

PRP
e
Tessuto Adiposo
Laura Mazzucco

*Responsabile Settore Produzione e Qualificazione Biologica Emocomponenti e Medicina Rigenerativa
S.C. Medicina Trasfusionale – direttore R Guaschino*



*Azienda Ospedaliera Nazionale
SS. Antonio e Biagio e Cesare Arrigo
Alessandria*



PRP



1998..



..2011

+ di 10 anni di utilizzo del
Concentrato Piastrinico
in Medicina Rigenerativa!!!





Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.
1998 Jun;85(6):638-46.

Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts.

[Marx RE](#), [Carlson EP](#), [Eichstaedt RM](#), [Schimmel's SR](#), [Strauss JF](#), [Georoff KR](#).

Division of Oral and Maxillofacial Surgery, University of Miami School of Medicine, Coral Gables, Fla., USA.

Dagli iniziali studi di Marx che, riprendendo vecchi studi dimenticati, ha dimostrato l'efficacia del cosiddetto Gel Piastrinico nella rigenerazione ossea del complesso maxillo-facciale alcune migliaia di lavori scientifici sono stati pubblicati nel mondo evidenziando tutti i possibili vantaggi e i modesti effetti collaterali sfavorevoli di questa nuova branca della medicina.





Animal study

**In vitro
study**



Clinical study

produzione scientifica internazionale

La maggior parte degli studi sono di tipo “**osservazionale**”, i prodotti applicati e i metodi di verifica di efficacia sono diversi, le coorti dei pazienti trattati sono spesso imparagonabili e quindi la **verifica dei risultati** prevalentemente si basa sul concetto di **guarito, migliorato o invariato** (scarsa metodologia scientifica).



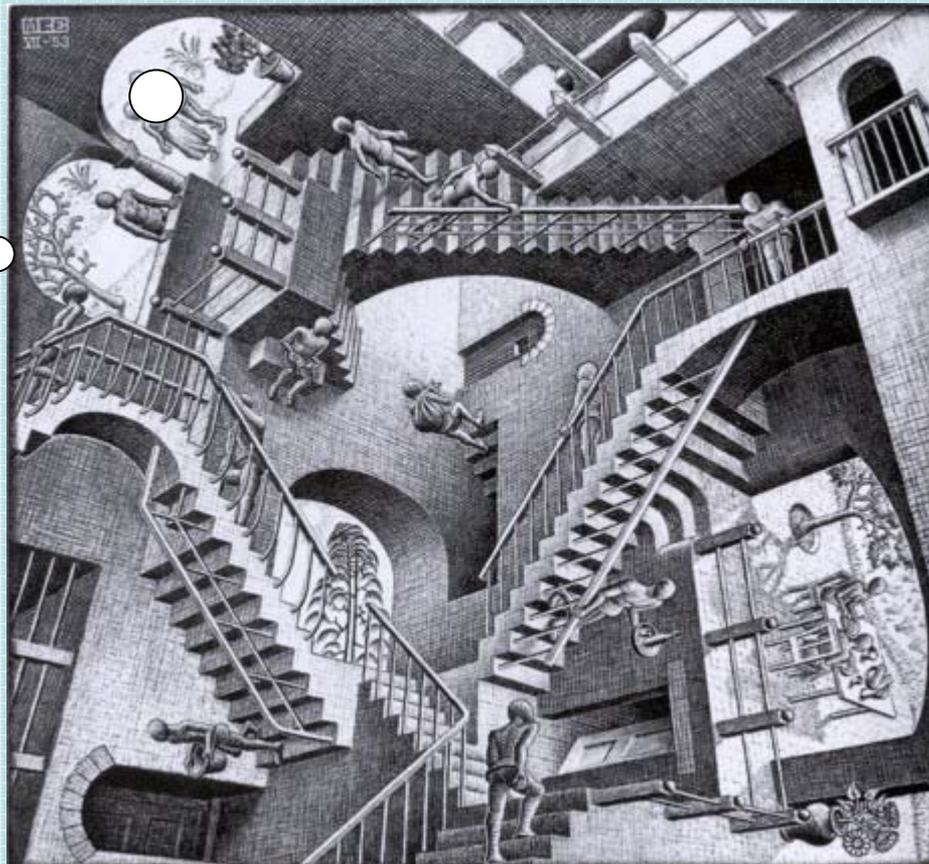
Miglioramento
delle conoscenze biologiche

Variazione
di tipologie di preparazioni

**Come
lo uso?**

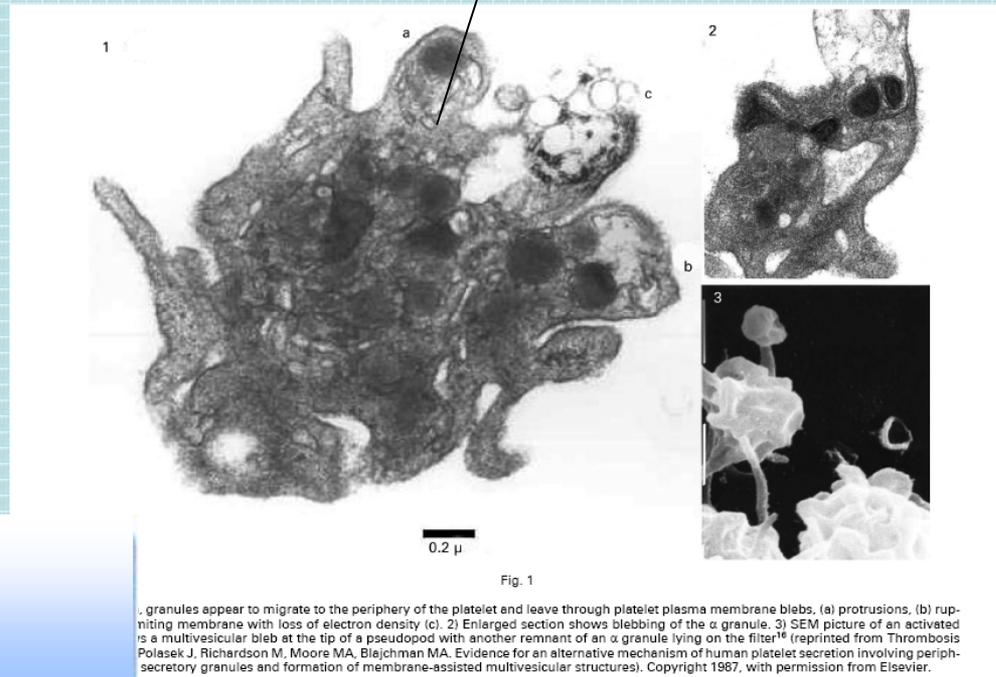
**Lo posso
associare ad altri
prodotti ?**

**Quante
volte
sarà da
applicare ?**



Miglioramento delle conoscenze biologiche....

α granuli (50 – 80)
granuli densi
granuli lisosomiali



CARTA DI IDENTITA'



Frammento cellulare
Emivita: 5 – 9 giorni
Dimensioni: 0.5 – 3 μ m
Forma: discoidale (a riposo)
Antigeni di membrana

V. N.: 150.000- 400.000 mm^3

Ruolo delle piastrine nel Wound Healing

Le piastrine contengono sostanze biologicamente attive
almeno 60 differenti
che sono coinvolte nei meccanismi di riparazione dei tessuti
noti e caratterizzati..

Fattori della coagulazione

Fattori vasoattivi

**Fattori di crescita : EGF, PDGF, TGF β , FGF, VEGF, IGF, CTGF,
Interleuchine (IL) e TNF α**

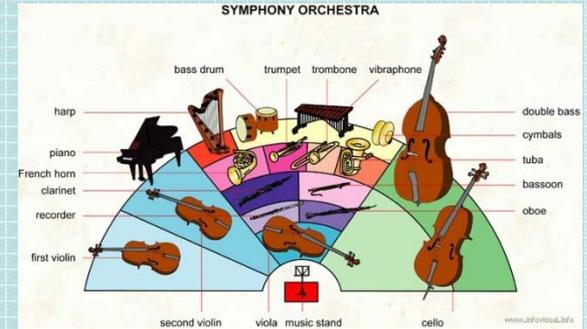
In: Advances in Medicine and Biology, Volume 11
Editor: Leon V. Berhardt

ISBN: 978-1-61728-775-6
© 2009 Nova Science Publishers, Inc.

Platelet Derivatives: A New Horizon in Regenerative Medicine

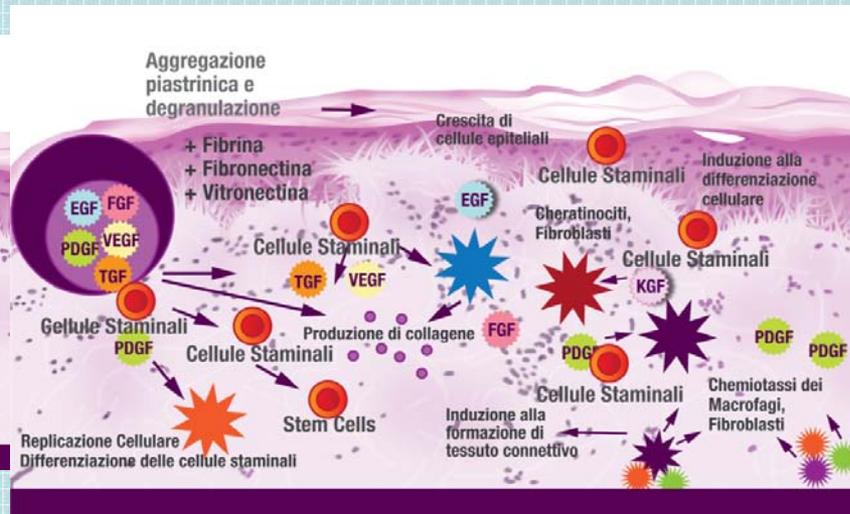
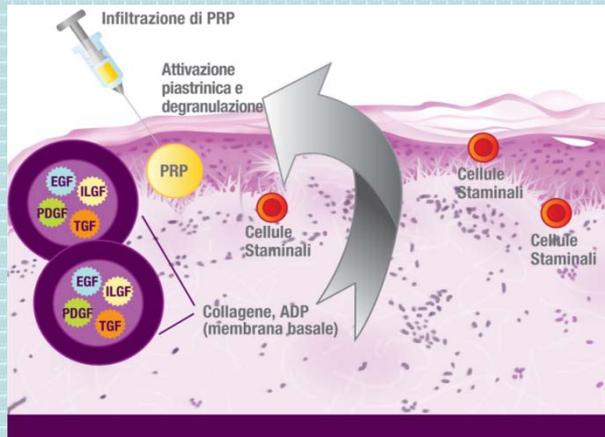
Elia Ranzato^{1,2}, Laura Mazzucco³ and Bruno Burlando¹

Le piastrine rilasciano un pool di fattori di crescita in modo **sinergico e contemporaneo** con effetto biologico significativamente **maggiore** rispetto all'azione di un **singolo fattore**..



Platelet-Derived Factors Involved in Tissue Repair—From Signal to Function

Transfusion Medicine Reviews, Volume 24, Issue 3, July 2010, Pages 218-234
 Laura Mazzucco, Piero Borzini, Rajalakshmi Gope

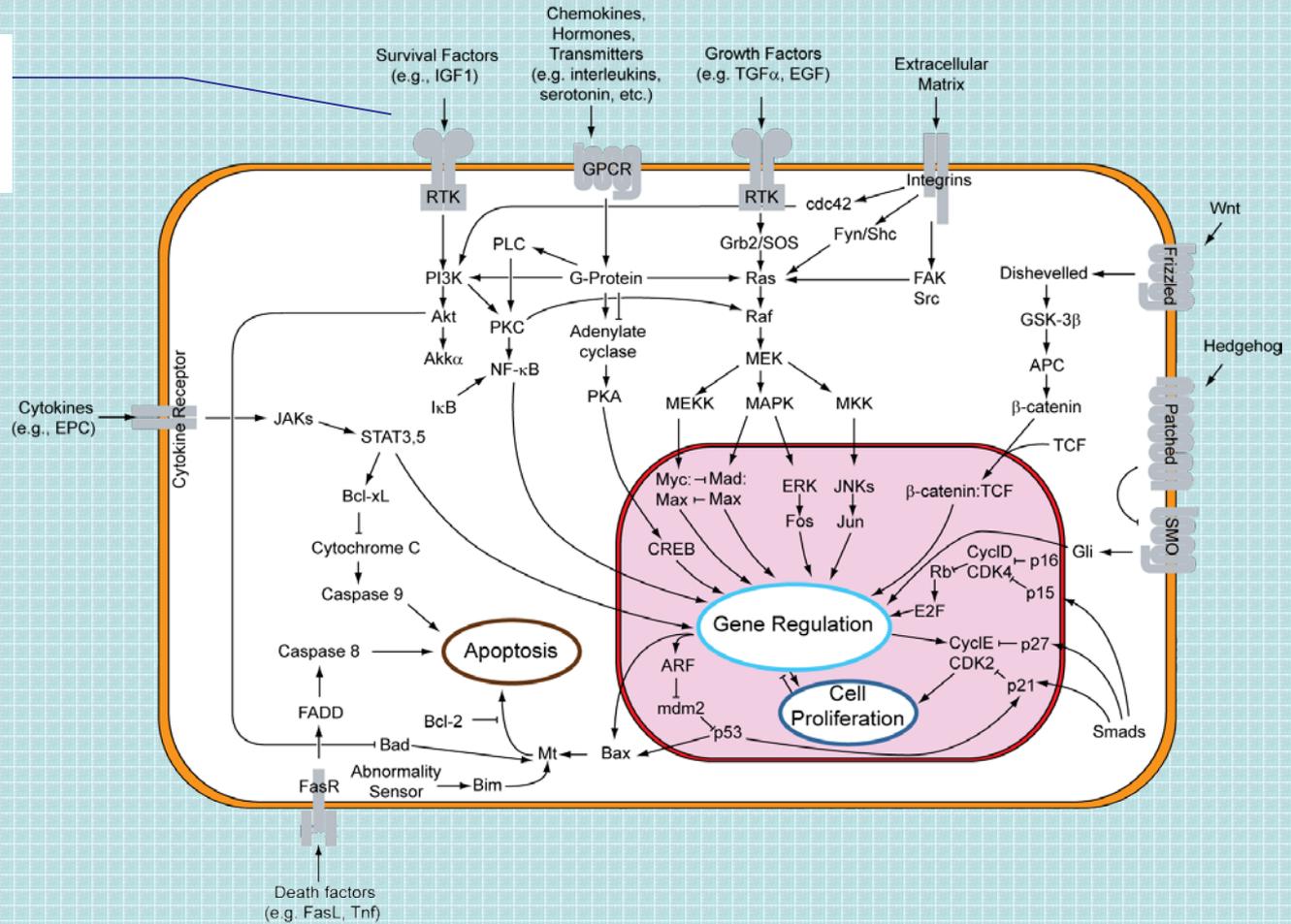
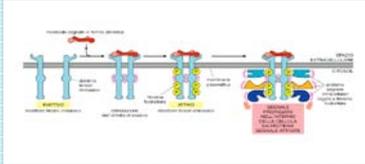




lesione = “*DISEQUILIBRIO*” del microambiente



GFplt agiscono legandosi ai recettori di membrana delle cellule target (MSC, osteoblasti, fibroblasti, cellule endoteliali ed epiteliali)



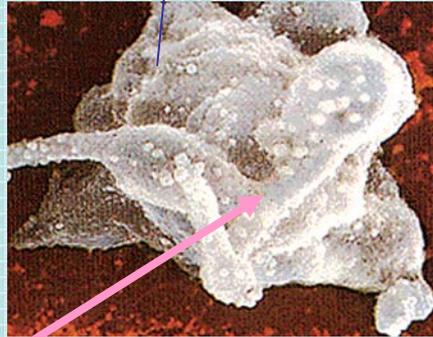
Capire come realmente agiscono e interagiscono i GF piastrinici è difficile ...



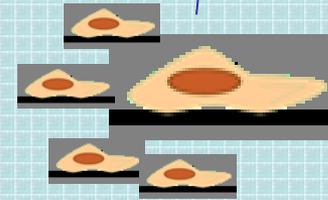
sappiamo che alla base della loro efficacia c'è l'attivazione di effetti autocrini e paracrini..



TAPPO EMOSTATICO
BARRIERA
ANTIMICROBICA
SCAFFOLD



chemotassi e mitosi
CHERATINOCITI
FIBROBLASTI
ENDOTELIALI

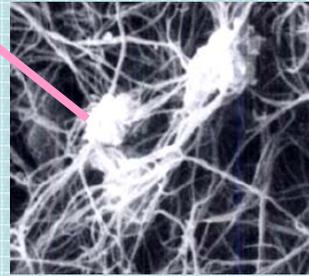


f
e
r
i
t
a

DEGRADAZIONE del COAGULO

PLASMINOGENO
METALLOPROTEASI

VEGF
FGFb



PDGF

EGF

TGFβ

MITOGENICO
CHEMOTATTICO

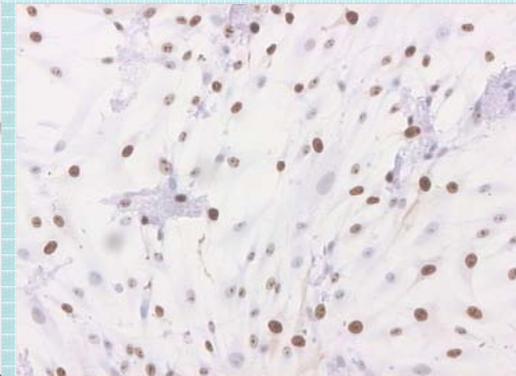
TRASFORMAZIONE
DEI FIBRO IN
MIOFIBROBLASTI

ATTIVAZIONE GENE
DEL CTGF PER
PRODUZIONE DI
MATRICE

Effetto dimostrabile in vitro....



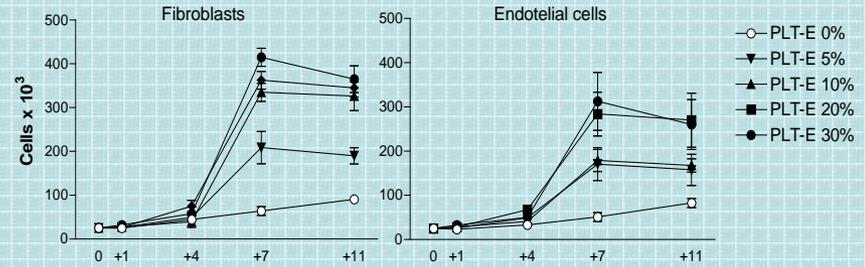
Controllo



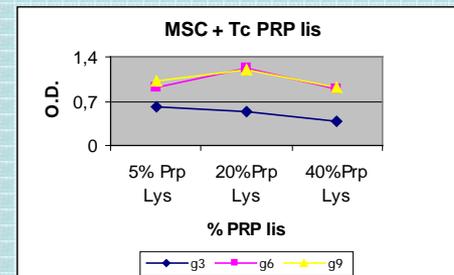
Pulse con PLT lys (Ki67 test)



CURVE DI CRESCITA

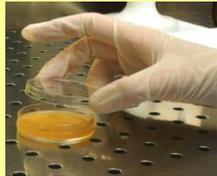


Effetto dose dipendente



Tipologie di preparazioni



FILTRAZIONE	GEL	INSTILLAZIONE
No attivazione	attivazione	No attivazione (lisato piastrinico)
		
uso ortopedico e cosmetico	Uso chirurgico e per medicazione	Uso oftalmico

**Tendon
regeneration**



**Bio regeneration
for rejuvenation**



Tissue regeneration



Ocular alteration

Tissue Eng. 2001 Apr;7(2):211-28.

Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies.

[Zuk PA](#), [Zhu M](#), [Mizuno H](#), [Huang J](#), [Futrell JW](#), [Katz AJ](#), [Benhaim P](#), [Lorenz HP](#), [Hedrick MH](#).

Laboratory for Regenerative Bioengineering and Repair, UCLA School of Medicine, Los Angeles, California, USA

Molecular Biology of the Cell
Vol. 13, 4279-4295, December 2002

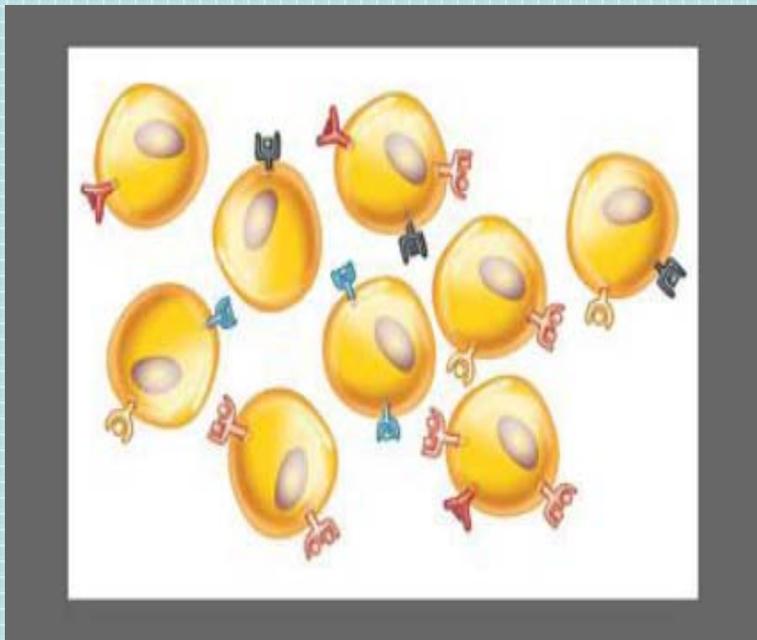
Human Adipose Tissue Is a Source of Multipotent Stem Cells[□]

Patricia A. Zuk,^{*,†} Min Zhu,^{*} Peter Ashjian,^{*} Daniel A. De Ugarte,^{*}
Jerry L. Huang,^{*} Hiroshi Mizuno,^{*} Zeni C. Alfonso,[‡] John K. Fraser,[‡]
Prosper Benhaim,^{*} and Marc H. Hedrick^{*}



Le cellule staminali del tessuto adiposo ASC presentano un assetto antigenico simile alle cellule Mesenchimali, ma ..

	CD29	CD31	CD34	CD44	CD45	CD49	CD71	CD90	CD105	CD106
MSC	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+
ASD	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-



However, distinctions in two CD markers were observed: PLA cells were positive for CD49d and negative for CD106, whereas the opposite was observed on MSCs. Expression of CD106 has been confirmed in the bone marrow stroma and, specifically, MSCs (Levesque *et al.*, 2001) where it is functionally associated with hematopoiesis. The lack of CD106 on PLA cells is consistent with the localization of these cells to a non-hematopoietic tissue.

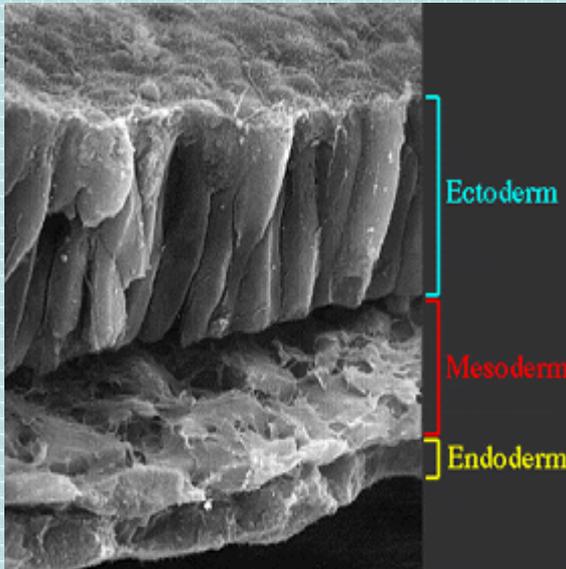
P.A. Zuk *et al.*

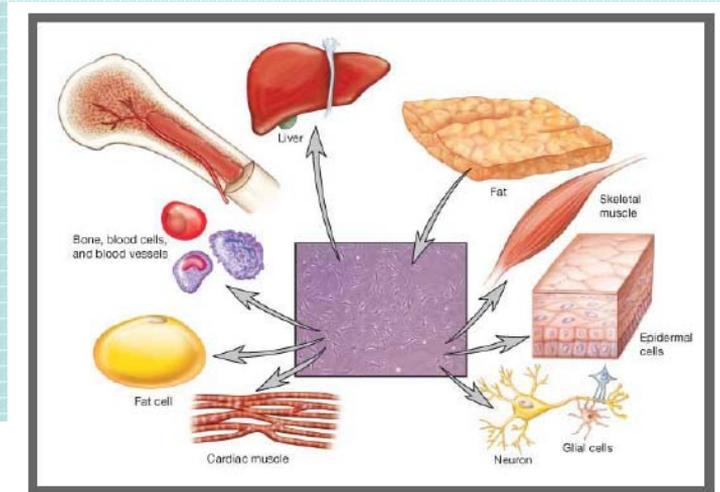
Caratteristiche ASD

capacità clonogenica

differenziazione multilineare

linee cellulari di origine:
Mesodermica
Ectodermica
Endodermica





Applicazioni di ASCs

Research activity

Adipose tissue

[Mauney et al., 2007](#)

Bone tissue

[Cowan et al., 2004](#) ; [Dudas et al., 2006](#) ; [Yoon et al., 2007](#)

Cartilage

[Dragoo et al., 2003](#) ; [Guilak et al., 2004](#)

Skeletal muscle

[Bacou et al., 2004](#) ; [Goudenege et al., 2009](#)

Smooth muscle

[Rodriguez et al., 2006](#)

Neural

[Ashjian, 2003](#) ; [Safford et al., 2004](#) ; [Erba et al., 2009](#) ; [Nakada et al., 2009](#)

Vocal fold/laryngeal tissue

[Long et al., 2009](#)

Bladder/urethra

[Jack et al., 2005](#)

Cardiovascular tissue

[Miranville et al., 2004](#) ; [Heydarkhan-Hagvall et al., 2008](#) ; [Froehlich et al., 2009](#) ; [Okura et al., 2009c](#)

Pancreatic tissue/islet

[Timper et al., 2006](#) ; [Okura et al., 2009a](#) ; [Kajiyama et al., 2010](#)

Hepatic tissue

[Seo et al., 2005](#) ; [Banas et al., 2007](#) ; [Okura et al., 2009b](#)

Epithelial/skin tissue

[Brzoska et al., 2005](#) ; [Jeong, 2009](#)

Kidney tubule epithelial cell

[Li et al., 2009](#)



ASCs in disease and injury

Intervertebral disc repair	Hsu et al., 2008
Spinal cord injury	Ryu et al., 2009
Peripheral nerve regeneration	di Summa et al., 2009
Glioblastoma treatment	Josiah et al., 2010
Huntington's	Lee et al., 2009
Multiple sclerosis	Riordan et al., 2009
Stroke	Kim et al., 2007
Urinary incontinence	Lin et al., 2010
Erectile dysfunction	Lin et al., 2009a
Liver repair	Liang et al., 2009
Diabetes	Lin et al., 2009b
Colitis	Gonzalez-Rey et al., 2009
Ischemia	Kondo et al., 2009
Rheumatoid arthritis	Gonzalez-Rey et al., 2010
Antiaging	Park et al., 2008
Wound/skin regeneration	Trottier et al., 2008
Cleft palate	Conejero et al., 2006
Tendon repair	Uysal and Mizuno, 2009

AZIONE IMMUNOSOPPRESSIVA (tumorigenesi)

AZIONE MODULANTE (es. iperglicemia) ..



ASC human trials

Calvarial defect	Lendeckel et al., 2004
Crohn's disease	Garcia-Olmo et al., 2002
Urinary incontinence	Yamamoto et al., 2009
Graft vs. host disease	Fang et al., 2007



Attualmente gli ambiti di applicazione del tessuto adiposo sono:

↳ **Ricostruttivi** (malformazioni congenite, ferite traumatiche, lesioni da depressioni)

↳ **Correzionali** (insufficienza delle corde vocali, incontinenza urinaria)

↳ **Cosmetici** (uso... potenzialmente illimitato)

*Lo scopo è
di **ottenere o ridare volume e forma**
ai tessuti che lo necessitano con materiale autologo facilmente disponibile*

prelievo: aspirazione

concentrazione : centrifugazione, decantazione, filtrazione

applicazione: infiltrazione



Un limite di questa tecnica è la conservazione a lungo termine del trapianto (Min et al., 2010).

Gli innesti di grasso trapiantato perdono volume nel tempo a causa del riassorbimento del tessuto che può causare la perdita del 20-90% del volume originario dell'innesto (Cherubino et al., 2009).

I fattori di crescita possono contribuire alla sopravvivenza o l'incremento dell'attività metabolica delle cellule adipose, migliorando la loro proliferazione, la rigenerazione dei tessuti e rivascolarizzazione nel sito dell'impianto

Brayfield CA, Marra KG, Rubin JP. Adipose tissue regeneration. Curr Stem Cell Res Ther Nov 26, 2009.

Adipociti e PRP



Il PRP può favorire vascolarizzazione neoangenetica e l'attività dei fibroblasti che a loro volta favoriscono la sopravvivenza del tessuto adiposo e l'organizzazione 3D.

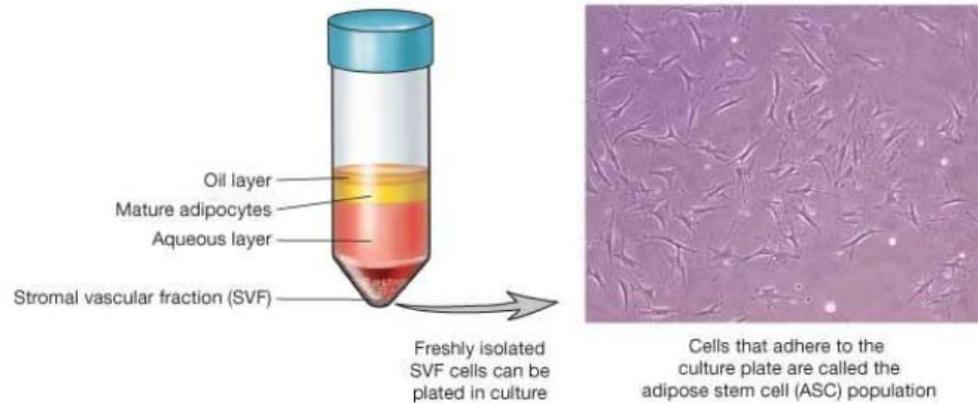
Inoltre, rispetto al lipofilling, se le cellule adipose sono distribuite senza soluzione di continuità, la sopravvivenza degli impianti è migliore e si riduce la necrosi del grasso a seguito di un migliore sviluppo vascolare nella zona impiantata

Cervelli V. Aesth Plast Surg (2009)



Il concetto si ripete... che effetto ha il PRP sulle cellule del tessuto adiposo?....

I GF inducono l'aumento della proliferazione della frazione delle cellule stromali vascolari..., ...attivazione dei fenomeni di differenziazione autocrini e paracrini....





Piero Borzini
Valeria Balbo
Michela Peri
Roberto Guaschino

Mauro Patrone
Elia Ranzato
Bruno Burlando
Maria Cavaletto



GRAZIE PER L'ATTENZIONE