

## PEPTIDI AUTO-ASSEMBLANTI PER LA RIGENERAZIONE TISSUTALE

Laura Chronopoulou

Dipartimento di Chimica, Università La Sapienza, Roma

L'autoassemblaggio è una strategia ampiamente presente nei sistemi biologici che può essere sfruttata tecnologicamente per la preparazione di materiali funzionali. L'autoassemblaggio può essere indotto da uno stimolo esterno di natura chimica, fisica o biologica. Per esempio, un enzima può indurre l'autoassemblaggio agendo su precursori opportuni tramite la formazione oppure la rottura di un legame chimico, con conseguente formazione di un "idrogelatore" in grado di autoassemblarsi in acqua a formare strutture predefinite. Uno dei primi esempi riportati in letteratura in questo campo è la sintesi di tripeptidi aromatici Fmoc-protetti in fase acquosa (1). I principali vantaggi dell'utilizzo di peptidi per creare materiali avanzati sono innanzitutto la loro biodegradabilità e biocompatibilità. Inoltre, i peptidi sono facilmente funzionalizzabili e possono assumere strutture secondarie ordinate che sono efficacemente riconosciute da sistemi cellulari. Inoltre, le attuali tecniche di sintesi peptidica in fase solida consentono di ottenere qualsiasi tipo di sequenza di interesse e con rese elevate.

Idealmente, per l'applicazione di peptidi autoassemblanti in rigenerazione tissutale, la soluzione dei peptidi dovrebbe essere mischiata a opportune molecole e/o cellule e introdotta nel tessuto bersaglio. In seguito all'assemblaggio il biomateriale deve indurre la riparazione del tessuto interagendo con le cellule impiantate oppure stimolando la migrazione e il differenziamento di cellule endogene. Lo *scaffold* inoltre deve supportare l'integrazione, la proliferazione e il differenziamento della tipologia cellulare bersaglio (2).

Tra le famiglie di peptidi maggiormente studiate per applicazioni di rigenerazione tissutale rivestono un ruolo fondamentale i peptidi a base di forcine beta e quelli della famiglia EAK-16.

I peptidi a base di forcine beta sono caratterizzati dall'alternanza di residui carichi positivamente e residui idrofobici nella loro sequenza amminoacidica (3). Inoltre, nella loro struttura è presente un tetrapeptide contenente un D-amminoacido. La struttura secondaria di tale famiglia di peptidi è quella delle forcine beta. In condizioni opportune, tali peptidi formano dei gel, che risultano essere pH-dipendenti, termoreversibili e dipendenti dalla forza ionica. Le proprietà del gel possono essere modulate variando la struttura primaria del peptide (4). Tali materiali sono stati funzionalizzati con una sequenza peptidica in grado di controllare la formazione di calcio fosfati in soluzione. In seguito all'azione della fosfatasi alcalina, all'interno del gel è stata osservata la deposizione di materiale altamente cristallino, dimostrando che il peptide funzionalizzato è in grado di stimolare la biomineralizzazione (5).

I peptidi della famiglia EAK-16 hanno una sequenza amminoacidica in cui ad amminoacidi idrofobici si alternano amminoacidi carichi. Essi sono in grado di autoassemblare in soluzione fisiologica, grazie a interazioni intercatena che generano strutture a foglietti beta (6). In uno studio recente, il peptide autoassemblante (RADA)<sub>4</sub> è stato funzionalizzato con tre diverse sequenze presenti in 2 proteine della membrana basale (laminina I e collagene IV), che promuovono l'adesione di cellule endoteliali, la loro diffusione e la formazione di tubuli (7).

Cellule endoteliali da aorta umana, seminate sui diversi *scaffold*, sono state in grado di mantenere il fenotipo endoteliale e di formare dei monolayer sugli *scaffold* funzionalizzati.

Della famiglia di peptidi autoassemblanti EAK-16 fa parte anche il PuraMatrix®, studiato e brevettato nel 1993 all'MIT. Questo peptide, che forma un gel perfettamente trasparente, è

biocompatibile e biorisorbibile. Attualmente, è in fase di approvazione come emostatico chirurgico sia in Europa che negli USA con il nome di PuraStat® (<https://3dmatrix.com/products/purastat/>). Inoltre, sono stati completati diversi studi preliminari per il suo utilizzo in campo odontoiatrico e nella resezione endoscopica di mucose.

Nelle applicazioni *in vivo* bisogna tenere conto dei numerosi meccanismi biologici che possono modificare la struttura dei biomateriali e quindi comprometterne le applicazioni. Per esempio si può avere la degradazione del biomateriale in seguito all'azione di enzimi endogeni. La biodegradazione, sebbene auspicabile, non deve avvenire in tempi troppo brevi. Inoltre, sul biomateriale possono adsorbirsi proteine solubili o vi si può depositare nuova matrice extracellulare, tutti fattori che vanno studiati attentamente e considerati sin dalla progettazione del biomateriale stesso. Di fondamentale importanza per lo sviluppo di future applicazioni cliniche è la valutazione di risposte infiammatorie e/o immunitarie del sistema ospite in seguito all'interazione con il biomateriale.

A oggi, sono stati condotti diversi studi sull'utilizzo *in vivo* di peptidi autoassemblanti per la rigenerazione tissutale di tessuto cardiaco, osseo, cartilagine, ecc., con risultati molto promettenti. Di particolare rilevanza è il fatto che in generale tali biomateriali non inducono una forte reazione immunitaria, come dimostrato da alcuni studi recenti (8).

In conclusione, numerosi studi presenti in letteratura hanno dimostrato che diversi sistemi cellulari sono in grado di crescere, migrare e differenziarsi all'interno di *scaffold* a base di peptidi autoassemblanti. Tali materiali possono essere preparati in modo da includervi fattori di crescita, cellule staminali e molecole bioattive di interesse. In futuro, lo sviluppo di materiali funzionali in grado di indurre la rigenerazione di tessuti in maniera selettiva e la possibilità di sviluppare cure personalizzate potranno rivoluzionare diversi campi della medicina fornendo nuove strategie terapeutiche per la cura di numerose patologie.

## Bibliografia

1. Toledano S, Williams RJ, Jayawarna V, Ulijn RV. Enzyme-triggered self-assembly of peptide hydrogels via reversed hydrolysis. *J Am Chem Soc* 2006;128(4):1070-1.
2. Nisbet DR, Williams RJ. Self-assembled peptides: characterisation and *in vivo* response. *Biointerphases* 2012;7:1-4.
3. Schneider JP, Pochan DJ, Ozbas B, Rajagopal K, Pakstis L, Kretsinger J. Responsive hydrogels from the intramolecular folding and self-assembly of a designed peptide. *J Am Chem Soc* 2002; 124(59):15030-7.
4. Pochan DJ, Schneider JP, Kretsinger J, Ozbas B, Rajagopal K, Haines L. Thermally reversible hydrogels via intramolecular folding and consequent self-assembly of a de novo designed peptide. *J Am Chem Soc* 2003;125(39):11802-3.
5. Gungormus M, Branco M, Fong H, Schneider JP, Tamerler C, Sarikaya M. Self assembled bi-functional peptide hydrogels with biomineralization-directing peptides. *Biomaterials* 2010; 31(28):7266-74.
6. Zhang S, Holmes T, Lockshin C, Rich A. Spontaneous assembly of a self-complementary oligopeptide to form a stable macroscopic membrane. *Proc Natl Acad Sci* 1993;90(8):3334-8.
7. Genové E, Shen C, Zhang S, Semino CE. The effect of functionalized self-assembling peptide *scaffolds* on human aortic endothelial cell function. *Biomaterials* 2005;26(16):3341-51.
8. Guo J, Leung KK, Su H, Yuan Q, Wang L, Chu TH, Zhang W, Pu JK, Ng GK, Wong WM, Dai X, Wu W. Self-assembling peptide nanofiber *scaffold* promotes the reconstruction of acutely injured brain. *Nanomedicine* 2009;5(3):345-51.