

LA VASCOLARIZZAZIONE

A 3D rendering of a blood vessel, showing a cross-section of the vessel wall and a large number of red blood cells (erythrocytes) flowing through the lumen. The red blood cells are depicted as biconcave discs, and the overall scene is illuminated with a warm, reddish glow.

Angela D'Alessio
Maria Luigia Critelli
Silvia Giorlando
Joel Messan



- Ingegneria tissutale e il problema della vascolarizzazione
- Processi di vasculogenesi e angiogenesi
- Fattori di crescita angiogenici
- Strategia per la vascolarizzazione di scaffold



- **Ingegneria tissutale e il problema della vascolarizzazione**
- Processi di vasculogenesi e angiogenesi
- Fattori di crescita angiogenici
- Strategia per la vascolarizzazione di scaffold

A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells. The cells are biconcave discs, appearing as bright red, slightly irregular shapes against a darker red background. They are scattered across the vertical strip, with some in focus and others blurred.

Molti studi clinici dimostrano che tessuti ingegnerizzati in vitro non possono sopravvivere senza un apporto sanguigno adeguato.

L'assenza di una rete vascolare in grado di distribuire ossigeno e altri nutrienti all'interno del dispositivo tissutale è un importante fattore limitante nel creare tessuti artificiali vascolarizzati.

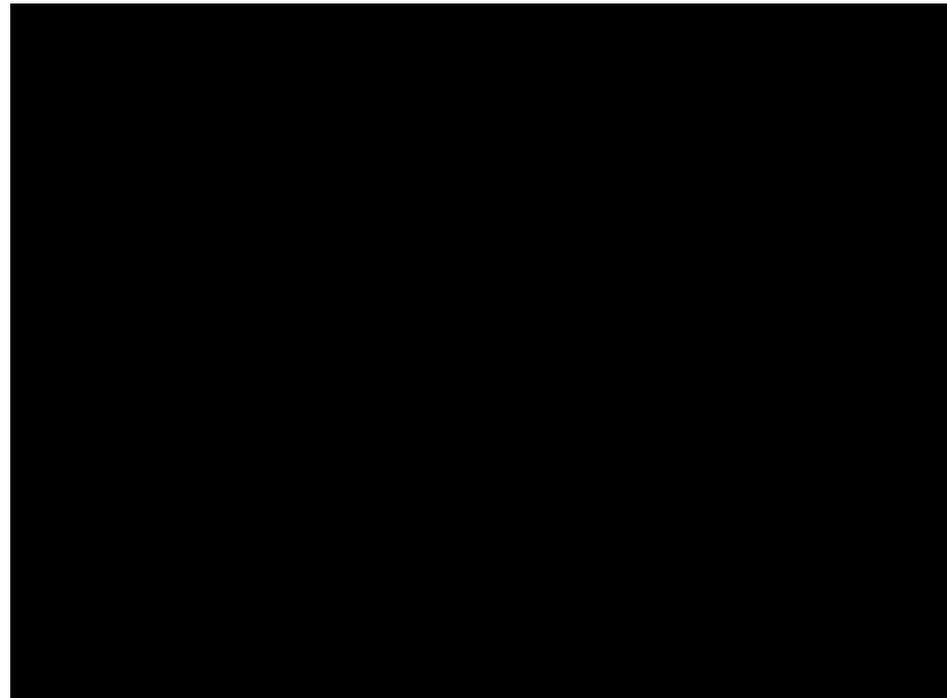


Obiettivo

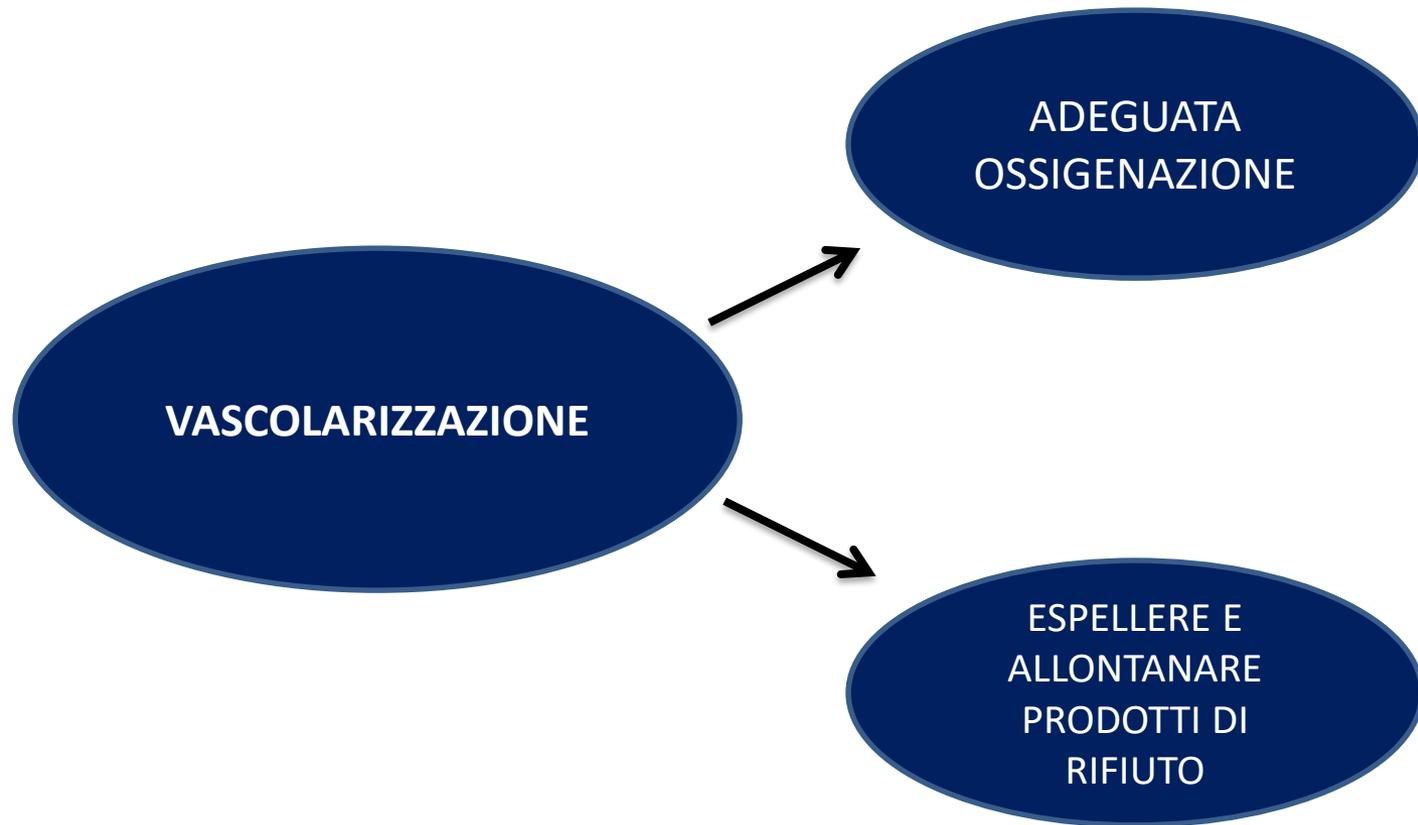
**Ripristinare o
far crescere
nuove strutture
irroratrici**



CRONACA – Descritta una nuova promettente tecnica per la crescita in vitro di vasi sanguigni. La branca della medicina rigenerativa ringrazia.



- 
- A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells. The cells are biconcave and appear as bright red, oval shapes against a darker red background.
- Una matrice gelatinosa di PEG è stata ingegnerizzata in modo da assomigliare il più possibile alla matrice extracellulare, così come i tipi cellulari che costituiscono le pareti dei vasi sanguigni e i fattori di crescita. Dopo aver opportunamente marcato le cellule con molecole fluorescenti, i ricercatori hanno ripreso il loro comportamento nella matrice di PEG per 3 giorni.
 - Il sistema ottenuto è stato impiantato nella cornea di alcuni topi.
 - E' bastato poco perché la nuova rete di capillari venisse invasa, a conferma della sua efficienza, da un normale flusso sanguigno.



Questa funzione deve essere garantita e controllata:

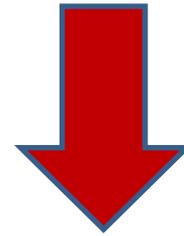
- Fase di crescita e maturazione in vitro
- Impianto
- Interazione e integrazione con l'organismo



Tessuti costituiti da aggregati cellulari di dimensioni consistenti non possono essere impiantati se non si predispona di una sede opportunamente vascolarizzata oppure della possibilità di formare nuovi vasi.

A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells. The cells are biconcave and appear as bright red, oval shapes against a darker red background.

Per i tessuti prossimi alla parete vascolare il contatto con il sangue garantisce una adeguata ossigenazione, ma può causare problemi di deposito e formazione di trombi.



Si stanno cercando di utilizzare superfici a contatto con il sangue rivestite da cellule endoteliali del paziente, anche se le difficoltà insorgono nella loro reperibilità e resistenza meccanica al flusso sanguigno.



- Ingegneria tissutale e il problema della vascolarizzazione
- **Processi di vasculogenesi e angiogenesi**
- Fattori di crescita angiogenici
- Strategia per la vascolarizzazione di scaffold

A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells (erythrocytes) against a dark red background. The cells are biconcave and have a lighter red center.

La **genes**i di un vaso sanguigno è un processo biologico complesso.

VASCULOGENESI:

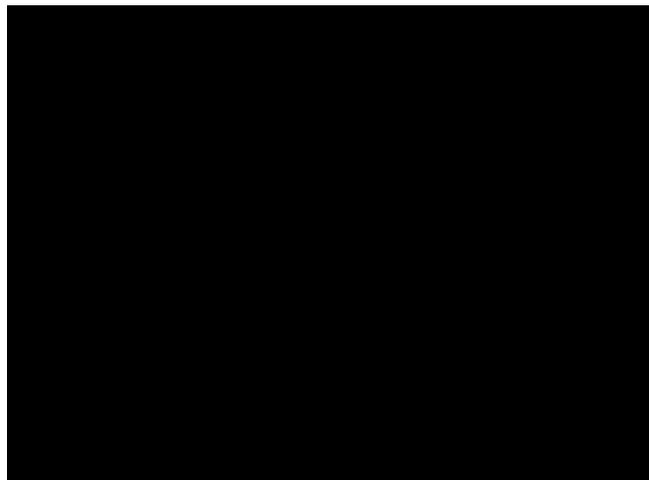
formazione di vasi sanguigni ex novo

ANGIOGENESI:

formazione di nuovi vasi sanguigni a partire da quelli già preesistenti



- La vasculogenesi si verifica generalmente durante lo sviluppo embrionale.
- Recentemente, si è capito che può verificarsi anche nell'organismo adulto.
 - ✓ Sono state identificate in circolo cellule progenitrici endoteliali in grado di contribuire alla neovascolarizzazione (es. durante lo sviluppo tumorale o dopo un'ischemia cardiaca).

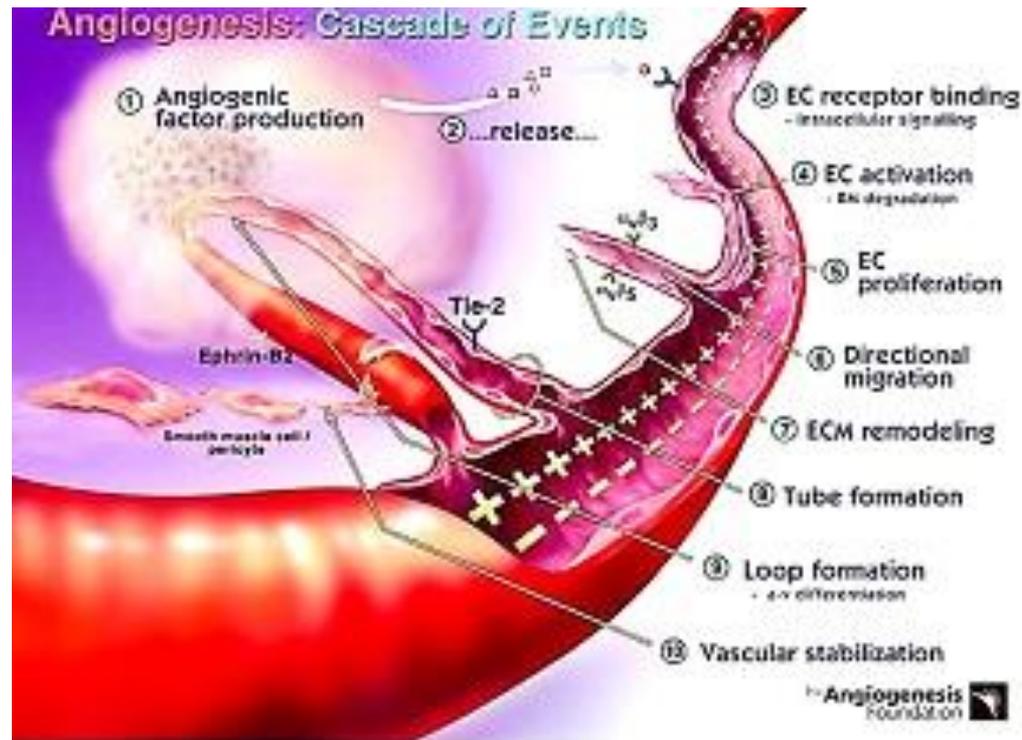


A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells. The cells are biconcave and appear as bright red, oval shapes against a darker red background.

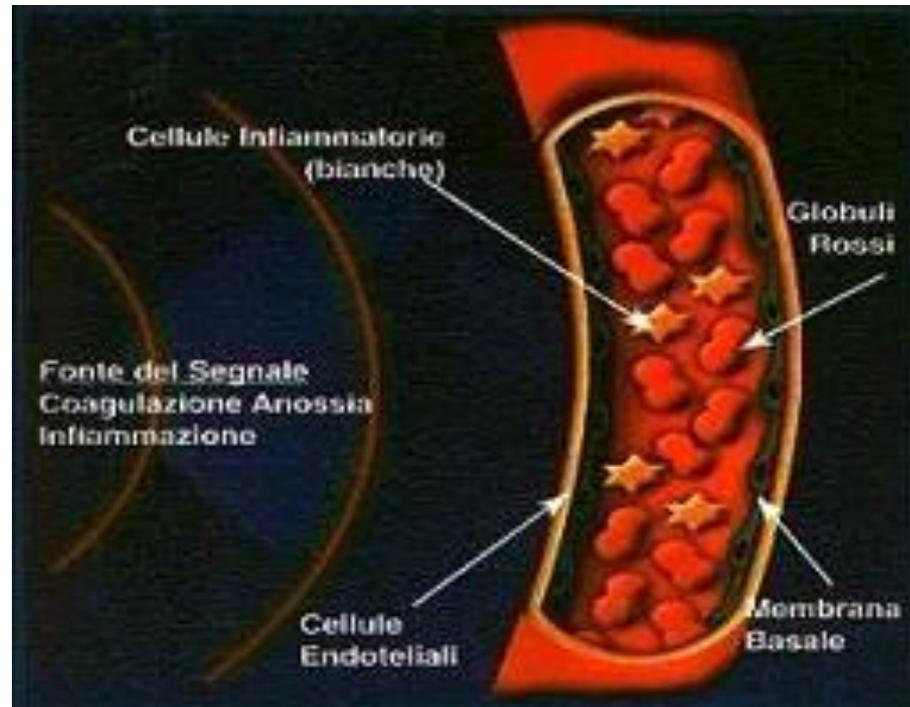
Una volta che la vasculogenesi produce un primo abbozzo del vaso, la vascolarizzazione continua per mezzo dell' **angiogenesi**.

Angiogenesi:

processo multifasico che genera nuovi vasi sanguigni dal preesistente letto vascolare

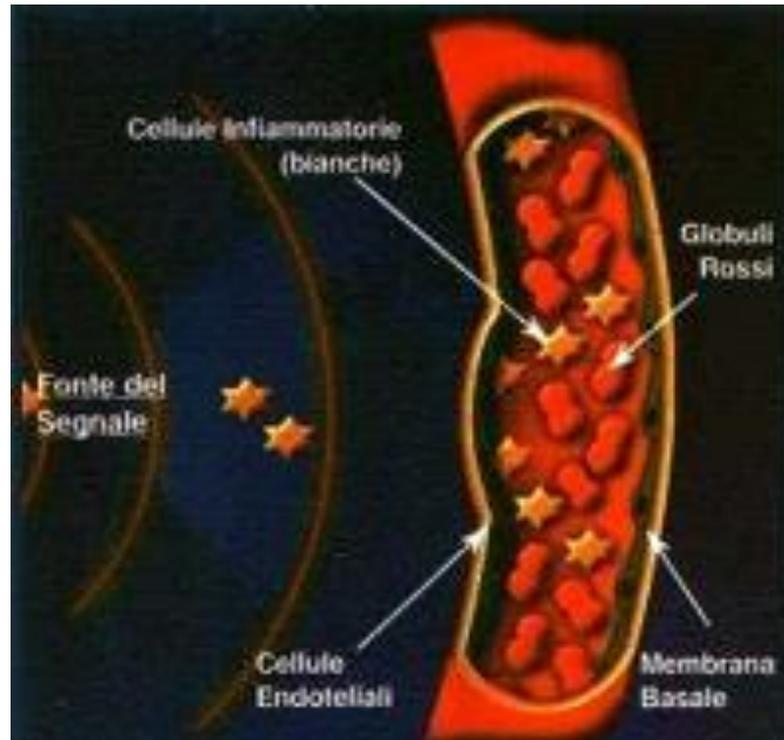


“Destabilizzazione dei vasi preesistenti”



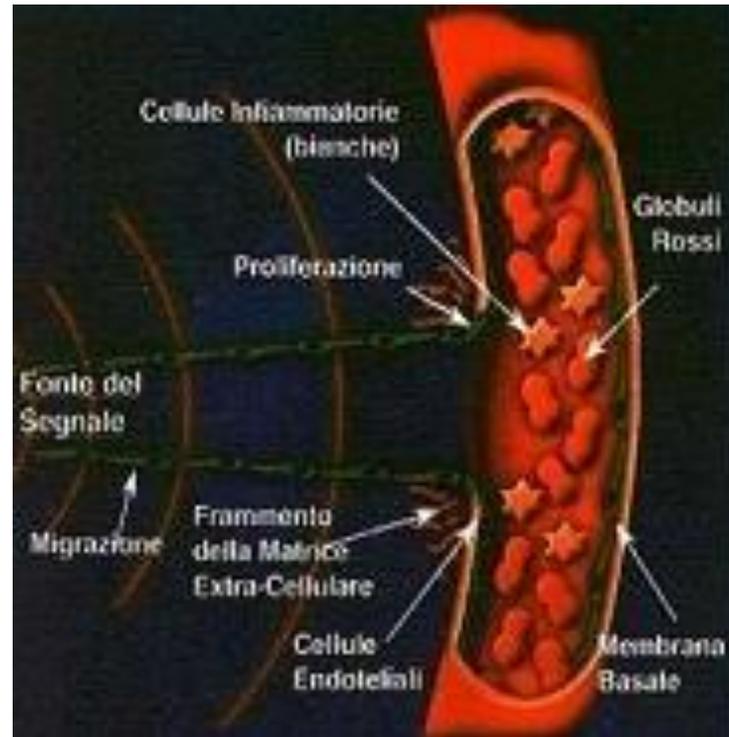
Una cellula attivata per mancanza di ossigeno rilascia, tra le altre, le molecole angiogene che attirano le cellule infiammatorie ed endoteliali e ne favoriscono la proliferazione.

“Amplificazione richiamo angiogeno”



Nel corso della loro migrazione verso la fonte del segnale , le cellule infiammatorie secernono delle molecole che amplificano il richiamo angiogeno.

“Migrazione e Proliferazione”



Le cellule endoteliali che formano i vasi, rispondono alla chiamata angiogenica differenziandosi e secernendo le proteasi che rompono la parete dei vasi per permettere la loro migrazione verso la fonte di segnale.

“Migrazione e Proliferazione”



Diversi frammenti proteici amplificano l'attività proliferativa e migratoria delle cellule endoteliali che formano il tubo capillare modificando la disposizione delle loro proteine di membrana d'adesione.

“Maturazione funzionale”



Nel loro percorso, le cellule endoteliali producono una matrice extracellulare che è assemblata in una membrana basale organizzata, tracciando la formazione di un nuovo funzionale vaso sanguigno

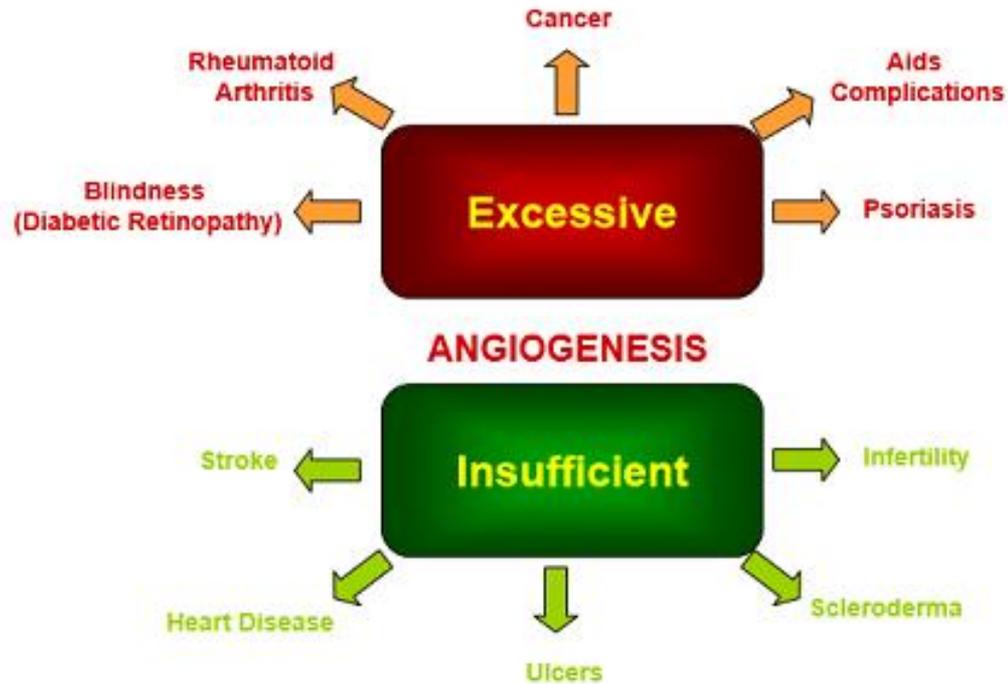
“Maturazione funzionale”



Grazie al fenomeno dell’anastomosi, i capillari provenienti dalle arteriole e dalle venule si uniscono permettendo un flusso sanguigno continuato

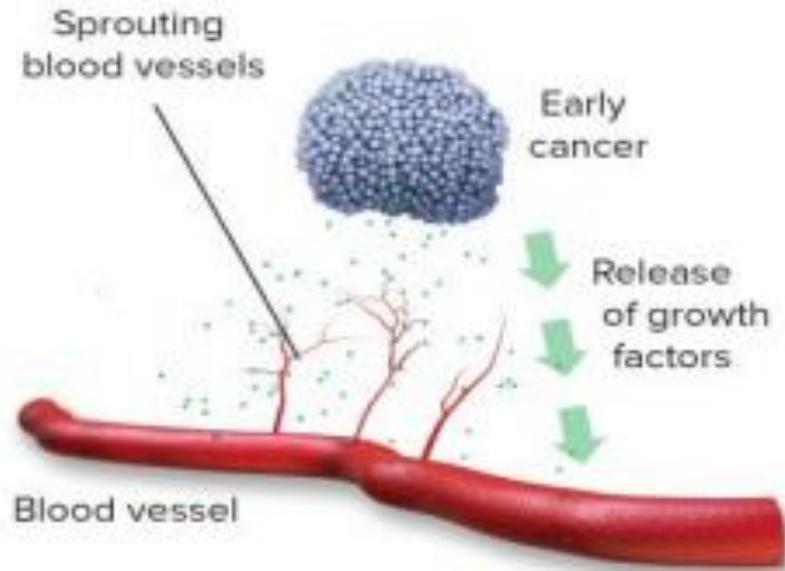


- Il termine angiogenesi fu introdotto da Herting nel 1935 per descrivere il processo di vascolarizzazione che avviene a livello placentare;
- Come meccanismo parafisiologico è osservabile durante la riparazione dei tessuti, la cicatrizzazione e guarigione delle ferite;
- In alcuni casi si ha squilibrio fra fattori pro e anti-angiogenesi con complicazioni fisiologiche importanti.



1. Bassa attività angiogenica:
danneggiamento dei tessuti in seguito all'ischemia
insufficienza cardiaca
2. Alta attività angiogenica:
tumori e infiammazioni croniche (artrite reumatoide,
sindrome di Crohn, endometriosi, arteriosclerosi)

Tumori



1. Le cellule al centro della massa tumorale rilasciano fattori di crescita come “segnale di stress” verso i tessuti circostanti.
2. I vasi sanguigni adiacenti ricevono questi segnali e danno inizio alla crescita di nuovi vasi.

Tumori



3. I vasi che crescono nel tumore nutrono il tessuto tumorale, sviluppando ossigeno e sostanze nutrizionali essenziali; man mano che il tumore cresce, il segnale può diventare più forte e promuovere la crescita di altri vasi sanguigni.



- Ingegneria tissutale e il problema della vascolarizzazione
- Processi di vasculogenesi e angiogenesi
- **Fattori di crescita angiogenici**
- Strategia per la vascolarizzazione di scaffold

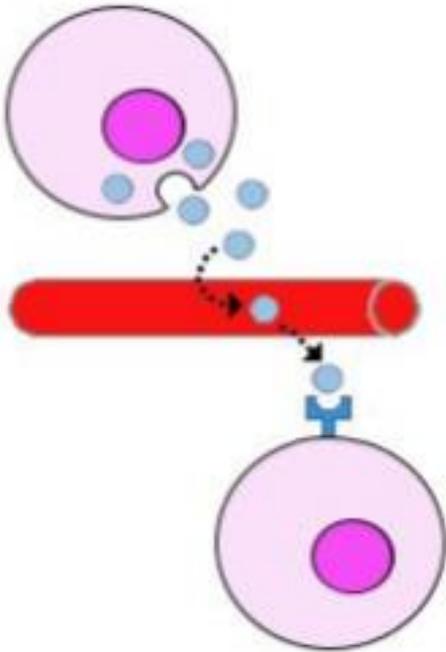


FATTORE DI CRESCITA

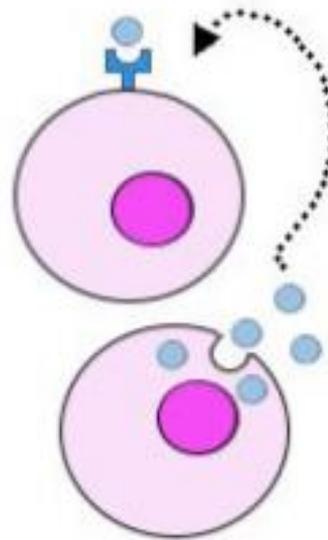
o fattore di accrescimento:

proteine in grado di stimolare la
proliferazione cellulare

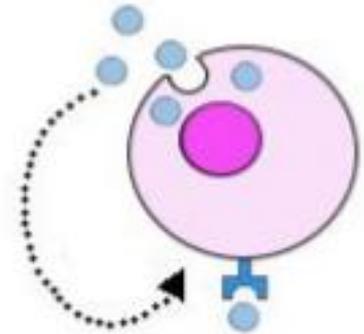
Tutti i fattori di crescita sono secreti nel mezzo extracellulare e possono agire sulla stessa cellula che li ha prodotti, sulle cellule vicine oppure a distanza.



Signalling endocrino. Nel signalling endocrino, le cellule rilasciano un messaggero che raggiungerà, tramite il flusso ematico, un bersaglio a distanza, quale un organo.

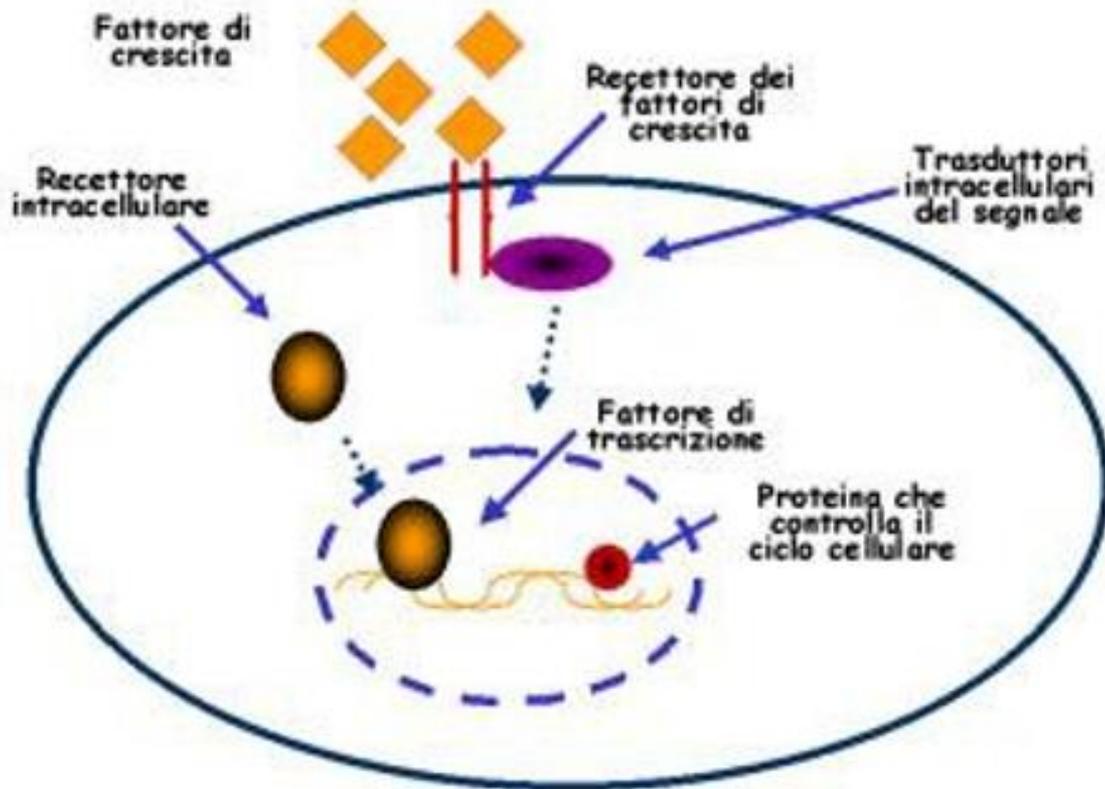


Signalling paracrino. Il bersaglio del messaggero, nel signalling paracrino, è una cellula che si trova nelle immediate vicinanze della cellula secretoria.



Signalling autocrino. Nel signalling autocrino, la cellula bersaglio del messaggero è la cellula secretoria stessa.

I fattori di crescita si legano a specifici recettori situati sulla superficie cellulare e trasmettono il segnale alle cellule stesse. Il legame fattore di crescita-recettore è specifico e i segnali attivano la trascrizione di geni specifici.





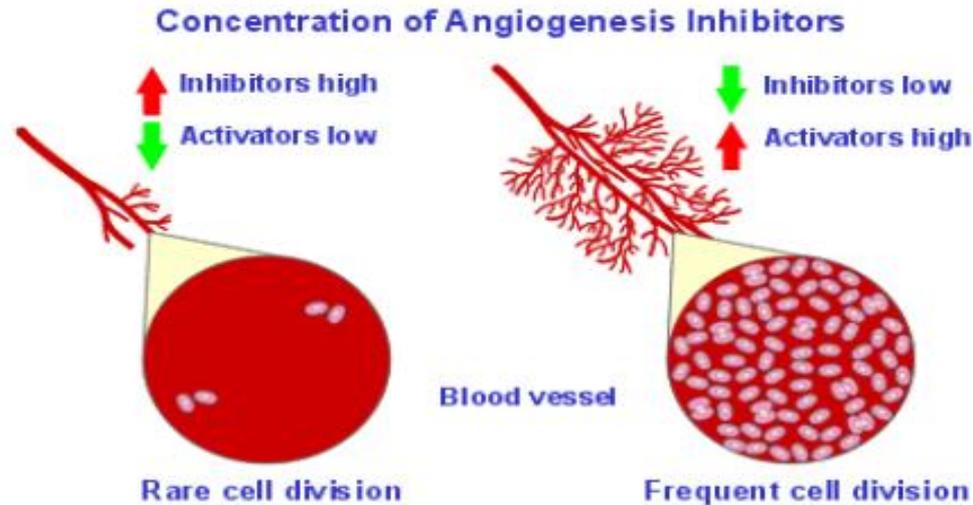
I fattori di crescita possono:

- promuovere, oltre alla proliferazione, la sopravvivenza della cellula, il suo movimento, la contrattilità, il differenziamento e l'angiogenesi;
- avere un numero ampio di bersagli cellulari;
- avere un numero limitato di cellule bersaglio, risultando quindi più specifici.

BMP → differenziamento osteoblasti
VEGF → crescita vasi

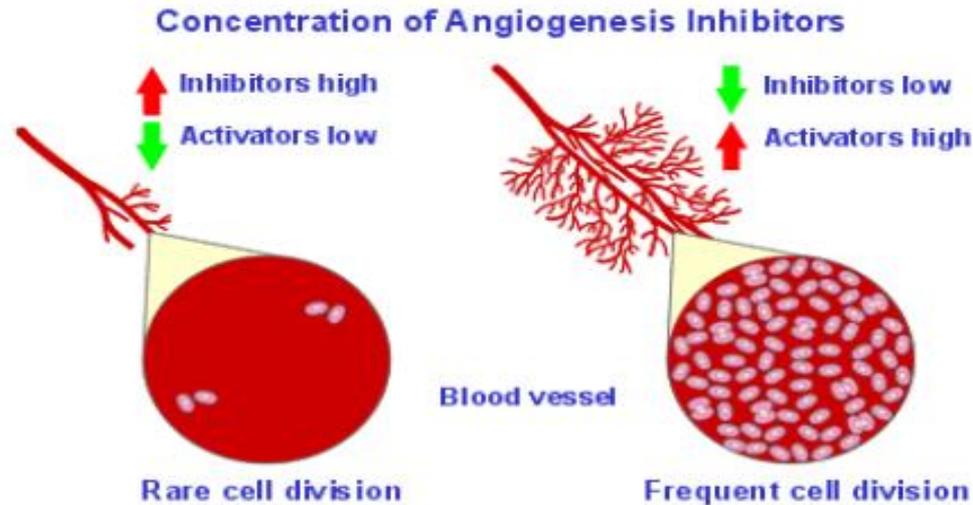
Fattore di crescita	Simbolo	Origine	Attività principale
Fattore di crescita epidermico	EGF	Piastrine, macrofagi, saliva, urine, latte materno, plasma.	Stimola la crescita delle cellule dell'epidermide e dell'epitelio.
Fattore di crescita trasformante alfa	TGF- α	Macrofagi, linfociti T, cheratinociti, molti tessuti.	Simile al fattore di crescita epidermico.
Fattore di crescita epatocitario / fattore di dispersione	HGF	Cellule mesenchimali.	Mitogenico per gli epatociti e per le cellule epiteliali ed endoteliali. Aumenta la motilità cellulare.
Fattore di crescita derivato dalle piastrine	PDGF	Piastrine, macrofagi, cellule endoteliali, cellule muscolari lisce.	Stimola la proliferazione delle cellule durante la guarigione delle ferite; mitogeno per fibroblasti, cellule endoteliali e cellule muscolari lisce; stimola l'angiogenesi.
Fattore di crescita endoteliale vascolare	VEGF	Molti tipi cellulari.	Aumenta la permeabilità vasale; mitogeno per le cellule endoteliali; impiegato nel processo di angiogenesi.
Fattore di crescita trasformante-beta	TGF- β	Piastrine, linfociti T, macrofagi, cellule endoteliali, cellule muscolari lisce, fibroblasti.	Controlla proliferazione, sopravvivenza cellulare, cambi di morfologia, migrazione e differenziamento cellulare; esercita una funzione citostatica su cellule del sistema immunitario, in particolare sui linfociti T.
Fattore di crescita dei cheratinociti	KGF	Fibroblasti.	Stimola la migrazione, la proliferazione e il differenziamento dei cheratinociti.
Fattore di crescita dei fibroblasti	FGF	Macrofagi, mastociti, linfociti, fibroblasti, cellule endoteliali.	Mitogeno per fibroblasti e cheratinociti; stimola l'angiogenesi e la contrazione delle ferite.
Fattore di necrosi tumorale	TNF	Macrofagi, mastociti, linfociti T.	Attiva i macrofagi.

Fattori di crescita angiogenici



- Nell'adulto il tessuto vascolare si trova solitamente in uno stato di quiescenza.
- Nonostante l'abbondanza di fattori angiogenici all'interno dei tessuti, si ritiene che ci sia una controparte di molecole inibitorie che riesca ad annullare gli effetti di questi fattori angiogenici e a mantenere le cellule endoteliali in un stato inattivo.

Fattori di crescita angiogenici



- Per la coesistenza di mediatori angiogenici positivi e negativi è immediato pensare che l'attività dell'endotelio sia governata da un delicato e costante bilanciamento di fattori aventi funzioni contrapposte.
- All'interno del processo dell'angiogenesi, nella fase di attivazione predominano gli stimoli positivi, mentre nelle fasi di terminazione e stabilizzazione del vaso predomina l'azione di fattori inibitori endogeni.

A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells (erythrocytes) in a blood vessel. The cells are biconcave and appear as bright red, oval shapes against a darker red background.

Fattori di crescita angiogenici

1. Fattori angiogenici diretti:
agiscono in maniera diretta sulle cellule endoteliali, stimolandone la crescita (VEGF e FGF).
2. Fattori angiogenici indiretti:
stimolano cellule non endoteliali a rilasciare fattori angiogenici diretti (PDGF).



La possibilità di intervenire sul processo dell'angiogenesi rappresenta una valida terapia per **disturbi patologici**:

- l'inibizione del processo angiogenico viene effettuata nel trattamento di malattie infiammatorie, di alcune malattie vascolari e dei tumori;
- la stimolazione della neo-vascularizzazione è in fase di studio per favorire il recupero di organi o di tessuti danneggiati.

angiogenesi terapeutica
ingegneria tissutale

A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells. The cells are biconcave discs, appearing as reddish, oval shapes with a darker center, set against a dark red background.

VEGF e FGF

potere angiogenico terapeutico

Esperimenti condotti con l'FGF e il VEGF (isoforma a 165 aminoacidi) su conigli con ischemia agli arti posteriori o con infarto del miocardio hanno mostrato un aumento della formazione di vasi collaterali, con conseguente incremento del flusso sanguigno e un recupero dei tessuti interessati.

A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells. The cells are biconcave and appear as bright red, oval shapes against a darker red background.

Terapia genica:

alternativa all'utilizzo di fattori di crescita

- si inoculano frammenti di DNA, contenenti il gene per il fattore angiogenico interessato, nel punto dell'organismo in cui si vuole aumentare l'espressione di quel determinato fattore di crescita, in modo che induca una stimolazione del processo angiogenico.
 - ✓ soddisfacente rivascolarizzazione nel sito di iniezione
 - ✓ limitazione nell'impiego di proteine angiogeniche somministrate tramite iniezione a causa dell'instabilità di questi fattori in vivo e dell'incapacità di ottenere effetti controllati anche in luoghi lontani da quello di somministrazione.

A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells. The cells are biconcave and appear as bright red, oval shapes against a darker red background.

Nell'ottica di rimediare a questi svantaggi sono stati progettati dei sistemi polimerici biodegradabili che prevedono il rilascio localizzato e controllato nel tempo di uno o più fattori di crescita.

Per esempio, sono stati ideati sistemi di rilascio di FGF-2, in cui questo fattore viene legato ad un supporto di eparina e il suo distacco avviene grazie all'azione di una eparinasi.

A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells. The cells are biconcave discs, appearing as reddish, oval shapes with a darker center, set against a dark red background.

Problematiche :

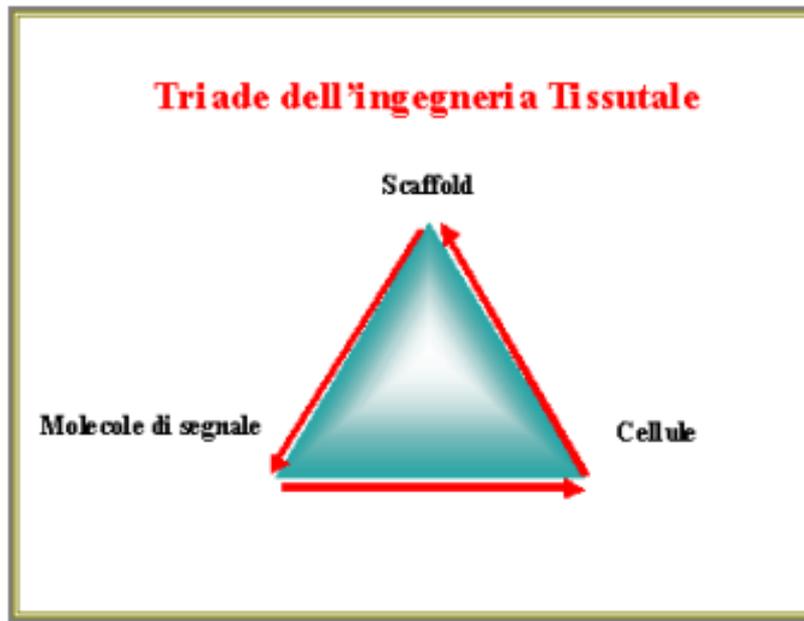
- sistemi progettati per liberare solo un tipo di fattore angiogenico;
- sintesi complessa;
- difficoltà nella formulazione di una forma farmaceutica che assicuri la stabilità fino alla somministrazione in vivo;
- rilascio controllato ed efficace.

Per superare queste problematiche, attualmente si sta puntando all'uso di piccole molecole di sintesi che riescano a mimare l'attività biologica dei fattori di crescita e che, essendo a basso peso molecolare, risultino più facili da produrre.

A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells (erythrocytes) against a dark red background. The cells are biconcave and appear as bright red, oval shapes with some internal structure visible.

Angiogenesi dell'ingegneria tissutale

- Le soluzioni proposte dalla medicina (trapianto o chirurgia ricostruttiva) sono spesso limitate da vari fattori, come la carenza di donatori, il rischio di rigetto nel caso dei trapianti, o la bassa qualità e funzionalità dei materiali impiegati.
- Uno dei campi più promettenti in grado di risolvere tali problematiche è rappresentato proprio dall'ingegneria tissutale, che ha l'obiettivo di sviluppare sostituti biologici in grado di mantenere, sostituire o aumentare le funzioni vitali degli organi o dei tessuti danneggiati.



1. **cellule staminali** caratterizzate da un alto potenziale proliferativo;
2. supporto su cui seminare le cellule, in grado di fornire la struttura tridimensionale necessaria alla formazione di un tessuto → **scaffold** in materiali sintetici (propilene, poliestere, poliammide) o naturali (collagene, gel di fibrina, acido ialuronico)
3. **molecole segnale** solubili o legate al supporto, come fattori di adesione o di crescita.



Per vascolarizzare i tessuti bio-ingegnerizzati e migliorare le performances dell'impianto è opportuno incorporare fattori angiogenici nel tessuto ingegnerizzato ed avviare una pre-vascolarizzazione del supporto prima della semina delle cellule.

- ✓ Rilascio lento e controllato;
- ✓ Piccole sequenze peptidiche flessibili e in grado di mimare le caratteristiche strutturali dei fattori di crescita.



- Ingegneria tissutale e il problema della vascolarizzazione
- Processi di vasculogenesi e angiogenesi
- Fattori di crescita angiogenici
- **Strategia per la vascolarizzazione di scaffold**

A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells (erythrocytes) against a dark red background. The cells are biconcave and have a reddish-pink hue.

Approccio classico dell'ingegneria tissutale:

- ✓ Uso di un biomateriale (scaffolds) con tutte le proprietà. Tra le più importanti:
la biocompatibilità e la biodegradabilità
- ✓ Isolamento e semina di cellule organo-specifiche che generalmente provengono dal paziente
- ✓ Uso di fattori di crescita

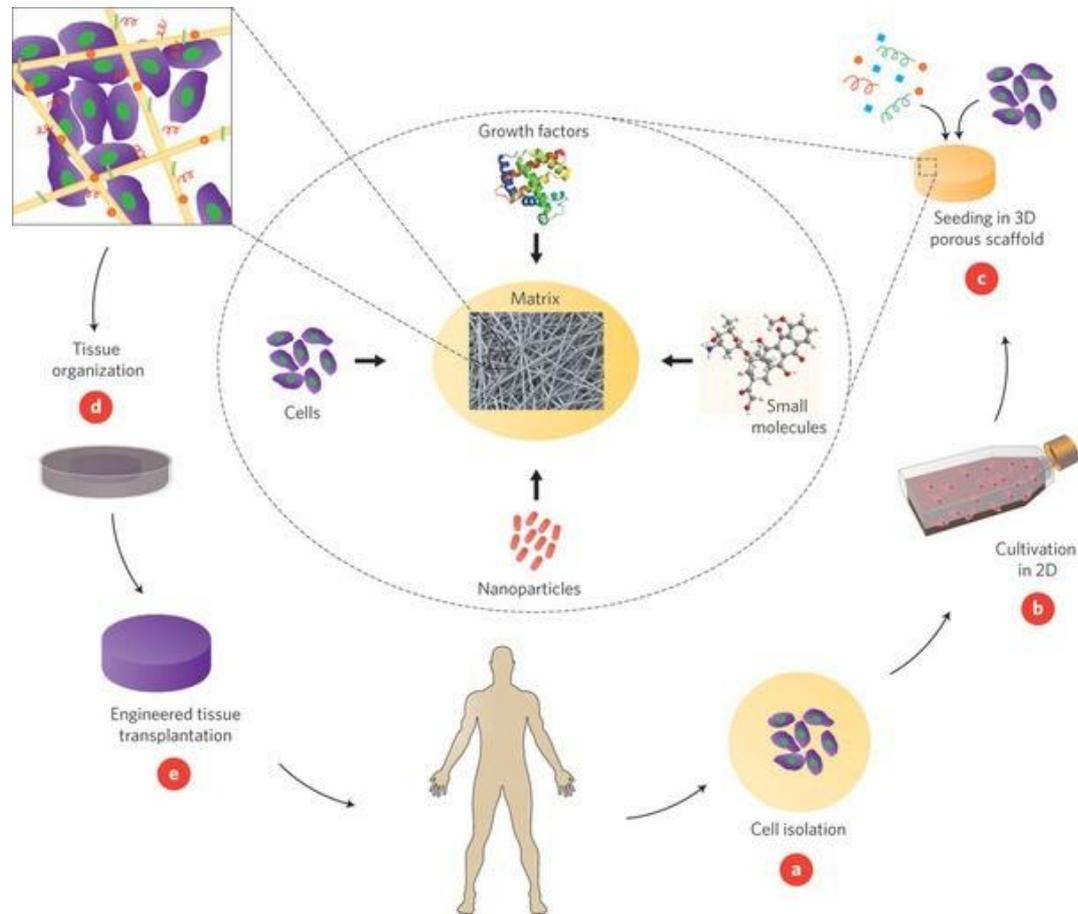
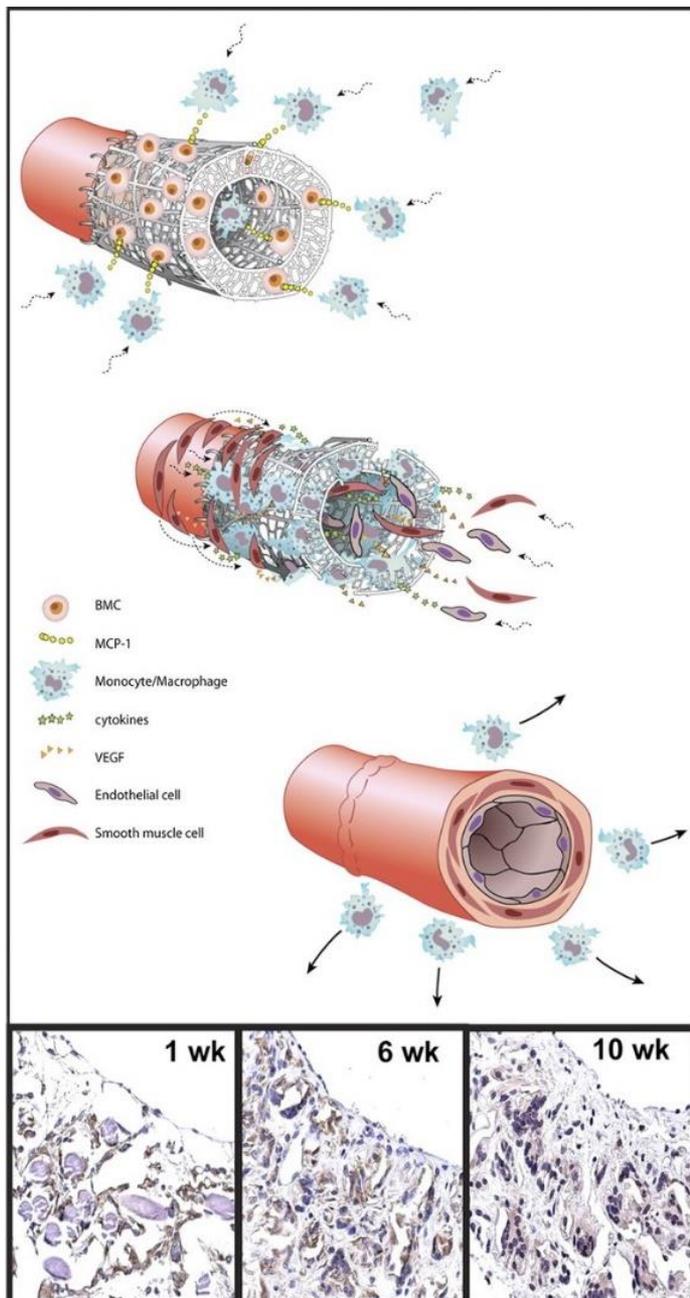


Immagine riassuntiva della tecnica dell'ingegneria tissutale: dall'isolamento cellulare alla semina fino alla trapianto al paziente.



✓ Un prerequisite importante per la sopravvivenza a lungo termine e una buona funzionalità di questi sistemi è una vascolarizzazione adeguata.

✓ La figura mostra il processo della vascolarizzazione di un biomateriale biodegradabile grazie all'aiuto di alcune cellule specifiche: BMC, MCP-1, monociti,

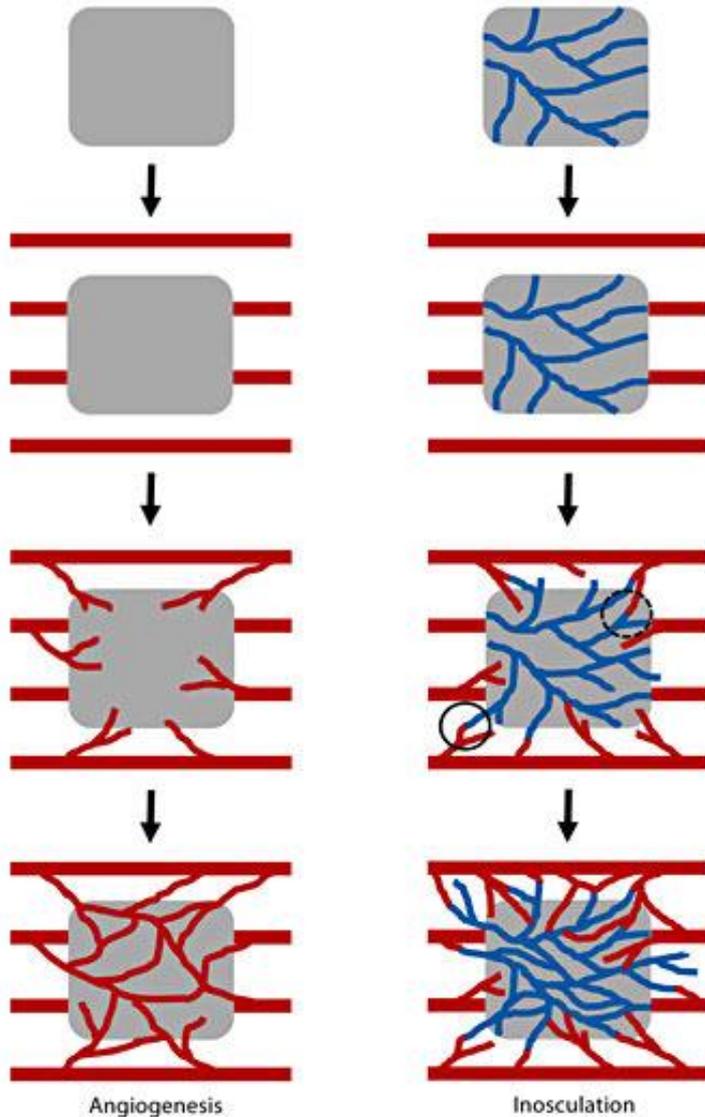
VEGF, cellule endoteliali e cellule muscolari lisce.

A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells (erythrocytes) in a blood vessel. The cells are biconcave and appear as bright red, oval shapes against a darker red background.

Principali strategie di vascolarizzazione:

1- **Angiogenesi** -> si concentra sulla crescita interna dei vasi sanguigni di nuova formazione nei sistemi impiantati dal tessuto ospite circostante.

2 -**Inosculation** -> si basa sulla generazione di reti micro vascolari preformati negli scaffolds che devono semplicemente sviluppare delle interconnessioni con il microcircolo ospitante.



- ✓ L'**approccio angiogenesi** è caratterizzato dalla crescita di germogli vascolari del microcircolo ospitante (vasi rossi) che alla fine formano una nuova rete.
- ✓ Nel caso dell'**approccio inosculation**, una rete microvascolare preformato (vasi blu) viene generato all'interno di uno scaffold prima del suo impianto.

A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells. The cells are biconcave discs, appearing as reddish-orange, oval shapes with a darker center, set against a dark red background.

L'angiogenesi in Ingegneria dei Tessuti

La crescita dei vasi sanguigni di nuova formazione in uno scaffold è un processo altamente dinamico.

All'attivazione angiogenica le cellule endoteliali del microcircolo ospitante iniziano a produrre metalloproteinasi con conseguente degradazione della loro membrana basale.

Questo è il presupposto per la loro successiva migrazione nell'interstizio circostante che è morfologicamente riflessa dalla formazione di gemme e germogli vascolari.

I germogli progressivamente crescono nell'impianto e si interconnettono per sviluppare nuove reti perfusi di sangue.

A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells. The cells are biconcave and appear as bright red, oval shapes against a darker red background.

L'angiogenesi in Ingegneria dei Tessuti

La vascolarizzazione di un costrutto tissutale tramite angiogenesi dipende dalla sequenza coordinata di vari meccanismi umorali e cellulari, in particolare da una stretta interazione tra il tessuto ospite e l'impianto.

Questo processo multifasico di vascolarizzazione angiogenico offre diverse possibilità per stimolare e accelerare la formazione di reti vascolari in costrutti di tessuto.

A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells. The cells are biconcave and appear as bright red, oval shapes against a darker red background.

L'angiogenesi in Ingegneria dei Tessuti

Diversi approcci per migliorare la vascolarizzazione in costrutti tissutali sono in fase di studio. Questi includono:

- ✓ **la modifica della composizione chimica e l'architettura dei scaffolds;**
- ✓ **la bioattivazione degli scaffolds mediante l'incorporazione di fattori di crescita o la semina cellulare;**
- ✓ **la stimolazione al reclutamento di cellule staminali presso il sito di impianto.**

A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells (erythrocytes) against a dark red background. The cells are biconcave and have a lighter red center.

La composizione chimica degli scaffolds

- ✓ Diversi studi hanno dimostrato che la vascolarizzazione di un scaffold è strettamente dipendente dalla sua composizione chimica.
- ✓ Esiste una stretta relazione tra la risposta infiammatoria in seguito all'impianto e la risposta angiogenica del tessuto ospite.
 - ✓ Rücker et al. hanno rilevato che scaffold di Acido poliglicolico (PLGA) inducono lieve infiammazione dopo l'impianto nella pelle dorsale di topi, una risposta angiogenica marcata del tessuto ospite e una buona vascolarizzazione degli impianti dopo 14 giorni.
 - ✓ Al contrario, scaffolds di collagene-chitosano-idrossiapatite inducono grave infiammazione, causando una completa mancanza di ricrescita dei micro vasi neoformati nei protesi.
 - ✓ Scaffolds poliuretano, che presentano un'eccellente biocompatibilità in vivo, sono caratterizzati da una scarsa vascolarizzazione.

Architettura degli scaffolds

- ✓ Druecke et al. hanno analizzato l'effetto delle dimensioni dei pori di scaffold a base di Polietere sulla vascolarizzazione, dimostrando che la crescita dei vasi sanguigni è stata notevolmente migliorata negli scaffolds con grandi pori di 250-300 micron rispetto ad impianti con dimensioni dei pori più piccoli.
- ✓ L'avanzamento delle tecniche di micro e nano fabbricazione ha permesso la realizzazione di scaffolds che presentano una struttura porosa fortemente interconnessa con dimensione dei pori controllabile.
- ✓ Yang et al. hanno applicato una tecnica di prototipazione rapida per la realizzazione di scaffolds di ceramici con pori submicrometrici per migliorare le interazioni cellulari/superficie, o la realizzazione di corridoi lunghi di 100-600 micron per permettere la vascolarizzazione.

A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells. The cells are biconcave and appear as bright red, oval shapes against a darker red background.

Incorporazione di fattori di crescita

- ✓ Una strategia comune per migliorare la vascolarizzazione degli scaffolds è la stimolazione della risposta angiogenica del tessuto ospite mediante incorporazione di fattori di crescita angiogenici negli impianti.
- ✓ Essi possono essere immobilizzati mediante un legame covalente o possono essere caricati sulla superficie degli scaffolds tramite rivestimento di collagene.
- ✓ In alternativa, possono essere legati a delle nanoparticelle o incapsulati in microsfere con velocità di degradazione definita.

A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells (erythrocytes) against a dark red background. The cells are biconcave and have a lighter red center.

Incorporazione di fattori di crescita

Vantaggio: il processo angiogenico è stimolato molto più efficientemente rispetto all'uso di un fattore di crescita da solo.

- ✓ E' stato dimostrato che l'incorporazione di molteplici fattori di crescita negli scaffolds migliorano la vascolarizzazione nei costruiti tissutali.
- ✓ Gérard et al. hanno riferito che l'effetto proangiogenico mediante fattori di crescita può essere ulteriormente migliorato mediante la loro combinazione con il solfato di rame.
- ✓ Infine, gli scaffolds possono essere arricchiti con i plasmidi (DNA plasmidico) per stimolare la produzione cellulare locale dei fattori di crescita angiogenici.

A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells (erythrocytes) against a dark red background. The cells are biconcave and have a lighter red center.

Semina cellulare

- ✓ Un'adeguata vascolarizzazione è raggiunta anche mediante l'inseminazione di cellule differenziate tessuto-specifiche o di cellule staminali multipotenti sugli scaffolds.

- ✓ Queste cellule contribuiscono al processo di vascolarizzazione attraverso meccanismi diversi:
 1. le cellule stimolano la vascolarizzazione rilasciando fattori di crescita angiogenici.
 2. le cellule staminali mostrano la capacità di differenziarsi in cellule vascolari e di auto-assemblarsi in nuovi micro vasi.

- ✓ Schumann et al. hanno recentemente seminato i due tipi di cellule sugli scaffolds di PLGA e analizzato la loro vascolarizzazione in vivo durante un periodo di 14 giorni.

Homing o la migrazione cellulare

- ✓ E' possibile promuovere lo sviluppo di nuovi vasi sanguigni stimolando l'homing: migrazione delle cellule staminali circolanti verso il sito di interesse.
- ✓ Si è dimostrato che queste cellule migrano verso siti ischemici mediante i recettori SDF1(Stromal cell-derived factor 1).
L'inseminazione del SDF1 in scaffolds di PLGA e policaprolattone ha indotto un accumulo di cellule staminali nel sito di impianto migliorando la risposta angiogenica del tessuto ospite.



- 
- A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells. The cells are biconcave and appear as bright red, oval shapes against a darker red background.
- ✓ Recenti progressi nel campo della modellazione computazionale offrono la possibilità di simulare la crescita interna di nuovi vasi sanguigni negli scaffolds in condizioni altamente standardizzate.
 - ✓ Di conseguenza, questo approccio in silico può contribuire all'ottimizzazione futura delle architetture degli impianti così come all'incorporazione di fattori di crescita o la semina cellulare.

A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells (erythrocytes) in a blood vessel. The cells are biconcave and have a reddish-pink color. The background is a dark red, suggesting the surrounding blood plasma.

Inosculation in Ingegneria dei Tessuti

Esistono diversi approcci nel processo di prevascolarizzazione degli scaffolds:

✓ possono essere seminati con cellule endoteliali o progenitrici endoteliali, che hanno la capacità di auto-assemblarsi spontaneamente in strutture capillari.

Svantaggio

tali strutture sono spesso instabili.

Questo può essere superato o trasferendo le cellule con geni che migliorano la loro sopravvivenza o (migliore alternativa) tramite co-semina degli scaffolds con le cellule endoteliali e cellule dei vasi-stabilizzanti.

A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells. The cells are biconcave discs, appearing as bright red, slightly irregular shapes against a darker red background. They are scattered throughout the vertical strip, with some in sharp focus and others blurred in the background.

Inosculation in Ingegneria dei Tessuti

Koike et al hanno incorporato le cellule endoteliali della vena ombelicale (HUVEC), le cellule precursori 10T1/2 mesenchimali in gel di fibronectina ed impiantato queste in topi, osservando così che le cellule HUVECs formavano vasi sanguigni perfusi e interconnessi ricoperti delle cellule precursori 10T1 / 2.

Questi vasi erano stabili e funzionali per 1 anno. Al contrario, gli scaffolds che sono stati seminati con solo HUVECs hanno mostrato una perfusione minima e sono regrediti già dopo 60 giorni.

A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells. The cells are biconcave and appear as bright red, oval shapes against a darker red background.

Inosculation in Ingegneria dei Tessuti

✓ possono anche essere generati in situ impiantando gli scaffolds in un sito ben vascolarizzato del corpo, che quindi funge da bioreattore naturale. In tal modo, una rete micro vascolare si sviluppa all'interno degli impianti dalla crescita dei micro vasi del tessuto ospite. Dopo aver stabilito una vascolarizzazione sufficiente, gli scaffolds vengono espianati e trasferiti nel sito del difetto finale.

Vantaggio

I vasi sanguigni completamente funzionali sono formati negli impianti senza la necessità di procedure di isolamento e di insemminazione cellulare.

Svantaggio

Esso richiede:

- 1) l'impianto dello scaffold per la prevascolarizzazione
- 2) la rimozione
- 3) l'inserimento definitivo nel sito difettoso.

Pertanto, a ciascuno di questi interventi chirurgici possono essere associate complicanze intra e post-operatorie.

A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells. The cells are biconcave discs, appearing as reddish, oval shapes with a darker center, set against a dark red background.

Inosculation in Ingegneria dei Tessuti

- ✓ In passato, la maggior parte degli studi hanno suggerito che l'inosculazione avviene all'interno degli innesti prevascolarizzati a causa della regressione dei micro vasi preformati e l'invasione dei micro vasi del tessuto ospite.
- ✓ Recenti studi mostrano che i micro vasi preformati possono crescere anche al di fuori delle protesi, promuovendo l'inosculazione esterna nel tessuto ospite circostante e, quindi, migliorando la vascolarizzazione.
- ✓ Inoltre, l'inizio dell'attività angiogenica in vasi preformati contribuisce anche ad un aumento della densità dei micro vasi.

A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells. The cells are biconcave and appear as bright red, oval shapes against a darker red background. They are scattered across the vertical strip, with some in sharp focus and others blurred.

Sebbene l'inoscultation di micro vasi preformati rappresenti una strategia di vascolarizzazione promettente in ingegneria tissutale, studi sperimentali dimostrano che anche quest'approccio non può garantire una adeguata perfusione sanguigna di scaffolds durante i primi giorni dopo l'impianto.

Ciò non è sorprendente, perché l'inoscultation dipende anche da processi angiogenici, quali l'attivazione angiogenica dei micro vasi preformati e del microcircolo ospitante e la loro crescita verso l'altro. Quindi, vi è una ragionevole necessità di nuove strategie, che ottimizzano ulteriormente la tecnica di inoscultation.

A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells. The cells are biconcave and appear as bright red, oval shapes against a darker red background.

Conclusioni

Approcci sofisticati sono stati sviluppati per migliorare la ricrescita di nuovi vasi sanguigni nei sistemi impiantati.

Tuttavia, poiché l'angiogenesi è un processo che richiede tempo, questi approcci da soli non possono prevenire la morte cellulare in grandi sostituti tridimensionali durante i primi giorni dopo l'impianto.

La generazione di reti micro vascolari preformate all'interno degli impianti e la loro successiva inosculation sul sito di impianto rappresenta una promettente alternativa per superare questo problema.

A vertical strip on the left side of the slide shows a microscopic view of several red blood cells. The cells are biconcave and appear as bright red, oval shapes against a darker red background.

Conclusioni

Tuttavia, studi recenti indicano che vi è ancora la necessità di ottimizzare tali strategie. Nuovi meccanismi di regolazione dell'angiogenesi e della formazione delle reti, nonché ulteriori progressi nel campo della modellazione computazionale, così come la ricerca dei biomateriali e la microchirurgia contribuiranno a raggiungere questo obiettivo nel prossimo futuro.



Grazie per
l'attenzione.