

SCHEDA LABORATORIO DI RICERCA

Denominazione laboratorio: Laboratorio di Ricerca di Biologia Vascolare Clinica e Sperimentale

Sede: Centro di Ricerca Cardiaca e Vascolare, torre D0 del complesso scientifico I.S.T. nord (ex-CBA), Largo Rosanna Benzi, 10, 16132, Genova

Responsabile scientifico: Domenico Palombo

Contatti:

a) contatti telefonici: 010 555 7881 (laboratorio); 010 555 2424 (Professor Domenico Palombo);

b) e-mail: domenico.palombo@unige.it; domenico.palombo@hsanmartino.it; pier.francesco.ferrari@unige.it

Principali attività di ricerca:

1) Validazione *in vitro* di bioprotesi polimeriche di piccolo calibro ad attività anti-infiammatoria e pro-endotelizzante

La ricerca ha come obiettivo la valutazione della modulazione del processo infiammatorio, dell'attività chemotattica e di trans-differenziamento di protesi funzionalizzate con diversi composti bioattivi. Tali protesi vascolari biorisorbibili e biodegradabili sono state ideate valutando con attenzione i problemi presentati da quelle che oggigiorno sono impiegate in chirurgia vascolare, quali una possibile risposta infiammatoria, una possibile trombogenicità, specialmente nel caso di protesi di piccolo calibro, e la ridotta endotelizzazione. Il progetto prevede la produzione, la caratterizzazione e lo studio dell'attività biologica di bioprotesi polimeriche di piccolo calibro in grado di modulare il processo infiammatorio post-impianto, di reclutare i monociti circolanti e di indurre il trans-differenziamento in cellule endoteliali, grazie alla presenza di molecole bioattive con cui sono funzionalizzate. Gli studi in corso si stanno focalizzando sull'analisi della biocompatibilità, in termini di citotossicità e proliferazione cellulare, emocompatibilità delle bioprotesi e studio del reclutamento e del trans-differenziamento di monociti in cellule endoteliali che avranno il compito di organizzare, insieme alle cellule muscolari lisce e ai fibroblasti, un neo-vaso durante il processo di rigenerazione tissutale.

2) Produzione di immuno-nanoparticelle da impiegare in protocolli di terapia mirata in ambito vascolare

L'obiettivo della presente attività di ricerca è rappresentato dalla produzione di nanoparticelle polimeriche e di nanoliposomi ingegnerizzati con anticorpi (immuno-nanoparticelle) da impiegare in protocolli di terapia

mirata per la cura di patologie vascolari. Tale sistema innovativo di *drug delivery* consentirà di superare gli svantaggi dovuti alla terapia classica, andando a diminuirne gli effetti collaterali, in quanto i farmaci verranno trasportati e rilasciati solamente a livello del sito patologico. Gli studi in corso si propongono di valutare la biocompatibilità delle immuno-nanoparticelle ottenute con cellule endoteliali umane, monociti e macrofagi, di studiare l'attività biologica delle molecole incapsulate nelle nanoparticelle, la corretta immobilizzazione dell'anticorpo sulle nanoparticelle, in modo che sia in grado di riconoscere l'antigene verso cui è diretto, e l'uptake delle immuno-nanoparticelle da parte dei macrofagi.

3) Validazione biologica di estratti di origine vegetale ad alto contenuto di composti antiossidanti

Diversi estratti di matrici vegetali (sansa, vinacce, vinaccioli e riso) vengono validati biologicamente impiegando cellule endoteliali. Nel dettaglio, la prima fase della sperimentazione è dedicata alla definizione delle concentrazioni di tali estratti che sono compatibili con le cellule endoteliali mediante saggi di vitalità cellulare come il saggio MTS, la quantificazione del DNA e la quantificazione della lattato deidrogenasi. Le concentrazioni di estratto che si dimostrano citocompatibili vengono impiegate per studiare una loro capacità di modulazione del processo infiammatorio indotto *in vitro* con citochine pro-infiammatorie. Viene valutata la modulazione dei più comuni *markers* di disfunzione endoteliale/infiammazione come le metalloproteasi della matrice, le ossido nitrico sintasi e le proteine di adesione intercellulare.

4) Studio multidisciplinare sul rimodellamento vascolare dopo trattamento endovascolare: supporto ingegneristico alla pratica clinica

L'obiettivo del seguente studio multidisciplinare è la valutazione delle variazioni morfologiche del vaso target dopo trattamento endovascolare cercando di aumentare la comprensione sulle possibili ragioni di complicazioni dovute all'inserimento del dispositivo endovascolare. L'elaborazione delle immagini mediche di Tomografia Computerizzata è il punto cardine di tale indirizzo di ricerca. L'elaborazione di immagini può portare ad analisi *in-vivo* per estrarre *features* geometriche, a simulazioni tramite analisi agli elementi finiti per predire il rilascio del *device* ed alla prototipizzazione 3D di modelli vascolari. Tra i distretti anatomici investigati, vi sono il distretto aortico toraco-addominale ed il distretto popliteo.

Principali attrezzature presenti nel laboratorio:

Il laboratorio predispone di tutta la strumentazione per poter condurre:

- colture cellulari: all'interno del centro è presente una “*common cell culture room*” con cappe sterili, incubatori, microscopi ottici e centrifuga;
- analisi spettrofotometriche mediante lettore multi-piastra;
- analisi dell'espressione delle proteine cellulari (zimografia, analisi western blot ed ELISA);
- analisi microscopica;
- analisi istologica di tessuti.

In tali spazi è ospitato anche uno dei laboratori dedicati alle attività sperimentali del centro di ricerca BELONG (Research Center of Biologically Inspired Engineering in Vascular Medicine and Longevity) (www.belong.unige.it), centro interdipartimentale tra il Dipartimento di Ingegneria Civile, Chimica e Ambientale della Scuola Politecnica ed il Dipartimento di Scienze Chirurgiche e Diagnostiche Integrate della Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche.

Le linee di ricerca sviluppate da tale centro interdipartimentale sono finalizzate all'estrazione di composti ad alto valore aggiunto da matrici vegetali mediante tecniche estrattive non convenzionali. Tali estratti vengono testati su cellule endoteliali per valutarne un possibile ruolo nella prevenzione e modulazione dei processi di disfunzione endoteliale e di infiammazione. Le molecole ad attività antiossidante ed anti-infiammatoria vengono impiegate anche per la funzionalizzazione di protesi vascolari prodotte attraverso la tecnica dell'elettrofilatura. Un'altra linea di ricerca del centro interdipartimentale riguarda l'incapsulamento di molecole bioattive in nanoparticelle per *drug delivery* in modo da preservarle dalle condizioni ambientali sfavorevoli oppure per permetterne un rilascio controllato nel tempo.

Principali collaborazioni scientifiche nazionali:

1) Dipartimento di Ingegneria Civile, Chimica e Ambientale dell'Università degli studi di Genova con progetti interdisciplinari di ricerca di base rivolti alla fabbricazione ed ingegnerizzazione di bioprotesi vascolari di piccolo calibro, produzione ed ingegnerizzazione di nanoparticelle per *drug delivery* e validazione biologica di estratti ottenuti da matrici vegetali. Frutto di tale collaborazione è il centro interdipartimentale BELONG.

2) Dipartimento di Medicina interna e Specialità mediche dell'Università degli studi di Genova con i gruppi di ricerca presenti nel Centro di Ricerca Cardiaca e Vascolare, il Laboratorio di Biologia Cardiovascolare ed il Laboratorio di Clinica di Medicina Interna 1.

3) Computational Mechanics and Advanced Materials group, Dipartimento di Ingegneria Civile e Architettura, Università degli Studi di Pavia.

4) Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie dell'Università di Bologna nell'ambito di un progetto basato sulla sperimentazione *in vivo* di bioprotesi vascolari funzionalizzate con molecole bioattive e nanosistemi per una terapia mirata di patologie a carico del sistema cardiovascolare.

Principali collaborazioni scientifiche internazionali:

1) Department of Materials Science and Physical Metallurgy, Faculty of Materials Science and Engineering, University Polytechnica of Bucharest (Romania) con un progetto interdisciplinare di ricerca di base il cui obiettivo è la caratterizzazione meccanica di bioprotesi vascolari di piccolo calibro funzionalizzate con molecole bioattive. Inoltre, nell'ambito dello stesso progetto è previsto il coating superficiale di tali protesi biorassorbibili.

2) École Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires (ENSAIA), Università della Lorena (Francia) con un progetto interdisciplinare di ricerca di base che prevede la produzione, la caratterizzazione e la validazione biologica di nanoliposomi che incapsulano principi attivi di interesse in biologia vascolare.

3) i3S - Instituto de Investigação e Inovação em Saúde, Università di Porto (Portogallo) con un progetto interdisciplinare di ricerca di base che è finalizzato alla produzione e all'ingegnerizzazione di nanoparticelle polimeriche che incapsulano molecole di rilievo per le patologie cardiovascolari.

4) Università di San Paolo (Brasile) nell'ambito del Dottorato in co-tutela con l'Università degli studi di Genova.

Principali collaborazioni con aziende:

1) Lugano Leonardo, Tortona (AL) con un progetto riguardante la validazione biologica di estratti ottenuti dal riso con un alto contenuto di composti antiossidanti.