Laboratorio per le Tecnologie delle Terapie Avanzate

Valutazione del ruolo protettivo di un gel oftalmico a base di olio ozonizzato liposomiale contro le infezioni da SARS-CoV-2

Il virus SARS-CoV-2 può penetrare nell'organismo anche attraverso gli occhi, principalmente nei soggetti che soffrono della sindrome dell'occhio secco, dove causa prima una congiuntivite, che può potenzialmente evolvere nella classica polmonite da COVID-19 a seguito del drenaggio naso-lacrimale. Un gel oftalmico a base di ozono liposomiale può fungere da barriera contro l'ingresso del virus attraverso gli occhi. Per valutare questa attività è possibile eseguire una sperimentazione in vitro trattando con la formulazione cellule corneali umane infettate con ceppi attivi di SARS-CoV-2. Le tecnologie presenti nel laboratorio di alta sicurezza BSL-3 all'interni LTTA consentono di valutare gli effetti antivirali di diversi principi attivi o formulazioni su specifiche cellule target, come in questo caso, le cellule epiteliali corneali. Le Aziende farmaceutiche o produttrici di principi attivi possono avvalersi di questo servizio per condurre studi preclinici nelle prime fasi di sviluppo.

Laboratorio	LTTA
Area di specializzazione	Salute e Benessere
Referenti	Valentina Gentili, Roberta Rizzo
Keyword	SARS-CoV-2, profilassi oculare, olio ozonizzato liposomiale, BSL-3 facility

"Protezione oculare avanzata contro SARS-CoV-2: un servizio preclinico in laboratorio BSL-3"



Fig. 1: Fig.1: Olio ozonizzato incapsulato in liposomi vegetali all'interno della formulazione oftalmica in gel Ozodrop®



Fig. 2: Fig.2: particolare degli interni del laboratorio ad alta sicurezza BSL-3, all'interno dell'LTTA.

Descrizione

Nel laboratorio BSL-3 è possibile manipolare in modo sicuro microrganismi di classe 3, così come da classificazione in funzione del grado di pericolosità. All'interno del laboratorio è quindi possibile manipolare SARS-CoV-2, oltre ad altri microrganismi appartenenti al gruppo di rischio 3, come il West Nile Virus. Il servizio di ricerca preclinica del laboratorio BSL-3 ha adottato un approccio in vitro per valutare l'attività antivirale di formulazioni e principi attivi. Per questi studi vengono utilizzate diverse linee cellulari, che simulano in modo accurato le condizioni d'infezione in vivo. Le valutazioni delle sostanze da testare includono la titolazione delle particelle virali in seguito al trattamento, intesa sia come riduzione del numero totale delle particelle virali (tramite indagini molecolari quantitative), sia come riduzione del numero di virus con capacità infettiva (tramite titolazione virale su cellule target). Parallelamente è possibile eseguire anche analisi molecolari per osservare gli effetti cellulari del trattamento, contribuendo così a una comprensione completa dei meccanismi antivirali. Con un servizio di alta qualità e tecnologie avanzate, il laboratorio BSL-3 rappresenta un ambiente unico per lo sviluppo di terapie innovative, rivolgendosi alle aziende farmaceutiche e ai produttori di principi attivi che necessitano di studi preclinici affidabili nelle prime fasi di sviluppo.

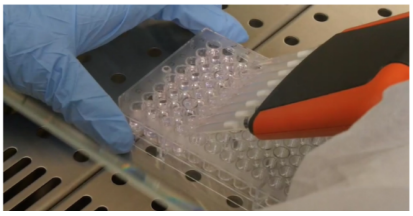
Aspetti innovativi

I saggi messi a punto nel laboratorio BSL-3 rappresentano un'avanguardia nella ricerca antivirale grazie all'integrazione di saggi avanzati di biologia cellulare e di virologia molecolare. Nel laboratorio viene inoltre eseguito il test di valutazione della citotossicità delle sostanze, aspetto fondamentale da conoscere preliminarmente quando si vuole valutarne l'azione antivirale. Questa combinazione di tecniche consente non solo di testare la riduzione della carica virale, ma anche di monitorare l'effetto dei trattamenti a livello molecolare nelle cellule ospiti. Il presente studio ha impiegato questi protocolli in vitro per valutare le proprietà antivirali del gel oftalmico Ozodrop® contro il SARS-CoV-2. L'analisi condotta ha permesso di innovare l'applicazione oftalmica di olio ozonizzato liposomiale nella profilassi oculare, aprendo nuove prospettive per lo sviluppo di nuove formulazioni per estendere il potenziale clinico delle tecnologie sviluppate.

Applicazioni

L'affidabilità di questi sistemi in vitro permette uno screening preliminare sulle proprietà antivirali di nuovi composti e formulazioni per poter procedere in modo più mirato con la sperimentazione in vivo e sull'uomo. I test sono particolarmente utili per le aziende interessate a testare l'attività antivirale di sostanze sia per uso preventivo, che come agenti terapeutici per trattare le infezioni già in corso. Attraverso analisi molecolari e di proteomica, è possibile anche esplorare il potenziale meccanismo d'azione, e analizzare gli effetti indotti dalle sostanze sulle cellule target.





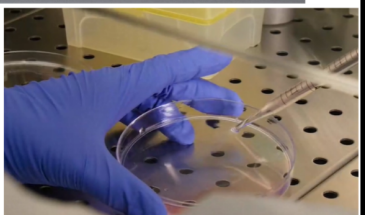


Fig. 3: Fig.3: in alto, real-time PCR QuantStudio3 per quantificazione dei genomi virali e analisi dell'espressione dei marcatori cellulari; in basso, dettagli di manipolazione cellulare.

Esempio di applicazione

Studio degli effetti protettivi di un gel oftalmico innovativo su cellule corneali umane infette da SARS-CoV-2. La sperimentazione ha integrato la virologia molecolare con la biologia cellulare per analizzare la tollerabilità del prodotto oltre al suo potenziale antivirale.

Partner coinvolti	FB-Vision S. p. A.
Tempi di realizzazione	3 mesi
Livello di maturità tecnologica	TRL 9 - sistema reale testato in ambiente operativo
Valorizzazione applicazione	Il Servizio è stato valorizzato dalla fidelizzazione degli utenti con LTTA e dalla pubblicazione di un articolo su una rivista scientifica di interesse internazionale. I risultati ottenuti sul gel oftalmico hanno portato alla valorizzazione del prodotto Ozodrop® attualmente già in vendita.

Per valutare l'efficacia e l'attività antivirale del gel oftalmico, la sperimentazione si è suddivisa in diverse fasi:

1) Analisi della tollerabilità di Ozodrop® su cellule corneali umane. Il gel è stato utilizzato a diverse concentrazioni per trattare cellule HCE-2 fino a 72 ore. La vitalità delle cellule trattate è stata valutata tramite saggio colorimetrico e paragonata con la vitalità delle cellule non trattate.
2) Analisi parallele dell'attività rigenerativa di Ozodrop® tramite scratch test in vitro e trattamento di cornee ex vivo. L'efficacia è stata valutata dopo 24 ore di trattamento tramite microscopia e analisi delle citochine infiammatorie.
3) Analisi dell'attività antivirale. Per le infezioni è stato utilizzato un ceppo di SARS-CoV-2 propagato nel laboratorio BSL-3, e utilizzato per infettare le cellule. Dopo l'infezione, le cellule sono state trattate con Ozodrop® per 24, 48 e 72h. La carica virale è stata quantificata tramite rt-qPCR sia all'interno delle cellule dopo lisi, che nel mezzo di coltura.

I risultati ottenuti hanno mostrato che il gel oftalmico possiede proprietà rigenerative su monostrati danneggiati meccanicamente e proprietà antiinfiammatorie in condizioni di occhio secco ricreate ex-vivo. Inoltre ha dimostrato attività antivirale con una riduzione del titolo di SARS-CoV-2 di quasi 4 logaritmi dopo trattamento con Ozodrop® di 72 ore.

LTTA

Laboratorio per le Tecnologie delle Terapie Avanzate



LTTA è un Laboratorio accreditato dalla Regione Emilia-Romagna che si basa sull'attività coordinata di servizi con competenze complementari e fortemente indirizzate all'innovazione e al trasferimento tecnologico nel settore delle Scienze della vita e Tecnologie per la salute. LTTA si occupa principalmente di studiare, a fini applicativi, i meccanismi di differenziamento e rigenerazione tissutale ed effettuare indagini genomiche e proteomiche in patologie ad alto impatto assistenziale (es: neoplastiche, cardiovascolari, neurodegenerative e infettive). Tra le attività più rilevanti di LTTA si distinguono le attività di preclinical testing su sistemi in vitro e in vivo. I 7 Servizi altamente qualificati di LTTA (Animal facility, Biobanca, Bioinformatica, Citofluorimetria/cell sorting, Interazioni molecolari, biomarkers e delivery, Microscopia Avanzata, Ricerca clinica) interagiscono con imprese ed enti pubblici e privati grazie alla messa a disposizione di competenze, moderne metodologie e strumentazioni. LTTA fa parte di network nazionali ed internazionali di collaborazione per progetti regionali ed europei.

Sito web https://ltta.tecnopolo.fe.it/

Direttore Paola Rizzo