

Colture di cellule staminali mesenchimali isolate da tessuto adiposo su film di fibroina della seta rigenerata

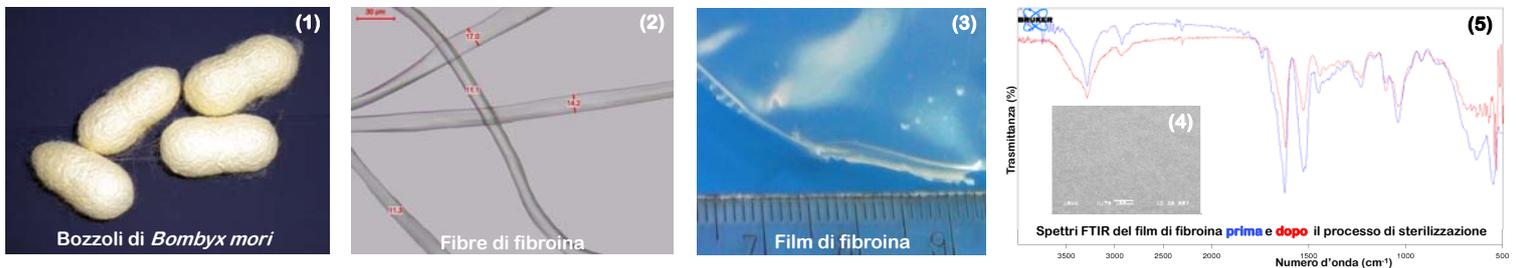
T. Chlapanidas¹, G. Lucconi¹, S. Faragò², V. Bianchi², M.C. Tosca³, B. Antonioli³, M. Bucco⁴, M. Faustini⁵, D. Vigo⁵, M. Marazzi³, M.L. Torre¹

¹Dipartimento di Chimica Farmaceutica, Università degli Studi di Pavia; ²Stazione Sperimentale per la Seta, Milano; ³A.O. Ospedale Niguarda Ca' Granda, Milano; ⁴Bioscience Institute, Repubblica di San Marino; ⁵Dipartimento di Scienze e Tecnologie Veterinarie per la Sicurezza Alimentare, Università degli Studi di Milano.

theodora.chlapanidas@unipv.it

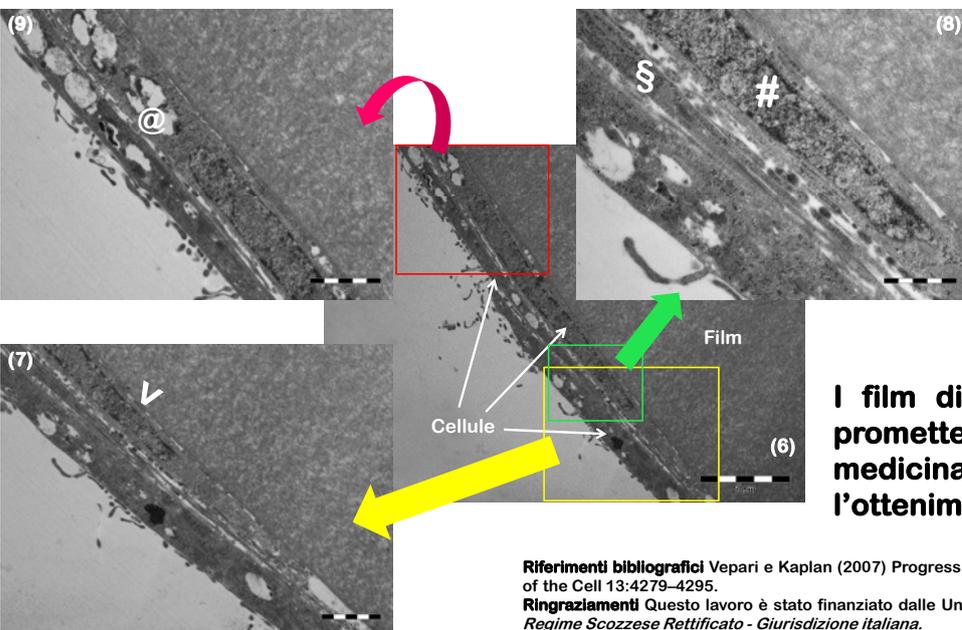
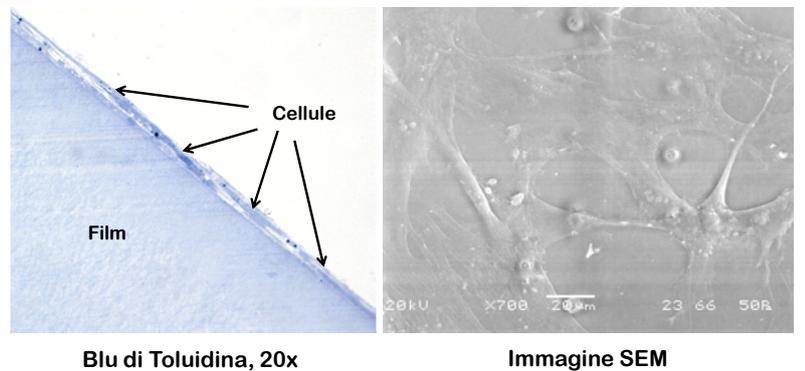
La fibroina della seta, principale proteina ricavata dal bozzolo secreto da *Bombyx mori*, grazie alle sue qualità di biocompatibilità, biodegradabilità, elasticità e resistenza, è un ottimo materiale per l'impiego nell'ingegneria tissutale. Lo scopo del lavoro è la realizzazione di sostituti cutanei biorisorbibili, costituiti da film di fibroina rigenerata e cellule mesenchimali isolate da tessuto adiposo.

I bozzoli di *Bombyx mori* costituiti da fibroina e sericina (fig 1) sono stati posti in autoclave al fine di isolare la fibroina. Le fibre (fig 2) sono state solubilizzate in nitrato di calcio e metanolo e, con il metodo del *casting*, sono stati allestiti film di fibroina rigenerata. Gli scaffold (fig 3) sono stati sterilizzati con vapore saturo sotto pressione. Dopo il processo di sterilizzazione la struttura del film rimane integra e la superficie liscia ed omogenea (fig 4). Indagini FT-IR hanno dimostrato che anche la conformazione della proteina non subisce modificazioni (fig 5).



Il tessuto adiposo lipoaspirato è stato digerito con collagenasi (Zuk et al., 2002). La frazione stromale vascolare ottenuta è stata coltivata in *monolayer* per purificare il pellet e amplificare le cellule mesenchimali.

Le cellule al terzo passaggio sono state seminate sullo scaffold (20.000 cellule/cm² di film) e incubate per 15 giorni (37°C, 5% CO₂). Le cellule mesenchimali aderiscono al film, presentano il caratteristico aspetto fibroblastico e raggiungono la confluenza.



La microscopia elettronica in trasmissione ha permesso di osservare l'attecchimento delle cellule al film (fig 6), grazie anche alla presenza di proteine di adesione (fig 7 >). Le cellule pluristratificano, formando un pseudo-tessuto costituito da cellule interconnesse. Inoltre, si osservano nuclei (fig 8 #), reticolo endoplasmatico rugoso (fig 8 §), lisosomi (fig 9 @), mitocondri e vacuoli, tipici di cellule in crescita.

I film di fibroina si sono dimostrati molto promettenti in vista di un loro impiego nella medicina rigenerativa ed, in particolare, per l'ottenimento di cute ingegnerizzata.

Riferimenti bibliografici Vepari e Kaplan (2007) Progress in Polymer Science 32:991-1007, Zuk et al. (2002) Molecular Biology of the Cell 13:4279-4295.

Ringraziamenti Questo lavoro è stato finanziato dalle Università di Pavia e Milano, Eurostars Project E!5227 FIBROSPHERE e Regime Scozzese Rettificato - Giurisdizione Italiana.