

MODELLI IN VITRO PER IL TEST DI TERAPIE PER LA RIPARAZIONE DELLE FERITE CUTANEE

Contatti:

laura.calza@iret-foundation.org

OBIETTIVO DEL PRODOTTO

Ottimizzazione di test di efficacia in vitro per terapie dirette a migliorare la riparazione cutanea per applicazioni in medicina umana e veterinaria:

- Messa a punto delle condizioni di coltura ottimali per mimare il microambiente delle ferite cutanee di difficile guarigione, come il diabete (iperglicemia, IG) ed ipossia/ischemia (deprivazione di glucosio e ossigeno, DGO)
- Ottimizzazione dei test in vitro per terapie combinate biomateriali/farmaci
- Test di efficacia di GM18, come molecola solubile ed inclusa in scaffold elettrofilati di PLLA sui target cellulari coinvolti nella riparazione cutanea (fibroblasti, BJ; cheratinociti; HEKa; e cellule endoteliali, HUVEC)

DESCRIZIONE TECNICA

Sono stati utilizzati e analizzati diversi saggi e diverse linee cellulari mediante microscopia convenzionale e screening cellulare ad alto contenuto:

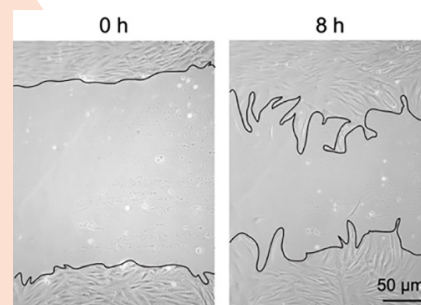
- i) test di migrazione cellulare (scratch assay)
- ii) test di adesione cellulare
- iii) test di proliferazione/morte cellulare
- iv) angiogenesi (HUVEC tube formation assay)

L'analisi di espressione dei geni coinvolti nel processo di riparazione delle ferite cutanee ha rivelato un'elevata sensibilità di queste cellule alla variazione di concentrazione del glucosio, amplificata dall'esposizione acuta a DGO, come accade nelle lesioni ipossiche dei pazienti diabetici.

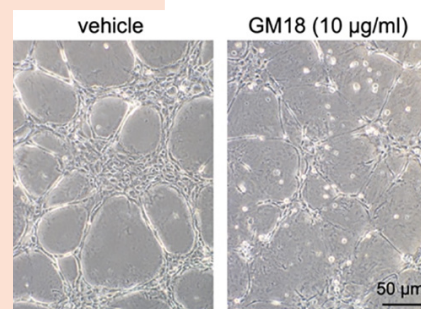
Il pre-trattamento con GM-18 solubile ha ridotto l'adesione di BJ e HUVEC, ed ha drasticamente ridotto la capacità angiogenica in maniera dose-dipendente. La molecola è risultata anche efficace quando le cellule sono state direttamente seminate sui tappetini elettrofilati caricati con il farmaco.

PARTNER

La Fondazione IRET è un istituto di ricerca scientifica in campo biomedico per lo studio delle lesioni e delle malattie degenerative del sistema nervoso centrale e della cute. Identifica strategie innovative per contrastarne la progressione, riparare il danno, identificare le cause e prevenirne l'insorgenza. A tal fine, sviluppa modelli in vitro ed in vivo ottimizzati per applicazioni specifiche.



Messa a punto del test di migrazione (scratch assay) sulla linea cellulare di fibroblasti umani BJ



Effetto anti-angiogenico dell'esposizione a GM18, quantificato tramite il tube formation assay sulla linea cellulare di cellule endoteliali umane HUVEC

IN VITRO MODELS FOR TESTING WOUND HEALING THERAPIES

Contacts:

laura.calza@iret-foundation.org

TARGET

Optimization of in vitro tests for therapies aimed to improve wound healing for human and veterinary medicine:

- Set up of culture conditions mimicking the microenvironment of hard-to-heal wounds, as diabetes (hyperglycemia, HG) and hypoxia/ischemia (oxygen-glucose deprivation, OGD)
- Optimization of in vitro testing for biomaterials/drug combined therapies
- Efficacy testing of GM18, as soluble molecule and included in PLLA electrospun scaffold, on cell targets involved in wound repair (fibroblasts, BJ; keratinocytes, HEKa; and endothelial cells, HUVEC)

TECHNICAL DESCRIPTION

Different assays and different cell lines were used and analyzed by conventional microscopy and cell-based high content screening:

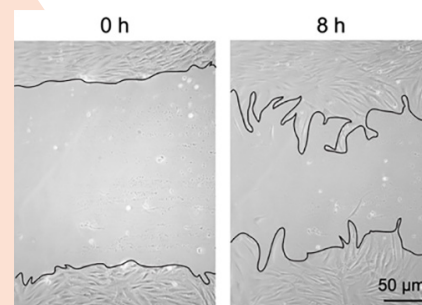
- i) scratch assay (cell migration)
- ii) cell adhesion assay
- iii) cell proliferation/death assay
- iv) HUVEC tube formation assay

Expression analysis of genes involved in wound healing process revealed high sensitivity of the cells to glucose concentration variation, amplified by acute OGD exposure, as in the hypoxic lesions of diabetic patients.

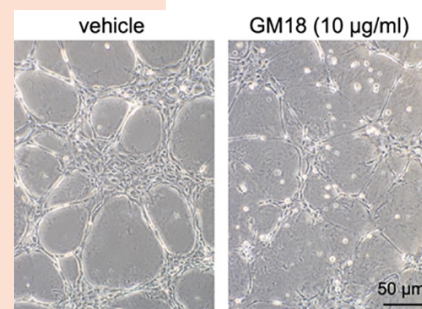
Soluble GM18 pre-treatment was able to reduce the adhesion of BJs and HUVECs and strongly impaired the tube formation in a dose-response manner. The molecule resulted also effective when cells were directly seeded on the drug-loaded electrospun scaffold.

PARTNER

IRET Foundation is a scientific research institution in the biomedical field for the study of lesions and degenerative diseases of the central nervous system and the skin. It identifies innovative strategies to counteract its progress, repair the damage, identify the causes to prevent their onset. To this end, it develops in vitro and in vivo models optimized for specific applications.



Set up of the scratch assay using the human fibroblast cell line BJ



Anti-angiogenic effect of GM18 exposure quantified by the tube formation assay performed on the human endothelial cell line HUVEC