



Associazione O.N.L.U.S.

b.a.m.c.o.

Banca Autologa/Allogena Mantovana
del Cordone Ombelicale

B.A.M.C.O.:

Banca Autologa-Allogena Mantovana del Cordone Ombelicale

Obiettivo:

tutelare sempre il diritto della madre a conservare il proprio sangue del cordone ombelicale per uso autologo e al tempo stesso garantire la possibilità di donare tale sangue per uso allogeno

Progetto di ricerca - BAMCO 3/2008

Tissue engineering: *utilizzo delle cellule staminali da cordone ombelicale (UCBd)* per la formazione di epatociti

Dr. Negri Stefano - Ospedale "C. Poma" Mantova

sviluppo delle ricerca

- Isolamento delle cellule staminali mesenchimali del cordone ombelicale
- impiego del sangue non idoneo al congelamento

sviluppo delle ricerca

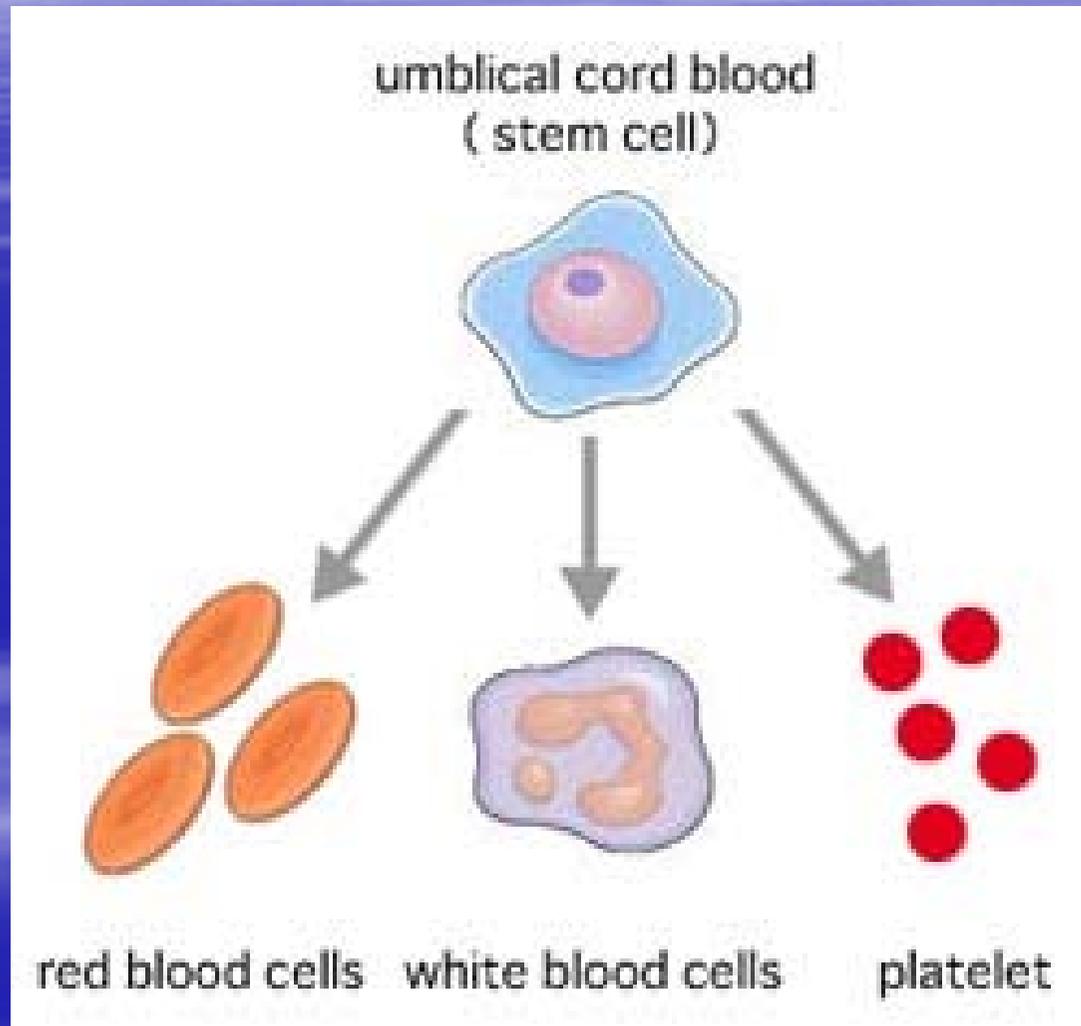
- Proliferazione delle stesse per un periodo di due settimane con terreno di iniziazione

■ 2

sviluppo delle ricerca

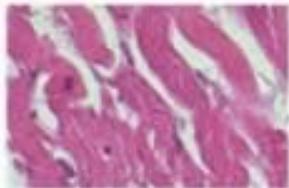
- Differenziazione per altre due settimane con idoneo terreno di maturazione

Staminali emopoietiche





Smooth muscles



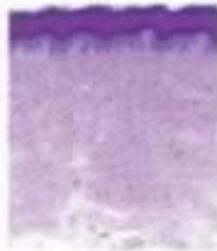
cardiac muscles



Skeletal muscles



Tendons



Dermal tissues



Neurons



Chondrocytes



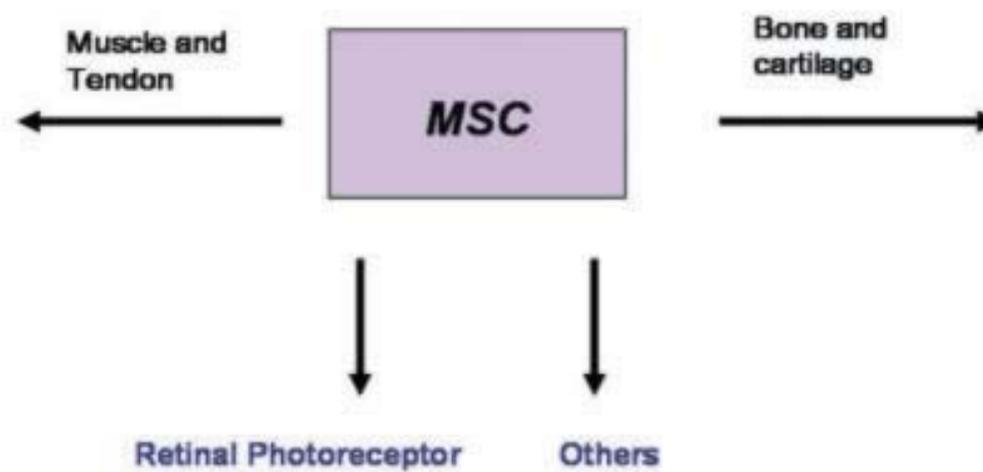
Osteocytes



Adipocytes



Teeth



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PARMA

Facoltà di medicina e chirurgia- Facoltà di veterinaria- Facoltà di farmacia

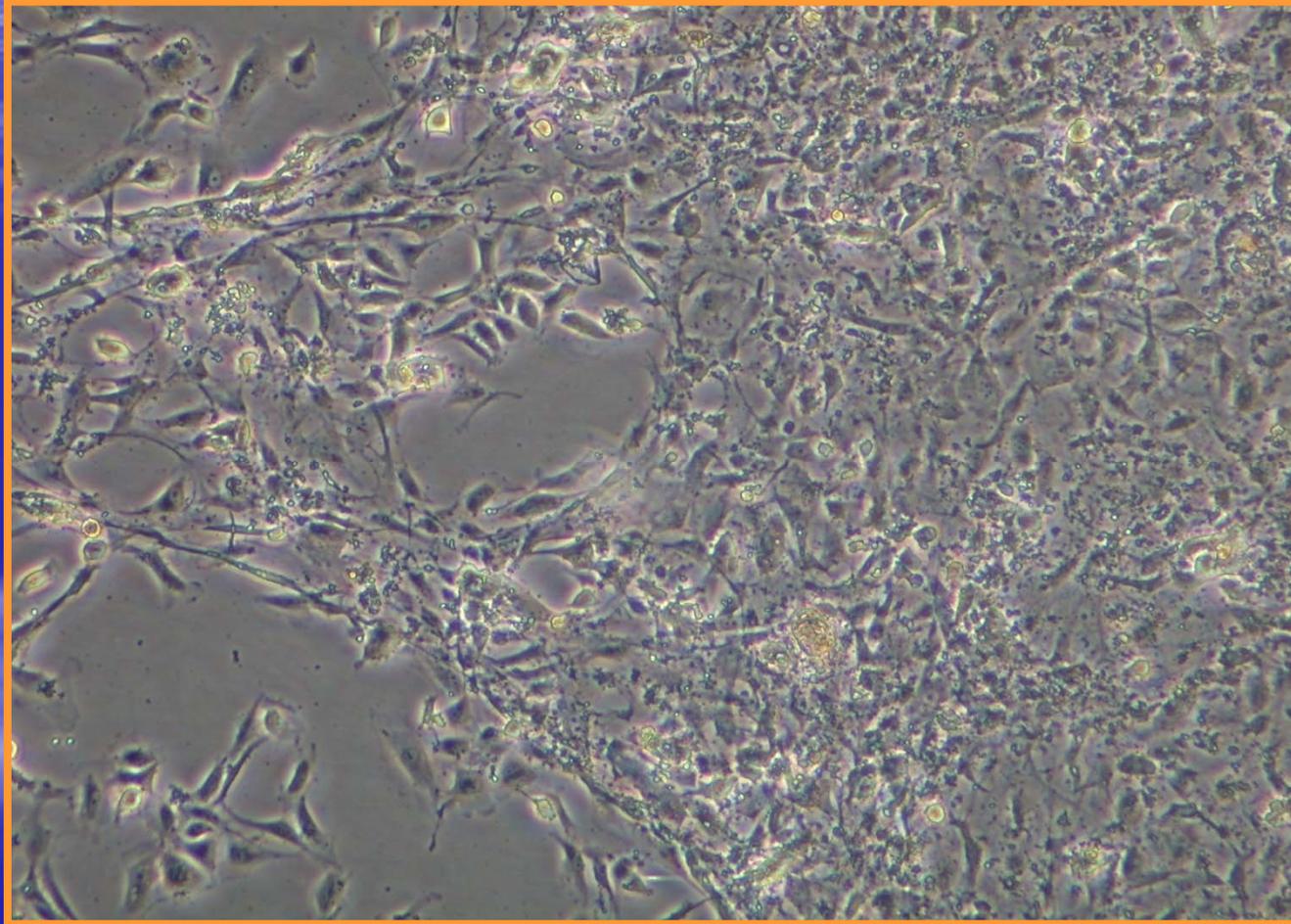
Corso di Laurea Specialistica in Biotecnologie per la Salute

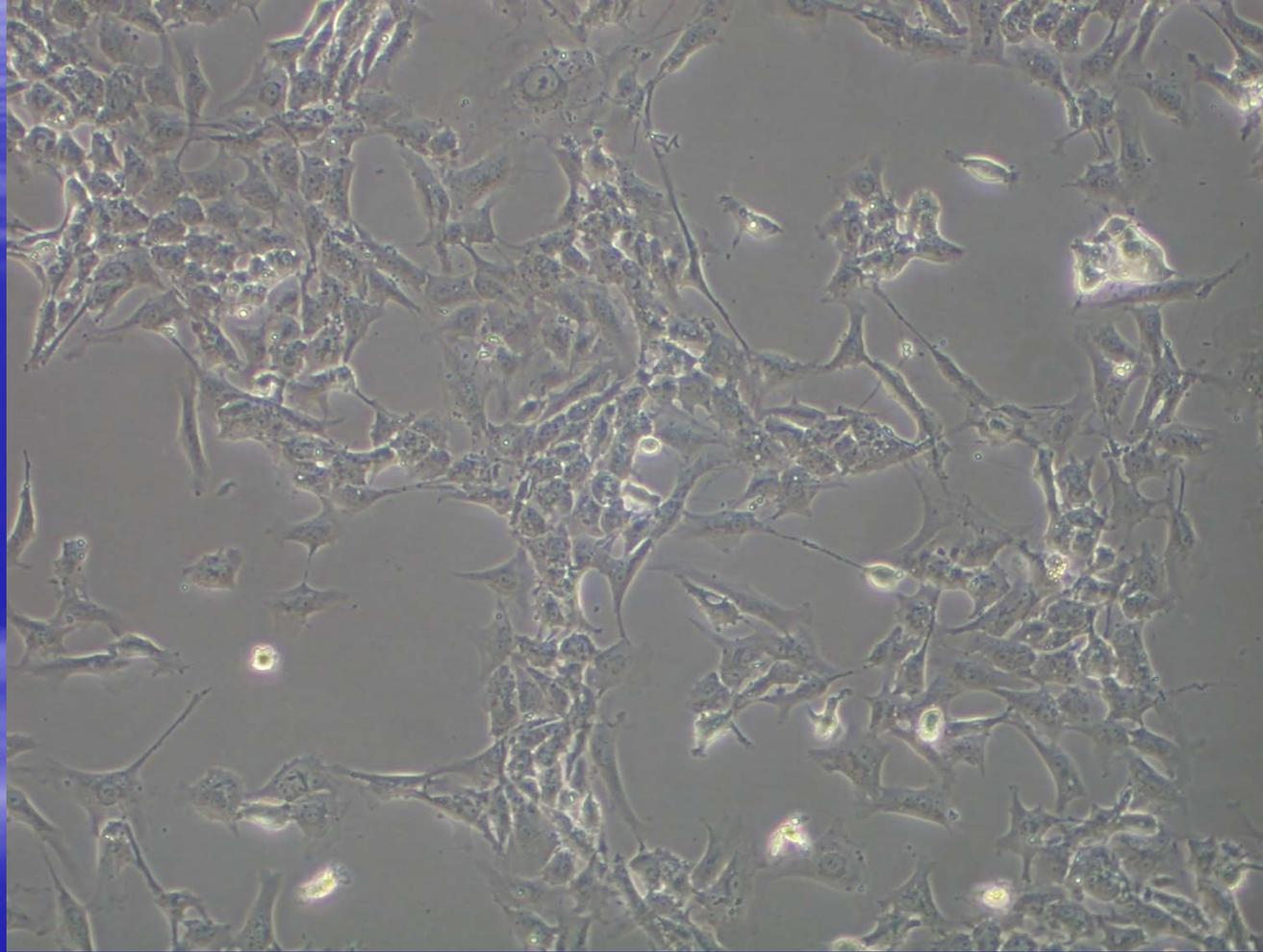
**ISOLAMENTO DI CELLULE
STAMINALI MESENCHIMALI DA
SANGUE DEL CORDONE
OMBELICALE**

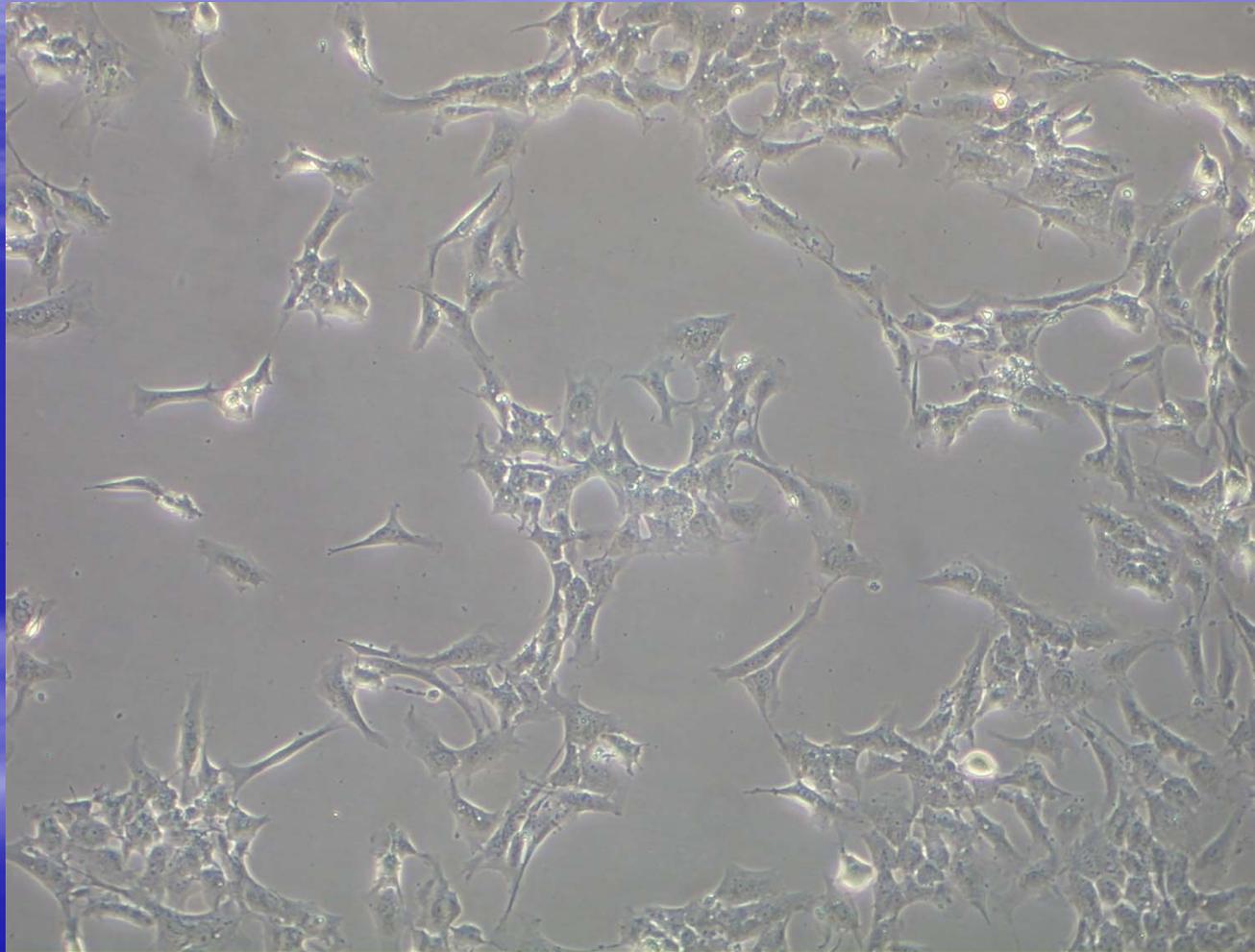
Laureando: Arianna Beduschi

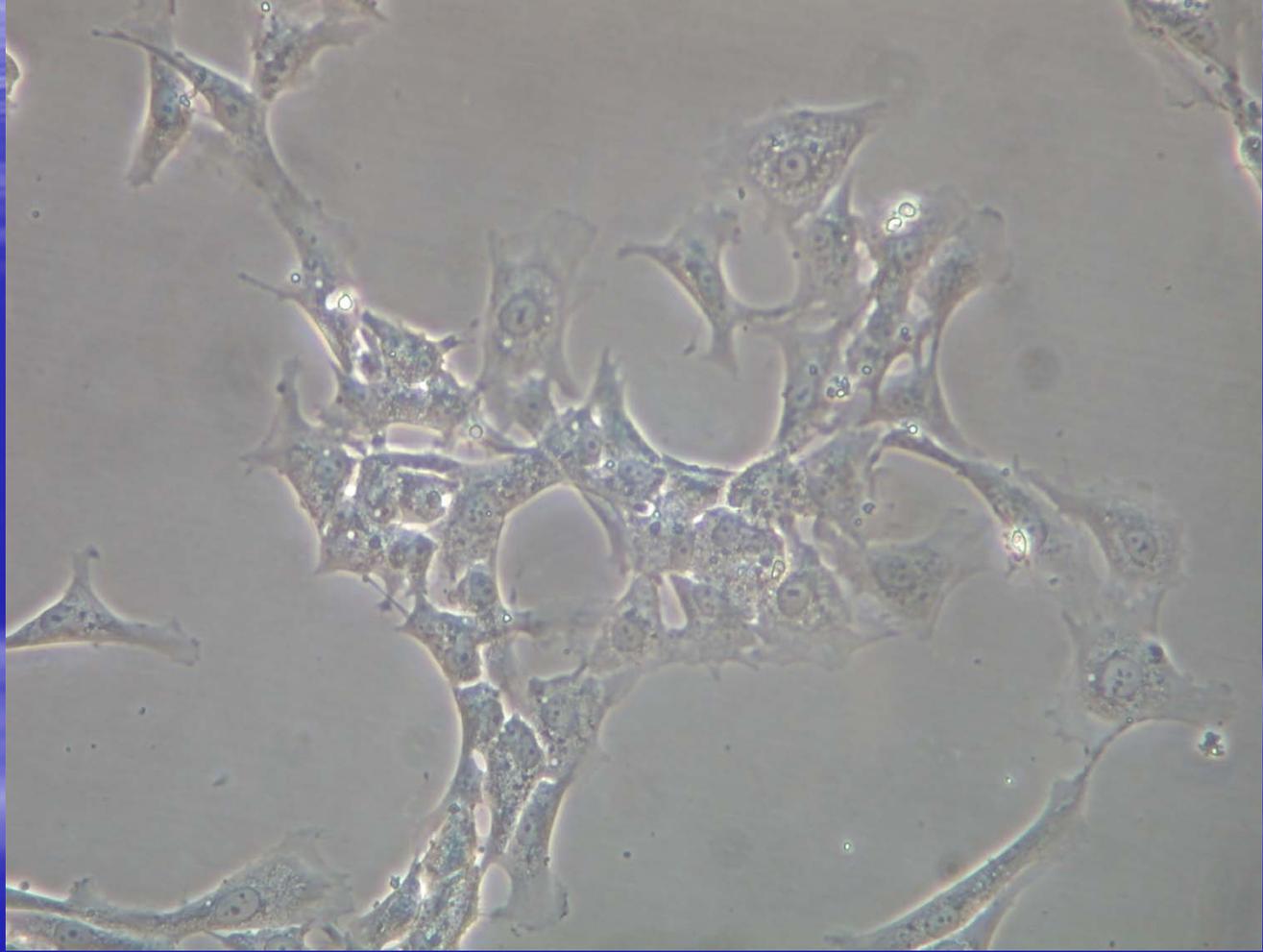
Relatore: Prof. Roberto Sala

Tutore: Dott. Stefano Negri









- Non siamo stati i primi ad isolarle, ma siamo stati i primi ad isolarle spendendo così poco. Meno di tremila euro

BAMCO 28-1-2013

Tissue engineering:

utilizzo di cellule staminali adulte per
la formazione di lambi di cute

Dr. Negri Stefano

Anatomia Patologica

Mantova

Ingegneria Tessutale – tissue engineering

- L'ingegneria tessutale è un' area multidisciplinare di ricerca che ha come scopo la rigenerazione di tessuti ed organi danneggiati del nostro organismo, partendo dal presupposto che la quasi totalità delle cellule animali possono essere coltivate in laboratorio.

- Il principio generale è quello di utilizzare cellule staminali e farle crescere e differenziare su un supporto idoneo in modo da produrre il tessuto che deve essere sostituito.

Staminali adulte

- provvedono al mantenimento dei tessuti e alla loro riparazione
- Possono essere:

multipotenti :

- le piu' studiate sono nel midollo osseo
- CD34+
- emopoietiche
- cellule mesenchimali {osteoblasti, condrociti, adipociti}

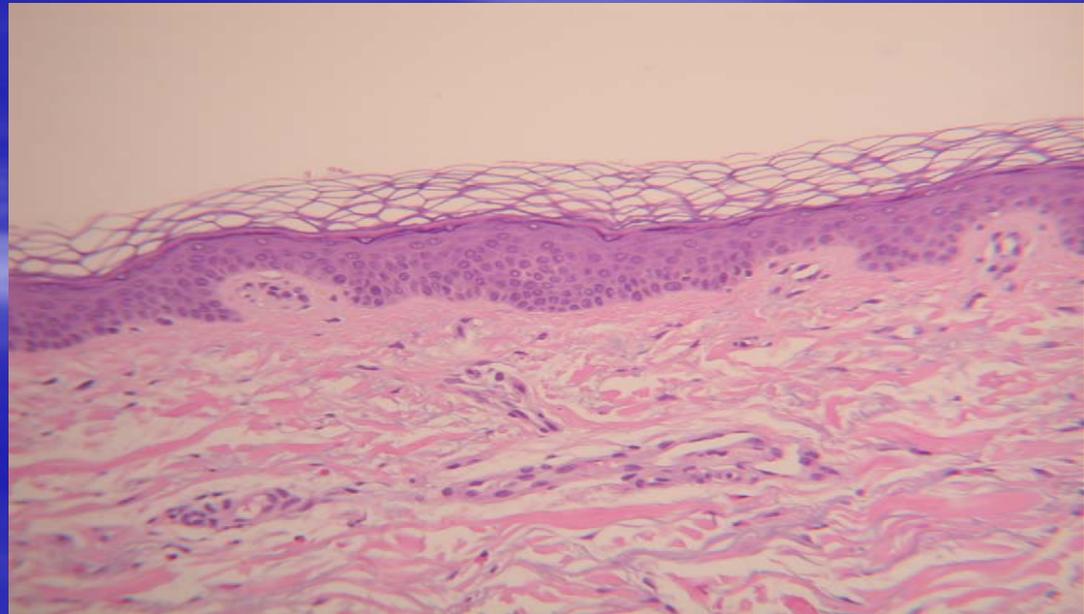
Staminali adulte

unipotenti o mature:

- sviluppano una sola linea cellulare (cellule differenziate),
- basso indice proliferativo
- oggetto delle nostre ricerche (cheratinociti, fibroblasti e condrociti).

Frammento cutaneo

- Il frammento cutaneo (è sufficiente punch di cm 0,6) viene trattato con un enzima (collagenasi) per separare l'epidermide dal derma.



PRELIEVO AUTOLOGO DI CUTE: FORMAZIONE DI UN LEMBO EPIDERMICO

- Lo scopo di questa ricerca è quello di isolare cheratinociti, melanociti e fibroblasti umani, derivanti da prelievi di cute autologa, farli crescere in coltura in modo da formare lembi cutanei con caratteristiche morfo-funzionali e immunoistochimiche molto simili a quelle della cute normale.

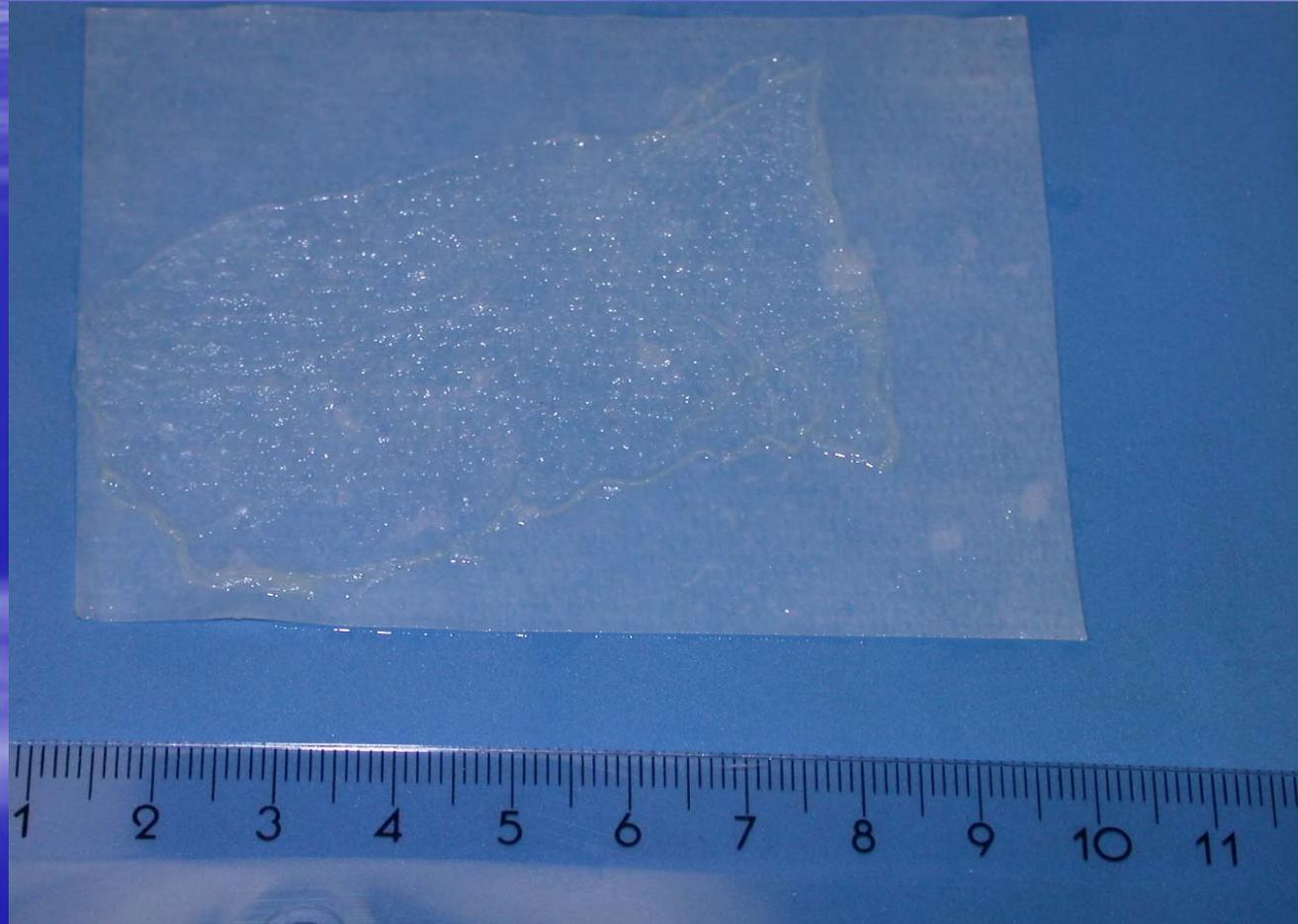
- Questi lembi possono essere utilizzati per la terapia di ulcere, ustioni e per interventi di chirurgia ricostruttiva.

Nostri Prodotti

-  solo cheratinociti
-  cheratinociti su supporto di collagene
-  fibroblasti su supporto di collagene
-  cheratinociti e fibroblasti su supporto di collagene
-  Cheratinociti e fibroblasti su supporto di plasma autologo

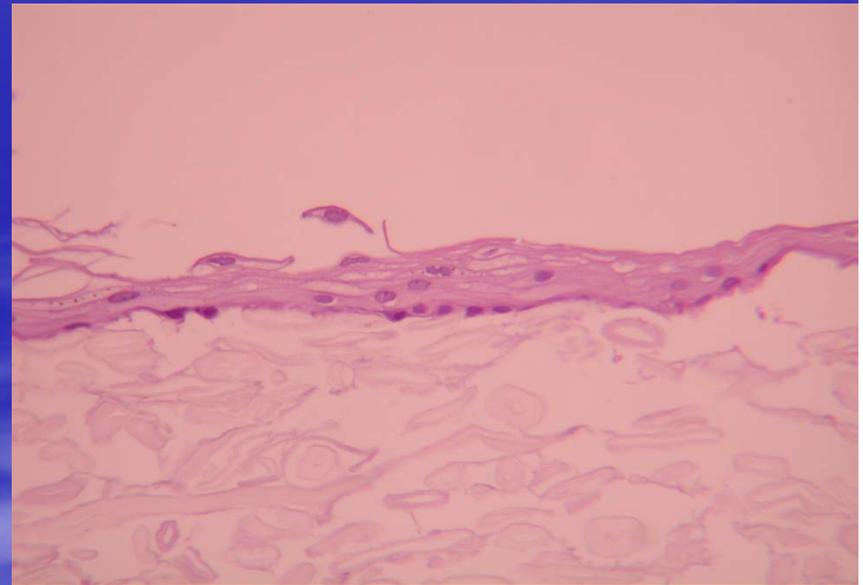
solo cheratinociti

Lembo 19° giorno



Esame Istologico

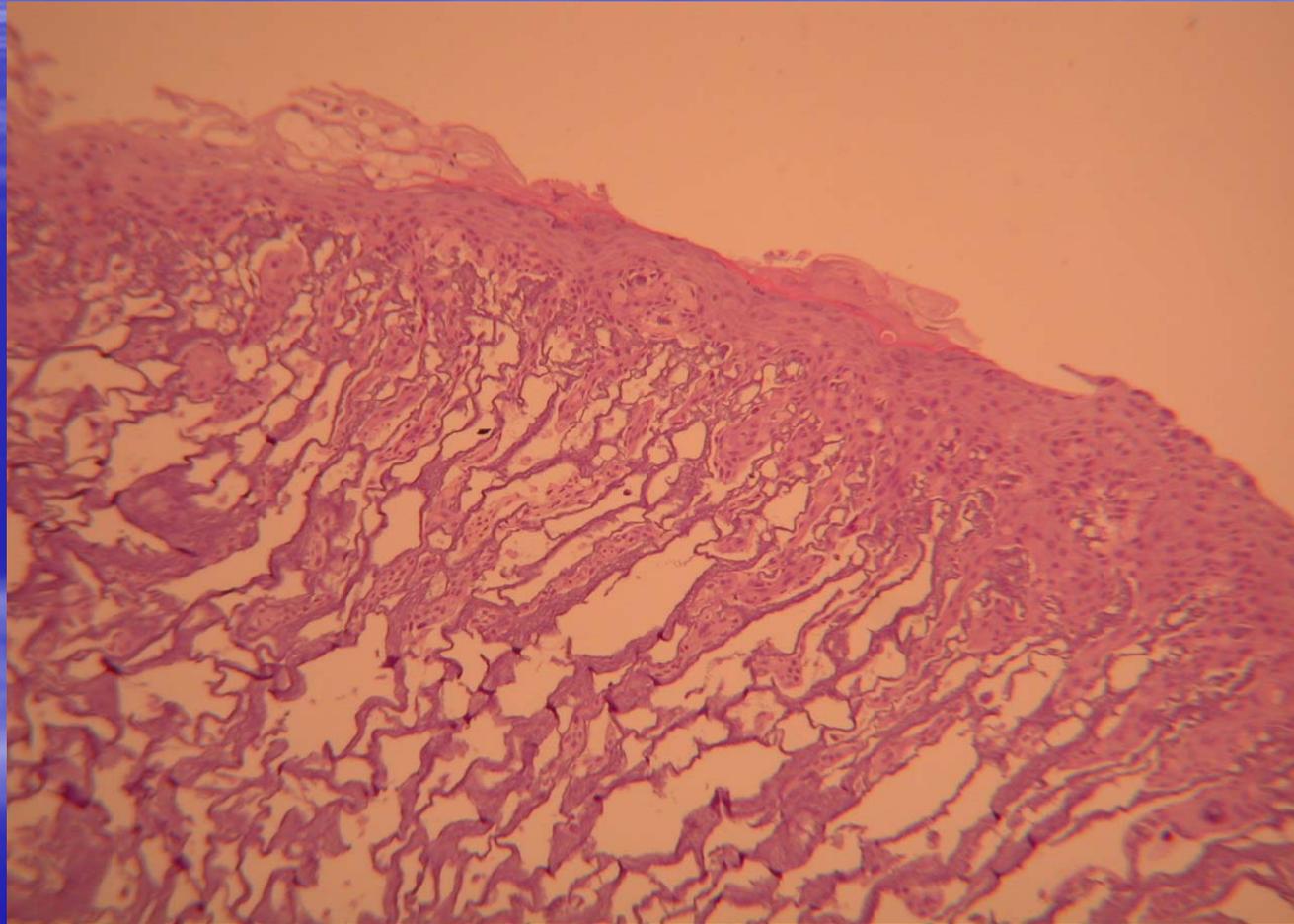
- I limiti del lembo epidermico così ottenuto, che ne riducono la possibilità d'impiego clinico, sono il ridotto spessore e la conseguente fragilità.



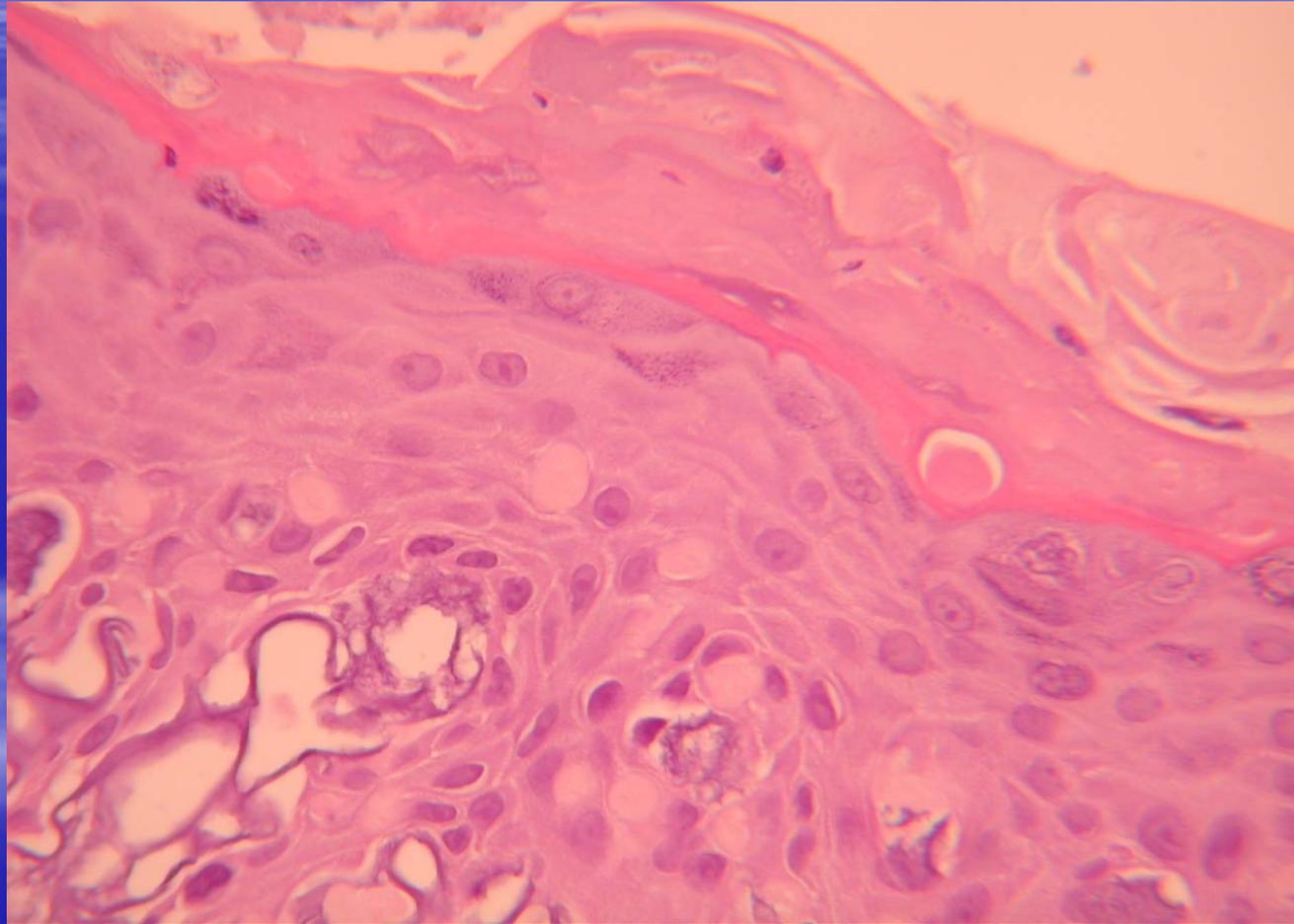
- Risulta quindi evidente la necessità di impiegare un supporto idoneo da utilizzare come “carrier” per le cellule in coltura.

*cheratinociti su supporto di
collagene*

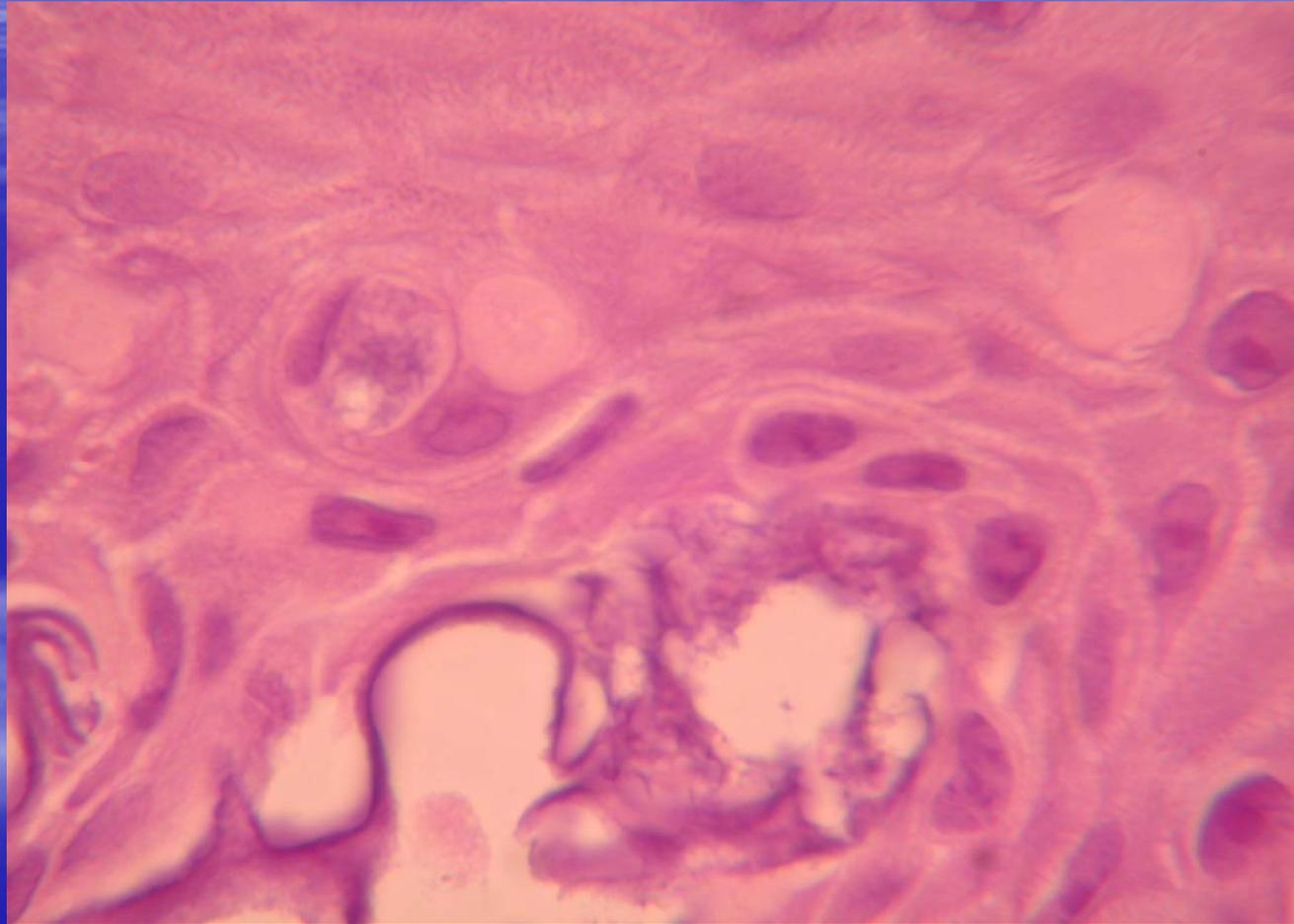
Ematossilina - eosina 10 x



Ematossilina - eosina 40 x

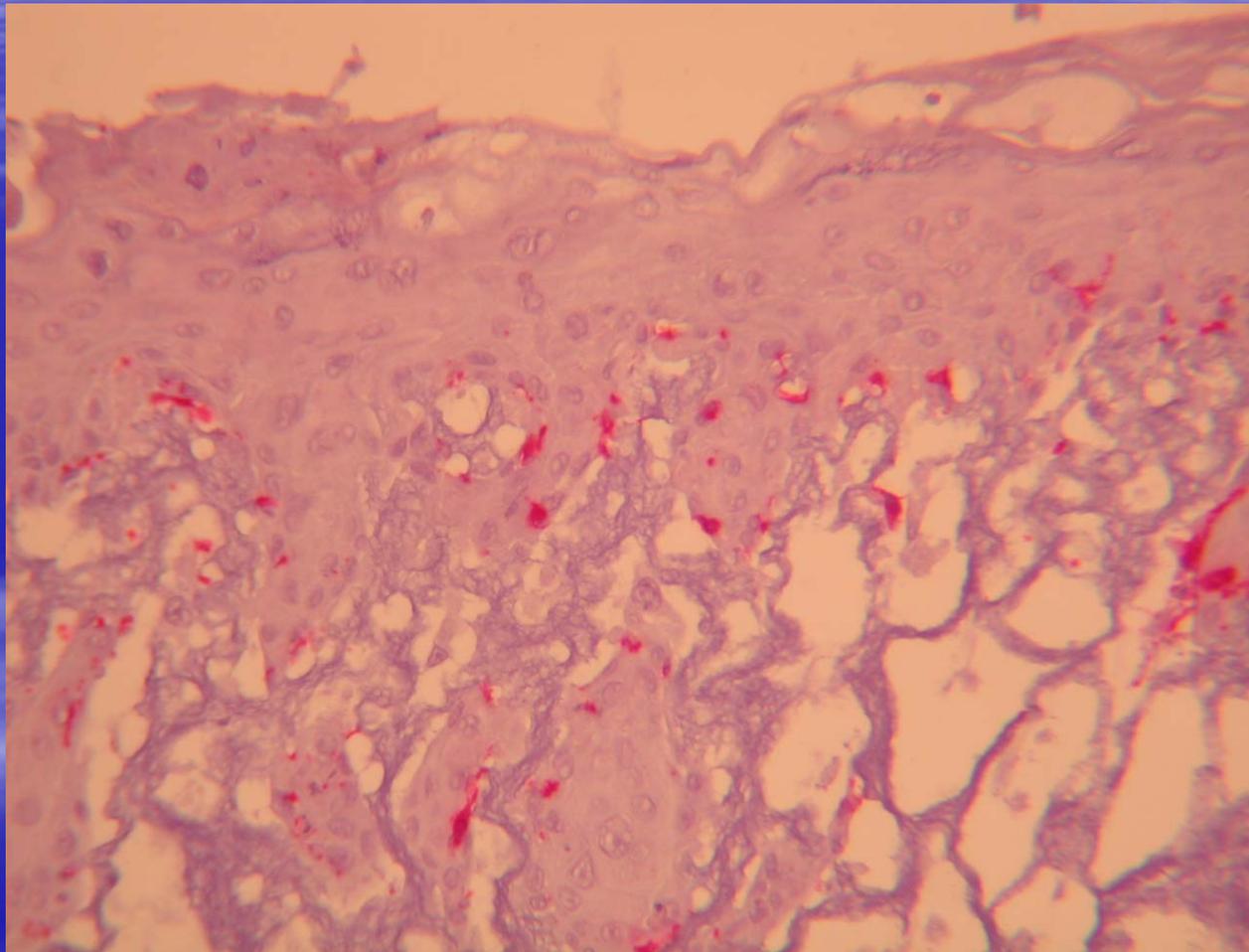


Strato basale

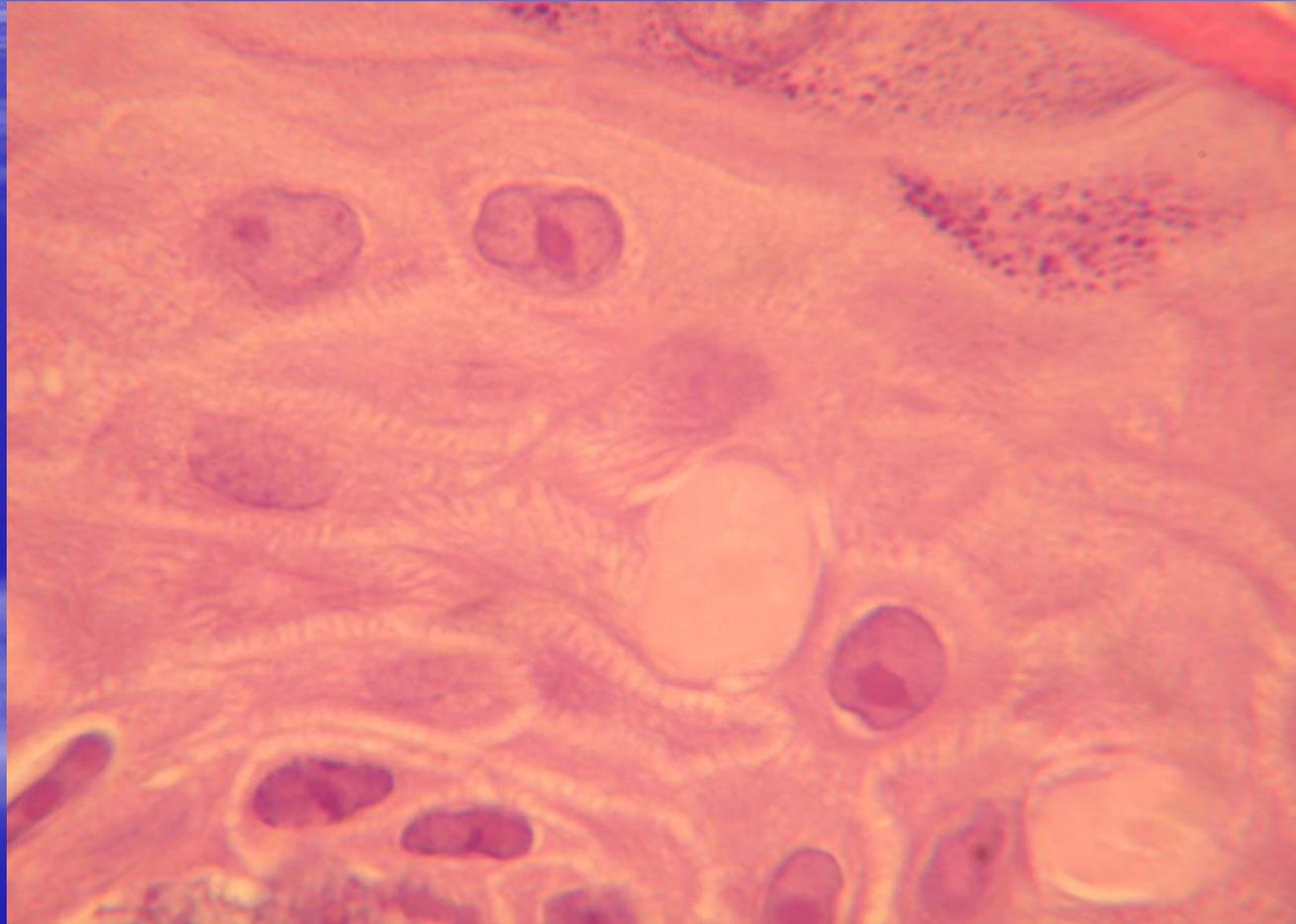


ICH - HMB 45

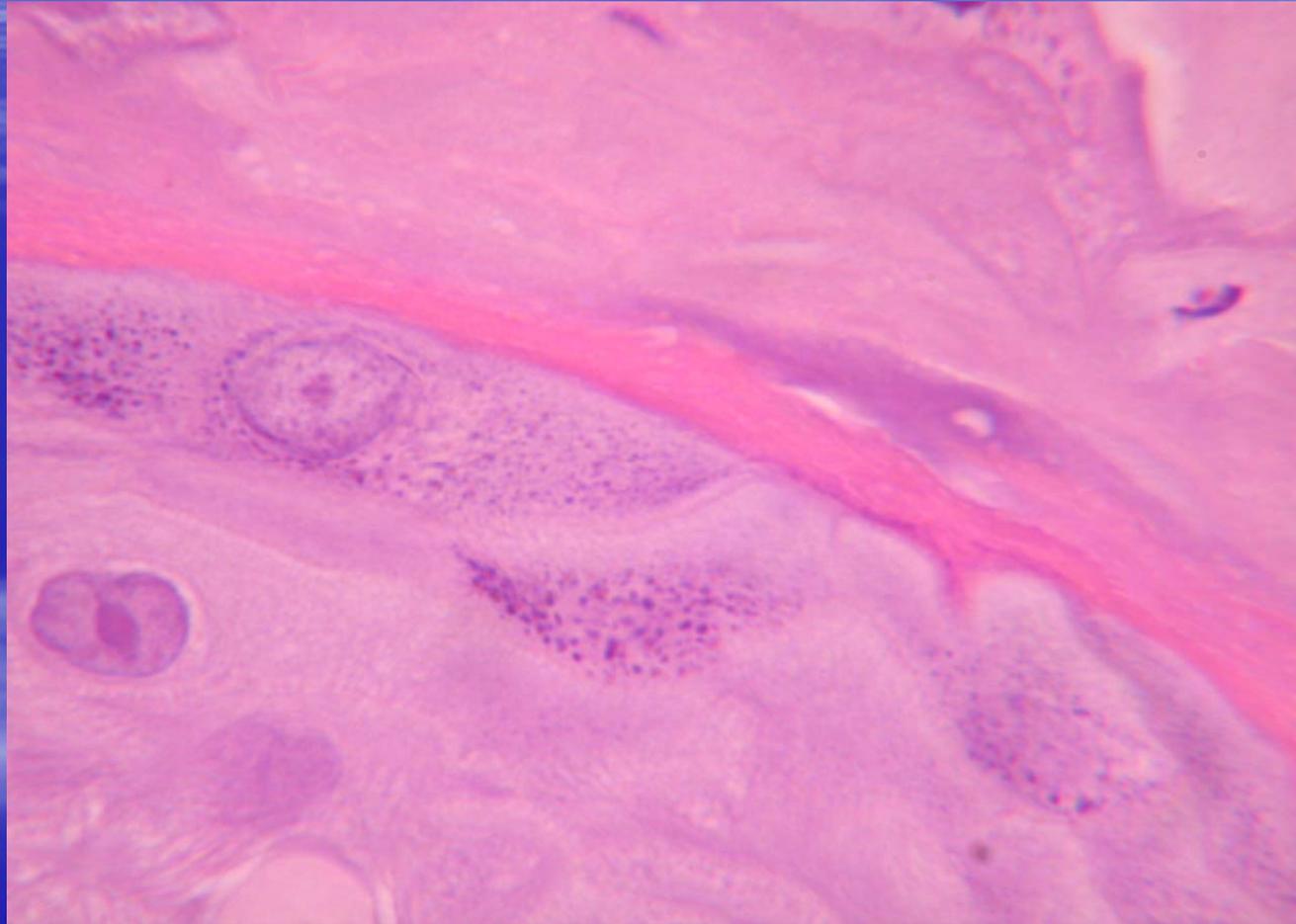
Evidenzia i melanociti giunzionali



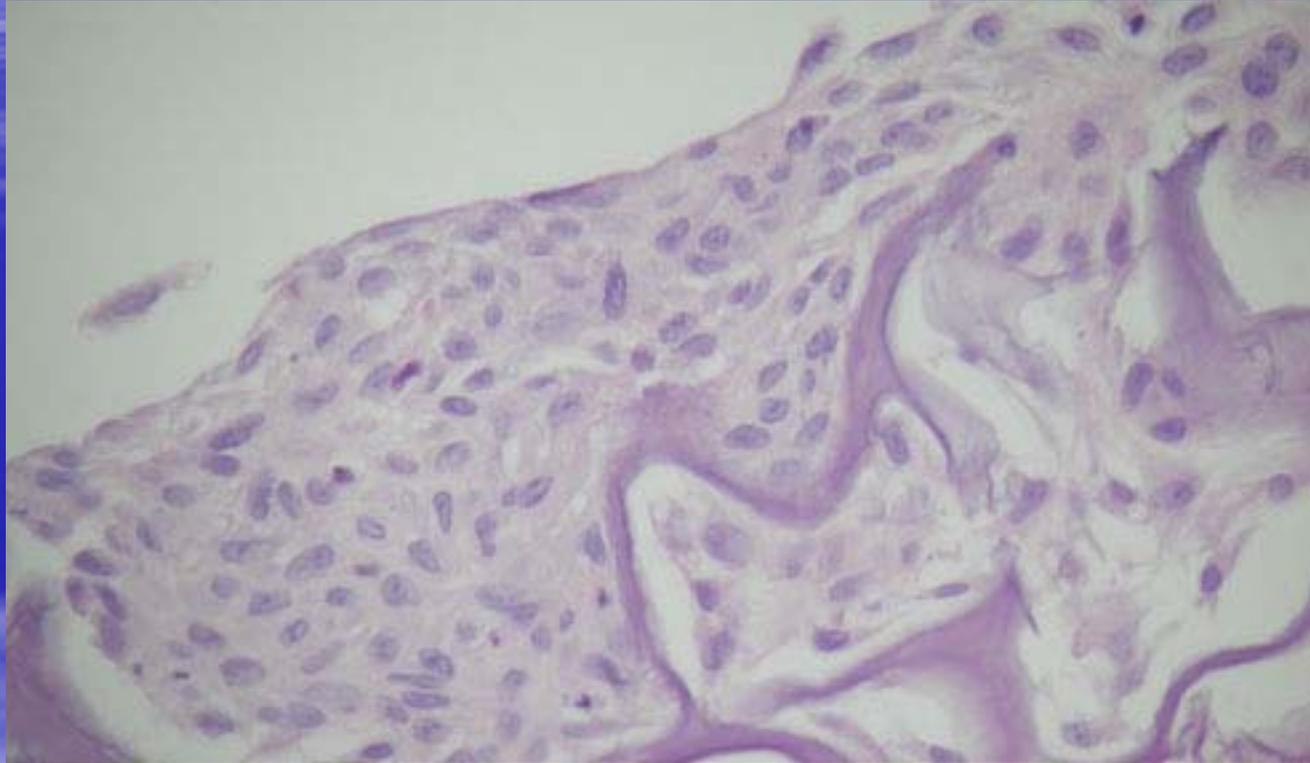
Strato spinoso



Strato granuloso e corneo



fibroblasti su supporto di collagene

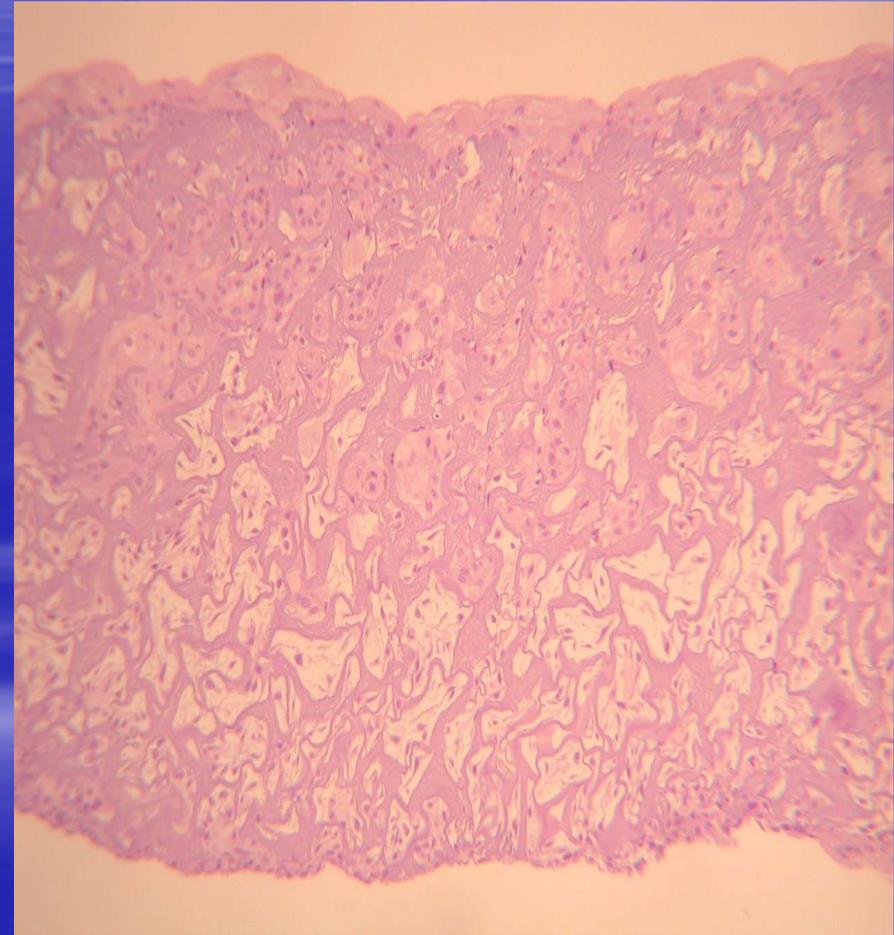


cheratinociti e fibroblasti su
supporto di collagene

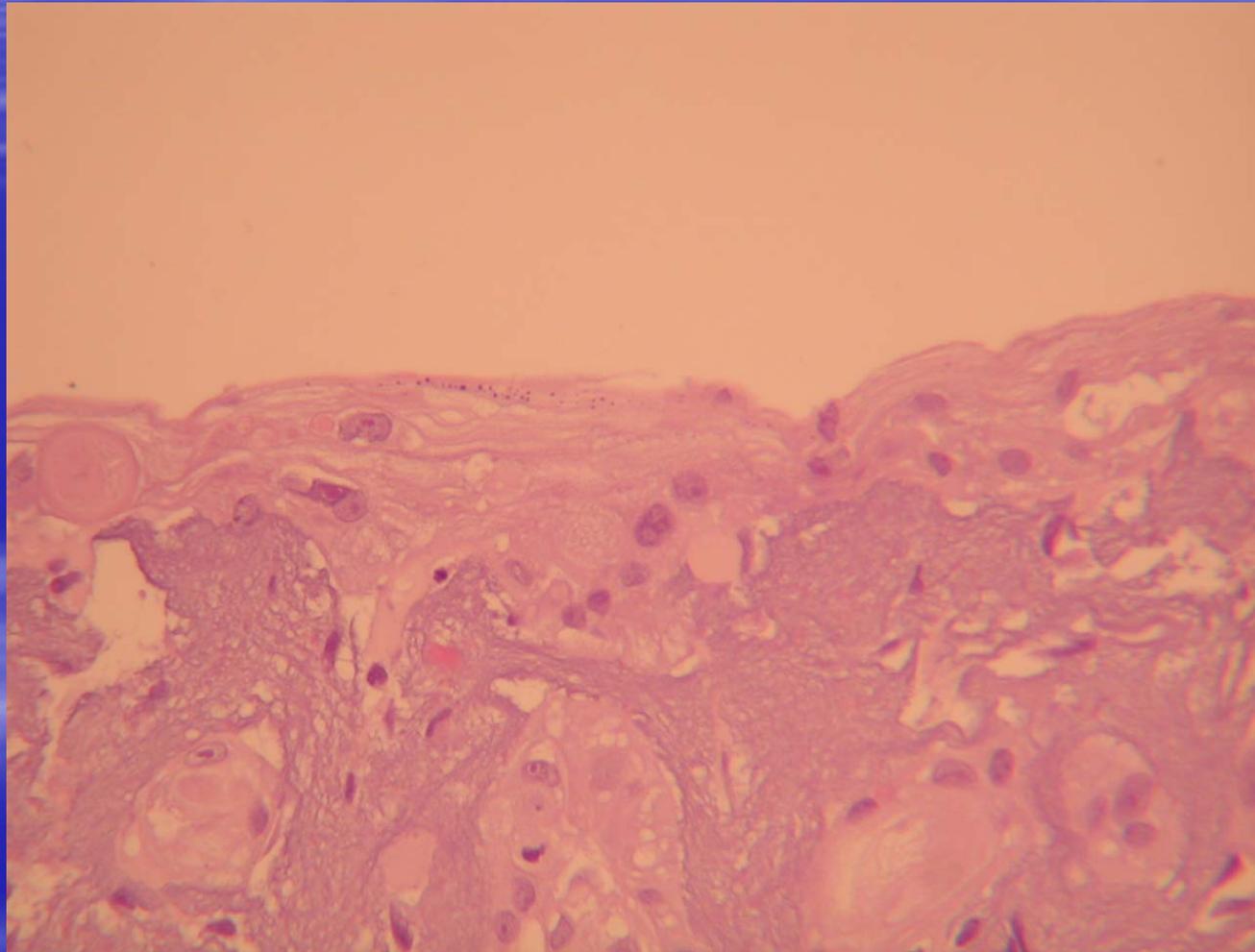
Seminati su supporto di collagene

- 500.000 fibroblasti UMANI/cm²
- 40.000 cheratinociti/cm²

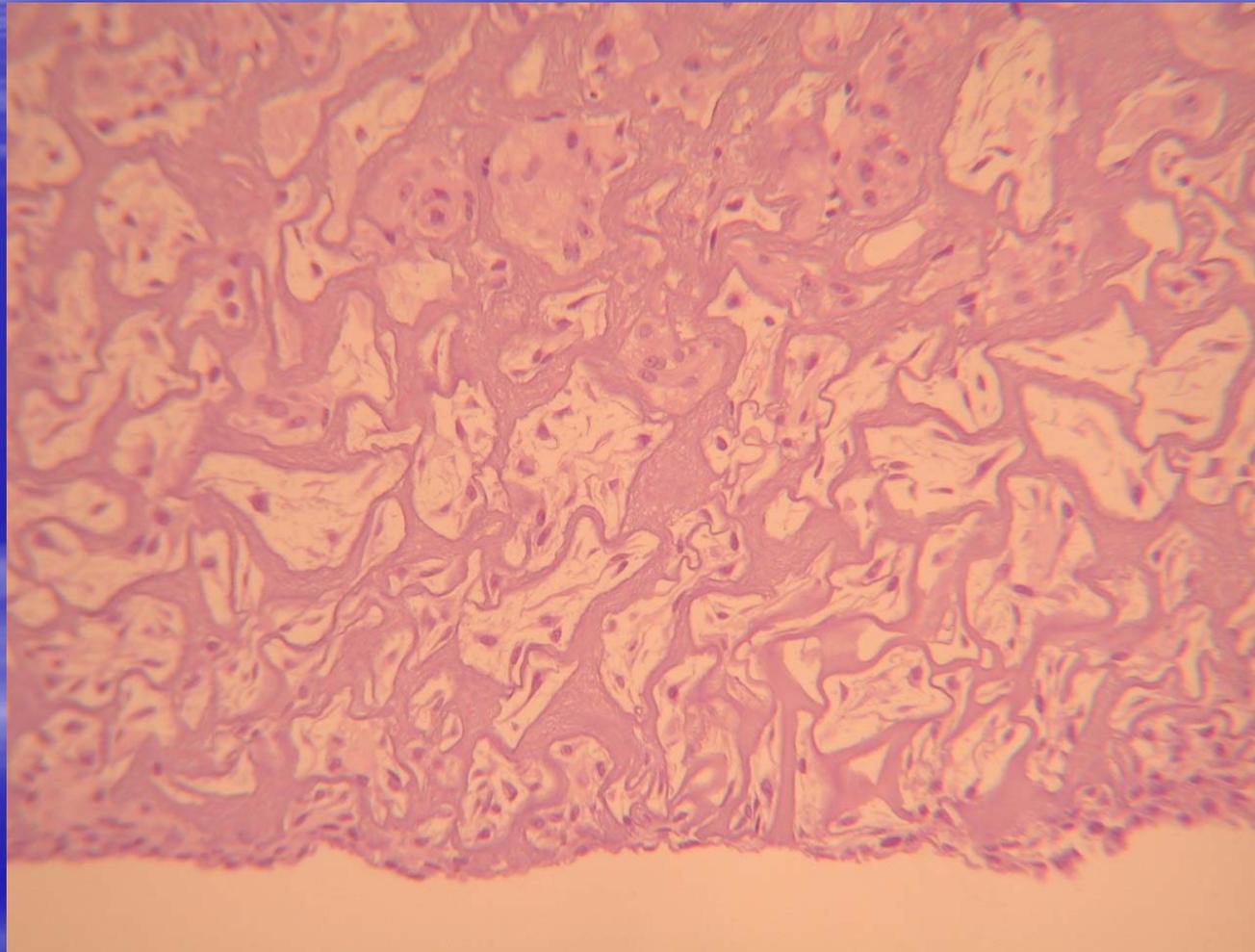
■ *DOPO 10 GIORNI...*



Ematossilina Eosina - 20 x

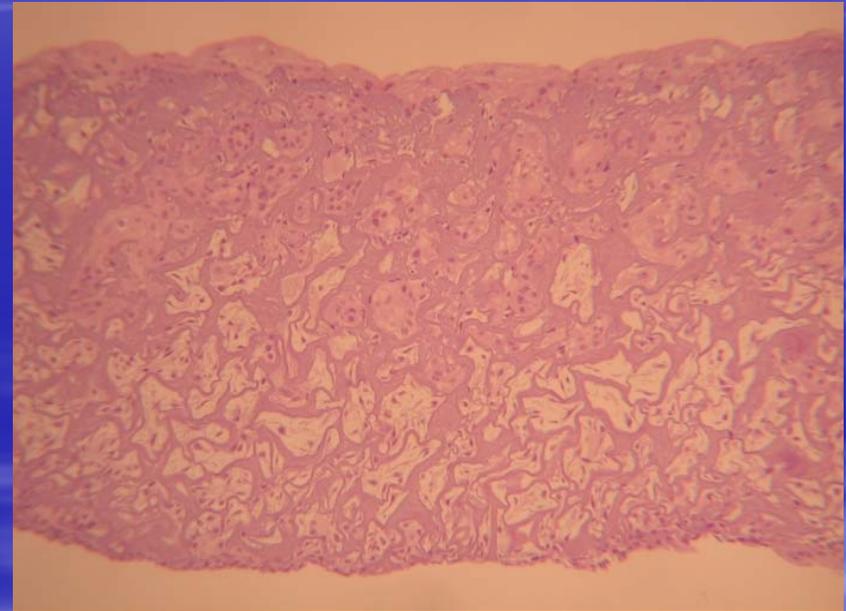
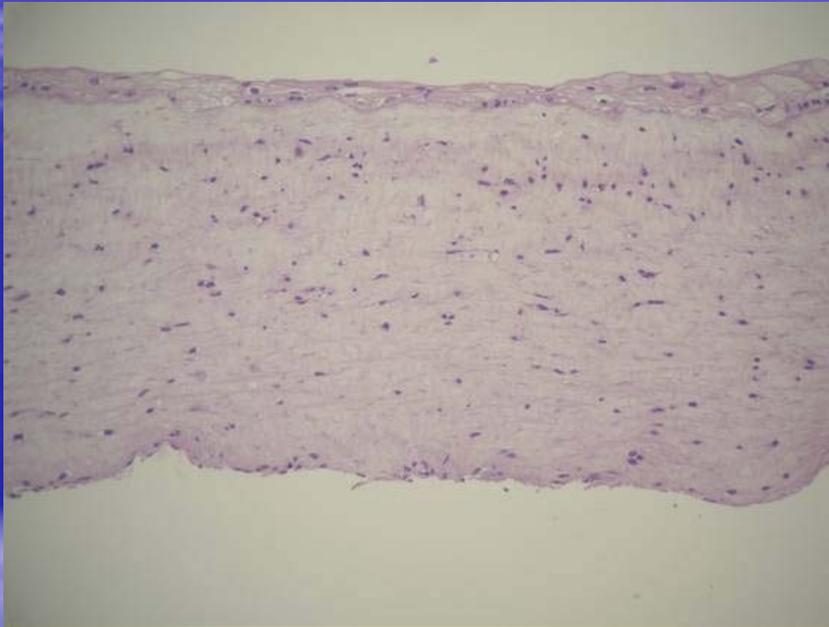


Ematossilina Eosina - 10 x



*Cheratinociti e fibroblasti su
supporto di plasma autologo*

PLASMA



- Forti per la bellezza di questi prodotti ottenuti con metodiche di ingegneria tessutale
- Forti del parere positivo del Comitato Etico Azienda Ospedaliera C. Poma
- Forti dell'ottenuta qualità ISO 9001

- Forti di avere partecipato con esito positivo a 2 censimenti della Regione Lombardia che ci chiedeva cosa facevamo e come lo facevamo
- Forti del rimborso di euro 4.510,35 per ogni trapianto eseguito a fronte di una spesa comprensiva del costo personale di circa 700 euro

- Abbiamo trattato 20 Pazienti in collaborazione dei colleghi Dermatologi, Chirurghi Vascolari ed Internisti



- **AABB Annual Meeting & TXPO 2007 •
October 20-23**
- **Anaheim Convention Center**
- **Anaheim, California, USA**



IV CONGRESSO NAZIONALE DI ANATOMIA PATOLOGICA

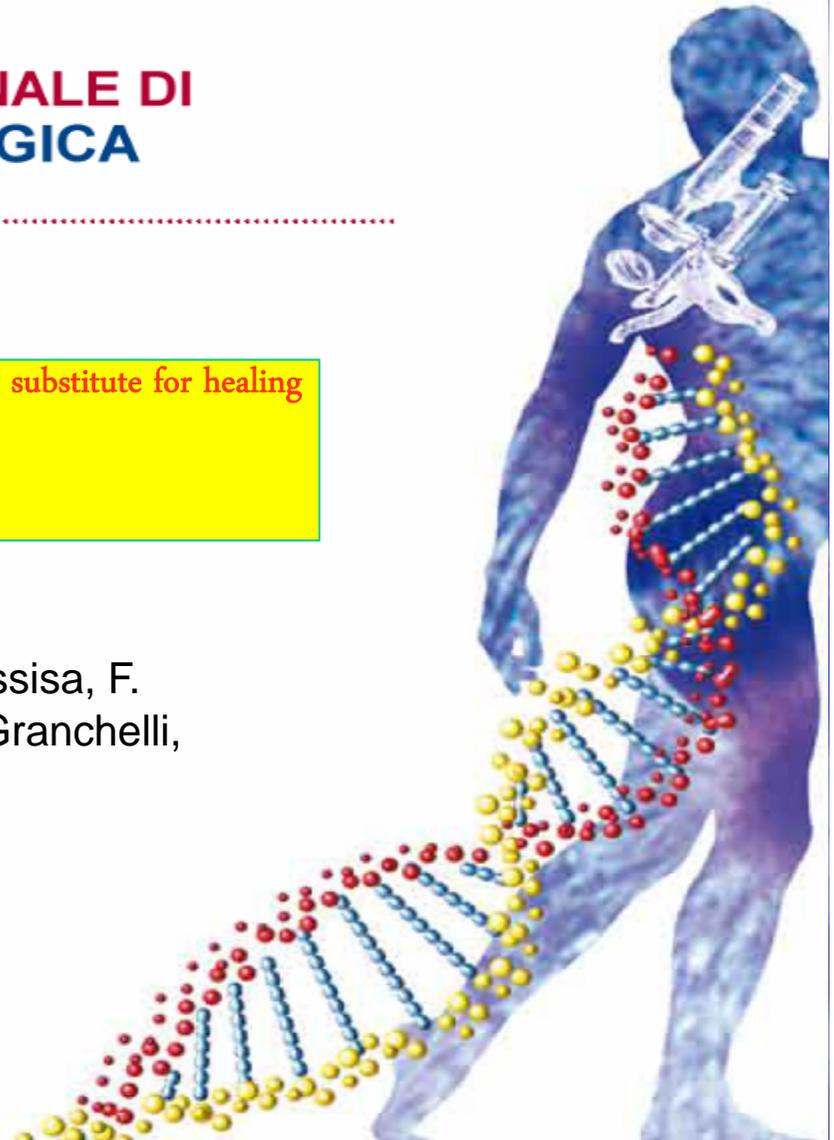
Tissue engineering: autologous full-thickness skin substitute for healing chronic wounds

A. Bellomi , G. Calabrese, A. Cassisa, F.
Colpani, R. Fante, L. Gaetti, G. Granchelli,
S. Negri

Servizio Anatomia Patologica
Ospedale "C. Poma" – Mantova



SIAPEC IAP



- Lo scopo di questo studio è quello di verificare se questi lembi di *cute autologa* prodotta con metodiche di *ingegneria tessutale* ed utilizzando *cellule staminali adulte* sono efficaci nella terapia delle ulcere non responsive alle terapie tradizionali
- Primum non nocere

Results

The success rate in culturing biopsies was 100%. The skin substitute visibly resembled an autograft.

Ten of the 13 (77%) chronic venous ulcers (size 6-300 cmq) healed between 8 and 48 weeks (**case 1 and 2**).

One of the 3 (33%) diabetic ulcers (size 3-28 cmq) healed within 12 weeks.

Three (100%) trauma induced ulcers (size 4-6 cmq) healed between 6 and 12 weeks.

One (100%) burn ulcer (size 12 cmq) healed within 4 weeks.

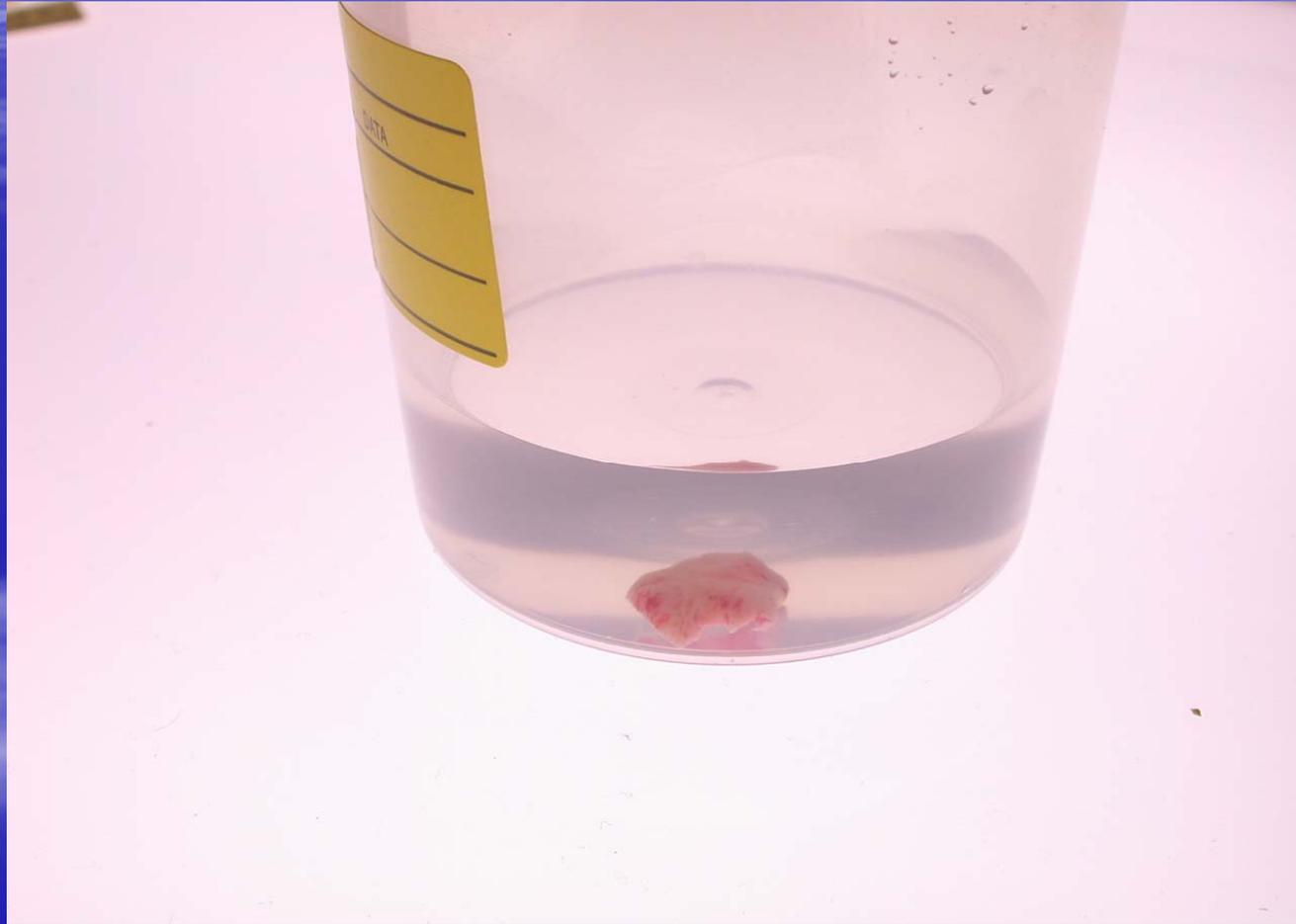
Skin substitutes were very well tolerated and pain relief was immediate after application.

Caso clinico

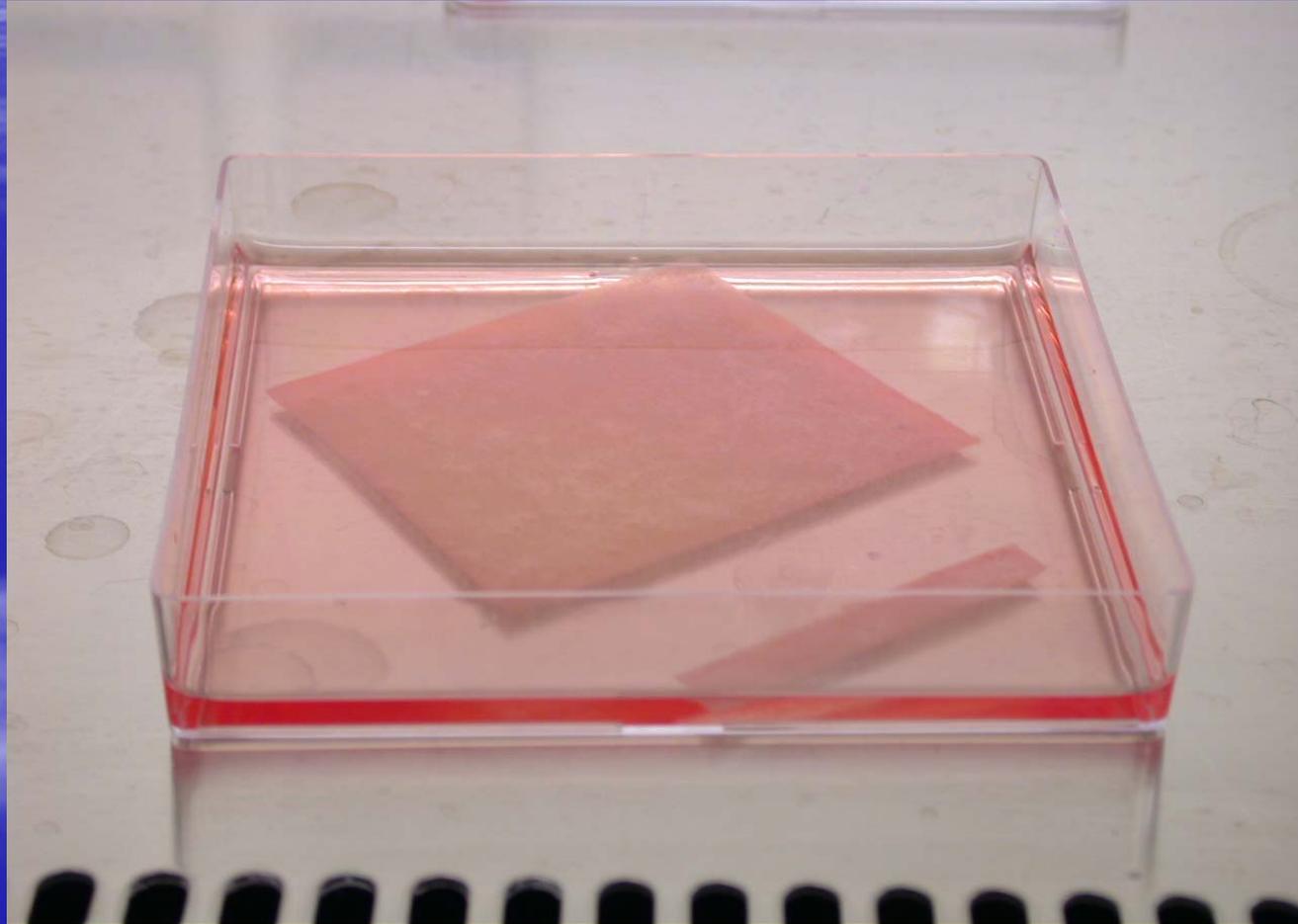
- Ottenuto parere positivo dal comitato etico dell' Azienda ospedaliera C. Poma
- Donna di anni 82 (R.L.) con ulcera alla gamba di destra delle dimensioni di cm 9 x 7 formatasi da circa 2 anni e mezzo e ingravescente nonostante le terapie tradizionali effettuate



Frammento cutaneo



Collagene



Dopo 3 settimane dalla biopsia...



Dopo 3 settimane...





Ulteriore innesto

Dopo 4 settimane



21/9/05



5/10/05



Caso clinico

Donna (Z.A.) di anni 80 con ulcera alla gamba di sinistra delle dimensioni di cm 11 x 8 formatasi da circa 2 anni; operata di by pass. Vascolarizzazione sufficiente.

13-3-06







2-5-06





Mission Impossible



Caso clinico

Maschio di anni 68 con ulcera alla gamba di sinistra delle dimensioni di cm 20 x 15 presente da circa 12 anni. Già trattato con innesto autologo (autotrapianto) e con lembi bioingegnerizzati di epidermide (Modena)















Poi calò la notte

