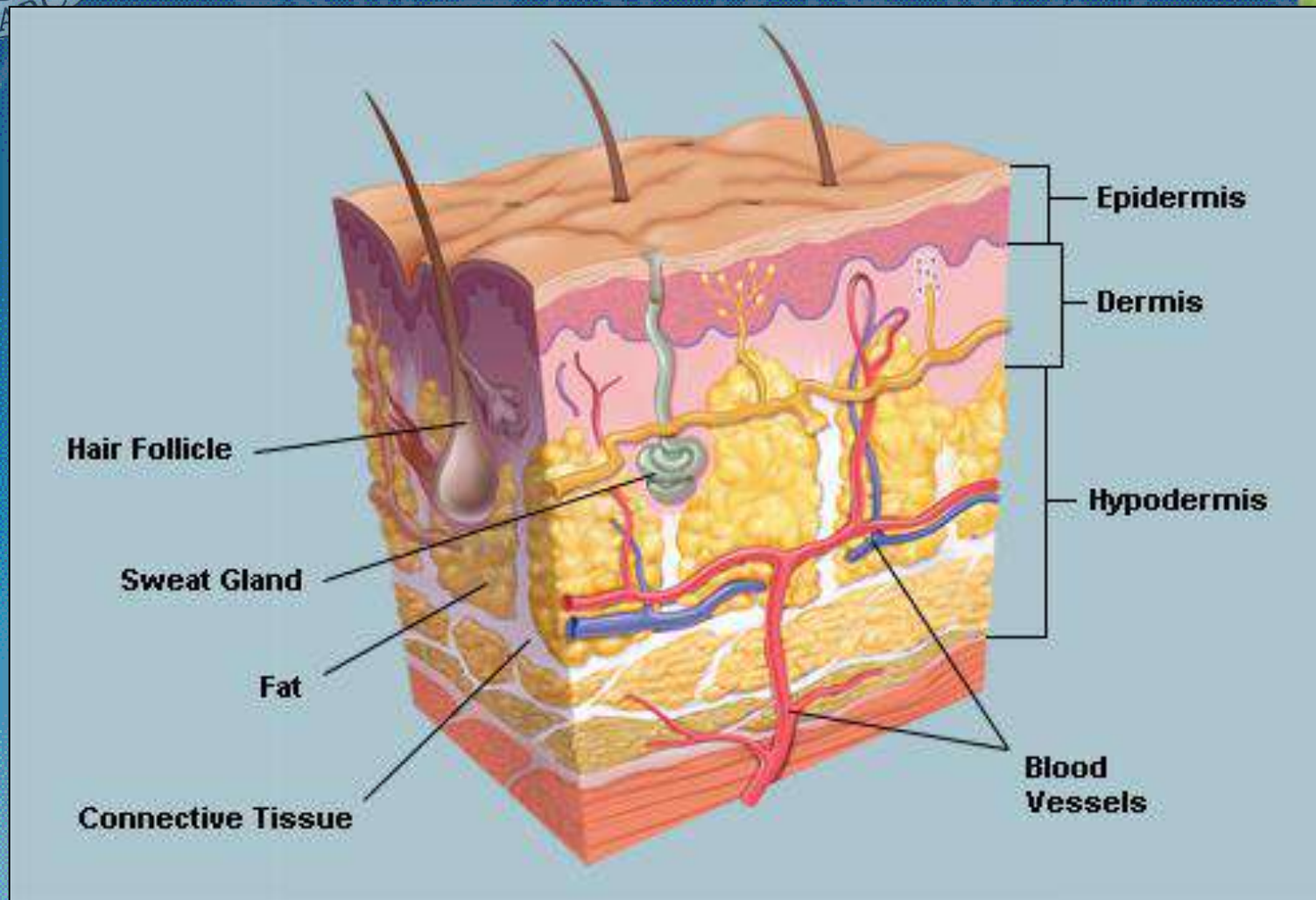


IL MICROAMBIENTE DELLE FERITE CUTANEE

Il ruolo del micro ambiente nella guarigione patologica delle ferite
Alessandro Scalise, Ancona - Italy



CUTE: ANATOMIA





CUTE: FUNZIONI

Epidermide:

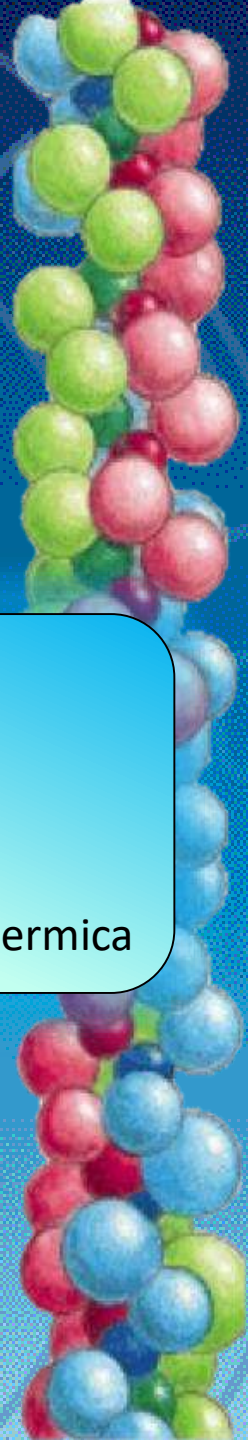
- Barriera di protezione da traumi, infezioni, disidratazione;
- Schermo per i raggi UVA

Ipoderma:

- Funzione plastica
- protezione dai traumi
- Riserva energetica
- Termoregolazione

Derma:

- Scambio metabolico;
- Risposta immunitaria;
- Guarigione delle ferite;
- Regolazione replicazione epidermica



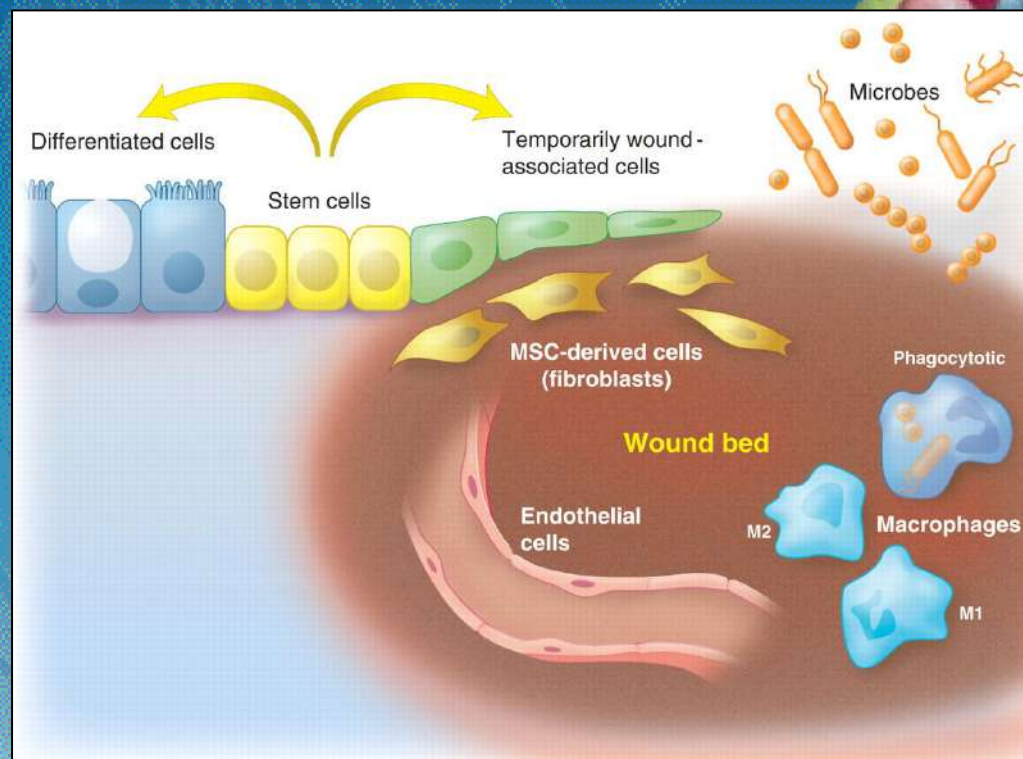
GUARIGIONE DELLE FERITE

Si definisce guarigione di una ferita la risposta dell' organismo alla perdita dell' integrità fisica di un tessuto od organo, volta a ristabilirne l' omeostasi e a stabilizzare la fisiologia dell' intero organismo

L' omeostasi viene ristabilita attraverso:

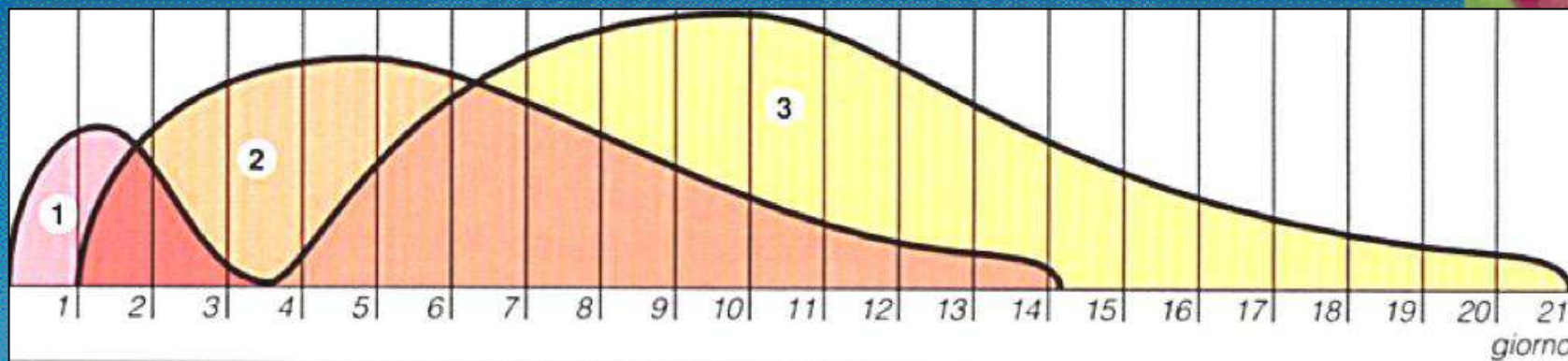
- **RIGENERAZIONE**
- **CICATRIZZAZIONE**

L' equilibrio tra i due è unico per ogni tessuto e determina la modalità di risposta al danno.



FASI DI GUARIGIONE DELLE FERITE

La normale risposta dei mammiferi alla perdita dell' integrità cutanea si sviluppa in tre fasi biologicamente distinte ma sovrapposte e in reciproca continuità.



- 1- Fase Infiammatoria*
- 2- Fase Proliferativa*
- 3- Fase di Maturazione*

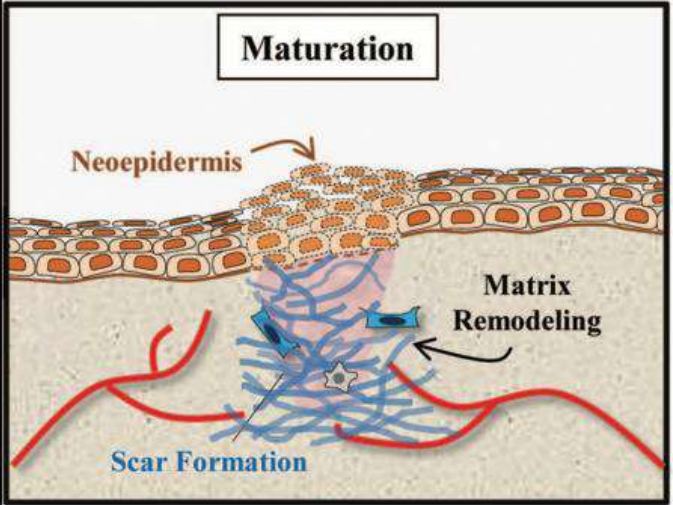
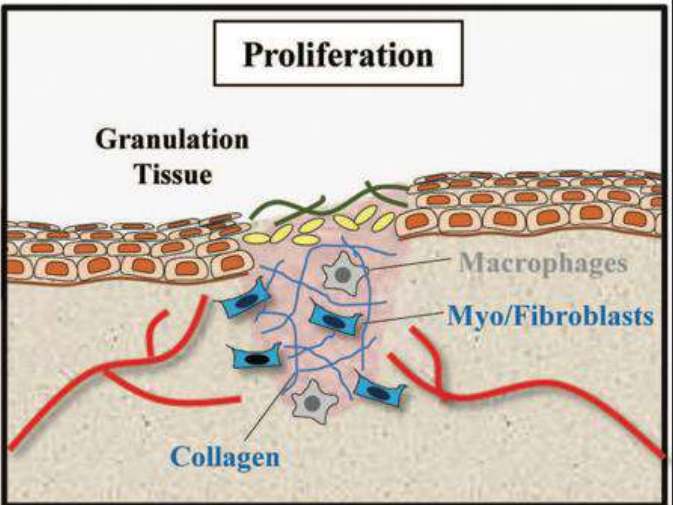
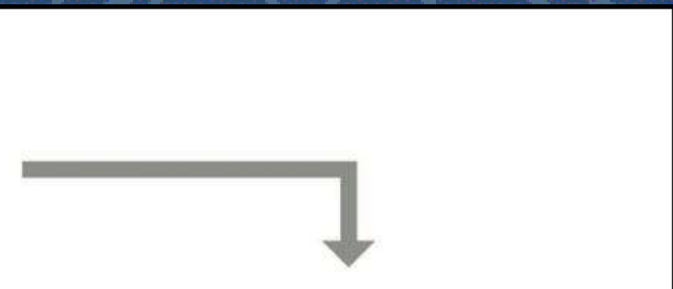
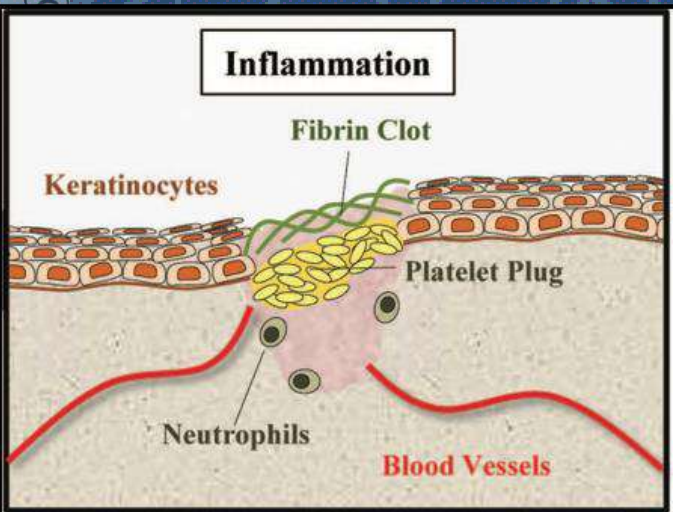


FASI DI GUARIGIONE DELLE FERITE

FASE INFIAMMATORIA: segue il danno iniziale ed il suo scopo è quello di ripristinare prontamente l' emostasi, rimuovere il tessuto devitalizzato e prevenire l' invasione microbiologica, principalmente batterica.

FASE PROLIFERATIVA: si sviluppano in equilibrio i processi di cicatrizzazione e riparazione, (generalmente nelle ferite cutanee prevale la cicatrizzazione), attraverso la formazione del tessuto di granulazione, il reclutamento e la proliferazione delle cellule connettivali e la riepitelizzazione superficiale della ferita.

FASE DI MATURAZIONE: si caratterizza per la deposizione di matrice extracellulare, rimodellamento tissutale e contrazione della ferita, con lo scopo di massimizzarne la forza e l' integrità strutturale.

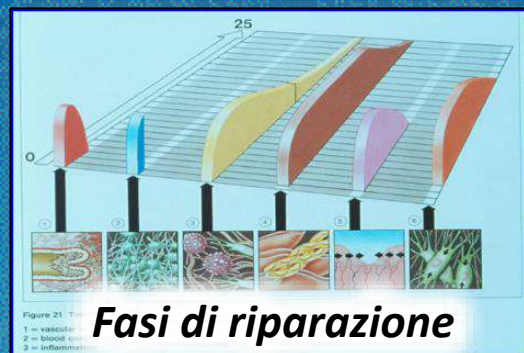


*Ko SH, Nauta A, Wong V, Glotzbach J, Gurtner GC, Longaker MT.
The role of stem cells in cutaneous wound healing: what do we really know?
Plast. Reconstr. Surg. 127 (Suppl.): 10S, 2011*



FERITE ACUTE E CRONICHE

- **FERITA ACUTA:** ferita generata da un evento lesivo occorso nelle ultime 3 o 4 settimane.
- **FERITA CRONICA:** la ferita persiste oltre le 6 e le 8 settimane, tale termine include lesioni che possono datare finanche mesi o anni.



**Interruzione nella sequenza
del processo di guarigione**





FERITE ACUTE E CRONICHE

CRONICA

- **riduzione** mitosi
- **riduzione** migrazione cellulare
- **alto** livello citochine infiammatorie
- **alto** livello proteasi
- **senescenza** cellulare

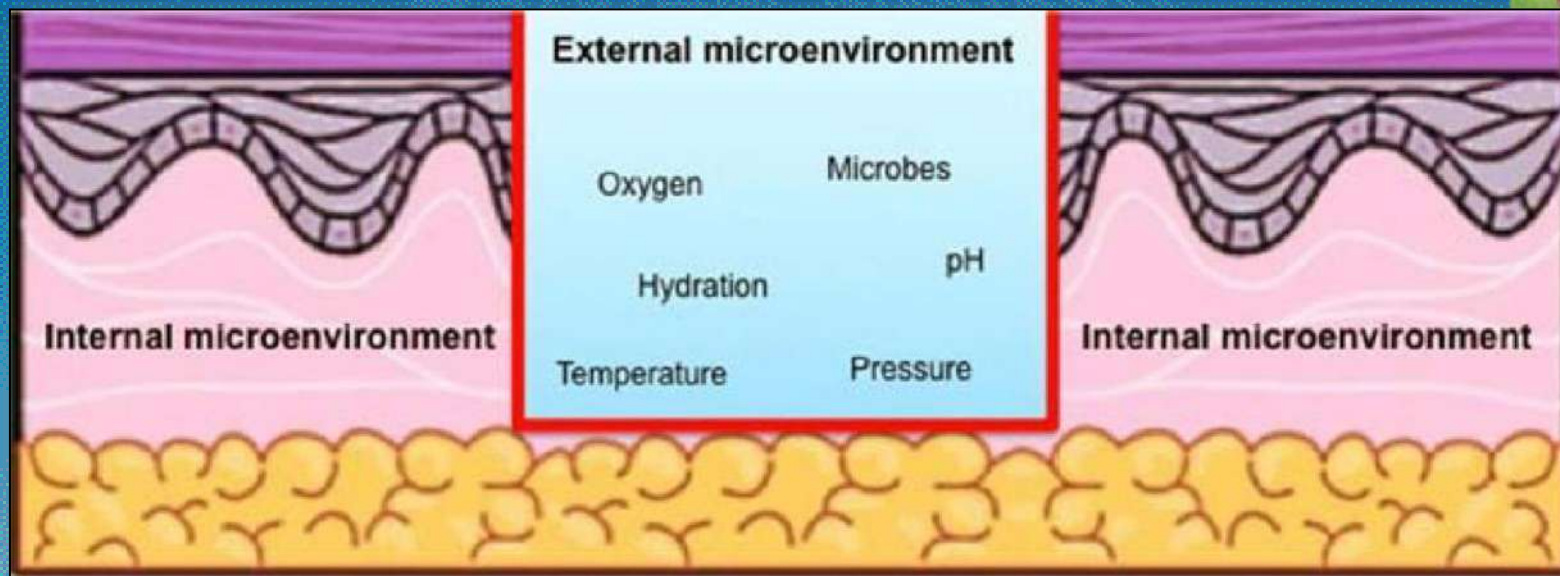
ACUTA

- **elevato** numero mitosi
- **rapida** migrazione cellulare
- **basso** livello citochine infiammatorie
- **basso** livello proteasi
- **normale** risposta cellulare ai fattori di crescita

**SQUILIBRIO DEL
MICROAMBIENTE**

IL CONCETTO DI MICROAMBIENTE

Il microambiente di una ferita è definito come il compartimento extracellulare in cui sono immerse le cellule che hanno ruolo nella riparazione tissutale e in cui vengono rilasciati i fattori che ne regolano l'attività.





INTERAGIRE CON IL MICROAMBIENTE

MEDICAZIONI AVANZATE: medicazioni che interagendo con le lesioni cutanee creano e mantengono un microambiente ottimale, idoneo ad accelerare il processo riparativo fisiologico

È quindi fondamentale l'interazione con il microambiente della ferita in relazione a vari fattori:

- umidità
- pH
- MMPs
- bioburden batterico
- specie reattive dell'ossigeno (ROS)





DRY/MOIST/WET: MICROAMBIENTE UMIDO

Healing of Skin Wounds and the Influence of Dressings on the Repair Process

G D Winter

Department of Biomedical Engineering
London, Royal National Orth

The surgical dressing is a therapeutic agent whose purpose is the provision of the best possible environment for the healing of wounded skin. Historically dressings have been introduced and improved largely on an empirical basis. The purpose of this paper is to examine how far recent knowledge of cutaneous wound healing and data from experiments on dressings can help to solve some of the problems of the development, standardisation and use of dressings.

NORMAL PATTERN OF HEALING

Firstly, it should be noted that wound healing, like other bodily functions, has been subjected to biological evolution and has become modified to suit the needs of species with different integuments and different habitats. Man has inherited and adapted a pattern of repair suited to his own peculiar skin and dressings have played no part in this. Surgical dressings are found in nature. Wounds under dressings bear artificial conditions and this is important when drawing conclusions about the effect of dressings on healing.

Wounds vary enormously, depending on the site of the body, severity of injury, type of agent inflicting the damage, degree of contamination with dirt or micro-organisms and other things. For the purpose of study, to reduce complications to a minimum, we use a standard shallow wound in the skin of young domestic pigs made with a scalpel blade, taking full aseptic precautions. The wound is roughly the same degree of injury as a graze or a similar to a Thiersch graft donor site. Potentially the most serious consequences follow from the loss of the epidermal layer of the surface of the skin and the protection it affords the underlying tissue. Water vapour can escape and the tissue beneath become dehydrated, dirt can get in and bacteria can invade the deeper tissues, through the breach in the barrier. The ideal dressing will temporarily perform the protective functions of the epidermis, while the living layer is being replaced.

Any wound penetrating the epidermis into the underlying tissues disrupts blood vessels and can



Nel 1962 il Dott. George Winter pone le basi di un rivoluzionario concetto di guarigione, quella in ambiente umido.
(Moist Wound Healing)

Si concentra l'attenzione sul concetto di ruolo attivo del microambiente nella guarigione



SVILUPPO DELLE MEDICAZIONI

MEDICAZIONI TRADIZIONALI

- assorbimento dei liquidi sino all'essiccamento
- emostasi
- antisepsi
- protezione dalle infezioni
- occultamento della ferita

MEDICAZIONI AVANZATE

- mantenere un microambiente umido
- rimozione essudati e materiale necrotico
- mantenere una temperatura costante
- permeabilità all'ossigeno
- protezione da infezioni esogene
- maneggevoli
- atraumatiche alla medicazione
- basso costo



ECCESSO DI ESSUDATO

- rappresenta **terreno di coltura** per germi
- determina **macerazione dei bordi** con arresto della **riepitelizzazione**

INSUFFICIENTE ESSUDATO

- **riduce l'attività** di macrofagi e fibroblasti
- **rallenta i processi riparativi**

GUARIGIONE IN AMBIENTE UMIDO

E' stato dimostrato che un microambiente umido (**moist**) aumenta la **velocità** di guarigione delle ferite rispetto ad uno secco (dry) e migliora anche la **qualità** della riparazione:

- aumento velocità di migrazione delle cellule epiteliali
- Riduzione cicatrizzazione e contrazione
- Incremento della sopravvivenza degli innesti



IL pH DELLA FERITA

La cute integra è naturalmente acida con un **pH fisiologico compreso tra 4,8 e 6**, determinato principalmente dalle secrezioni da parte dei cheratinociti di acidi organici che costituiscono il cosiddetto **mantello acido cutaneo**.

La superficie acida della cute protegge infatti l'organismo dai batteri e funghi che richiedono un $\text{pH} > 6$ per replicarsi.

In una ferita ci sono due tendenze contrastanti:

INNALZAMENTO PH

- diffusione dei fluidi interstiziali a pH più alcalino
- stravasamento di plasma dai capillari danneggiati

ABBASSAMENTO PH

- l'infiammazione acuta stimola la formazione di un ambiente acido nel contesto della lesione

il letto della ferita può diventare più acido o alcalino in base alla patofisiologia del danno e questo influenza l'efficacia dei processi di guarigione



IL pH DELLA FERITA

un microambiente **ALCALINO** ostacola la guarigione:

- promuove l' **infezione** batterica e la formazione di **biofilm**
- le **proteasi** secrete sia dai batteri che dalle cellule infiammatorie hanno un' **attività più elevata** a pH alcalino

Un microambiente **ACIDO** accelera la guarigione:

- **diminuisce** il rischio di infezioni
- **facilita** la formazione di **tessuto di granulazione**
- **favorisce la neoangiogenesi**
- **potenzia** la proliferazione e la migrazione dei **cheratinociti** e dei **fibroblasti**
- **aumenta** il rilascio di O_2 dal sangue ai tessuti





“In the future it may be possible to use a combination of validated outcome measures such as wound size and **wound pH** to determine **treatment efficacy** at time points earlier than complete wound closure. The use of this information could **help the clinician** in making **treatment decisions** and ultimately a move towards a **targeted therapeutic approach** to wound management.”

Gethin G. The significance of surface pH in chronic wounds. Wounds UK 2007, Vol3, No 3.



LE METALLOPROTEASI

Le **PROTEASI** o **proteinasi** sono enzimi in grado di degradare le proteine in peptidi ed amminoacidi. Di questa ampia categoria enzimatica le più importanti nel processo di guarigione delle ferite sono le **metalloproteasi di matrice (MMPs)**

Le **MMPs** sono una famiglia di oltre 20 enzimi caratterizzate dalla presenza di un **sito zinco- proteasico**, hanno la capacità di **degradare** il collagene e le altre proteine connettivali

La **matrice extracellulare** delle ferite ha un ruolo chiave nella regolazione dell'adesione, migrazione, proliferazione e differenziazione cellulari
Questa classe di enzimi svolge un ruolo fondamentale in tutte le fasi di guarigione delle ferite.



LE METALLOPROTEASI

Se l' **equilibrio** tra i livelli di **proteasi**, ed in particolare MMPs, ed i loro **inibitori** viene alterato, potenziando la degradazione della matrice rispetto alla sua sintesi e deposizione, **il processo di guarigione risulta compromesso**

Sebbene non siano ancora state delineate esattamente le ragioni dello squilibrio tra l' aumentata attivazione delle proteasi e la loro ridotta inibizione, l' **elevata attività proteasica è il marker biochimico più affidabile** attualmente disponibile per predire una **guarigione difficile** delle ferite sia acute che croniche



Sono già disponibili vari interventi per ridurre l'attività proteasica:

- trattamento della causa scatenante
- rimozione di altri fattori capaci di aggravare lo stato della ferita come l'ischemia, la malnutrizione o la pressione
- ottimizzare il letto della ferita e lo stato del paziente
- modulare l'attività proteasica attraverso medicazioni apposite.



Lesione da pressione gestita con medicazioni avanzate e chirurgia di basso/medio impatto



SPECIE REATTIVE DELL' OSSIGENO

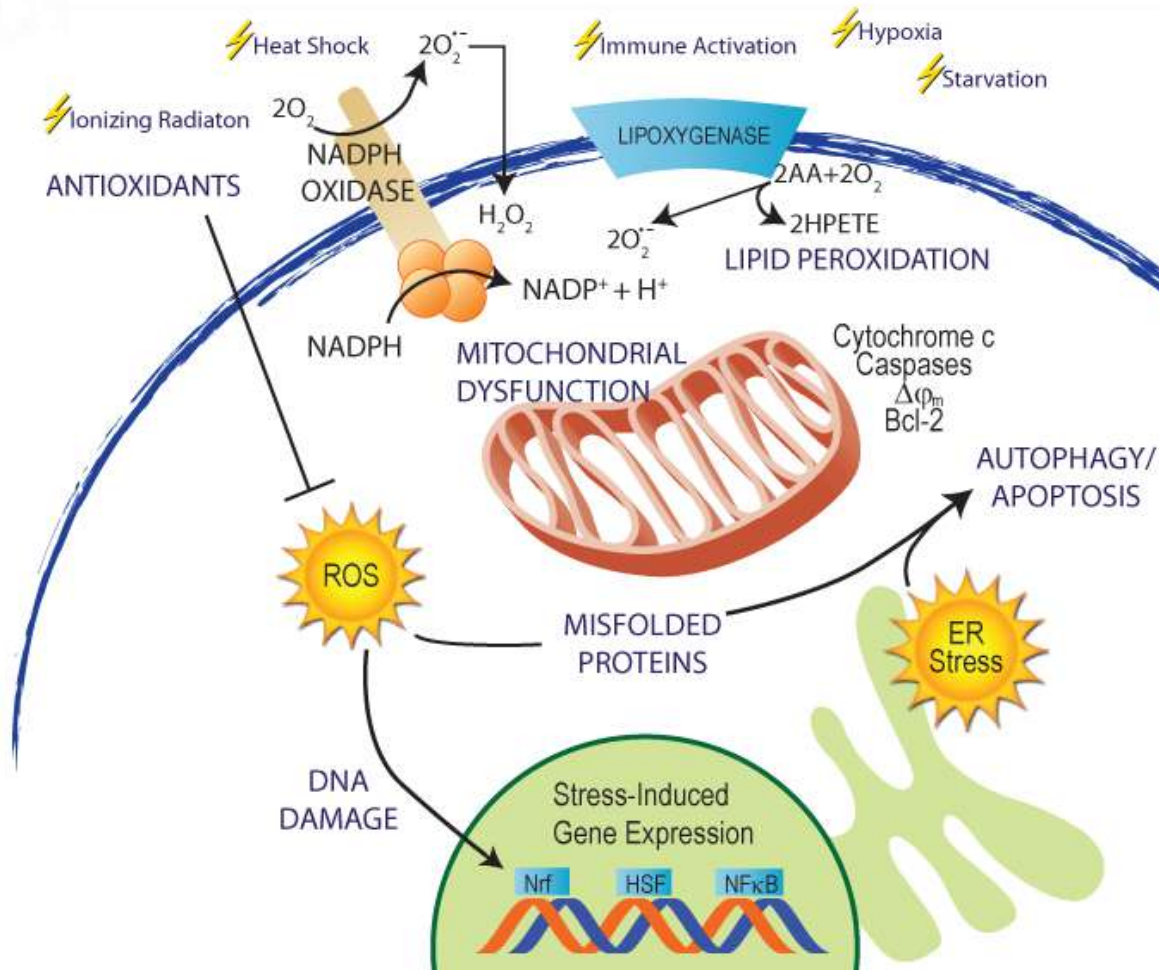
Le **SPECIE REATTIVE DELL' OSSIGENO** (ROS) sono una tipologia di radicali liberi derivati dall' ossigeno

I **RADICALI LIBERI** sono atomi o molecole che sull' orbitale esterno hanno un singolo elettrone spaiato

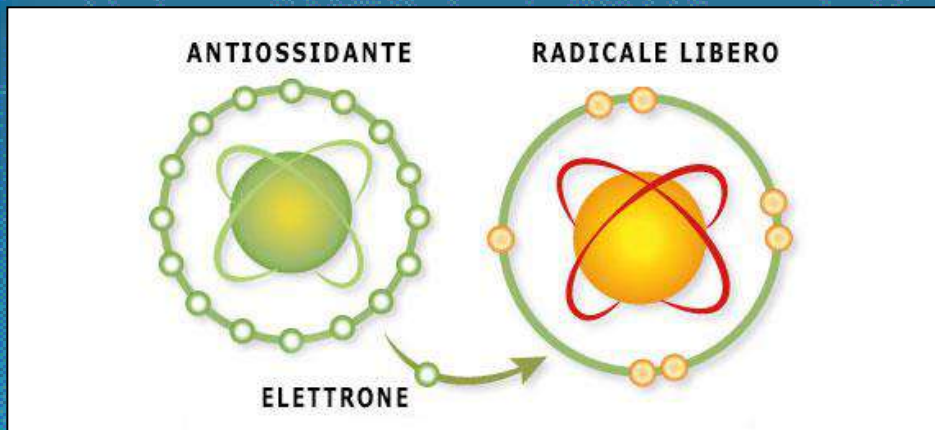
Questa configurazione è **altamente INSTABILE** e l' energia viene liberata attraverso **reazioni con le molecole adiacenti**, sia inorganiche che organiche, che ne vengono **danneggiate**.

Inoltre i radicali liberi innescano **reazioni autocatalitiche** per mezzo delle molecole con cui interagiscono che a loro volta vengono trasformate in radicali liberi, ampliando il fenomeno

SPECIE REATTIVE DELL' OSSIGENO



Lo **STRESS OSSIDATIVO** viene chiamato in causa anche nei **difetti di guarigione** delle ferite, infatti l' **infiammazione acuta** generata dal danno tissutale e la presenza di **batteri** a livello della soluzione di continuo rappresentano un potente stimolo alla produzione di radicali liberi da parte dei leucociti



Se la produzione di ROS è **eccessiva** ed il microambiente della ferita assume un forte **potere ossidante** i danni mediati da questi possono causare una **cronicizzazione dell' infiammazione**, arrestando l' attività riparativa e favorendo la **degenerazione dei tessuti**



CARICA MICROBICA

Resistenza
dell' ospite

Patogenicità
del microbo

Difese
Immunitarie

Carica
microbica

Condizioni
generali di
salute

Virulenza

Affinchè un microrganismo possa invadere, proliferare e creare danni devono essere presenti:

- adeguata **CARICA BATTERICA**
- specifici **FATTORI DI VIRULENZA**

La relazione microrganismo/ospite è una relazione dinamica e perché si sviluppi un' infezione deve essere sbilanciato l' equilibrio tra questi fattori e le capacità difensive del sistema immunitario dell' organismo.

CARICA MICROBICA

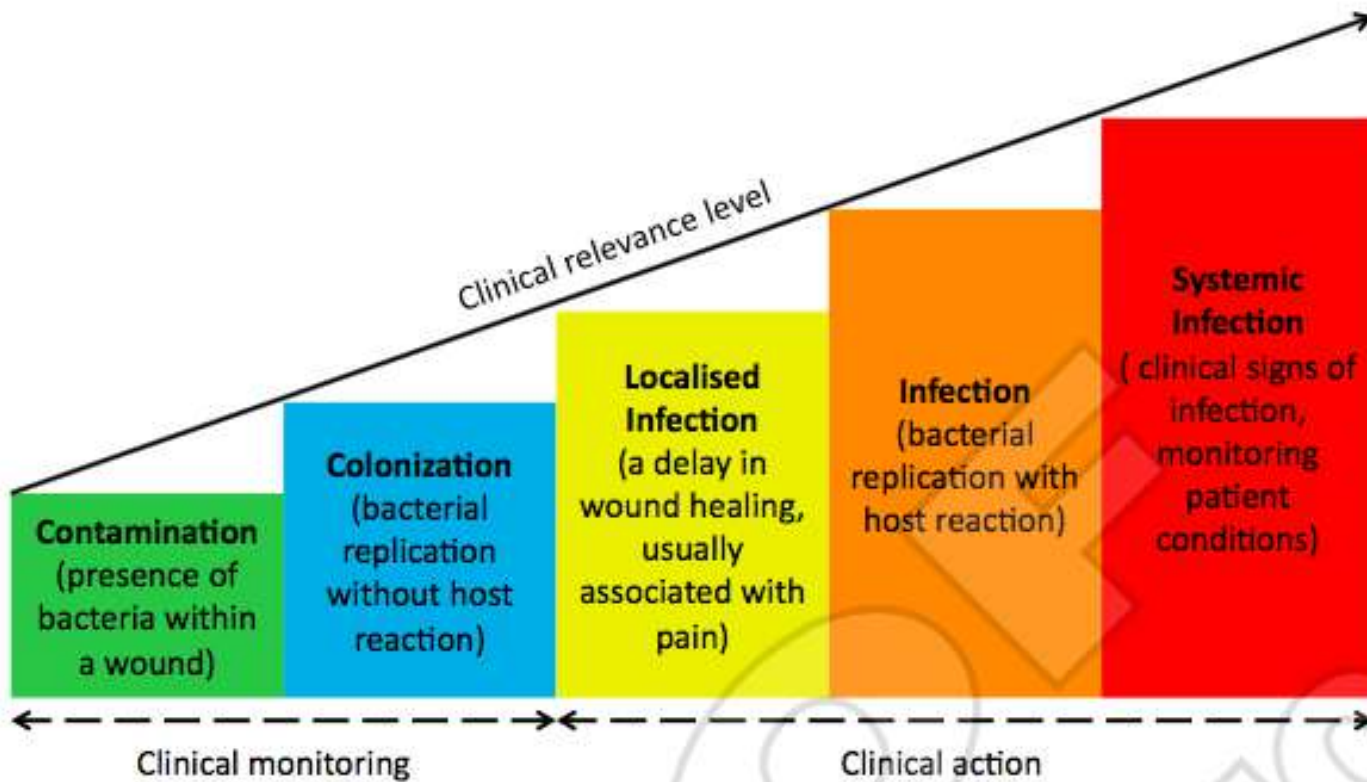


Ferita **CONTAMINATA**:
presenza di batteri **senza** attiva proliferazione

Ferita **COLONIZZATA**:
batteri in **moltiplicazione** ma **senza**
risposta immunitaria nell'ospite (**host reaction**)



Ferita **INFETTA**:
continua espansione dei microrganismi
nonostante vi sia la risposta dell'ospite





I batteri sono in grado di alterare il processo di guarigione delle ferite secondo varie modalità:

- 
- abbassamento **pH**
 - aumento **citochine infiammatorie**
 - aumento **MMPs**
 - **INFIAMMAZIONE CRONICA**

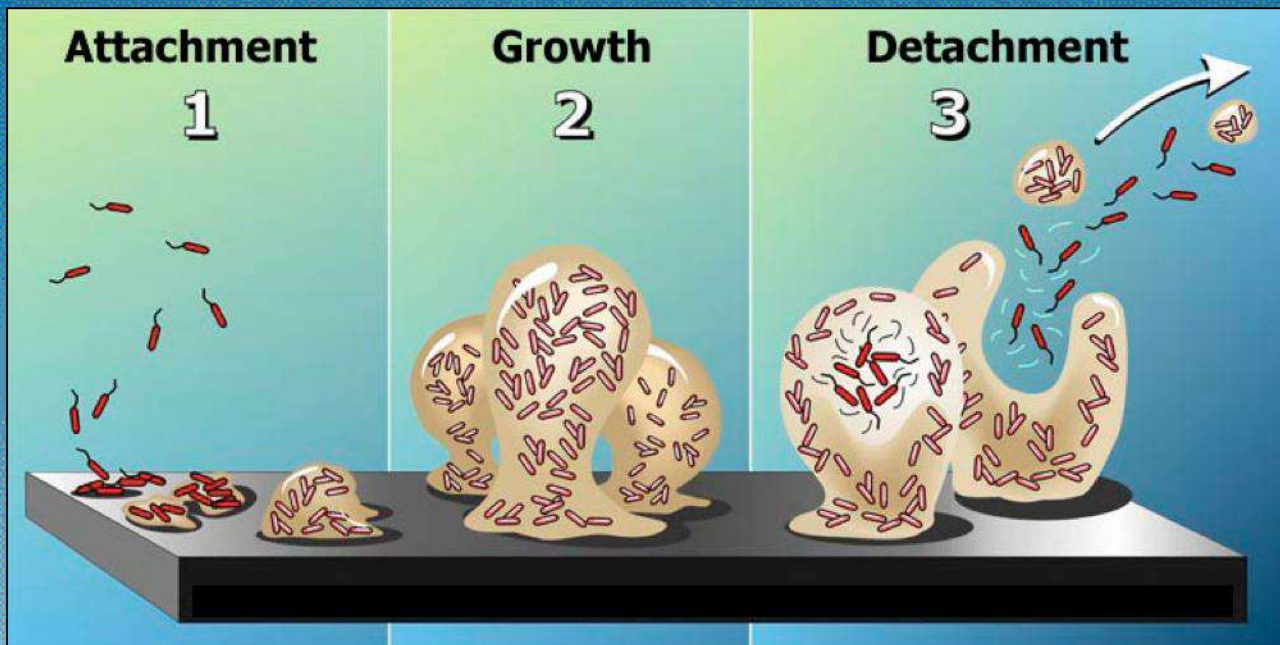
Per ripristinare l'omeostasi alterata dalla presenza batterica e favorire la guarigione le strategie terapeutiche sono essenzialmente:

- controllo della carica batterica
- utilizzo di antisettici
- materiali che alterano la carica batterica attraverso attrazione elettrica
- terapia farmacologica mediante antibiotici



IL RUOLO DEL BIOFILM

Si definisce **BIOFILM** una **forma di esistenza** in cui i microrganismi si aggregano tra loro su una **superficie** o a livello di un' interfaccia aria/liquido e crescono includendosi in una **matrice** di sostanze polimeriche extracellulari composta di proteine, lipidi e polisaccaridi da loro stessi secreta



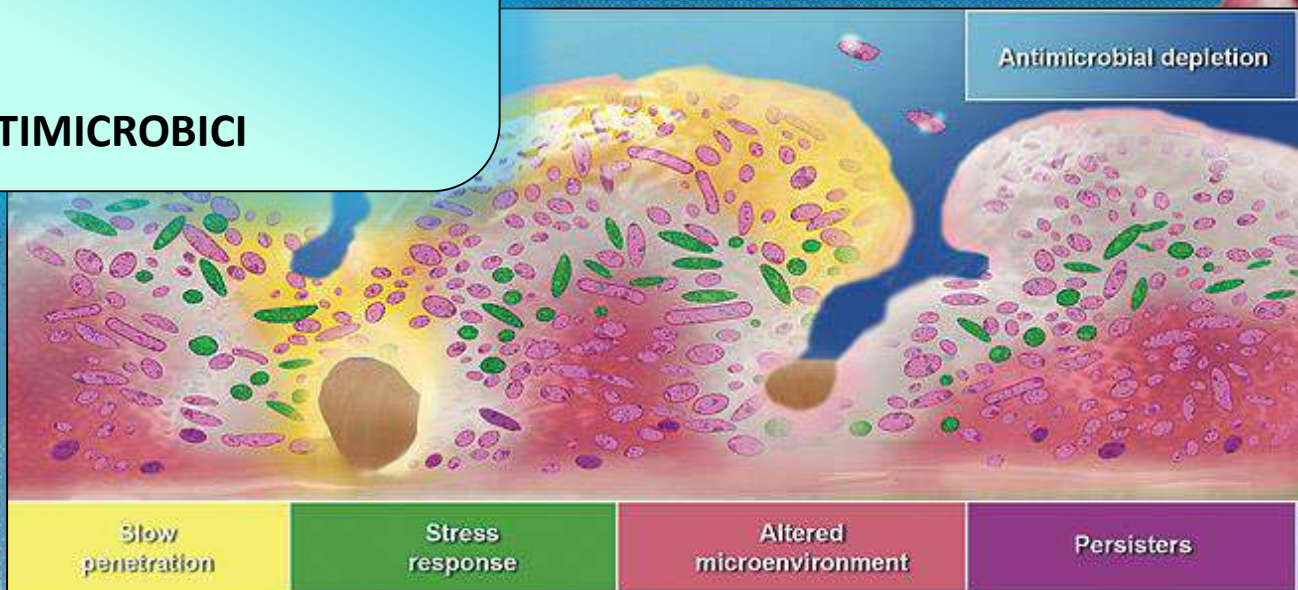
IL RUOLO DEL BIOFILM

La matrice del biofilm non è un semplice mezzo di adesione, ma costituisce un **microambiente** con **caratteristiche** e **potenzialità** differenti da quello esterno

AUMENTATA RESISTENZA agli insulti:

- traumatici
- fisici
- chimici
- immunitari

•**ANTIMICROBICI**



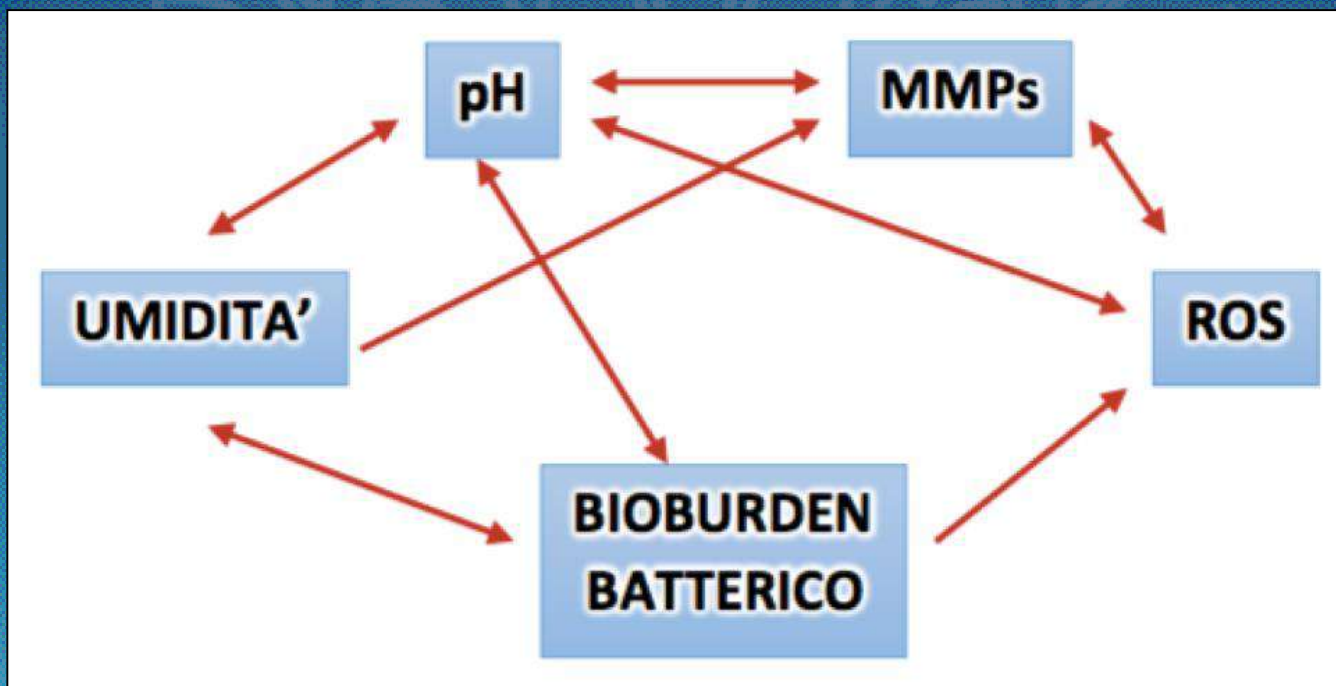
E' stato stimato che in circa il 60% delle ferite croniche è colonizzata da batteri formanti biofilm, in contrapposizione al solo 6 % di quelle acute



La gestione terapeutica delle ferite in cui la formazione di biofilm rende i batteri difficili da eradicare può essere complessa:

- preparazione del letto della ferita
- **“biofilm-based wound care” (BBWC)**

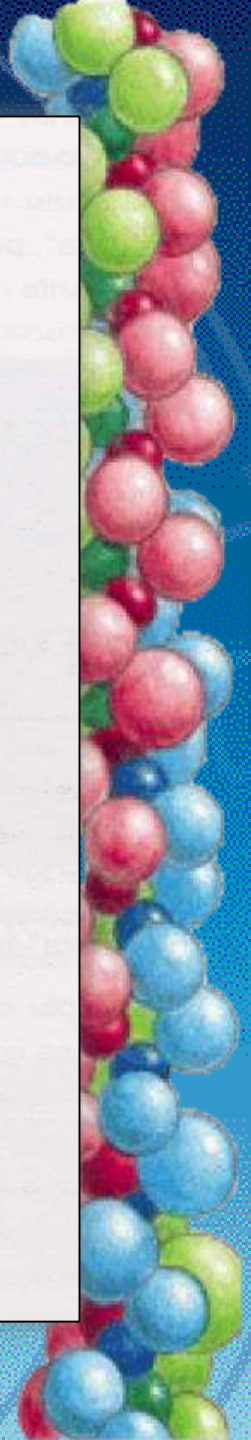
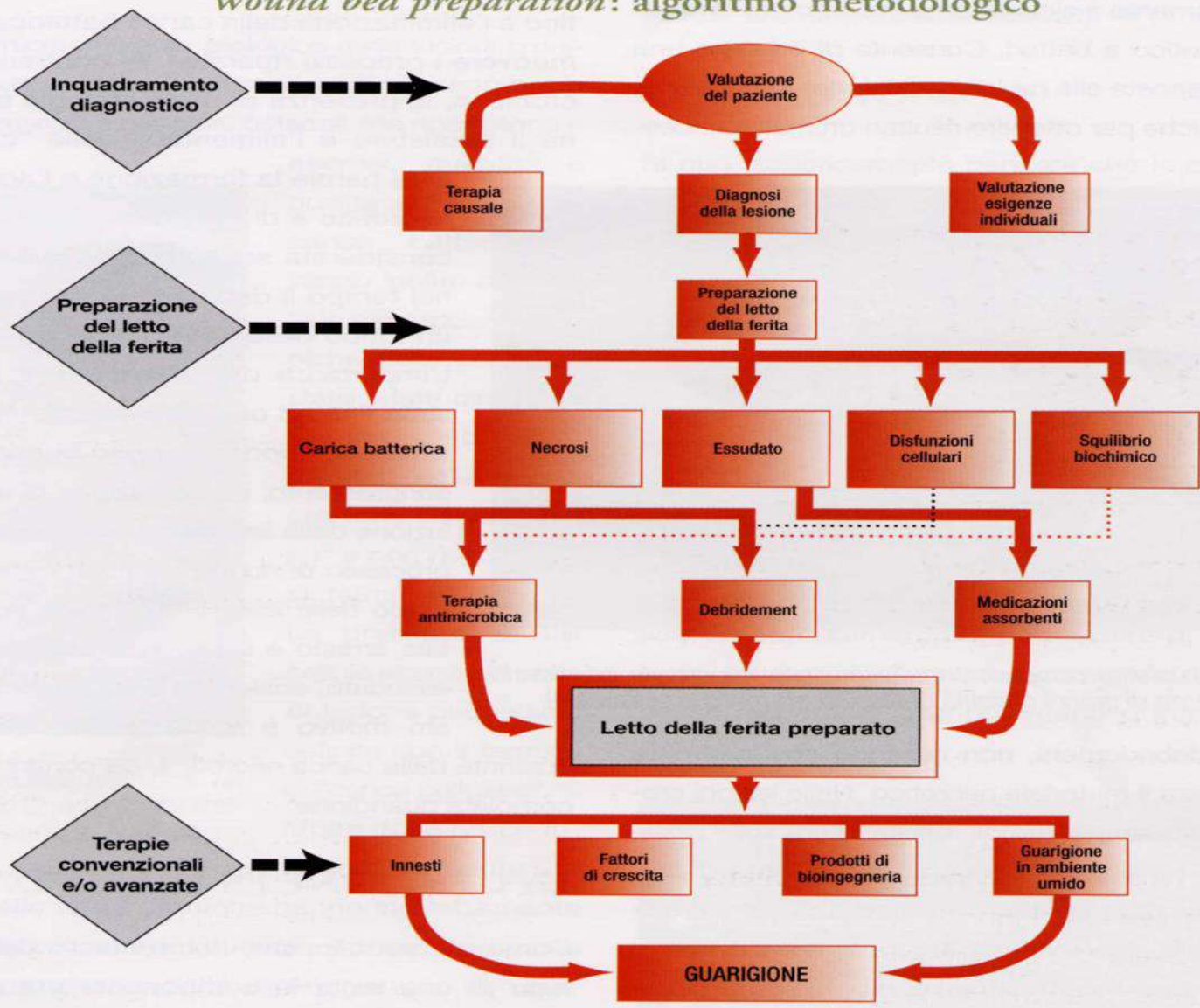
LA STRATEGIA MIGLIORE



La gestione delle ferite che non tendono alla guarigione è complessa e necessita di un approccio **multifasico** e **multidisciplinare**, che agisca sia rimuovendo le **cause** che sottendono la mancata guarigione, sia rigenerando direttamente le **condizioni locali ottimali** per favorirla



Wound bed preparation: algoritmo metodologico





Wound

Physiology

Healing Impairment

Trauma

- Bleeding
- Coagulation

Inflammation

- Granulocytes
- Macrophages e Cytokines

Proliferation and ECM deposition

- Angiogenesis
- ECM synthesis

Remodeling

- Maturation

• Debridement

• Bacterial burden control

• Exudate management

• Edge effect

Tissue

Inflammation Infection

Moist and Dry

Epithelization

Healing





LA STRATEGIA MIGLIORE

I moderni protocolli e le alternative terapeutiche a disposizione non riescono a controllare in modo soddisfacente l'equilibrio biochimico del letto della ferita

L'importanza del microambiente e la possibilità di modulare i fattori che lo influenzano è dunque al centro dell'interesse della moderna attività di ricerca

sviluppo presidi in grado di gestire la sua **complessità** nel modo più soddisfacente e comprensivo possibile

adeguare le strategie terapeutiche alla gestione **territoriale** delle lesioni croniche