

FOLLICULAR UNITS-DERIVED PROGENITOR CELL COMPLEXES
(complessi di cellule progenitrici derivati da unità follicolari)

Tecnica di rigenerazione dermica tramite disaggregazione di unità follicolari per l'ottenimento ed il reinnesto di complessi cellulari contenenti cellule progenitrici

Prefazione:

L'80% degli uomini caucasici manifesta prima dei 70 anni l'insorgere di alopecia androgenetica a diversi stadi di gravità.

Gli attuali trattamenti per l'alopecia androgenetica (AGA) prevedono l'impiego di inibitori farmacologici dell'enzima 5 alfa reduttasi II – finasteride- , di stimolatori dell'anagen e del trofismo vascolare – minoxidil- ed il trapianto di capelli per quanto riguarda l'approccio chirurgico.

Ad ogni modo tali opzioni terapeutiche, vista l'eziologia multifattoriale dell'AGA non sempre consentono il raggiungimento dei risultati auspicati dal paziente, e l'impossibilità per taluni pazienti di sottoporsi a terapie che prevedano l'assunzione di principi farmacologici o la volontà di taluni di non assumerli pone lo specialista molte volte nell'impossibilità di perseguire il risultato clinico ambito.

Nell'ultimo decennio diversi approcci terapeutici che riguardano l'applicazione di metodiche di medicina rigenerativa al campo della dermatologia sono stati sviluppati, e a partire da Ottobre 2017 saremo in grado di proporre un trattamento all'avanguardia che rispetta i criteri di terapia cellulare con “minima manipolazione” stilati dalla regolamentazione Europea (Regulation n. 1394/2007 of the European Parliament (EC) and of the Council 13 November 2007 on medicines for advanced therapies).

I criteri di minima manipolazione cellulare si basano sull'assunto che “ la stessa funzione essenziale per una popolazione cellulare significa che le cellule, quando rimosse dal loro ambiente d'origine nel corpo umano, sono utilizzate per mantenere la loro funzione originaria nella stesso ambiente anatomico o istologico”.

Tramite un singolo “atto chirurgico”, minima manipolazione, utilizzo monofunzionale delle cellule “utilizzate per la stessa funzione essenziale nella zona ricevente così come nella donatrice”, ed una manipolazione con un dispositivo in condizioni di asepsi, siamo quindi in grado di adottare un approccio estremamente conservativo che sulla base di recenti studi clinici dimostra una buona potenzialità di aumento della densità dei capelli con assenza di effetti collaterali. [1]

In cosa consiste la tecnica?

La tecnica FU-DPCC (Follicular Units Derived Progenitor Cells' Complexes), basata sulla disaggregazione delle unità follicolari per l'ottenimento ed il reinnesto di complessi cellulari contenenti cellule progenitrici, consiste nel prelievo del follicolo pilifero nel suo complesso tramite tecnica FUE (Follicular Unit Extraction) e nell'inserimento di tale organo in un innovativo device caratterizzato da una griglia immobile in acciaio inox con circa 100 fori esagonali; intorno ad ogni foro ci sono 16 microlame progettate per il taglio efficiente dei tessuti duri e molli.

Una volta inserite le unità follicolari nel dispositivo, viene quindi addizionato uno specifico volume di soluzione fisiologica sterile o plasma ricco di piastine –PRP- .

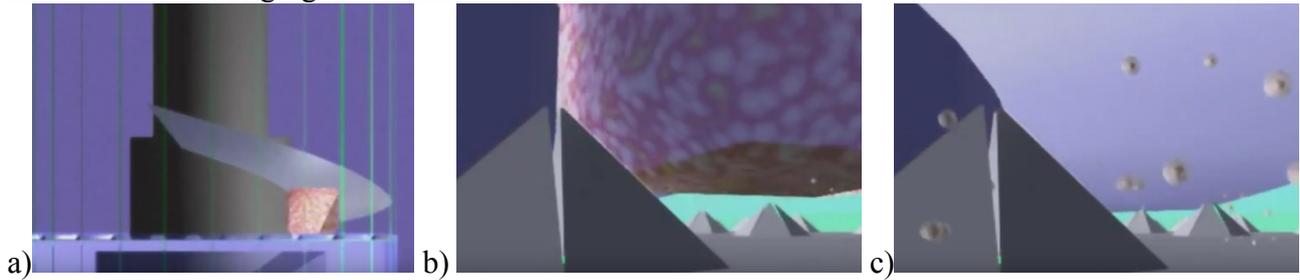
A questo punto la griglia contenente le lame a cuspidi ruota con una velocità di 80 rpm (processando il tessuto tramite una disaggregazione meccanica), ed avviene in questa fase la selezione morfologica delle cellule, garantita dalla presenza di microfori del diametro di 50 µ m, al di sotto dei quali precipitano tutte le componenti cellulari aventi una dimensione inferiore.

Una volta terminata la fase di disgregazione del tessuto ciò che otteniamo è una sospensione cellulare, la quale viene immediatamente infiltrata tramite mesoterapia nella zona ricevente del paziente, ossia quella che lo specialista diagnostica come soggetta a miniaturizzazione dei follicoli, rispettando i principi base dell'omologia tissutale.

Gli aghi utilizzati sono dei classici aghi da mesoterapia, con una lunghezza di appena 4 mm (per il raggiungimento del derma profondo) ed un diametro di 30G, pari a quello di un ago da insulina.

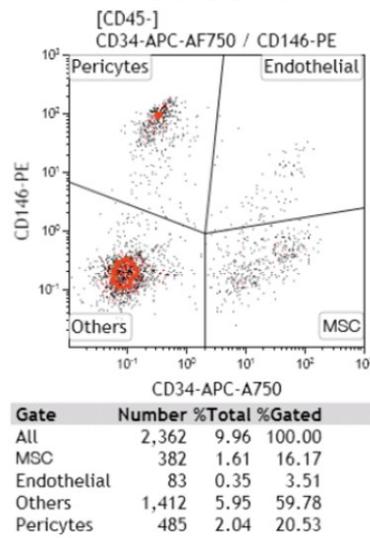
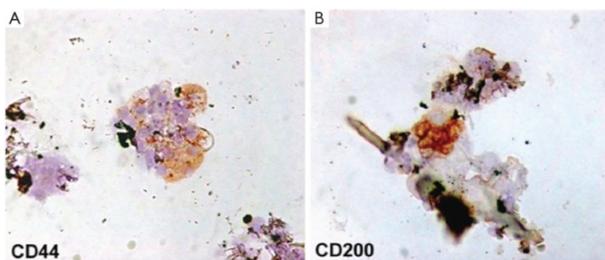
Descrizione scientifica illustrata di ciò che avviene durante la disgregazione delle unità follicolari:

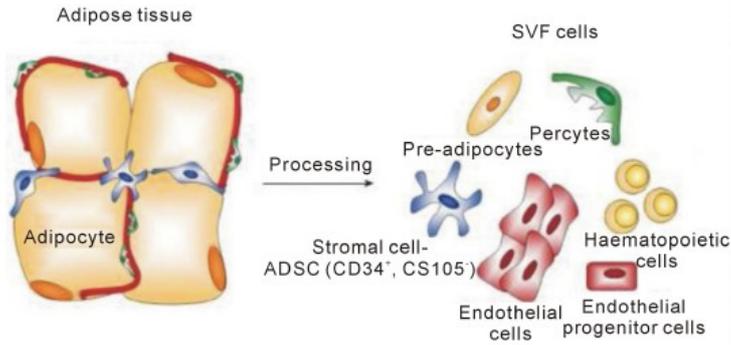
Illustrazione del disgregatore tissutale in azione:



- a) tramite una lama elicoidale il frammento di tessuto prelevato dal paziente viene portato a contatto con le lame a cuspidate presenti sulla griglia
- b) avviene la disgregazione e selezione morfologica delle cellule
- c) le cellule precipitano al di sotto della griglia caratterizzata da una selettività di 50 µ m

I complessi di cellule progenitrici così ottenuti sono caratterizzati da una popolazione cellulare che presenta cellule staminali CD 44+ (derivanti dalla papilla dermica) di origine mesenchimale e cellule staminali CD200+ (derivanti dal bulge) di origine epiteliale. Vi è inoltre una ricca presenza di fibroblasti, e di cellule epidermiche (cellule epiteliali e melanociti) [1] [3] [4]

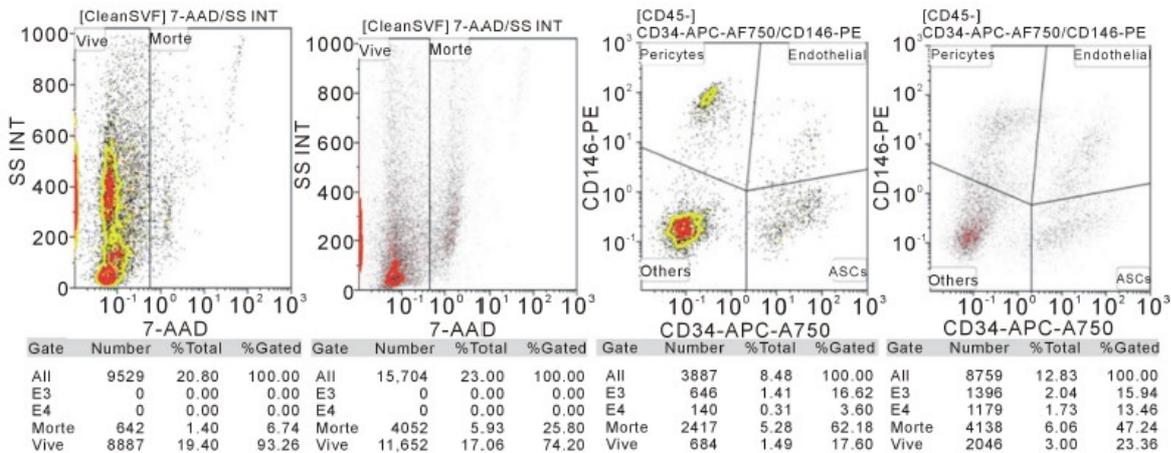




Un'altra importante caratteristica del prodotto ottenuto è l'alta vitalità delle cellule ricavate, dimostrata da diversi studi clinici in vitro. Tale vitalità è stata dimostrata essere del 90%, cifra da considerarsi molto elevata e dovuta ai veloci (2 min) tempi di processazione del tessuto. [2] Con l'impiego di metodiche precedenti a quella da noi utilizzata, il tasso di vitalità cellulare era estremamente ridotto, e ciò era dovuto all'esecuzione dei seguenti step:

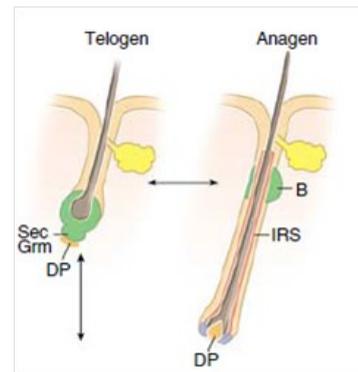
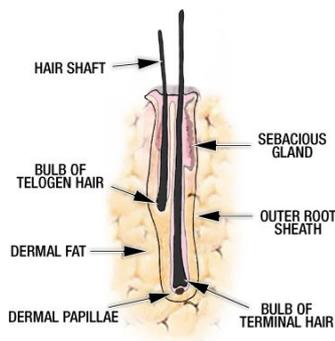
- 1) Taglio chirurgico del tessuto donatore in campioni di 1 mm di spessore/grandezza
- 2) Digestione enzimatica/chimica o disagregazione manuale
- 3) Filtraggio

che aumentavano considerevolmente il tempo di permanenza delle cellule al di fuori del proprio ambiente.



La presenza di queste cellule può dar luogo a fenomeni di rigenerazione del tessuto in cui sono immersi i follicoli, plausibilmente ripristinando il network vascolare (grazie all'attività di cellule endoteliali e periciti) alterato a seguito dell'innesco di una cascata di segnali causata dal legame del diidrotosterone (DHT) ai recettori agli androgeni (AR) nei soggetti geneticamente predisposti. Anche l'attività di fibroblasti perfettamente attivi e di cellule progenitrici quali quelle presenti nelle nicchie staminali del follicolo pilifero porta a sostenere tramite la loro attività metabolica la normale fisiologia del follicolo.

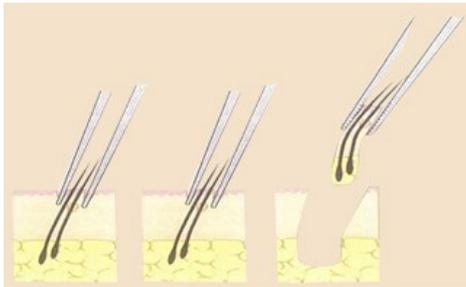
Il fatto di poter prelevare tramite lo stesso approccio della metodica FUE, con un punch da 0,7 – 0,8 mm, unità follicolari e poterne ricavare le componenti cellulari caratterizzate da staminalità, come le cellule mesenchimali della papilla dermica, le cellule staminali presenti nel germe secondario, e del bulge



rappresenta un potenziale indubbiamente interessante, vista la durata dell'innesto di suddette cellule nell'area ricevente e la possibilità di interazione fra i diversi tipi cellulari.

Gli step del protocollo FU-DPPC:

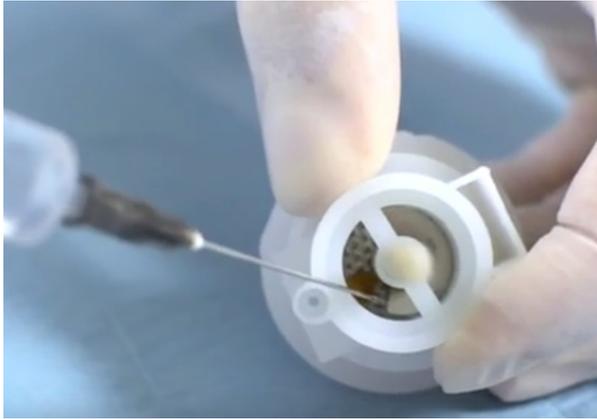
- 1) Prelievo di un numero variabile da 10 a 20 unità follicolari tramite metodica FUE (a seconda dell'estensione dell'area da trattare)



- 2) Inserimento nel kit del tessuto da processare



- 3) aggiunta di soluzione fisiologica o PRP alle micro-graft (in caso di aggiunta di PRP il paziente deve sottoporsi anche ad un prelievo di sangue)



4) procedendo all'infiltrazione della sospensione cellulare ottenuta tramite mesoterapia.



Risultati:

Tale protocollo deve ancora definirsi sperimentale, anche se i risultati preliminari hanno descritto su di un campione di 11 pazienti un aumento del $29\% \pm 5\%$ di aumento della densità follicolare nell'area trattata a confronto di meno dell' 1% nelle aree trattate con placebo (soluzione salina). [1]

Bigliografia:

[1] GENTILE, Pietro, et al. Stem cells from human hair follicles: first mechanical isolation for immediate autologous clinical use in androgenetic alopecia and hair loss. *Stem Cell Investigation*, 2017, 4.

[2] ZANZOTTERA, Federica, et al. Adipose derived stem cells and growth factors applied on hair transplantation. Follow-up of clinical outcome. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications*, 2014, 4.04: 268.

[3] TROVATO, Letizia, et al. A New Medical Device Rigeneracons Allows to Obtain Viable Micro - Grafts From Mechanical Disaggregation of Human Tissues. *Journal of cellular physiology*, 2015, 230.10: 2299-2303.

[4] PURPURA, Valeria, et al. Tissue characterization after a new disaggregation method for skin micro-grafts generation. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, 2016, 109: e53579-e53579.