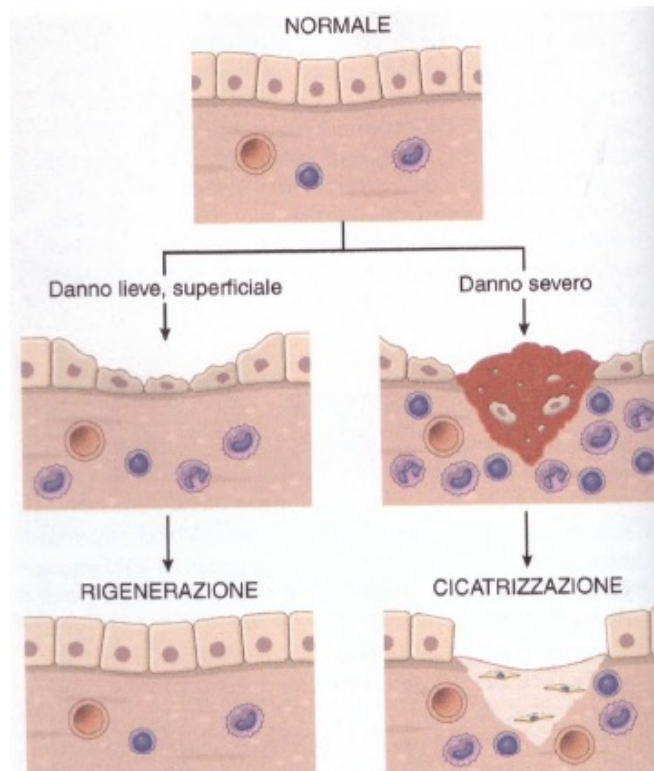


Riparazione tissutale

La riparazione dei tessuti danneggiati avviene con due processi:

- **Rigenerazione:** ripristino delle cellule normali. Alcuni tessuti sono in grado di sostituire le componenti danneggiate con tessuto identico a quello leso. Può avvenire attraverso la proliferazione di cellule differenziate o delle cellule staminali di un tessuto.
- **Formazione della cicatrice:** deposizione di tessuto connettivo con formazione di una cicatrice. Questo avviene nel caso in cui un tessuto non sia in grado di rigenerarsi o se le strutture di supporto del tessuto sono state danneggiate. Anche se la cicatrice non è in grado di svolgere le funzioni delle cellule parenchimali perse, garantisce la stabilità strutturale e la funzione del tessuto.



In molti tipi di danno sia la rigenerazione che la cicatrizzazione contribuiscono alla riparazione finale. Entrambi i processi coinvolgono la proliferazione di diverse cellule e l'interazione fra le cellule e la matrice extracellulare.

Capacità proliferative dei tessuti

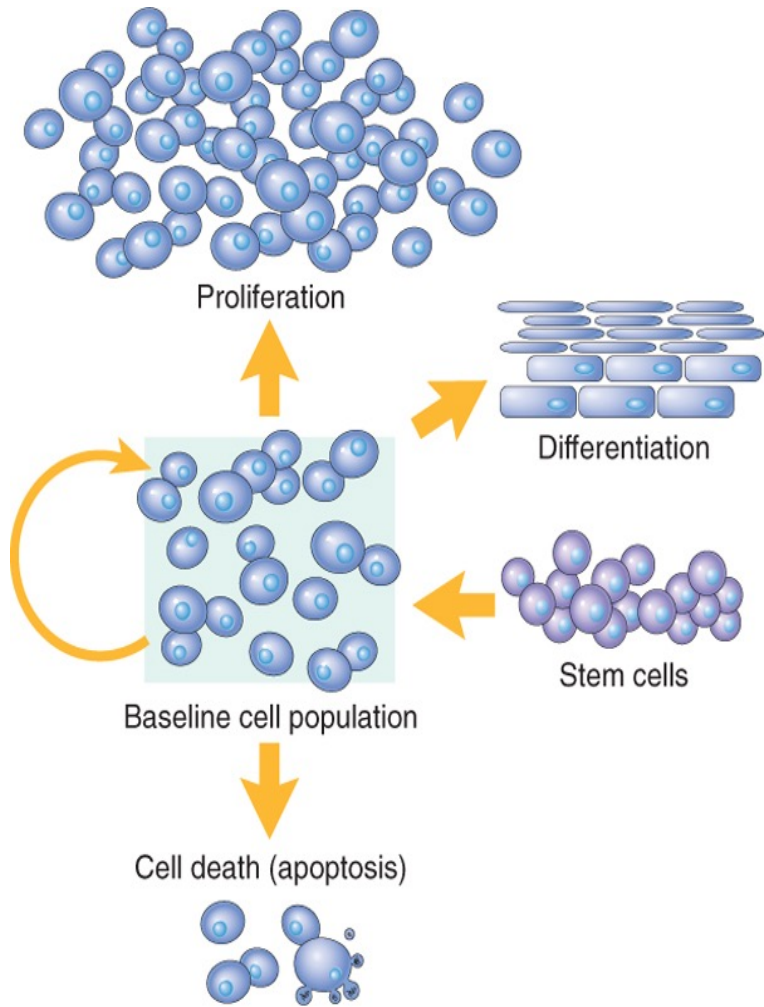
La capacità dei tessuti di riparare è influenzata dalla capacità proliferativa intrinseca, i tessuti possono essere distinti in:

Tessuti labili: (continuamente in replicazione), e cellule di questi tessuti sono continuamente perse e rimpiazzate tramite la differenziazione di cellule staminali. Alcuni esempi includono le cellule ematopoietiche, la maggior parte degli epitelii di superficie: della pelle; dei dotti escretori delle ghiandole esocrine (pancreas, ghiandole salivari..); del tratto intestinale, dell'utero.

Tessuti stabili: le cellule di questi tessuti sono quiescenti e hanno una minima attività replicativa in condizioni normali. In risposta al danno o alla perdita di massa tissutale le cellule del tessuto hanno la capacità di proliferare. Le cellule stabili si trovano nel fegato, nel rene e sono cellule stabili anche le cellule endoteliali, i fibroblasti.

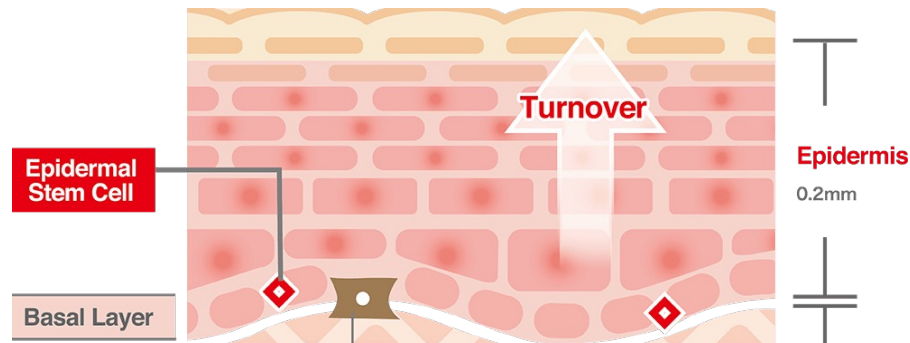
Tessuti perenni: le cellule di questi tessuti sono considerate incapaci di proliferare. La maggior parte dei neuroni e delle cellule del muscolo cardiaco appartengono a questa categoria. Fatta eccezione per i tessuti composti da cellule perenni, la maggior parte dei tessuti maturi contiene percentuali variabili di cellule in continua replicazione, cellule quiescenti che possono riprendere il ciclo cellulare e cellule che hanno perso la capacità replicativa.

Meccanismi che regolano le popolazioni cellulari



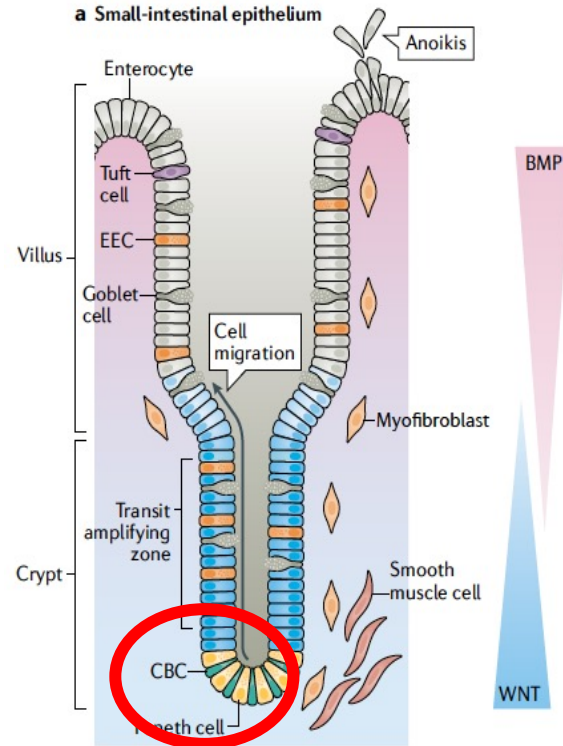
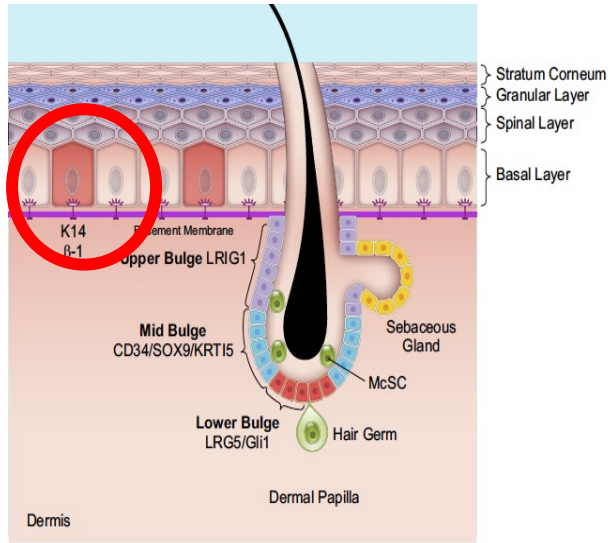
© Elsevier. Kumar et al: Robbins Basic Pathology 8e - www.studentconsult.com

Nei tessuti che si rigenerano, le cellule mature sono cellule differenziate terminali. Quando le cellule mature muoiono sono rimpiazzate dalla differenziazione di nuove cellule che derivano dalle cellule staminali. La normale dimensione numerica delle popolazioni cellulari è determinata dall'equilibrio tra proliferazione cellulare, differenziamento, morte cellulare e generazione di nuove cellule a partire dalle cellule staminali.

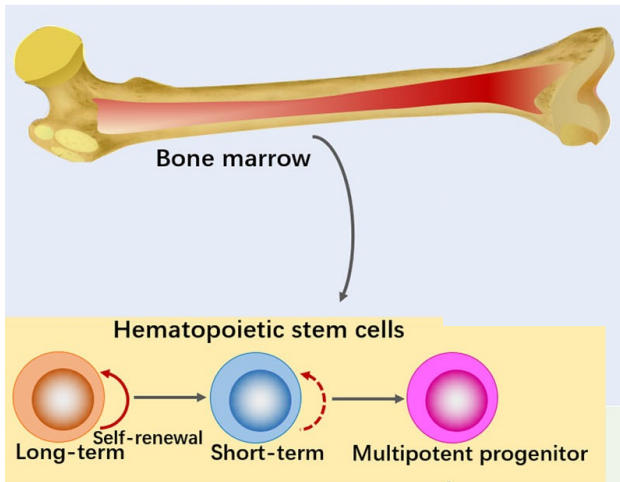


La relazione dinamica fra le cellule staminali e le cellule differenziate è evidente nell'epitelio cutaneo in cui le cellule staminali nello strato basale dell'epitelio si dividono e le cellule figlie differenziano e migrano verso gli strati superiori fino a morire e esfoliare.

Cellule staminali adulte



CBC=crypt based columnar



Le cellule staminali adulte sono coinvolte nella omeostasi dei tessuti.

Queste mantengono le dimensioni dei tessuti ad alto ricambio come ad esempio la pelle, l'intestino e il sangue. In condizioni normali garantiscono il ricambio cellulare (turn-over) dei tessuti.

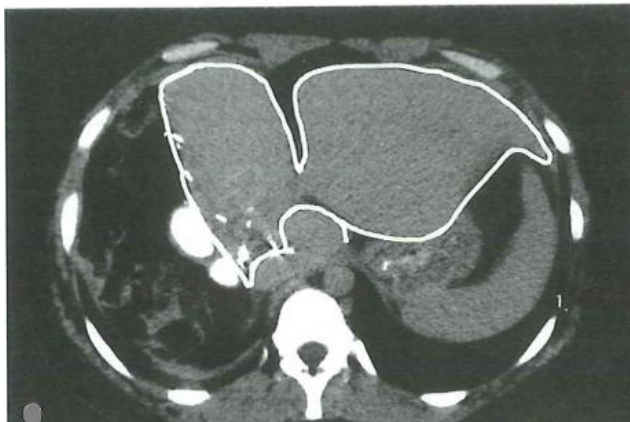
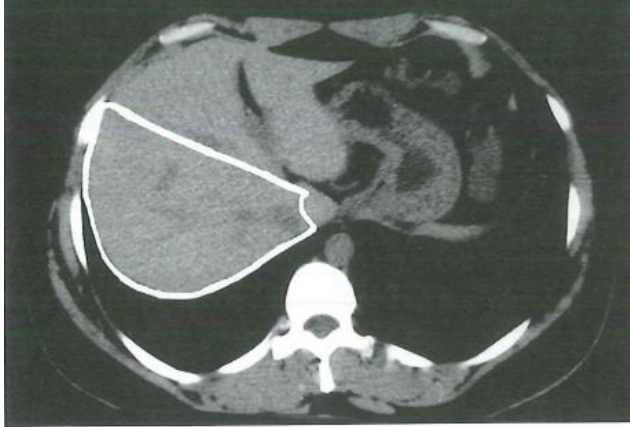
Si localizzano nelle nicchie delle cellule staminali e segnali provenienti da altre cellule le mantengono quiescenti. Queste cellule sono in grado di proliferare e differenziare per rimpiazzare le cellule che vanno naturalmente incontro a morte o per il riparo di ferite.

Le cellule staminali più studiate e maggiormente utilizzate in clinica sono le cellule staminali ematopoietiche (HSC). Queste cellule danno origine a tutte le componenti del sangue. Possono essere isolate dal midollo osseo o dopo mobilizzazione dal sangue periferico con il trattamento con il GM-CSF.

Nel midollo osseo sono presenti anche le cellule staminali mesenchimali che possono dare origine a condroblasti, osteoblasti e mioblasti.

Le cellule staminali adulte possono generare un repertorio limitato di cellule differenziate.

Rigenerazione epatica



Rigenerazione del fegato umano. TC (Tomografia assiale computerizzata) che mostra in alto il lobo destro del donatore. In basso TC del fegato del donatore dopo 1 settimana.

Molti dei processi che sono definiti rigenerativi negli organi dei mammiferi sono fenomeni di **crescita compensatoria** che comportano ipertrofia e iperplasia (aumento del volume dell'organo dovuto a proliferazione cellulare). Questi ripristinano la capacità funzionale dell'organo senza ripristinare l'originale anatomia.

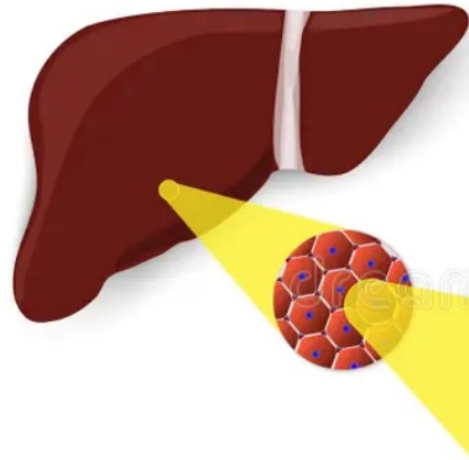
Il fegato umano dopo epatectomia parziale va incontro a ricrescita dei lobi che non sono stati interessati dall'intervento. Questo processo prende il nome di crescita compensatoria.

Dopo una epatectomia dei 2/3 del fegato, la massa dell'organo viene ristabilita dopo 1 settimana. La rimozione di meno di 1/3 del tessuto epatico è seguita non solo da proliferazione degli epatociti ma anche da aumento del volume (ipertrofia).

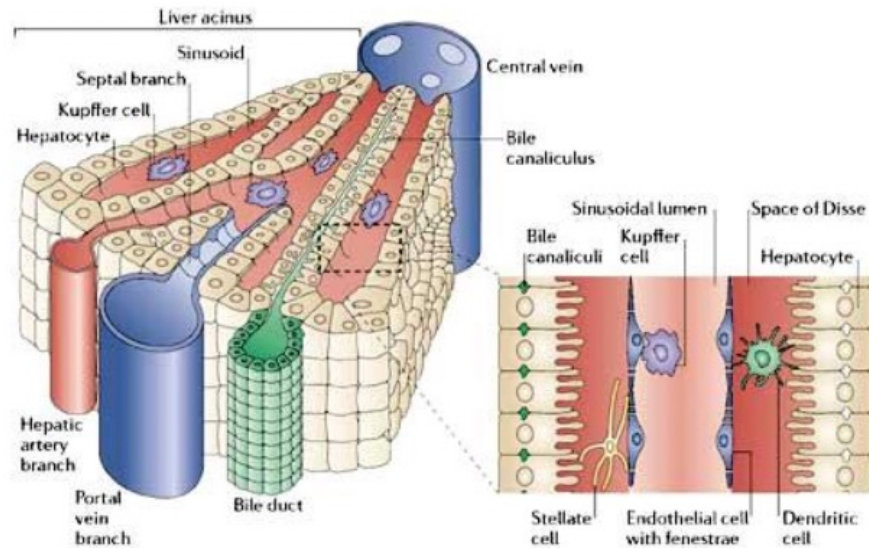
La proliferazione degli epatociti è dovuta all'azione di citochine e fattori di crescita.

L'entrata degli epatociti nel ciclo cellulare è mediato dall'IL-6 e dal TNF- α e l'avanzamento del ciclo cellulare dipende dall'HGF (hepatocyte growth factor).

Struttura di un lobulo epatico

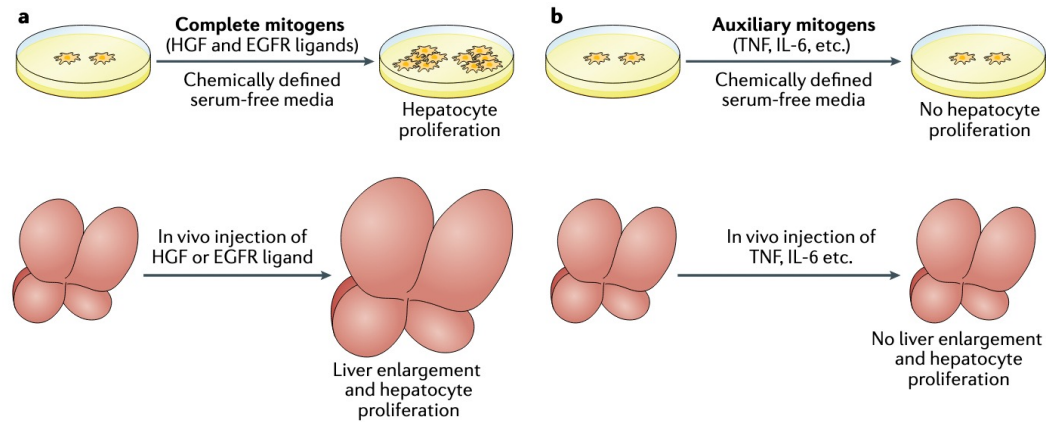


Lobuli epatici



Il sangue entra nel lobulo del fegato attraverso l'arteria epatica che forma i sinusoidi che raggiungono la vena centrale nella regione centrilobulare del fegato. La vena porta trasporta il sangue ricco in nutrienti e proveniente dall'intestino che si mescola con quello della arteria nei sinusoidi. Le cellule del Kupffer si localizzano al livello dell'endotelio fenestrato dei sinusoidi. Nello spazio di Disse (spazio fra gli epatociti e i sinusoidi) si localizzano le cellule stellate e le cellule dendritiche. Gli epatociti formano dei cordoni cellulari e i canali biliari si localizzano fra due cordoni di epatociti.

Eventi precoci nella rigenerazione del fegato

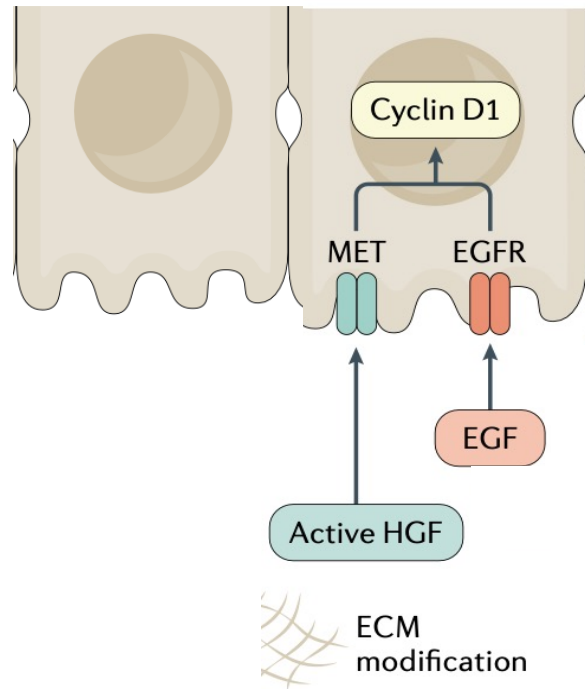


Nell'uomo la resezione fino al 90% del fegato può essere compensata dalla proliferazione degli epatociti rimanenti. Dopo 1 ora dalla resezione del fegato si ha un massivo aumento del fattore di crescita degli epatociti (HGF) nel sangue. Dopo 2-5 ore si osserva un aumento di molecole associate alla rigenerazione del fegato quali l'IL-6, il TNF, gli acidi biliari.

L'HGF e i ligandi dell'Epidermal growth factor receptor (EGFR) agiscono da mitogeni completi. Questi fattori sono in grado di indurre proliferazione degli epatociti se iniettati nel roditore non operato. *In vitro* inducono proliferazione degli epatociti coltivati in terreni definiti e senza siero.

Altri segnali fra cui il TNF- α , l'IL-6 e gli acidi biliari non sono in grado da soli di indurre proliferazione degli epatociti ma la loro assenza ritarda la rigenerazione del fegato.

Azione dei fattori di crescita HGF e EGF sugli epatociti



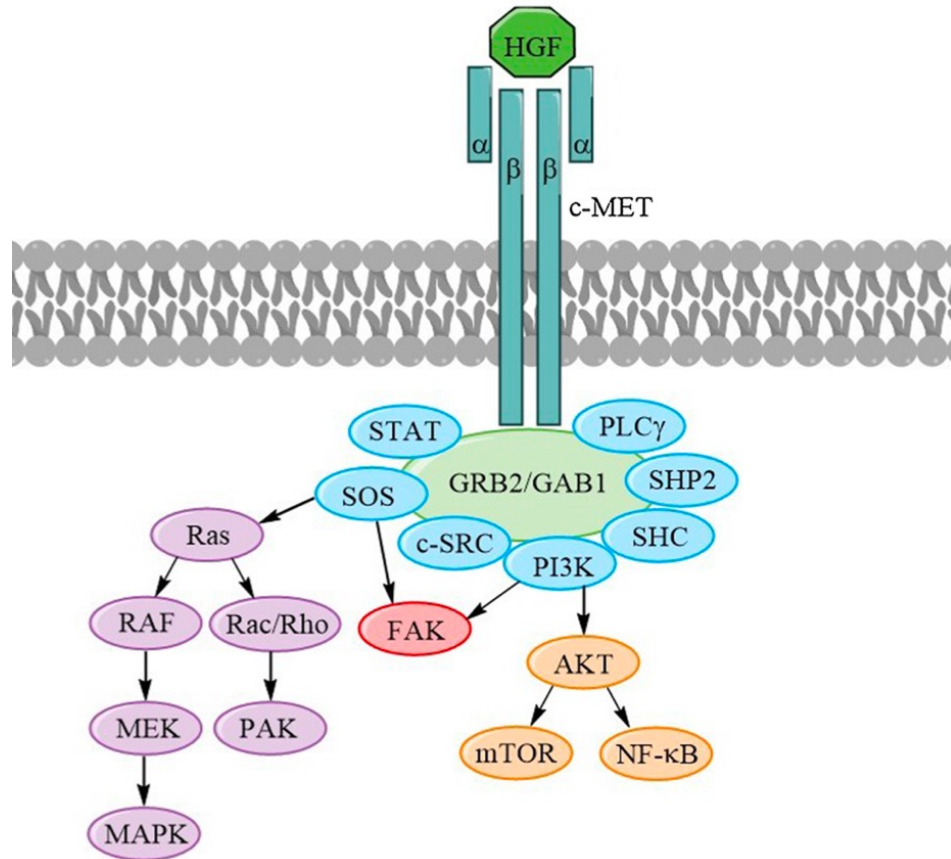
Nel fegato normale e nelle fasi iniziali della rigenerazione epatica l'HGF è prodotto dalle cellule stellate e successivamente anche dalle cellule endoteliali dei sinusoidi.

L'EGFR è espresso in tutte le cellule epatiche ed è un membro della famiglia di recettori ERB. ERBB1 anche denominato EGFR esiste come omodimero o come eterodimero con ERBB3.

I ligandi di ERBB1 rilevanti nella rigenerazione del fegato sono: EGF, TGF α , anfiregulina.

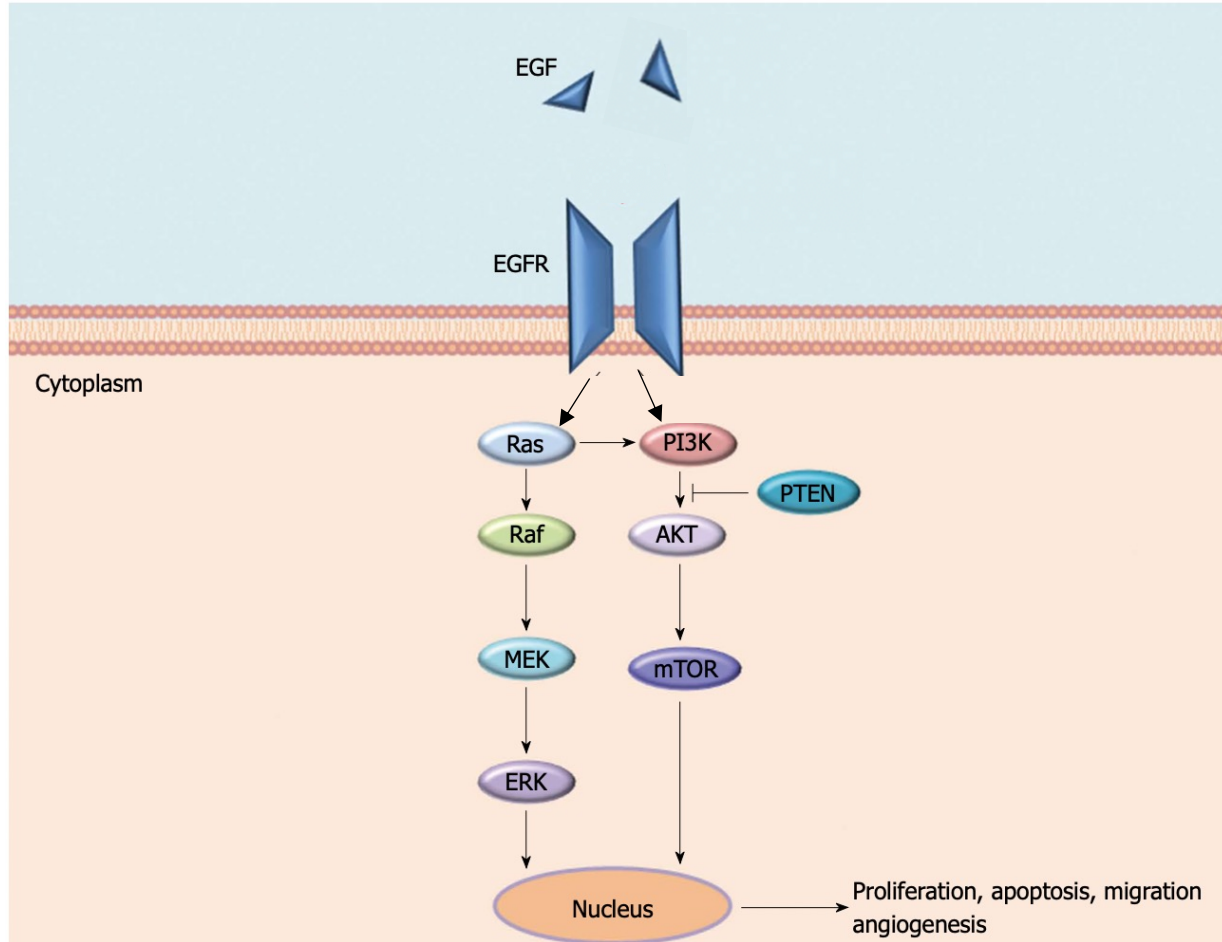
L'eliminazione della segnalazione di MET e dell'EGFR inibisce la rigenerazione epatica.

Segnalazione di MET



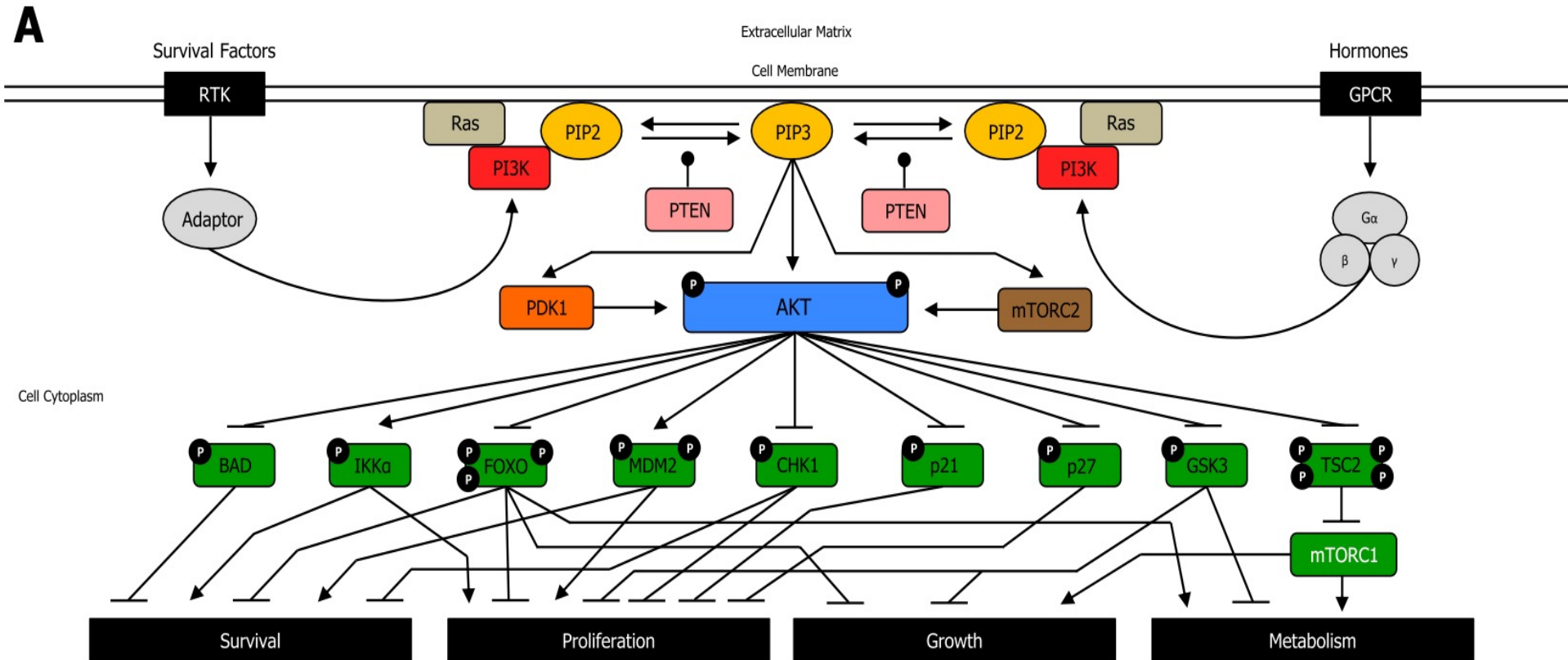
Il legame dell'HGF determina la dimerizzazione di MET (recettore ad attività tirosin chinasi) e la fosforilazione delle tirosine nella sua regione intracitoplasmatica. Questa autofosforilazione determina il reclutamento delle molecole GRB2/GAB1 con attivazione di diverse vie di segnalazione fra cui la via delle MAP chinasi e della PI3K-AKT-mTOR. Entrambe queste vie sono necessarie per stimolare la crescita e la proliferazione cellulare promuovendo l'entrata della cellula nella fase G1/S del ciclo cellulare.

Vie di segnalazione dell' EGFR



L'EGF In seguito all'interazione con il ligando, l'EGFR dimerizza e si transfosforila nella regione intracitoplasmatica avviando nelle cellule di mammifero diverse vie di segnalazione fra cui la via delle MAP chinasi (MAPK, RAS-ERK) e la via della PI3K-AKT-mTOR. Il TGF α e anfiregulina sono prodotti dagli epatociti e i loro livelli aumentano in seguito a rimozione di parte del fegato.

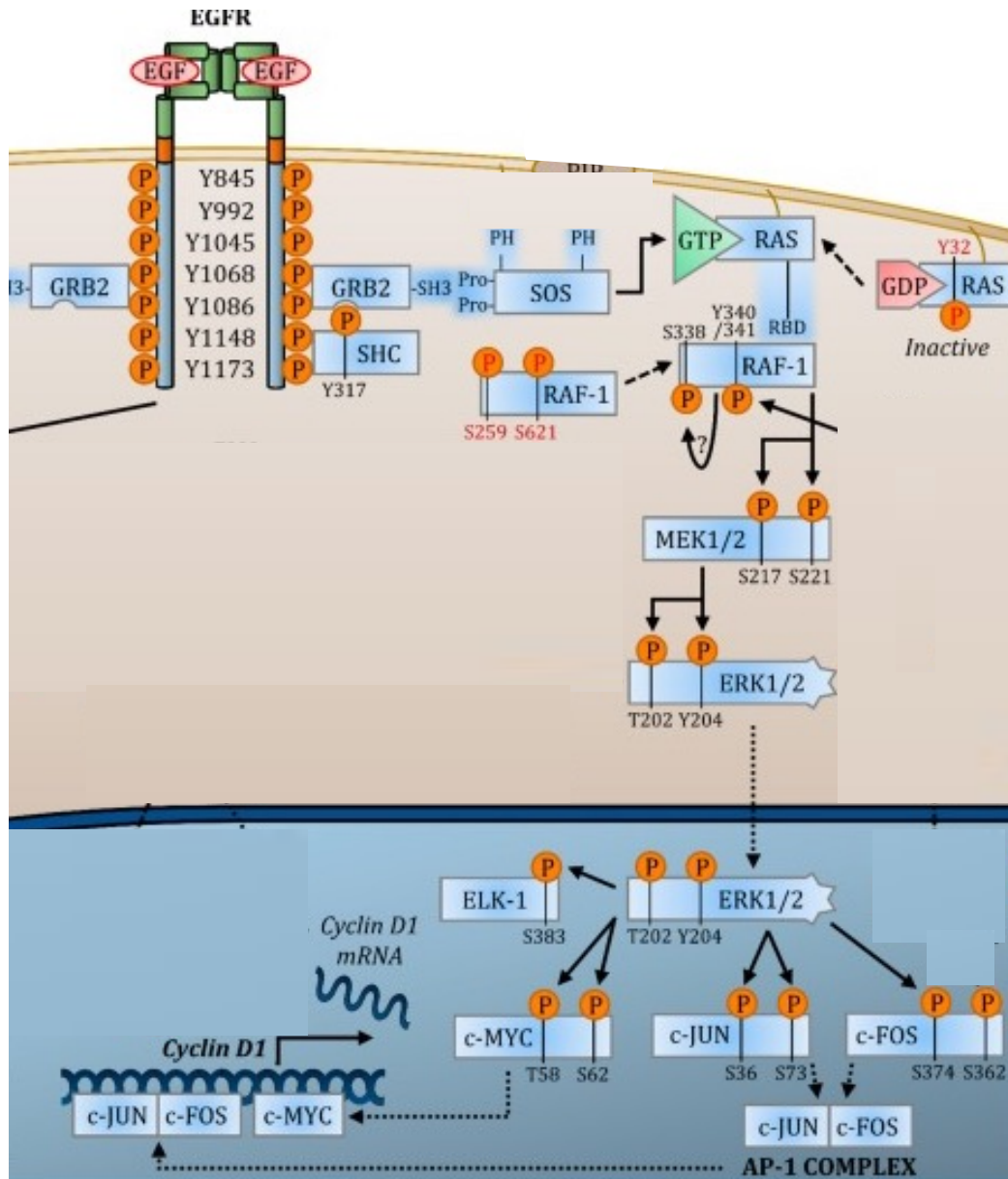
Funzioni cellulari regolate da AKT



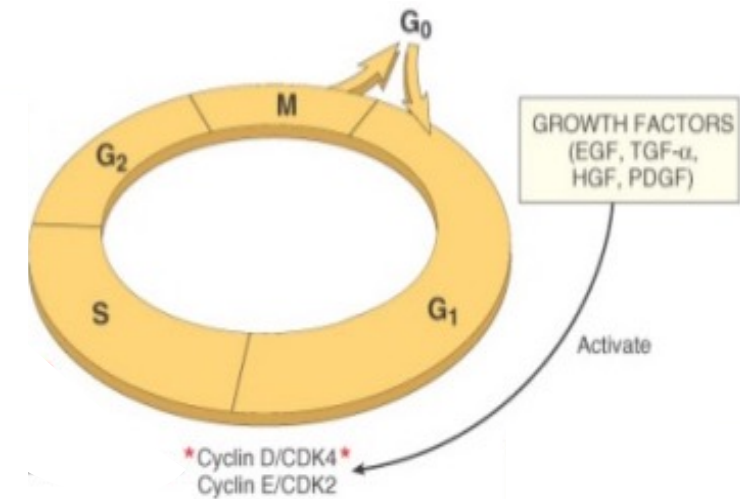
L'attivazione della PI3K determina la fosforilazione di PIP2. Il PIP3 recluta AKT che è fosforilata e attivata da PDK1 e mTORC2. AKT fosforila diversi substrati coinvolti nella regolazione di distinti processi cellulari quali la sopravvivenza, la proliferazione, la crescita e il metabolismo.

Per esempio AKT attiva mTOR che inibisce l'inibitore della traduzione 4E-BP che libera eIF4E (eukariotic translation initiation factor 4E). Inoltre mTOR attiva la chinasi S6K che fosforila la proteina ribosomale S6. Questo determina un aumento della sintesi proteica della cellula.

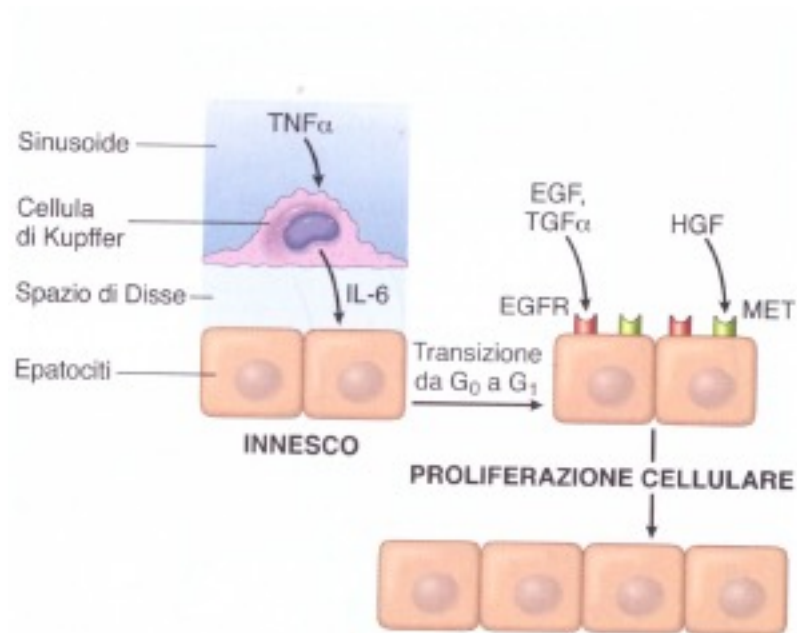
La segnalazione dell'EGFR: attivazione della via delle MAP chinasi nelle cellule sane



L'adattatore GRB2 lega il fattore di scambio dei nucleotidi SOS che stimola l'attivazione della GTPasi RAS con conseguente avvio della cascata delle MAP chinasi che culmina con l'attivazione di fattori trascrizionali coinvolti nella trascrizione dei geni codificanti le cicline D.



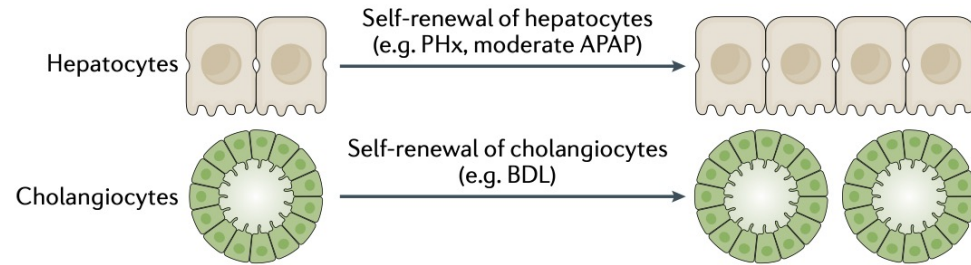
Segnali extra-epatici che modulano positivamente la proliferazione degli epatociti



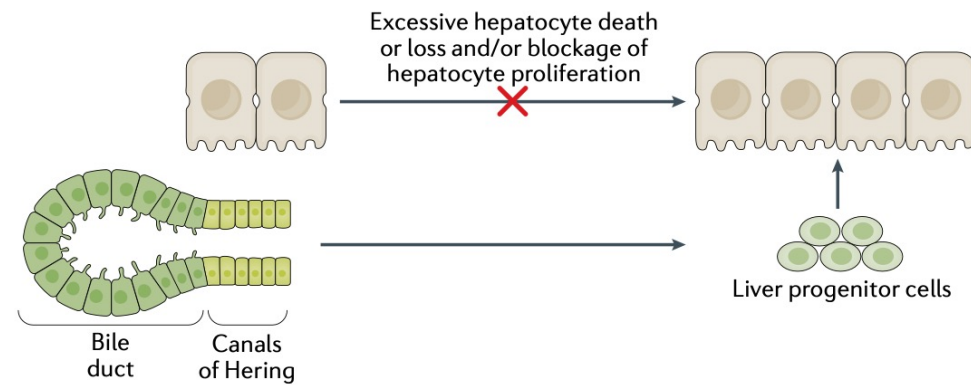
Diverse molecole promuovono la proliferazione degli epatociti ma non sono necessarie per la rigenerazione epatica. Fra queste ci sono : il $TNF-\alpha$ prodotto dai macrofagi epatici, l' $IL-6$ è prodotta dai macrofagi e dagli epatociti.

Transdifferenziamento fra colangiociti e epatociti

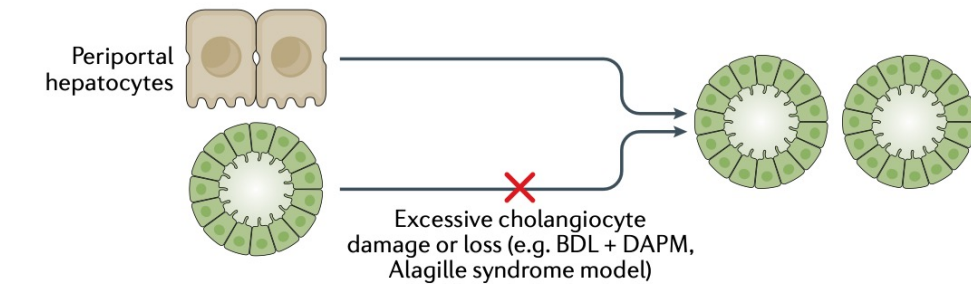
a Normal liver regeneration



b Cholangiocyte conversion to hepatocytes



c Hepatocyte conversion to cholangiocytes



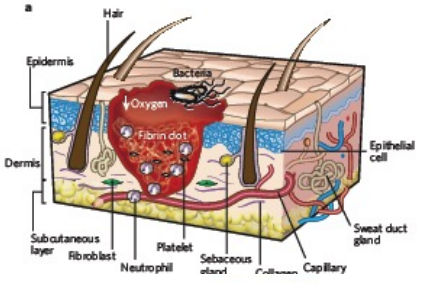
Cicatrizzazione



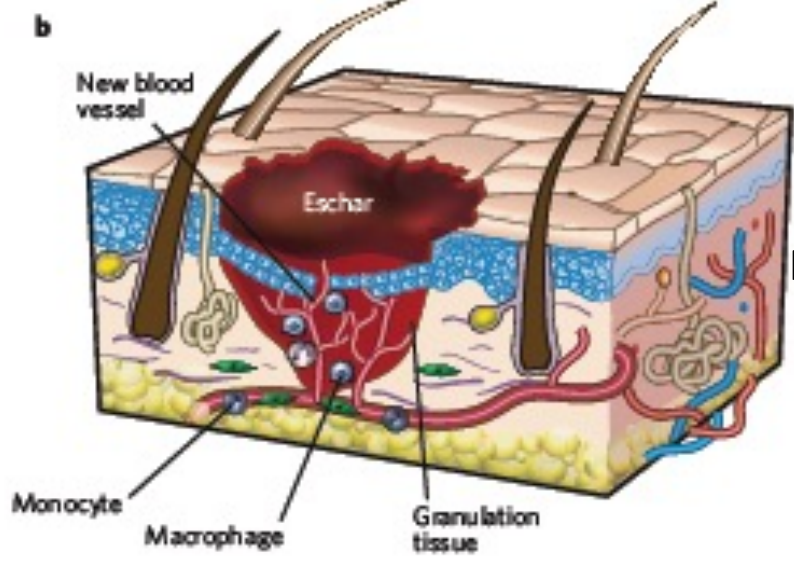
Se l'insulto ad un tessuto non solo danneggia le cellule parenchimali o epiteliali ma anche il tessuto connettivo oppure se vengono danneggiate cellule che hanno perso la capacità di dividersi la riparazione avviene o attraverso la sostituzione delle cellule danneggiate con tessuto connettivo con formazione di una cicatrice o con una combinazione di rigenerazione parziale e cicatrizzazione.

Riparazione mediante deposizione di tessuto connettivo di una ferita cutanea

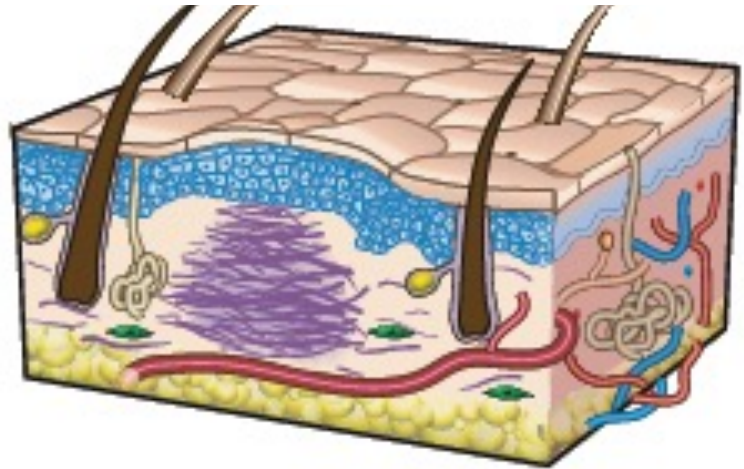
Infiammazione



Formazione di nuovo tessuto



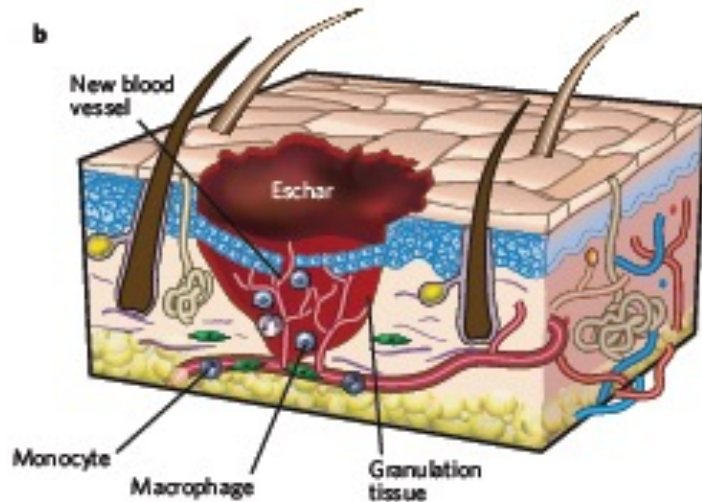
Rimodellamento



Quando gli agenti lesivi e le cellule necrotiche sono state eliminate, l'infiammazione cessa. Il riparo della ferita avviene mediante deposizione di tessuto connettivo che prevede:

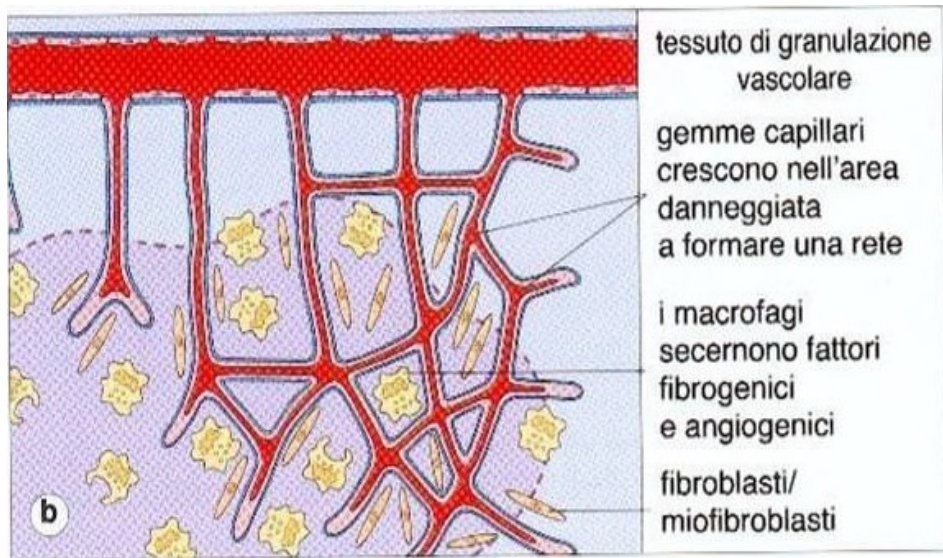
- **La fase di proliferazione cellulare** di diversi tipi di cellule quali le cellule epiteliali, le cellule endoteliali e i fibroblasti. La fase di proliferazione impiega fino a 10 giorni. Ogni tipo di cellula ha specifiche funzioni. Le cellule epiteliali migrano verso la ferita per ricoprirla. Le cellule endoteliali proliferano per formare nuovi vasi. I fibroblasti proliferano e migrano nel sito di lesione e depongono il collagene. I fibroblasti con la deposizione della matrice extracellulare, i macrofagi e la formazione di nuovi vasi generano il tessuto di granulazione. Questo tessuto riempie progressivamente il sito della lesione.
- **Rimodellamento tissutale** che consiste nella sostituzione progressiva del tessuto di granulazione dalla deposizione di collagene.

Fase di proliferazione nella guarigione delle ferite

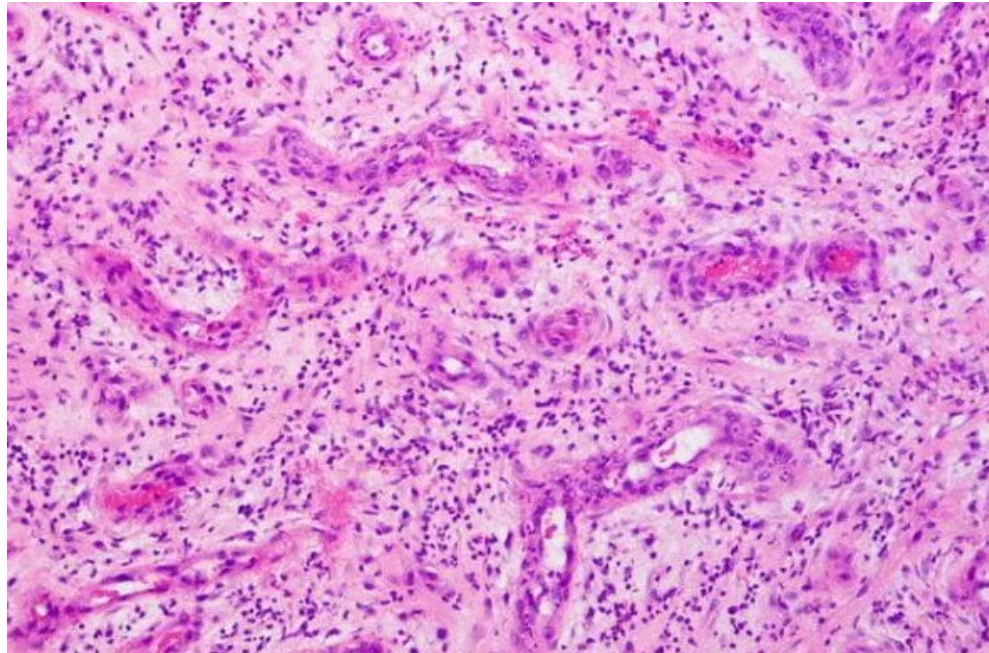


I **macrofagi attivati alternativamente (M2)** svolgono un ruolo centrale nel processo di riparazione fornendo i fattori di crescita per le cellule endoteliali e i fibroblasti e stimolando la produzione di collagene da parte dei fibroblasti.

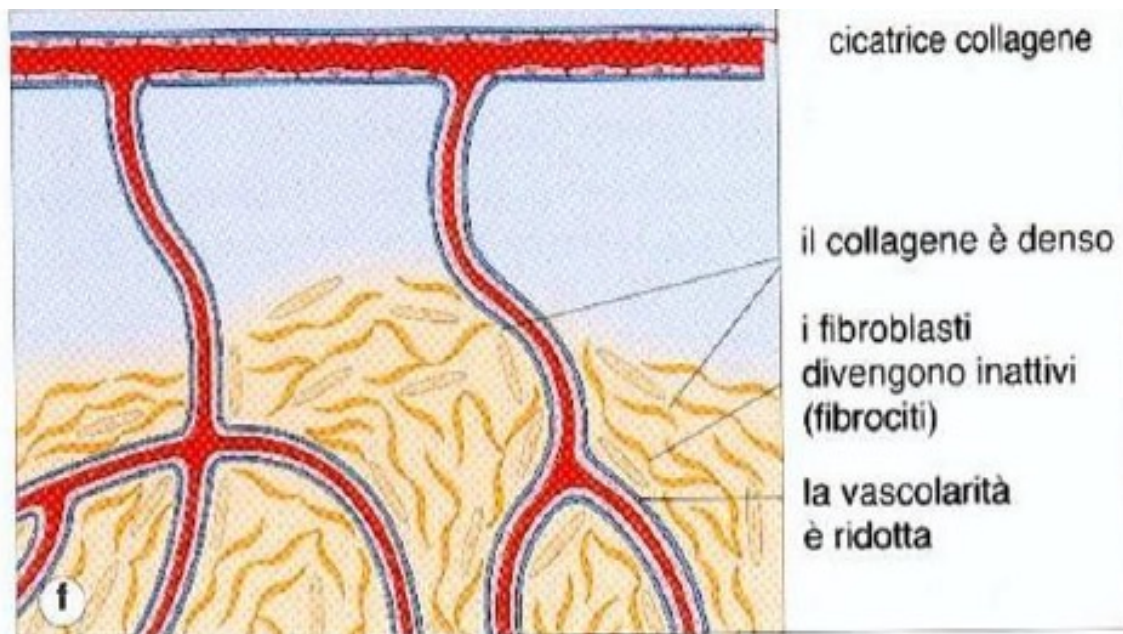
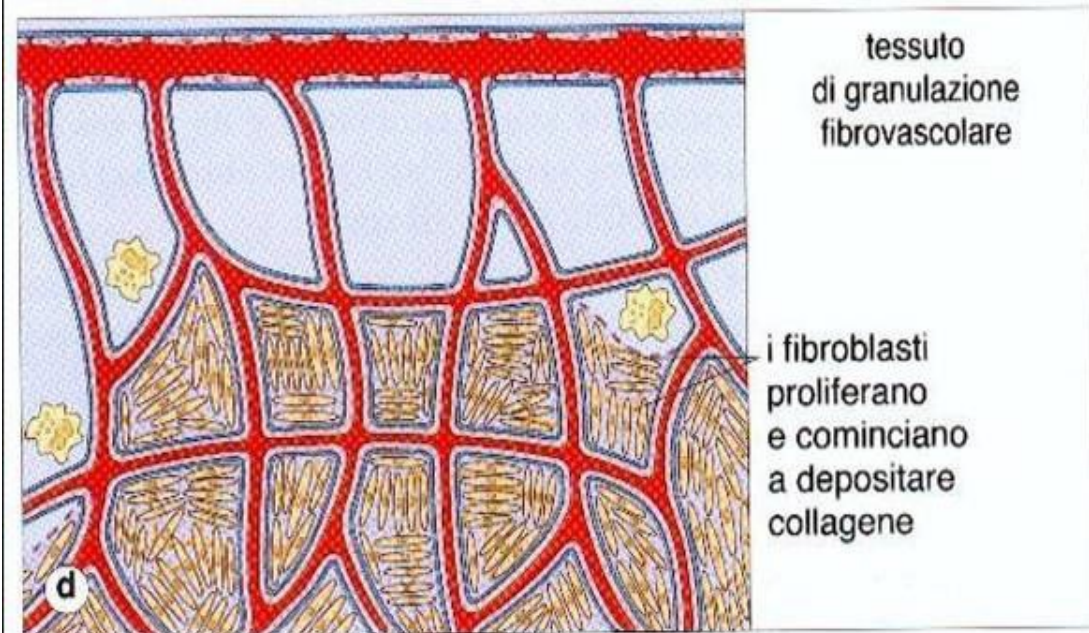
La migrazione dei fibroblasti, la formazione di nuovi vasi sanguigni, la deposizione di tessuto connettivo e la presenza di macrofagi formano il tessuto di granulazione. Questo tessuto prende il nome dal suo aspetto che è rosato, morbido granulare dovuto alla presenza dei neo capillari, dalla proliferazione dei fibroblasti e dalla deposizione di tessuto connettivo lasso.



Tessuto di granulazione



Il tessuto di granulazione è formato principalmente dai fibroblasti attivati, che sintetizzano e depositano le proteine del tessuto connettivo. Il tessuto di granulazione presenta inoltre nuovi vasi sanguigni ed è ricco in macrofagi.

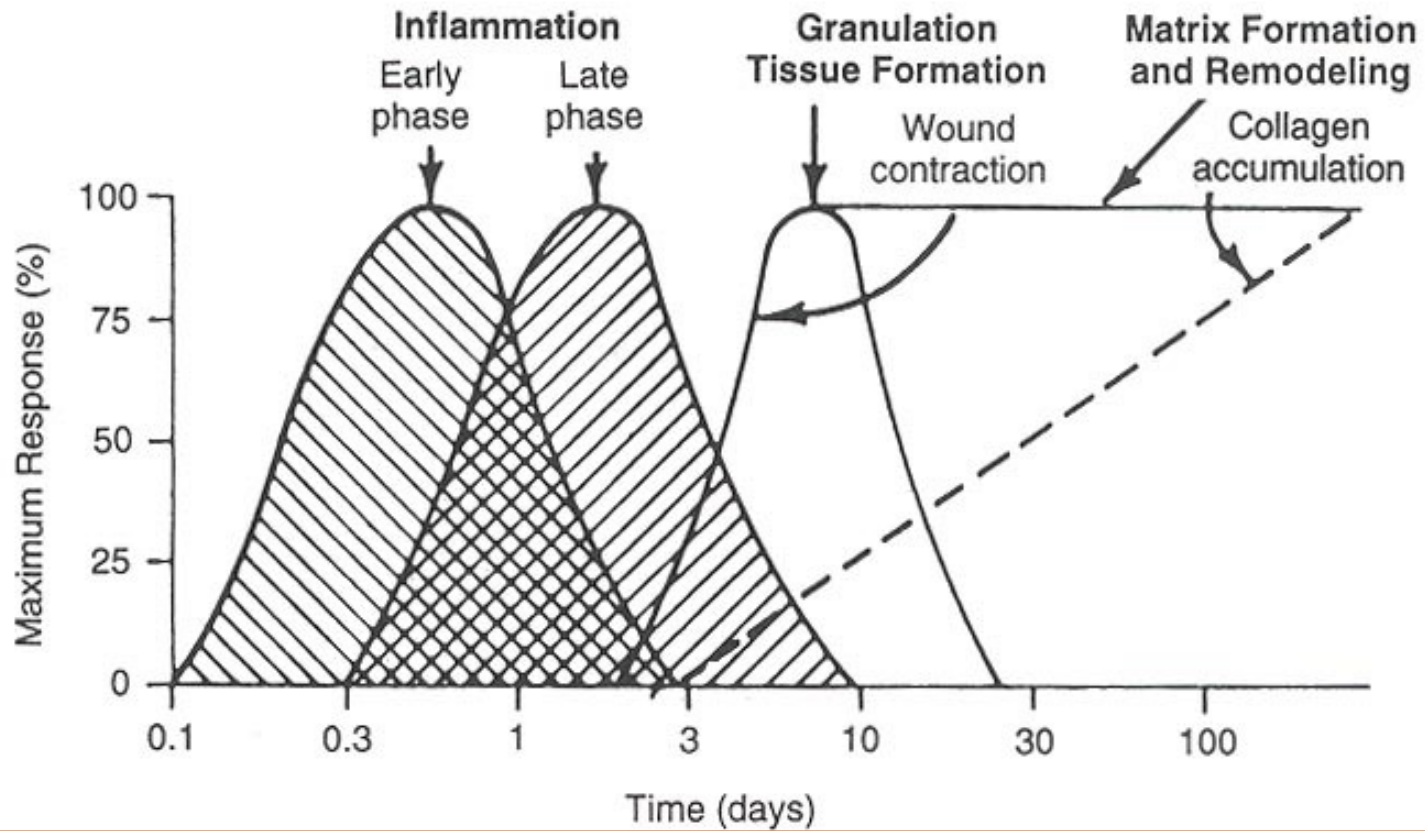


Nel tessuto di granulazione i fibroblasti dopo aver proliferato producono il collagene e altre componenti della matrice extracellulare quali la fibronectina, i glicosamminoglicani, i proteoglicani e l'acido ialuronico.

La matrice extracellulare così prodotta rappresenta il sostegno per l'adesione cellulare e l'organizzazione della crescita e del movimento delle cellule.

Nell'ultima fase **di rimodellamento**, si arresta la formazione del tessuto di granulazione. Si riduce la vascolarità e si modificano i componenti della matrice extracellulare. Il collagene di tipo III prodotto nella fase proliferativa è rimpiazzato dal collagene di tipo I più resistente. Il contenuto cellulare si riduce. Questa fase ha inizio circa dopo 3 settimane e può durare un anno o di più.

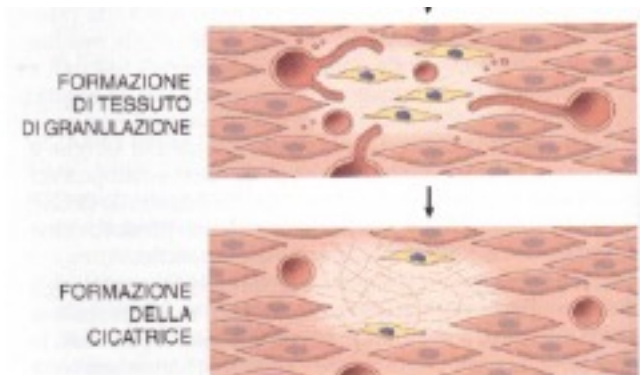
Cinetica del processo di riparazione



Il processo di riparazione ha inizio circa 24-48 ore dopo l'insulto, attraverso la migrazione dei fibroblasti e l'induzione della proliferazione delle cellule epiteliali dei fibroblasti e delle cellule endoteliali.

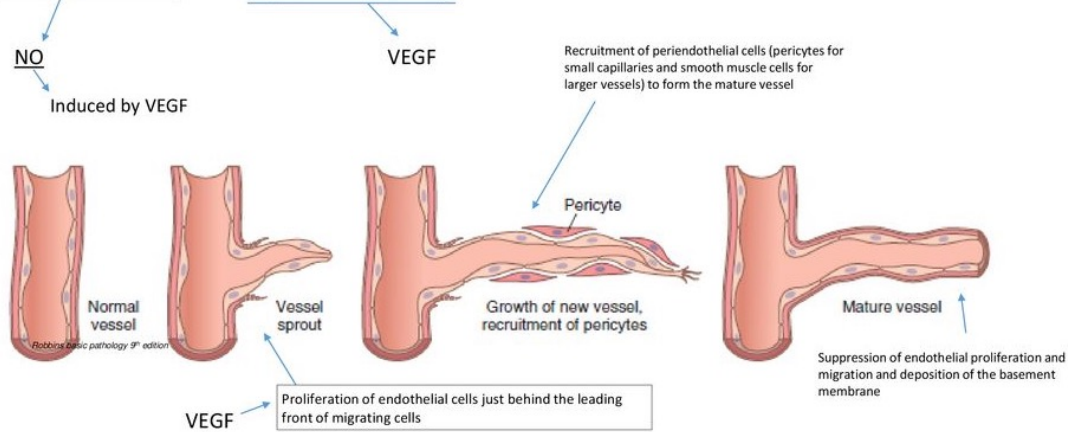
Dopo circa 3-5 giorni si evidenzia il tessuto di granulazione che è caratterizzato dalla proliferazione dei fibroblasti, dalla presenza di capillari con pareti sottili e di una matrice extracellulare rada in cui sono presenti cellule infiammatorie e in particolare macrofagi.

Dopo circa 10-20 giorni ha inizio il processo di rimodellamento della cicatrice che può durare anche anni.



Formazione di nuovi vasi sanguigni

- **Vasodilation and ↑ permeability**



L'angiogenesi è il processo di sviluppo di nuovi vasi che coinvolge la gemmazione di nuovi vasi a partire da vasi esistenti. Questo è un processo fondamentale nella guarigione delle ferite perchè garantisce l'apporto di nutrienti e ossigeno al tessuto che ripara.

L'angiogenesi prevede:

- **La vasodilatazione** in risposta all'ossido nitrico (NO) e aumento della permeabilità indotta dal Vasculare endothelial growth factor (fattore di crescita vascolare, VEGF).
- **La separazione dei periciti** per permettere la gemmazione dei nuovi vasi
- **Migrazione delle cellule endoteliali** verso l'area danneggiata che prevede la degradazione della membrana basale
- **Proliferazione delle cellule endoteliali** dietro al fronte delle cellule endoteliali migranti
- **Rimodellamento dei vasi capillari** che prevede il blocco della crescita delle cellule endoteliali e il rimodellamento in tubi capillari.
- **Reclutamento dei periciti o delle cellule muscolari** per formare i vasi maturi

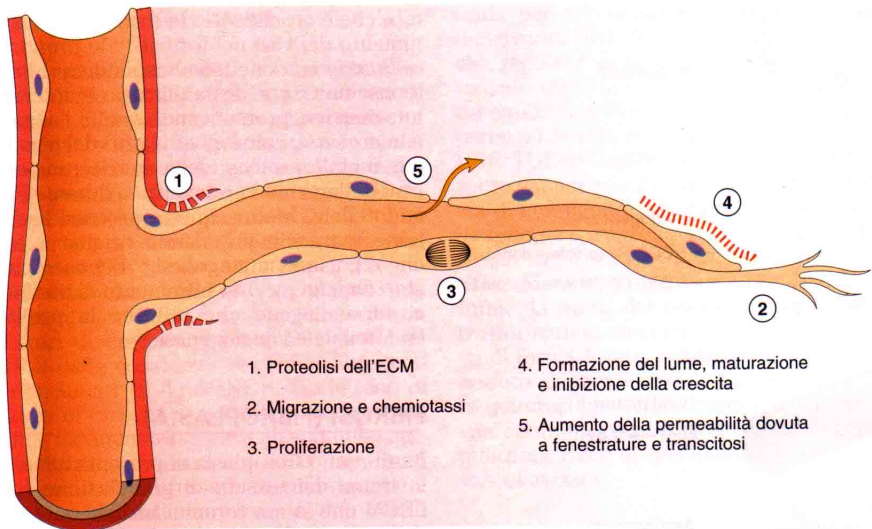
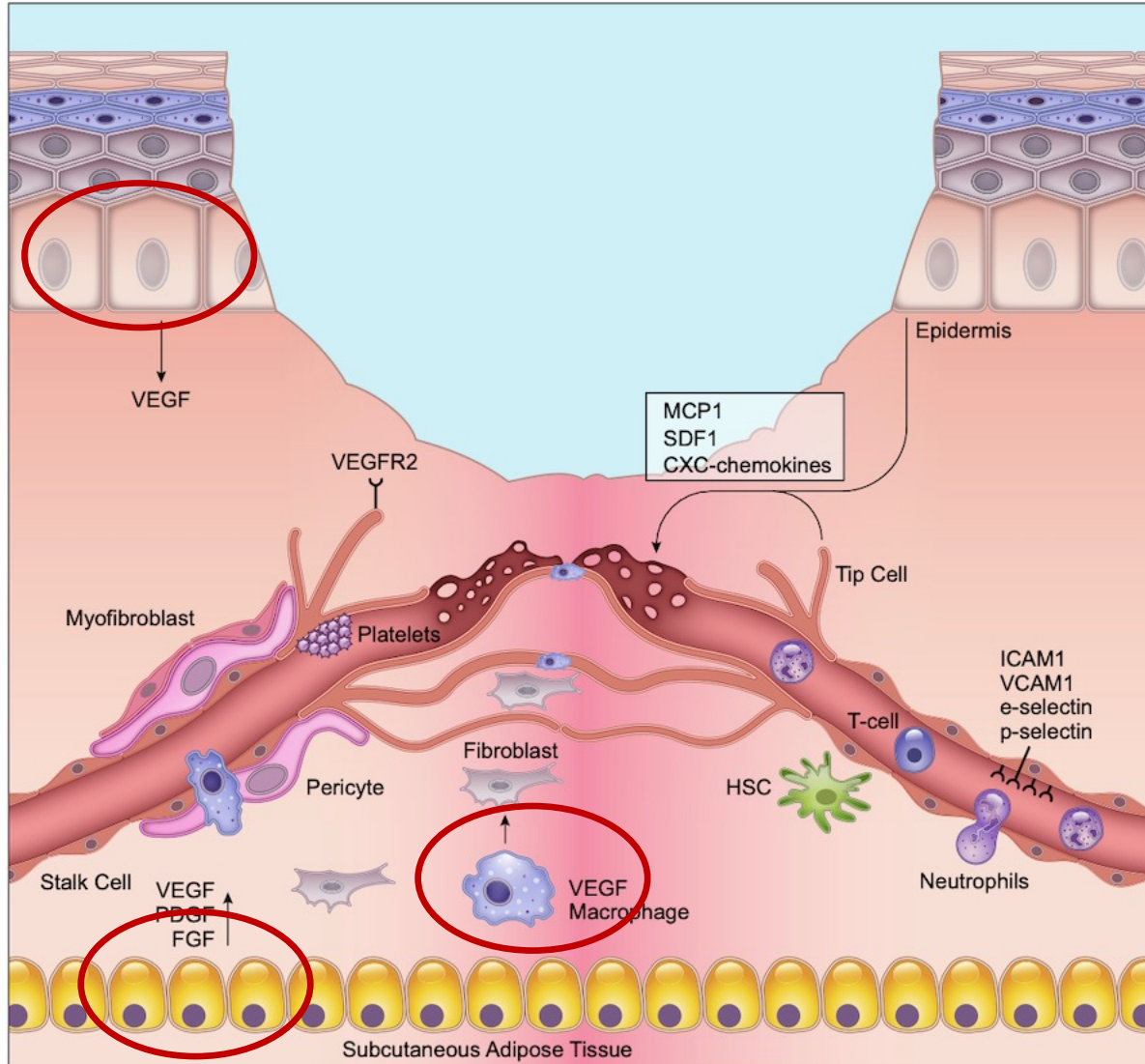


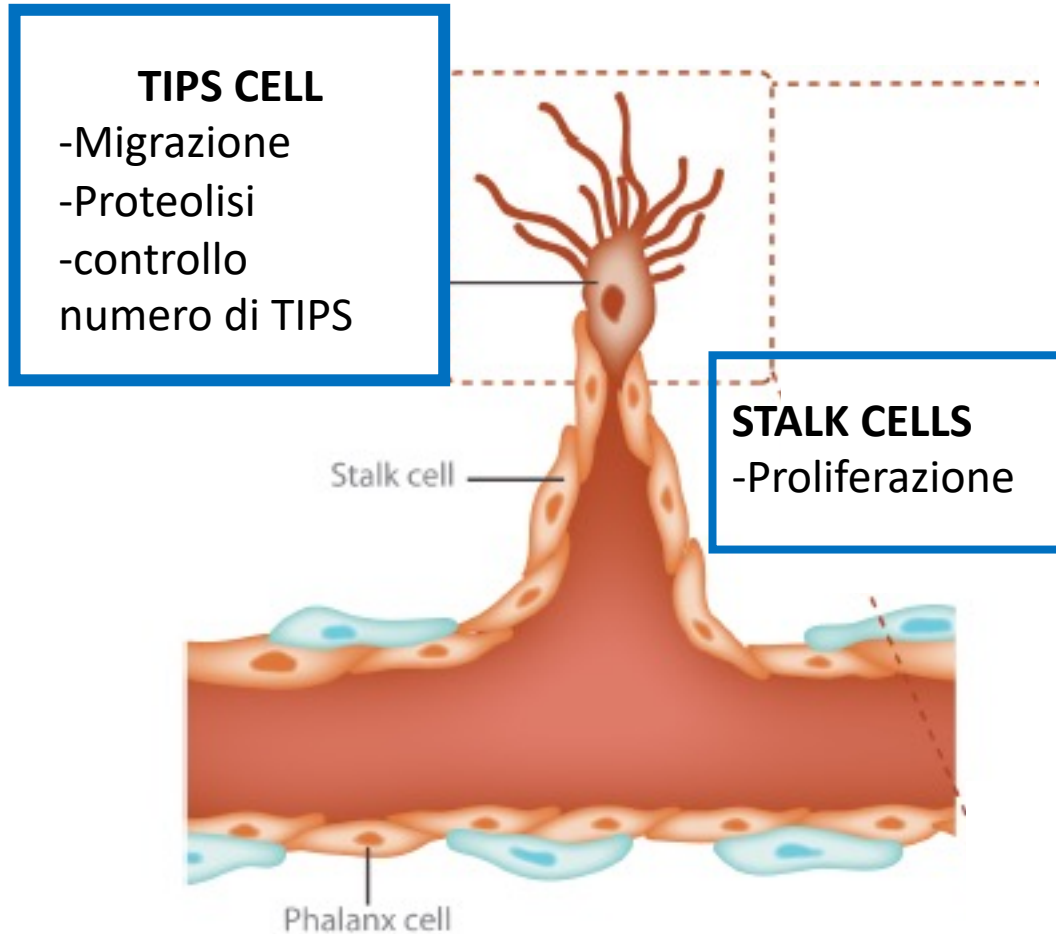
Figura 4-14. Fasi del processo di angiogenesi (vedere testo). (Modificato da Motamed K, Sage EH: Regulation of vascular morphogenesis by SPARC: Kidney Int 51:1383, 1997).

Angiogenesi durante il riparo del danno tissutale



Le cellule endoteliali iniziano l'angiogenesi mediante **gemmazione** dai vasi pre-esistenti in risposta a fattori pro-angiogenici quali il vascular endothelial growth factor (VEGF), l'FGF (fibroblast growth factor), e le angiopoietine. In risposta a questi fattori prodotti dai macrofagi, dalle cellule epiteliali e del tessuto adiposo sottocutaneo le cellule endoteliali proliferano e migrano.

Le cellule endoteliali nella formazione dei nuovi vasi



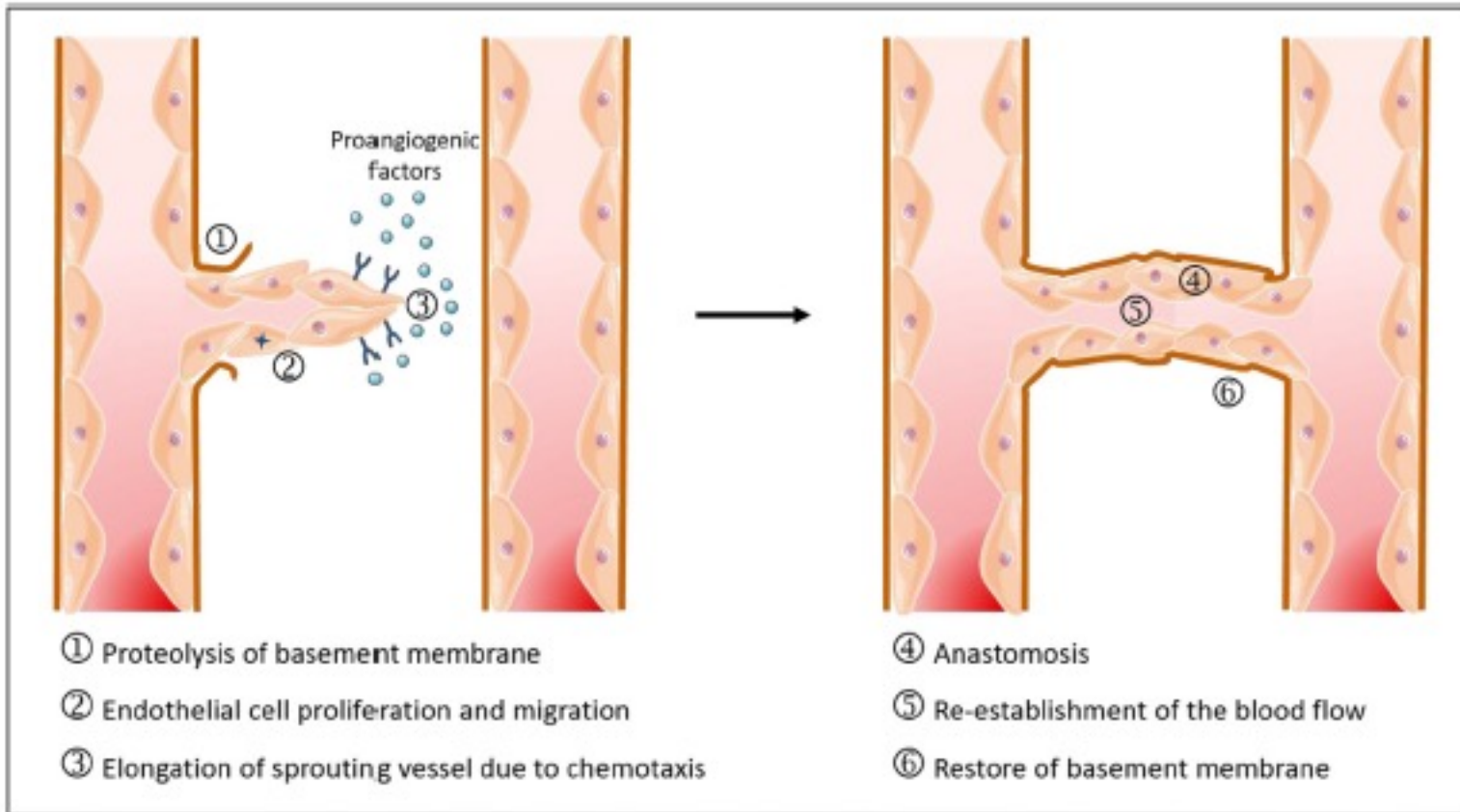
Durante l'angiogenesi le cellule endoteliali si distinguono in:

TIP CELLS che estendono i loro filopodi verso i fattori pro-angiogenici e migrano nella ECM e guidano le stalk cell nella formazione dei nuovi vasi.

Le cellule TIP esprimono le integrine $\alpha v \beta 3$ che sono i recettori per la fibrina e la fibronectina mediante le quali interagiscono con il tessuto di granulazione. Inoltre producono metalloproteasi responsabili della degradazione della matrice extracellulare.

STALK CELLS: differenziano sotto l'influenza delle TIP cells e proliferano facendo da ponte fra la vascolatura pre-esistente e le TIP cells.

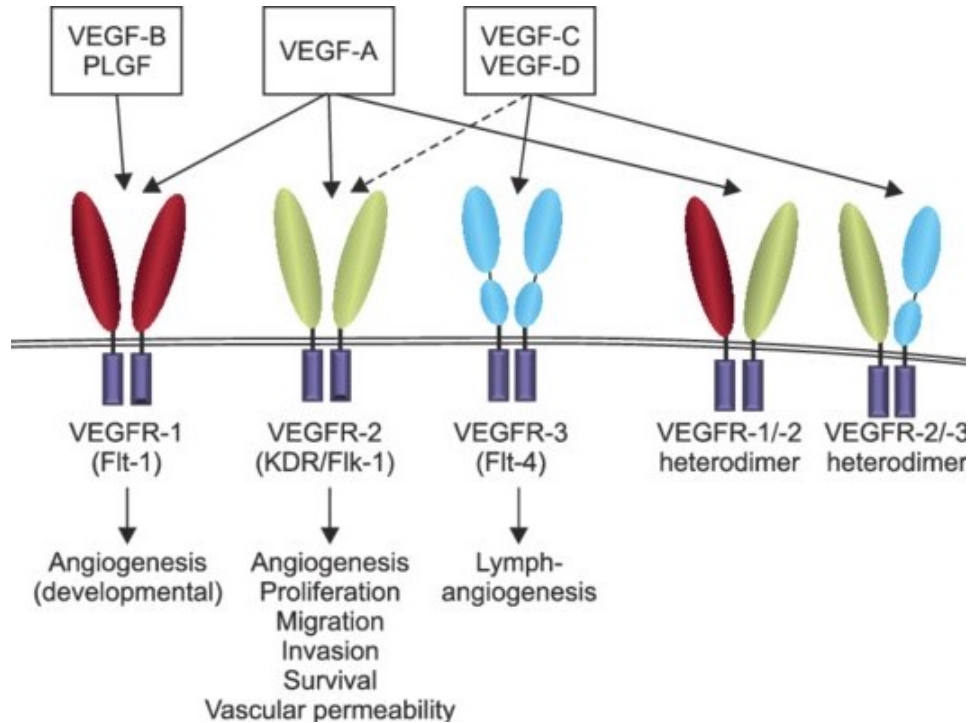
Processo angiogenetico



Durante la formazione dei nuovi vasi sotto lo stimolo dei fattori pro-angiogenetici la membrana basale viene degradata e le cellule endoteliali proliferano e migrano.

I nuovi vasi si fondono con neovasi vicini. Infine viene riformata la membrana basale e i vasi stabilizzati dai periciti.

Fattori di crescita coinvolti nell'angiogenesi: VEGF



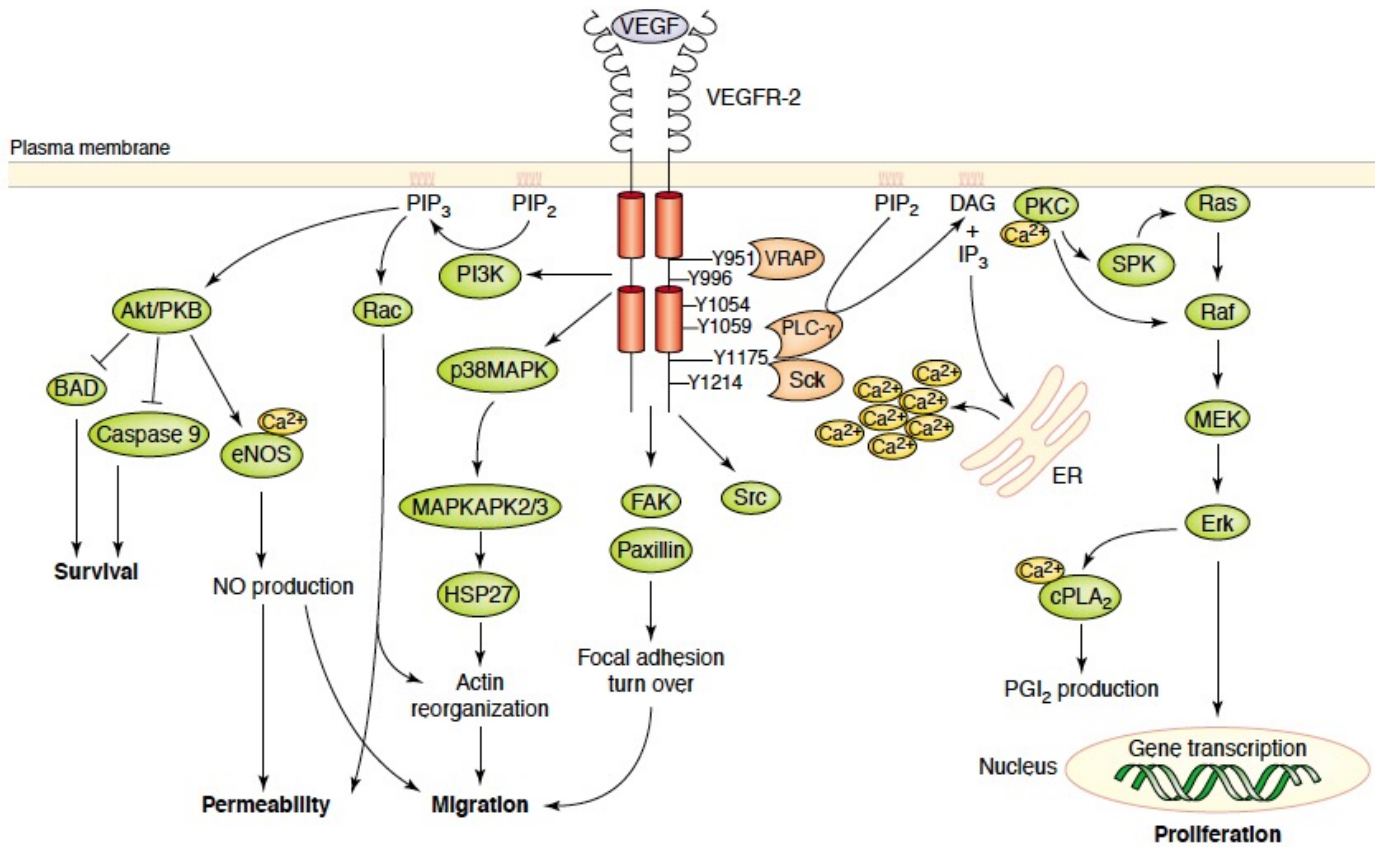
Il VEGF-A è il maggior induttore di angiogenesi dopo danno tissutale e nei tumori. Il VEGF-A appartiene alla famiglia dei fattori di crescita VEGF che include anche il PLGF (fattore di crescita placentare), il VEGF-B,-C, -D, -E.

VEGF-B e PLGF sono coinvolti nello sviluppo dei vasi nell'embrione.

VEGF-C e -D stimolano la linfangiogenesi

Questi fattori si legano a recettori tirosin chinasi VEGFR-1, -2, -3.

La via di segnalazione del VEGF



Il legame del VEGF al recettore in seguito a dimerizzazione causa l'autofosforilazione dei residui di tirosina della regione intracitoplasmatica del VEGFR2. Il VEGFR fosforilato avvia una serie di vie di segnalazione mediate dalla attivazione della PI3K, p38MAPK e dalla PLC- γ che determinano nelle cellule endoteliali: la migrazione, la proliferazione e la sopravvivenza.

Ruolo del VEGF-A nell'angiogenesi

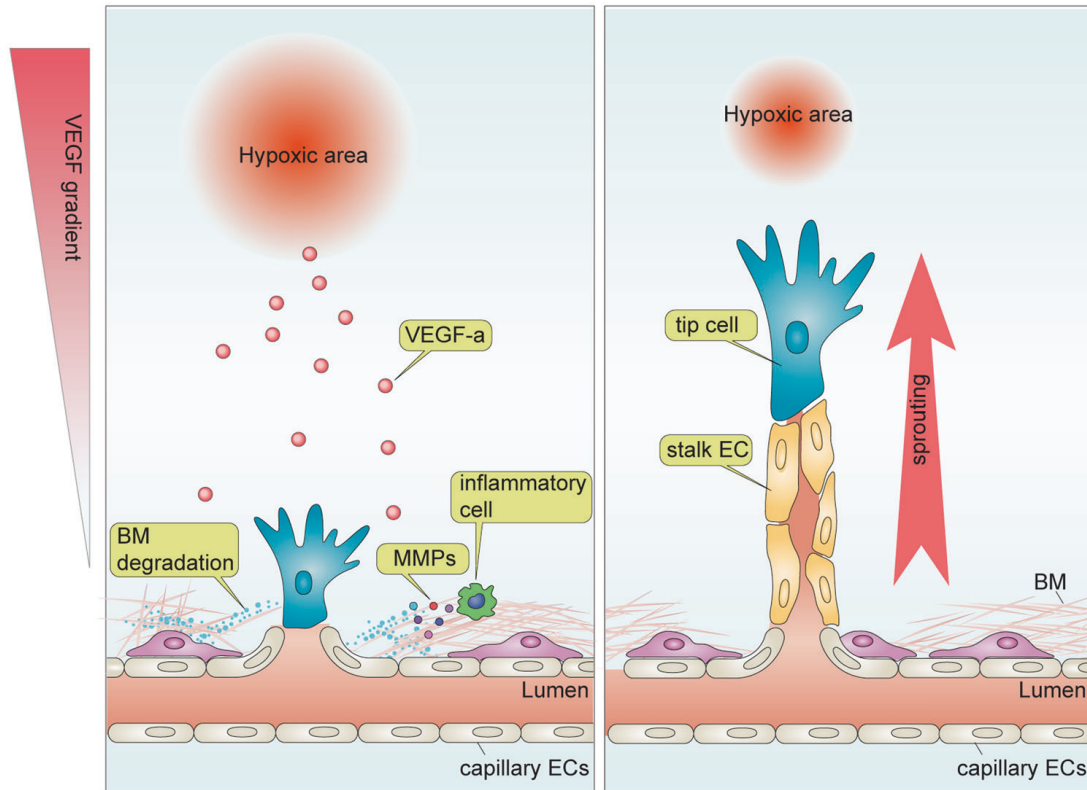
Il VEGF attraverso l'interazione con il VEGFR2 espresso dalle cellule endoteliali

- regola sia la migrazione che la proliferazione delle cellule endoteliali. Nelle cellule Tip il VEGF stimola la migrazione mentre nelle cellule stalk induce la proliferazione.
- Induce la produzione di ossido nitrico (NO)
- Contribuisce alla formazione del lume vascolare

TABELLA 3-3 Fattori di crescita dell'endotelio vascolare (VEGF)

Proteine	Membrici della famiglia: VEGF (VEGF-A), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D Glicoproteina dimerica con molteplici isoforme
Produzione	Espresso a bassi livelli in molti tessuti adulti e a livelli più alti in poche sedi, come i podociti nel glomerulo e i miociti cardiaci
Agenti induttori	Ipossia TGF- β PDGF TGF- α
Recettori	VEGFR-1 VEGFR-2 (circoscritto alle cellule endoteliali) VEGFR-3 (cellule endoteliali linfatiche) Mutazioni mappate nei recettori comportano l'assenza di vasculogenesi
Funzioni	Favorisce l'angiogenesi Aumenta la permeabilità vascolare Stimola la migrazione delle cellule endoteliali Stimola la proliferazione delle cellule endoteliali

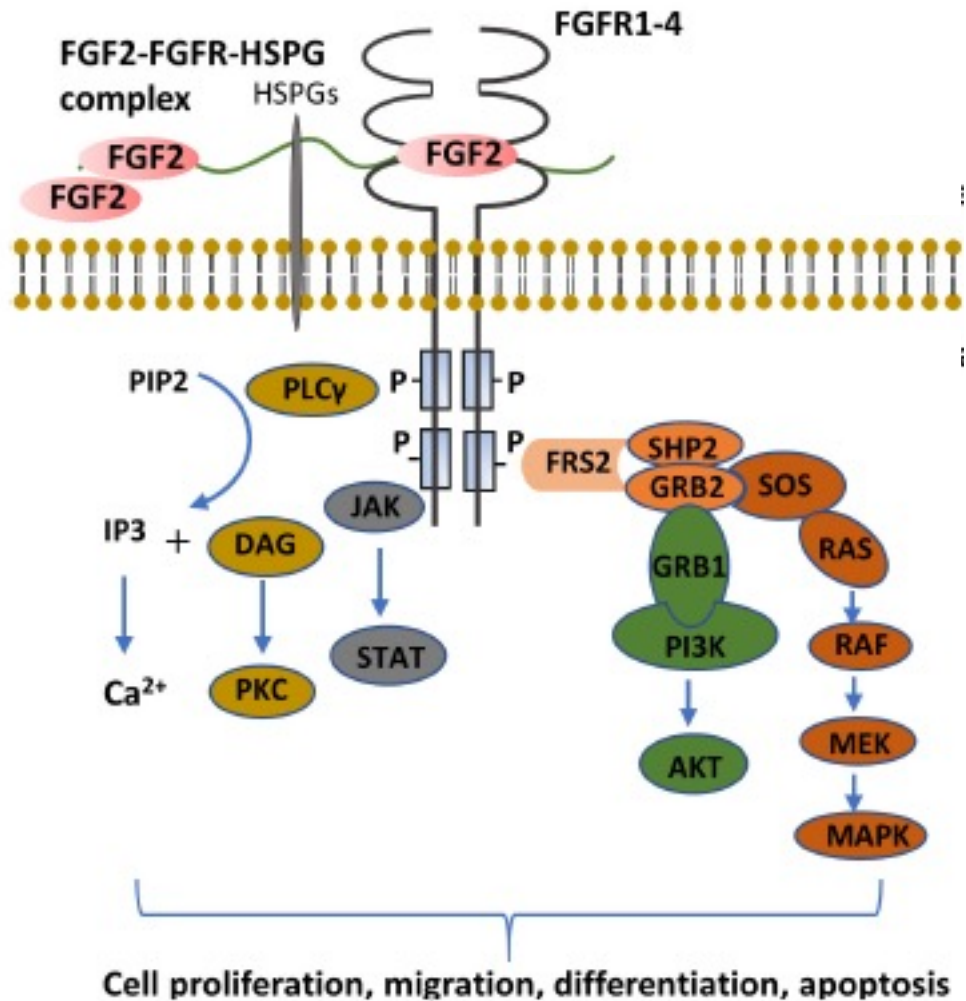
L'ipossia causa un aumento della produzione di VEGF durante il riparo delle ferite



L'aumento della produzione di VEGF durante il riparo delle ferite è dovuto alla ipossia che causa l'attivazione del fattore di trascrizione HIF che attiva la trascrizione del gene codificante il VEGF.

Anche ossidanti quali il perossido di idrogeno e fattori prodotti nel sito della ferita quali l'epidermal growth factor e il TGF-beta stimolano la produzione di VEGF da parte dei cheratinociti.

FGF Fibroblast growth factor



FGF2 stimola la proliferazione delle cellule endoteliali e promuove la migrazione dei macrofagi e dei fibroblasti verso l'area danneggiata.

FGF2 stimola la proliferazione delle cellule epiteliali per coprire le ferite epidermiche. E'

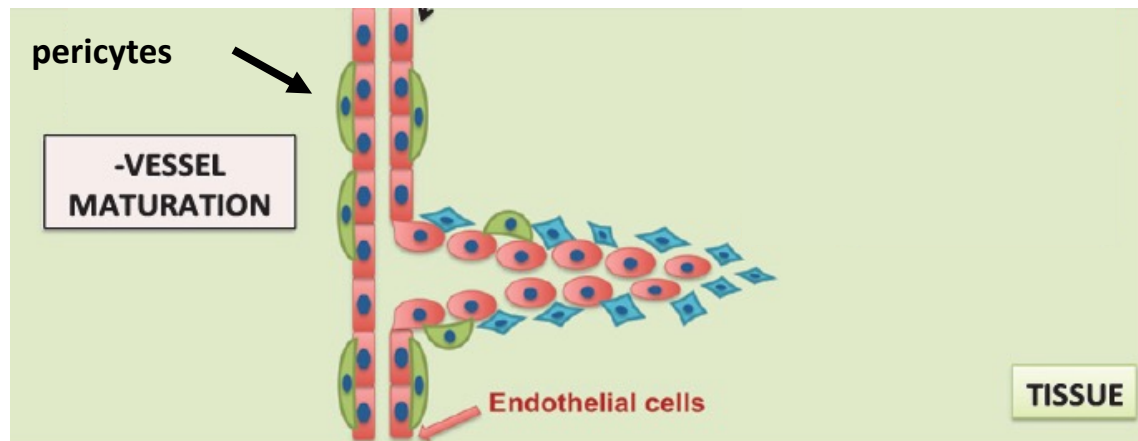
La famiglia dei fibroblast growth factor ha più di 20 membri e i più conosciuti sono l'FGF-1 e l'FGF-2.

Questi fattori si legano al recettore che dimerizza e transfosforila i domini intracitoplasmatici. Il maggiore substrato dell'FGFR, FRS2a è fosforilato e recluta le proteine adattatrici SHP2 e GRB2. Questo determina l'attivazione delle MAPK e della via PI3K e AKT. Inoltre sono attivate la JAK e la PLC-γ con conseguente attivazione di STAT e produzione di DAG e IP3.

Le angiopoietine Ang1 e Ang2

I periciti circondano le cellule endoteliali nei vasi sanguigni e hanno la funzione di stabilizzare la microvascolatura, regolare il flusso sanguigno e di agire da barriera ai batteri. I vasi neoformati sono fragili e necessitano di essere stabilizzati. Questo richiede il reclutamento di periciti e cellule muscolari lisce.

Le angiopoietine 1 e 2 Ang1 e Ang2, il TGF- β (Transforming growth factor beta) e il PDGF (platelet derived growth factor) partecipano al processo di stabilizzazione.

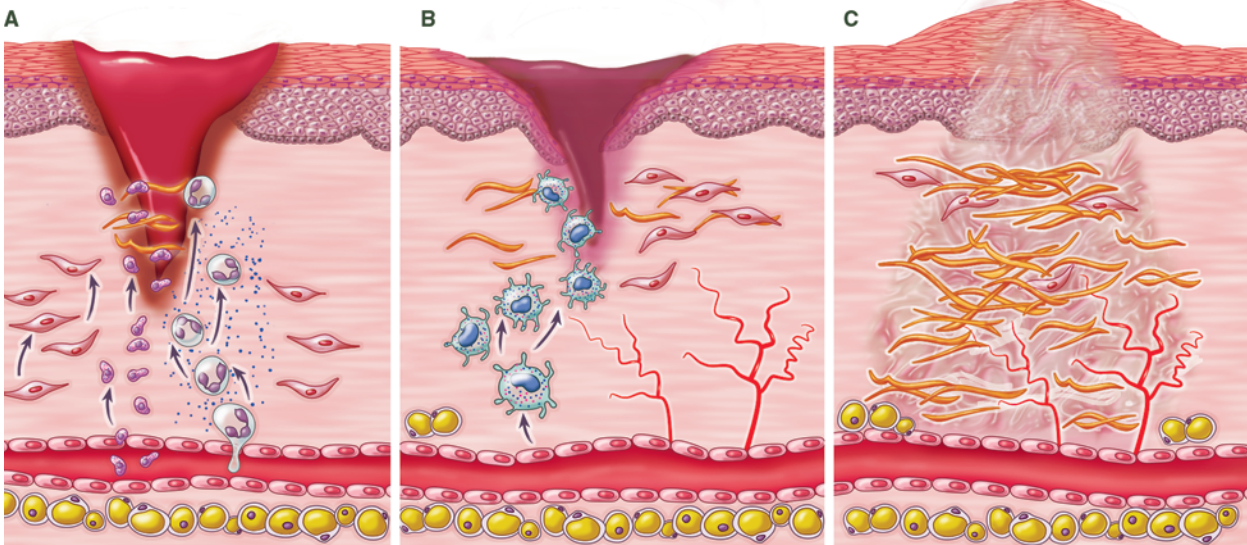


I fibroblasti nella guarigione delle ferite

Infiammazione

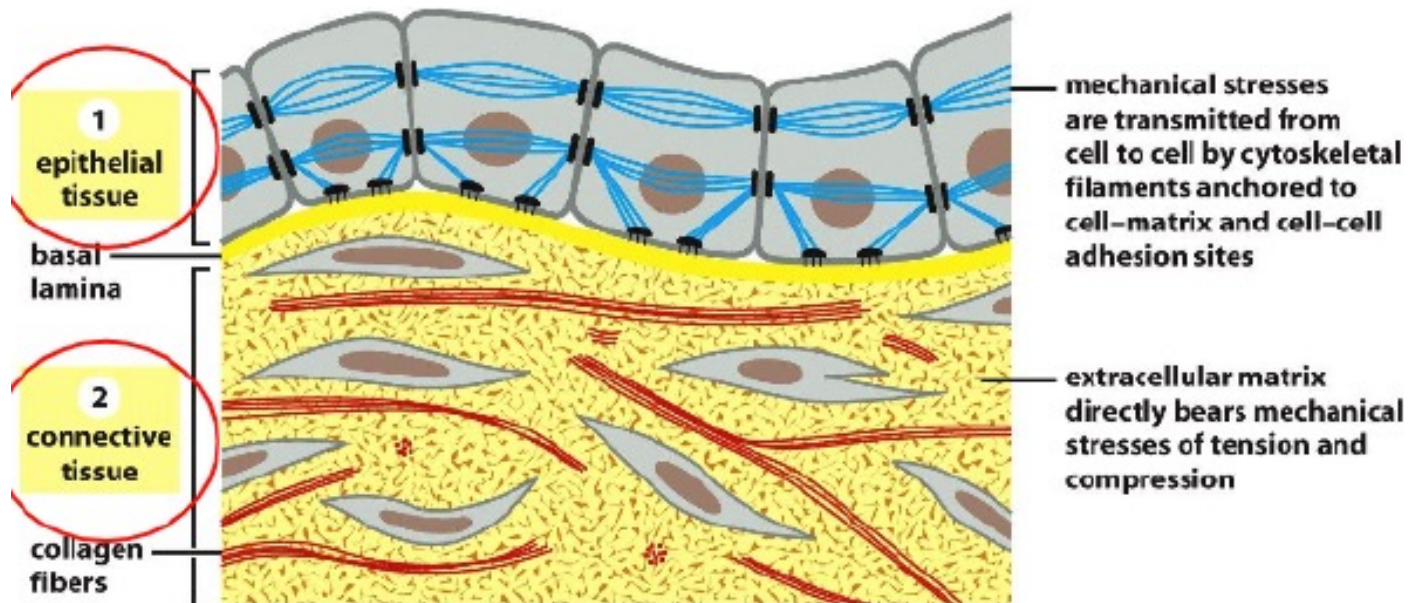
Proliferazione

Rimodellamento



Nella guarigione delle ferite i fibroblasti svolgono un ruolo particolarmente importante nella fase di proliferazione delle cellule. Dopo essere migrati nel coagulo di fibrina in risposta ai mediatori: C5a, platelet derived growth factor (PDGF), l'FGF, e TGF- β , i fibroblasti proliferano e producono molecole della matrice extracellulare (ECM). I fibroblasti producono metalloproteasi che degradano il coagulo di fibrina. Questo viene rimpiazzato dal tessuto connettivo di riparo.

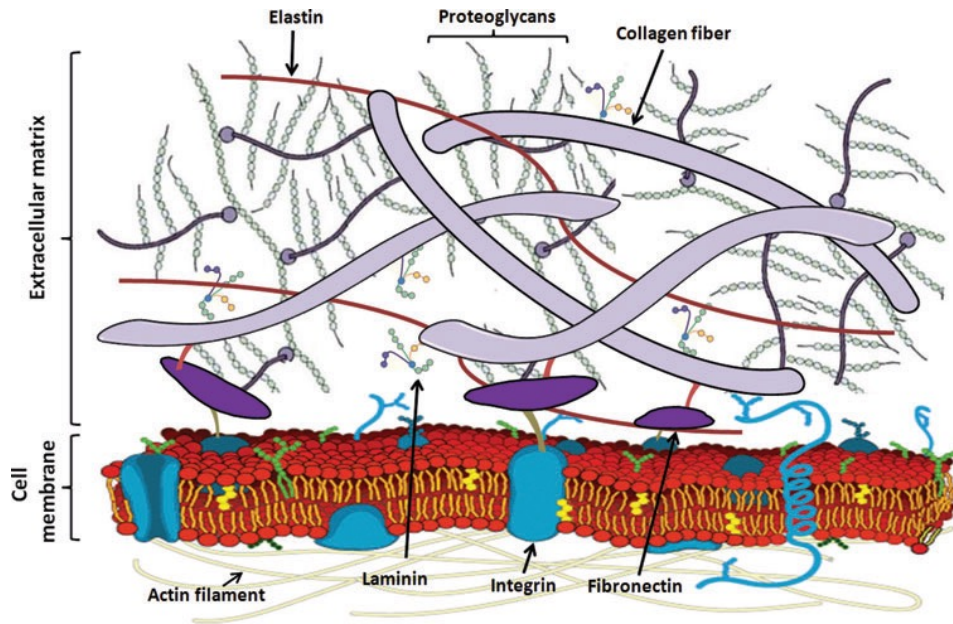
Componenti della matrice extracellulare



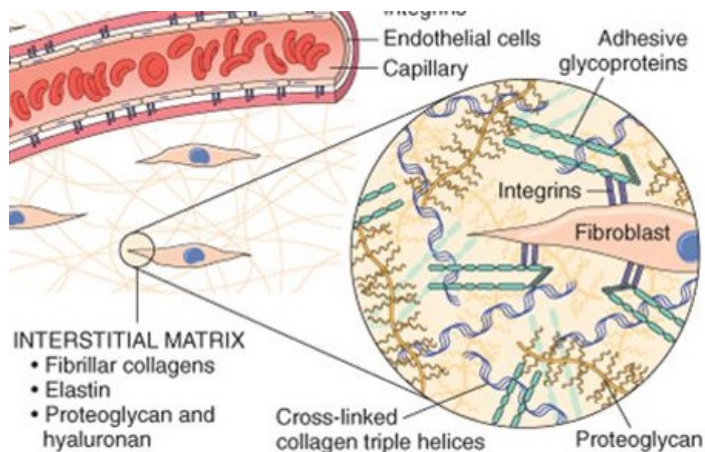
La matrice extracellulare (ECM) è un complesso di molecole che formano una matrice in cui si localizzano le cellule. La ECM è rimodellata continuamente e la sua sintesi è fondamentale nella guarigione delle ferite.

- **matrice interstiziale** che si trova negli spazi fra cellule nel tessuto connettivo e fra l'epitelio e le strutture vascolari e muscolari lisce. E' sintetizzata dalle cellule mesenchimali (fibroblasti) ed è costituita da collagene fibrillare, fibronectina, elastina, proteoglicani, ialuronato.
- **membrana basale** struttura che tende a formare un reticolo lamellare attorno alle cellule epiteliali, le cellule endoteliali e le cellule muscolari lisce. E' costituita da collagene di tipo IV e la laminina.

Componenti della matrice extracellulare: le proteine fibrose

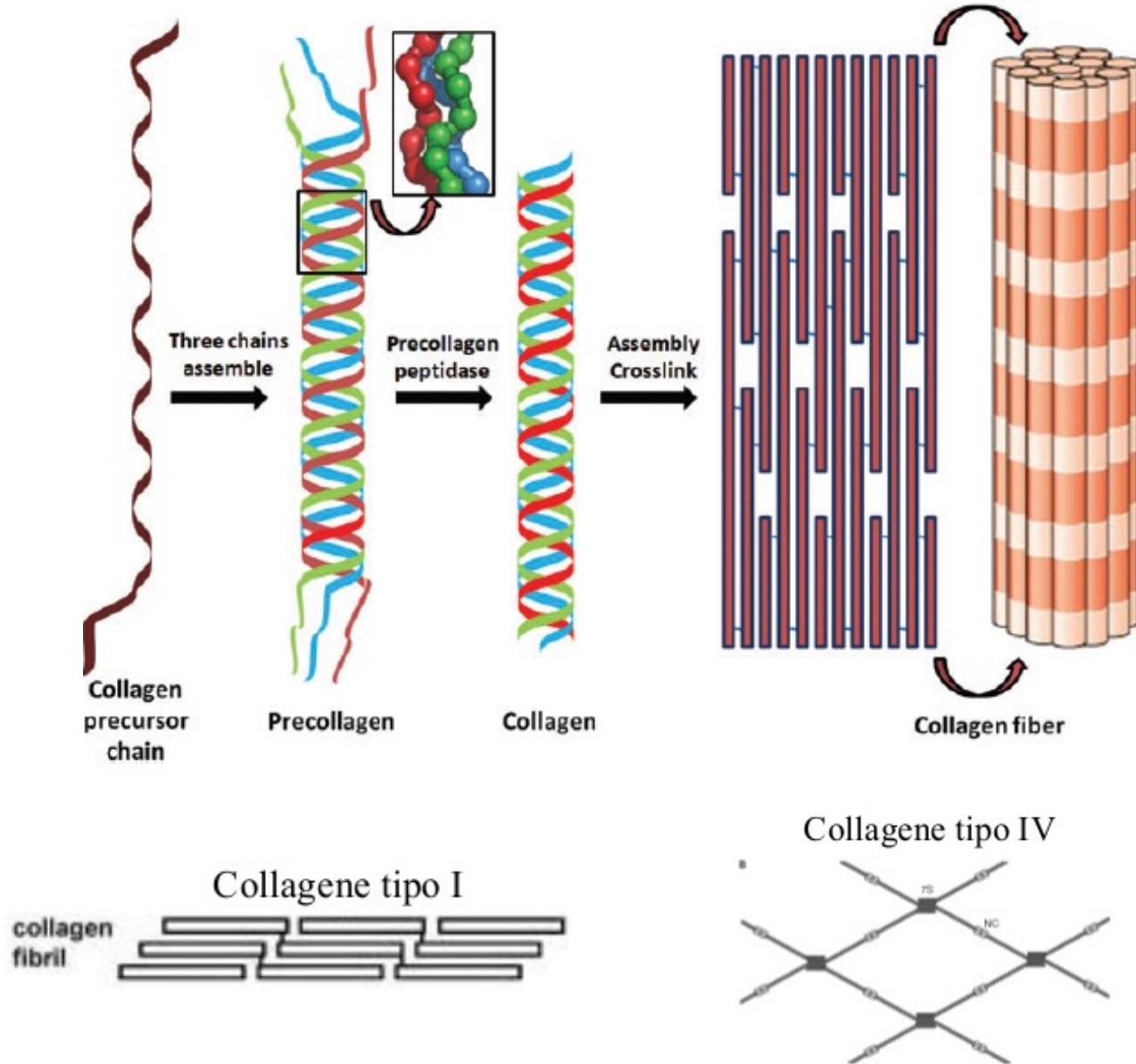


La matrice extracellulare è composta da **proteine strutturali** quali il collagene, la laminina, l'elastina e la fibronectina responsabili della resistenza e flessibilità della matrice; **da gel idratati** formati dai proteoglicani e dall'acido ialuronico che permettono resistenza dei tessuti alla compressione; **da glicoproteine adesive** che collegano gli elementi della ECM fra loro e con le cellule.



Collagene: il collagene è la proteina più abbondante della matrice extracellulare. E' una grande famiglia di proteine composte da tre catene polipeptidiche intrecciate a formare una tripla elica.

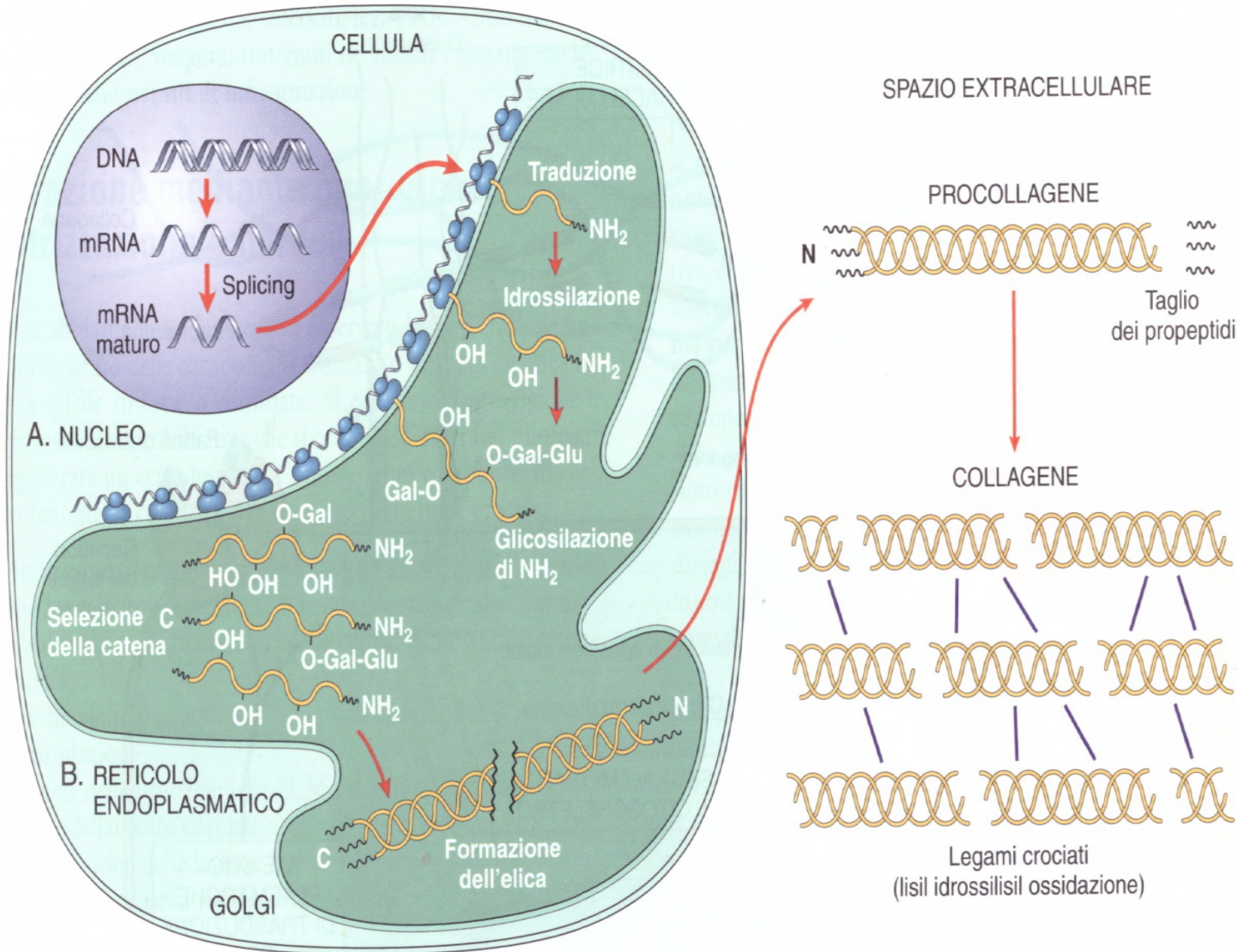
Il collagene



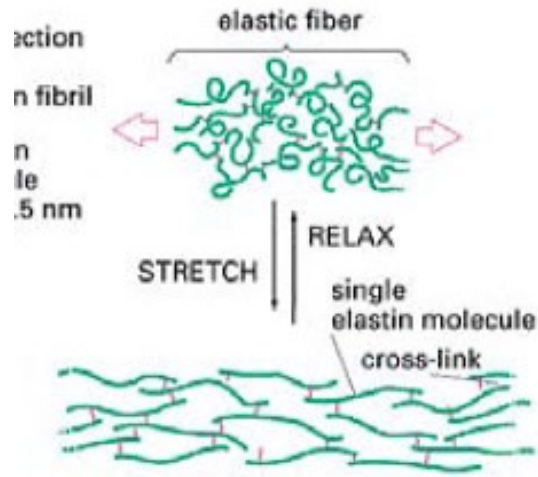
Collagene: il collagene è la proteina più abbondante della matrice extracellulare. E' una grande famiglia di proteine composte da tre catene polipetidiche intrecciate a formare una tripla elica. Il collagene è prodotto dai fibroblasti. Alcuni tipi di collagene (I, II, III e V) formano fibrille grazie a legami laterali fra triple eliche. Il collagene fibrillare costituisce la percentuale maggiore di tessuto connettivo nella guarigione delle ferite.

Il collagene non fibrillare per esempio il tipo IV forma le membrane basali.

Sintesi del collagene

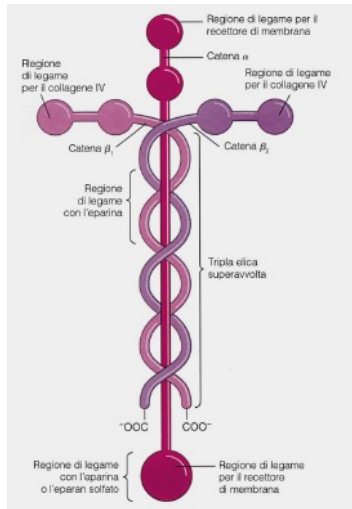
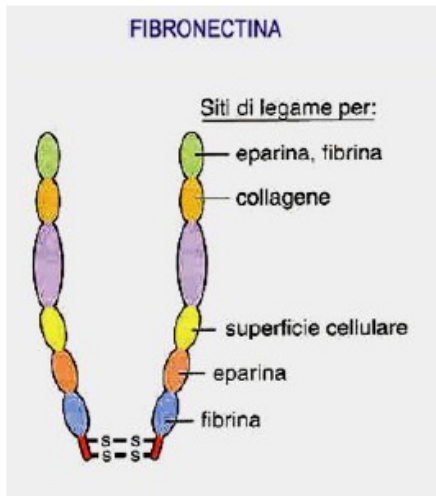


Il collagene fibrillare viene sintetizzato dal procollagene che presenta dei propeptidi all'NH e al COOH terminale. La formazione del collagene fibrillare prevede la modificazione della proteina attraverso l'idrossilazione delle lisine e la glicosilazione. La molecola secreta viene ulteriormente modificata da parte delle proteinasi che tagliano i propeptidi e l'ossidazione delle lisine con formazione di legami crociati tra le catene di molecole adiacenti. Il cross-linking contribuisce alla resistenza alla tensione del collagene. Per l'idrossilazione del pro-collagene è necessaria la vitamina C.



Elastina: è composta principalmente da glicina, alanina, valina e prolina. E' presente come fibre formate dal legame covalente di molte molecole di tropoelastina da parte della lysil oxidase. Conferisce elasticità ai tessuti.

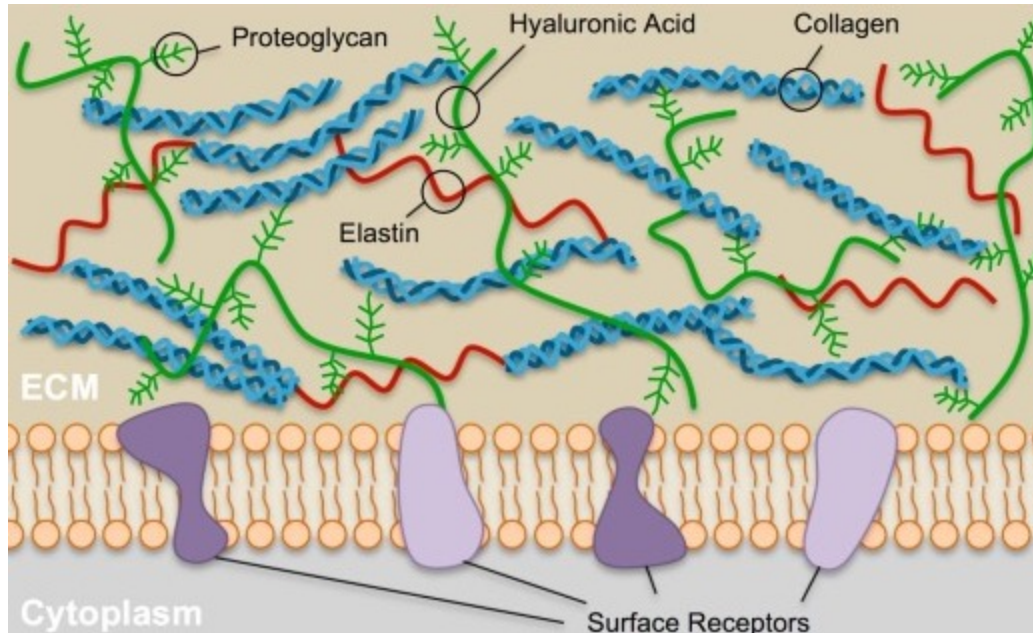
Laminina



Glicoproteine adesive : queste comprendono la fibronectina e la laminina. **La fibronectina** è un eterodimero unito da ponti disolfuro.

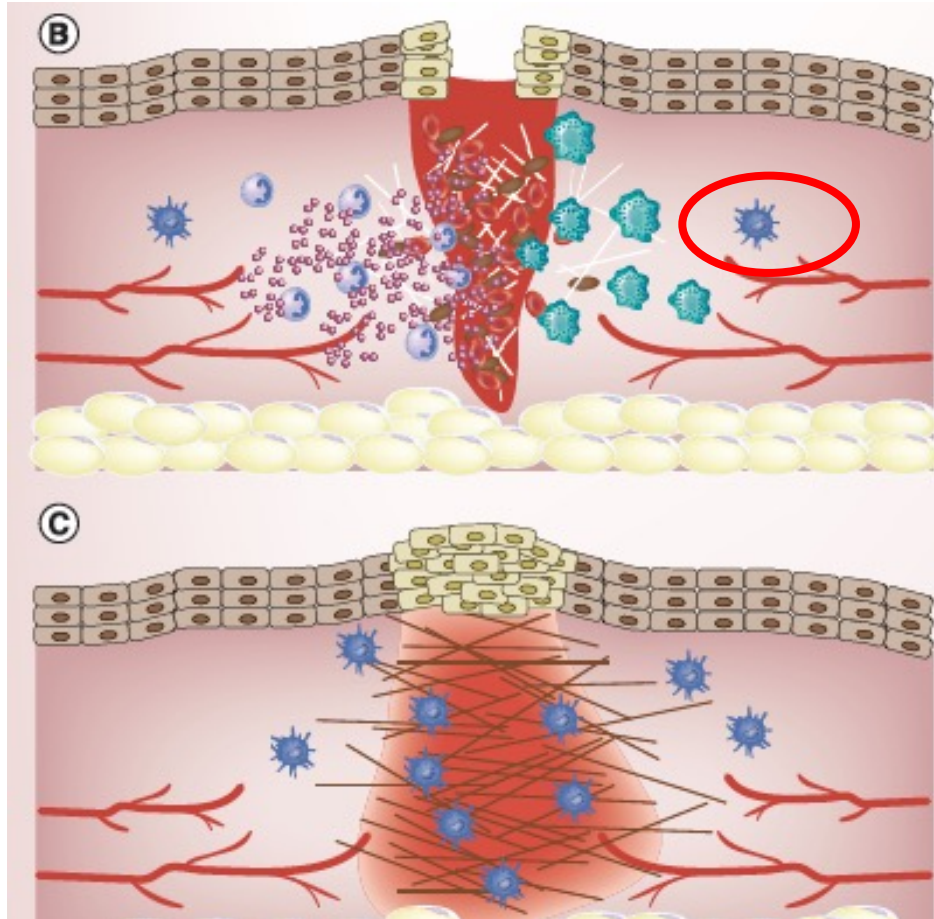
Presenta specifici domini che legano proteine dell'ECM e integrine cellulari. La forma plasmatica si lega alla fibrina all'interno del coagulo fornendo il substrato per la ri-epitelizzazione e la deposizione dell'ECM. La **laminina** è una molecola trimerica ed è la proteina più abbondante nelle membrane basali. Questa connette le cellule alla membrana basale.

Componenti della matrice extracellulare: proteoglicani e glicoproteine adesive



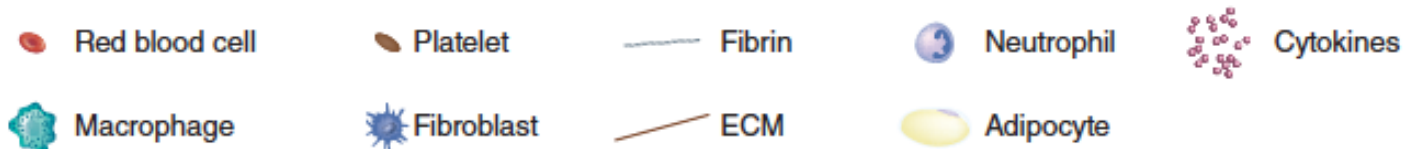
Proteoglicani e acido ialuronico: sono costituiti da lunghi polisaccaridi chiamati glicosaminoglicani o mucopolisaccaridi legati a proteine. Formano gel altamente idratati e comprimibili. L'acido ialuronico è un grande polisaccaride che lega l'acqua formando una matrice viscosa. Questo si lega ai proteoglicani.

Attivazione dei fibroblasti e deposizione di tessuto connettivo nella guarigione delle ferite

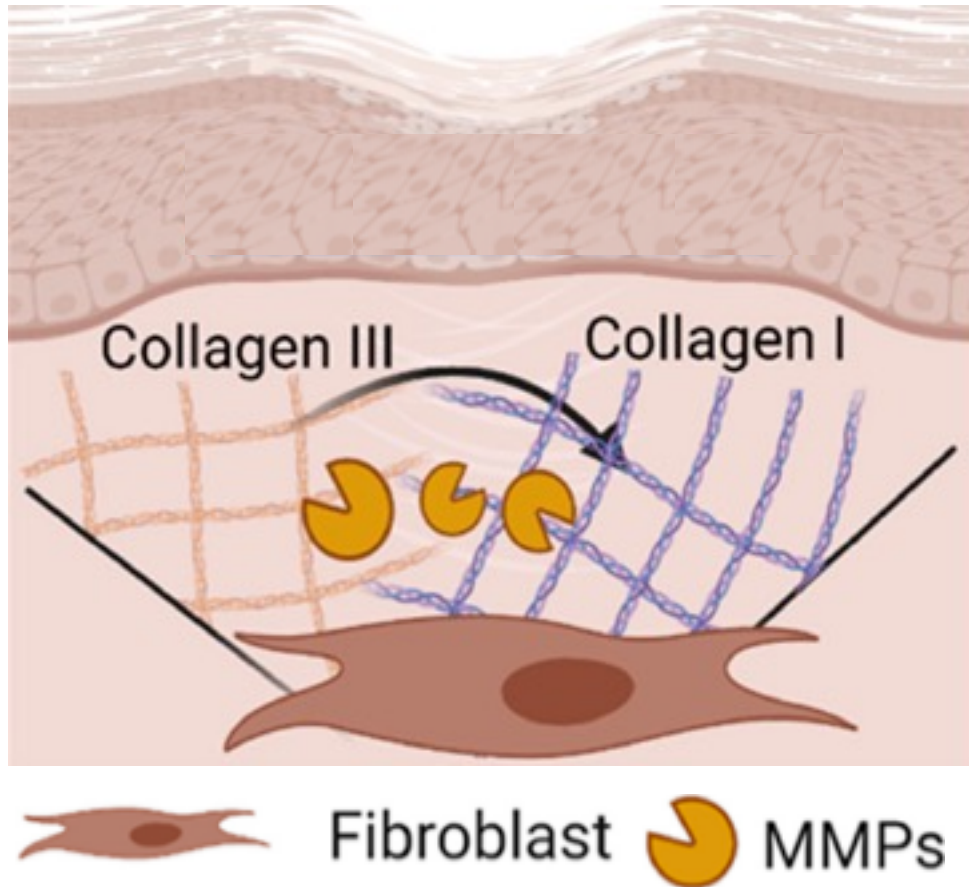


Fibroblasti

Durante la proliferazione e la deposizione del tessuto connettivo i fibroblasti vanno incontro a modificazioni che includono una aumentata capacità di produrre collagene e ridotta proliferazione rispetto ai fibroblasti del derma. Il reclutamento e l'attivazione dei fibroblasti per sintetizzare le proteine della matrice extracellulare sono controllati dal TGF- β , dal PDGF e dal l'FGF2. Questi fattori di crescita sono prodotti principalmente dai macrofagi.



Caratteristiche della cicatrice



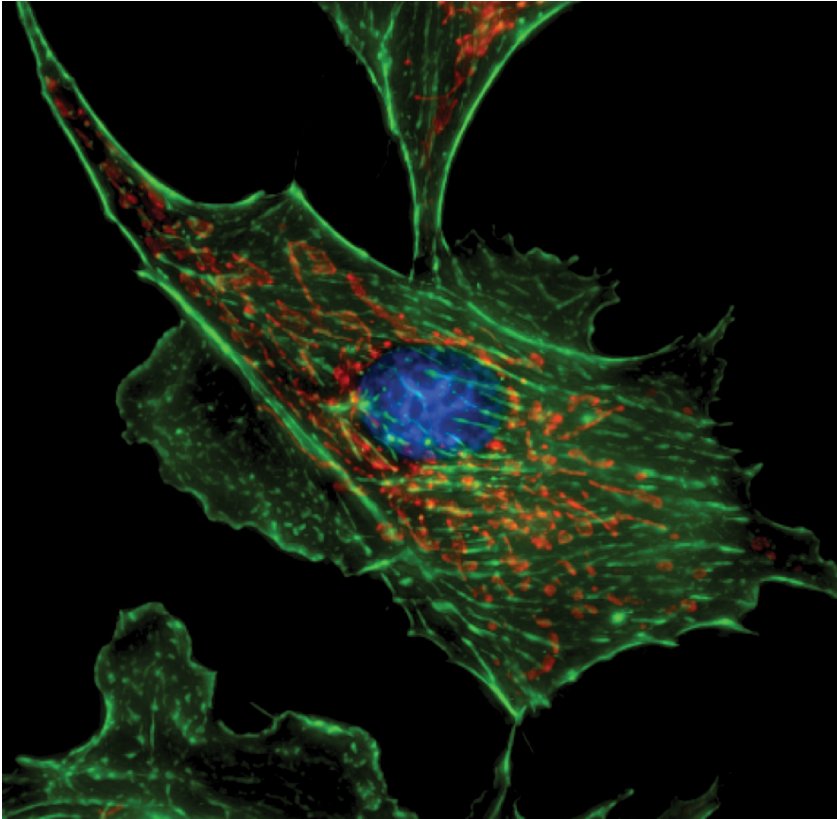
Nel riparo delle ferite attraverso deposizione di tessuto connettivo i due principali tipi di collagene prodotti sono il collagene I e III.

Nel derma normale le fibrille di collagene III rappresentano il 20% del collagene totale.

Durante le fasi precoci della formazione del tessuto di granulazione i fibroblasti producono maggiori livelli di collagene III che rappresenta fino al 50% del collagene totale.

Le fibre di collagene nelle cicatrici si dispongono in maniera parallela alla pelle mentre nei tessuti normali hanno una disposizione intrecciata.

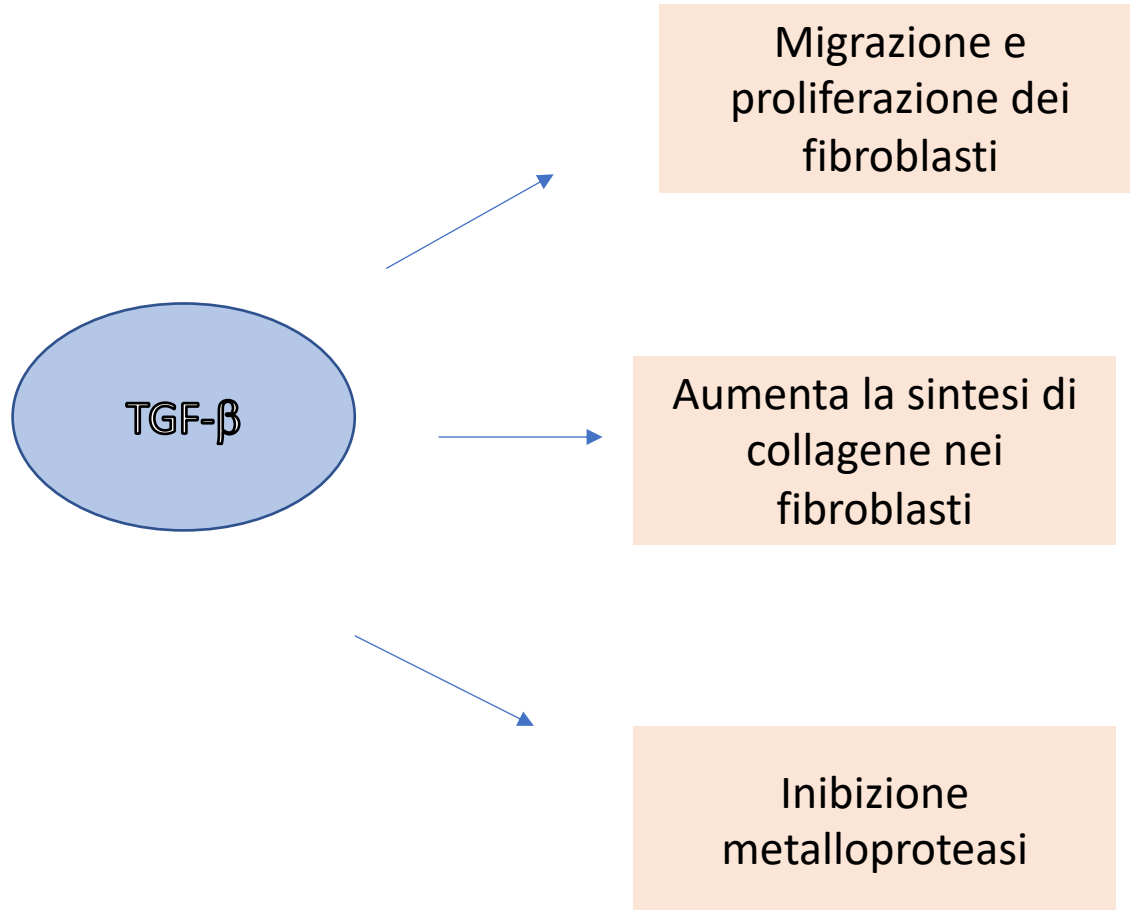
Miofibroblasti



Una delle caratteristiche della cicatrizzazione è la contrazione della ferita. Durante questo processo le fibre di collagene sono organizzate perpendicolarmente ai margini della ferita. Alcuni fibroblasti differenziano in miofibroblasti che hanno capacità contrattile. Tali cellule esprimono α -smooth muscle actin (α -SMA) e producono collagene I e III.

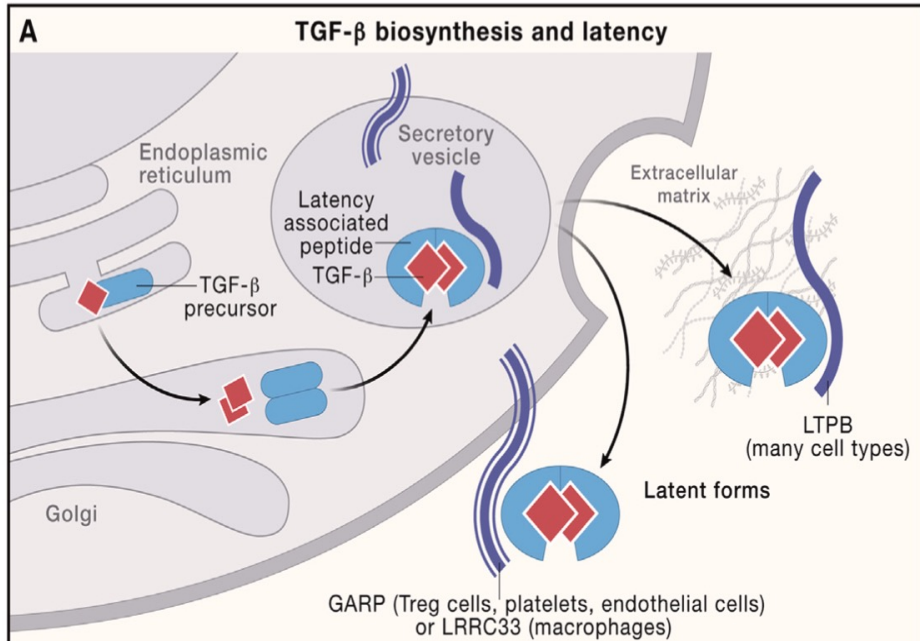
Durante il rimodellamento i fibroblasti vanno incontro ad apoptosi.

Azione del TGF- β nella riparazione



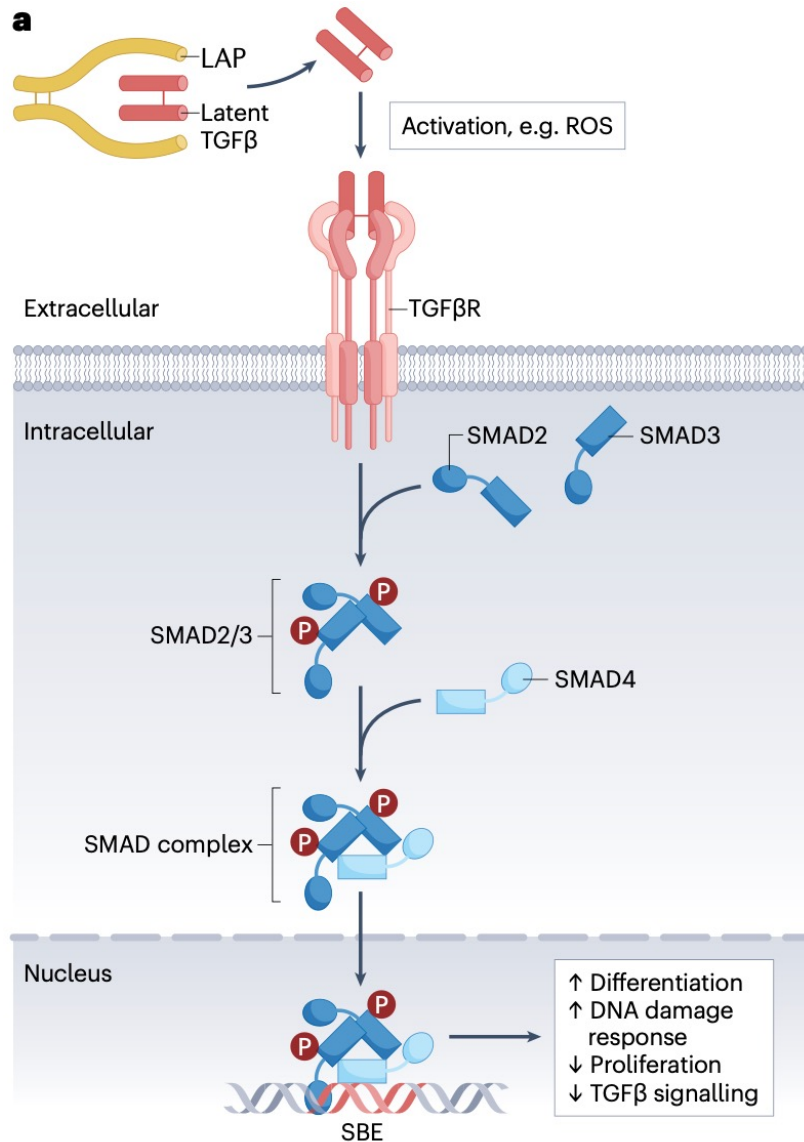
- Il TGF- β è il fattore più importante nel favorire la deposizione del tessuto di riparazione. E' prodotto dalla maggior parte delle cellule del tessuto di granulazione (macrofagi, cellule endoteliali, fibroblasti) e causa:
- La migrazione e la proliferazione dei fibroblasti
- L' aumento della sintesi del collagene
- Inibizione della degradazione della matrice extracellulare inibendo le metalloproteasi.

Il TGF-beta

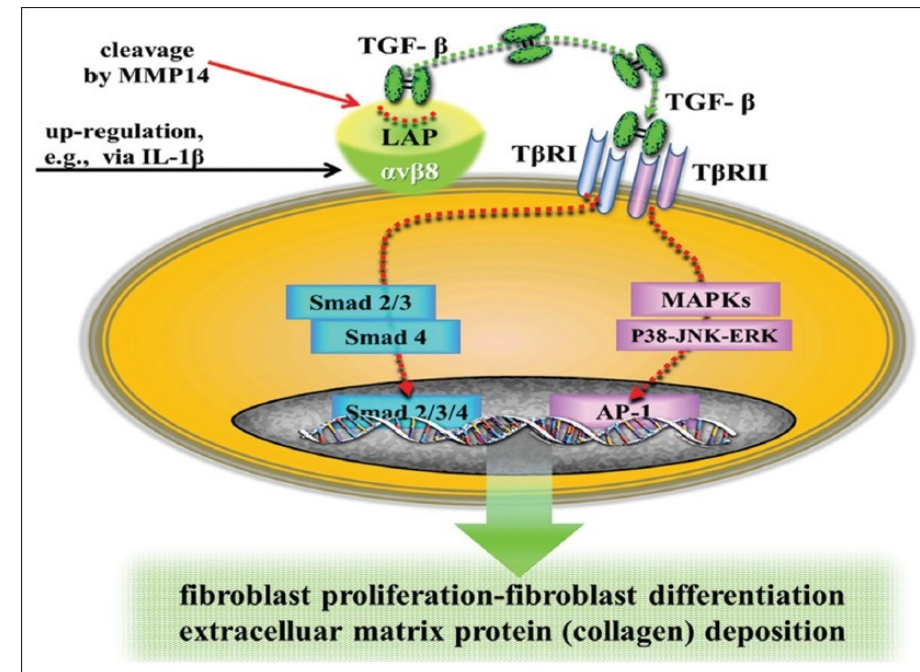


La famiglia delle citochine TGF-beta include molte citochine fra cui il TGF- β 1, -2,-3. Queste citochine sono sintetizzate come un precursore dimerico che viene tagliato dalla endoproteasi furin nel Golgi. Il frammento NH-terminale forma il latency associated peptide (LAP) mentre il dimero al C-terminale forma la citochina matura che resta sequestrata dal LAP. Il complesso TGF- β LAP dopo aver legato covalentemente le proteine che legano il TGF-b latente è depositato nella matrice extracellulare. Alternativamente, il complesso si lega in alcune cellule a proteine di membrana dove viene ritenuto.

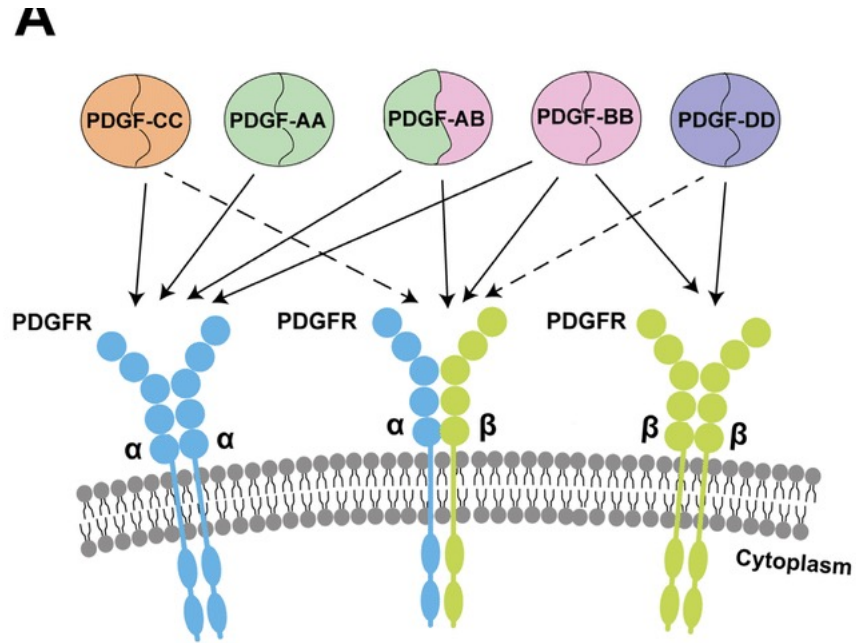
Segnalazione del TGF-β



Il TGF-β si lega a 2 eterodimeri costituiti dalla catena TGF-RI e TGF-RII. In seguito al legame con la citochina il TGFRII fosforila e attiva il TGFRI. Il TGFRI fosforila e attiva i fattori trascrizionali SMAD2 e SMAD3 che formano complessi trimerici con SMAD4. Questi si accumulano nel nucleo dove regolano la trascrizione di geni bersaglio.



PDGF



Il Platelet derived growth factor family comprende una famiglia di fattori di crescita omo- o eterodimerici PDGF-AA,-AB,-BB,-CC,-DD che si legano a recettori dimerici costituiti da catene α e β . Il PDGF è stato il primo fattore di crescita descritto per la sua capacità di reclutare nelle ferite neutrofilii, monociti e fibroblasti.

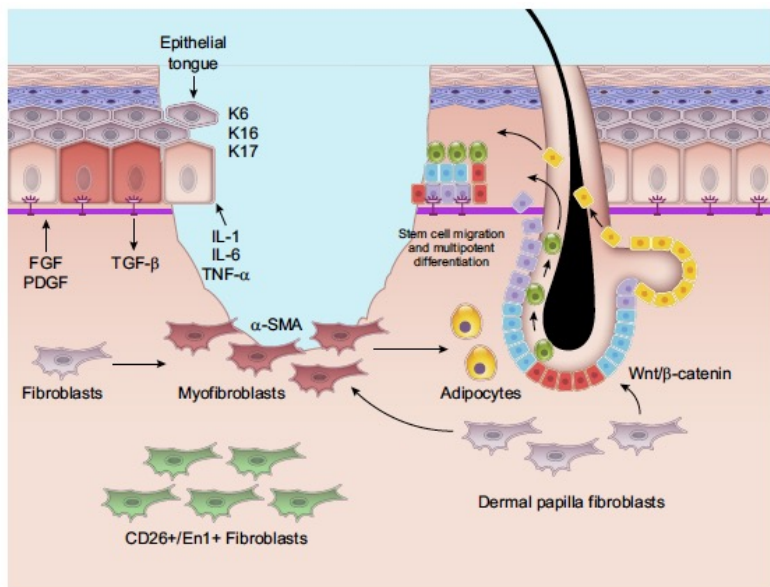
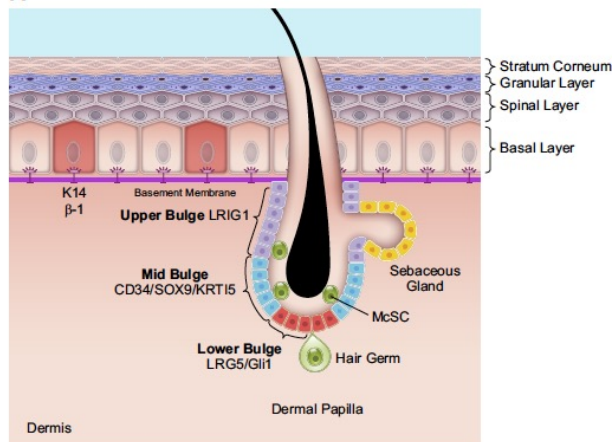
Il PDGF aumenta la proliferazione dei fibroblasti e la produzione della matrice extracellulare stimolando la produzione di collagene.

Fattori chemiotattici e mitogeni per i fibroblasti

Fattore di crescita derivato dalle piastrine (PDGF)	Piastrine, macrofagi, cellule endoteliali, cellule muscolari lisce, cheratinociti	Chemiotattico per neutrofili, macrofagi, fibroblasti e cellule muscolari lisce; attiva e stimola la proliferazione di fibroblasti, cellule endoteliali e di altre cellule; stimola la sintesi di proteine della ECM
Fattori di crescita dei fibroblasti (FGF), comprendenti i tipi acido (FGF-1) e basico (FGF-2)	Macrofagi, mastociti, cellule endoteliali, molti altri tipi di cellule	Chemiotattici e mitogeni per i fibroblasti; stimolano l'angiogenesi e la sintesi delle proteine della ECM
Fattore di crescita trasformante- β (TGF- β)	Piastrine, linfociti T, macrofagi, cellule endoteliali, cheratinociti, cellule muscolari lisce, fibroblasti	Chemiotattico per leucociti e fibroblasti; stimola la sintesi delle proteine della ECM; sopprime l'infiammazione acuta

Ri-epitelizzazione

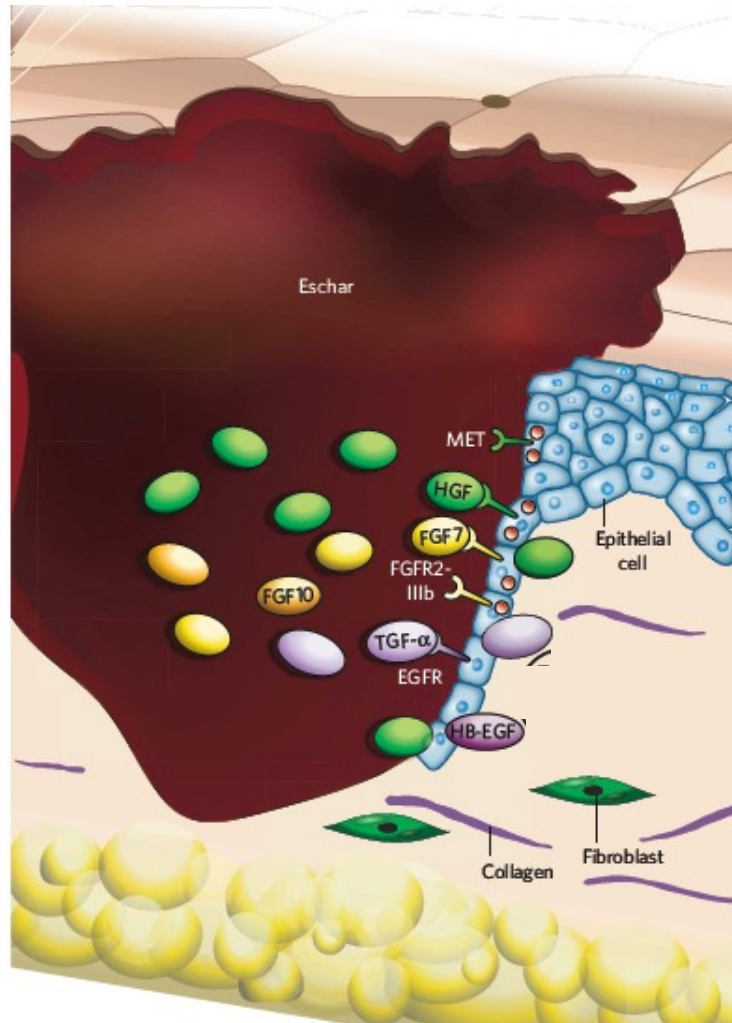
A



Nelle ferite le cellule epiteliali ricostituiscono lo strato superficiale nel processo di epitelizzazione. Le cellule staminali dell'epidermide che si localizzano nello strato basale dell'epidermide, esprimono elevati livelli di integrine che le fanno interagire con le proteine della matrice extracellulare quali il collagene e la laminina e presentano una maggiore adesività.

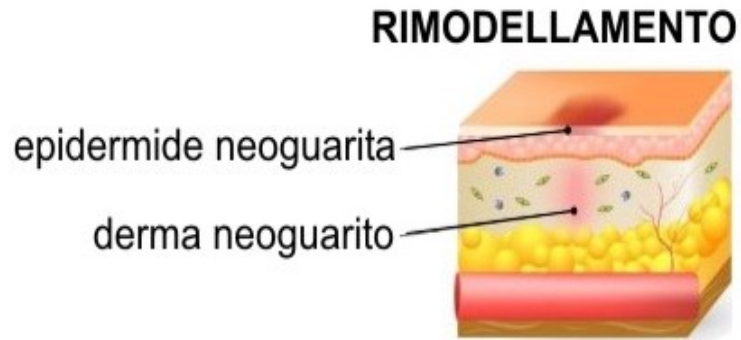
In seguito ad una ferita le cellule staminali dello strato basale e del bulbo pilifero proliferano per dare origine a cheratinociti che ai margini della ferita perdono la loro adesività e migrano nella ferita per ri-epitelializzarla formando la lingua epiteliale. La migrazione è attivata dai fattori di crescita appartenenti alla famiglia dell'epidermal growth factor (EGF) e del fibroblast growth factor (FGF) che includono l'EGF, il TGF- α , il Keratinocyte growth factor (KGF or FGF7) e dalle citochine IL-1, IL-6 e TNF- α .

Epitelizzazione



Fattore di crescita	Origine	Funzioni
Fattore di crescita epidermico (EGF)	Macrofagi attivati, ghiandole salivari, cheratinociti e molte altre cellule	Mitogeno per i cheratinociti e i fibroblasti; stimola la migrazione dei cheratinociti; stimola la formazione del tessuto di granulazione
Fattore di crescita trasformante- α (TGF- α)	Macrofagi attivati, cheratinociti e molte altre cellule	Stimola la proliferazione degli epatociti e di molte altre cellule epiteliali
Fattore di crescita degli epatociti (HGF) (<i>scatter factor</i>)	Fibroblasti, cellule stromali del fegato, cellule endoteliali	Promuove la proliferazione degli epatociti e di altre cellule epiteliali; aumenta la motilità cellulare
Fattore di crescita dei cheratinociti (KGF) (ad es. FGF-7)	Fibroblasti	Stimola la migrazione, la proliferazione e la differenziazione dei cheratinociti

Maturazione e rimodellamento della ferita



La chiusura delle ferite è considerata l'end point della guarigione della ferita. Ma la ferita va incontro a modificazioni per un periodo di tempo che va da mesi a anni.

Il rimodellamento della ferita prevede la regressione della neovascolatura e la sostituzione del tessuto di granulazione con tessuto cicatriziale.

Il tessuto di granulazione è costituito da collagene di tipo III che è rimpiazzato da collagene di tipo I.

Fino ad 1 mese dalla lesione, la pelle che copre la ferita è fragile e può essere lesa anche da piccoli traumi. A partire dalla 6 settimana la cicatrice raggiunge il 50% della resistenza finale. Nei 12 mesi successivi la cicatrice aumenta di resistenza che però resta inferiore di quella del tessuto sano.

La cicatrice presenta un minore afflusso di sangue, presenta una matrice extracellulare più densa è più sensibile alle radiazioni ultraviolette e manca delle ghiandole del sudore.

Caratteristiche del tessuto cicatriziale

Il tessuto cicatriziale rispetto al tessuto originario:

- non è così resistente
- non è così elastico
- non è così irrorato

Fattori locali e sistemici che influenzano la guarigione delle ferite

La guarigione della ferita è influenzata da diversi fattori che includono:

- la nutrizione: La carenza proteica e di vitamina C inibiscono la sintesi di collagene e ritardano la rimarginazione delle ferite
- lo stato metabolico (il diabete ritarda la guarigione)
- un inadeguato apporto di sangue (aterosclerosi)
- infezioni
- fattori meccanici
- Corpi estranei

Eccessiva cicatrizzazione



L'eccessiva formazione dei componenti del processo di riparazione può dare origine a cicatrici ipertrofiche o cheloidi.

L'accumulo di eccessive quantità di collagene può dare origine a una cicatrice rialzata che prende il nome di cicatrice ipertrofica. Queste tendono a crescere rapidamente e contengono molti mioblasti ma tendono a regredire nel tempo.

Se il tessuto cicatriziale cresce oltre i confini della ferita originale e non regredisce si parla di cheloide.