

Caratterizzazione e impiego di tessuto non tessuto di fibroina della seta per le colture di cellule staminali da tessuto adiposo

M.C. Tosca¹, B. Antonioli¹, S. Faragò², T. Chlapanidas³, G. Lucconi³, M. Faustini⁴, D. Vigo⁴, M. Marazzi¹, M.L. Torre³

¹Centro di Riferimento Regionale Colture Cellulari, A. O. Ospedale Niguarda Ca' Granda, Milano;

²Stazione Sperimentale per la Seta, Milano; ³Dipartimento di Chimica Farmaceutica, Università di Pavia;

⁴Dipartimento di Scienze e Tecnologie Veterinarie per la Sicurezza Alimentare, Università degli Studi di Milano.

martacecilia.tosca@ospedaleniguarda.it

Uno scaffold destinato all'impiego nell'ingegneria tissutale deve possedere requisiti idonei all'adesione cellulare, nonché proprietà chimico-fisiche e meccaniche ottimali per l'impianto. La fibroina della seta può essere utilizzata sottoforma di tessuto non tessuto di varie forme e dimensioni, costituito da fibre e/o microfibrille del diametro di pochi micrometri. Scopo del lavoro è la caratterizzazione e la valutazione della possibilità d'impiego di un tessuto non tessuto di fibroina per le colture di cellule staminali isolate da tessuto adiposo.

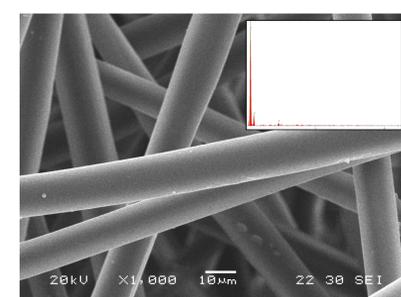
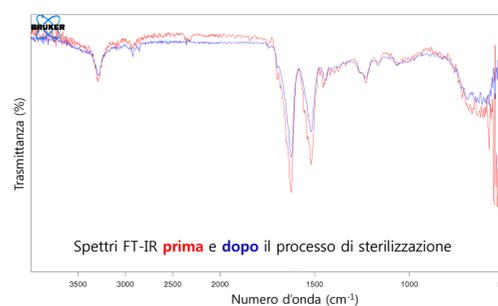
Per la produzione del tessuto non tessuto (TNT), le fibre provenienti da bozzoli di *Bombyx mori* sono state poste in autoclave al fine di isolare la fibroina. Le fibre sono state allineate e consolidate mediante un getto d'acqua ad alta pressione che ha determinato il mescolamento delle fibre; al termine del processo, le fibre di fibroina si sono ridistribuite ed intrecciate lungo tutto lo spessore del non tessuto.

Il TNT è stato caratterizzato in termini di resistenza alla trazione e allungamento sia con direzione macchina, cioè con direzione parallela all'avanzamento del fronte del TNT durante il processo di produzione, sia con direzione trasversale, ovvero con direzione perpendicolare. I risultati, riportati in Tabella, indicano che l'orientamento del TNT influenza in modo significativo la resistenza alla trazione e l'allungamento del TNT.

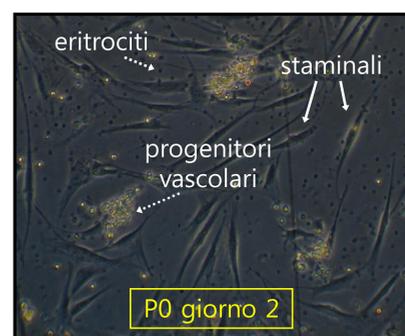
Test di Kolmogorov-Smirnov: i risultati sono espressi come mediana, valore minimo e valore massimo (5 repliche). La significatività statistica è stata considerata con $p=0.05$.

	orientamento	mediana	min	max	p
Massima resistenza a rottura (N)	macchina	57.33	44.76	76.84	0.036
	trasversale	40.66	24.24	61.03	
Deformazione a trazione (%)	macchina	28.15	25.50	34.50	0.0038
	trasversale	64.50	62.92	69.13	

Gli scaffold sono stati sterilizzati con vapore saturo sotto pressione. Indagini FT-IR hanno dimostrato che la proteina non subisce modificazioni. Inoltre, dall'analisi SEM-EDX risulta che la struttura del TNT rimane integra e che non sono presenti metalli pesanti.

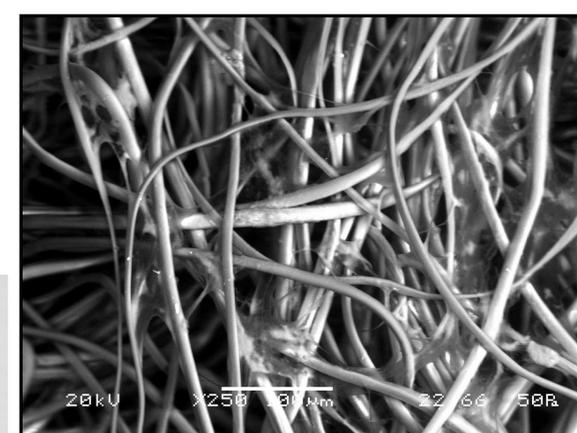
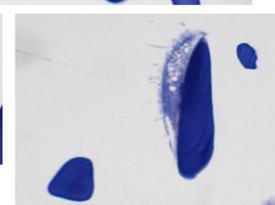
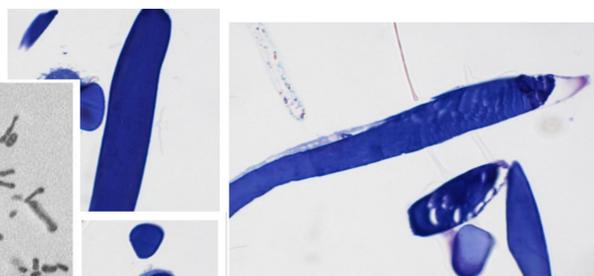
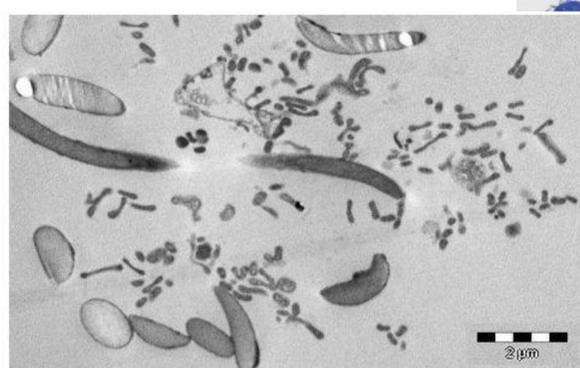


Le cellule staminali sono state isolate a partire dalla frazione stromale vascolare (SVF), ottenuta per digestione enzimatica del tessuto adiposo, e selezionate mediante crescita in terreno minimo (Zuk et al., 2002).

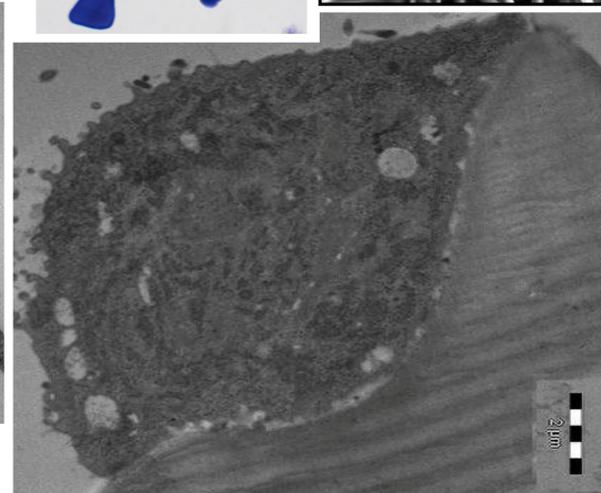
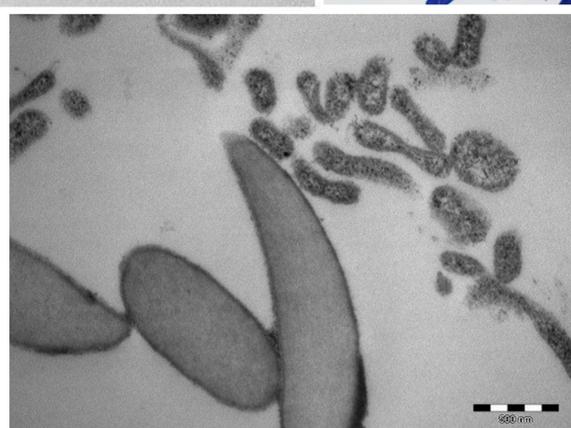


Lo scaffold è stato tagliato per ottenere frammenti da 1cm² ed ognuno è stato seminato con cellule al terzo passaggio alla densità di 40.000 cellule/cm².

Ogni scaffold è stato mantenuto in coltura per 15 giorni, con sostituzione del medium ogni 2 giorni.



Le indagini morfologiche dimostrano la presenza delle cellule all'interno dello scaffold e un'elevata adesione cellulare, garantita dalla presenza di abbondanti pseudopodi sulle fibre. Dall'analisi ultrastrutturale è possibile osservare, inoltre, la presenza di mitocondri, vacuoli e reticolo endoplasmatico.



Riferimenti bibliografici
Zuk et al. (2002) Molecular Biology of the Cell 13:4279-4295.

Ringraziamenti Gli autori ringraziano la ditta Sanitars di Flero (BS) per aver gentilmente fornito i campioni di tessuto non tessuto. Questo lavoro è stato finanziato dalle Università di Pavia e Milano, Eurostars Project E!5227 FIBROSPHERE e Regime Scozzese Rettificato - Giurisdizione italiana.

Il tessuto non tessuto di fibroina presenta caratteristiche ottimali per la proliferazione di cellule staminali da tessuto adiposo.