

Soluzioni per il tuo controllo

1. Composizione e funzione strutturale dell'ECM.

Il collagene (il più abbondante) forma triple eliche di catene α che si assemblano in fibrille attraverso *cross-linking* covalente catalizzato dalla lisil ossidasi (LOX); determina resistenza alla trazione e architettura tissutale. I proteoglicani sono costituiti da una proteina centrale con catene laterali di glicosaminoglicani (GAG) altamente cariche negativamente, che sequestrano acqua e cationi conferendo resistenza alla compressione (ad es., aggregano nella cartilagine). Le laminine sono eterotrimeri (catene α , β , γ) essenziali per le membrane basali e lo sviluppo embrionale. La fibronectina, secreta come dimero, media l'adesione cellulare tramite il sito RGD che lega le integrine. L'elastina, sintetizzata come tropoelastina e reticolata dalla LOX tramite desmosina e isodesmosina, conferisce elasticità ai tessuti sottoposti a stiramenti ripetuti (vasi, polmoni). Insieme, questi componenti determinano le proprietà meccaniche specifiche di ogni tessuto.

2. Rimodellamento dell'ECM: ruolo di LOX e MMP.

Il rimodellamento dell'ECM è un processo continuo. La LOX (lisil ossidasi) catalizza l'ossidazione dei residui di lisina del collagene e dell'elastina, formando legami crociati covalenti che aumentano la resistenza e la *stiffness* del tessuto. Nei tumori LOX è spesso iperattivata, aumentando la densità e rigidità della ECM. Le MMP (metalloproteinasi della matrice) degradano collagene e altri componenti della ECM; prodotte come zimogeni inattivi, vengono attivate da stimoli chimici e biofisici. La loro attività è controbilanciata dai TIMP (inibitori tissutali delle MMP). Uno squilibrio a favore delle MMP favorisce la fibrosi, la perdita di tenuta del tessuto connettivale (come nello scorbutto da carenza di vitamina C) e la progressione tumorale, poiché le MMP rilasciano anche frammenti bioattivi (ad es., endostatina) e fattori di crescita sequestrati nella ECM.

3. Reciprocità dinamica ECM-cellula.

La reciprocità dinamica descrive la relazione bidirezionale tra cellule e ECM: le cellule producono e rimodellano la ECM, mentre la ECM trasmette segnali che modulano il comportamento cellulare in un continuo ciclo di feedback. La segnalazione *outside-in* avviene quando i ligandi della ECM (ad es., fibronectina) si legano alle integrine, inducendo cambiamenti conformazionali che espongono i domini citoplasmatici all'interazione con proteine del complesso focale (FAK, ILK, vinculina, talina), attivando cascate di fosforilazione e *signaling* (Rho GTPasi, MAP chinasi). La segnalazione *inside-out* avviene quando segnali intracellulari (da FAK, ILK, talina) modificano la conformazione delle integrine, alterandone l'affinità per il ligando della ECM. Questo circuito regola proliferazione, differenziazione, polarità, contrattilità ed espressione genica.

4. Integrine: struttura e funzione.

Le integrine sono recettori eterodimeri transmembrana composti da subunità α e β (18 α e 8 β nei vertebrati, con 24 possibili combinazioni). Hanno ampi domini extracellulari che legano i ligandi della ECM e brevi regioni citoplasmatiche che interagiscono con il citoscheletro. Le integrine $\beta 1$ sono le principali che legano la matrice (fibronectina, collagene, laminina). All'attivazione, le integrine si aggregano nei complessi di adesione focale insieme a vinculina, talina e fibre di actina, innescando cascate di fosforilazione attraverso FAK e ILK. Queste cascate attivano Rho GTPasi e MAP chinasi, influenzando proliferazione, differenziazione, polarità e contrattilità. Le integrine funzionano quindi come canale bidirezionale (*inside-out* e *outside-in signaling*).

5. ECM come serbatoio di fattori di crescita.

La ECM sequestra fattori di crescita stabilendo gradienti di concentrazione e regolandone la biodisponibilità. I proteoglicani di eparan solfato (ad es., perlecano, sindecani) legano il TGF- β , FGF, Wnt, Hedgehog e altri morfogeni. La specificità delle catene laterali di eparan solfato permette un sequestro selettivo di FGF diversi, cosicché la composizione dell'ECM determina quale FGF è disponibile per la segnalazione. Il TGF- β è secreto in forma latente nel complesso latente TGF- β , che contiene il peptide RGD; il legame di questo complesso all'integrina $\alpha v \beta 6$ consente il rilascio del TGF- β attivo in modo dipendente dalla tensione dell'actomiosina. La ECM contiene anche inibitori di morfogeni (ad es., inibitori di BMP) che reprimono la differenziazione, e rilascia frammenti bioattivi (ad es., endostatina) per proteolisi selettiva delle MMP.

6. **Stiffness della ECM e destino delle cellule staminali.**

Le cellule staminali mesenchimali (MSC) si differenziano in neuroni su substrati morbidi (100-1000 Pa, analoghi al cervello), in mioblasti su substrati a rigidità intermedia (8000-17000 Pa) e in osteoblasti su substrati rigidi (25.000-40.000 Pa). Il meccanismo richiede la contrattilità dell'actomiosina: l'inibizione della miosina non muscolare abolisce la differenziazione dipendente dall'elasticità. Le cellule staminali neurali adulte si differenziano in neuroni su substrati morbidi (100-500 Pa) e in cellule gliali su substrati più rigidi (1000-10.000 Pa). La *stiffness* della ECM influenza anche la progressione del ciclo cellulare in fase G1 (dipendente da ciclina D1), spiegando la quiescenza delle MSC su substrati morbidi analoghi al midollo osseo. YAP/TAZ, attivati su substrati rigidi che aumentano la tensione citoscheletrica, mediano parte di questi effetti.

7. **Meccanotrasduzione: pressione idrostatica, *shear stress* e forza di trazione.**

La pressione idrostatica (HP) è presente nei tessuti contenenti fluidi (vasi, cuore, vescica). Valori normali di circa -3/-5 mmHg a livello interstiziale salgono a 10-40 mmHg nei tumori solidi. L'HP modula i canali ionici (ad es., Piezo1, con afflusso di Ca^{2+}) e attiva cascate come MAPK e p38, influenzando il fenotipo delle cellule staminali mesenchimali. Lo *shear stress* agisce principalmente sull'endotelio vascolare: il flusso laminare ha effetti antinfiammatori, mentre il flusso turbolento promuove l'aterosclerosi tramite NF- κ B e molecole di adesione (ICAM-1, VCAM-1). I meccano-recettori includono integrine, VE-caderina, VEGFR2 e PECAM-1. La forza di trazione (TF) modula la funzionalità muscolare e cardiovascolare attraverso integrine, p38MAPK, rilascio di NO e ROS; influenza anche il nucleo tramite l'actina nucleare e le lamine. I canali TRPV4 e Piezo2 rispondono rispettivamente a deformazioni fisiologiche (3-8%) e patologiche (18%).

8. **Il ruolo di YAP/TAZ nella via Hippo e nella meccanotrasduzione.**

YAP (Yes-associated protein) e TAZ (coattivatore trascrizionale PDZ) sono effettori della via Hippo. Quando la cascata Hippo è attiva, una serie di chinasi (MST1/2, LATS1/2) fosforilano YAP/TAZ, sequestrandoli nel citoplasma e avviandoli alla degradazione proteasomica. Quando Hippo è inattivo, YAP/TAZ non fosforilati traslocano nel nucleo dove attivano l'espressione genica. La rigidità della ECM regola questo processo: su substrati rigidi o in cellule molto diffuse, la tensione citoscheletrica (actomiosina) favorisce la traslocazione nucleare di YAP/TAZ. Su substrati morbidi o in cellule confinanti, YAP/TAZ rimangono citoplasmatici. Questo meccanismo è dipendente dalla GTPasi RhoA e dalla tensione citoscheletrica, e regola la differenziazione delle MSC: la traslocazione nucleare di YAP/TAZ è necessaria per l'induzione osteogenica su substrati rigidi.

9. **Forma cellulare e differenziazione.**

Esperimenti classici su condrociti di pollo (Abbott & Holtzer, 1966) hanno dimostrato che le cellule arrotondate in gruppi mantengono il fenotipo condrocitario (producono condroitin solfato e collagene), mentre cellule disperse singolarmente perdono la differenziazione. Con la microstampatura a contatto, isole di fibronectina di dimensioni diverse hanno mostrato che MSC su piccole isole (morfologia arrotondata) si differenziano in adipociti, mentre su grandi isole (cellule diffuse) attivano RhoA/ROCK, aumentano la tensione citoscheletrica e si differenziano in osteoblasti. Su strutture con bordi concavi (bassa tensione) prevale l'adipogenesi, su strutture con bordi acuminati (alta tensione) l'osteogenesi. Il meccanismo molecolare coinvolge la contrattilità dell'actomiosina come trasduttore della forma cellulare in segnali di destino: la forma regola la tensione interna, che attiva RhoA/ROCK e a valle YAP/TAZ.

10. **ECM e microgravità.**

La microgravità altera radicalmente il microambiente fisico sopprimendo la convezione dei fluidi, la sedimentazione e la spinta di galleggiamento. Le principali conseguenze cellulari includono: 1) disgregazione delle fibre di stress di actina e delle reti di microtubuli (rimodellamento del citoscheletro), con alterazione delle proteine meccanosensoriali come YAP/TAZ e perturbazione del destino cellulare; 2) formazione spontanea di sferoidi multicellulari 3D (circa il 50% delle cellule), che replicano l'architettura tissutale in vivo; 3) riduzione delle adesioni focali e della capacità migratoria; e 4) immunosoppressione: inibizione dell'attivazione delle cellule T, alterazione della produzione di citochine e della presentazione antigenica dei macrofagi. Per le cellule staminali, la microgravità rallenta la differenziazione preservando la pluripotenza. Per le cellule tumorali, si osservano fenotipi meno maligni, aumento dell'apoptosi e maggiore sensibilità agli agenti chemioterapici.