**Realizari in cadrul PROSKIN/ Etapa 1/ an 2018**

**Denumirea etapei 1:** **Caracterizarea fenotipica a celulelor stromale mezenchimale (MSC) izolate din maduva osoasa si tesut adipos (ADSC) precum si a fibroblastilor dermali (FD) prelevati de la subiecti sanatosi in vederea realizarii modelului organotipic cutanat**

**Obiectivul principal** al acestei etape il constituie caracterizarea fenotipica si functionala a celulelor izolate din maduva osoasa si tesutul adipos precum si a fibroblastilor dermici in vederea identificarii celui mai bun tip celular care sustine procesul de reepitelizare.

Prima etapa a proiectului s-a desfasurat in perioada 2 mai – 31 decembrie 2018 si a avut ca obiectiv caracterizarea fenotipica si functionala a celulelor izolate din maduva osoasa si tesutul adipos precum si a fibroblastilor dermici in vederea identificarii celui mai bun tip celular care sustine procesul de reepitelizare. Activitatile care au dus la realizarea acestui obiectiv au fost realizate integral si au dus la urmatoarele concluzii:

- au fost caracterizate cele trei surse de celule mezenchimale umane: MSC, ADSC si FD si s-a constatat ca nu exista diferente din punct de vedere fenotipic intre aceste tipuri celulare, FD prezentand markeri identici celulelor stem mezenchimale, iar vimentina fiind de asemenea prezenta in toate celulele testate;

- s-au caracterizat mediile conditionate prelevate de la MSC, ADSC, FD din punct de vedere al capacitatii acestora de a sustine procesul de reepitelizare. S-a observat astfel ca mediul conditionat prelevat de la ADSC induce cea mai ridicata proliferare (80% fata de controlul pozitiv) in comparatie cu mediul condtionat prelevat de la MSC si FD;

- au fost de asemenea efectuate si experimente de „wound healing” pentru a se identifica mediul conditionat care induce reepitelizarea cea mai ridicata *in vitro.* S-a constatat ca mediul conditionat recoltat de la MSC a avut efectul cel mai puternic de inducere a migrarii in cultura a keratinocitelor versus controlul negativ reprezentat de mediul fara ser.

- a fost elaborat modelul de cultura organotipica cutanata utilizand substituenti de matrice extracelulara si celulele specifice pielii (keratinocite umane si FD umani). Astfel s-a constatat ca FD inglobati in gelul de colagenul de tip I si fibrina sustinstratificarea celulelor epiteliale dupa 7 si 14 zile *in vitro*. De asemenea s-a observat ca in cultura organotipica realizata cu colagen de tip I exista celule epiteliale care prezinta makeri caracteristici celulelor bazale (citokeratina 5 si 14) precum si celule diferentiate terminal care exprima involucrina si filagrina. In cazul utilizarii Matrigelului ca substituent de matrice extracelulara nu au fost obtinute culturi organotipice satisfacatoare structural

- diseminarea rezultatelor a fost realizata prin participarea la 2 conferinte internationale si publicarea unui articol ISI

Activitatile din aceasta etapa au fost indeplinite integral.