

UTILIZZO NON CHIRURGICO DELLA MEMBRANA AMNIOTICA

Banca delle cornee
Regione Emilia Romagna
Sede di Imola
Direttore Paolo Bonci

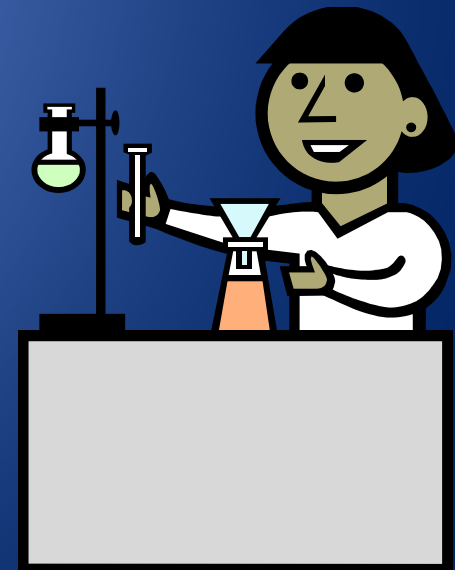
Paola Bonci
Alessandra Russo



Nuovo percorso



- Omogeneizzazione ad ultrasuoni della membrana fresca a T° controllata ($<38^\circ\text{C}$)
- Centrifugazione del prodotto
- Suddivisione in aliquote
- Congelamento a -80°C



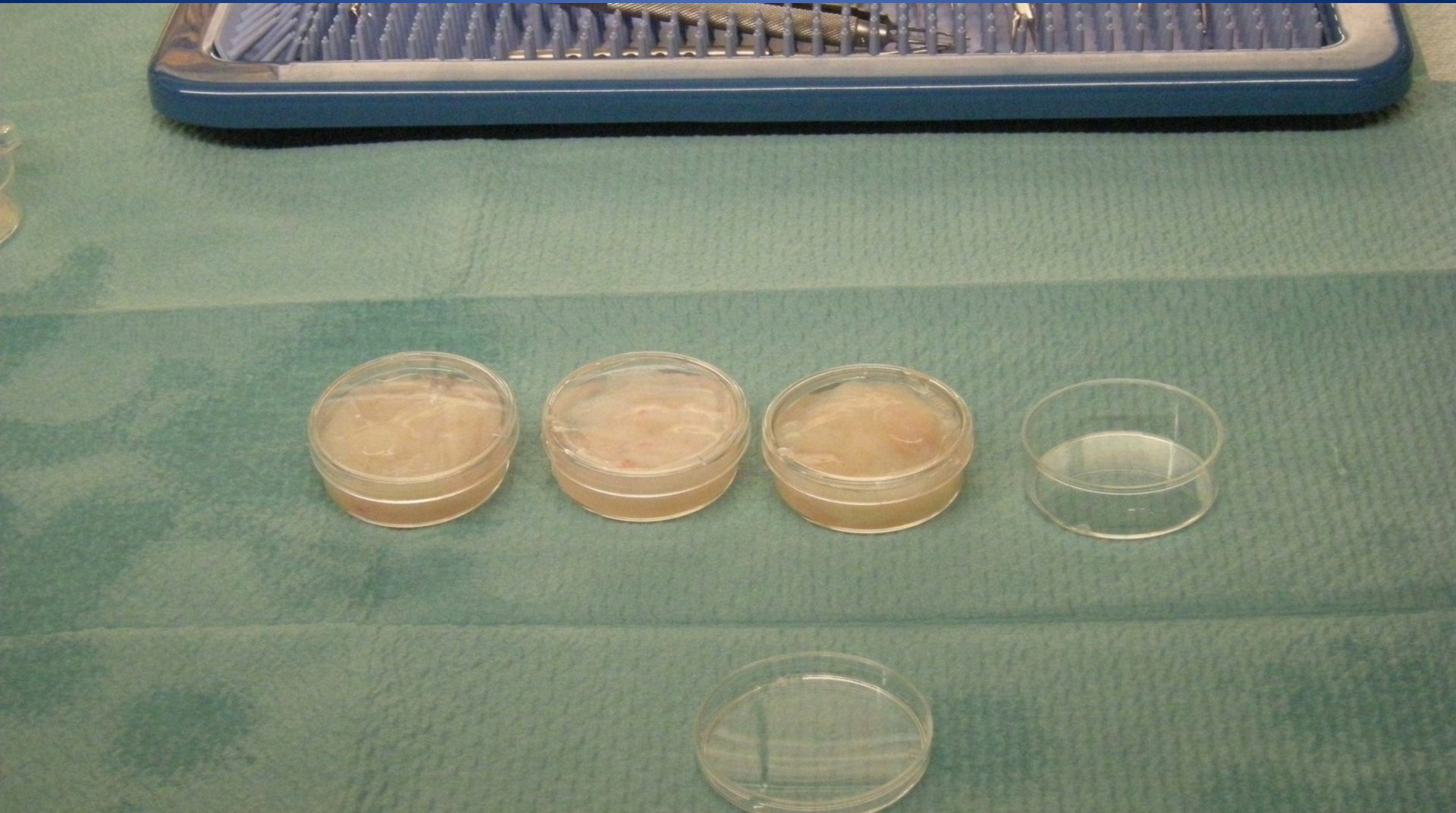
Taglio della m. amniotica in frammenti



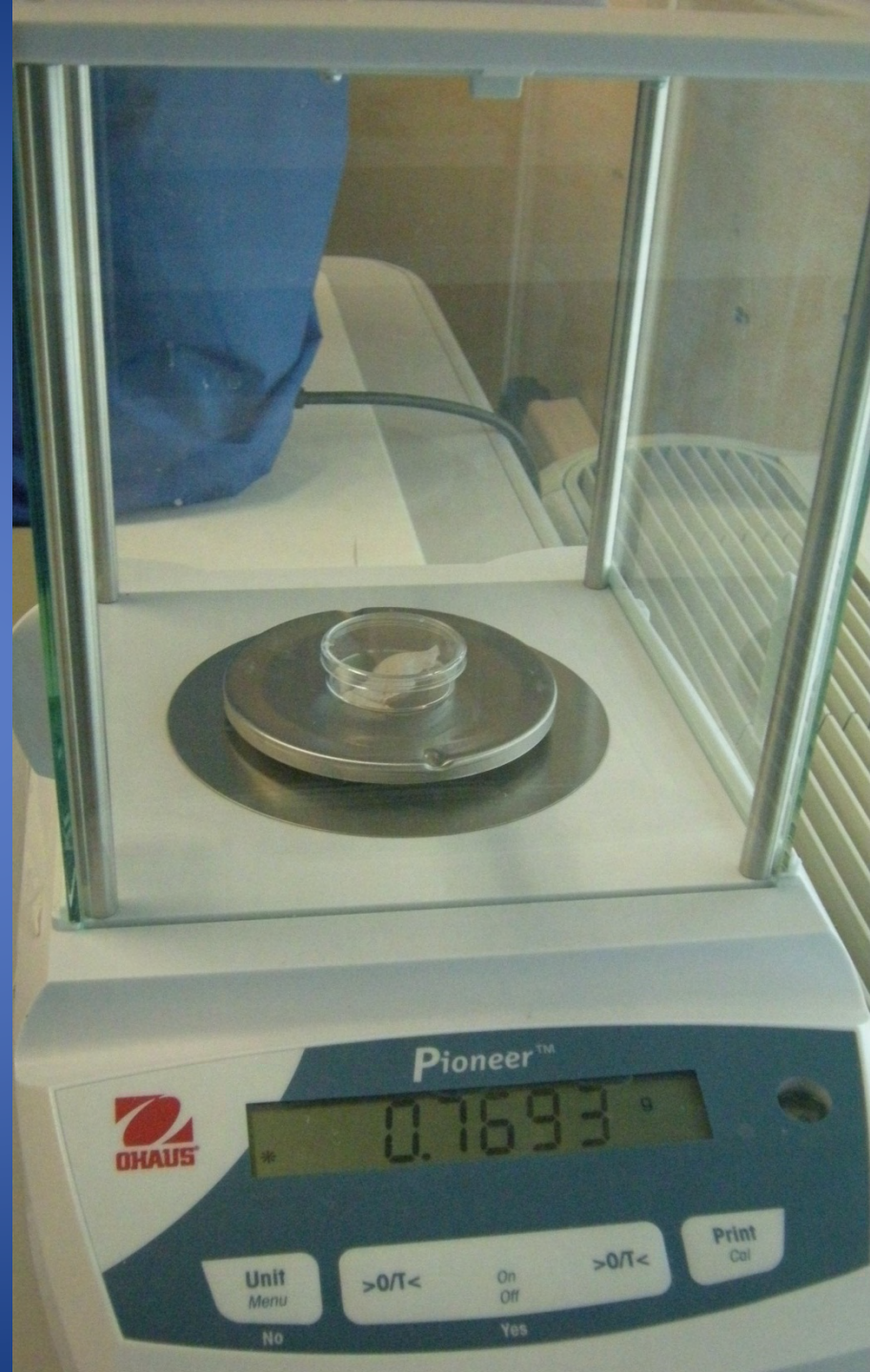
Preparazione per la pesatura



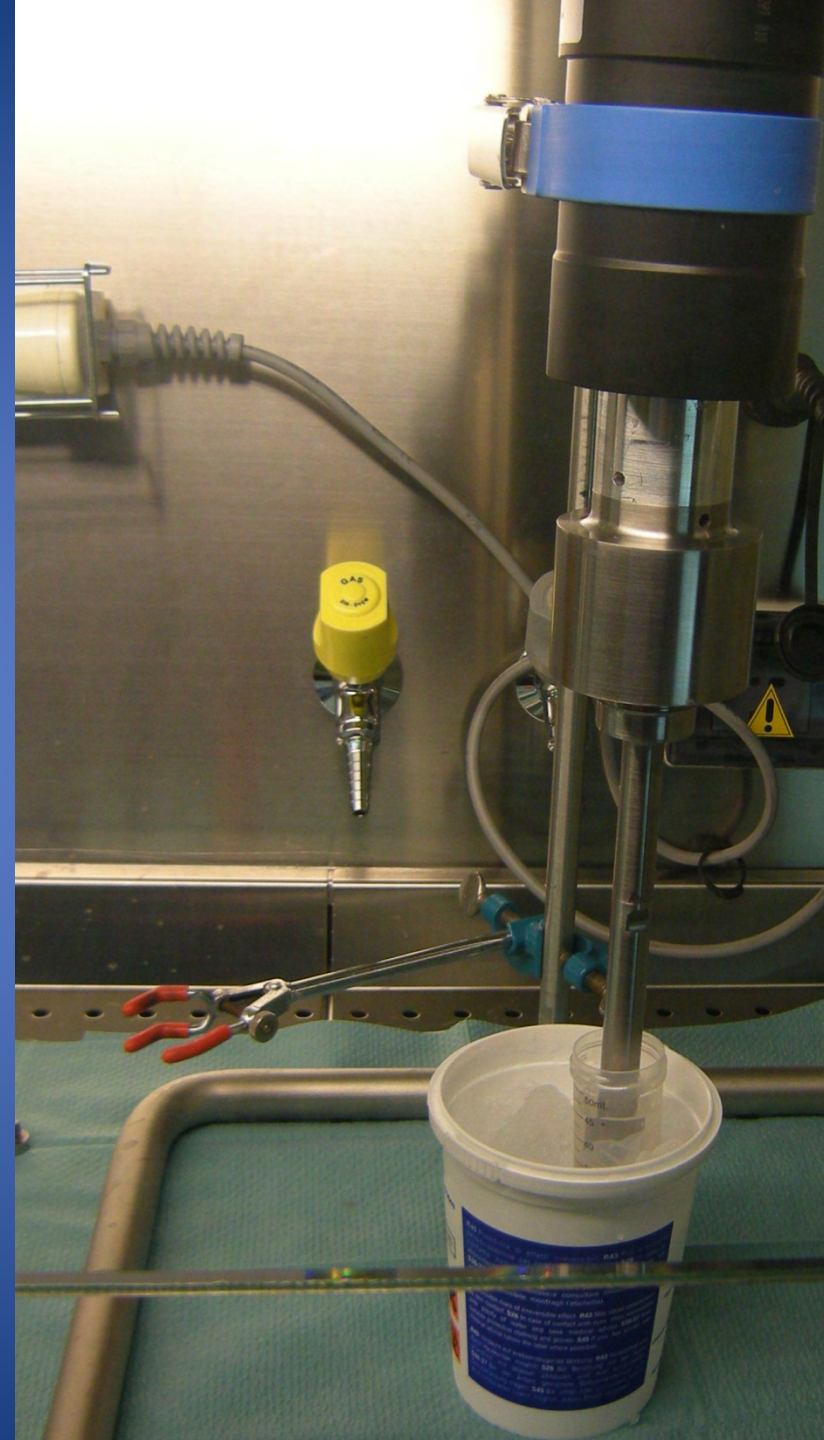
M. amniotica nelle capsule di petri



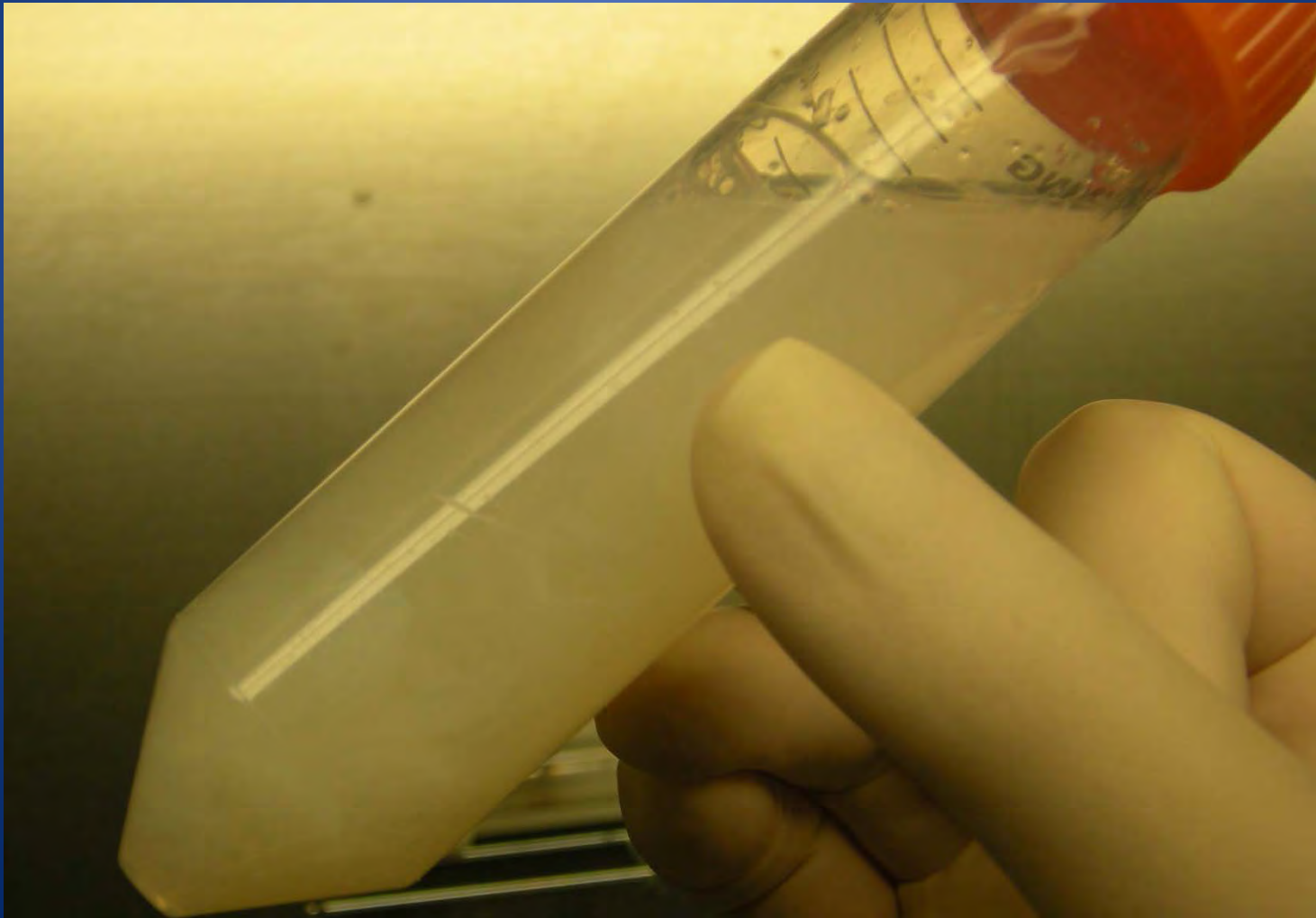
Pesatura della m.
amniotica per
definire il
rapporto
peso/volume



Sonicazione con cicli
ripetuti on - off a
temperatura controllata



Risultato finale



Aliquotazione



Riempimento dei flaconi di vetro



Apposizione di tappo contagocce

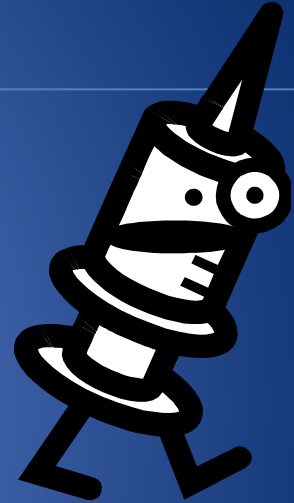


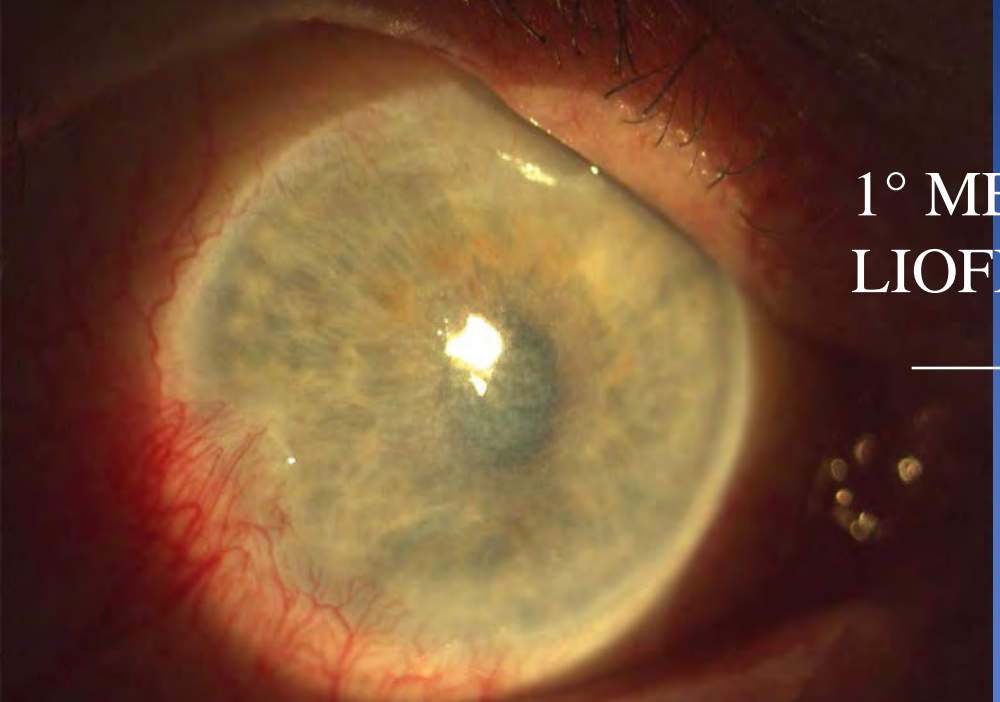
Due modalità di somministrazione

Iniezione sottocongiuntivale

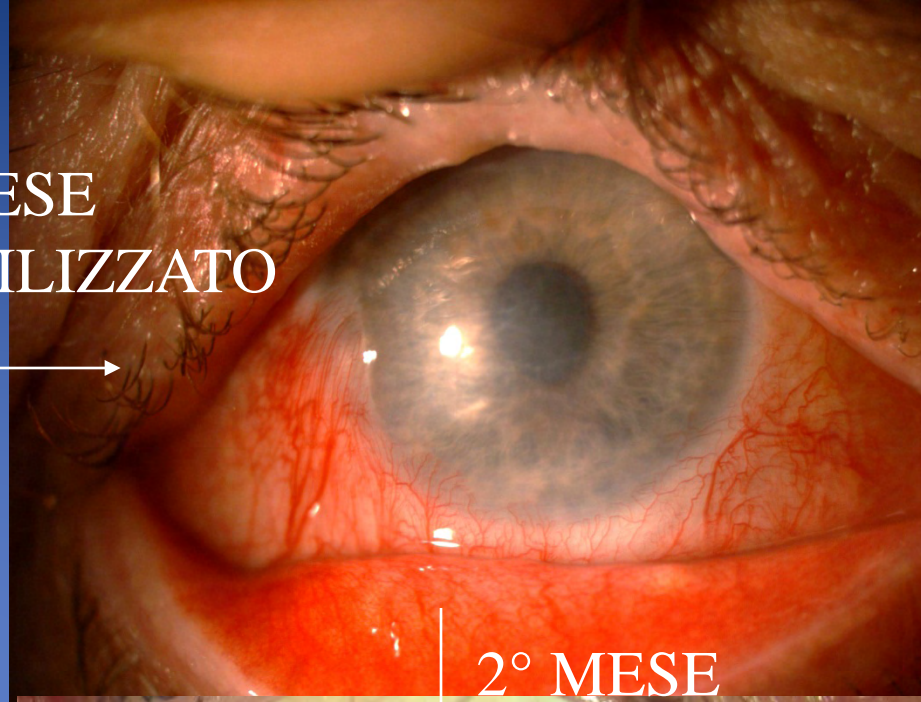


Somministrazione topica

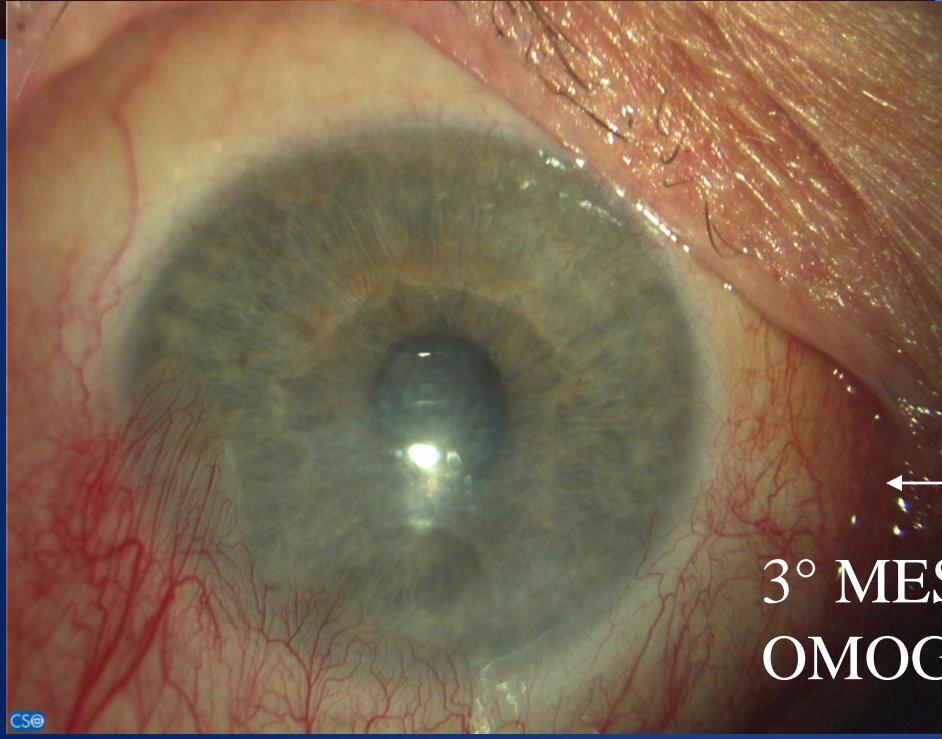




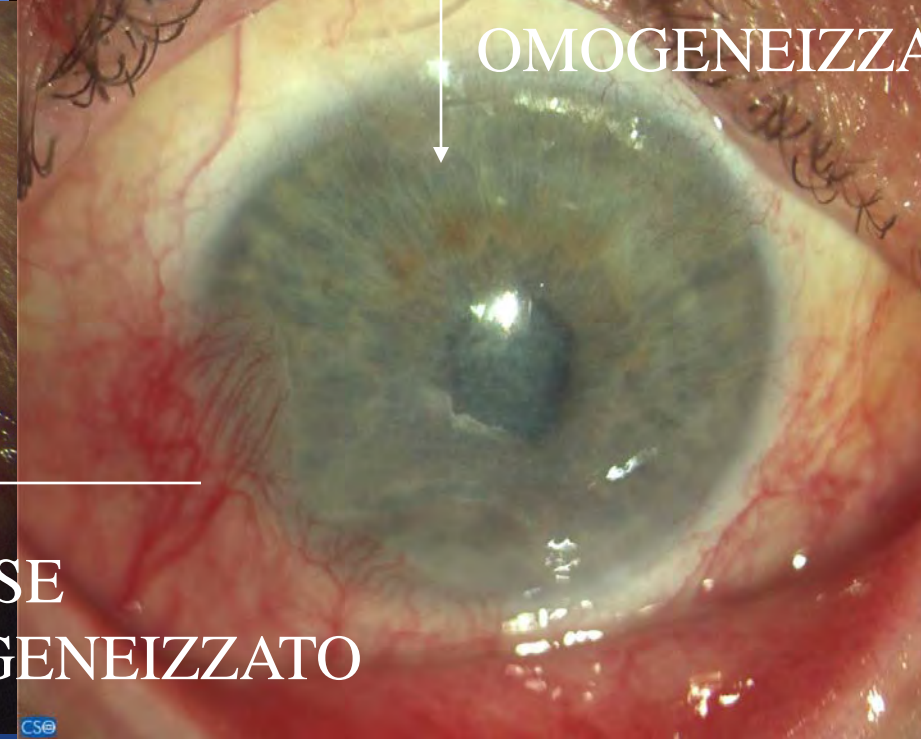
1° MESE
LIOFILIZZATO

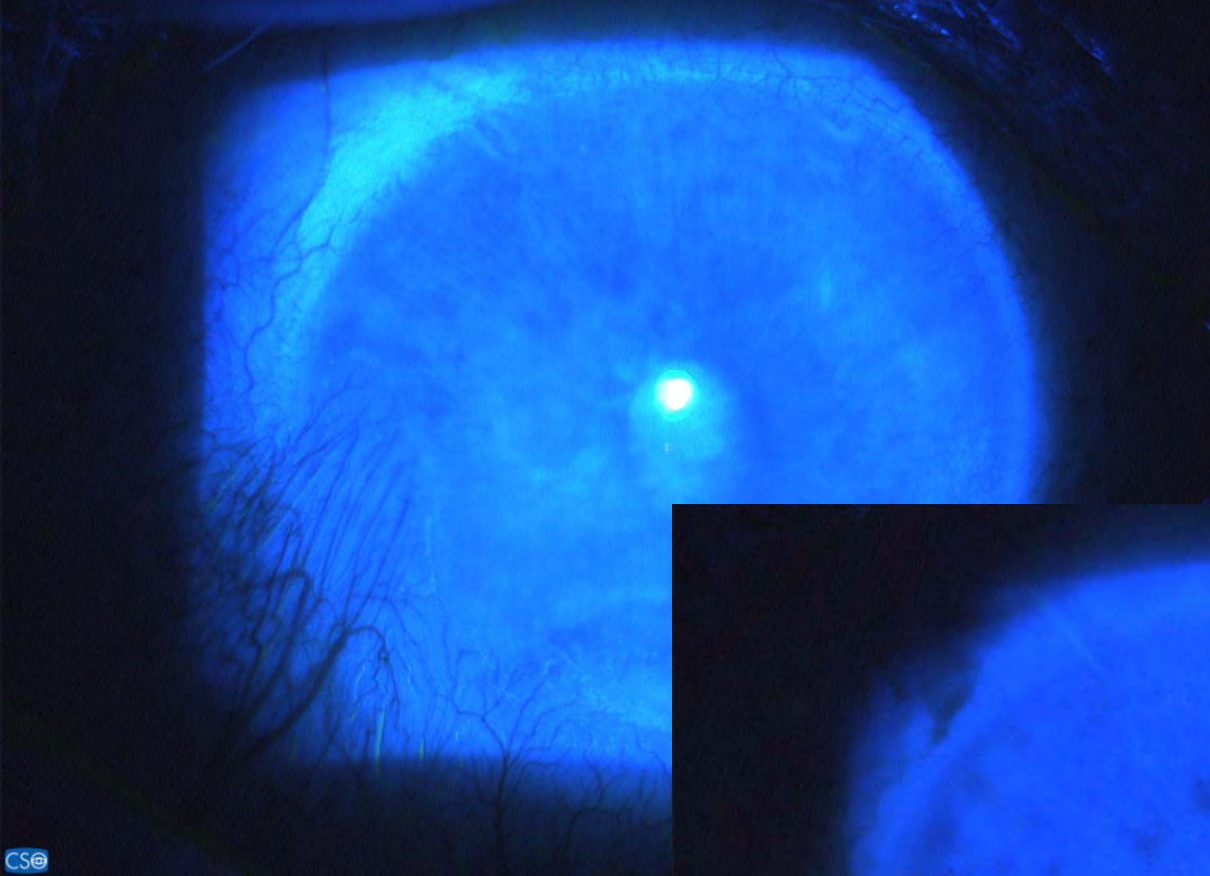


2° MESE
OMOGENEIZZA

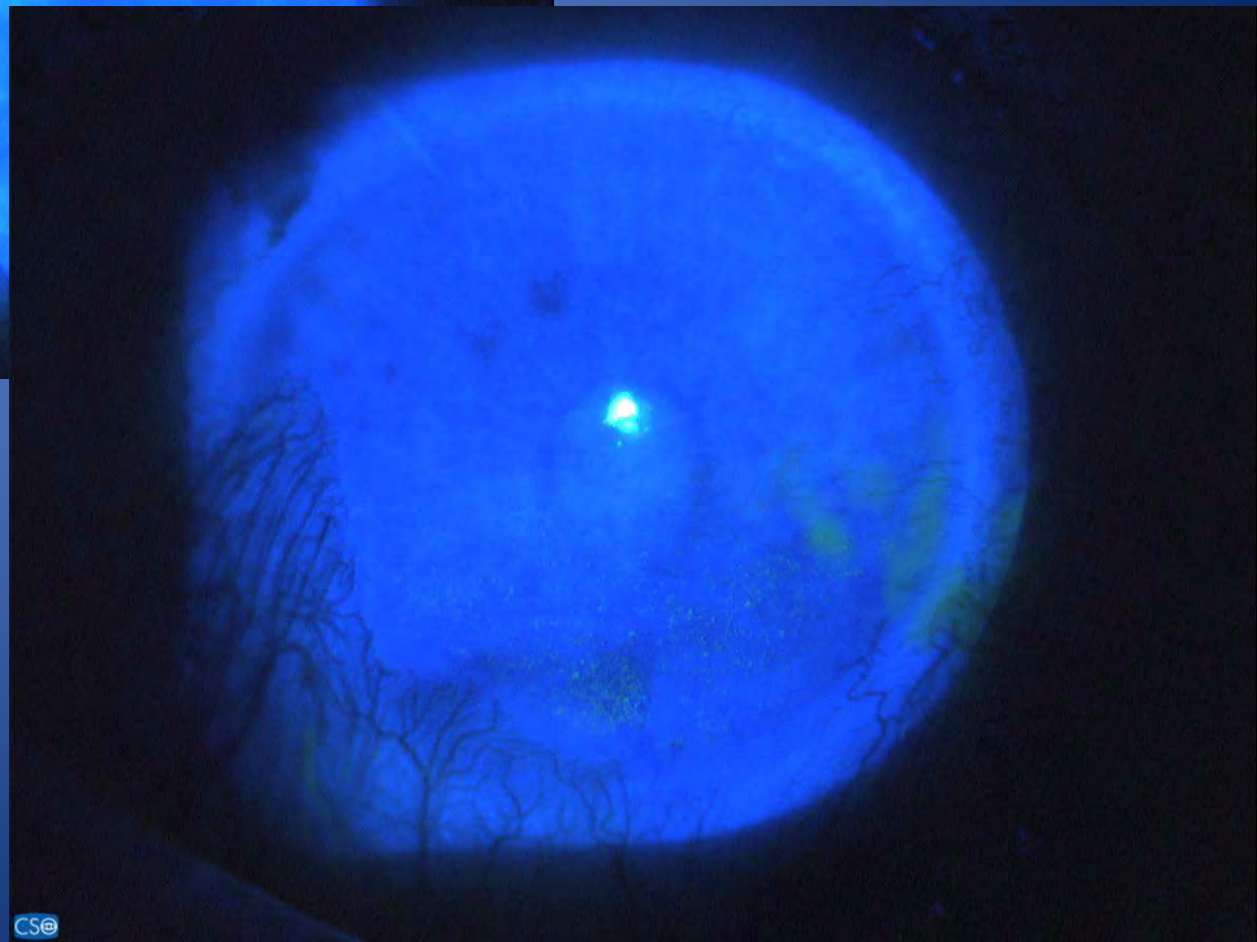


3° MESE
OMOGENEIZZATO

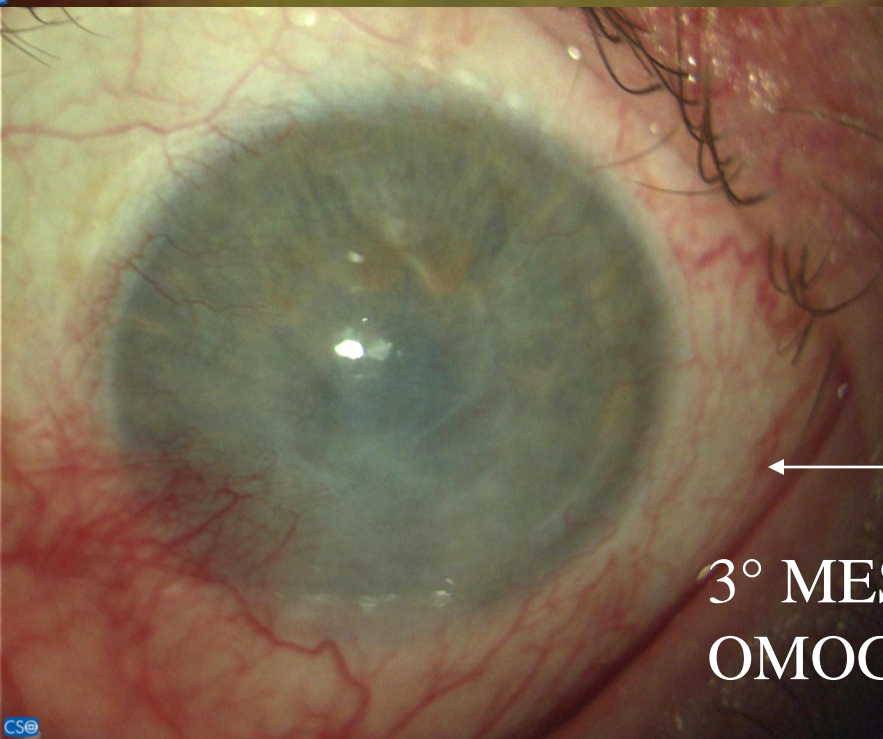
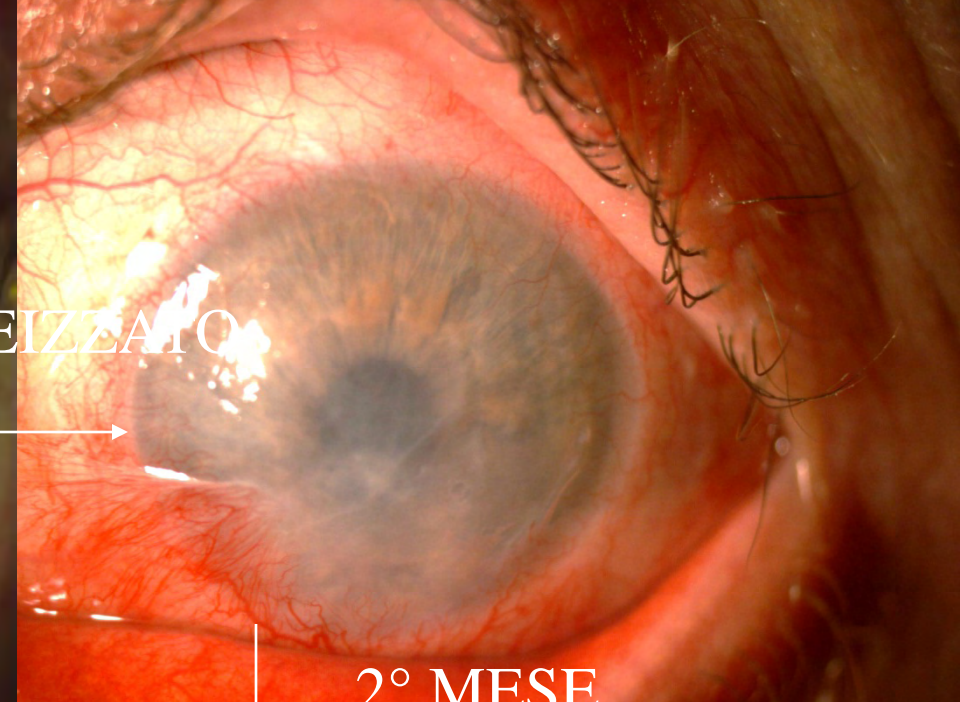


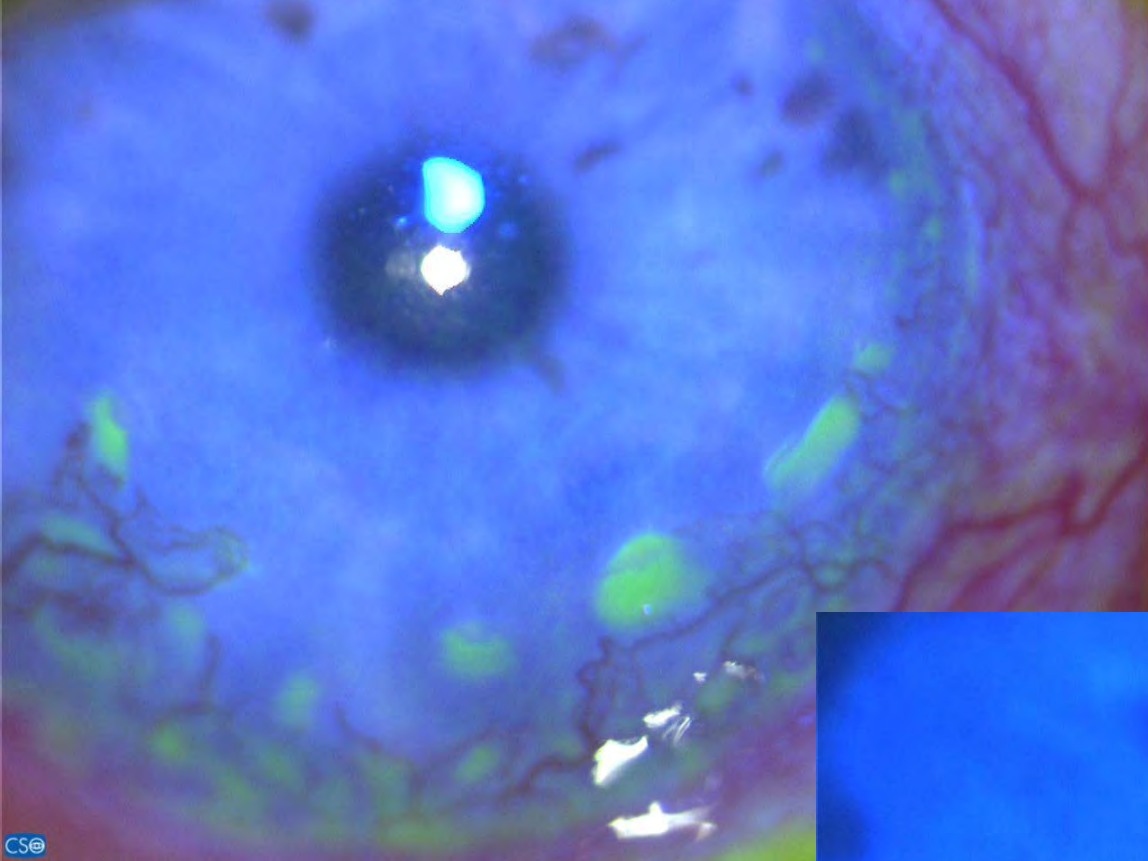


CS@

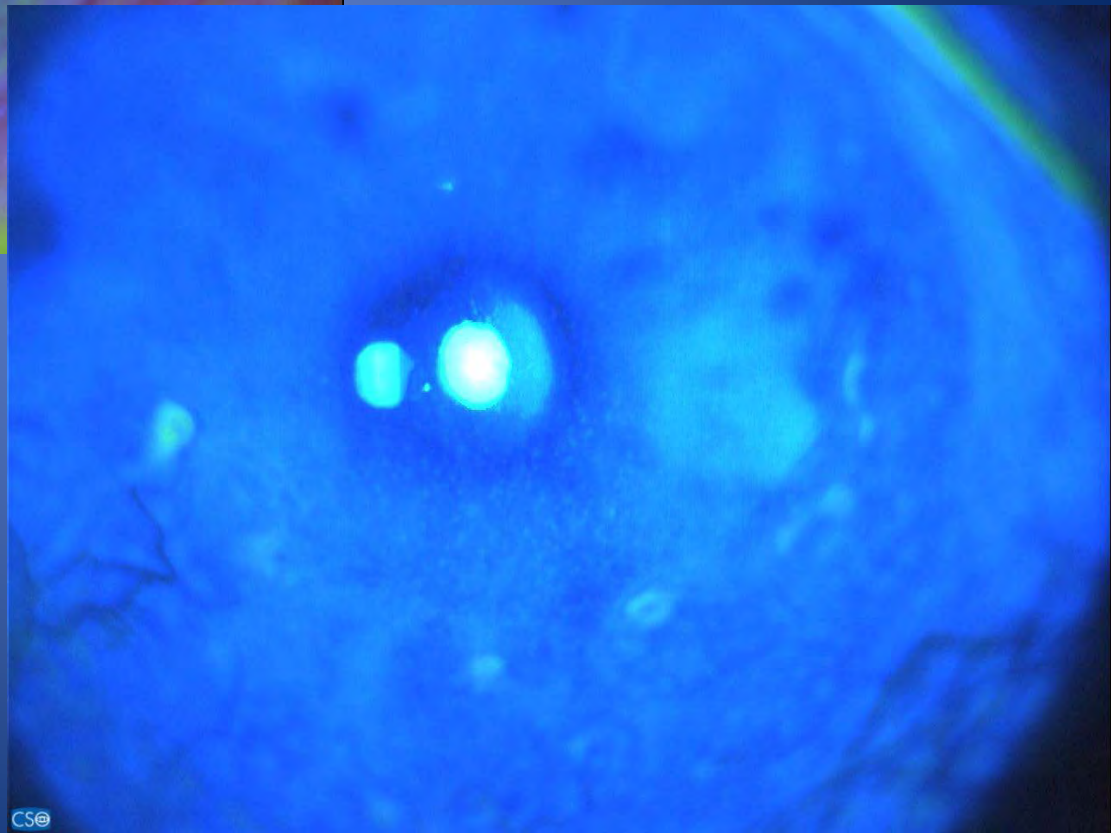


CS@

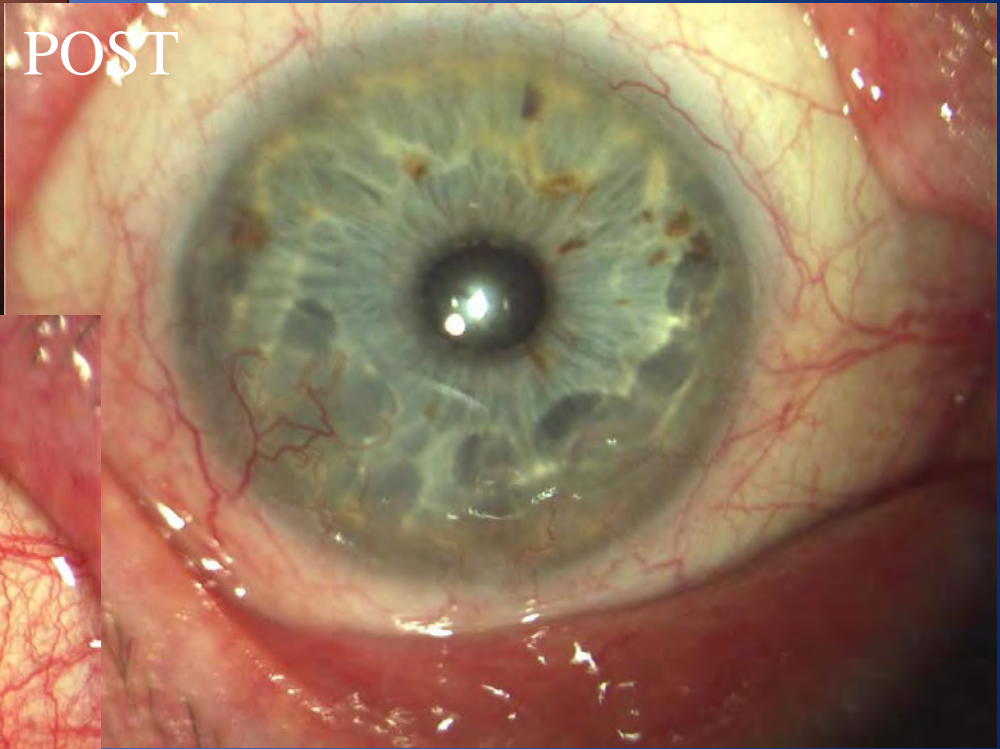
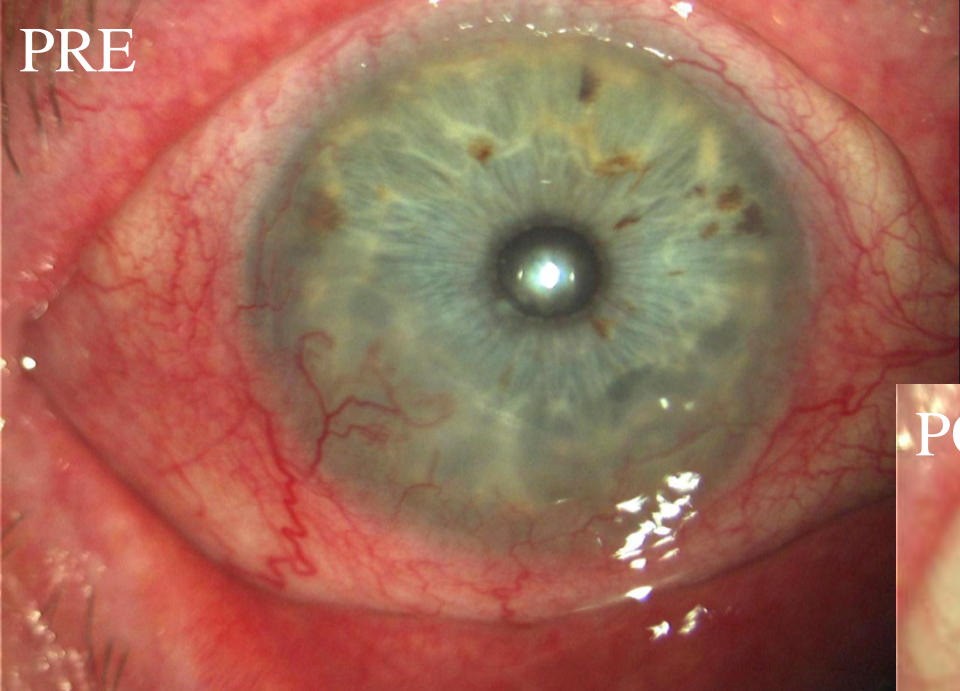




CS®

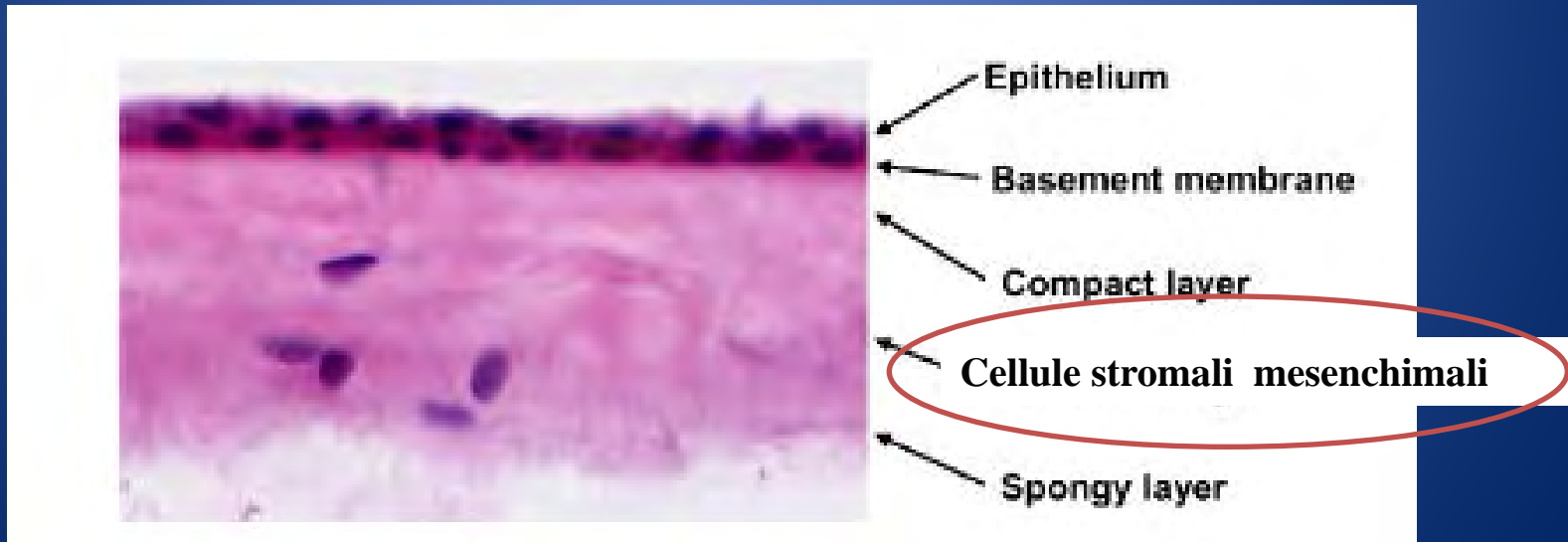


CS®



La membrana amniotica presenta due facce una fetale e una trofoblastica

- La faccia fetale, di origine ectodermica, è costituita da un epitelio cubico monostratificato che poggia su una membrana basale.
- La faccia trofoblastica, di origine mesodermica, è costituita da tessuto connettivo o mesoderma amniotico in cui risiedono le cellule stromali mesenchimali amniotiche (hAMSC o AM-MS).

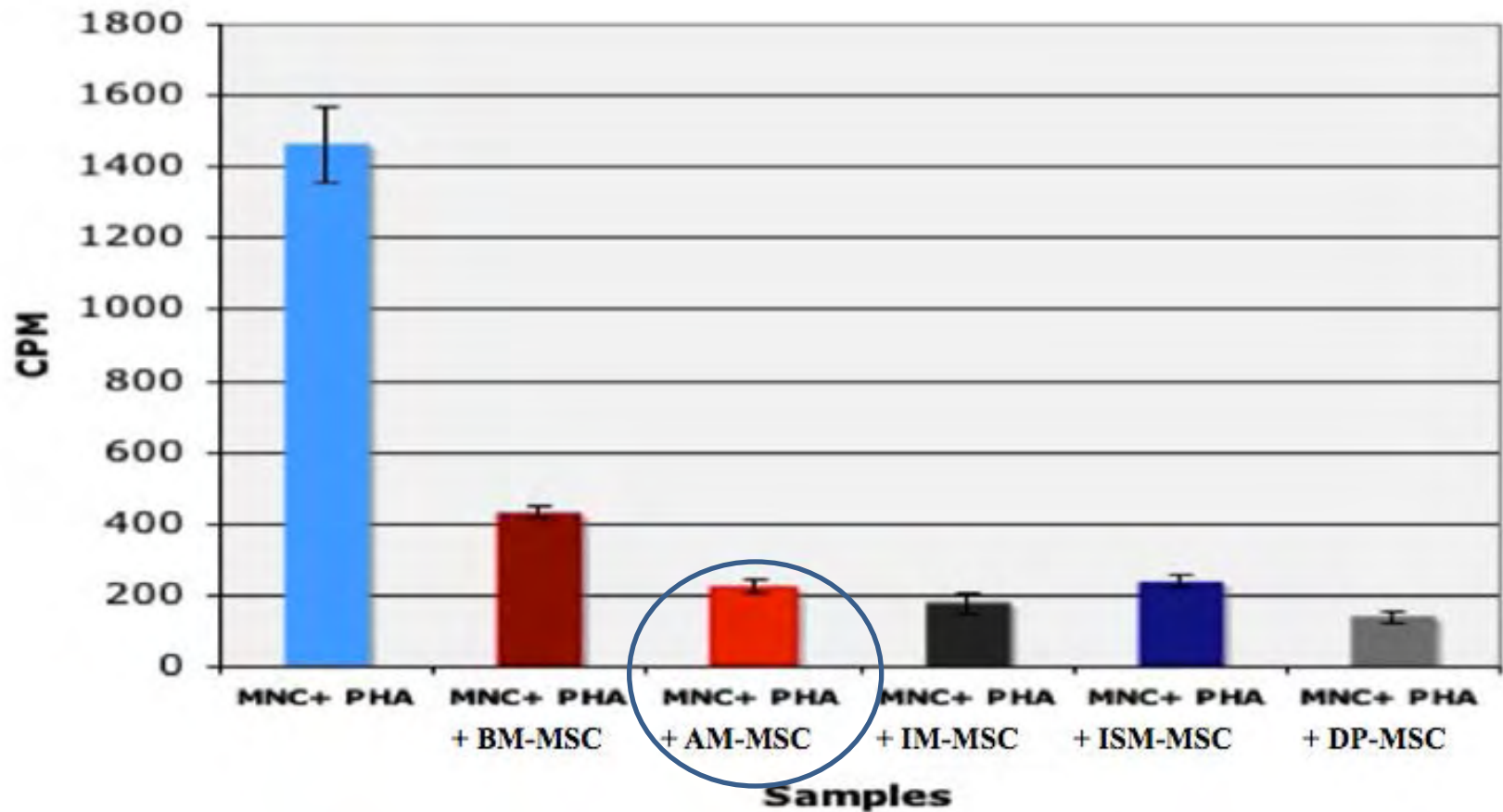




Cellule stromali mesenchimali

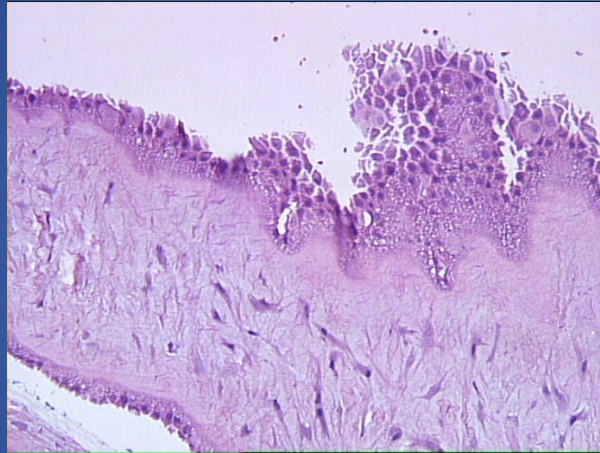
- sono dotate di importanti capacità immunomodulatorie.
- inibiscono il differenziamento delle cellule dendritiche responsabili della presentazione antigenica, la proliferazione dei linfociti B limitando la produzione anticorpale e favoriscono la formazione di cellule T regolatorie.
- riescono a sopprimere fortemente la proliferazione dei linfociti T indotta da mitogeni o alloantigeni
- La loro azione si estende anche sugli altri tipi cellulari, come le antigen presenting cells, impedendone la maturazione.
- sono in grado di inibire la proliferazione delle cellule natural killer, l'espressione dei recettori NK attivatori (NKp44, NKp30, NKG2D) e l'induzione di funzioni effettrici, quali l'attività citotossica
- La loro azione è dovuta sia ad un contatto diretto cellula-cellula sia al rilascio di fattori solubili come IDO (indoleamina 2,3-diossigenasi), TGF- β , TNF- α , PGE2 IL-10, IL2 HGF e gli antigeni solubili HLA-G.

Attività immunomodulatoria di tipo soppressivo

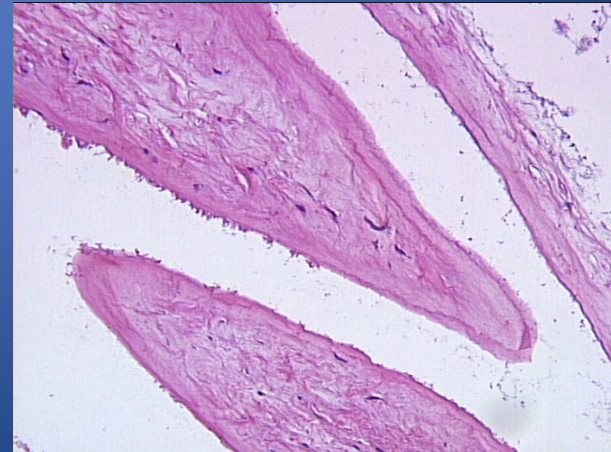
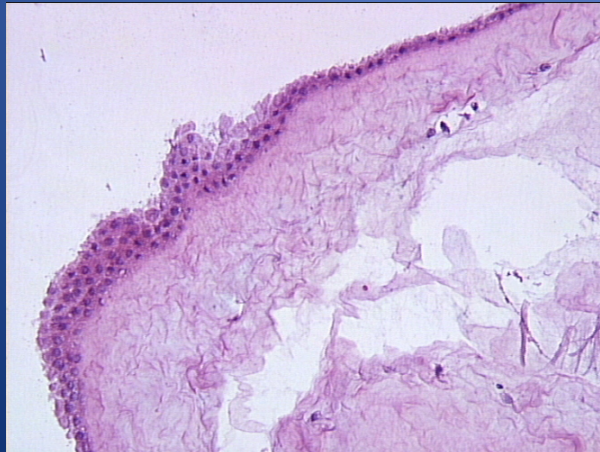
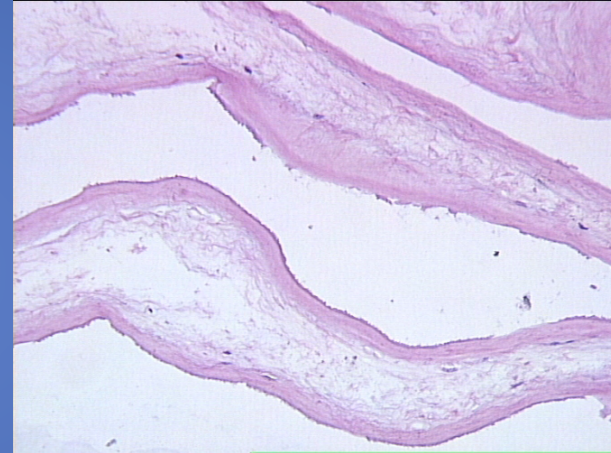


Esame istologico di una m amniotica pre e post sonicazione

PRE SONICAZIONE



POST SONICAZIONE





**E' forse opportuno ridurre ulteriormente
la manipolazione del tessuto per meglio
preservare le cellule mesenchimali
oppure e' opportuno rompere tali cellule
allo scopo di liberarne i fattori
immunomodulanti?**

GRAZIE
PER
L'ATTENZIONE



Normativa

DIRETTIVA 2004/23/CE DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO
del 31 marzo 2004

sulla definizione di norme di qualità e di sicurezza per la donazione, l'approvvigionamento, il controllo, la lavorazione, la conservazione, lo stoccaggio e la distribuzione di tessuti e cellule umani

REGOLAMENTO (CE) N. 1394/2007 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO
del 13 novembre 2007

sui medicinali per terapie avanzate recante modifica della direttiva 2001/83/CE e del regolamento (CE) n. 726/2004

- (14) La direttiva 2004/23/CE del Parlamento europeo e del Consiglio ⁽²⁾ stabilisce norme di qualità e di sicurezza per la donazione, l'approvvigionamento, il controllo, la lavorazione, la conservazione, lo stoccaggio e la distribuzione di cellule e tessuti umani. Il presente regolamento non dovrebbe derogare ai principi fondamentali fissati nella direttiva 2004/23/CE, ma integrarli con prescrizioni supplementari, se del caso. Ove i medicinali per terapie avanzate contengano cellule o tessuti umani, la direttiva 2004/23/CE dovrebbe applicarsi unicamente per quanto riguarda la donazione, l'approvvigionamento e il controllo, in quanto gli altri aspetti sono contemplati dal presente regolamento.

REGOLAMENTO (CE) N. 1394/2007 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO

del 13 novembre 2007

sui medicinali per terapie avanzate recante modifica della direttiva 2001/83/CE e del regolamento (CE) n. 726/2004

Articolo 2

Definizioni

1. Oltre alle definizioni di cui all'articolo 1 della direttiva 2001/83/CE e all'articolo 3, lettere da a) a l) e da o) a q), della direttiva 2004/23/CE, ai fini del presente regolamento si applicano le seguenti definizioni.

a) Per «medicinale per terapia avanzata» si intende uno qualsiasi dei seguenti medicinali ad uso umano:

- medicinali di terapia genica, quali definiti nella parte IV dell'allegato I della direttiva 2001/83/CE,
- medicinali di terapia cellulare somatica, quali definiti nella parte IV dell'allegato I della direttiva 2001/83/CE,
- prodotti di ingegneria tissutale quali definiti al punto b).

b) Per «prodotto di ingegneria tissutale» si intende un prodotto che:

- contiene o consiste di cellule o tessuti prodotti dall'ingegneria cellulare o tissutale, e
- è presentato come avente proprietà atte a rigenerare, riparare o sostituire un tessuto umano oppure viene utilizzato o somministrato ad esseri umani a tal fine.

Un prodotto di ingegneria tissutale può contenere cellule o tessuti di origine umana o animale, o entrambe. Le cellule o i tessuti possono essere vitali o non vitali. Il prodotto può anche contenere sostanze supplementari, quali prodotti cellulari, biomolecole, biomateriali, sostanze chimiche, supporti o matrici.

Sono esclusi dalla presente definizione i prodotti che contengono o consistono esclusivamente di cellule e/o tessuti umani o animali non vitali, che non contengono cellule o tessuti vitali e che non agiscono principalmente con azione farmacologica, immunologica, o metabolica.

c) Cellule o tessuti sono considerati «di ingegneria tissutale» se soddisfano almeno una delle seguenti condizioni:

- le cellule o i tessuti sono stati sottoposti ad una rilevante manipolazione così da ottenere caratteristiche biologiche, funzioni fisiologiche e proprietà strutturali pertinenti alle finalità di rigenerazione, riparazione o sostituzione. Non si considerano come manipolazioni rilevanti, in particolare, le manipolazioni elencate all'allegato I,
- le cellule o i tessuti non sono destinati ad essere utilizzati per la stessa/le stesse funzioni essenziali nel beneficiario e nel donatore.

d) Per «medicinali per terapie avanzate combinate» si intendono medicinali per terapie avanzate che soddisfano le seguenti condizioni:

- devono contenere, come parte integrante del prodotto, uno o più dispositivi medici ai sensi dell'articolo 1, paragrafo 2, lettera a), della direttiva 93/42/CEE o uno o più dispositivi medici impiantabili attivi ai sensi dell'articolo 1, paragrafo 2, lettera c), della direttiva 90/385/CEE, e
- la loro parte cellulare o tissutale deve contenere cellule o tessuti vitali, o
- la loro parte cellulare o tissutale che contiene cellule o tessuti non vitali deve essere capace di agire sul corpo umano con un'azione che possa considerarsi primaria rispetto a quella dei dispositivi in questione.

ALLEGATO I

Manipolazioni di cui all'articolo 2, paragrafo 1, lettera c), primo trattino

- taglio,
- macinazione,
- sagomatura,
- centrifugazione,
- immersione in soluzioni antibiotiche o antimicrobiche,
- sterilizzazione,
- irradiazione,
- separazione, concentrazione o purificazione cellulare,
- filtrazione,
- liofilizzazione,
- congelamento,
- crioconservazione,
- vetrificazione.