

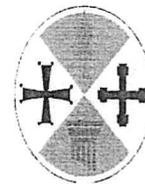


SERVIZIO
SANITARIO
REGIONALE



GRANDE OSPEDALE
METROPOLITANO
"Bianchi Melacrino Morelli"

Reggio Calabria



REGIONE CALABRIA

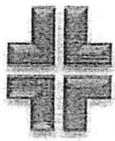
Dipartimento Tutela della Salute
e Politiche Sanitarie

U.O.C. DERMATOLOGIA

Direttore: Dott.ssa Giovanna Malara

PROTOCOLLO OPERATIVO PER APPLICAZIONE CLINICA
DI PRP AUTOLOGO O ALLOGENICO IN PAZIENTI DERMATOLOGICI

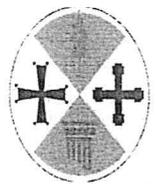
Rev.	0	
Data	8/01/2018	
Redazione	D.ssa G. Malara, UOC Dermatologia	
	Dott. A. Trimarchi, UOC SIMT	
	D.ssa G. Pucci, UOSD Banca cordone	
Verifica	Responsabile UOSD Governo Clinico e Risk Management	
Approvazione	Direttore Sanitario Aziendale	



SERVIZIO
SANITARIO
REGIONALE



GRANDE OSPEDALE METROPOLITANO
“Bianchi Melacrino Morelli”
Reggio Calabria



REGIONE CALABRIA

*Dipartimento Tutela della Salute
e Politiche Sanitarie*

U.O.C. DERMATOLOGIA
Direttore: dott.ssa Giovanna Malara

Tel. 0965397344 - fax 0965397341

PROTOCOLLO OPERATIVO PER APPLICAZIONE CLINICA
DI PRP AUTOLOGO O ALLOGENICO IN PAZIENTI DERMATOLOGICI

U.O. coinvolte: UOC Dermatologia, G.O.M. “Bianchi-Melacrino-Morelli”

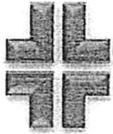
UOSD Calabria Cord Blood Bank, G.O.M. “Bianchi-Melacrino-Morelli”

UOC SIT, G.O.M. “Bianchi-Melacrino-Morelli”

Il presente Protocollo Operativo regola la produzione di concentrato piastrinico allogenico e autologo effettuata presso la Calabria Cord Blood Bank, per l'applicazione clinica in pazienti dermatologici seguiti presso l'UOC Dermatologia.

INTRODUZIONE

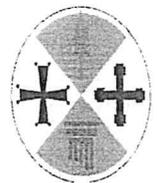
La Calabria Cord Blood Bank, unica banca cordonale della Regione Calabria, produce concentrato piastrinico autologo, allogenico e da sangue cordonale per uso non trasfusionale. In questo caso, vengono utilizzate le unità cordonali non idonee al bancaggio per uso trapiantologico per cellularità insufficiente, aderendo al Protocollo Nazionale di ricerca finalizzata “In vitro and in vivo studies on a new blood component: plated gel from cord blood”, coordinato dal Centro Nazionale Sangue (CNS). Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico della A.O. “Bianchi-Melacrino-Morelli” nella seduta del 18/11/2014, come da Delibera del Direttore Generale n° 1628/2014 e ha visto coinvolto, oltre la Banca cordonale, l'UOC di Chirurgia Vascolare, per la parte relativa all'applicazione clinica.



S ERVIZIO
S ANITARIO
R EGIONALE



GRANDE OSPEDALE METROPOLITANO
"Bianchi Melacrino Morelli"
Reggio Calabria



REGIONE CALABRIA

Dipartimento Tutela della Salute
e Politiche Sanitarie

La produzione del concentrato piastrinico è continuata dopo la conclusione del Protocollo, come da indicazione del CNS e rete ITCBN.

L'utilizzo degli emocomponenti ad uso non trasfusionale risponde a criteri di appropriatezza stabiliti sulla base delle evidenze scientifiche consolidate disponibili secondo DM 02/11/2015 "Disposizioni relative ai requisiti di qualità e sicurezza del sangue e degli emocomponenti".

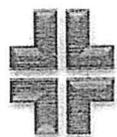
Per emocomponenti per uso non trasfusionale si intendono gli emocomponenti allogenici o autologhi da utilizzarsi non a fini di trasfusione, le cui modalità di applicazione sono:

- l'impiego su superfici cutanee o mucose (uso topico);
- l'infiltrazione intra-tissutale
- quale materiale da applicare localmente in sedi chirurgiche, da solo o addizionato con materiale biologico non cellulare (ad esempio tessuto osseo di banca) o con dispositivi medici;
- quale materiale da utilizzare "in vitro", nell'ambito di procedure di laboratorio, per studi clinici approvati secondo la normativa vigente.

Per come previsto dal DM citato, gli emocomponenti per uso non trasfusionale possono essere ottenuti da prelievo ematico in provetta, da prelievo e scomposizione di una unità di sangue intero, da prelievo in aferesi, da sangue contenuto nel cordone ombelicale risultato non idoneo all'impiego per trapianto di cellule staminali emopoietiche (come da Allegato X - DM 02/11/2015).

Gli emocomponenti per uso non trasfusionale sono indicati di seguito:

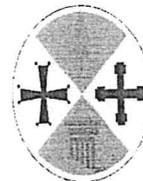
- **Concentrato piastrinico:** può essere usato fresco e dopo congelamento. In concomitanza alla produzione di concentrato piastrinico, può essere prodotta trombina quale componente accessorio del concentrato piastrinico.
- **Gel piastrinico:** si ottiene a partire dal concentrato piastrinico, lisato o non, previa attivazione del processo coagulativo con calcio e fattori pro-aggreganti biologici (trombina), ottenuto da sangue autologo/allogenico/cordonale. Nel corso della



SERVIZIO
SANITARIO
REGIONALE



GRANDE OSPEDALE METROPOLITANO
"Bianchi Melacrino Morelli"
Reggio Calabria



REGIONE CALABRIA

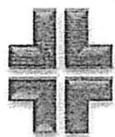
Dipartimento Tutela della Salute
e Politiche Sanitarie

formazione del coagulo le piastrine rilasciano numerosi fattori di crescita capaci di stimolare la replicazione di cellule mesenchimali come fibroblasti, osteoblasti e cellule endoteliali e di esercitare un'azione chemio tattica verso le cellule del sistema monocito-macrofagico. Pertanto, l'uso topico del gel piastrinico favorito dalle sue caratteristiche di plasticità e modellabilità alla sede di applicazione, favorisce ed accelera la riparazione tissutale sia cutanea sia ossea.

- **Colla di fibrina:** è prodotta a partire dal plasma, quale attivatore locale dei fenomeni coagulativi in sede chirurgica o quale supporto plastico in procedure chirurgiche.

Negli ultimi anni si sono sempre più sviluppati ed approfonditi gli studi sui fattori di crescita. Le nuove scoperte e la conoscenza dell'importanza e del ruolo di questi fattori hanno creato un crescente interesse per un loro possibile utilizzo terapeutico. Il termine "*fattore di crescita*" (spesso usato nella forma inglese "Growth Factor" – G.F.) si riferisce a proteine capaci di stimolare la proliferazione e la differenziazione cellulare. Il Concentrato Piastrinico è plasma arricchito in piastrine e può essere usato fresco e dopo congelamento. Comunemente indicato con l'acronimo PRP, è un **prodotto di derivazione ematica** studiato da numerosi anni in diverse branche della medicina, il cui razionale d'uso risiede nel fatto che le **piastrine, di cui è ricco il PRP, una volta attivate rilasciano numerose sostanze che promuovono la riparazione tissutale e influenzano il comportamento di altre cellule modulando l'infiammazione e la neoformazione di vasi sanguigni**. Le piastrine infatti, giocano un ruolo fondamentale nel mediare la guarigione del tessuto danneggiato grazie alla capacità di liberare fattori di crescita, tra i quali PDGF, EGF, TGF β , VEGF, IGF-1 e FGF. I granuli contenuti nelle piastrine sono anche una fonte di "citochine", "chemochine" e molte altre proteine variamente coinvolte nello stimolare proliferazione e maturazione cellulare, nel modulare l'infiammazione e attivare altre cellule regolando l'omeostasi tissutale ed i processi rigenerativi ^{1,2}.

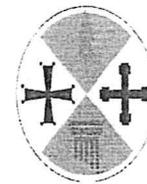
Il gel piastrinico deriva dall'attivazione, al momento dell'uso, del PRP mediate aggiunta di calcio gluconato, trombina o trombina più crioprecipitato in rapporto (vol/vol/vol) 5:1:1. La soluzione agitata delicatamente per qualche secondo, dopo 15-20 minuti diventa un composto gelificato e malleabile pronto per l'applicazione sulla lesione eventualmente in associazione a materiali biocompatibili ³. Questa attivazione determina



SERVIZIO
SANITARIO
REGIONALE



GRANDE OSPEDALE METROPOLITANO
"Bianchi Melacrino Morelli"
Reggio Calabria



REGIONE CALABRIA

Dipartimento Tutela della Salute
e Politiche Sanitarie

la gelificazione del prodotto (le proteine del plasma (fibrina) formano una trama proteica tridimensionale (coagulo) di consistenza variabile) e il rilascio graduale dei fattori di crescita⁴.

La preparazione del gel piastrinico, effettuata presso il Laboratorio della Calabria CBB rispetta le "Raccomandazioni SIMTI (Società Italiana di Medicina Trasfusionale e Immunoematologia) sugli emocomponenti per uso non Trasfusionale" ed il DM del 2/11/2015, in cui vengono definite le caratteristiche che deve avere il concentrato piastrinico⁵.

Recenti scoperte sulle molteplici proprietà biologiche del sangue del cordone ombelicale e il suo elevato livello di sicurezza (sul prodotto finito si effettuano gli esami di validazione biologica previsti dalla legge) hanno spinto la comunità scientifica ad indagare sulle caratteristiche delle sue piastrine e la possibilità di produrre **gel piastrinico dal sangue del cordone ombelicale – Cord Blood Platelet Gel (CBPG)**. Diversi studi mostrano che il CBPG rilascia elevati livelli di vascular endothelial growth factor (VEGF), platelet-derived growth factor BB (PDGF-BB), notevoli quantità di fibroblast growth factor (FGF), hepatocyte growth factor (HGF) e di transforming growth factor beta 1 (TGFbeta1) e minime quantità di PDGF-AB.

Questi risultati confermano che il CBPG può essere uno strumento preferibile per applicazioni di ingegneria tissutale dove alti livelli di VEGF e PDGF possono essere auspicabili⁶⁻⁷.

RAZIONALE

Dermatologia

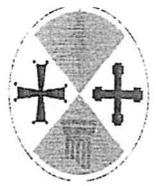
Le metodiche basate sull'utilizzo del Plasma Ricco di Piastrine si sviluppano a partire dagli anni '70 e rappresentano una delle branche più promettenti della ricerca, soprattutto per quanto riguarda la rigenerazione dei tessuti. Già ampiamente utilizzato per la cura dei pazienti vittime di ustioni, le metodiche basate sul PRP oggi hanno ampliato il proprio campo d'applicazione in vari ambiti specifici⁸.



SERVIZIO
SANITARIO
REGIONALE



GRANDE OSPEDALE METROPOLITANO
"Bianchi Melacrino Morelli"
Reggio Calabria



REGIONE CALABRIA

Dipartimento Tutela della Salute
e Politiche Sanitarie

Per quel che concerne la branca della dermatologia di seguito alcuni tra i maggiori campi di applicazione del PRP:

• ULCERE CRONICHE

ALOPECIA AREATA

ALOPECIA ANDROGENICA/DEFLUVIUM

LICHEN SCLEROATROFICO

LIPOSCLEROMERMA

CICATRICI CUTANEE (POST ACNE, DA USTIONE)

STRIAE DISTENSAE

ULCERE CRONICHE

Per lesione cronica in genere si intende una lesione che non guarisce e non progredisce attraverso le normali fasi della guarigione quali infiammazione, proliferazione, rimodellamento.

Le ulcere croniche più comuni includono le ulcere dell'arto inferiore, le ulcere diabetiche e le ulcere da pressione e sono conseguenza di insulti vascolari, debilitazione sistemica, condizioni neurologiche ustioni, photo e crono-aging e malattie autoimmuni (lupus eritematoso sistemico, sclerodermia, dermatomiosite). A differenza delle ulcere acute che possono guarire in pochi giorni o settimane, le ulcere croniche, oltre al fatto che possono andare in contro ad infezioni, possono durare per mesi o anni. Questa condizione grava fisicamente e psicologicamente sull'individuo ed inoltre rappresenta un problema gestionale per il sistema sanitario.

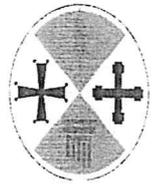
Vari tentativi sono stati fatti in un passato più o meno recente con l'utilizzo di farmaci vari, adozione di tecnologie ed artifici finalizzati a favorire la granulazione e guarigione delle ulcere. L'unico trattamento che ha dato risultati significativi è stata l'applicazione del gel piastrinico autologo e in alcuni casi eterologo.



S ERVIZIO
S ANITARIO
R EGIONALE



GRANDE OSPEDALE METROPOLITANO
"Bianchi Melacrino Morelli"
Reggio Calabria



REGIONE CALABRIA

Dipartimento Tutela della Salute
e Politiche Sanitarie

Partendo da questi presupposti si è pensato di attuare il presente Protocollo Operativo tra l'UOC Dermatologia e la Calabria Cord Blood Bank per l'applicazione clinica del **gel piastrinico autologo e allogenico nel trattamento di tali lesioni, in considerazione delle caratteristiche biochimiche dello stesso: utilizzo ed efficacia del Platelet Gel-PG sulle lesioni trofiche, ulcerative ischemiche e/o neuropatiche in soggetti aterosclerotici e diabetici (monconi di amputazioni bonificati, rivascolarizzati ed in situazione di controllo glicometabolico) rispetto alla terapia standard.**

Nel caso di CBPG, saranno dosati i più studiati fattori di crescita quali: il PDGF, il fattore di crescita dei fibroblasti (FGF), il fattore di crescita trasformante β (TGF), il fattore di crescita epidermico (EGF), il fattore di crescita vascolare endoteliale (VEGF) e il fattore di crescita insulino-simile (IGF), con azione inibente i processi infiammatori, contenuti nei granuli delle piastrine. Tramite l'attivazione piastrinica e la loro liberazione, i fattori di crescita agiscono a livello del tessuto stimolando il metabolismo e riducendo i processi infiammatori.

Verranno prese in considerazione altre affezioni dermatologiche che secondo le evidenze scientifiche trovano, nel trattamento con PRP, una valida alternativa.

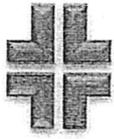
Non verranno prese in considerazione le ulcere neoplastiche per le quali non è controindicato il trattamento con PRP.

Obiettivi e benefici del presente Protocollo Operativo:

Soggetti coinvolti: pazienti dermatologici seguiti presso l'UOC di Dermatologia

End Point Primari:

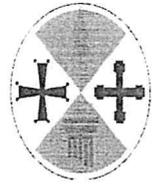
1. Guarigione della perdita di sostanza della cute
2. Riduzione diametro della lesione ulcerativa
3. Valutazione vitalità del tessuto di granulazione
4. Trattamento di alcune delle sopraelencate patologie, nei casi in cui trattamenti tradizionali non si sono dimostrati efficaci



S ERVIZIO
S ANITARIO
R EGIONALE



GRANDE OSPEDALE METROPOLITANO
"Bianchi Melacrino Morelli"
Reggio Calabria



REGIONE CALABRIA

Dipartimento Tutela della Salute
e Politiche Sanitarie

End Point Secondari:

1. soddisfazione e dolore soggettivo
2. correlazione fra andamento clinico e composizione del CP o gel piastrinico

Valutazione efficacia tra medicazione tradizionale avanzata e applicazione PRP autologo o allogenico e l'efficacia in alcune malattie della pelle

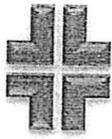
- **Ridotti tempi di ospedalizzazione** poiché la gestione dei pazienti trattati con PRP autologo o allogenico è ambulatoriale e non necessita di ricovero, con riduzione dei costi ospedalieri (generalmente, per la medicazione tradizionale il paziente deve essere medicato tutti i giorni, in caso di medicazione avanzata ogni 2 giorni; con l'applicazione di PRP è necessario effettuare le visite 2 volte a settimana).
- **Nuova opzione terapeutica in alternativa a trattamenti tradizionali** risultati non efficaci nelle sopracitate malattie dermatologiche

ALOPECIA AREATA/ DEFLUVIUM

L'alopecia androgenetica (AGA) e il defluvium sono tra più comuni forme di perdita di capelli per le quale al momento non sono disponibili opzioni terapeutiche realmente efficaci. Sono stati condotti numerosi studi aventi l'obiettivo di spiegare i meccanismi patogenetici dell'AGA/defluvium al fine di trovare un target terapeutico che garantisca non solo la ricrescita dei capelli, ma che induca la formazione di nuovi follicoli⁹.

I fattori di crescita contenuti nel concentrato piastrinico come EGF e FGF attivano la proliferazione e differenziazione delle cellule staminali del follicolo pilifero e inducono la produzione di nuove unità follicolari¹⁰.

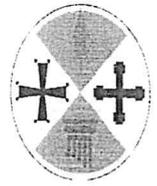
Le bFGF e le beta-catenine, promuovono la anagen delle cellule del bulbo pilifero giocando pertanto un ruolo pivotale nell'allungamento del fusto del capello¹¹.



SERVIZIO
SANITARIO
REGIONALE



GRANDE OSPEDALE METROPOLITANO
"Bianchi Melacrino Morelli"
Reggio Calabria



REGIONE CALABRIA

Dipartimento Tutela della Salute
e Politiche Sanitarie

Infine i regolatori dell'apoptosi, *Bcl-2 protein* e *Akt signaling*, prolungano la sopravvivenza delle cellule della papilla dermica durante il ciclo del capello. Pertanto gli effetti mitogeni e anti-apoptotici della PRP prolungano la sopravvivenza delle papille dermiche.

Infine il PRP modula l'angiogenesi e migliora il flusso ematico intorno ai follicoli piliferi, migliorando le condizioni ischemiche che caratterizzano l'alopecia androgenetica¹².

LICHEN SCLEROATROFICO

Riferiti casi di lichen scleroatrofico vulvare trattato con PRP¹³.

LIPODERMATOSCLEROSI

Caso di lipodermatosclerosi resistente a qualsiasi terapia, trattato con successo mediante infiltrazioni intralesionali di PRP¹³.

CICATRICI DA USTIONI/ACNE/TRAUMATISMI-STRIAE DISTENSAE

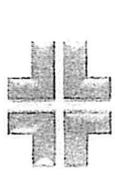
La comprovata efficacia del PRP nella guarigione delle ulcere ha indotto all'utilizzo di tale metodica anche nel caso di cicatrici di varia origine⁸.

Processo di richiesta e applicazione PRP:

L'UOC di Dermatologia esegue la valutazione clinica del paziente e, se vi è indicazione di applicazione del PRP, fornisce le relative informazioni cliniche e sottopone il consenso informato alla firma del paziente. Dopo la firma del consenso informato, il medico dell'UOC di Dermatologia contatta il Laboratorio della Calabria Cord Blood Bank e invia richiesta di applicazione del PRP via fax, indicando i dati anagrafici del paziente, la patologia e la data dell'applicazione. Contemporaneamente invia campione ematico al SIT per esecuzione gruppo del paziente. Criteri e principi di richiesta, valutazione di appropriatezza, assegnazione, consegna, emovigilanza sono i medesimi previsti per gli emocomponenti utilizzati per via trasfusionale. Il giorno previsto per l'applicazione, il personale del Laboratorio della Calabria Cord Blood Bank prepara il PRP, secondo le indicazioni del dermatologo, identifica e traccia il prodotto mediante l'utilizzo del sistema gestionale informatico in uso nel Servizio Trasfusionale ed invia il prodotto presso l'UOC richiedente. Dopo l'applicazione viene compilata apposita scheda riassuntiva.

Bibliografia

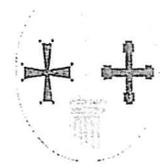
1. "Utilizzo del PRP nel trattamento di patologie degenerative ortopediche"- Istituto Ortopedico Rizzoli
<http://www.ior.it/laboratori/lab-di-biomec-inn-tec/Biotecnologie/rigenerazione-ossea>
2. Platelet-rich plasma and platelet gel preparation using Plateltex. Mazzucco L, Balbo V, Cattana E, Borzini P. - Vox Sang. 2008 Apr; 94(3):202-8.
3. Platelet-Derived Factors Involved in Tissue Repair-From Signal to Function. Laura Mazzucco, Piero Borzini, and Rajalakshmi Gope-Transfusion Medicine Reviews;, Vol 24, No 3 (July), 2010: pp 218-234
4. "Emocomponenti per uso non trasfusionale: applicazioni cliniche e normativa vigente." Camillo Almici, Rosanna Verardi, Andrea Bianchetti, Simona Braga, Arabella Neva, Mirella Marini. Laboratorio Manipolazione e Criopreservazione Cellule Staminali e Produzione Emocomponenti ad uso topico-Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale, A.O. Spedali Civili di Brescia
5. "Platelet gel from cord blood: A novel tool for tissue engineering". Valentina Parazzi, Lorenza Lazzari, Paolo Rebullia MD. 2010, Vol. 21, No. 7 , Pages 549-554
6. Raccomandazioni SIMTI sugli emocomponenti per uso non trasfusionale. 1 Ed. Maggio 2012.
7. General information from COPE (Cytokines & Cells Online Pathfinder Encyclopedia): www.copewithcytokines.de/cope.cgi
8. Jk science Vol. 16 No.3, Oct - December 2014
9. Valente Duarte de Sousa IC, Tosti A. New investigational drug for androgenetic alopecia. Expert Opin Investig Drugs 2013;22(5):573-89
10. Khatu SS, More YE, Gokhale NR, Chavhan DC, Bendsure N. Platelet-rich plasma in androgenic alopecia: Myth or an effective tool. J Cutan Aesthet Surg 2014;7:107
11. Katsuoka K, Schell H, Wessel B, Hornstein OP. Effects of epidermal growth factor, fibroblast growth factor, minoxidil and hydrocortisone on growth kinetics in human hair bulb papilla cells and root sheath fibroblasts cultured in vitro. Arch Dermatol Res 1987;279:247-50.



SERVIZIO
SANITARIO
REGIONALE



GRANDE OSPEDALE METROPOLITANO
"Bianchi Melacrino Morelli"
Reggio Calabria



REGIONE CALABRIA

Dipartimento Tutela della Salute
e Politiche Sanitarie

12. Li ZJ, Choi HI, Choi DK, et al. Autologous platelet-rich plasma: A potential therapeutic tool for promoting hairgrowth. *Dermatol Surg* 2012;38:1040-6.
13. M Sendhil Kumaran. Platelet-rich plasma in dermatology :Boon or bane? *Indian Journal of Dermatology, Venereology e Leprology* 2014;80(1):5-14

Reggio Calabria, 08/01/2018

D.ssa Giovanna Malara
UOC Dermatologia

D.ssa Giulia Pucci
Calabria Cord Blood Bank

Dr Alfonso Trimarchi
UOC SIT

U.O.S.D. Calabria Cord Blood Bank
Laboratorio Manipolazione CSE