei fibroblasti, la migrazione cellulare e l'angiogenesi, elementi essenziali per la riparazione tissutale. Eseguendo il trapianto diretto di ASC sheet carichi di IRF1 sui topi con piede diabetico, è stato dimostrato che questa terapia rigenerativa è in grado di facilitare la riparazione delle ferite, e potrebbe pertanto rappresentare una potenziale strategia terapeutica innovativa per il trattamento delle ulcere (40).
- **Retinopatia diabetica:** la retinopatia diabetica è una complicanza microvascolare che può portare a cecità. In uno studio condotto da Mendel et al, topi con retinopatia indotta sono stati trattati con un'iniezione intravitale di 10.000 ASC per studiarne le proprietà angiogeniche e neuroprotettive. I ricercatori hanno osservato che le ASC sono in grado di differenziarsi in periciti, cellule mesenchimali dall'attività contrattile che si trovano in prossimità dei capillari e che svolgono un ruolo fondamentale nel sostegno e nella stabilizzazione della microvascolarizzazione.

I periciti sono presenti sia nel tessuto adiposo che a livello dei vasi retinici, evidenziando un potenziale intrinseco delle ASC nell'integrare e rigenerare la rete vascolare. In condizioni sia di danno lieve che di retinopatia severa, il trapianto di ASC ha determinato una riduzione significativa dell'area avascolarizzata, mentre le cellule staminali BMSC non sono riuscite a ottenere effetti rigenerativi comparabili. Questi risultati suggeriscono che le ASC siano maggiormente competenti nel promuovere la rigenerazione vascolare rispetto ad altre fonti staminali, probabilmente perché, sotto stimoli adeguati, riescono ad esprimere in modo efficace i marker dei periciti, contribuendo così alla protezione e alla riparazione della retina (31).

Questi risultati supportano l'idea che l'impiego delle ASC nel diabete di tipo 2 possa offrire benefici sia diretti, grazie alla rigenerazione pancreatica, sia indiretti, tramite la prevenzione e il trattamento delle complicanze croniche.

ASC e diabete di tipo 1

Il diabete di tipo 1 è una malattia autoimmune in cui il sistema immunitario distrugge progressivamente le cellule β -pancreatiche, portando a una carenza assoluta di insulina. In questo contesto, le ASC emergono come potenziali candidate per la terapia cellulare, grazie alla loro capacità di modulare l'infiammazione e stimolare la rigenerazione delle cellule β -pancreatiche. Un primo approccio è già stato effettuato in vivo in topi in cui il diabete di tipo 1 è stato indotto mediante somministrazione di anticorpi anti-PDL1, scatenando i meccanismi autoimmuni che inducono la patologia. Nello specifico si è osservato che, quando ai topi venivano somministrate ASC per via endovenosa, la funzione pancreatica veniva ripristinata (41). Questi dati suggeriscono che le ASC siano in grado di migrare spontaneamente verso l'area del danno, favorendo la rigenerazione pancreatica e, possibilmente, la differenziazione in cellule β .

Un altro approccio promettente è la realizzazione di beta cellule competenti nel secernere insulina in risposta al glucosio (GSIS-responsive), la cui funzionalità viene compromessa sia nel diabete di tipo 1 che nel tipo 2. Le ASC rappresentano un candidato ideale per la differenziazione in cellule β grazie alla loro elevata plasticità, capacità di self-renewal, disponibilità e facilità di isolamento. Un recente studio ha testato tre protocolli differenti per ottenere cellule produttrici di insulina (IPCs) a partire da ASC derivate dal tessuto adiposo umano. Il protocollo che ha ottenuto i risultati migliori ha utilizzato piastre rivestite con laminina, in combinazione con insulina-trasferrina-selenio, B27, N2 e nicotinamide, ottenendo un notevole aumento dell'espressione dei geni endocrini pancreatici e una risposta insulinica efficace al glucosio. Inoltre, in vivo, le IPC hanno mostrato un efficiente homing al pancreas e hanno migliorato i parametri metabolici nei topi diabetici, evidenziando il potenziale terapeutico di questo approccio per il trattamento del diabete (42). Nel contesto del diabete di tipo 1, un potenziale ostacolo a queste terapie è la necessità di immunosoppressione, a causa della sua patogenesi immunomediata. Una possibile soluzione può essere l'incapsulamento delle IPC in un materiale biocompatibile come l'alginato, che funge da barriera immuno-isolante, impedendo l'attacco del sistema immunitario ma consentendo al contempo il passaggio di nutrienti e molecole essenziali. Questo approccio ha il vantaggio di evitare le complicazioni derivanti dalle terapie immunosoppressive, che sono spesso necessarie nei trapianti di beta cellule in soggetti con diabete di tipo 1. Inoltre, è stato osservato che l'incapsulazione di ASC e IPC nello stesso sistema permette l'instaurarsi di un crosstalk cellulare in grado di migliorare significativamente i risultati terapeutici. Infatti, le ASC favoriscono il processo di vascolarizzazione, permettendo il passaggio di ossigeno e sostanze nutritive attraverso la barriera di incapsulazione e migliorando quindi la funzionalità e sopravvivenza delle cellule trapiantate (43).

6. ASC E MEDICINA RIGENERATIVA: APPLICAZIONI CLINICHE

Numerosi studi clinici hanno avviato sperimentazioni per valutare la sicurezza e l'efficacia delle ASC nel trattamento delle malattie metaboliche e del diabete, con risultati promettenti. Al momento, l'applicazione clinica delle ASC più investigata nel contesto delle patologie metaboliche è la cura delle ulcere del piede diabetico, in quanto rappresenta l'approccio più semplice e immediato da implementare nella pratica clinica. Una delle strategie più utilizzate consiste nell'utilizzo della tecnologia ASC sheet incorporata in un supporto idrogel, che viene applicato direttamente sul letto della ferita. In un trial clinico randomizzato condotto su 59 pazienti, questo tipo di trattamento è stato in grado di

favorire la chiusura completa della ferita con una percentuale di successo del 55% superiore rispetto al trattamento convenzionale, ed un tempo mediano per la guarigione significativamente inferiore (44).

Come discusso in precedenza, un'altra complicanza comune del diabete di tipo 2 è la nefropatia diabetica; in questo contesto è stato condotto uno studio clinico in fase 1 in cui ASC di provenienza allogenica sono state iniettate per via endovenosa in pazienti con patologia renale cronica dovuta a diverse cause, incluso il diabete (45). I risultati hanno mostrato che il trattamento è stato generalmente ben tollerato, con solo due pazienti che hanno manifestato lievi effetti avversi. Inoltre, un aumento dell'eGFR è stato osservato in 7 dei 12 pazienti (58%) alla settimana 24 e in 6 dei 12 pazienti (50%) alla settimana 48. Sebbene i risultati siano incoraggianti, la terapia è ancora lontana dal rappresentare una cura definitiva per la patologia e ulteriori ricerche sono necessarie per migliorarne l'efficacia e l'applicabilità clinica.

Altri studi condotti su un più basso numero di pazienti hanno invece investigato la possibilità di sfruttare il potenziale rigenerativo delle ASC per la cura del diabete di tipo 1. Dantas et al (46) hanno mostrato come una singola infusione endovenosa di ASC allogeniche in 6 pazienti con diabete di tipo 1 inducesse un significativo miglioramento nel controllo glicemico e un incremento dei livelli di C-peptide a 3 mesi dal trattamento, con effetti avversi lievi e transitori. Lo stesso gruppo di ricerca ha poi dimostrato, in uno studio successivo (47) che la terapia con ASC allogeniche era in grado non solo di mediare benefici metabolici ma di promuovere meccanismi immunomodulatori in grado di prevenire la risposta autoimmunitaria e ridurre i livelli di citochine proinfiammatorie, proteggendo così le cellule β -pancreatiche dalla distruzione.

In un altro trial clinico prospettico e open-label realizzato su un totale di 10 pazienti, un approccio più avanzato è stato messo a punto tramite la co-infusione di cellule staminali ematopoietiche e cellule IPC ottenute attraverso la differenziazione in vitro di ASC autologhe. L'approccio combinato è stato studiato per sfruttare sinergicamente due meccanismi complementari: mentre le IPC fungono da sostituto diretto delle cellule β -pancreatiche distrutte dall'autoimmunità, le staminali ematopoietiche possiedono proprietà immunomodulatorie in grado di ridurre l'attività autoreattiva del diabete di tipo 1. I risultati hanno mostrato che, nel corso di un follow-up medio di circa 31,7 mesi, si è ottenuta una riduzione dei livelli medi di C-peptide, del fabbisogno di insulina, dei livelli di emoglobina glicata e di anticorpi GAD, senza registrare nessun effetto avverso alla terapia (48). Uno studio simile su ASC differenziate in vitro in IPC e staminali ematopoietiche è stato condotto da Thakkar et al (49), mettendo però a diretto confronto l'approccio autologo con quello allogenico. I pazienti trattati con l'approccio autologo hanno mostrato miglioramenti più marcati: una riduzione significativa del fabbisogno insulinico, diminuzione dei livelli di HbA1c e un incremento sostenuto dei livelli di C-peptide, suggerendo un controllo dell'iperglicemia più stabile rispetto al gruppo allogenico.

In sintesi, la letteratura attuale suggerisce che la scelta tra cellule autologhe e allogeniche sia cruciale per ottimizzare l'equilibrio tra efficacia clinica e sicurezza nel trattamento; nello specifico, sebbene le ASC di provenienza allogenica consentano di selezionare donatori con caratteristiche ottimali e possano essere prelevate in anticipo, consentendo un intervento tempestivo, la fonte autologa presenterebbe maggiori vantaggi in termini di compatibilità immunologica, riducendo gli effetti collaterali ed il rischio di rigetto.

7. TECNOLOGIE ATTUALI

Attualmente, le strategie più comuni per sfruttare le capacità rigenerative del tessuto adiposo sono (i) la micronizzazione del tessuto adiposo e (ii) l'isolamento manuale delle ASC.

La micronizzazione consiste nella frammentazione meccanica del tessuto adiposo; a seconda del livello di frammentazione e delle procedure specifiche del protocollo è possibile ottenere diversi tipi di emulsione lipidica, quali "microfat", "nanofat" e "SVF-gel". Differentemente dall'isolamento manuale, la micronizzazione del tessuto adiposo si presta maggiormente all'automatizzazione, riducendo la necessità di personale qualificato, facilitando la realizzazione di dispositivi completamente chiusi ed aderenti alle linee guida per le "good manufacturing practices" (GMP) e semplificando le procedure cliniche. Uno dei concorrenti più all'avanguardia in questo campo è Lipogems® (50), azienda che ha sviluppato un dispositivo completamente chiuso in grado di frammentare il tessuto adiposo attraverso metodiche semi-automatiche. Tuttavia, la micronizzazione del tessuto adiposo presenta alcuni limiti importanti, quali:

- una ridotta capacità rigenerativa dovuta alla composizione eterogenea e non nota del tessuto adiposo micronizzato, che oltre alle ASC contiene cellule endoteliali, cellule immunitarie e fattori infiammatori.
- Ridotta applicabilità ad un numero limitato di contesti, come a terapie anti-aging, estetiche, per la cura dell'osteoartrite e per il trattamento del piede diabetico (50, 51). Tale limite è dettato nuovamente dall'eterogeneità e viscosità del preparato, che non è possibile somministrare endovena.
- La necessità di elevate quantità di tessuto adiposo per il processo di micronizzazione (>50g), che riduce la possibilità di applicazione nelle persone magre con ridotta adiposità.

A differenza della micronizzazione, l'isolamento manuale delle ASC consente di ottenere una popolazione pura ed omogenea di cellule staminali. In questo modo, è possibile concepire trattamenti in vitro per migliorare le potenzialità rigenerative delle cellule o adattarle alle necessità cliniche, ad esempio differenziandole nel citotipo di interesse, come le IPC per la rigenerazione della popolazione beta-cellulare pancreatica. Inoltre, le ASC possono essere messe in coltura e amplificate in vitro, consentendo così di partire da una quantità inferiore di tessuto adiposo. Diverse metodiche di isolamento sono disponibili in letteratura per l'isolamento delle ASC, con efficienza e versatilità variabile a seconda del protocollo. Nello specifico, il nostro Laboratorio di Ricerca ha messo a punto un protocollo estremamente efficiente e versatile (25) in grado di adattarsi all'occorrenza per l'isolamento da tessuto adiposo di altre componenti staminali di rilevanza clinica quali i progenitori endoteliali (52). Nonostante i vantaggi delle metodiche di isolamento manuale delle ASC, anche questo approccio presenta diversi limiti, tra cui:

- la necessità di personale altamente qualificato per l'intera procedura di isolamento e amplificazione in vitro, che potrebbe richiedere diverse settimane/mesi.
- Alto rischio di contaminazione per via delle procedure manuali, che è possibile prevenire solo attraverso l'utilizzo di camere bianche e appositi presidi, costosi e poco pratici.
- Risultati variabili dipendenti dall'operatore.

Considerando i limiti delle strategie attuali, la soluzione vincente potrebbe consistere nello sviluppo di un macchinario in grado di automatizzare completamente l'isolamento delle ASC, combinando i vantaggi della micronizzazione con quelli dell'isolamento manuale. Un dispositivo di questo tipo permetterebbe di superare le problematiche legate alla variabilità del prodotto finale, garantendo una popolazione omogenea e standardizzata di ASC mediante un sistema chiuso e sterile, conforme agli standard GMP. L'automazione consentirebbe inoltre di ottenere risultati altamente riproducibili e di ridurre i costi di produzione, minimizzando la necessità di personale altamente specializzato ed evitando l'impiego di camere bianche. In questo contesto, il nostro Laboratorio di Ricerca ha sviluppato una tecnologia innovativa per l'isolamento automatizzato delle ASC, depositando un brevetto europeo (53) relativo a una macchina robotizzata per l'isolamento automatizzato delle ASC e che è attualmente in fase di perfezionamento per garantire l'aderenza alle linee guida GMP.

8. LIMITI E SFIDE FUTURE

Una sfida significativa riguarda l'ingegnerizzazione delle ASC in vitro, un aspetto cruciale per migliorarne il potenziale terapeutico. Sebbene siano state sviluppate diverse strategie per modificarne le proprietà biologiche e il destino differenziativo (42), vi sono ancora difficoltà tecniche e regolatorie che ne limitano l'applicazione clinica (54). L'introduzione di modificazioni genetiche mediante vettori virali o sistemi di editing genomico, come CRISPR-Cas9, può potenziare le capacità rigenerative e immunomodulatorie delle ASC, ma solleva questioni relative alla sicurezza, alla stabilità genetica e al rischio di trasformazione oncogenica (55). Inoltre, l'ottimizzazione delle condizioni di coltura per mantenere la vitalità e la funzionalità delle ASC ingegnerizzate è un fattore determinante, poiché variazioni ambientali possono influenzarne il profilo secretorio e differenziativo.

A questi ostacoli si aggiunge la difficoltà di mantenere l'identità cellulare delle ASC dopo manipolazioni prolungate in vitro, in quanto il numero di passaggi, l'uso di specifici fattori nel mezzo di coltura e la stessa aderenza alla piastra possono col tempo promuovere alterazioni fenotipiche potenzialmente rischiose, sollevando un potenziale rischio tu-

Tabella 1 ♦ Studi preclinici e clinici sull'utilizzo delle ASC nel campo della medicina rigenerativa per le malattie metaboliche e complicanze correlate

MODELLO DI STUDIO	INTERVENTO	OUTCOME PRINCIPALE	RIFERIMENTO BIBLIOGRAFICO
ASC murine in coltura	Knockdown del recettore Adraza	Aumento della proliferazione e secrezione di fattori di crescita	Zuo et al. Stem Cell Res Ther. 2025, 10.1186/s13287-025-04192-x
ASC umane in coltura	Trattamento delle ASC con Resveratrolo	Riduzione dello stress ossidativo e dei marcatori di senescenza	Ali et al. Bone. 2020, 10.1016/j.bone.2020.115252
Modello murino diabetico	Infusione endovenosa di ASC	Miglioramento della sensibilità insulinica e protezione delle cellule β -pancreatiche	Wang et al. Mol Ther. 2018, 10.1016/j.ymthe.2018.06.013
Modello murino di nefropatia diabetica	Trattamento con ASC sheet	Riduzione dei marker di danno renale e migliorata rigenerazione tissutale	Takemura et al. J Diabetes Investig. 2020, 10.1111/jdi.13164
Modello murino di retinopatia diabetica	Iniezione intravitreale di ASC	Riduzione dell'area avascolarizzata e promozione della rigenerazione vascolare	Mendel et al. Plos One. 2013, 10.1371/journal.pone.0065691
Pazienti con piede diabetico	Trattamento con ASC sheet	Accelerazione della chiusura delle ulcere e miglioramento della rigenerazione	Moon et al. Diabetes. 2019, 10.2337/db18-0699
Pazienti con nefropatia diabetica	Infusione di ASC allogeneiche	Miglioramento della funzionalità renale (aumento eGFR)	Zheng et al. J Cell Mol Med. 2022, 10.1111/jcmm.17310
Pazienti con diabete di tipo 1	Infusione endovenosa di ASC allogeneiche	Aumento dei livelli di C-peptide e miglior controllo glicemico	Dantas et al. Diabetes. 2018, 10.2337/db18-1112-P
Pazienti con diabete di tipo 1	Co-infusione ASC e staminali ematopoietiche	Riduzione del fabbisogno insulinico e miglioramento dei parametri metabolici	Dave et al. Clin Exp Med. 2013, 10.1007/s10238-013-0266-1
Pazienti con diabete di tipo 1	Infusione di ASC autologhe vs allogeneiche	Maggiore efficacia dell'approccio autologo nel controllo dell'iperglicemia	Thakker et al. Cytotherapy. 2015, 10.1016/j.jcyt.2015.03.608

morigenico in caso di reimpianto. A tal riguardo, i regolamenti internazionali sulla manipolazione avanzata delle cellule staminali sono stringenti e potrebbero limitare l'impiego clinico su larga scala di ASC geneticamente modificate, richiedendo ulteriori studi preclinici e clinici per garantire sicurezza ed efficacia (56). In Europa, l'Agenzia Europea per i Medicinali (EMA), attraverso il Comitato per le Terapie Avanzate (CAT), regola le terapie basate su cellule staminali, classificandole come Advanced Therapy Medicinal Products (ATMP) se sottoposte a sostanziale manipolazione, come l'espansione in coltura o la digestione enzimatica. Tali prodotti devono soddisfare rigorosi criteri GMP, che includono l'uso di materiali xeno-free, l'assenza di antibiotici e reagenti potenzialmente immunogenici, e test di sterilità microbiologica e di contaminazione da micoplasmi (57). Tuttavia, l'elevato costo dei reagenti conformi agli standard GMP e i lunghi tempi di validazione dei test di sicurezza rappresentano una sfida per la diffusione di queste terapie. In Italia, l'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) supervisiona l'attuazione delle normative EMA, consentendo in alcuni casi l'impiego di ATMP al di fuori dell'iter regolatorio standard solo per sperimentazioni limitate all'uso non ripetitivo e non commerciale di terapie avanzate in strutture sanitarie autorizzate ("Hospital Exemption"). Sebbene questa dero-

ga faciliti l'accesso ai trattamenti innovativi in ambito di ricerca, la sua applicazione resta limitata e non sostituisce un'effettiva commercializzazione su larga scala (56).

Un altro limite rilevante riguarda la standardizzazione dei protocolli di isolamento e caratterizzazione delle ASC, che attualmente variano notevolmente tra diversi laboratori e centri di ricerca. Differenze nei metodi di digestione enzimatica e nelle modalità di coltura in vitro possono influenzare significativamente la qualità e la funzionalità delle ASC, ostacolando la riproducibilità dei risultati tra studi preclinici e clinici. A questo si aggiunge la variabilità interpaziente, che può influenzare la qualità e la quantità di ASC ottenute da ciascun donatore. Fattori come l'età, il sesso, l'indice di massa corporea e lo stato metabolico del paziente possono alterare il profilo biologico delle ASC, influenzandone la capacità proliferativa, differenziativa e secretoria (10). Questa eterogeneità rappresenta una sfida per l'applicazione clinica standardizzata, poiché il comportamento delle ASC potrebbe variare in modo imprevedibile da un paziente all'altro.

9. CONCLUSIONI

Le ASC rappresentano una delle innovazioni più promettenti nel campo della medicina rigenerativa, offrendo soluzioni terapeutiche avanzate per il trattamento delle malattie metaboliche e del diabete. I numerosi studi preclinici e clinici presentati in questo paper evidenziano che l'impiego delle ASC può migliorare la funzione pancreatica, aumentare la sensibilità insulinica e mitigare le complicanze croniche del diabete (Tab. 1). Inoltre, evidenze emergenti supportano l'utilizzo delle ASC anche per il trattamento del diabete di tipo 1, grazie alla loro capacità di modulare l'attività autoimmune e favorire la rigenerazione delle cellule β -pancreatiche.

Nonostante i risultati promettenti, permangono sfide importanti, quali la standardizzazione dei protocolli, l'ingerizzazione delle cellule e il monitoraggio a lungo termine della sicurezza terapeutica. La collaborazione multidisciplinare e lo sviluppo di approcci combinati rappresentano la chiave per tradurre le evidenze sperimentali in terapie concrete e personalizzate.

In conclusione, il panorama della ricerca sulle ASC è in rapida evoluzione, e le evidenze attuali lasciano intravedere un futuro in cui queste cellule diventeranno parte integrante delle strategie terapeutiche contro il diabete e le malattie metaboliche. L'integrazione di studi preclinici, sperimentazioni cliniche e innovazioni tecnologiche contribuirà a definire protocolli terapeutici standardizzati, capaci di migliorare significativamente la qualità della vita dei pazienti.

BIBLIOGRAFIA

1. Cignarelli A, Perrini S, Ficarella R, Pescechera A, Nigro P, Giorgino F. Human Adipose Tissue Stem Cells: Relevance in the Pathophysiology of Obesity and Metabolic Diseases and Therapeutic Applications. *Expert Rev Mol Med*. 2012; 14:e19. doi: 10.1017/erm.2012.13.
2. Robert AW, Marcon BH, Dallagiovanna B, Shigunov P. Adipogenesis, Osteogenesis, and Chondrogenesis of Human Mesenchymal Stem/Stromal Cells: A Comparative Transcriptome Approach. *Front Cell Dev Biol*. 2020; 8:561. doi: 10.3389/fcell.2020.00561.
3. Genchi VA, D'Oria R, Palma G, Caccioppoli C, Cignarelli A, Natalicchio A, Laviola L, Giorgino F, Perrini S. Impaired Leptin Signalling in Obesity: Is Leptin a New Thermolipokine? *Int J Mol Sci*. 2021; 22(12):6445. doi: 10.3390/ijms22126445.
4. Biondi G, Marrano N, Borrelli A, Rella M, Palma G, Calderoni I, Siciliano E, Lops P, Giorgino F, Natalicchio A. Adipose Tissue Secretion Pattern Influences β -Cell Wellness in the Transition from Obesity to Type 2 Diabetes. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(10):5522. doi: 10.3390/ijms23105522.
5. Palma G, Sorice GP, Genchi VA, Giordano F, Caccioppoli C, D'Oria R, Marrano N, Biondi G, Giorgino F, Perrini S. Adipose Tissue Inflammation and Pulmonary Dysfunction in Obesity. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(13):7349. doi: 10.3390/ijms23137349.
6. Genchi VA, Palma G, Sorice GP, D'Oria R, Caccioppoli C, Marrano N, Biondi G, Caruso I, Cignarelli A, Natalicchio A, et al. Pharmacological Modulation of Adaptive Thermogenesis: New Clues for Obesity Management? *J. Endocrinol Invest*; 2023(46):2213-2236. doi: 10.1007/s40618-023-02125-0.

7. Perrini S, Laviola L, Cignarelli A, Melchiorre M, De Stefano F, Caccioppoli C, Natalicchio A, Orlando MR, Garruti G, De Fazio M, et al. Fat Depot-Related Differences in Gene Expression, Adiponectin Secretion, and Insulin Action and Signalling in Human Adipocytes Differentiated in Vitro from Precursor Stromal Cells. *Diabetologia*; 2008(51):155-164. doi: 10.1007/s00125-007-0841-7.
8. Jiang Y, Berry DC, Jo A, Tang W, Arpke RW, Kyba M, Graff JM. A PPAR γ Transcriptional Cascade Directs Adipose Progenitor Cell-Niche Interaction and Niche Expansion. *Nat Commun*. 2017; 8:15926. doi: 10.1038/ncomms15926.
9. Lea-Currie YR, Duffin DJ, Buehrer BM. Use of Adipose-Derived Stem Cells in High-Throughput Screening to Identify Modulators of Lipogenesis. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2011; 702:359-368. doi: 10.1007/978-1-61737-960-4_26.
10. Si Z, Wang X, Sun C, Kang Y, Xu J, Wang X, Hui Y. Adipose-Derived Stem Cells: Sources, Potency, and Implications for Regenerative Therapies. *Biomed. Pharmacother*. 2019; 114:108765. doi: 10.1016/j.biopha.2019.108765.
11. Rivera-Gonzalez GC, Shook BA, Andrae J, Holtrup B, Bollag K, Betsholtz C, Rodeheffer MS, Horsley V. Skin Adipocyte Stem Cell Self-Renewal Is Regulated by a PDGFA/AKT-Signaling Axis. *Cell Stem Cell*. 2016; 19(6):738-751. doi: 10.1016/j.stem.2016.09.002.
12. Badr OI, Anter A, Magdy I, Chukueggu M, Khorshid M, Darwish M, Farrag M, Elsayed M, Amr Y, Amgad Y, et al. Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells and Their Derived Epidermal Progenitor Cells Conditioned Media Ameliorate Skin Aging in Rats. *Tissue Eng Regen Med*. 2024; 21(6):915-927. doi: 10.1007/s13770-024-00643-3.
13. Adipose Tissue Is a Source of Regenerative Cells That Augment the Repair of Skeletal Muscle after Injury | Nature Communications. <https://www.nature.com/articles/s41467-022-35524-7> (accessed on 8 March 2025).
14. Chanclón B, Wu Y, Vujičić M, Bauzá-Thorbrügge M, Banke E, Micallef P, Kanerva J, Wilder B, Rorsman P, Wernstedt Asterholm I. Peripancreatic Adipose Tissue Protects against High-Fat-Diet-Induced Hepatic Steatosis and Insulin Resistance in Mice. *Int J Obes*. 2020; 44(11):2323-2334. doi: 10.1038/s41366-020-00657-6.
15. Shteyer E, Liao Y, Muglia LJ, Hruz PW, Rudnick DA. Disruption of Hepatic Adipogenesis Is Associated with Impaired Liver Regeneration in Mice. *Hepatology*. 2004; 40(6):1322-1332. doi: 10.1002/hep.20462.
16. Liu M, Lei H, Dong P, Fu X, Yang Z, Yang Y, Ma J, Liu X, Cao Y, Xiao R. Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells from the Elderly Exhibit Decreased Migration and Differentiation Abilities with Senescent Properties. *Cell Transplant*. 2017; 26(9):1505-1519. doi: 10.1177/0963689717721221.
17. Wang T, Li Y, Zhu Y, Liu Z, Huang L, Zhao H, Zhou Z, Wu Q. Anti-Aging Mechanism of Different Age Donor-Matched Adipose-Derived Stem Cells. *Stem Cell Res Ther*. 2023; 14(1):192. doi:10.1186/s13287-023-03415-3.
18. Foti R, Storti G, Palmesano M, Scioli MG, Fiorelli E, Terriaca S, Cervelli G, Kim B, Orlandi A, Cervelli V. Senescence in Adipose-Derived Stem Cells: Biological Mechanisms and Therapeutic Challenges. *Int J Mol Sci*. 2024; 25(15):8390. doi: 10.3390/ijms25158390.
19. Al-Sammarraie SHA, Ayaz-Güner Ş, Acar MB, Şimşek A, Sınıksaran BS, Bozalan HD, Özkan M, Saraymen R, Dündar M, Özcan S. Mesenchymal Stem Cells from Adipose Tissue Prone to Lose Their Stemness Associated Markers in Obesity Related Stress Conditions. *Sci Rep*. 2024; 14(1):19702. doi: 10.1038/s41598-024-70127-w.
20. Effect of Cell Seeding Density and Inflammatory Cytokines on Adipose Tissue-Derived Stem Cells: An in Vitro Study | Stem Cell Reviews and Reports. <https://link.springer.com/article/10.1007/s12015-017-9719-3> (accessed on 8 March 2025).
21. RNAa-Mediated Epigenetic Attenuation of the Cell Senescence via Locus Specific Induction of Endogenous SIRT1 | Scientific Reports. <https://www.nature.com/articles/s41598-022-17972-9> (accessed on 8 March 2025).
22. Yu A, Yu R, Liu H, Ge C, Dang W. SIRT1 Safeguards Adipogenic Differentiation by Orchestrating Anti-Oxidative Responses and Suppressing Cellular Senescence. *GeroScience*. 2024; 46(1):1107-1127. doi: 10.1007/s11357-023-00863-w.
23. Keshavarz G, Jalili C, Pazhouhi M, Khazaei M. Resveratrol Effect on Adipose-Derived Stem Cells Differentiation to Chondrocyte in Three-Dimensional Culture. *Adv Pharm Bull*. 2020; 10(1):88-96. doi: 10.15171/apb.2020.011.
24. Zhang Z, Zhang M, Sun Y, Li M, Chang C, Liu W, Zhu X, Wei L, Wen F, Liu Y. Effects of Adipose Derived Stem Cells Pretreated with Resveratrol on Sciatic Nerve Regeneration in Rats. *Sci Rep*. 2023; 13(1):5812. doi: 10.1038/s41598-023-32906-9.
25. Perrini S, Porro S, Nigro P, Cignarelli A, Caccioppoli C, Genchi VA, Martines G, De Fazio M, Capuano P, Natalicchio A, et al. Reduced SIRT1 and SIRT2 Expression Promotes Adipogenesis of Human Visceral Adipose Stem Cells and Associates with Accumulation of Visceral Fat in Human Obesity. *Int J Obes*. 2020; 44:307-319. doi: 10.1038/s41366-019-0436-7.

26. Doss MX, Gaspar JA, Winkler J, Hescheler J, Schulz H, Sachinidis A. Specific Gene Signatures and Pathways in Mesodermal Cells and Their Derivatives Derived from Embryonic Stem Cells. *Stem Cell Rev Rep.* 2012; 8(1):43-54. doi: 10.1007/s12015-011-9263-5.
27. Osteogenic Potential: Comparison between Bone Marrow and Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells. <https://www.wjgnet.com/1948-0210/full/v6/i3/288.htm> (accessed on 8 March 2025).
28. Mueller SM, Glowacki J. Age-Related Decline in the Osteogenic Potential of Human Bone Marrow Cells Cultured in Three-Dimensional Collagen Sponges. *J Cell Biochem.* 2001; 82(4):583-590. doi: 10.1002/jcb.1174.
29. Morbidity and Mortality Associated with Performing Bone Marrow Aspiration and Biopsy. *Int Phys Med Rehabil J.* 2018, Vol. 3. doi:10.15406/ipmrj.2018.03.00077.
30. Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells Are Phenotypically Superior for Regeneration in the Setting of Osteonecrosis of the Femoral Head | Clinical Orthopaedics and Related Research®. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11999-015-4385-8> (accessed on 8 March 2025).
31. Pericytes Derived from Adipose-Derived Stem Cells Protect against Retinal Vasculopathy | PLOS One. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0065691> (accessed on 8 March 2025).
32. Trotzier C, Bellanger C, Abdessadeq H, Delannoy P, Mojallal A, Auxenfans C. Deciphering Influence of Donor Age on Adipose-Derived Stem Cells: In Vitro Paracrine Function and Angiogenic Potential. *Sci Rep.* 2024; 14(1):27589. doi: 10.1038/s41598-024-73875-x.
33. Govender S, Kruger MJ, van de Vyver M. Counteracting Diabetes-Induced Adipose Tissue Derived-Stromal Cell Senescence. *Biochimie.* 2024; 220:11-21. doi: 10.1016/j.biochi.2023.12.001.
34. Wang M, Song L, Strange C, Dong X, Wang H. Therapeutic Effects of Adipose Stem Cells from Diabetic Mice for the Treatment of Type 2 Diabetes. *Mol Ther.* 2018; 26(8):1921-1930. doi: 10.1016/j.ymthe.2018.06.013.
35. Zuo X, Meng G, Song L, Dong X. Effects of Adra2 α Expression of Adipose Stem Cells on the Treatment of Type 2 Diabetic Mice. *Stem Cell Res. Ther.* 2025; 16(1):72. doi: 10.1186/s13287-025-04192-x.
36. Ali D, Chen L, Kowal JM, Okla M, Manikandan M, AlShehri M, AlMana Y, AlObaidan R, AlOtaibi N, Hamam R, et al. Resveratrol Inhibits Adipocyte Differentiation and Cellular Senescence of Human Bone Marrow Stromal Stem Cells. *Bone.* 2020; 133:115252. doi:10.1016/j.bone.2020.115252.
37. Kovács N, Mahrouseh N, Monasta L, Andreella A, Campostrini S, Varga O. The Diabetes Mellitus Comorbidity Index in European Union Member States Based on the 2019 European Health Interview Survey. *Sci Rep.* 2025; 15(1):512. doi:10.1038/s41598-024-84374-4.
38. Antar SA, Ashour NA, Sharaky M, Khattab M, Ashour NA, Zaid RT, Roh EJ, Elkamhawy A, Al-Karmalawy A. Diabetes Mellitus: Classification, Mediators, and Complications; A Gate to Identify Potential Targets for the Development of New Effective Treatments. *Biomed Pharmacother.* 2023; 168:115734. doi: 10.1016/j.biopha.2023.115734.
39. Takemura S, Shimizu T, Oka M, Sekiya S, Babazono T. Transplantation of Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cell Sheets Directly into the Kidney Suppresses the Progression of Renal Injury in a Diabetic Nephropathy Rat Model. *J Diabetes Investig.* 2020; 11(3):545-553. doi:10.1111/jdi.13164.
40. Wu M, Tu J, Huang J, Wen H, Zeng Y, Lu Y. Exosomal IRF1-Loaded Rat Adipose-Derived Stem Cell Sheet Contributes to Wound Healing in the Diabetic Foot Ulcers. *Mol Med.* 2023; 29(1):60. doi:10.1186/s10020-023-00617-6.
41. Kawada-Horitani E, Kita S, Okita T, Nakamura Y, Nishida H, Honma Y, Fukuda S, Tsugawa-Shimizu Y, Kozawa J, Sakaue T, et al. Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells Prevent Type 1 Diabetes Induced by Immune Checkpoint Blockade. *Diabetologia;* 2022, 65(7):1185-1197. doi:10.1007/s00125-022-05708-3.
42. Nour Eldeen G, Aglan HA, Mahmoud NS, Abdel Rasheed M, Azmy OM, Ahmed HH. Acquisition of Durable Insulin-Producing Cells from Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells as a Foundation for Cell- Based Therapy of Diabetes Mellitus. *Sci Rep.* 2024; 14(1):24417. doi:10.1038/s41598-024-74527-w.
43. Mochizuki Y, Kogawa R, Takegami R, Nakamura K, Wakabayashi A, Ito T, Yoshioka Y. Co-Microencapsulation of Islets and MSC CellSaics, Mosaic-Like Aggregates of MSCs and Recombinant Peptide Pieces, and Therapeutic Effects of Their Subcutaneous Transplantation on Diabetes. *Biomedicines.* 2020; 8(9):318. doi: 10.3390/biomedicines8090318.

44. Moon K-C, Suh H-S, Kim K-B, Han S-K, Young K-W, Lee J-W, Kim M-H. Potential of Allogeneic Adipose-Derived Stem Cell-Hydrogel Complex for Treating Diabetic Foot Ulcers. *Diabetes*. 2019; 68(4):837-846. doi: 10.2337/db18-0699.
45. Zheng C-M, Chiu I-J, Chen Y-W, Hsu Y-H, Hung L-Y, Wu M-Y, Lin Y-F, Liao C-T, Hung Y-P, Tsai C-C, et al. Allogeneic Adipose Tissue-Derived Stem Cells ELIXCYTE® in Chronic Kidney Disease: A Phase I Study Assessing Safety and Clinical Feasibility. *J Cell Mol Med*. 2022; 26(10):2972-2980. doi: 10.1111/jcmm.17310.
46. Dantas JR, Cabral DA Sr, Pereira K, Pereira MF, Souto DL, Nolasco M, Soares MO, Gabbay M, Couri CE, Claudio-Da-Silva CS, et al. Heterologous Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells and Vitamin D Supplementation in Patients with Recent-Onset Type 1 Diabetes Mellitus-Six Months Follow-Up. *Diabetes*. 2018; 67(Suppl 1):1112-P. doi: 10.2337/db18-1112-P.
47. Araujo DB, Dantas JR, Silva KR, Souto DL, Pereira M de FC, Moreira JP, Luiz RR, Claudio-Da-Silva CS, Gabbay MAL, Dib SA, et al. Allogenic Adipose Tissue-Derived Stromal/Stem Cells and Vitamin D Supplementation in Patients With Recent-Onset Type 1 Diabetes Mellitus: A 3-Month Follow-Up Pilot Study. *Front Immunol*. 2020; 11:993. doi: 10.3389/fimmu.2020.00993.
48. Dave SD, Vanikar AV, Trivedi HL, Thakkar UG, Gopal SC, Chandra T. Novel Therapy for Insulin-Dependent Diabetes Mellitus: Infusion of in Vitro-Generated Insulin-Secreting Cells. *Clin Exp Med*. 2015; 15(1):41-45. doi: 10.1007/s10238-013-0266-1.
49. Thakkar UG, Trivedi HL, Vanikar AV, Dave SD. Insulin-Secreting Adipose-Derived Mesenchymal Stromal Cells with Bone Marrow-Derived Hematopoietic Stem Cells from Autologous and Allogenic Sources for Type 1 Diabetes Mellitus. *Cytherapy*. 2015; 17(7):940-947. doi: 10.1016/j.jcyt.2015.03.608.
50. Lonardi R, Leone N, Gennai S, Trevisi Borsari G, Covic T, Silingardi R. Autologous Micro-Fragmented Adipose Tissue for the Treatment of Diabetic Foot Minor Amputations: A Randomized Controlled Single-Center Clinical Trial (MiFrAADiF). *Stem Cell Res Ther*. 2019; 10(1):223. doi: 10.1186/s13287-019-1328-4.
51. Surowiecka A, Strużyna J. Adipose-Derived Stem Cells for Facial Rejuvenation. *J Pers Med*. 2022; 12(1):117. doi: 10.3390/jpm12010117.
52. Caccioppoli C, Perrini S, Genchi VA, Doria R, Palma G, Cignarelli A, Natalicchio A, Laviola L, Giorgino F. 1230-P: Isolation of Functional Endothelial Progenitor Cells from Human Adipose Tissue. *Diabetes*. 2021; 70(Suppl 1):1230-P. doi: 10.2337/db21-1230-P.
53. Perrini S. Isolation of Adipose Stem Cells With Robotic Procedures. Application No. 21 175 469.2 - 1111; Ref. E8701/21-EP. 27/10/2022.
54. Mazini L, Ezzoubi M, Malka G. Overview of Current Adipose-Derived Stem Cell (ADSCs) Processing Involved in Therapeutic Advancements: Flow Chart and Regulation Updates before and after COVID-19. *Stem Cell Res Ther*. 2021; 12(1):1. doi: 10.1186/s13287-020-02006-w.
55. Tsagkaraki E, Nicoloso SM, DeSouza T, Solivan-Rivera J, Desai A, Lifshitz LM, Shen Y, Kelly M, Guilherme A, Henriques F, et al. CRISPR-Enhanced Human Adipocyte Browning as Cell Therapy for Metabolic Disease. *Nat Commun*. 2021; 12(1):6931. doi: 10.1038/s41467-021-27190-y.
56. Non Repetitive Use of Advanced Therapies. AIFA; Italian Medicines Agency. <https://www.aifa.gov.it/en/uso-non-ripetitivo-di-terapie-avanzate>.
57. Gebo JET, Lau AF. Sterility Testing for Cellular Therapies: What Is the Role of the Clinical Microbiology Laboratory? *J Clin Microbiol*. 2020; 58(7):e01492-19. doi: 10.1128/jcm.01492-19.