

Biotecnologia e piede diabetico

F.Campitiello

Resp. UOS Studio e Cura delle les. Ulc. Aa.ii.

Centro di Eccellenza per lo Studio e il Trattamento delle Ulcere Cutanee e del piede diabetico)

Università degli Studi della Campania

La guarigione di una lesione richiede l'interazione tra diversi eventi biologici e molecolari in tre fasi della riparazione tissutale che sono l'infiammazione, la proliferazione e il rimodellamento tissutale. Il piede diabetico rappresenta la sconfitta del processo di riparazione, dell'infiammazione che non ripara, della non progressione ordinata verso la riparazione tissutale. La mancata produzione dei fattori di crescita, l'assenza della neogenesi vascolare, l'attività dei macrofagi, l'accumulo di collagene, la proliferazione fibroblastica e dei componenti della matrice extracellulare e il loro rimodellamento attraverso le metalloproteasi sono alcuni dei tanti fattori che fanno parte del deficit di riparazione in questi pazienti. Nuove strategie terapeutiche per il trattamento del piede diabetico vengono attuate ma non sono seguite da trials clinici.

Nuovi sostituti ingegnerizzati sono nati come opzione terapeutica alternative: essi sono stati inizialmente usati per i siti donatori in caso di grandi ustionati, hanno dimostrato grande capacità di produrre matrice extracellulare nei siti riceventi con un'ottima qualità di riparazione. Essi hanno dimostrato di essere utili in grandi ustionati in quanto danno minima contrazione della lesione e prevengono la retrazione cicatriziale con formazione di matrice extracellulare

Trials clinici su pz ustionati hanno dimostrato capacità di rigenerazione cutanea; sono stati pubblicati trials clinici randomizzati che hanno evidenziato risultati incoraggianti anche se il n. di pz è esiguo. Tra i sostituti cutanei, quelli dermici possono essere prodotti in grande quantità, a basso prezzo, facili da applicare e da conservare. In pz

con ustioni e con lesioni cutanee corneiche, con danno severo cutaneo e dei nervi periferici, il sostituto dermico a base di collagene ad alta porosità, ha indotto rigenerazione sostituendo gli autoinnesti.

Dopo un grave trauma, nei mammiferi si forma una cicatrice. Un appropriato controllo della contrazione della lesione può indurre la rigenerazione di una cute lesa. Più specificamente è stato osservato che la rigenerazione migliore si verifica quando viene inibita la contrazione della lesione.

Gli scaffolds a base di collagene devono prevenire la risposta cicatriziale e quindi la contrattura. La cicatrice è popolata da miofibroblasti ed è contratta, la matrice serve a prevenire ciò e a rigenerare tessuto simile a quello natale.

La caratteristica principale della rigenerazione degli scaffolds a base di collagene deriva dalla struttura porosa e dalla capacità di ridurre la contrazione nella lesione. Però non tutti gli scaffolds a base di collagene hanno la stessa capacità rigenerativa che dipende dalle caratteristiche strutturali specifiche di ogni scaffold. Il livello di attività dipende da distinte differenze strutturali: struttura porosa, tasso di degradazione, biochimica di superficie. Il diametro dei pori dovrebbe essere compreso in un range di 20-125 μm (1,2). Una misura di un poro minore di 20 μm non permette alle cellule di popolare la matrice; il valore max di questo range di misura dei pori invece non fa entrare in contatto diretto la cellula con la matrice in quanto si organizzano in clusters cellulari. La contrazione della lesione è ulteriormente inibita e la rigenerazione dermica indotta quando il tasso di degradazione dello scaffold è di 2-3 settimane. I miofibroblasti migrano all'interno dello scaffold e aderiscono alla sua superficie in questo periodo. Nel fare ciò queste cellule perdono i contatti cellula-cellula che servono per lo sviluppo di forze contrattili.

Questi scaffolds sono diversi anche per il tipo di cross linkaggio che controlla la degradazione e determina la vita media di due scaffolds con livelli diversi di crosslinking. Si è visto che scaffolds che hanno un tasso di degradazione di 2-3 settimane il tasso di miofibroblasti è ridotto. È stato osservato disorganizzazione con

perdita di allineamento dei miofibroblasti, drastica riduzione nella densità dei miofibroblasti nelle lesioni trattate con scaffold quali il dermal regeneration template. E' stato osservato anche un cambiamento del fenotipo dei miofibroblasti con dispersione dei miofibroblasti quando si usano questi scaffolds. Questo cambiamento è spiegato dall' inibizione dei legami tra miofibroblasti e dalla facilitazione del legame del miofibroblasto con lo scaffolds grazie alle integrine ($\alpha_1 \beta_1$ and $\alpha_2 \beta_1$) e dei ligandi dello scaffold.

Un articolo evidenzia che lesioni di nervi trattati con scaffold a base di collagene, contengono una bassa concentrazione di TGFb1, TGFb2 (transforming growth factor), aSMA (alpha smooth muscle actin) ed elevate concentrazioni di TGFb3 (2). L' aSMA è il maggiore marcatore del miofibroblasto contrattile, mentre le isoforme TGF-b sono richieste per il differenziamento dei miofibroblasti.

L'alto tasso di TGF-b e la successiva deposizione di matrice ha un ruolo nell'etiologia della cicatrice ipertrofica dopo un'ustione profonda. Le isoforme del TGF-b giocano ruoli distinti nella riparazione tissutale; il TGF-b 1/2 ha una predominante attività pro attività cicatriziale e il TGF-b3 ha azione anti effetto cicatrice.

Dopo un danno, le amine vasoattive aumentano la permeabilità vascolare e l'accumulo di fattori della coagulazione con la formazione di fibrina, il rilascio di PDGF e di TGF-b, di piastrine e macrofagi attivati che richiamano neutrofili. Il TGF-b gioca un ruolo in 3 fasi dopo un danno tissutale. Durante la fase richiama istiociti e granulociti neutrofili responsabili della rimozione dei detriti cellulari e del rilascio dei fattori di crescita; durante la fase proliferativa promuovono la angiogenesi, la proliferazione dei fibroblasti e la loro differenziazione in miofibroblasti, e aumentano l'espressione dei componenti della matrice che modulano l'attività delle metalloproteinasi e dei loro inibitori. Il TGF-b, nella fase di maturazione, induce l'allineamento delle fibre di collagene lungo le linee di tensione. Il cross-linking del collagene e la riorganizzazione si mantiene per mesi e rappresenta la fase di rimodellamento. Esso segue la contrazione della lesione che è facilitata dai fibroblasti

che contengono actina. La riduzione della densità dei miofibroblasti nelle lesioni trattate con questi scaffolds si può spiegare con una down-regulation della concentrazione dei livelli di TGF β 1, la citochina chiave richiesta per la differenziazione dei miofibroblasti. La causa di questa down regulation non è ancora chiara. Potrebbe essere il risultato di una grande affinità ipotetica con cui il TGF β 1 si associa in modo non specifico sulla superficie dello scaffold e la conseguente probabilità di riduzione nell'attività della citochina associata (riguardante la forma libera) . In un'altra ipotesi, l'associazione delle piastrine con lo scaffold porterebbe ad aggregazione piastrinica ridotta con riduzione della produzione di TGF β 1 (3).

L'utilizzo di biomateriali in fogli ha fornito uno scaffold per la migrazione cellulare, la produzione dei fattori di crescita vascolari adatti per promuovere la guarigione delle lesioni cutanee piane (4-5-6), con una rapida guarigione naturale della lesione. Esso consente ancora la riduzione delle amputazioni maggiori, del rischio chirurgico e dei tempi di guarigione.

1) Yannas IV, Lee E, Orgill DP, Skrabut EM, Murphy GF (1989) Synthesis and characterization of a model extracellular matrix which induces partial regeneration of adult mammalian skin. Proc Natl Acad Sci 86: 933-937.

2) Yannas IV (2013) Emerging rules for inducing organ regeneration. Biomaterials 34: 321-330.

3) Liu C, Xia Z, Czernuszka JT (2007) Design and development of three dimensional scaffolds for tissue engineering. Chem Eng Res Des 85: 1051-1064.

4) Shevchenko RV, James SL, James SE (2010) A review of tissue-engineered skin bioconstructs available for skin reconstruction. J R Soc Interface 7: 229-258.

5) Campitiello F, Della Corte A, Guerniero R, Pellino G, Canonico S (2015)

Efficacy of a new flowable wound matrix in tunneled and cavity ulcers: A preliminary report. *Wounds* 27: 152-157.

6) Campitiello F, Mancone M, Della Corte A, Guerniero R, Canonico S (2017) To evaluate the efficacy of an acellular flowable matrix in comparison with a wet dressing for the treatment of patients with diabetic foot ulcers: A randomized clinical trial. *Updates Surg* 1-7.