

Efficacia di un nuovo soft filler bio-restitutivo su fibroblasti dermici umani normali e invecchiati e analisi dei meccanismi biomolecolari coinvolti

Maurizio Giuliani (1) - Francesca Rosaria Augello (2) - Serena Artone (3) - Francesca Lombardi (4) - Paola Palumbo (5) - Maria Grazia Cifone (6) - Benedetta Cinque (5)

Università dell'Aquila/Dipartimento di Medicina Clinica, Sanità Pubblica, Scienze della Vita e dell'Ambiente, Medicina e Chirurgia-Chirurgia Plastica, L'Aquila, Italia (1) - Università dell'Aquila/Dipartimento di Medicina Clinica, Sanità Pubblica, Scienze della Vita e dell'Ambiente, Biotecnologie molecolari e cellulari, L'Aquila, Italia (2) - Università dell'Aquila/Dipartimento di Medicina Clinica, Sanità Pubblica, Scienze della Vita e dell'Ambiente, Biologia della Salute e della Nutrizione, L'Aquila, Italia (3) - Università dell'Aquila/Dipartimento di Medicina Clinica, Sanità Pubblica, Scienze della Vita e dell'Ambiente, Biotecnologie mediche-PhD Medicina traslazionale, L'Aquila, Italia (4) - Università dell'Aquila/Dipartimento di Medicina Clinica, Sanità Pubblica, Scienze della Vita e dell'Ambiente, Scienze Biologiche-PhD Medicina Sperimentale ed Endocrinologia, L'Aquila, Italia (5) - Università dell'Aquila/Dipartimento di Medicina Clinica, Sanità Pubblica, Scienze della Vita e dell'Ambiente, Scienze Biologiche, L'Aquila, Italia (6)

Un nuovo softfiller composto da acido ialuronico ad alto peso molecolare, catena polipeptidica $\alpha 1$ di collagene ricombinante e carbossimetilcellulosa, ha dimostrato un'eccellente biocompatibilità e una notevole capacità di promuovere l'innata capacità rigenerativa della pelle, ma i meccanismi biomolecolari alla base di tali effetti non sono noti. Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare l'efficacia di questo filler su fibroblasti dermici umani normali e invecchiati in vitro e di identificare i meccanismi biomolecolari alla base dei suoi effetti. Per tale obiettivo, è stata utilizzata una linea cellulare di fibroblasti dermici umani primari adulti normali. L'analisi mediante microscopia elettronica a scansione e l'analisi qualitativa con spettroscopia a dispersione di energia sono state eseguite per identificare i componenti del filler. Per indurre il fenotipo senescente, le cellule sono state trattate con H₂O₂ [1]. Dopo 24 ore, il mezzo veniva sostituito con terreno fresco contenente filler a diverse concentrazioni. A 72h, le cellule venivano staccate e contaminate per valutare il tasso di proliferazione. Come marker di senescenza cellulare, è stata analizzata l'attività della β -galattosidasi utilizzando un kit specifico. Il test di riparazione del monostrato è stato utilizzato per misurare la capacità del filler di influenzare la migrazione cellulare. I livelli intracellulari ed extracellulari di collagene di tipo I sono stati valutati, rispettivamente, mediante Western blotting ed ELISA. La localizzazione del collagene-I nei fibroblasti dopo il trattamento veniva anche analizzata mediante colorazione con immunofluorescenza. È stato anche valutato l'effetto del filler su proteine cruciali nella biosintesi, maturazione e secrezione del collagene. Infine, la capacità del filler di influenzare la contrazione cellulare è stata studiata attraverso il saggio di retrazione del gel di lattice di collagene tridimensionale.

Efficacy of a new bio-restitutive soft filler on normal and aged human dermal fibroblasts and analysis of the biomolecular mechanisms involved

A normal adult primary human dermal fibroblast (NHDF) cell line was used. Analysis by scanning electron microscopy and qualitative analysis using energy dispersive spectroscopy was performed to identify the components of the filler. To induce the senescent phenotype, NHDFs were treated with H₂O₂ [1]. After 24h, the medium was changed with fresh medium containing filler solution at different concentrations. At 72h, the cells were detached and counted to evaluate the proliferation rate. As a marker of cell senescence, Senescence-Associated- β -galactosidase activity was analyzed using a specific kit. The wound healing assay was also performed by measuring the ability of filler to influence cell migration. Intracellular and extracellular levels of type I collagen were assessed by Western blotting and ELISA, respectively. Collagen-I localization in NHDFs after treatment was also evaluated by immunofluorescence staining. The effect of filler on crucial proteins in collagen biosynthesis, maturation, and secretion was also analyzed. Finally, the ability of filler to influence the cell contraction capacity was studied through the gel retraction assay of three-dimensional collagen latex.