

PROGRAMMA SHORT – TERM MOBILITY – ANNO 2010

RELAZIONE SCIENTIFICA CONCLUSIVA

Proponente: Dott. Giorgio Soldani

Fruitore: Dr.ssa Francesca Felice

Istituto di afferenza del Fruitore: Scuola di Specializzazione in Biochimica Clinica – Università di Pisa

Descrizione dettagliata dell'Istituzione ospitante: University College London (UCL) Centre of Materials Research, Division of Surgery & Interventional Science, Rowland Hill Street, London NW3 2PF, U.K. (Head: Professor Alexander M. Seifalian, Professor of Nanotechnology and Tissue Repair in Surgery).

Numero di codice del dipartimento: n° 4

Titolo del programma: Studio di tecniche di endotelializzazione in situ di bypass a base di biomateriali nanocompositi.

Obiettivi Biofunzionalizzare materiali nano compositi e indurre la endotelializzazione dei biomateriali con cellule progenitrici endoteliali.

Introduzione

Le protesi vascolari sintetiche più utilizzate nella ricostruzione periferica vascolare sono il polietilene tereftalato tessuto (PET), noto come Dacron®, ed il politetrafluoroetilene (ePTFE), mentre i cardiocirurghi usano principalmente protesi in ePTFE. Il fattore più importante implicato nel fallimento delle protesi è la mancanza della crescita di uno strato di cellule endoteliali sul lume della protesi. Infatti il monostrato endoteliale che riveste i vasi sanguigni conferisce l'integrità strutturale costituendo una barriera continua, selettivamente permeabile, tromboresistente tra il sangue circolante e la parete dell'arteria. Sebbene numerose ricerche siano state dirette verso lo sviluppo di protesi vascolari di piccolo diametro più efficaci, il problema principale rimane: nell'uomo le protesi restano ampiamente non endotelializzate anche dopo anni di impianto. Di

conseguenza, non sono ancora emersi concetti alternativi che permettano di sostituire a breve la generazione attuale di protesi sintetiche in Dacron® ed ePTFE .

Pertanto, a partire da un nuovo biomateriale sviluppato presso il “Laboratory for Biomaterials & Graft Technology” del IFC-CNR di Massa, che combina allo stesso tempo le buone caratteristiche elastomeriche e di compatibilità tissutale di un poli(eter)uretano (PEtU) e le proprietà di emocompatibilità e biostabilità di un polidimetilsilossano metil diacetosi terminato (PDMS), obiettivo del progetto sarà quello di valutare una nuova tecnica disponibile presso il laboratorio del Prof. A.M. Seifalian, della University College London, al fine di migliorare la endotelializzazione di protesi di piccolo calibro e consistente nella integrazione sulla superficie interna della protesi vascolare di peptidi a sequenza nota in grado di favorire la rapida endotelizzazione con cellule progenitrici circolanti del paziente stesso.

Descrizione dell’attività svolta

Durante il periodo di soggiorno di quattro settimane presso la University College London (UCL), Centre of Materials Research (Division of Surgery & Interventional Science), l’attività di ricerca si è concentrata sull’acquisizione delle tecniche necessarie per il processo di biofunzionalizzazione dello strato interno nano-strutturato con molecole a cattura specifica per le cellule progenitrici endoteliali circolanti (EPCs).

In particolare nella prima fase del progetto è stata valutata la capacità trombogenica dei nostri materiali sia costituiti da solo PEtU (Estane) sia come PEtU- PDMS (Silcrothane) a diversa porosità (Fig. 1), mediante l’uso di un tromboelastografo (TEG). Il TEG misura le proprietà viscoelastiche e meccaniche del coagulo che si sta sviluppando, relative a:

Tempo di Coagulazione	R	Reazione enzimatica
Cinetica di Coagulazione e Formazione di Trombina	Alpha	Livello di Fibrinogeno
Forza del Coagulo o aggregazione	MA	Funzionalità Piastrinica
Lisi del Coagulo	LY	Stabilità del Coagulo

Fornendo quindi una "immagine globale" dell'intero processo coagulativo utilizzando lo stesso campione di sangue, senza che alcun componente ne venga escluso.

Una volta valutate le caratteristiche trombogeniche dei nostri materiali, le EPC sono state isolate da sangue periferico di soggetti adulti sani e coltivate sul nano composito, determinandone il grado di crescita mediante il test di Alamar blu. La presenza delle cellule è stata inoltre evidenziata con la colorazione di Giemsa e tecniche immunofluorescenti.

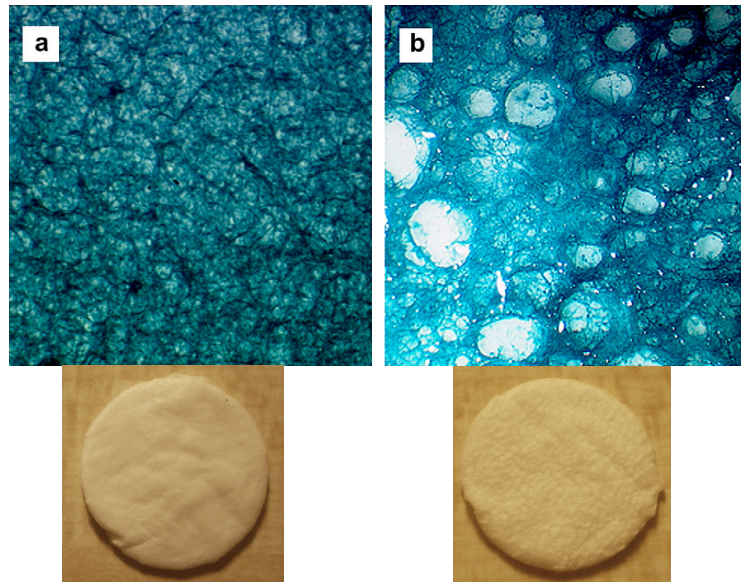


Fig. 1. Scaffold in PETU-PDMS con diversa porosità colorato con Sudan Black B: a) superficie densa ottenuta con una soluzione al 2.5% di PETU-PDMS, b) superficie porosa ottenuta con una soluzione al 1 % di PETU-PDMS.

Nella seconda fase del progetto sono state acquisite le tecniche necessarie per migliorare le caratteristiche strutturali e funzionali del peptide a sequenza RGD e indurre la endotelializzazione dei biomateriali, funzionalizzati con le sequenze RGD. In particolare è stato utilizzato un dispositivo capace di mettere in diretto contatto le cellule con il biomateriale in presenza di un circuito a flusso pulsatile (Fig. 2). La presenza delle sequenze RGD legavano le EPC circolanti nel sistema favorendo la endotelializzazione dello strato interno nel biomateriale.

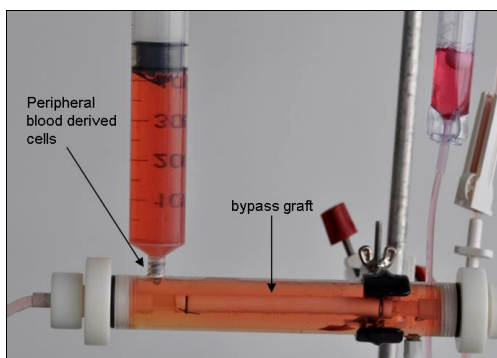
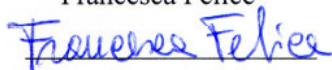


Fig. 2. Bypass racchiuso in una camera contenete il mezzo di coltura delle cellule ed esposto ad un circuito a flusso pulsatile contenente EPCs in un volume finale di 60 ml

Conclusioni: Il periodo trascorso presso la UCL ci ha permesso di migliorare ed acquisire le tecniche necessarie per il processo di biofunzionalizzazione di materiali nano compositi e soprattutto di creare una ottima rete di collaborazione con il gruppo di ricerca del Prof. Seifalian. Tale lavoro è, naturalmente ancora in atto e, si spera, darà origine a pubblicazioni su riviste internazionali.

il Fruitore

Francesca Felice



il Proponente

Giorgio Soldani

