

Journal Club

25.01.2016

Ines Tinhofer

Transdermal deferoxamine prevents pressure-induced diabetic ulcers

Dominik Duscher^{a,1}, Evgenios Neofytou^{a,1}, Victor W. Wong^b, Zeshaan N. Maan^a, Robert C. Rennert^a, Mohammed Inayathullah^c, Michael Januszyk^a, Melanie Rodrigues^a, Andrey V. Malkovskiy^c, Arnetha J. Whitmore^a, Graham G. Walmsley^a, Michael G. Galvez^a, Alexander J. Whittam^a, Michael Brownlee^d, Jayakumar Rajadas^{c,2}, and Geoffrey C. Gurtner^{a,2}

^aHagey Laboratory for Pediatric Regenerative Medicine, Division of Plastic and Reconstructive Surgery, Department of Surgery, Stanford University School of Medicine, Stanford, CA 94305; ^bDepartment of Plastic Surgery, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD 21201; ^cBiomaterials and Advanced Drug Delivery Center, Stanford University School of Medicine, Stanford, CA 94305; and ^dDiabetes Research Center, Albert Einstein College of Medicine, New York, NY 10461

PNAS | January 6, 2015 | vol. 112 | no. 1

Stanford University School of Medicine

PNAS – Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America

Hintergrund

Diabetes mellitus

- 25 Mio. Menschen (U.S.)
- 250 Mrd. \$ pro Jahr

Langzeitfolgen: chron. Wunden, Dekubiti
→ hohe Mortalität
→ führende Ursache nicht-traumatischer
Amputationen (U.S.)

 **Neue Therapieansätze!!!**

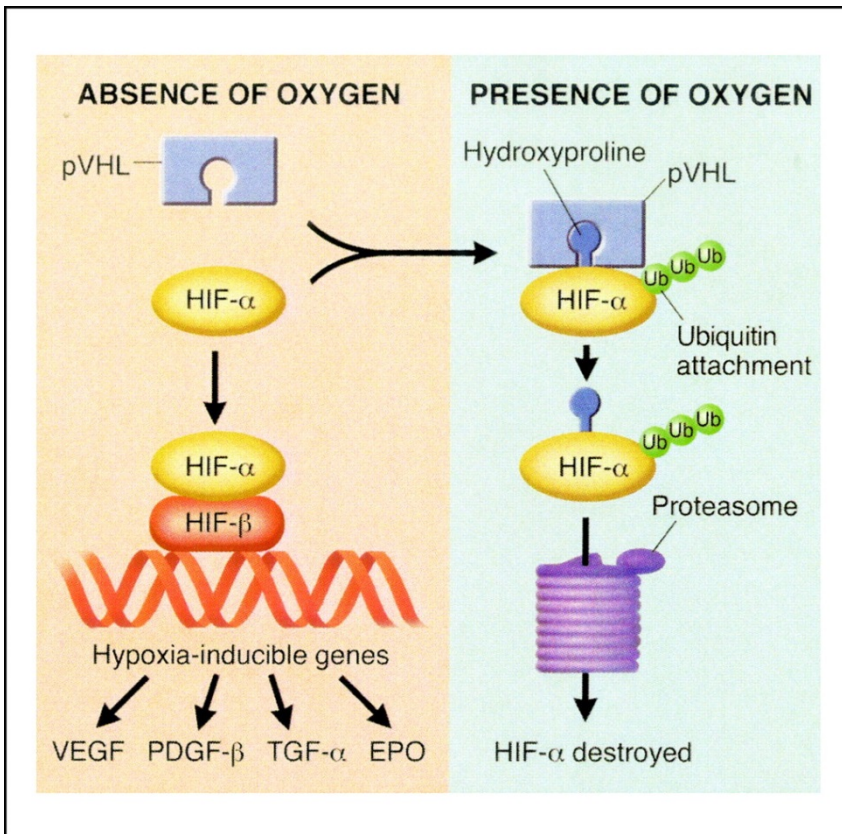
Mechanismus

- Diabetes
 - Ischämie-induzierte Neovaskularisierung
- Hypoxia Inducible Factor-1, **HIF-1**:
wichtiger Transkriptionsfaktor bei Hypoxie
 - Stammzell-Rekrutierung
 - Proliferation
 - Zell-Überleben
 - Neovaskularisierung



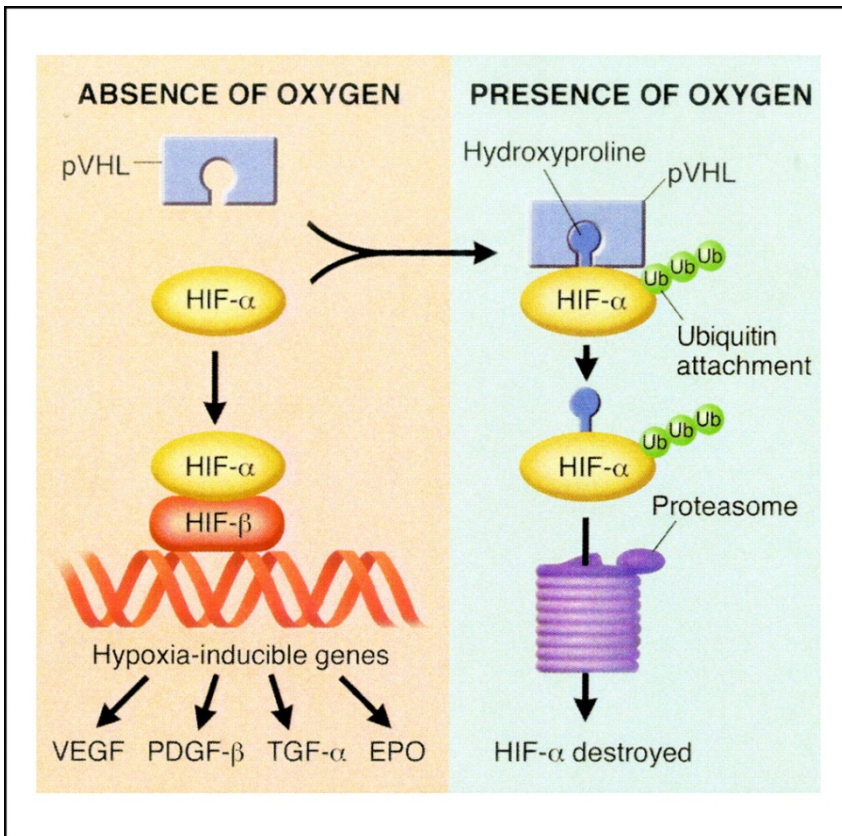
Mechanismus – Kein Diabetes

Hypoxie



- Inhibierung der Propyl Hydroxylase
- Stabilisierung von HIF-1
- Verhinderung des Abbaus dr. Proteasom
- Gen Expression
- Neovaskularisierung & Wundheilung

Mechanismus - Diabetes

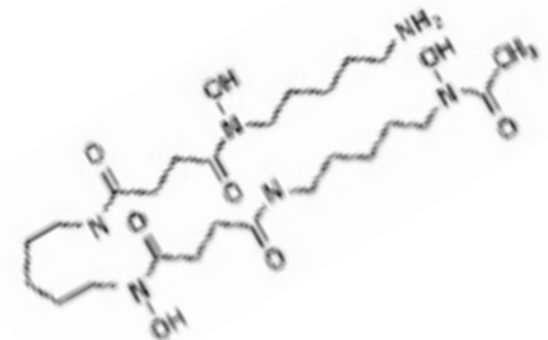


Hypoxie

- Glucose induzierte Dysfunktion von HIF-1
- gestörte Gen Expression
- Neovaskularisierung & Wundheilung ↓

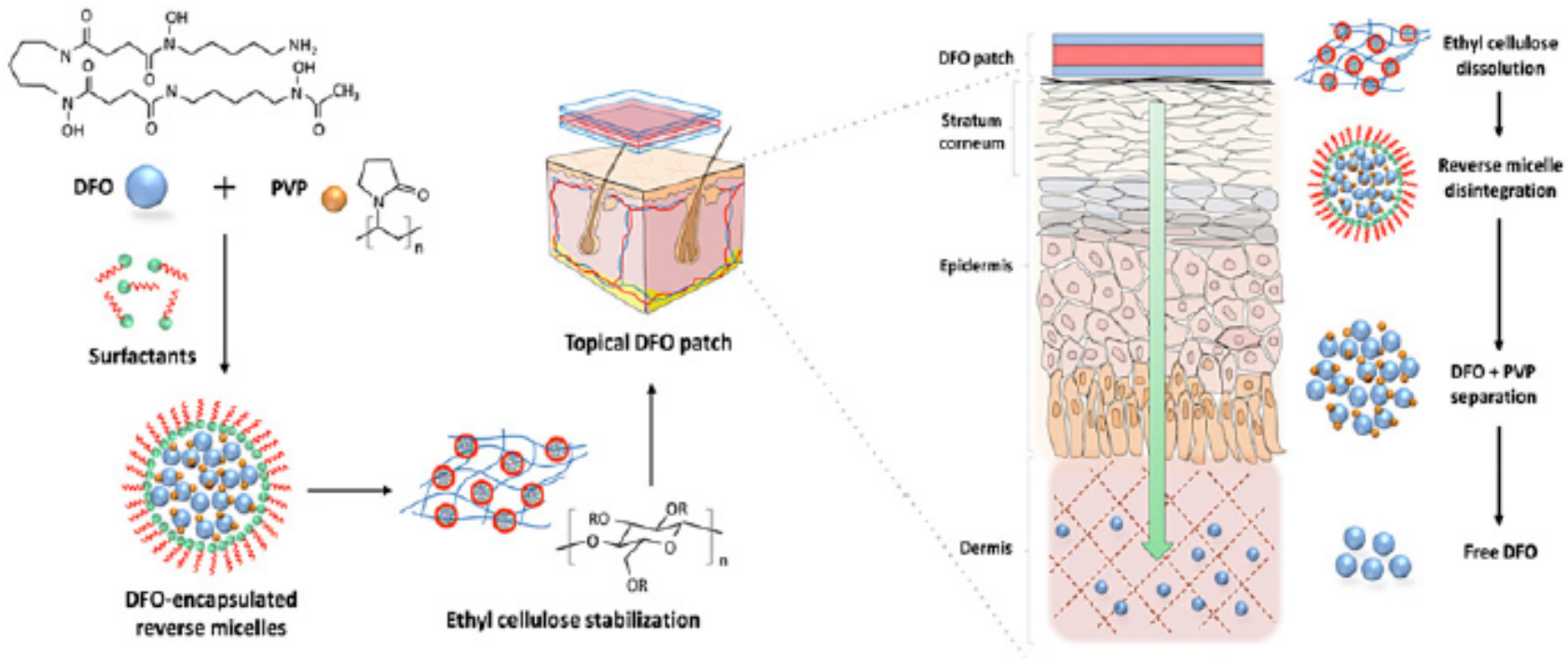
Deferoxamine, DFO

- Eisen-Chelatbildner
- Zugelassen durch die Food Drug Agency, FDA
- Korrigiert gestörte HIF-1 Funktion bei Diabetes
- Reduziert Bildung freier Radikale & Zelltod
→ Wundheilung ↑ Nekrose ↓
- Kurze Halbwertszeit
- Systemische, potentiell tox. Nebenwirkungen



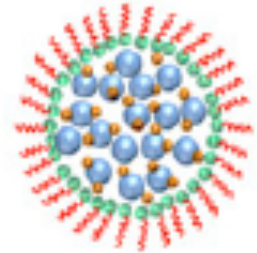
DFO

Entwicklung eines transdermalen drug delivery Systems, **TDDS**:



→ Anwendung bei diabet. Wunden im Mausmodell

Methoden & Ergebnisse



TDDS Entwicklung für DFO:

- DFO-Abkapselung in inversen Mizellen
- Dispersion in langsam-abgebender Matrix
- DFO-Beförderung in Dermis

Morphologie-Analyse mittels

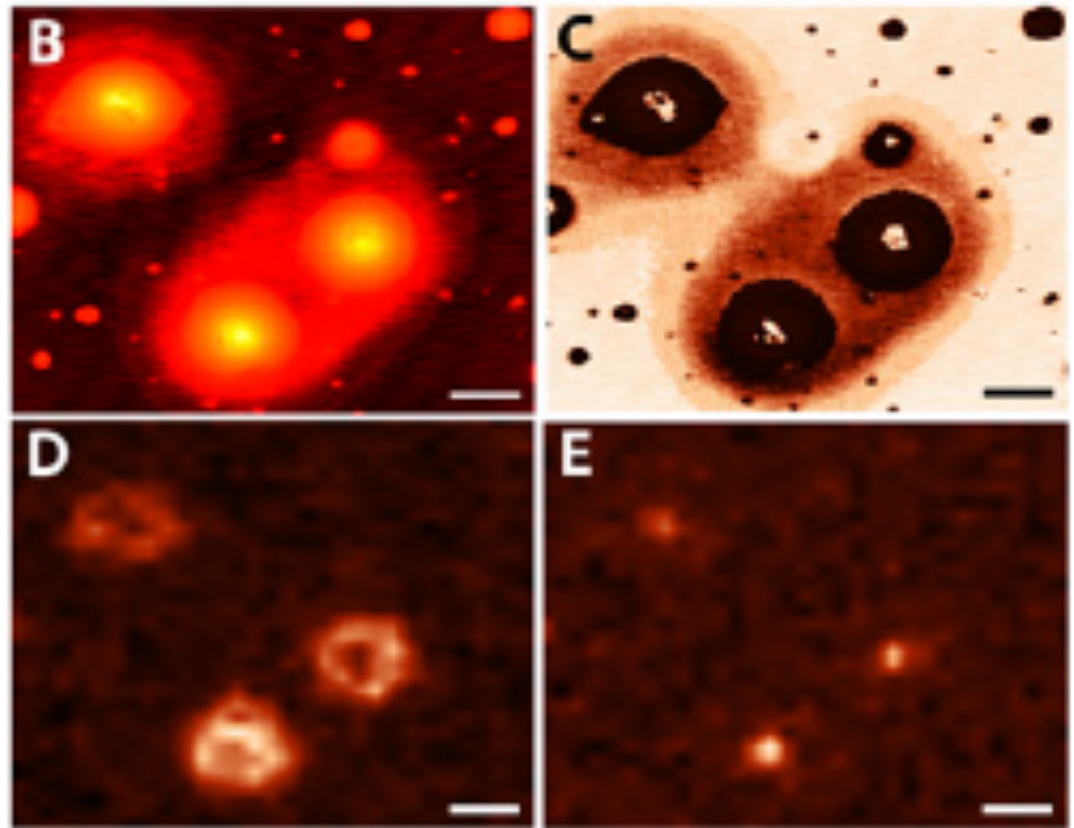
- Atomic Force Mikroskopie, AFM
- Raman Spektroskopie

Morphologie

B,C: AFM

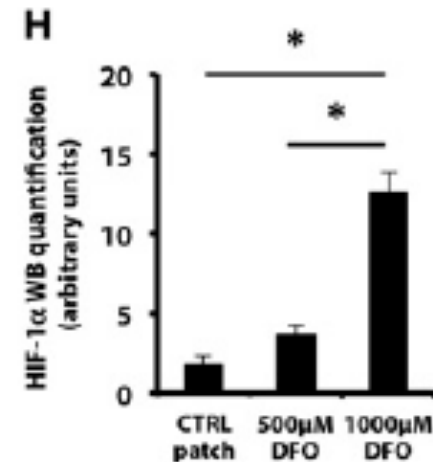
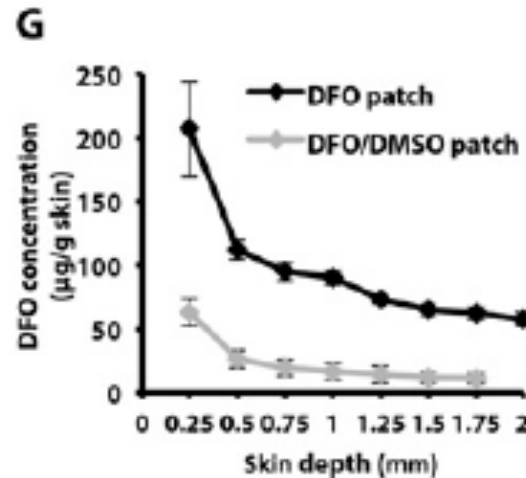
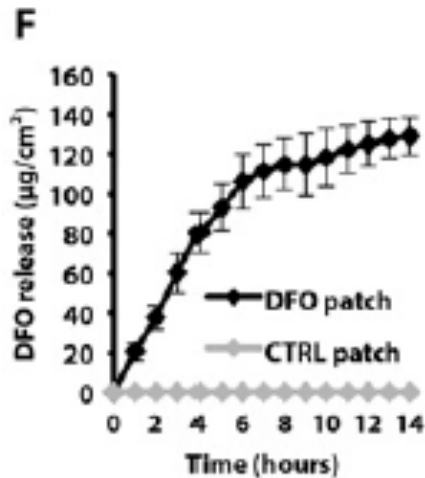
Inverse
Mizellen, DFO
innerhalb

D,E: Raman S.
Lipidhülle, DFO



DFO –

Freigabe & Permeation



In-Vitro:

Inkubation in Pufferlösung → kontinuierliche DFO-Freigabe

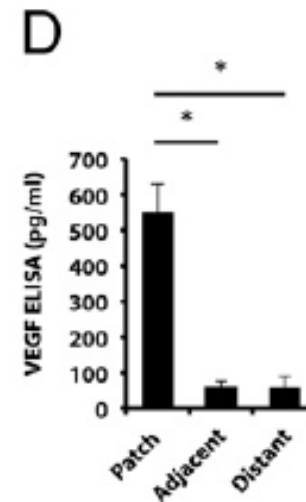
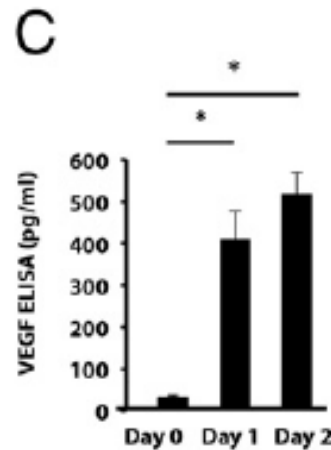
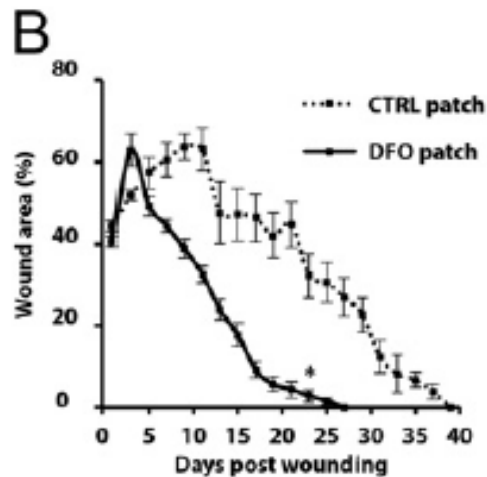
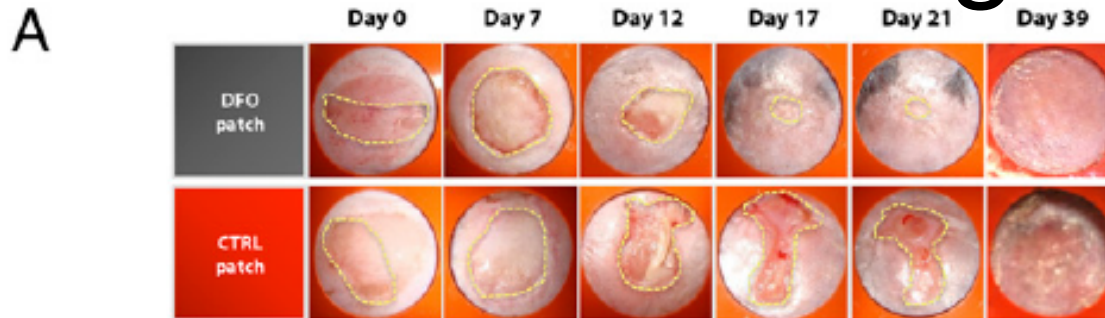
In-Vitro:

Haut Permeation mittels Franz Diffusions-Zelle nach 24h → inverse Mizellen > DMSO

In-Vivo:

Dosis-Wirkung in unversehrten diabetischen Mäusen → HIF-1 Hochregulierung bei 1000µM

DFO – Wundheilung



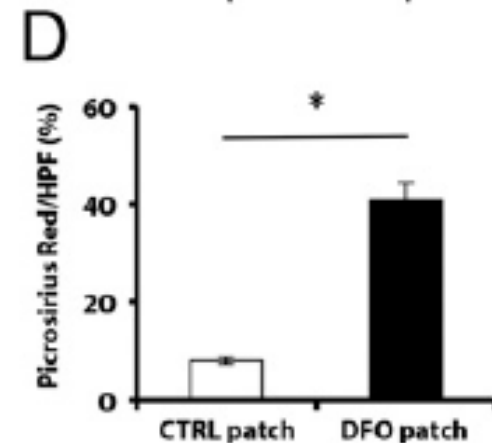
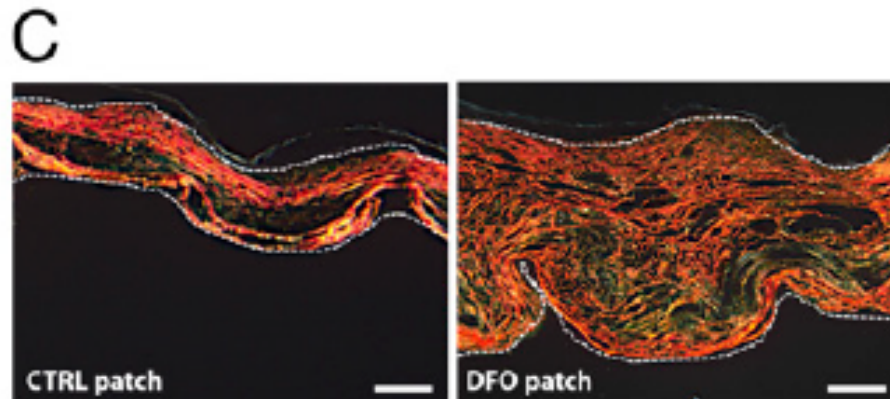
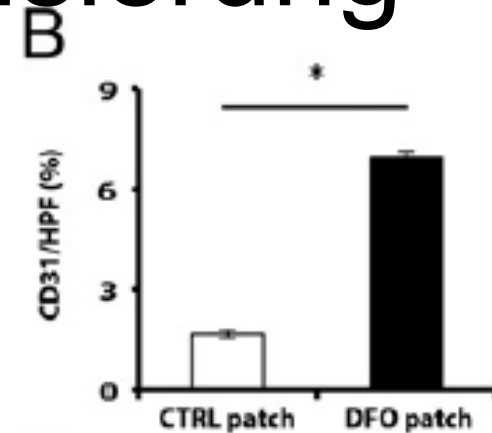
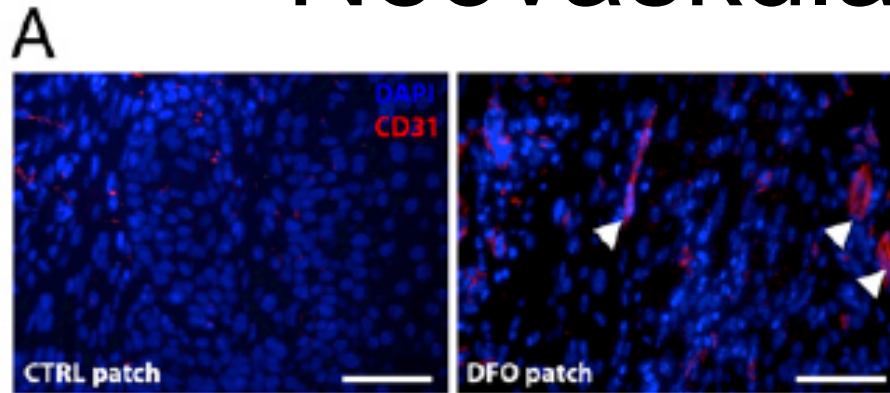
Wundheilungs-Kinetik:
27 vs. 39 Tage bis
Wundheilung (mit DFO-
Pflaster)

VEGF Expression:
Signifikanter Anstieg
nach 24 und 48h
DFO-Applikation

VEGF Expression:
Unter, neben und
5mm entfernt vom
DFO-Pflaster

DFO –

Neovaskularisierung



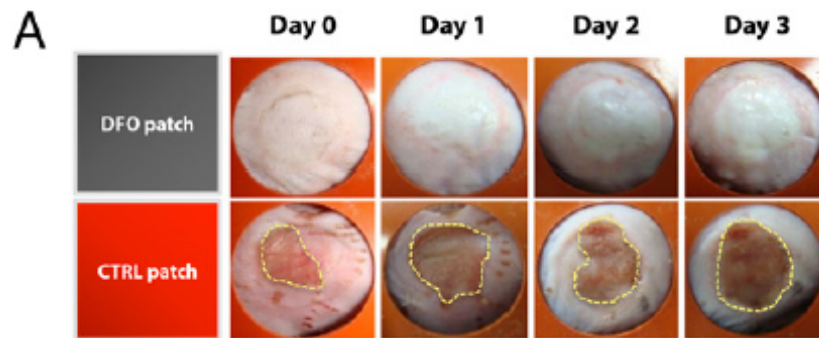
Histologie nach Wundverschluss:

CD31 Immunfärbung für Neovaskularisierung

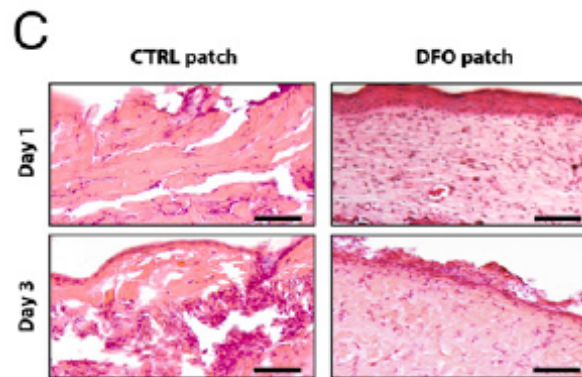
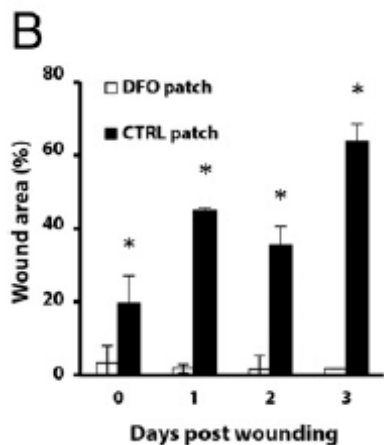
Picrosirius Rot Färbung für dermale Dicke → Vaskularisierung & Qualität



DFO – Prophylaktische Wirkung



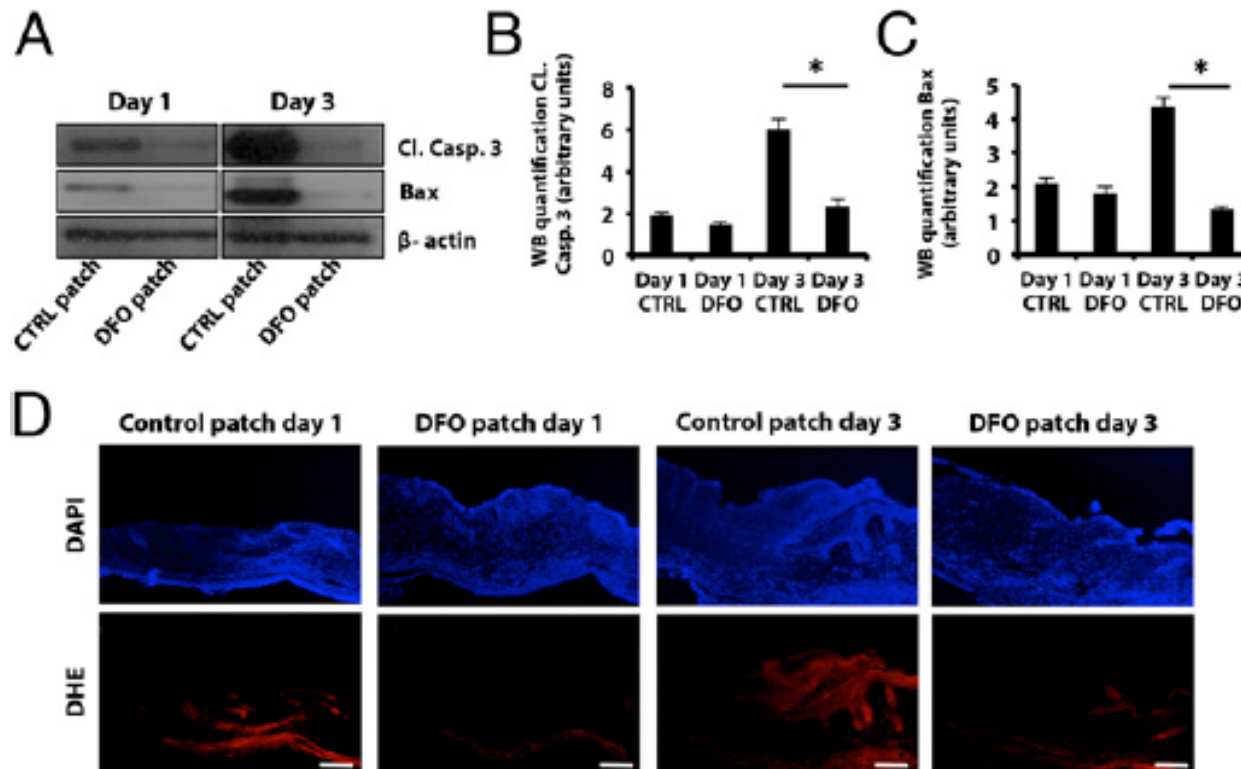
A. DFO-Pflaster für 48h vor Ulcus-Induktion → verhindert makroskopische Ulcera



C. Histologische Analyse: epithelialer Integritätsverlust, Zerstörung dermalen Architektur & tiefgreifende Entzündungsreaktion **vs.** minimaler Gewebedestruktion

DFO –

Nekrose, Apoptose, ROS



- A. Western blot von Apoptose-Markern (Cleaved caspase 3 & Bax)
 B. Quantifizierung des Western blot
 D. DHE-Immunfluoreszenzfärbung für oxidativen Stress: ROS-Kumulation - rot

Zusammenfassung

Verbesserung der Wundheilung bei
Diabetes durch:

- Modulation von biologischen Pathways
- Verbesserung von Gewebe-Reparatur
- Prevention diabetischer Wunden

Diskussion

Pro's

- Zeitnahe klinische Umsetzung möglich
- Erste preventive Option
- Kostenersparnis
- Einfache Handhabung
- Inovativer Zugang mittels TDDS

Kon's

- Editor vorausgewählt
- Sponsoring vorhanden
- Wahl der Ergebnisse
- Krebsauslösend???
- Molekulare Mechanismen nicht ganz geklärt

Ulcer Protocol

