

“ Impegnati per la vita ”

---

# LA MEMBRANA AMNIOTICA CONGELATA E LIOFILIZZATA

*Dr. ssa Elisa Cogliati*  
*ecogliati@fbtv-treviso.org*

---

**FBTV**



Fondazione  
Banca dei Tessuti  
di Treviso - Onlus

Evento  
XIV CORSO NAZIONALE SIBO  
27-28 Maggio 2022



# *Dichiarazione di assenza di conflitto d'interessi*

ai sensi dell'art. 3.3 sul Conflitto di Interessi, pag. 18,19 dell'Accordo Stato-Regione del 19 aprile 2012,  
da tenersi per conto di SIP n. 1172

A teal square logo with the white text 'FBTV' inside.

FBTV



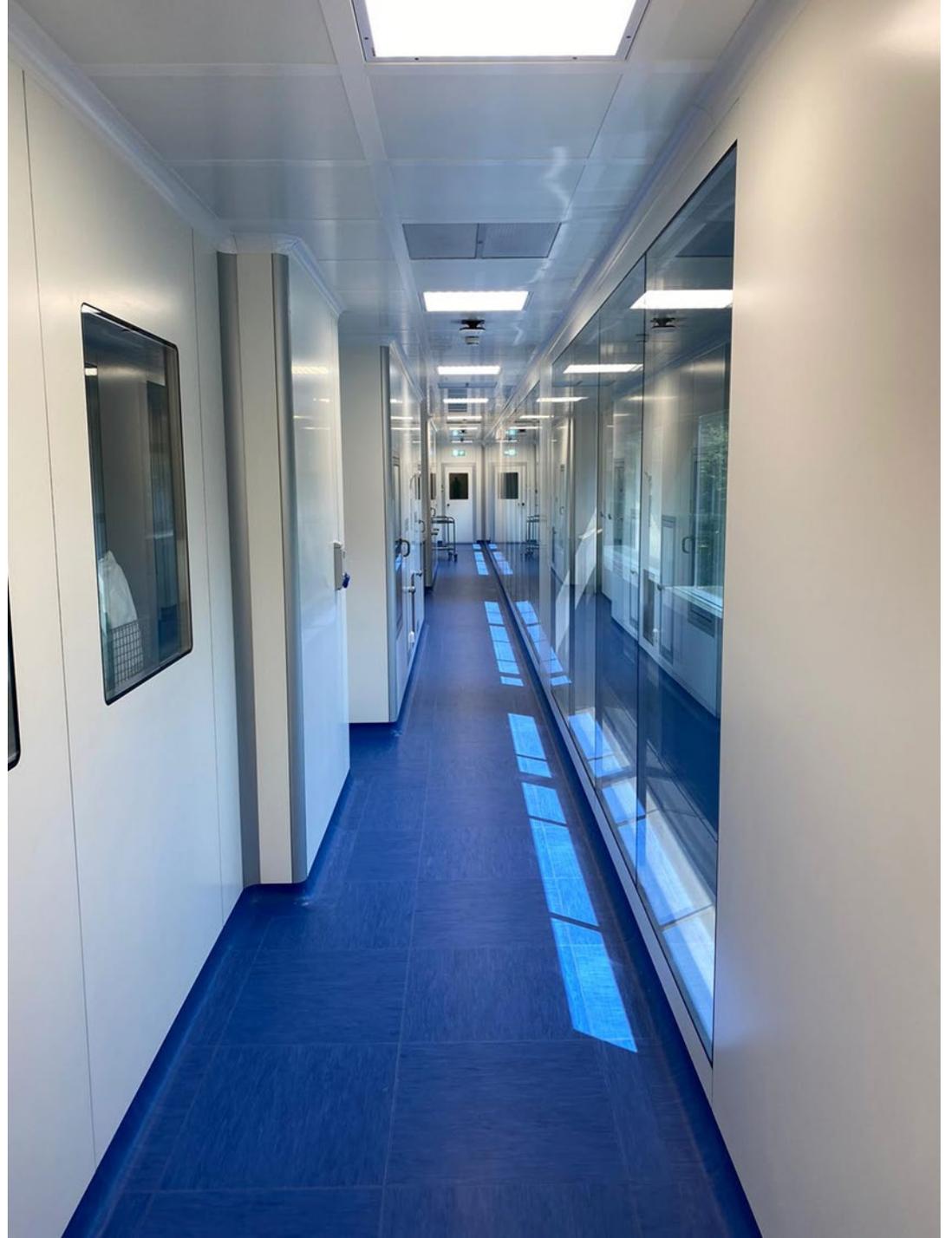
Siamo Fondazione  
Banca dei Tessuti di  
Treviso da dicembre  
2011

Nuova sede da giugno  
2019

**FBTV**



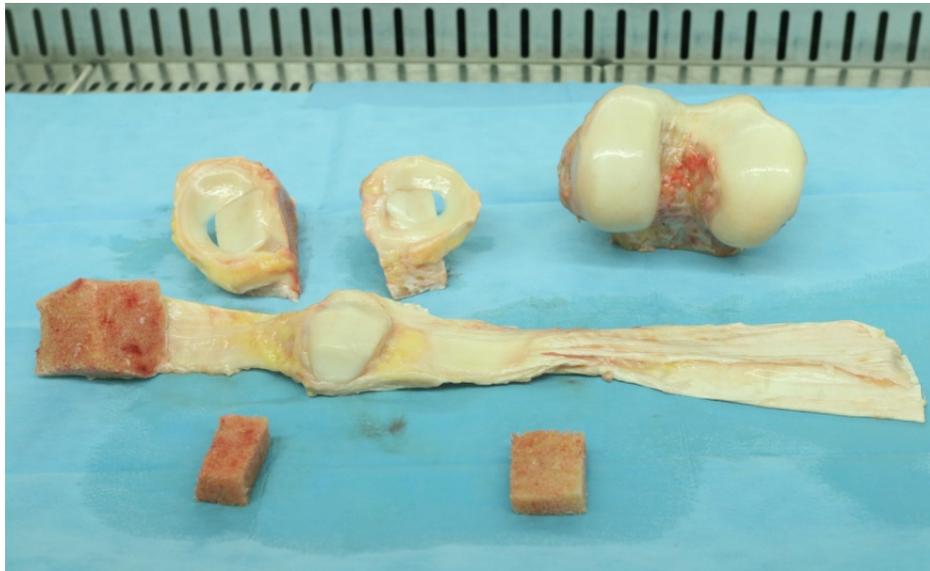
Fondazione  
Banca dei Tessuti  
di Treviso - Onlus



# BANCA MULTITESSUTO



Tessuti osteo-tendinei,  
cartilagini e nervi



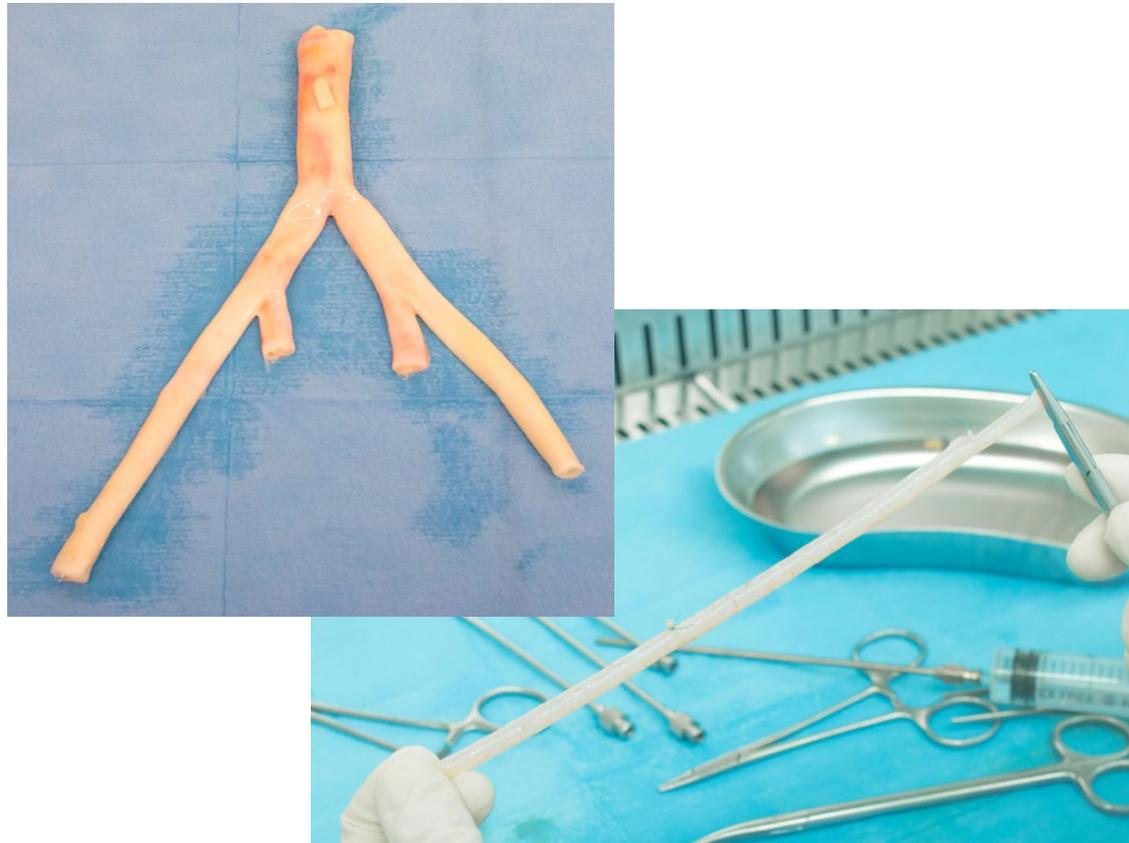
Tessuti cardiaci



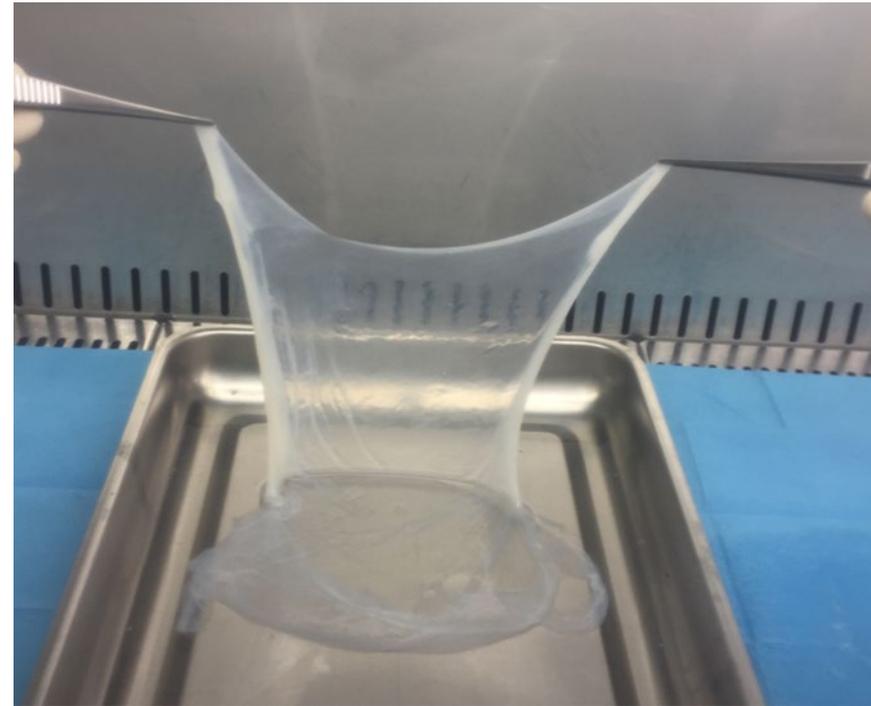
# BANCA MULTITESSUTO



## Tessuti vascolari



## Membrana amniotica



# Processazione membrana amniotica

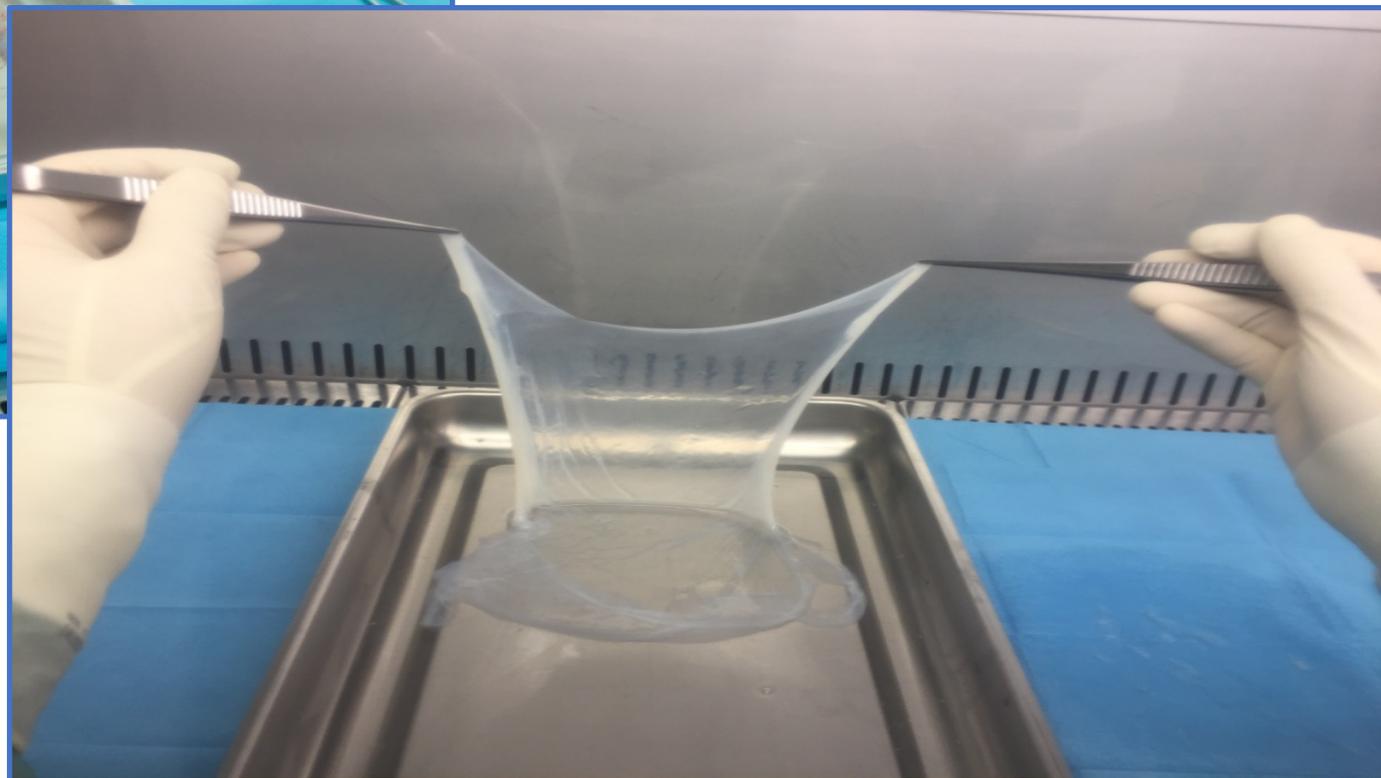
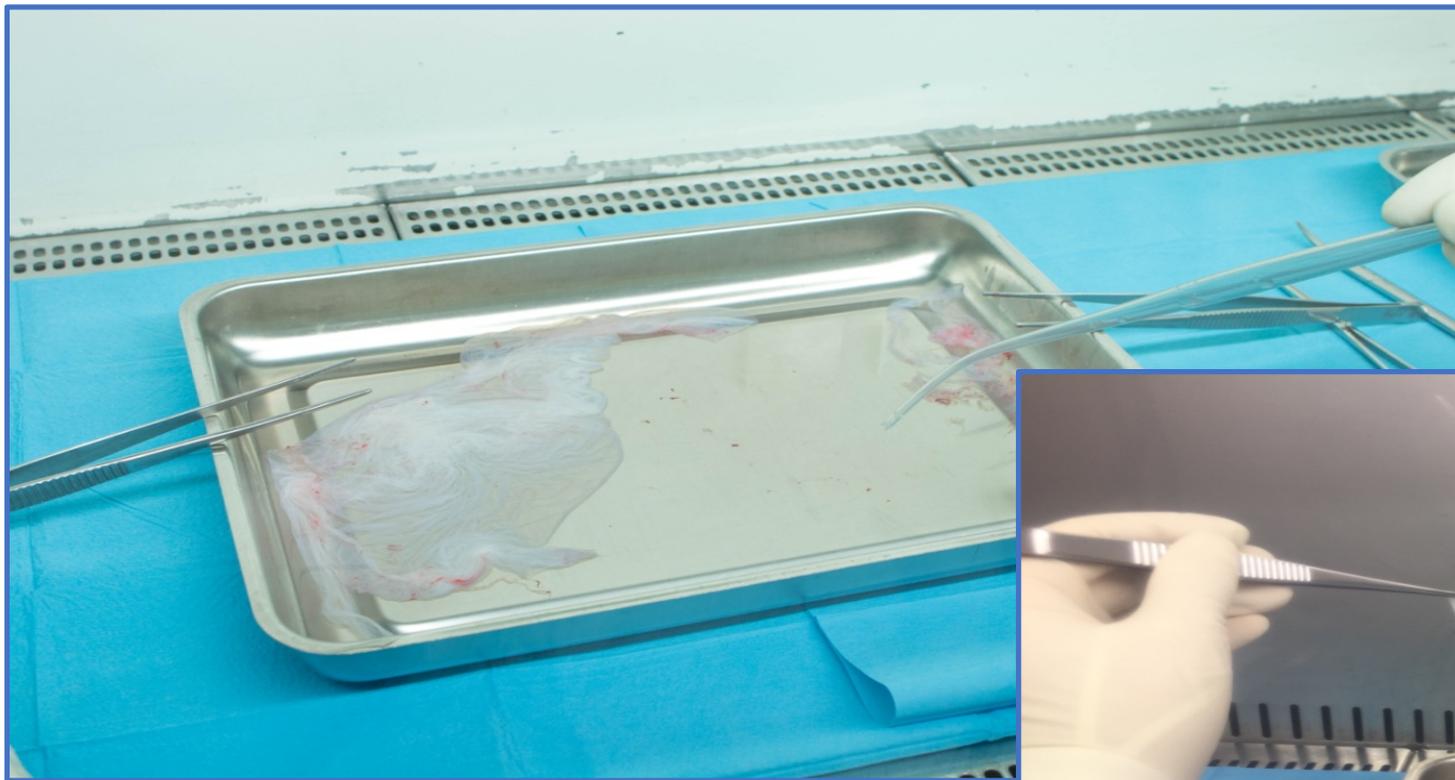


Placenta da parto cesareo in elezione

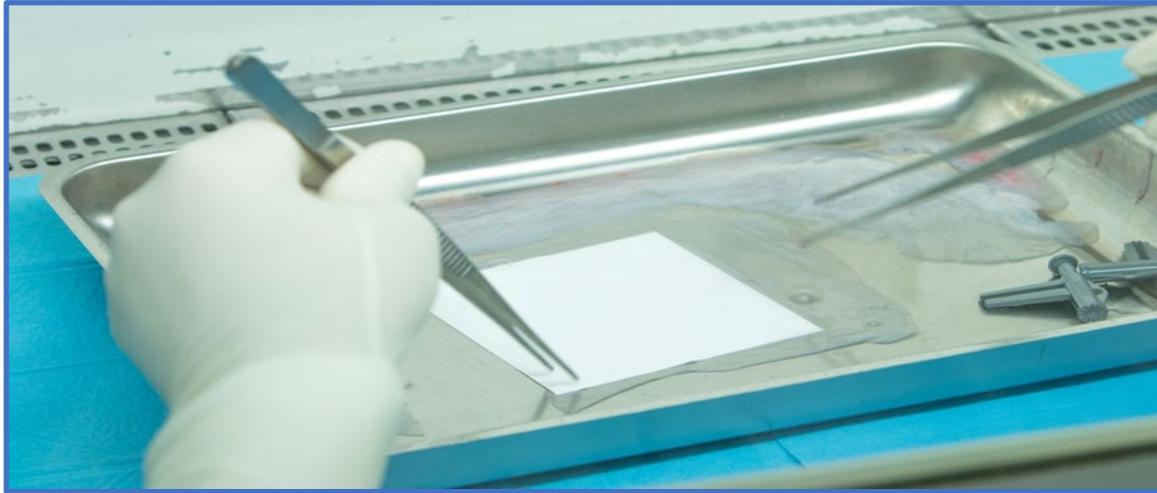


Estrazione membrana amniotica

# *Processazione membrana amniotica*



# Processazione membrana amniotica



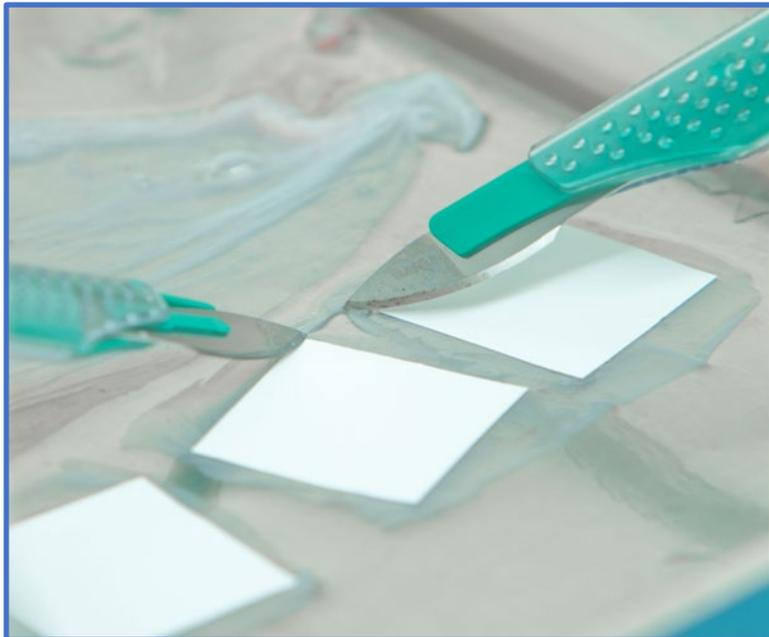
Membrana amniotica in patch 3x3cm

Membrana amniotica in patch 6X6cm

Membrana amniotica in patch 10X12.5cm

Membrana amniotica in patch 10X15cm

Membrana amniotica in patch >150cm<sup>2</sup>



# *Processazione membrana amniotica*



mogenata\_3



# *Processazione membrana amniotica*



FBTV

FBTV

# *Processazione membrana amniotica*



TV

V

# CONSERVAZIONE

Crioconservazione in vapori di azoto a  $-160^{\circ}\text{C}$   
con crioprotettore



Congelamento a  $-80^{\circ}\text{C}$  senza crioprotettore



## Cryopreservation of human amniotic membrane for ocular surface reconstruction: a comparison between protocols

Mattia Lamon · Marina Bertolin · Diletta Trojan · Lisa Spagnol ·  
Pietro Maria Donisi · Davide Camposampiero · Diego Ponzin ·  
Stefano Ferrari



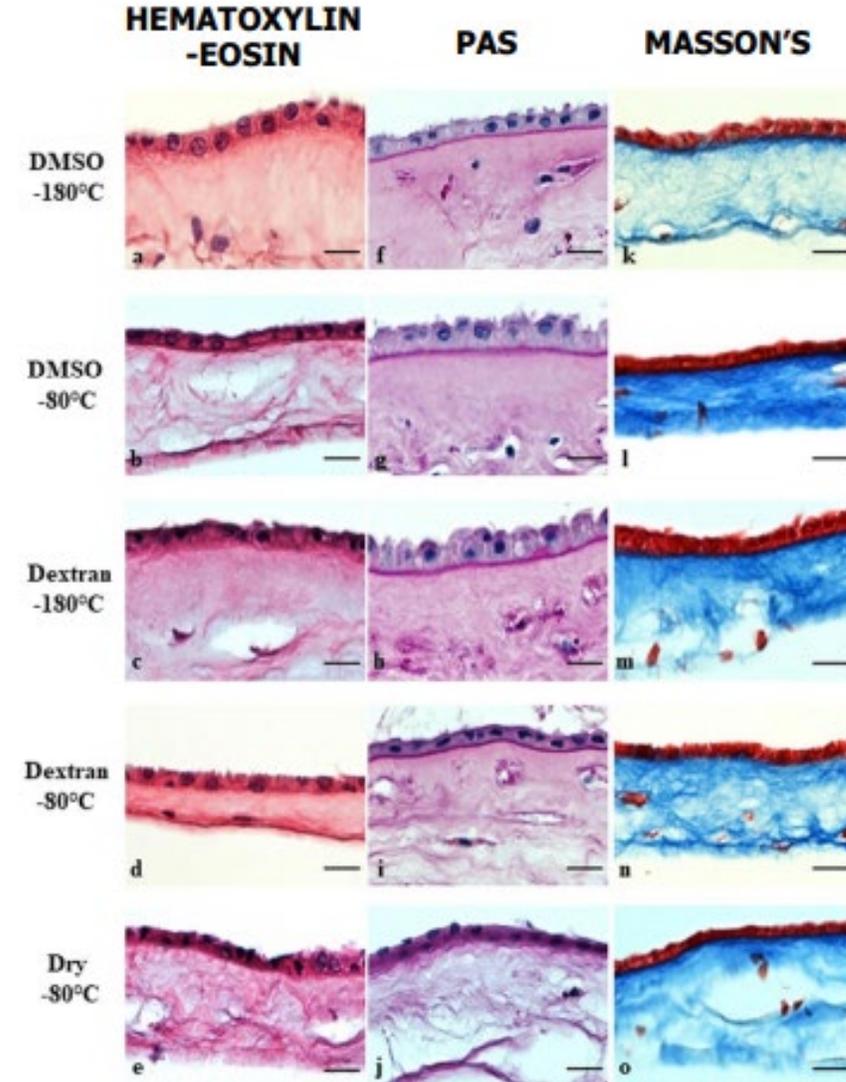
### ANALISI ISTOLOGICHE

Tutte e tre le colorazioni hanno dimostrato che l'epitelio ha mantenuto la sua organizzazione, sono presenti dei vacuoli citoplasmatici in tutti i campioni.

La colorazione PAS indica la presenza della membrana basale come una linea continua.

La colorazione MT ha dimostrato uno spessore variabile degli strati stromali e fibroblastici.

Non sono emerse differenze notevoli tra le nuove condizioni rispetto a quella standard.



## IMMUNOISTOLOGIA DELLA MEMBRANA BASALE

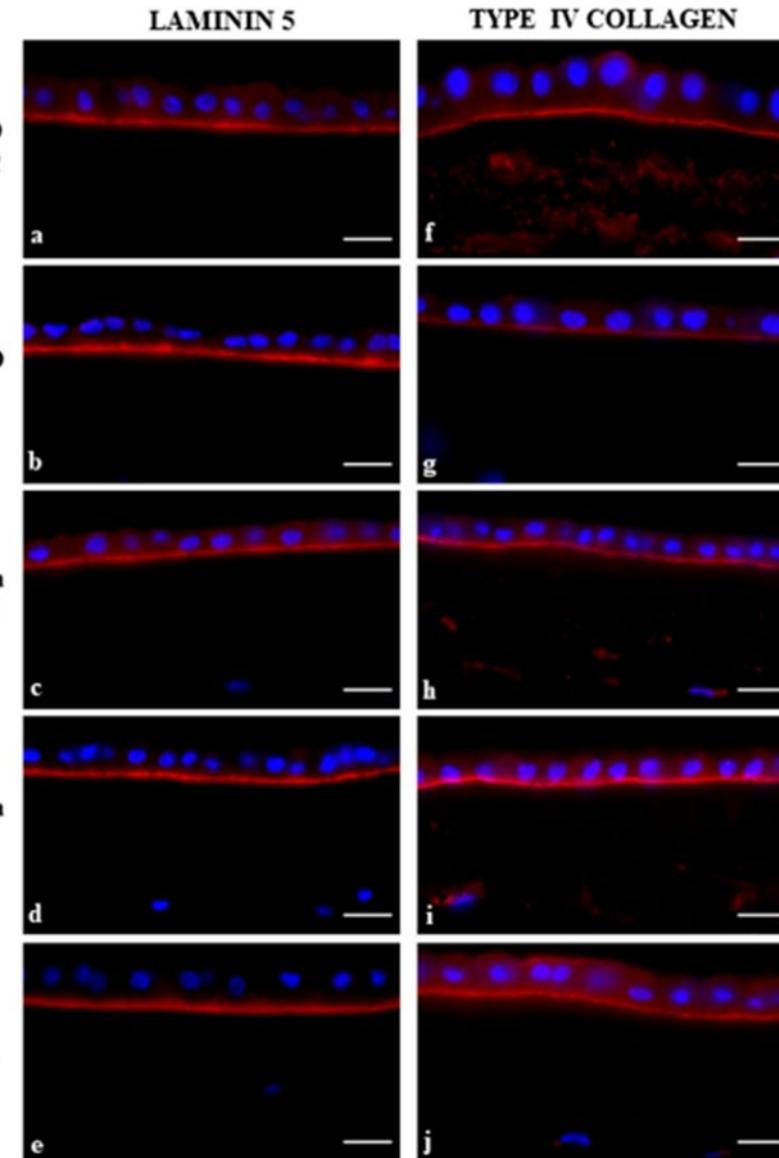
Le due proteine della membrana basale cioè laminina 5 e collagene di tipo IV sono state rilevate in tutte le condizioni con modelli di espressione simili.

La membrana basale appare come una linea continua sotto l'epitelio suggerendo alcuna interferenza da parte del protocollo di conservazione.

**Table 2** Adhesiveness properties. Level of adhesiveness of both epithelial and stromal side of hAM (A) and legend (B)

A Conditions	A		B	
	Epithelial side	Stromal side	-	No adhesiveness
DMSO - 180 °C	-	+++	+	<5 s
DMSO - 80 °C	-	+++	++	5 < x < 10 s
Dextran - 180 °C	-	+++	+++	> 10 s
Dextran - 80 °C	-	+++		
Dry - 80 °C	-	+++		

Dimethyl sulfoxide (DMSO), seconds (s)



### PROVE DI ADESIVITA'

Il lato stromale ha sempre mantenuto la sua capacità adesiva.



FBTV

# CONSERVAZIONE



## Liofilizzazione



FBTV

# Liofilizzazione membrana amniotica



## Effetti di diversi metodi di conservazione sulle proprietà della membrana amniotica

E' stata effettuata una misurazione quantitative di:

- **IL-10** (interleuchina 10),
- **PDGF-BB** (fattore di crescita derivato dalle piastrine-BB),
- **PDGF-AA** (fattore di crescita derivato dalle piastrine-AA),
- **bFGF** (fattore di crescita derivato dalle piastrine-AA),
- **TGF- $\beta$ 1** (fattore di crescita dei fibroblasti beta 1),
- **TIMP-1, -2, -4** (inibitore tissutale della metalloproteinasi),
- **EGF** (fattore di crescita epidermica)

E per ciascuna citochina è stato utilizzato uno specifico kit enzimatico (ELISA)



**Cytokine expression and ultrastructural alterations in fresh-frozen, freeze-dried and  $\gamma$ -irradiated human amniotic membranes**

Adolfo Paolin · Diletta Trojan · Antonio Leonardi · Stefano Mellone ·  
Antonio Volpe · Augusto Orlandi · Elisa Cogliati



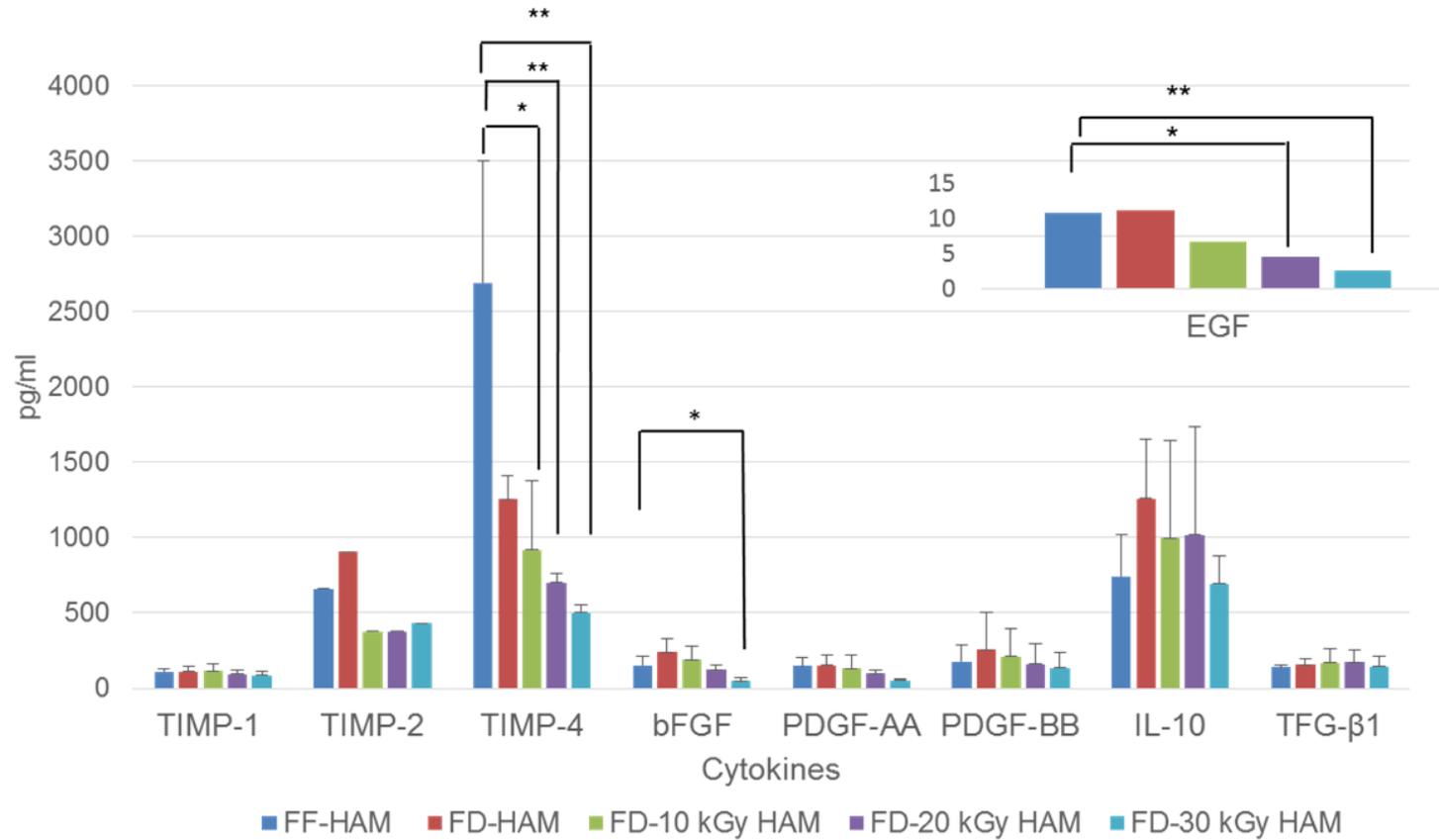
# Risultati



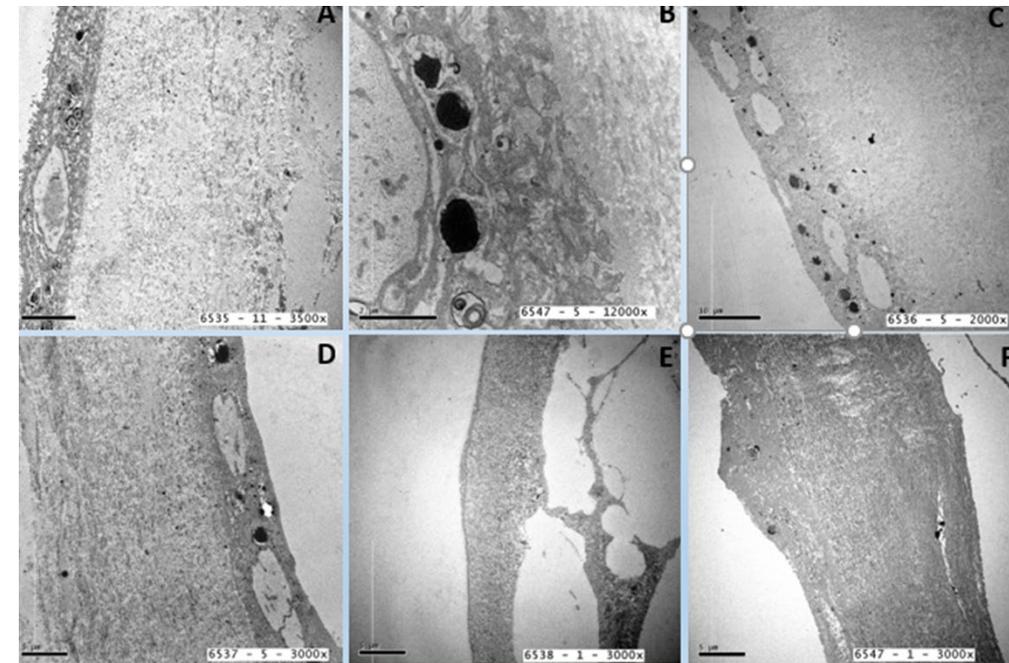
Preparation	Cytokine concentration (pg/mg)								
	TIMP-1	TIMP-2	TIMP-4	<u>bFGF</u>	PDGF-AA	PDGF-BB	EGF	IL-10	TFG-β1
FF-HAM	111.7	661.0	2692.9	153.3	146.1	176.3	10.8	742.1	138.0
FD-HAM	109.8(-2%)	906.5(+37%)	1257.6(-53%)	239.4(+56%)	153.8(+5%)	257.5(+46%)	11.2(+4%)	1259.5(+70%)	158.7(+15%)
FD-10 <u>kGy</u> HAM	116.2(+4%)	378.7(-43%)	917.9(-66%)	188.3(+23%)	131.6(-10%)	210.4(+19%)	6.6(-38%)	995.4(+34%)	169.3(+23%)
FD-20 <u>kGy</u> HAM	93.1(-17%)	376.6(-43%)	701.2(-74%)	124.8(-19%)	98.9(-32%)	160.3(-9%)	4.6(-57%)	1017.1(+37%)	172.3(+25%)
FD-30 <u>kGy</u> HAM	87.3(-22%)	429.7(-35%)	501.3(-81%)	47.5(-69%)	51.4(-65%)	136.3(-23%)	2.6(-76%)	693.8(-7%)	145.9(+6%)

Citochine presenti in campioni congelati, ben mantenute anche nei campioni liofilizzati, mentre la sterilizzazione a raggi gamma ha portato una significativa perdita di citochine specialmente per TIMP-4 e EGF.

# Risultati



L'analisi istologica ha evidenziato come il danno strutturale è maggiore se maggiore è la dose di irradiazione .



---

*Dr.ssa Elisa Cogliati*  
*ecogliati@fbtv-treviso.org*



“ Impegnati per la vita ”

GRAZIE  
THANK YOU

**FBTV**   
Fondazione  
Banca dei Tessuti  
di Treviso - Onlus

---

© 2021 FBTV All rights reserved