

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

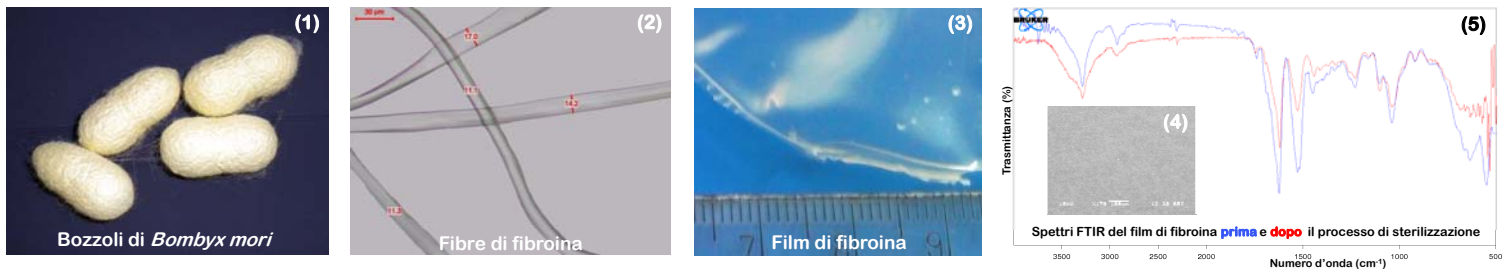
T. Chlapanidas<sup>1</sup>, G. Lucconi<sup>1</sup>, S. Faragò<sup>2</sup>, V. Bianchi<sup>2</sup>, M.C. Tosca<sup>3</sup>, B. Antonioli<sup>3</sup>, M. Bucco<sup>4</sup>, M. Faustini<sup>5</sup>, D. Vigo<sup>5</sup>, M. Marazzi<sup>3</sup>, M.L. Torre<sup>1</sup>

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

theodora.chlapanidas@unipv.it

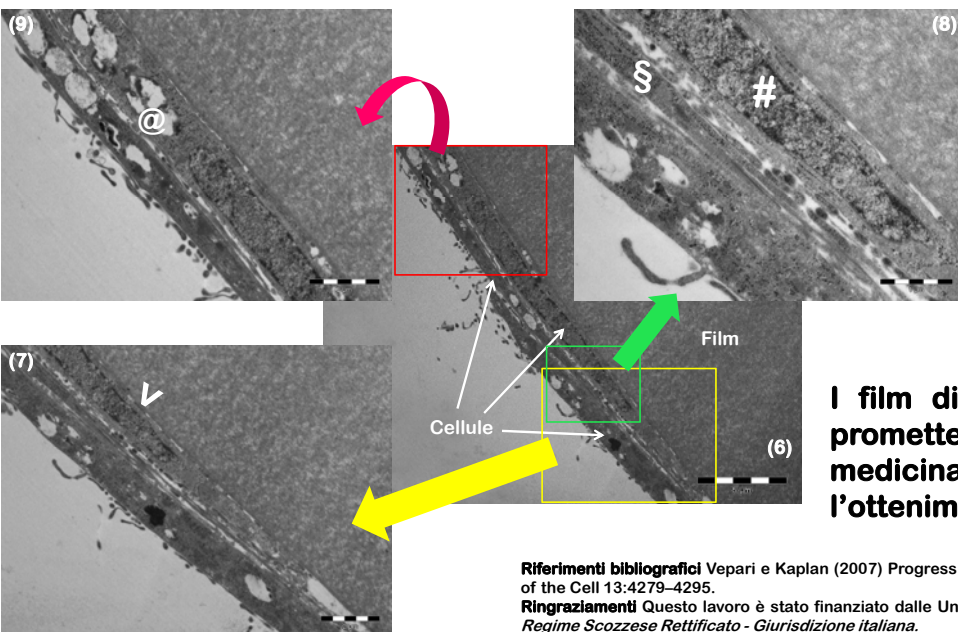
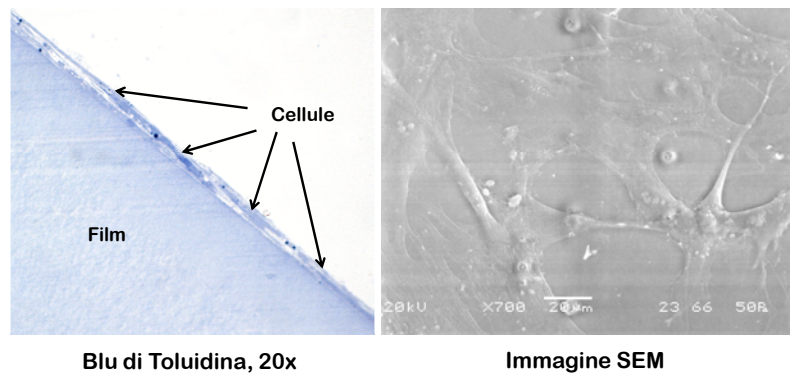
La fibroina della seta, principale proteina ricavata dal bozzolo secreto da *Bombyx mori*, grazie alle sue qualità di biocompatibilità, biodegradabilità, elasticità e resistenza, è un ottimo materiale per l'impiego nell'ingegneria tissutale. Lo scopo del lavoro è la realizzazione di sostituti cutanei 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/cm<sup>2</sup> di film) e incubate per 15 giorni (37°C, 5% CO<sub>2</sub>). 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.