



**Colture di cellule staminali
limbari su membrana
amniotica**

Dr.ssa Sandra Papini

Centro di Conservazione Cornea "Piero Perelli" - Lucca

PREMESSE

Le cellule staminali corneali sono prevalentemente localizzate nel *limbus*, una regione della superficie oculare localizzata tra la cornea e la congiuntiva.

L'espansione selettiva di queste cellule su un supporto idoneo può rappresentare una valida strategia per trattare le patologie da LSCD.

SCOPI

Il fine di questo studio preliminare è stato quello di allestire colture di cellule epiteliali di origine limbare su membrana amniotica (AM).

Tale supporto appare indicato in quanto non-immunogenico e quindi eventualmente idoneo per trapianti.

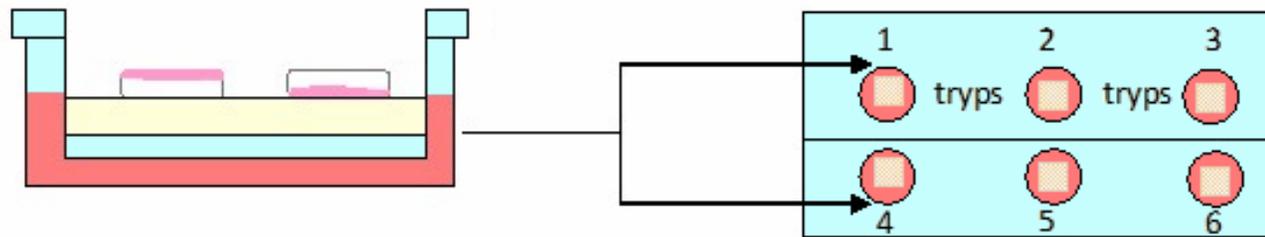
L' AM è inoltre ricca di fattori di crescita che appaiono idonei al mantenimento delle cellule epiteliali limbari meno differenziate.

Mat&Met

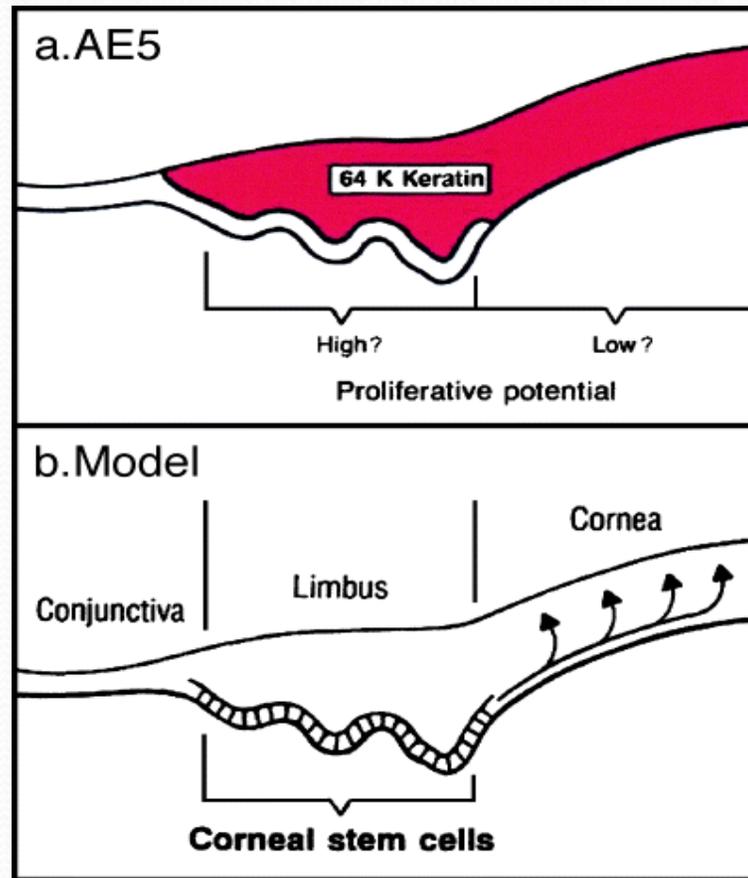
Sulla base della letteratura scientifica analizzata sono stati allestiti diversi esperimenti pilota.

I frammenti limbali (LT) sono stati co-coltivati con l'AM in varie modalità.

Le colture si sono protratte per 12-15 giorni.



Modello di scorrimento cellulare



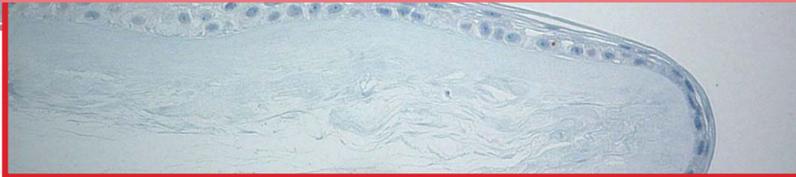
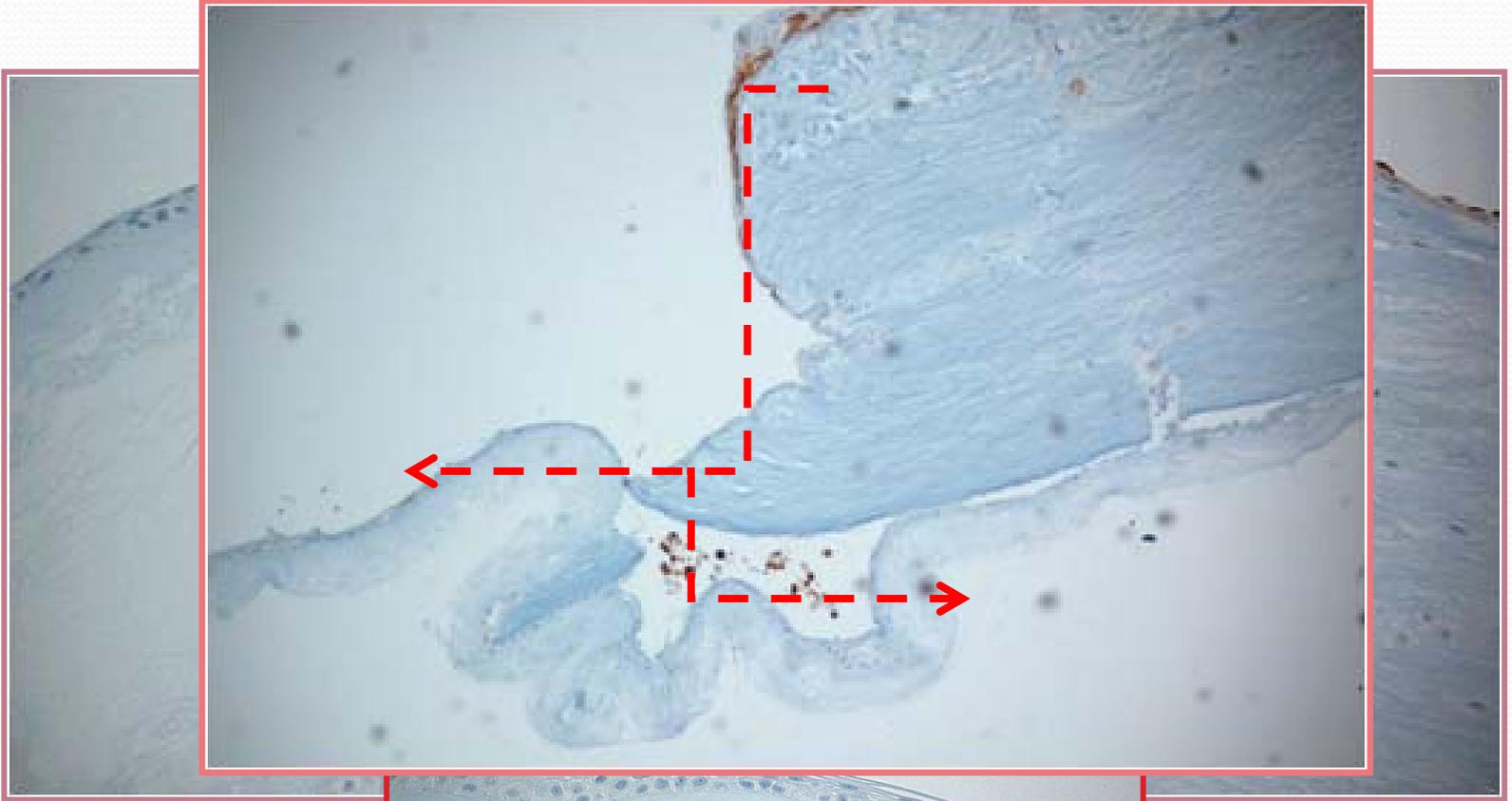
(Tung-Tien Sun and Robert M Lavker, *Journal of Investigative Dermatology*, 2004)

Immunohistochimica

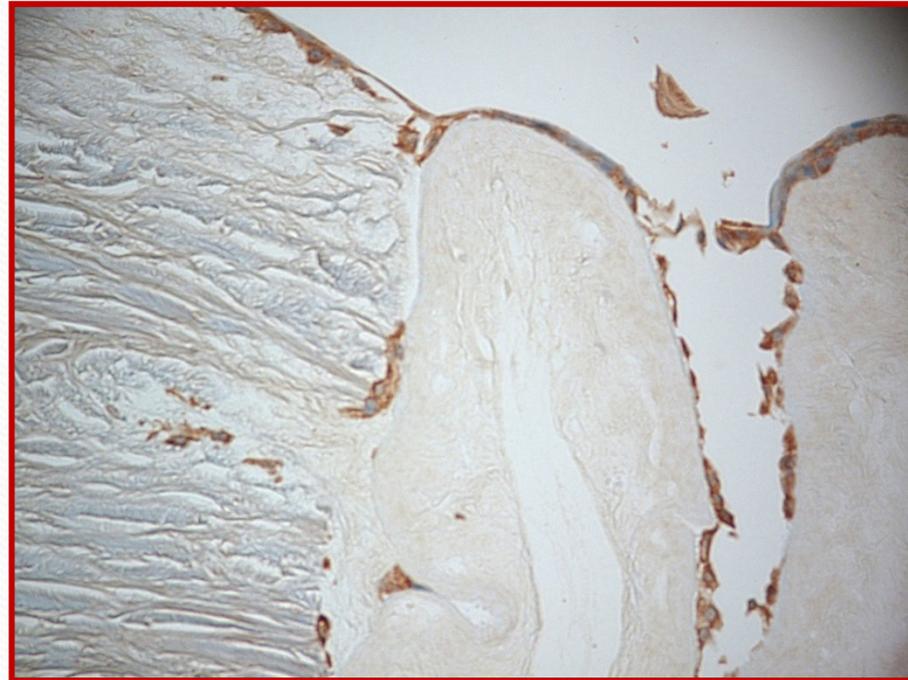
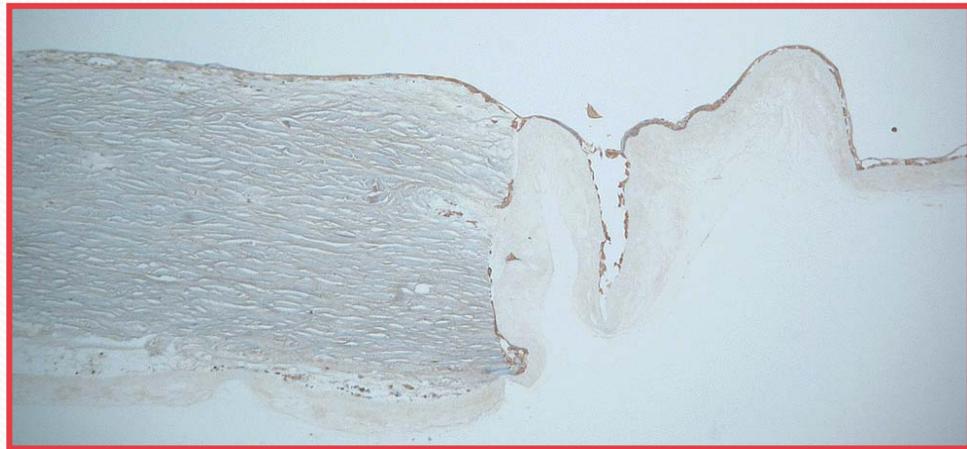
Sono stati analizzati i seguenti marcatori:

- Pan-citocheratine (AE1/AE3)
- Marcatore di proliferazione Ki-67 (MIB-1)
- Citocheratina 3 (CK3)
- Citocheratina 19 (CK19)
- p63 α (marcatore di precursori corneali)
- ABCG2 (marcatore di precursori corneali)

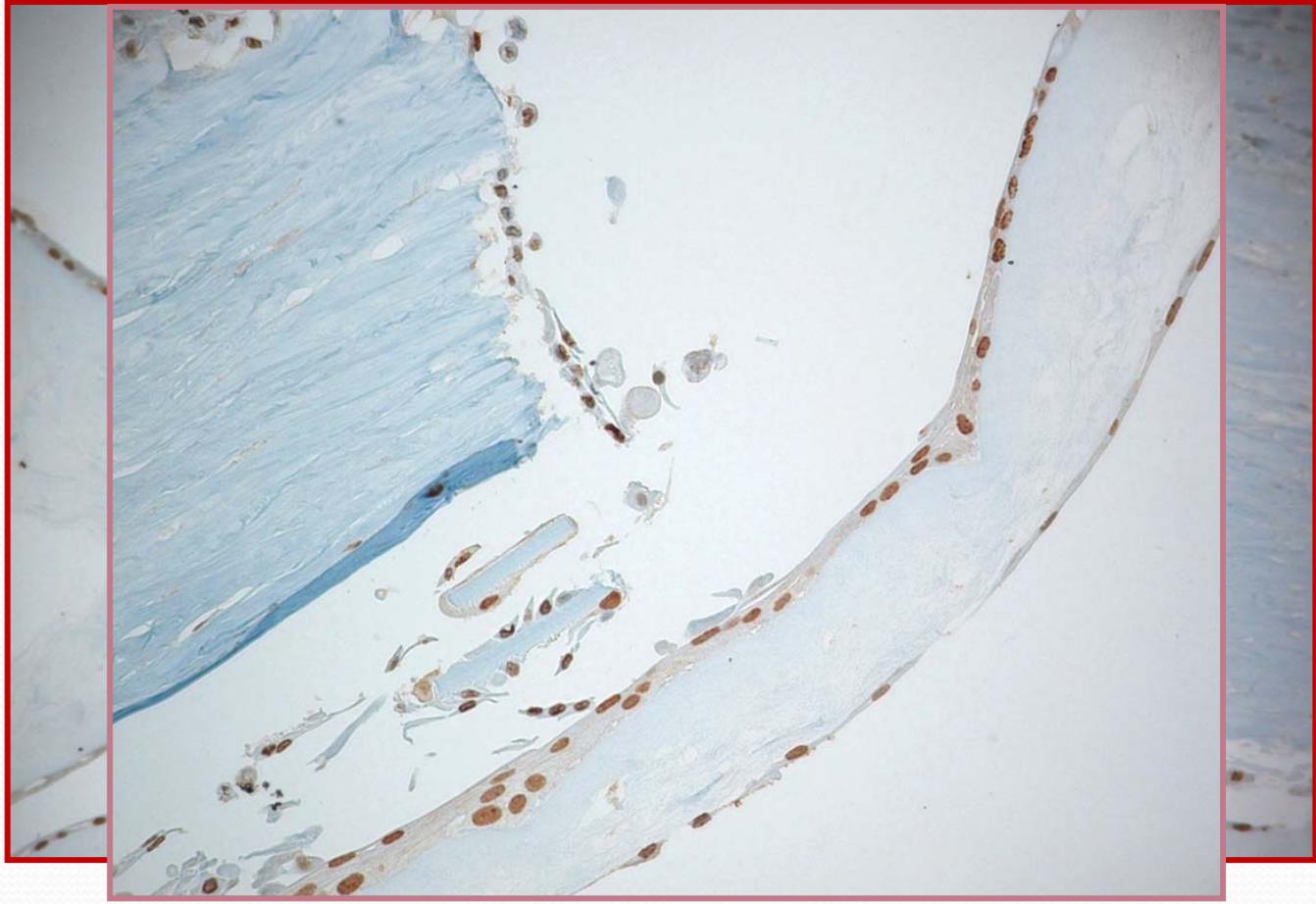
CK3



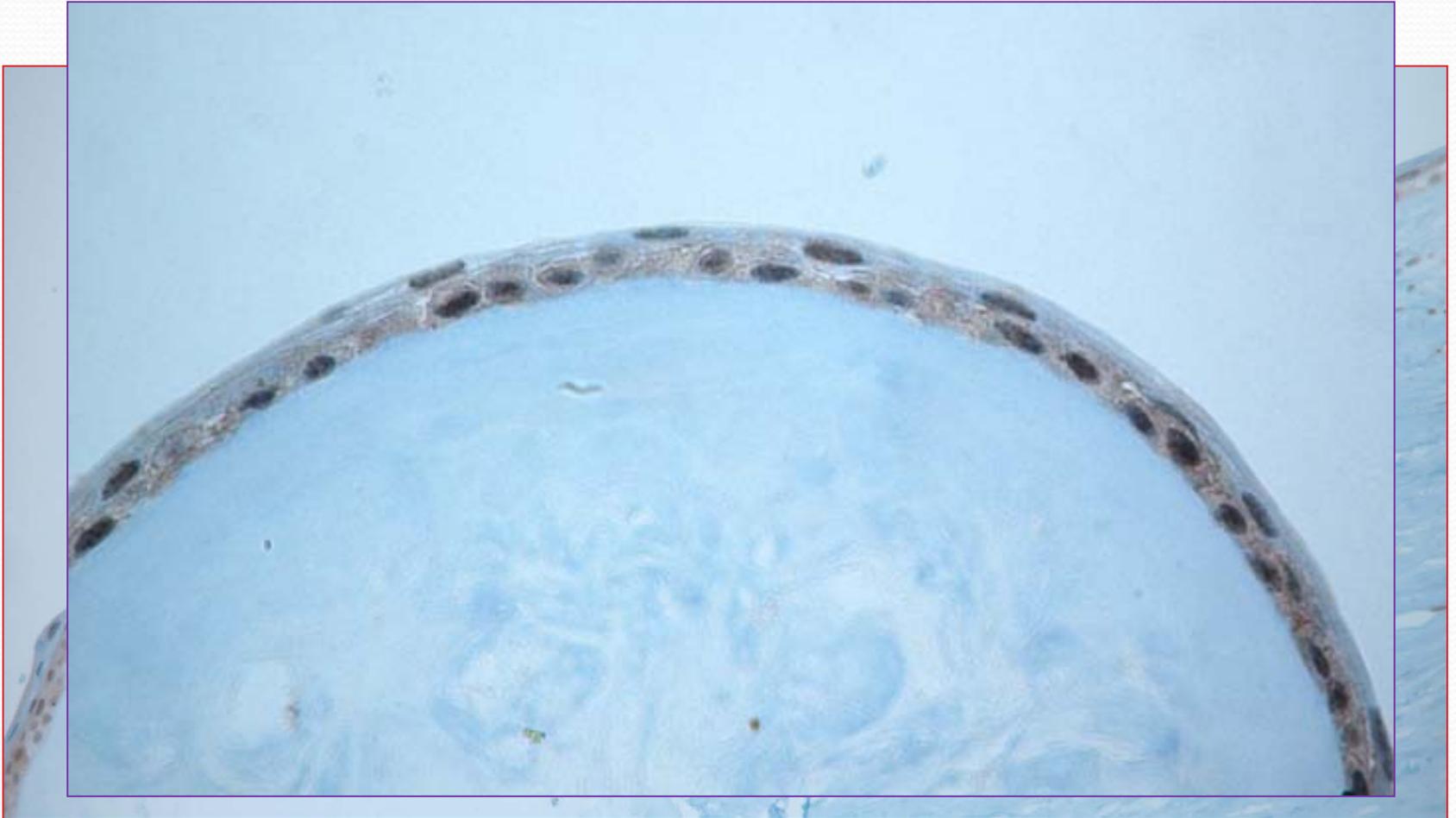
CK19



p63 α



ABCG2



Analisi istologica riassuntiva

	AE1/AE3	CK3	CK19	Ki-67	p63 α	ABCG2
AM (epitelio)	++	-	++	+	++	++
LT (epitelio)	++	-/+	++	+	+	+
AM (controllo)	-/+	-	-	-	-	-

Prime Conclusioni & Osservazioni

- Le cellule epiteliali basali e parabasali presenti negli LT e il relativo compartimento stromale non presentano segni di sofferenza cellulare per tutta la durata dell'esperimento (12-15 giorni);
- è evidente una proliferazione delle cellule epiteliali provenienti dai LT sulle AM, non dipendente da feeder layer cellulare aggiuntivo;
- tali cellule esprimono marcatori compatibili con fenotipi cellulari limbari poco differenziati;
- si è evidenziato che l'adesione iniziale degli LT sull'AM è cruciale per la proliferazione delle cellule epiteliali limbari sulle membrane.

Prospettive

L'espansione selettiva di cellule staminali corneali su un supporto idoneo può rappresentare una valida strategia per trattare le patologie da LSCD.

L'AM, già utilizzata in oftalmologia per bendaggi, può effettivamente rappresentare un valido supporto per cellule limbari non differenziate .

La seconda fase del progetto prevede l'allestimento di esperimenti *in vivo* in grado di validare tale procedura in vista di futuri trapianti.

Grazie per l'attenzione

