



Corso Luigi Einaudi, 55 - Torino

Appunti universitari

Tesi di laurea

Cartoleria e cancelleria

Stampa file e fotocopie

Print on demand

Rilegature

NUMERO: 1581A -

ANNO: 2015

A P P U N T I

STUDENTE: Girardi

MATERIA: Medicina Rigenerativa + temi d'esame. Prof.Chiono

Il presente lavoro nasce dall'impegno dell'autore ed è distribuito in accordo con il Centro Appunti.

Tutti i diritti sono riservati. È vietata qualsiasi riproduzione, copia totale o parziale, dei contenuti inseriti nel presente volume, ivi inclusa la memorizzazione, rielaborazione, diffusione o distribuzione dei contenuti stessi mediante qualunque supporto magnetico o cartaceo, piattaforma tecnologica o rete telematica, senza previa autorizzazione scritta dell'autore.

**ATTENZIONE: QUESTI APPUNTI SONO FATTI DA STUDENTIE NON SONO STATI VISIONATI DAL DOCENTE.
IL NOME DEL PROFESSORE, SERVE SOLO PER IDENTIFICARE IL CORSO.**

MEDICINA NEL PASSATO

Doctors are men who prescribe medicines of which they know little, to cure diseases of which they know less, in human beings of whom they know nothing

Voltaire

MEDICINA
RIGENERATIVA

6

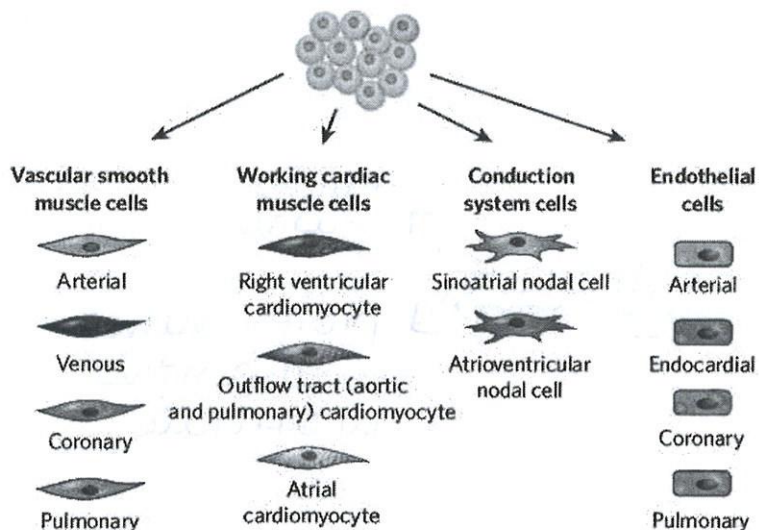
Eleonora Ginardi
Prof.essa VALERIA CHIONO

MEDICINA OGGI

- Molte nozioni sui meccanismi molecolari che regolano le varie patologie deriva – come detto- da modelli animali in particolare da topi geneticamente modificati, che però non necessariamente mimano la fisiologia umana o ricapitolano esattamente la malattia umana. Ad esempio ci sono differenze nel sistema cardiovascolare umano e murino. Occorre però dire che studiare cellule umane come alternativa risulta complesso, per la difficoltà di isolare le cellule di interesse da tessuto umano intatto.
- I recenti progressi nelle tecnologie che sfruttano le cellule staminali sembrano però offrire una soluzione al problema di disporre di modelli umani delle patologie

MEDICINA RIGENERATIVA

- Le cellule staminali sono una possibilità per lo sviluppo in vitro di modelli umani di patologie, tenendo però conto della complessità inerente allo sviluppo di tale modello. Partendo da ES o da iPS ad esempio e volendo disporre di un modello di tessuto cardiaco umano occorre che tali cellule differenzino in tutte le cellule del tessuto cardiaco, incluse cellule muscolari lisce dei vasi sanguigni, cellule endoteliali, fibroblasti, cardiomiociti ventricolari e atriali, cellule del sistema di conduzione con funzione pacemaker.



10

Le iPS o le ES vanno coltivate in vitro su scaffold e sottoponendole agli stimoli caratteristici del tessuto che si vuole ottenere x il modello umano. → MODELLIZZAZIONE IN VITRO DI ORGANI.

MEDICINA RIGENERATIVA

Esempio di un successo della medicina rigenerativa:

Trapianto di cuore (unico caso di successo della medicina rigenerativa cardiovascolare)

Table 1 | Regenerative therapies for reversing advanced heart failure

Therapy	Limitations	Status
Human heart transplantation	Not enough donors	Approved
Artificial heart implantation	Complications of blood clotting and continuous power source, + difficile scelta del materiale	Not yet approved for routine use
Ventricular-assist-device implantation	Complications of infection and stroke	Approved for short-term use
Cell-based therapy	Results mixed or marginal: optimal cell types and delivery system unclear, and low grafting efficiency	Not yet approved: in clinical trials
Gene therapy to reverse calcium-cycling defects	Optimized heart-targeted <i>in vivo</i> delivery system unclear	Not yet approved: in early clinical trials

MEDICINA RIGENERATIVA MODERNA

○ Dati del 2008 – l'aspettativa di vita media negli USA è 78.4 anni

OPZIONI CLASSICHE PER RIPARARE PARTI DEL CORPO:

•PROTESI



PERDITA DELLA FUNZIONALITA'



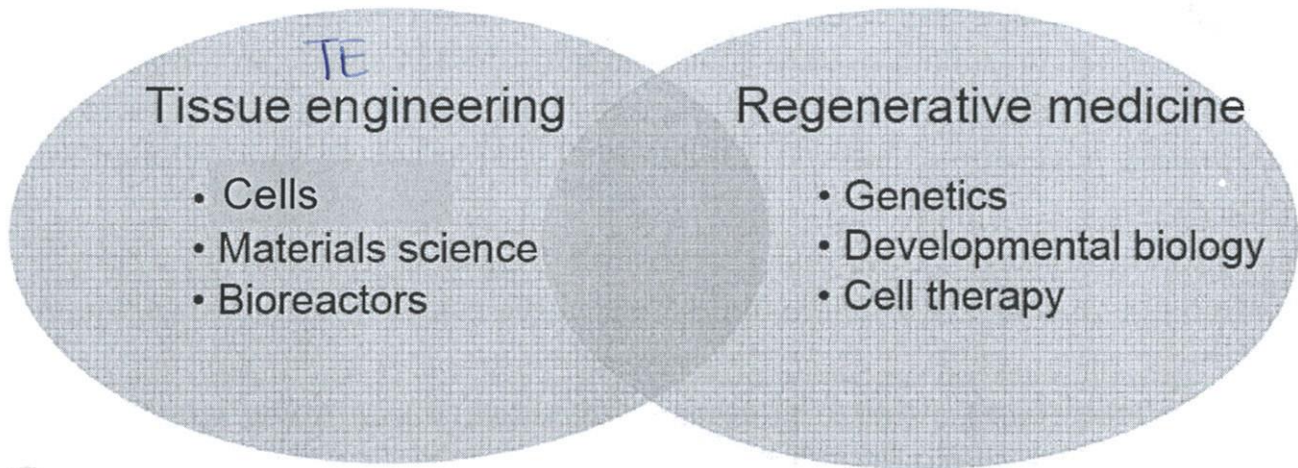
TRAPIANTO

INIEZIONE DI PIASTRINE

MEDICINA RIGENERATIVA MODERNA: costituisce una nuova filosofia di l'approccio alla malattia attraverso la rigenerazione biologica, da parte del corpo del paziente, del tessuto/organo deteriorato anziché la sua sostituzione con una protesi o un trapianto. Questa tecnica iniziò i primi passi nel 1998 quando un chirurgo maxillo-facciale si rese conto che iniettando in una zona ossea sangue ricco di piastrine l'osso si rigenerava ed cresceva con grande rapidità. La motivazione di tale fenomeno era da ricercarsi nella grande abbondanza di fattori della crescita contenuti nelle piastrine. La tecnica che a partire da tale constatazione si è sviluppata, che consiste nell'applicare sul tessuto danneggiato un gel piastrinico, ha applicazione in svariate branche della medicina (odontoiatria, ortopedia, gastroenterologia, etc.).

14

Ingegneria dei tessuti e medicina rigenerativa



La medicina rigenerativa integra:

- 1) • La terapia cellulare umana;
- 2) • La terapia genica;
- 3) • Biomateriali
- 4) • La medicina molecolare

16

- 1) I medici iniettano cellule + medium → rimangono poco in loco (solo il 10%) → cercare soluzione da parte degli ing.
- 2) serve x modificare il codice genico di alcune cellule x pericolose → gli ing. devono renderla sicura.
- 4) + competenza medica → si sviluppano farmaci x stimolare le cellule a proliferare
- 3) I materiali devono interagire con le cellule:
TE in vivo → scaffold nel paziente
TE in vitro → bioreattori con cellule x specializzarle e poi si impiantano.

MEDICINA RIGENERATIVA

Concetto chiave della medicina rigenerativa:

- Rallentare non solo la progressione della malattia ma anche regredire il suo corso



Il requisito base per raggiungere tale scopo è quello di conoscere a fondo la patologia da trattare

MEDICINA RIGENERATIVA

Attuali avanzamenti tecnologici per l'ottenimento di modelli umani delle patologie:

- Possibilità di generare e di espandere in vitro vari tipi di cellule, differenziate da cellule staminali embrionali e da cellule staminali umane indotte alla pluripotenza (queste ultime si ottengono inducendo l'espressione di alcuni specifici geni nelle cellule adulte, ad esempio i fibroblasti della pelle, inducendole a diventare simili alle cellule staminali embrionali).

Modelli umani per lo studio delle patologie umane:

- Le cellule staminali suddette sono isolate dall'uomo (sia individui sani come controllo sia patologici) e sono indotte a generare in vitro molteplici popolazioni cellulari umane: ad es. si possono generare cellule e tessuti cardiovascolari umani e quindi è possibile studiare in vitro, su sistemi modello, la patologia di interesse.

I progressi nelle tecnologie che usano le cellule staminali consentono:

- Di potere disporre di modelli umani delle patologie
- Di attuare specifiche terapie cellulari nella medicina rigenerativa.

MEDICINA RIGENERATIVA

Definizione di Yannas: Differenza tra rigenerazione e riparazione

Organ regeneration is distinct from organ repair as an endpoint of a healing process following injury. Repair is an adaptation to loss of normal organ mass and leads to restoration of the interrupted continuity by synthesis of scar tissue without restoration of the normal tissue.

By contrast, regeneration restores the normal structure and function of the organ; repair does not" [Yannas IV: *Tissue and Organ Regeneration in Adults*. Springer Publishing (2007)].

La medicina rigenerativa è finalizzata a recuperare la salute dell'uomo e quindi si fonda sul concetto di rigenerazione e non di riparazione del danno.

22

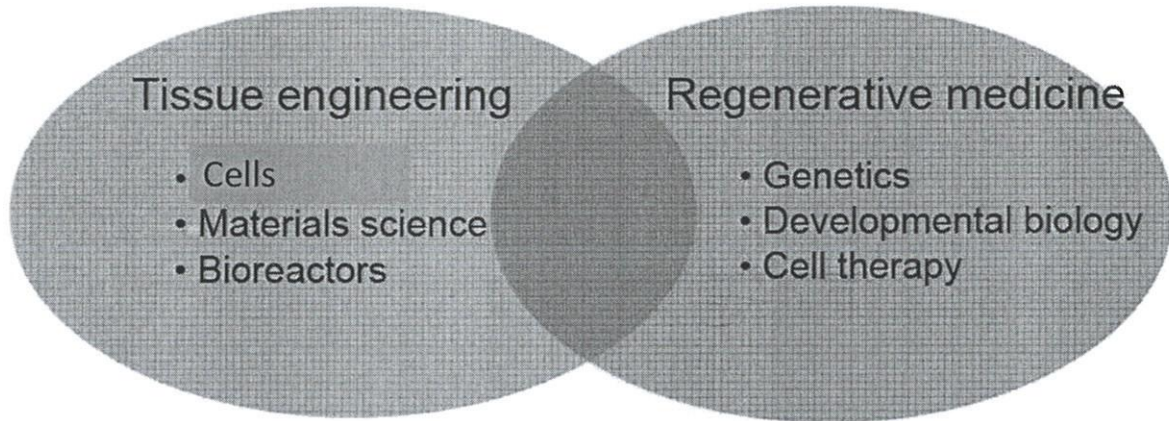
MEDICINA RIGENERATIVA

Seconda definizione

La medicina rigenerativa sostituisce o rigenera le cellule, i tessuti e gli organi umani, in modo da recuperarne la normale funzione

[Mason & Dunnill, Regen Med (2008) 3:1-4]

Ingegneria dei tessuti e medicina rigenerativa



La medicina rigenerativa integra:

- La terapia cellulare umana;
- La terapia genica;
- Biomateriali
- La medicina molecolare

Historical: Where did tissue engineering come from?

16th century Tagiacozzi of Bologna, Italy reportedly used the concept of replacing one tissue with another through the development of a nose replacement made with a flap of skin from the forearm

1940's synthetic materials in medicine

1949 Arthur B. Voorhees, Jr., fabric vascular graft

Fondaw. x il TE { 1970's Eugene Bell and I. Yannas → ingegnerizzano la pelle
1980's Robert Langer and Joseph Vacanti (J. Pediatric Surg, 1988) → osseo
→ miocardico

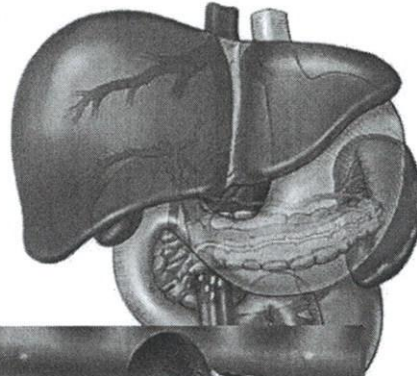
1987 The term "tissue engineering" was coined at an NSF-sponsored meeting by Y.C. Fung.

1995 The journal, Tissue Engineering and Tissue Engineering Society (TES)

TE si basa sullo sviluppo di biomateriali ingegnerizzati (fatti di polimeri) x guidare lo sviluppo delle cellule.

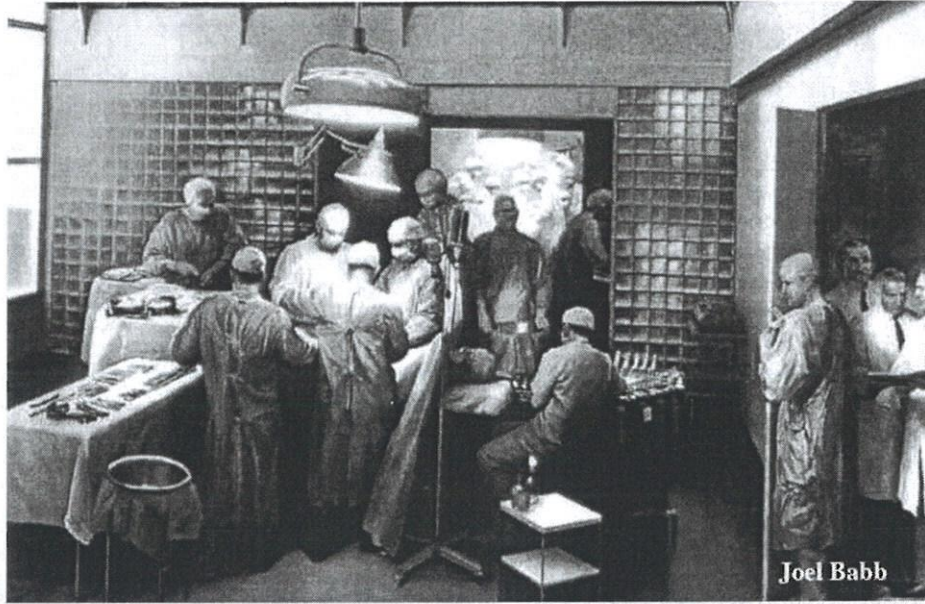
TISSUE ENGINEERING AND REGENERATIVE MEDICINE

Tissue loss or organ dysfunction is one of the most frequent, devastating, and costly problems in human health care.



TE si e' sviluppata x colmare i bisogni di pazienti che hanno subito dei traumi o degli incidenti.

Organ Transplantation



Harvard Medical Library (Countway Library)

REN
Dec. 23, 1954: The first successful kidney transplantation (twin to twin)
Joseph Murray (plastic surgeon), John Merrill (nephrologist), J. H. Harrison (urologist), and Gustave Dammin (pathologist)

8

NO risp. IMMUNITARIA
x questo ha avuto successo

The transplant organ shortage

UNOS **DONATE LIFE**
UNITED NETWORK FOR ORGAN SHARING

ABOUT US DONATION & TRANSPLANTATION SERVICES & CAPABILITIES

Working together. Saving lives.

UNOS unites the transplant community to save lives through organ transplantation. [More >](#)

Transplant Trends

Waiting list candidates as of today 5:06pm	111,522
Active waiting list candidates as of today 5:06pm	72,463
Transplants January - February 2011	4,349
Donors January - February 2011	2,190

Nicholas, liver recipient

<http://www.unos.org>

E' diventata una routine, ma i donatori sono di ¹⁰ 2 organi di grandezza inferiori ai pazienti bisognosi

Donazione di organi in Italia

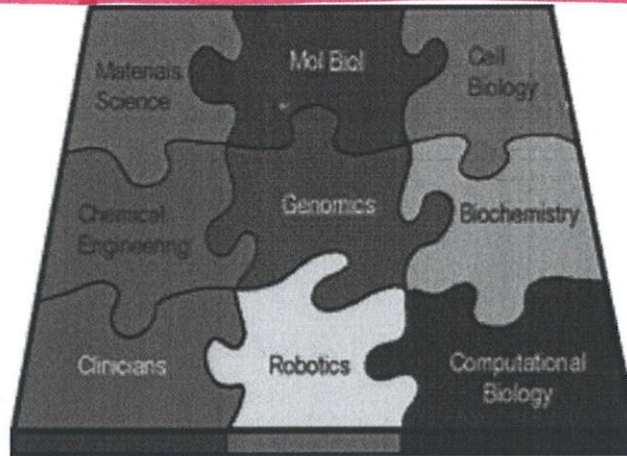
- Nel 2013 in Italia si contano 23,7 donatori d'organo per milione di abitante (terzo posto in Europa dopo Spagna e Francia; la media europea è di 17 donatori ogni milione di abitante)
- Lo sforzo per incentivare a donare i propri organi è quindi importante e dipende da una combinazione tra: predisposizione psicologica e sociale ad accettare la donazione ed una legge che faciliti il compito
- Nel nostro Paese per la manifestazione della volontà di donare vige il principio del consenso o del dissenso esplicito (art. 23 della Legge n. 91 del 1 aprile 1999; Decreto del Ministero della Salute 8 aprile 2000). Il "silenzio-assenso" introdotto dagli artt. 4 e 5 della Legge 91/99 non ha mai trovato attuazione, probabilmente perché subordinato alla realizzazione di un registro nazionale di donatori d'organo la cui gestione avrebbe un impatto economico. L'Italia si trova in uno stato di transizione che dura da 14 anni.

Tipica situazione in Italia:

- 1) La persona ha espresso in vita la propria volontà di donare o di non donare gli organi (poco frequente)
- 2) La persona non ha espresso in vita nessuna volontà e saranno i familiari a decidere

INGEGNERIA TISSUTALE

- Il termine “*Tissue Engineering*” è “un campo multidisciplinare che applica i principi dell'ingegneria e delle scienze della vita per la realizzazione di sostituti biologici che ripristinino, mantengano o migliorino le funzioni di tessuti o organi” [Langer et al., 1993].



http://www.ptei.org/about_tei/

Langer, R.; Vacanti, J. P. *Science* 1993; 260: 920-926.

14

TE prevede la collaborazione di professionisti provenienti da ≠ campi. E' un settore di interfaccia tra figure ≠.

INGEGNERIA TISSUTALE

- La TE si occupa quindi della progettazione e della creazione di organi e tessuti, non più dal punto di vista della ricerca di materiali inerti nell'organismo, bensì dal punto di vista dell'interazione tra materiale sintetico e sito biologico, in modo da poter realizzare la rigenerazione del tessuto o dell'organo originario, ottenendo così una vera e propria sorta di replicante biologico naturale, dove il supporto artificiale, quando presente, si degradi nel tempo (generalmente).

SCAFFOLD → deve poter comunicare con le cellule, e' in materiale BIOATTIVO (≠ da INERTE ⇒ non si degrada, non comunica e non si modifica.)
BIOATTIVO → degrada con la formazione del tessuto, da' info alle cellule x crescere.

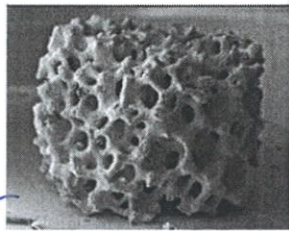
16

TISSUE ENGINEERING

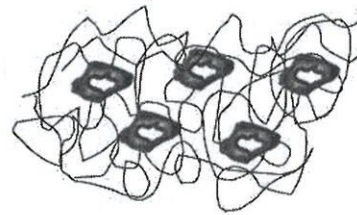
FUNZIONE dello SCAFFOLD

Le tecniche di ingegneria tissutale richiedono generalmente l'uso di uno **SCAFFOLD** che serve come ^{impalcatura} **TEMPLATE** tridimensionale per

l'**ADESIONE** iniziale delle **CELLULE**, la loro **PROLIFERAZIONE** e la seguente **FORMAZIONE** di **TESSUTO** sia *in vitro* che *in vivo*



(BD Bioscience product)



Scaffold + cellule

scaffold ceramico in cui vengono seminate le cellule, poco alla volta lo scaffold si degrada.

Cells and Scaffolds (4 concepts)

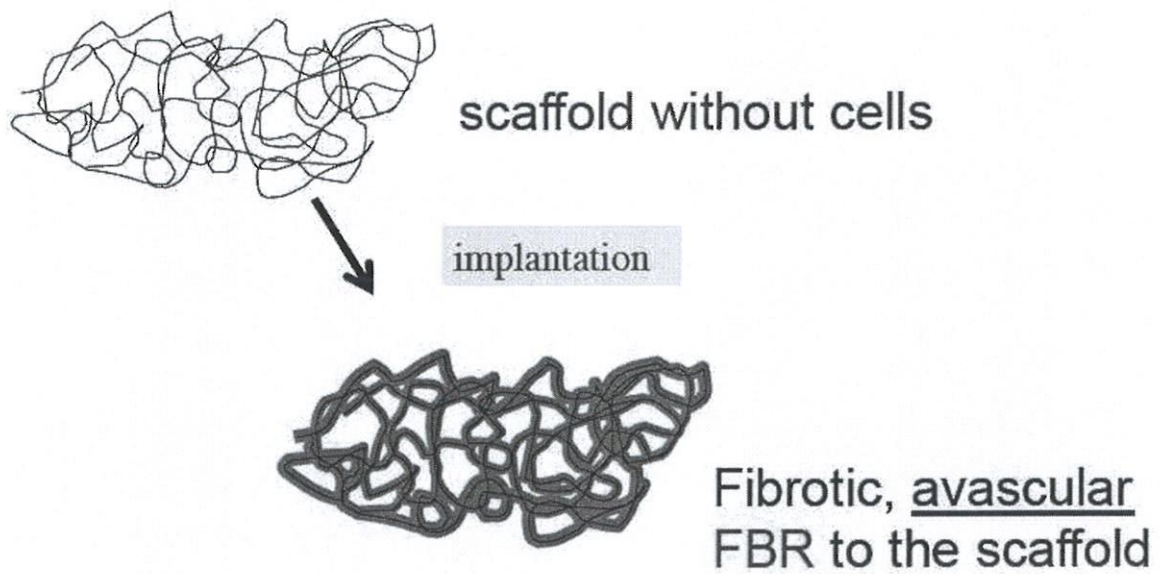


APPROCCI DI TE

- develop tissue or organ *in vitro* & then implant
("off-the-shelf" tissues and organs)
- implant scaffold + cells and let the tissue grow *in vivo*
- seed the scaffold, culture the cells awhile, then implant
- implant a scaffold without cells and let the body's cells populate it

Posso impiantare solo lo scaffold → recluta le cellule dei tessuti circostanti o nella circolazione sanguigna. ²⁰

Implantation of a synthetic scaffold without cells...



TISSUE ENGINEERING

Current status

- No one has yet employed Tissue Engineering methods to fully regenerate any tissue that does not have the capability for spontaneous regeneration (many examples of bone regeneration):
 - INTEGRA skin has no hair or glandular structures and its architecture is close but not identical to normal skin
 - CARTICEL cartilage is different from articular cartilage → poco vascolarizzata
- Experience taught us that full regeneration may not be necessary to achieve a meaningful clinical result (e.g. pain relief, recovery of function, esthetics)
- How close to full regeneration is good enough?

Tessuti → PELLE = sottile
↳ CARTILAGINE = avascolarizzata

ELEMENTS* OF TISSUE ENGINEERING/ REGENERATIVE MEDICINE

- **MATRIX (SCAFFOLD)**
 - Porous, absorbable synthetic (*e.g.*, polyglycolic acid) and natural (*e.g.*, collagen) biomaterials
- **CELLS (Autologous or Allogeneic)**
 - Differentiated cells of same type as tissue
 - Stem cells (*e.g.*, bone marrow-derived)
 - Other cell types (*e.g.*, dermal cells)
- **REGULATORS**
 - Growth factors or their genes
 - Mechanical loading
 - Static versus dynamic culture (“bioreactor”)

* Used individually or in combination, but often with a scaffold)

26

- CELLULE → scegliere quelle + adatte
- MATERIALE SCAFFOLD
- TECNICHE PROGETTAZIONE SCAFFOLD } scegliere
- AGENTI REGOLATORI → inclusi nella strategia x aiutare le cellule:
 - molecole aderenti
 - molecole solubili (Fdc)
- + STIMOLAZIONI MECCANICHE a scelta con cui far funzionare il B.

CELLS FOR TISSUE ENGINEERING/REGENERATIVE MEDICINE

- **Autologous (from same individual)**
 - Differentiated cells of same or other tissue type
 - Stem cells (adult)
- **Allogeneic (from another individual)**
 - Same as above
 - Fetal stem cells
 - Embryonic stem cells

Major tissues and organs in the body -- Ranked by "Challenge"

Earliest successes	↑	Bone	Regenerative potential
		Cartilage	Some success
		Skin	Some success
		Cornea	Human trials
		Bladder & genitourinary	Human trials
		Esophagus and gut	Cells can reorganize
		Blood vessel	Long history
		Heart valve	Simple cells but mechanics
		Teeth	Some hints of possibility
		Nerve (spine repair)	Rewiring is a challenge
		Liver	Regenerative only <i>in vivo</i>
		Pancreas	difficult
		Kidney	complex
Most Challenging	↓	Heart	No regenerative potential

■ Vital organ

Which Tissues Can Regenerate Spontaneously?

	Yes	No
Connective Tissues		
• Bone	✓	
• Articular Cartilage, Ligament, Intervertebral Disc, Others		✓
Epithelia (e.g., epidermis)	✓	
Muscle		
• Cardiac, Skeletal		✓
• Smooth	✓	
Nerve		✓

Facile da rigenerare
x si rigenera spontaneamente

hanno scarse capacità rigenerative, ma contengono cuiq cellule staminali: → potenzialmente possono!
BASSO TURNOVER

- valutare il tessuto da rigenerare

CELL-MATRIX INTERACTIONS REQUIRED FOR TISSUE ENGINEERING

Connective Tissues (Musculoskeletal)	Mitosis ¹	Migration ²	Synthesis ³	Contract. ⁴
Bone	+	+	+	+
Articular Cartilage	-	-	-	+
Ligament/Tendon	+	+	?	+
Intervertebral Disc	?	?	?	+
Meniscus	?	?	?	+

¹ Inadequate mitosis requires exogenous cells.

² Inadequate migration may require a scaffold.

³ Inadequate biosynthesis require growth factors or their genes.

⁴ Contraction ?

32

se un tessuto si rigenera facilmente:

- vanno in MITOSI → si duplicano
- migrano → possono colonizzare lo scaffold
- producono fattori di crescita

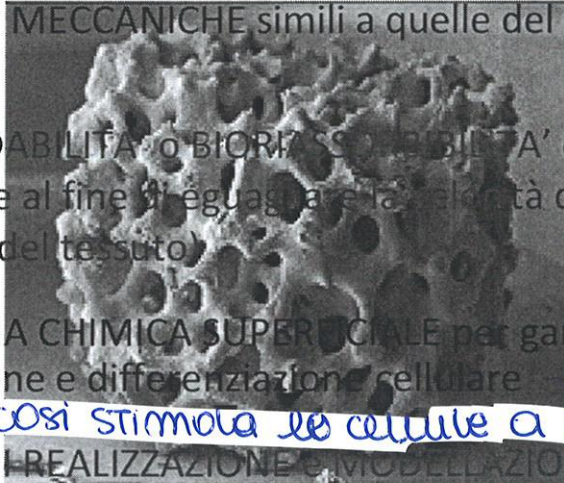
- X l'osso posso usare anche solo scaffold senza cellule → e' sufficiente a stimolare la rigenerazione del tessuto
- CARTILAGINE → non si rimargina, non serve uno scaffold senza cellule, → scaffold cellularizzato e dovrebbe rilasciare FdC → + complesso. Analizzando la natura del tessuto posso capire quale s. usare.

CARATTERISTICHE SCAFFOLD

- STRUTTURA TRIDIMENSIONALE MOLTO POROSA con network di pori tale da permettere la crescita delle cellule/tessuto ed il trasporto di nutrienti e rifiuti metabolici → *porosità INTERCONNESSA poro compatibili con il ϕ delle cellule del tessuto.*

- PROPRIETA' MECCANICHE simili a quelle del tessuto nel sito di impianto

- BIODEGRADABILITA' o BIORISORBIABILITA' con tasso controllabile al fine di eguagliare la velocità di crescita cellulare (o del tessuto) *deve essere sostenuto dalla MEC*



- OPPORTUNA CHIMICA SUPERFICIALE per garantire l'adesione, proliferazione e differenziazione cellulare → *materiale deve essere BIATTIVO, così stimola le cellule a proliferare.*
- FACILITA' DI REALIZZAZIONE E MODELLAZIONE

al fine di ottenere scaffold di varie forme e dimensioni e buona riproducibilità! 36

- PORI permettono di generare i vasi → *deve avere porosità bimodale* → GRANDI (100 - 500 μm)
per i nutrienti e le cellule del tessuto
↓
PICCOLI (10 - 20 μm)
x la vascolarizzazione.
Si formano da quelle epiteliali, moltopiccole

- PR. MECCANICHE dipendono dal tipo e dalla struttura dello S. → se le cellule native non trovano differenze con lo S., lo integrano meglio.

Nella TE in vivo, si rischia che venga schiacciato dagli altri tessuti se non è resistente. Se è troppo resistente, è troppo rigido → riconosciuto come CORPO ESTRANEO → capsula fibrotica → APOPTOSI

MATERIALI PER SCAFFOLD

- SINTETICI ORGANICI:
 - Poliidrossiesteri (polilattico, poliglicolico)
 - Poliuretani.....
 - Poliamminoacidi
- SINTETICI INORGANICI:
 - Idrossiapatite
 - Tricalciofosfato
 - ceramiche
- ORGANICI DI ORIGINE NATURALE:
 - proteine (collagene, fibrina)
 - Polisaccaridi (acido ialuronico, alginato)
- INORGANICI DI ORIGINE NATURALE:
idrossiapatite corallina

MATERIALI SINTETICI:

- elevata resistenza
- Degradazione controllata
- microstruttura e permeabilità controllabili durante la produzione

MATERIALI NATURALI:

- generalmente inducono reazioni positive da parte delle cellule

38

- sono prodotti con particolari caratteristiche

- già presenti nella MEC. Sono materiali biomimetici, comunicano con le cellule → BIOATTIVI.
- gonfiano, si sciolgono devono essere reticolati x essere stabilizzati.

COMBINAZIONE

mi' scele

rivestimento di sintetici con naturali

SVILUPPO DEL TESSUTO

- Sulle cellule di un tessuto in fase di sviluppo intervengono un'ampia varietà di regolatori durante la loro ontogenia: questi eventi sono mediati da interazioni **recettore-ligando**, e sono necessari per stimolare la proliferazione e/o la motilità cellulare.
- **Le interazioni cellulari sono di tre tipi:**
 - cellula-cellula,**
 - cellula-fattori di crescita**
 - cellula-matrice extracellulare.**
- **La molteplicità di interazioni tessuto-cellula richiede la presenza di recettori sia per mediare l'adesione cellulare, sia per trasmettere segnali intracellulari da altre cellule, fattori di crescita e/o matrice extracellulare.**

Tissue Engineering in vitro della vescica

(2006)

problemi vescica e reni

- The new study involved seven children and young adults, age 4 to 19, with spina bifida, a serious birth defect of the spinal cord. Because of misconnections in the nerves to the bladder, many such patients experience urinary pressure, which causes life-threatening kidney damage.
- For decades, surgeons have crafted various bladder stand-ins, often using intestinal tissue. But complications are common, including leakage, infections, stones in the bladder and bone loss - in part because the transplanted intestinal tissue absorbs rather than excretes various waste compounds.
- Colon cancers have also recently begun to emerge in some patients with intestinal-tissue bladders, a worrisome trend that has invigorated the search for alternatives.
- The bladder is a living sac made of three tissue layers: muscle on the outside, a specialized "urothelium" lining on the inside and collagen, a connective tissue protein, in between.
- They then seeded those cells onto spongelike biodegradable "scaffolds" made of synthetic polymer and collagen. Each scaffold was custom-designed to fit inside the patient.
- Over about seven weeks in an incubator, the cells colonized the scaffold -- urothelium inside and muscle out. Surgeons then stitched the bladders into place just above the patients' old ones. There the organs continued to grow and reconfigure themselves ⁴²

↓
miglioramento funzionale
spina bifida

Tissue Engineering in vitro delle vie aeree (2008) Trachea

November 2008

<http://news.bbc.co.uk/2/hi/health/7735696.stm>

Scientists in Spain have carried out the world's first tissue-engineered whole organ transplant - a windpipe - made with a patient's own stem cells. Five months on the patient is in perfect health, The Lancet reports.



After four days of growth in the lab in a special bioreactor, the newly-coated donor windpipe was ready to be transplanted

44

Tissue Engineering in vitro delle vie aeree (2008)

- To make the new airway, the doctors took a donor windpipe, or trachea, from a patient who had recently died
- Then they used strong chemicals and enzymes to wash away all of the cells from the donor trachea, leaving only a tissue scaffold made of the fibrous protein collagen: decellularised trachea from a recently died person(= scaffold)
- Two types of cell were taken from the patient (autologous cells): cells lining her windpipe, and adult stem cells - very immature cells from the bone marrow - which could be encouraged to grow into the cells that normally surround the windpipe
- After four days of growth in the lab in a special rotating bioreactor, the newly-coated donor windpipe was ready to be transplanted

Commercial (and clinical) reality?

The regeneration of teeth primordia using bone marrow cells

Odontis was a UK based dental company started by Professor Paul Sharpe. The company was focused on a technology of treating dental problems by using **stem cells**.

The idea was to use stem cells to grow new teeth that could replace missing teeth. The new tooth would be alive and nearly identical to the one that is missing.

The technology has a huge potential as it will enable to maintain healthy teeth virtually during entire lifetime. The new teeth of the patient will be exactly the same as his own. This will make possible to **avoid many problems that we are currently facing with artificial implants**.

In 2004 the company claimed to have achieved the first promising results in experiment with a mouse. The scientists have successfully implanted stem cells into a gum of a mouse and managed to grow a new tooth.

Bone marrow cells may be employed to generate teeth without the need for purification and expansion of a population of cells. The group of British scientists claim that they have figured out a way to make dentures obsolete, with the power of stem cells. Simply put, stem cells taken from a patient will be used to grow a bunch of cells that will grow into a tooth. The cells will then be implanted in an incision in the patient's gum. Even more amazing, the process of "nudging" the stem cells to turn into a "ball of cells" that will in turn become a tooth supposedly takes only two weeks. The scientists have formed a company, Odontis, to capitalize on their technique, and they are calling their (potential) product the BioTooth.

50

Skin

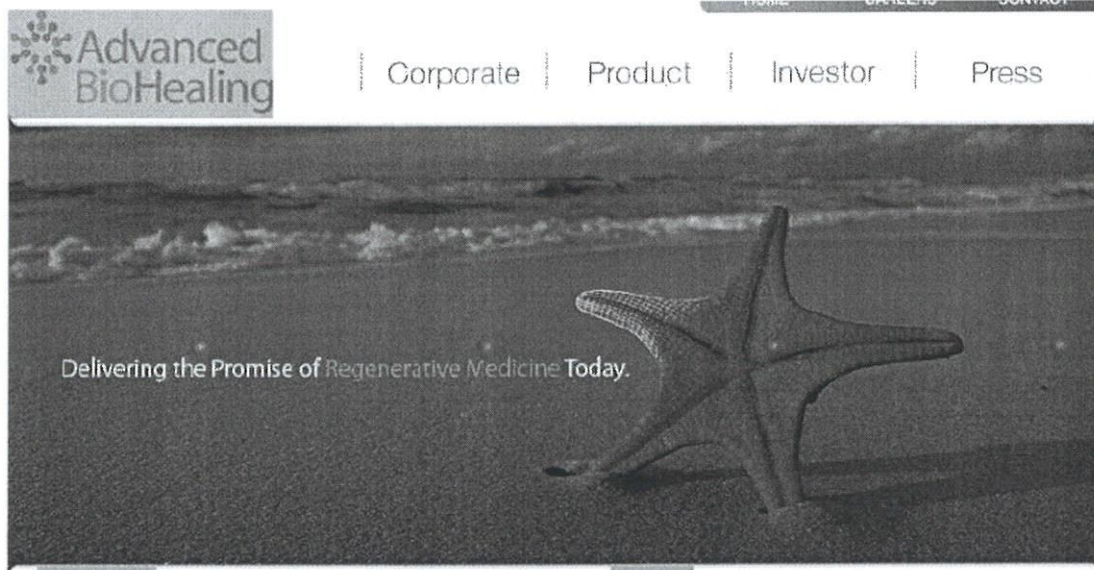


Dermagraft is a cryopreserved human fibroblast-derived dermal substitute; it is composed of fibroblasts, extracellular matrix, and a bioabsorbable scaffold.

Dermagraft is manufactured from human fibroblast cells derived from newborn foreskin tissue. During the manufacturing process, the human fibroblasts are seeded onto a bioabsorbable polyglactin mesh scaffold. The fibroblasts proliferate to fill the interstices of this scaffold and secrete human dermal collagen, matrix proteins, growth factors, and cytokines to create a three-dimensional human dermal substitute containing metabolically active, living cells.



52



Dermagraft®

vescica
vasi sanguigni
tratto gastrointestinale

tengion Regenerative medicine brought to life.

Home About Us Our Technology Library Careers Contact

Scientific Development of Tengion's Products

Through its unique and integrated technology platform, Tengion is researching and developing products that will transform the treatment of organ and tissue impairment, failure and loss. The Company's plan is to develop, manufacture, and market a pipeline of autologous neo-organs and neo-tissues. The Company's portfolio currently consists of products in various stages of development.

Tengion is actively working with the Food and Drug Administration, but is not currently recruiting patients.

Lead Product: Autologous Neo-bladder

The Company's lead product is the urinary neo-bladder. Upon successful development and regulatory approval of this product, adults and children suffering from bladder impairment or failure due to congenital disorders, trauma, cancer and other diseases will have alternative treatments potentially offering them better outcomes and improved safety.

Publications
Product Pipeline
Potential Patients
Press

Patient's own normal cells with biomaterials to create a neo-organ or neo-tissue

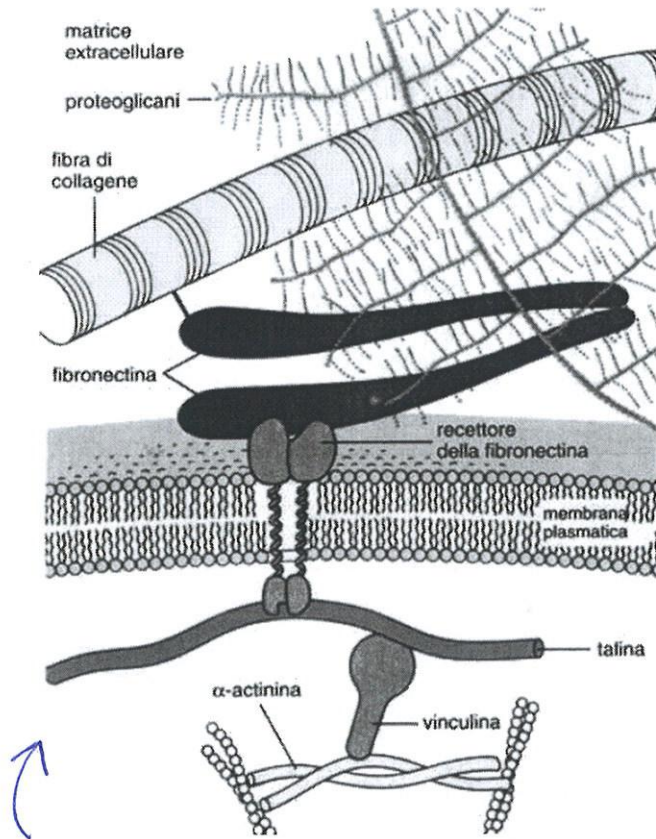
Tengion aims to transform the lives of patients in need of an organ transplant or augmentation by developing autologous neo-organs and tissues that harness the regenerative power of the patient's own healthy tissue, enabling it to restore vital functions.

Our patented technology combines the **patient's own normal cells with biomaterials to create a neo-organ or neo-tissue**, which restores or augments organ or tissue health, without using embryonic stem cells or donor tissue.

Tengion's technology has the potential to offer several major advantages over current best practice. Tengion neo-organs and tissues have the potential, once approved and commercially available, to:

- Regenerate native function and structure
- Avoid the risk of organ rejection
- Eliminate the burden and costs of immunosuppression
- Reduce or eliminate other adverse effects of existing procedures
- Provide meaningful clinical safety and efficacy advances versus existing alternatives
- Shorten surgical and recovery time
- Potentially reduce healthcare costs for organ failure while improving medical outcomes
- Improve quality of life for patients and their families

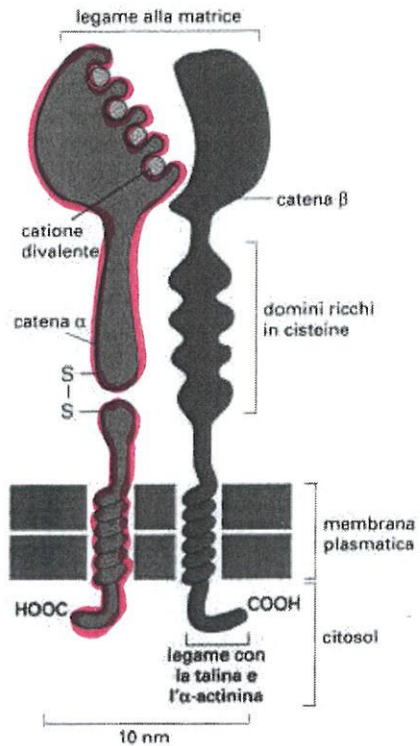
Interazione cellula-ECM: integrine



Grazie alla capacità della fibronectina di legare, oltre che le integrine, anche collagene e proteoglicani, si ottengono dei grandi complessi coordinati che possono stabilizzare le posizioni reciproche, ma anche dirigere le migrazioni cellulari

Tutta la EMC è collegata al citoscheletro di ogni singola cellula

Interazione cellula-ECM: integrine



Le integrine sono:

- glicoproteine della superficie cellulare, *transmembr.*
- si definiscono recettori a due vie (il segnale è trasmesso dalla ECM alla cellula e viceversa)
- Sono eterodimeri, formati da due subunità alfa e beta, non legate covalentemente e diverse tra loro
- Nella ECM sono in grado di legarsi a fibronectina, laminina, collagene ed altre proteine.
- L'attacco ai ligandi dipende da cationi divalenti specifici (Ca^{2+} o Mg^{2+} a seconda dell'integrina)

41

- La loro attivita' dipende dalla presenza di ioni
 - 24 integrine ≠ a seconda di α e β combinate
- 2 unita' diverse $\rightarrow \alpha$
 $\rightarrow \beta$*

Composizione della Matrice Extracellulare (ECM)

La matrice extracellulare (ECM), è una rete organizzata di materiali extracellulari presente nelle vicinanze della membrana plasmatica, gioca un ruolo chiave nel determinare la forma e le attività di una cellula.

- **Proteine strutturali:**
 - ✓ Collagene
 - ✓ Elastina
- **Proteine specializzate:**
 - ✓ Fibronectina
 - ✓ Laminina
- **Liquido intestiziale**
- **Glicosamminoglicani**
 - ✓ Acido Ialuronico
 - ✓ Condroitin Solfato
 - ✓ Eparina/eparan Solfato
 - ✓ Dermatan Solfato
 - ✓ Cheratan solfato
- **Proteoglicani**

La degradazione controllata di componenti della matrice aiuta le cellule a migrare

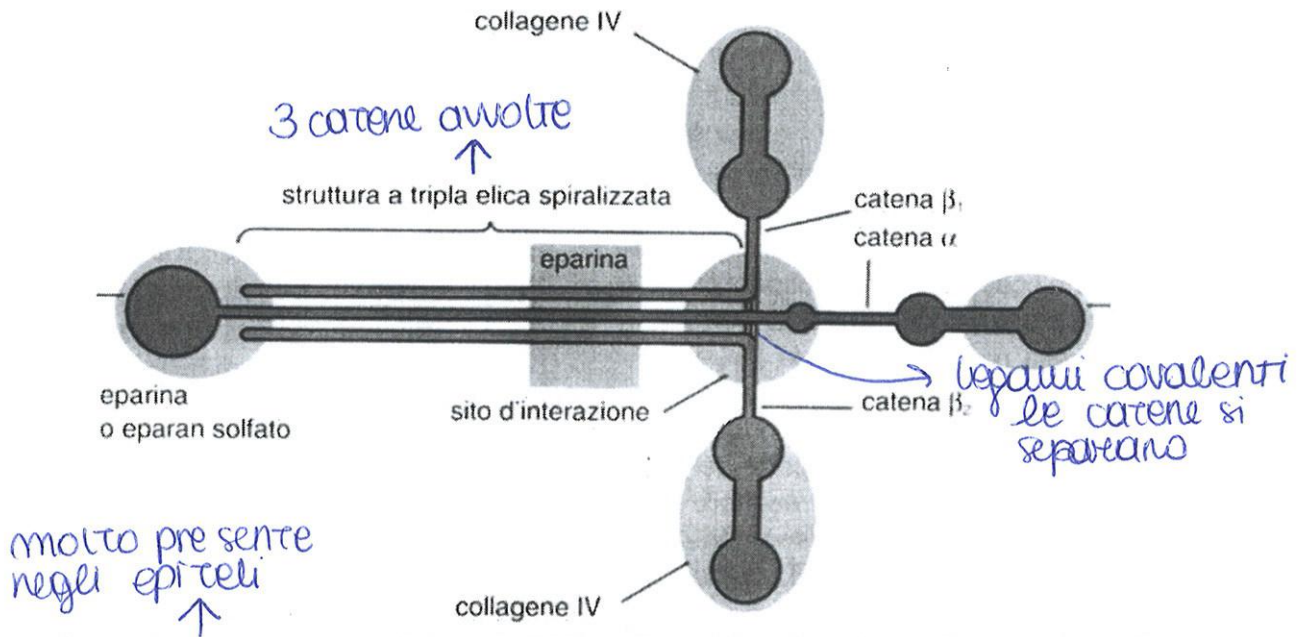
- Le molecole della matrice extracellulare, in generale, non sono statiche ma subiscono un certo ^{precisamente} turnover, per cui sono degradate e risintetizzate. Esiste anche la possibilità di una degradazione più localizzata quando è richiesta la migrazione delle cellule. Ciò avviene ad esempio quando i globuli bianchi devono migrare attraverso la lamina basale di un vaso sanguigno nei tessuti in risposta ad un'infezione.
- In ognuno di questi casi, i componenti della matrice extracellulare sono degradati da enzimi proteolitici extracellulari (proteasi) che sono secreti localmente dalle cellule. In particolare esistono due classi principali di proteasi: (i) le metalloproteasi della matrice (la cui attività è mediata da Ca^{2+} o da Zn^{2+}); (ii) le serina proteasi. Esse cooperano per degradare le proteine della matrice (collagene, laminina, fibronectina).
- La proteolisi di proteine della matrice può contribuire alla migrazione cellulare in diversi modi: (1) può aprire una strada attraverso la matrice; (2) può esporre siti critici sulle proteine tagliate che promuovono l'attacco della cellula; (3) può promuovere il distacco della cellula in modo che essa si muova in avanti; (4) può rilasciare proteine segnale extracellulari che stimolano la migrazione cellulare.

ENZIMI PROTEOLITICI → degradano le proteine della EMC → permettono il turnover della EMC.
Creano delle microporosità nella EMC x permettere il passaggio dei globuli bianchi nel caso di un'infezione
↓
DEMOLIZIONE LOCALIZZATA

Funzioni diversificate della lamina basale

1. Nel glomerulo renale, la lamina basale agisce da filtro molecolare, impedendo il passaggio di macromolecole dal sangue all'urina quando si forma l'urina: per questa funzione ha un ruolo fondamentale la componente proteoglicanica a base di eparan solfato.
2. La lamina basale può essere una barriera selettiva al movimento delle cellule. La lamina basale sotto l'epitelio ad esempio impedisce ai fibroblasti del tessuto connettivo circostante di prendere contatto con le cellule epiteliali. Non arresta però il passaggio dei macrofagi, dei linfociti, o dei processi nervosi.
3. E' anche importante nella rigenerazione tissutale dopo una ferita. Quando tessuti come nervi, epiteli e muscoli sono danneggiati, la lamina basale sopravvive e fornisce un'impalcatura lungo la quale possono migrare le cellule rigeneranti. In tal modo l'architettura originaria del tessuto può essere ricostruita. In alcuni casi, come nella pelle o nella cornea, la lamina basale si altera chimicamente dopo una ferita, arricchendosi di fibronectina, che promuove la migrazione cellulare necessaria alla guarigione della ferita.

Matrice extracellulare: laminina



La **LAMININA**, una glicoproteina della membrana basale, presenta siti di legame per cellule, proteoglicani e collagene. E' responsabile del **legame delle cellule epiteliali alla membrana basale**.

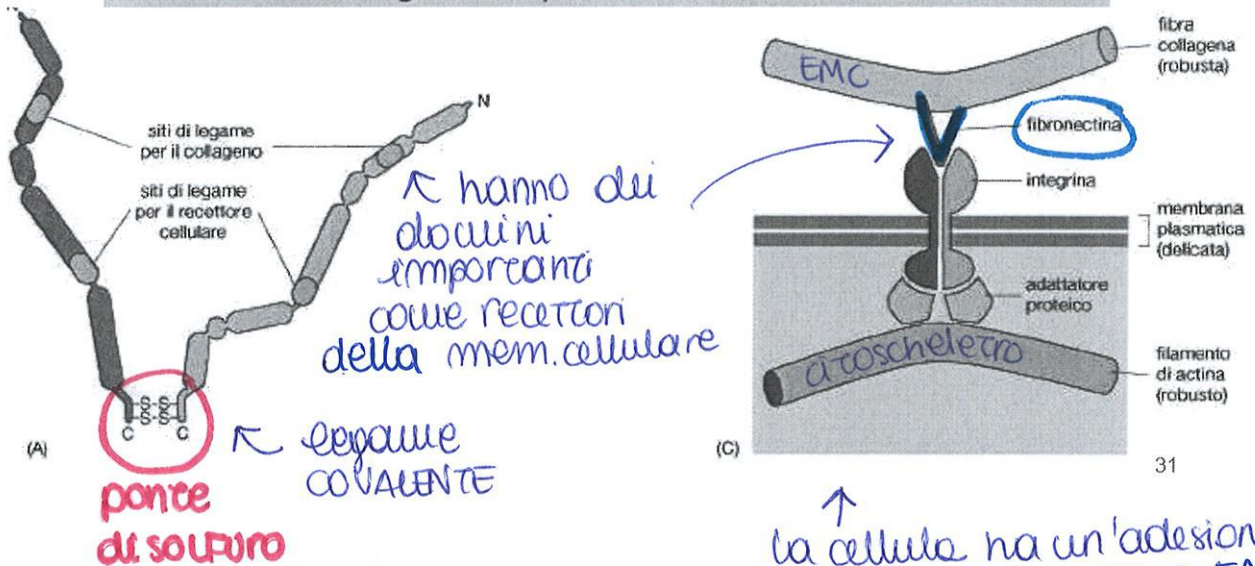
33

Interagiscono -tra di loro + con altre molecole della EMC (→ collagene, proteoglicani...)

PROTEINE DI ADESIONE CELLULARE

Matrice extracellulare: fibronectina

- La fibronectina è una glicoproteina dimerica formata da 2 catene polipeptidiche identiche di 220 KDa legate da ponti S-S
- E' presente nella matrice extracellulare e circolante
- E' una proteina adesiva multifunzionale
- Presenta omologie di sequenza interne



hanno dei domini importanti come recettori della mem. cellulare

legame COVALENTE
ponte di zolfo

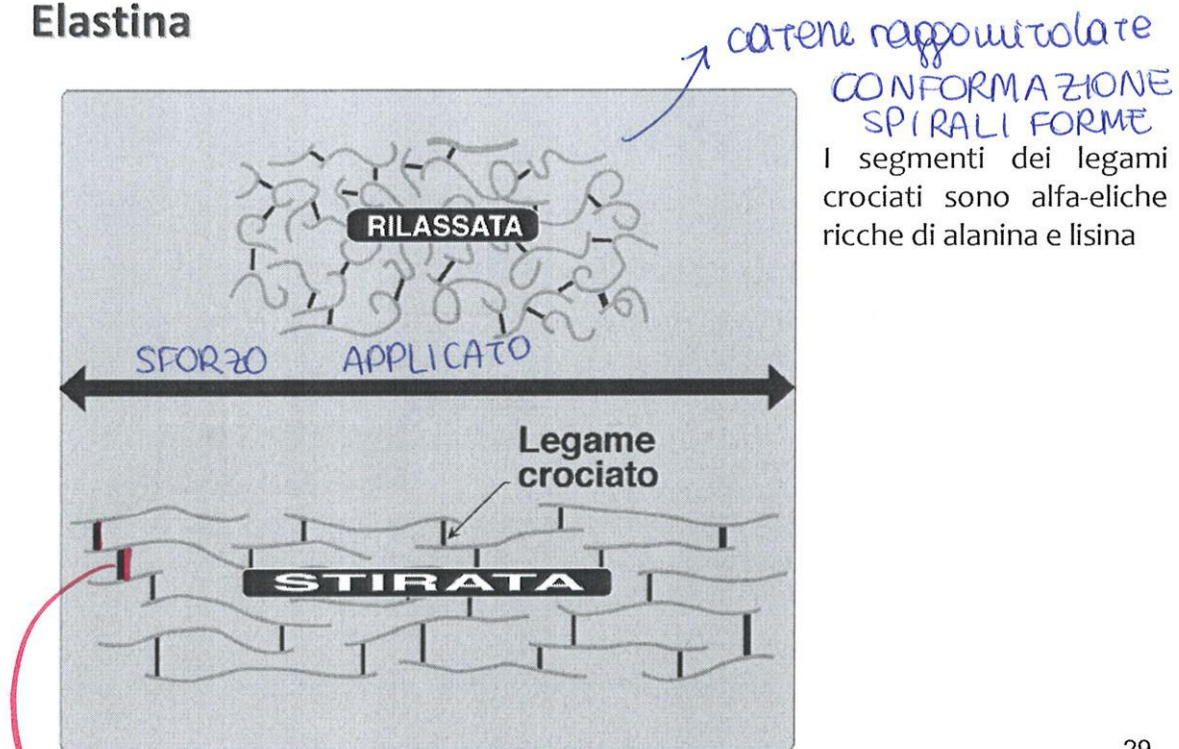
La fibronectina è libera nella EMC, quando la INTEGRINA si lega allora la cellula rimane aderente alla EMC

Presenta diversi tipi di SITI DI LEGAME, la cellula riconosce il sito RGD

la cellula ha un'adesione tra citoscheletro e EMC
CONNESSIONE strutturale e meccanica

Matrice extracellulare: proteine fibrose

Elastina



P. Champe, R. Harvey, D. R. Fetter, LE BASI DELLA BIOCHIMICA, Zanichelli Editore S.p.A. Copyright © 2006

29

legami CROCIATI → dopo l'allungamento non è possibile lo scorrimento. conferiscono caratteristiche ELASTICHE, in realtà VISCOELASTICHE = a metterle un po' a srotolarsi e a tornare alla forma iniziale
Elastina intrecciata con il COLLAGENE

Matrice extracellulare: proteine fibrose

Elastina

- La presenza di amminoacidi idrofobi e reticolazioni rende l'elastina insolubile
- La biosintesi di desmosina e di iso-desmosina è possibile solo in presenza di un enzima (lisil-ossidasi) che contiene rame (la deficienza di Cu nella dieta porta quindi ad un'elastina debole perché debolmente reticolata)
- Lo scheletro dell'elastina adotta una conformazione spiraliforme ad avvolgimento disordinato (random coil): questa struttura assieme alla reticolazione conferisce un comportamento (visco)elastico
- Le fibre dell'elastina sono più sottili di quelle del collagene, non sono organizzate in fasci ma formano estesi reticoli. Sono intrecciate con le fibrille di collagene che limitano le deformazioni e impediscono al tessuto di lacerarsi.