

Matrice Extracellulare

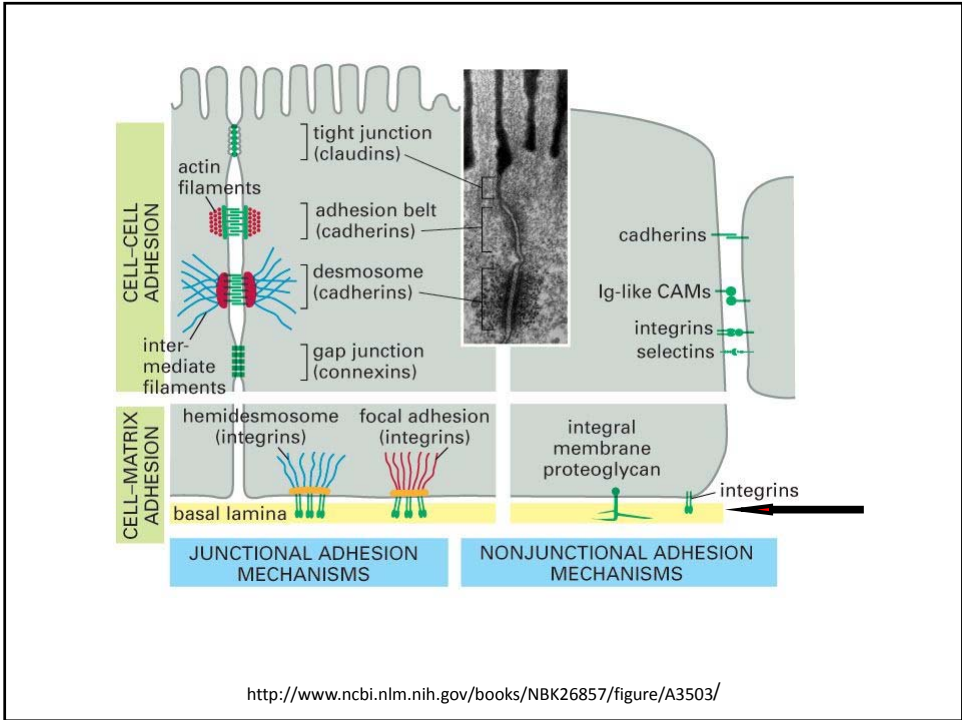
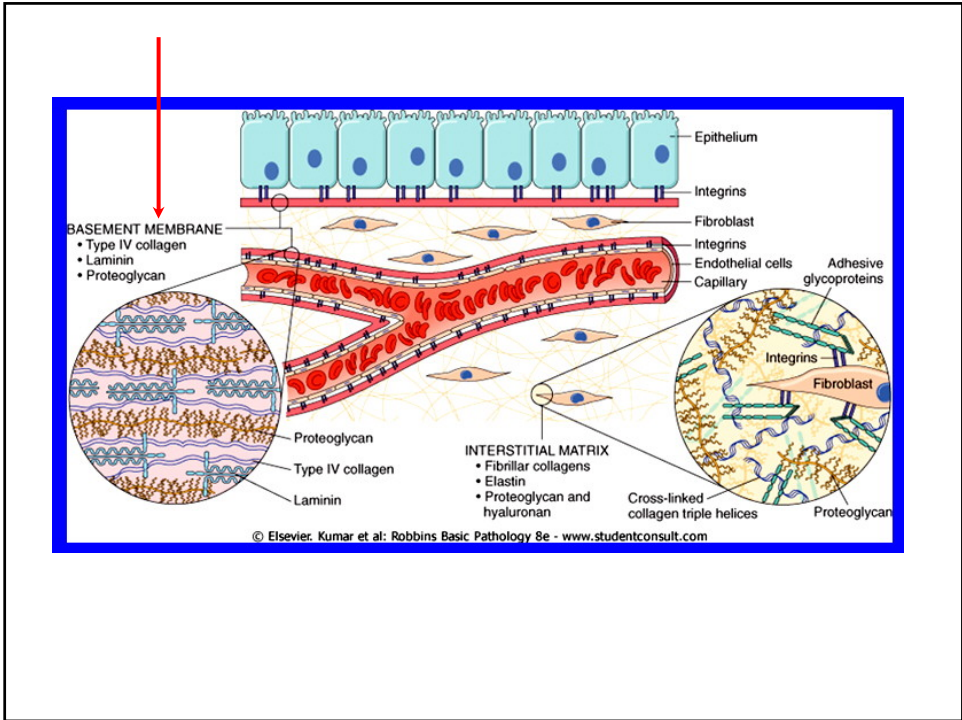
«Basement Membrane», **Lamina Basale**

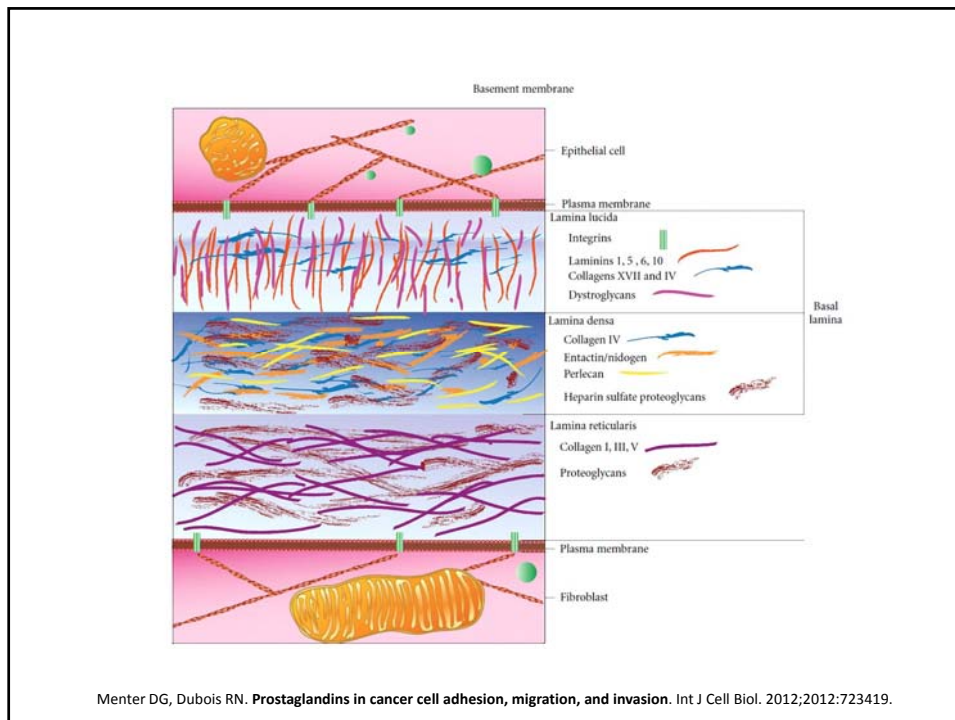
Basement Membranes: Cell Scaffoldings and Signaling Platforms

Peter D. Yurchenco

Cold Spring Harb Perspect Biol 2011;3:a004911

- Le **membrana basali** sono matrici extracellulari ampiamente distribuite che **rivestono il dominio basale delle cellule epiteliali ed endoteliali e circondano le cellule muscolari, adipose e di Schwann.**
- Queste MEC, espresse per prima nella fase precoce dell'embriogenesi, si autoassemblano su superficie cellulari competenti mediante interazioni di legame con **laminine, collageni di tipo IV, nidogeni, e proteoglicani.**
- Esse formano **estensioni specializzate della membrana plasmatica che forniscono adesione cellulare e fungono da agonisti nello stato solido.**
- Le membrana basali giocano un ruolo importante nella **morfogenesi** dei tessuti e degli organi ed aiutano a **mantenere la funzione nell'adulto.**
- Delle mutazioni che influenzano in modo differenziale i diversi componenti strutturali sono associate all'interruzione dello sviluppo in stadi diversi e anche a malattie post-natali del muscolo, nervo, cervello, occhio, pelle, vascolatura e pelle.





«Membrane Basali» (Yurchenco; 2011) - [1]

- ✚ Sono MECs stratificate e adese alle cellule che formano parte dell'architettura tissutale, contribuendo sia al **differenziamento embrionale** che al **mantenimento della funzione nell'adulto**.
- ✚ Servono come:
 - «estensioni funzionali» della membrana plasmatica
 - proteggono i tessuti da stress fisici dirompenti
 - e, fornendo un'interfaccia interattiva fra le cellule e il microambiente circostante, possono mediare segnali locali e distanti all'interno e fra tali compartimenti.
- ✚ Tali segnali sembrano essere processati in gran parte tramite **integrine**, interazioni con **fattori di crescita** e con **distruglicani**.

Yurchenco PD. Basement membranes: cell scaffoldings and signaling platforms. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2011 Feb 1;3(2).

«Membrane Basali» (Yurchenco; 2011) - [2]

✚ Funzioni specifiche delle membrane basali:

- Promozione di forte collegamento derma-epidermide.
- Stabilizzazione della membrana plasmatica del muscolo scheletrico (sarcolemma).
- Selettività della filtrazione glomerulare.
- Istaurazione della polarizzazione delle cellule epiteliali e gliali.

Yurchenco PD. Basement membranes: cell scaffoldings and signaling platforms. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2011 Feb 1;3(2).

Lamina Basale – [1]

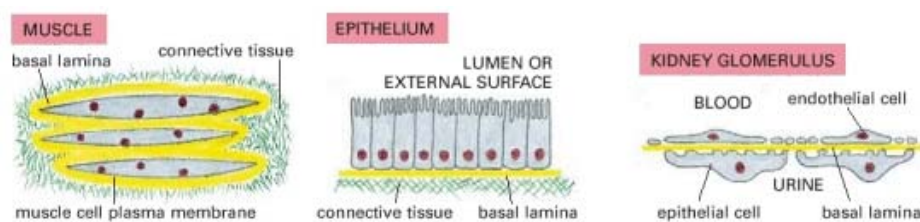
- ✚ Le **lamine basali** somigliano a delle **stuoie sottili e flessibili** (40-120 nm di spessore) di matrice extracellulare specializzata, che si trovano sotto tutti gli **strati** e **tubi di cellule epiteliali**.
- ✚ Circondano inoltre le **singole cellule muscolari**, gli **adipociti** e le **cellule di Schwann** (che avvolgono gli assoni delle cellule nervose periferiche per formare la *mielina*).
- ✚ La **lamina basale** perciò **separa** queste cellule e **strati cellulari** dal **tessuto connettivo sottostante** o circostante.
- ✚ In altre localizzazioni, come nei **glomeruli renali** e negli **alveoli dei polmoni**, si trova una lamina basale fra due strati cellulari che funziona come un **filtro altamente selettivo**.

Lamina Basale – [2]

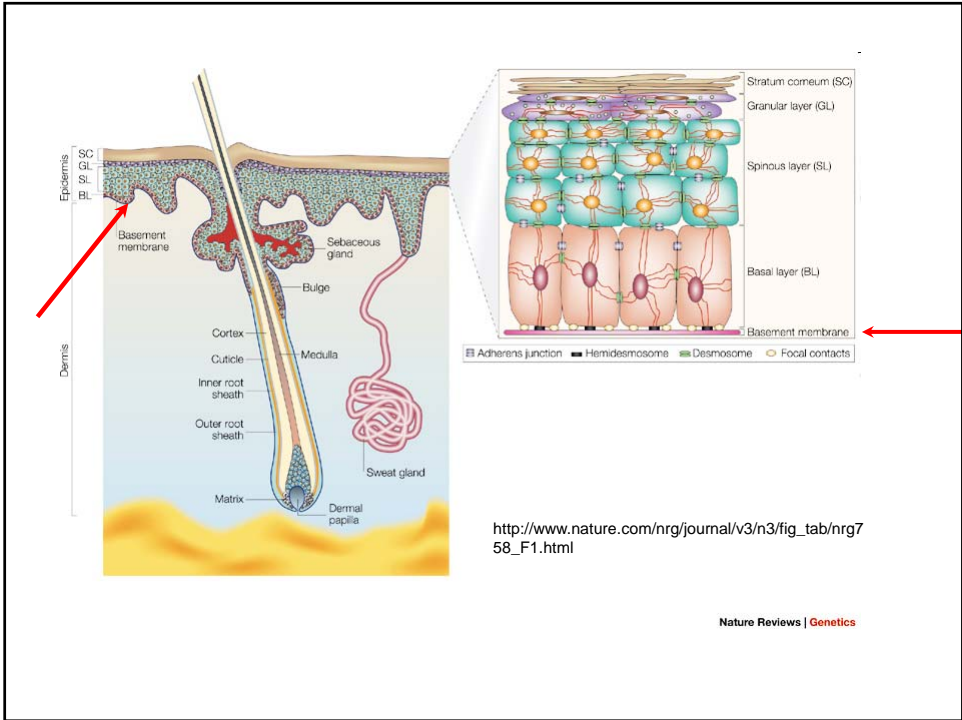
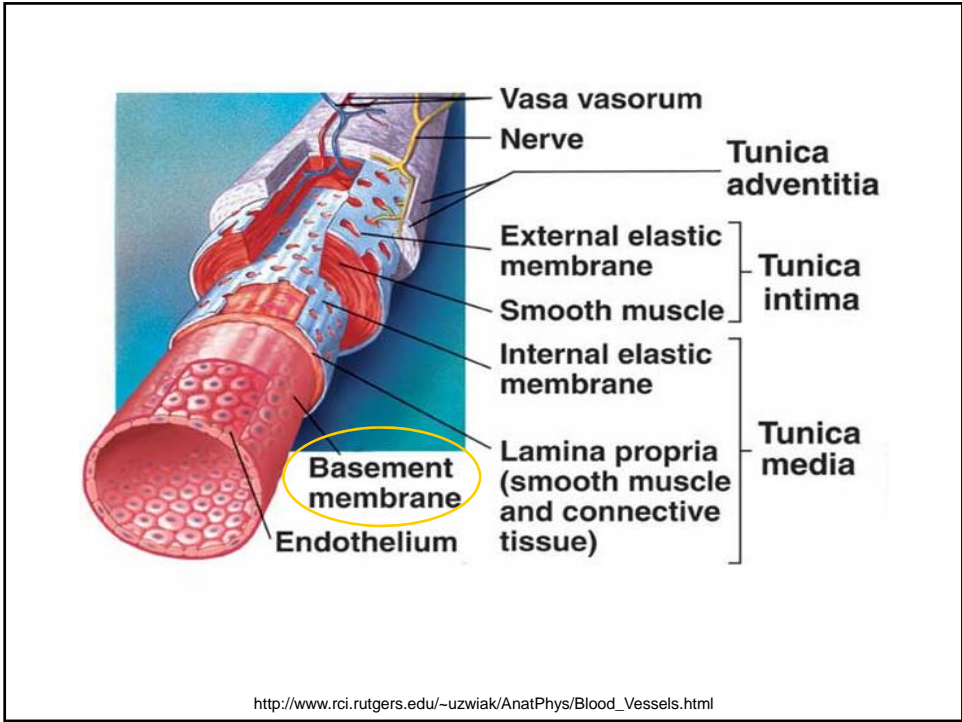
✚ Tuttavia, le lamine basali svolgono un ruolo che **non** è solo **strutturale** o di **filtrazione**.

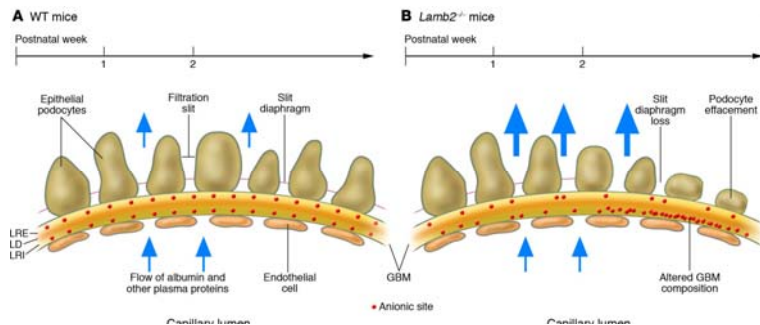
■ Infatti, sono in grado di:

- determinare la **polarità delle cellule**
- influenzare il **metabolismo cellulare**
- organizzare le **proteine nelle adiacenti membrane plasmatiche**
- indurre il **differenziamento cellulare**
- servire come **via specifica** per la **migrazione cellulare**



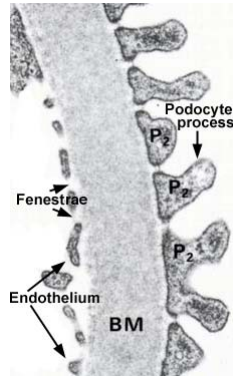
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26810/figure/A3578/?report=objectonly>





- (A) Nel **glomerulo normale**, i **siti anionici sono concentrate nella lamina rara interna (LRI)** e nella **lamina rara esterna (LRE)** della membrana basale glomerulare (GBM) e **distribuiti ad intervalli distanziati in modo regolare**. E' inoltre illustrate la via del filtrate glomerulare (frecche). Il filtrate passa attraverso le fenestrature dell'endotelio, permea attraverso la GBM e passa attraverso le fessure di filtrazione per raggiungere gli spazi urinari. LD, *lamina densa*.
- (B) Nei topi nefrotici **Lamb2^{-/-}**, si ha una disorganizzazione della GBM in quanto la **distribuzione dei siti anionici è irregolare** e si stende al di là della lamina densa. Come risultato di ciò, quantità aumentate di ferritina ed albumina passano attraverso la GBM. E' importante notare che l'albuminuria era rivelabile subito dopo la nascita e precedeva la scomparsa dei processi podali dei podociti, la cui scomparsa più tardiva si è osservata circa 2 settimane dopo la nascita.

Farquhar MG. The glomerular basement membrane: not gone, just forgotten. J Clin Invest. 116:2090-2093, 2006



La **barriera di filtrazione del glomerulo** è formata da:

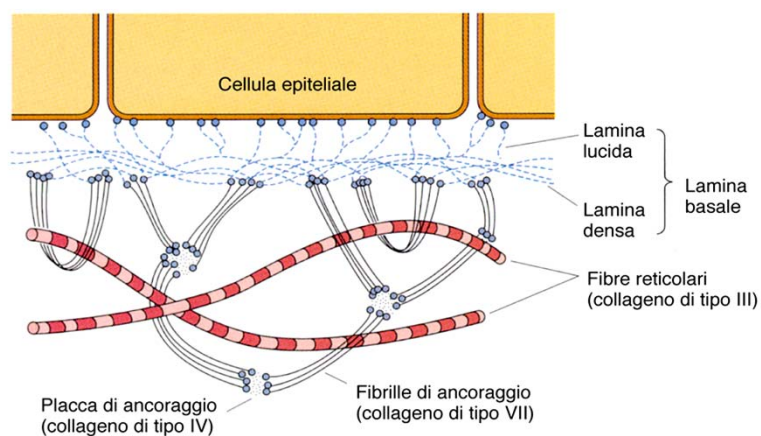
- ✚ Lo strato di podociti della capsula di Bowman
- ✚ L'endotelio fenestrato del glomerulo
- ✚ Una spessa "membrana basale" carica negativamente condivisa fra le due componenti cellulari.

<https://courses.stu.qmul.ac.uk/smd/kb/microanatomy/senior/metabolism/renal/index.htm>

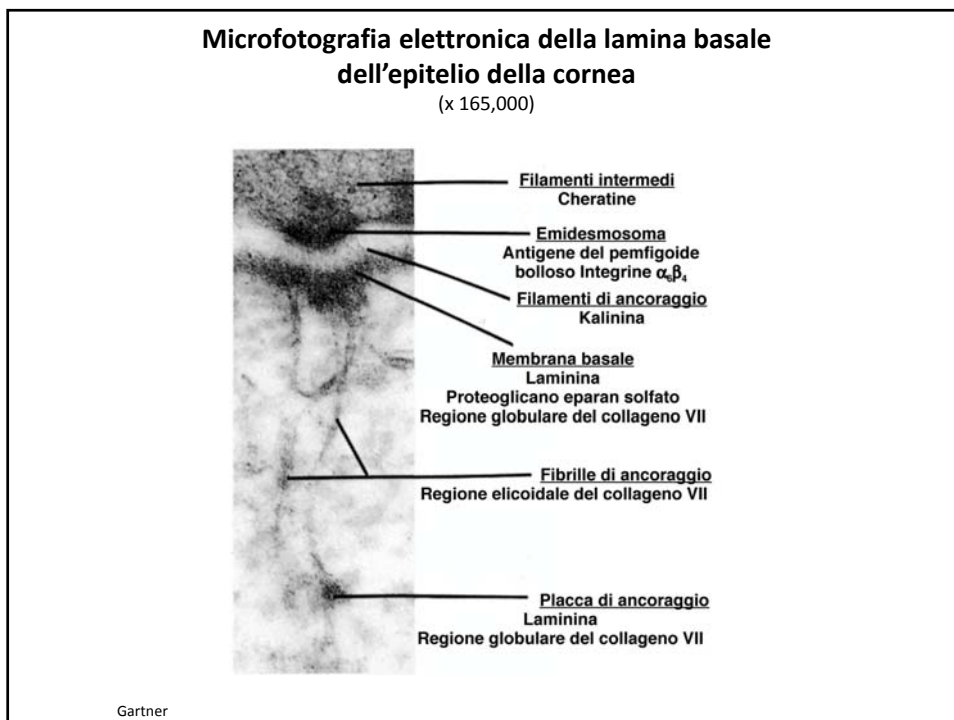
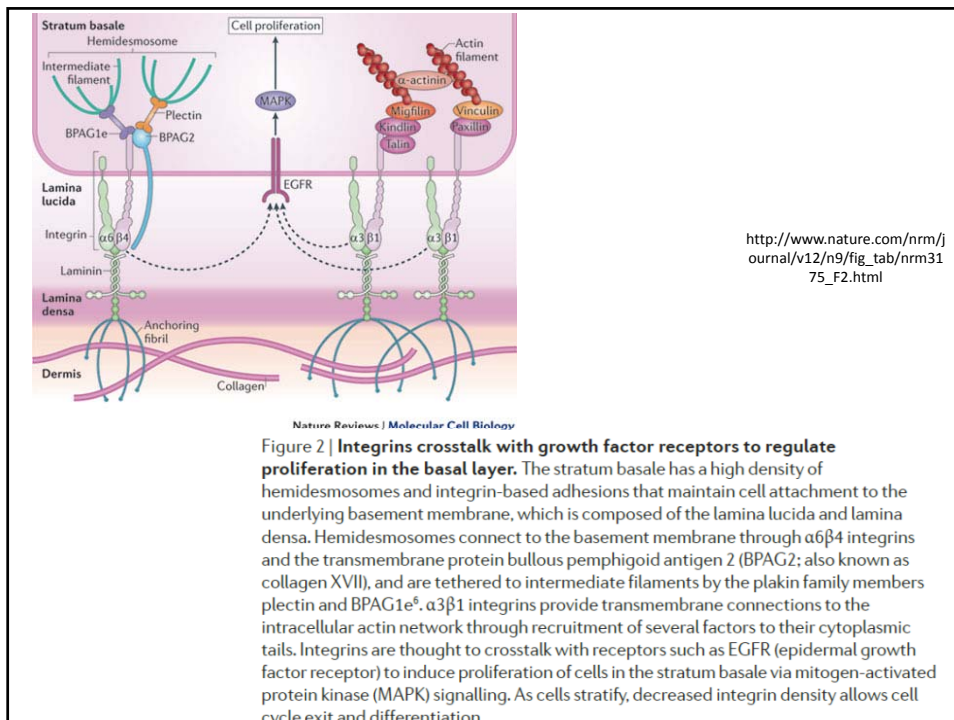
Lamina Basale - [3]

- ✚ La **lamina basale** è in gran parte **sintetizzata dalle cellule che vi poggiano**.
- ✚ Al microscopio elettronico la membrana basale appare costituita da due componenti:
 - **lamina basale**: elaborata dalle cellule epiteliali.
 - **lamina reticolare**: elaborata dalle cellule presenti nel connettivo.

Schema della lamina basale e della lamina reticolare



Gartner



Lamina Basale – [4]

LAMINA BASALE: Costituita da:

- **Lamina lucida**, elettron-trasparente di 50 nm di spessore, costituita da:
 - ✦ glicoproteine **laminina** ed **entactina**
 - ✦ **integrine** e **distroglicani** (recettori transmembrana per la laminina), che si proiettano dalla superficie delle cellule epiteliali nella lamina basale

Lamina Basale – [5]

- **Lamina densa**, elettron-densa, di 50 nm di spessore, costituita da:
 - Rete di **collagene tipo IV** rivestita, sia sul lato della lamina lucida che dalla lamina reticolare, dal proteoglicano **perlecano**.
 - Le catene laterali di **eparan solfato** che si proiettano dall'asse proteico del perlecano formano un **polianione**.
 - La faccia della lamina densa, dalla parte rivolta verso la lamina reticolare, possiede **fibronectina**.

Lamina Basale – [6]

✚ Nella lamina lucida la **LAMININA** si collega a:

- collagene tipo IV
- eparan solfato (del perlecano)
- integrine e distroglicani delle cellule epiteliali

✚ Determinando così l'**ancoraggio** delle cellule epiteliali alla membrana basale.

Lamina Basale – [7]

✚ La lamina basale, a sua volta, è ben ancorata alla lamina reticolare tramite:

- fibronectina
- fibrille di ancoraggio (collagene tipo VII)
- microfibrille (fibrillina), ecc

✚ Tutte sostanze elaborate dai fibroblasti del connettivo.

LAMINA RETICOLARE – [1]

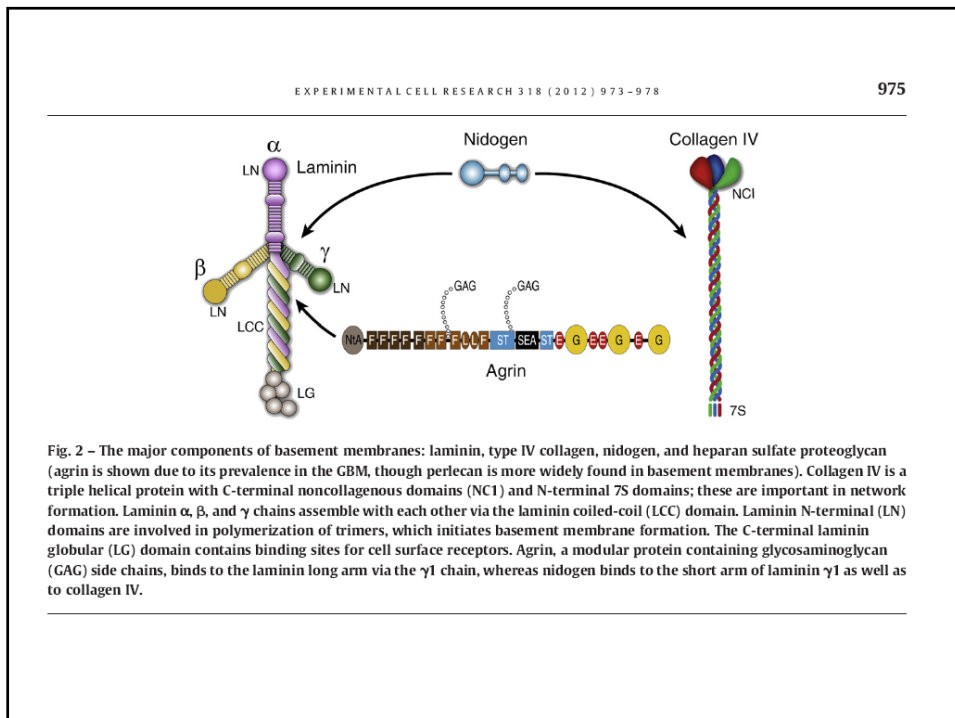
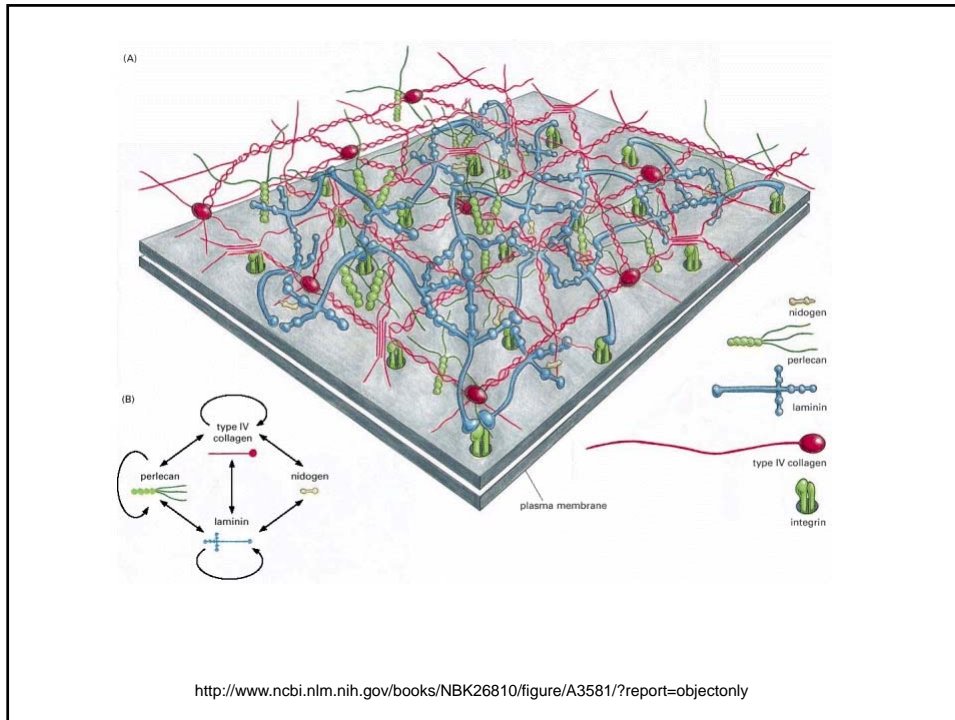
(elaborata dai fibroblasti)

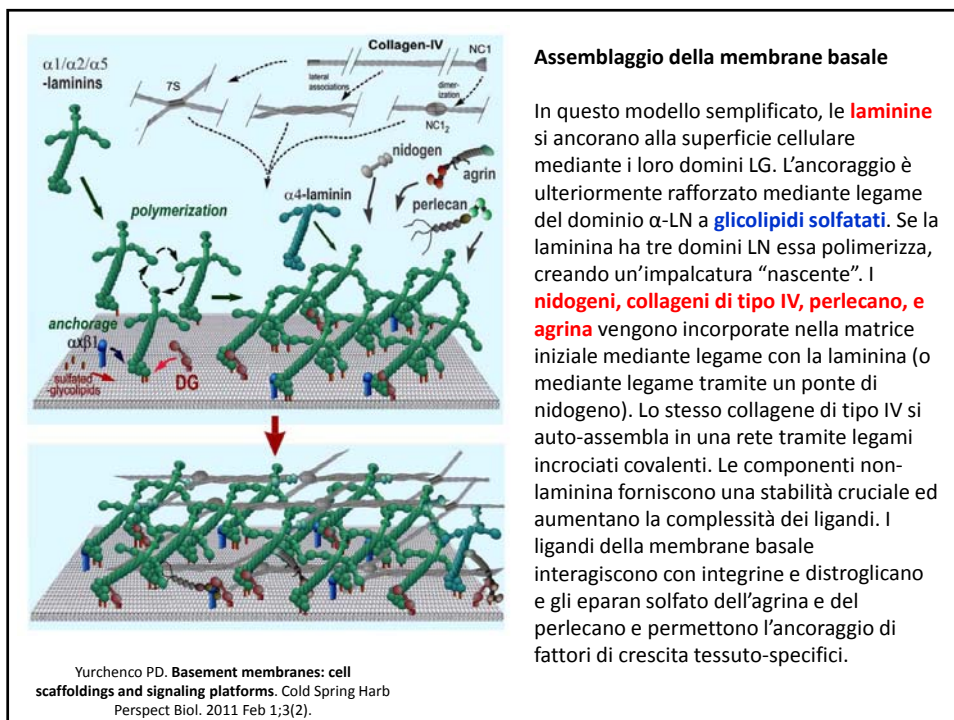
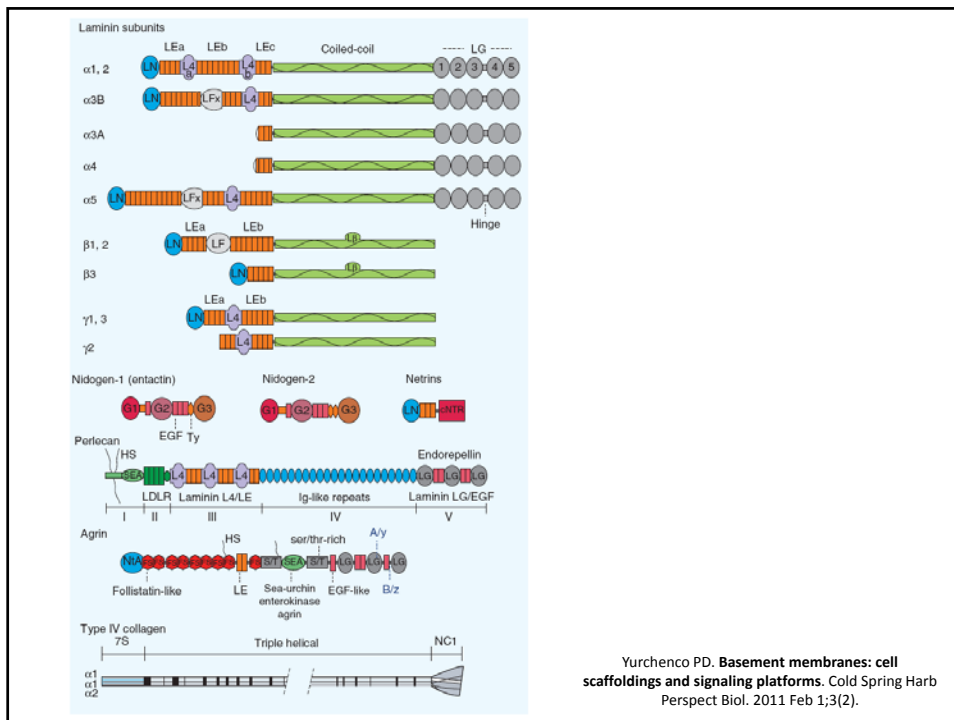
- ✚ Composta da **collageni tipo I e III**
- ✚ Situata all'interfaccia tra la lamina basale ed il sottostante tessuto connettivo
- ✚ Spessore che varia a seconda dalle **forze di frizione** cui è sottoposto il sovrastante epitelio:
 - sottile sotto gli epitelii che delimitano gli alveoli polmonari.
 - molto spessa nella pelle.

LAMINA RETICOLARE – [1]

(elaborata dai fibroblasti)

- ✚ I collageni tipo I e III del tessuto connettivo si agganciano alla lamina reticolare, dove interagiscono e si legano alle microfibrille e alle fibrille di ancoraggio della lamina reticolare.
- ✚ Inoltre c'è **un'interazione fra i gruppi basici del collagene ed i gruppi acidi dei glicosaminoglicani della lamina densa.**
- ✚ I siti della **fibronectina** che si legano al **collagene** ed ai **glicosaminoglicani** rafforzano ulteriormente l'ancoraggio della lamina basale alla lamina reticolare.





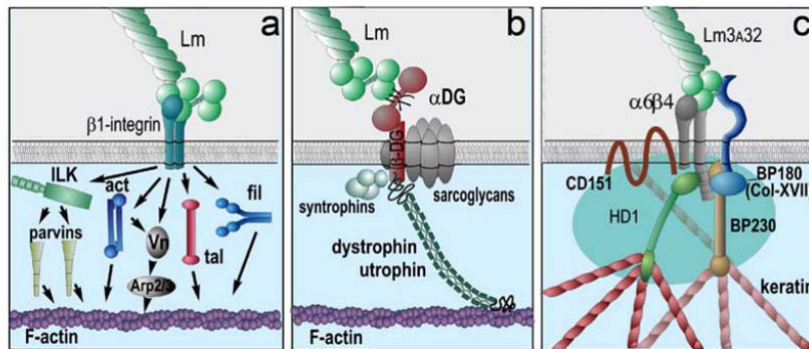
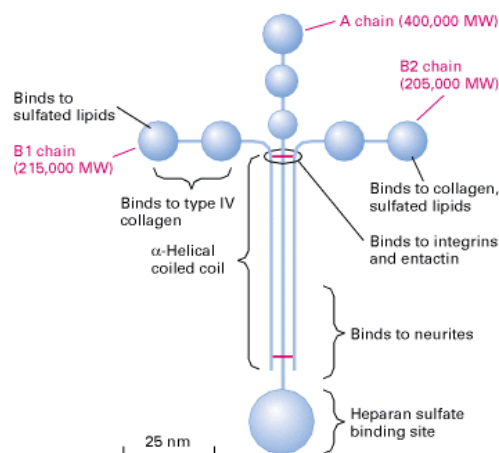


Fig. (3). Cytoskeletal Linkages

Basement membrane ligands can establish links to the actin and keratin cytoskeletons by binding to integrins and dystroglycan. (a) **β 1-integrins**: Nearly all basement membrane components bind to β 1-integrins. These integrins bind to cytoskeletal intermediates that bind to F-actin. The intermediates shown are integrin linked kinase (ILK) and α - and β -parvin, α -actinin (act), talin (tal) vinculin (Vn) and Arp2/3, and filamin (fil) (drawing after [45]). (b) **Dystroglycan**: The LG domains of laminins, agrin and perlecan bind to α -dystroglycan (α DG). α DG binds to β -dystroglycan, a transmembrane protein that binds to F-actin through dystrophin and utrophin. In muscle, dystroglycan is part of a complex that includes the sarcoglycans and other proteins. Homologues of dystrophin and utrophin exist in other tissues. (c) **α 6 β 4-integrin**: Laminin 332 binds to this unique integrin that forms part of hemidesmosome complexes and that forms a linkage with keratin filaments [14].

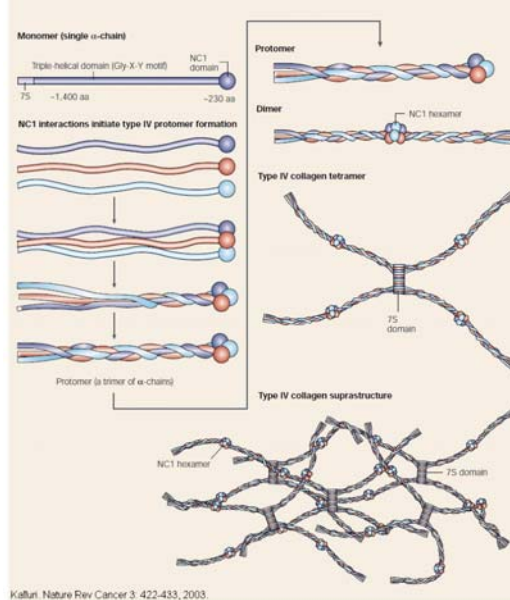
Yurchenco, 2009

Laminina



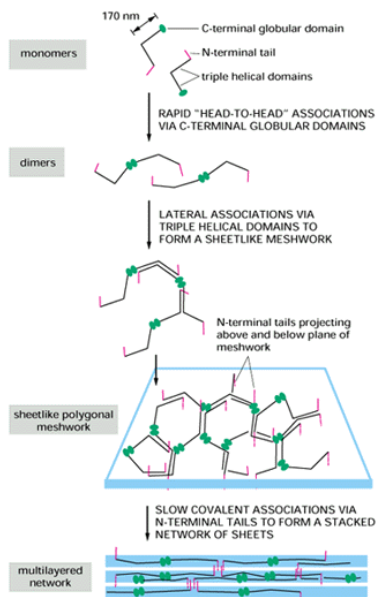
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21706/figure/A6568/>

Formazione delle reti di Collagene di tipo IV – [1]

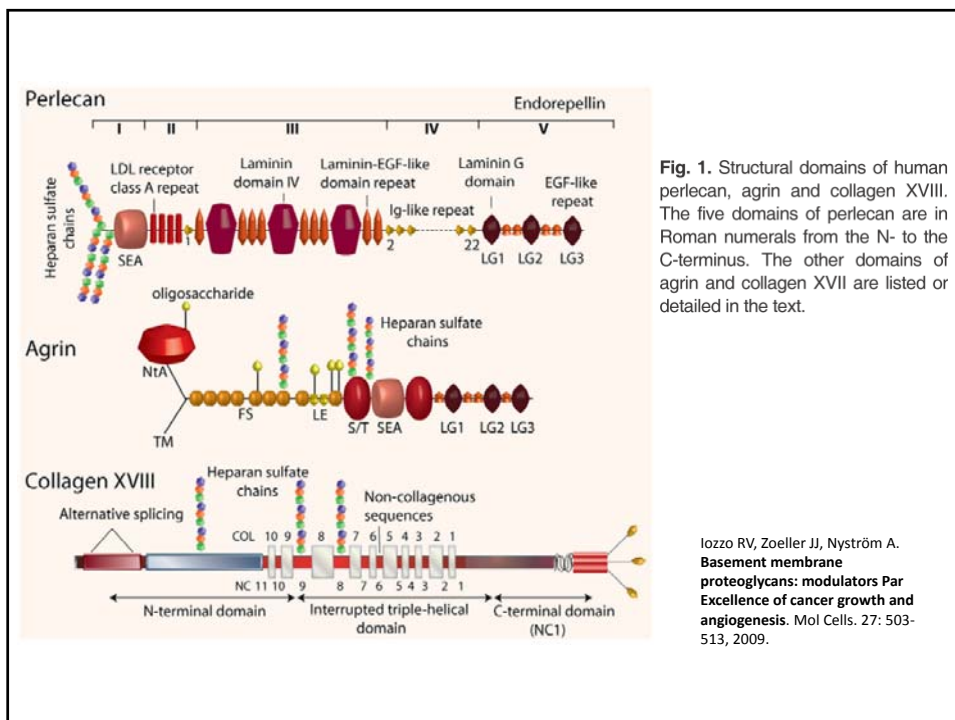
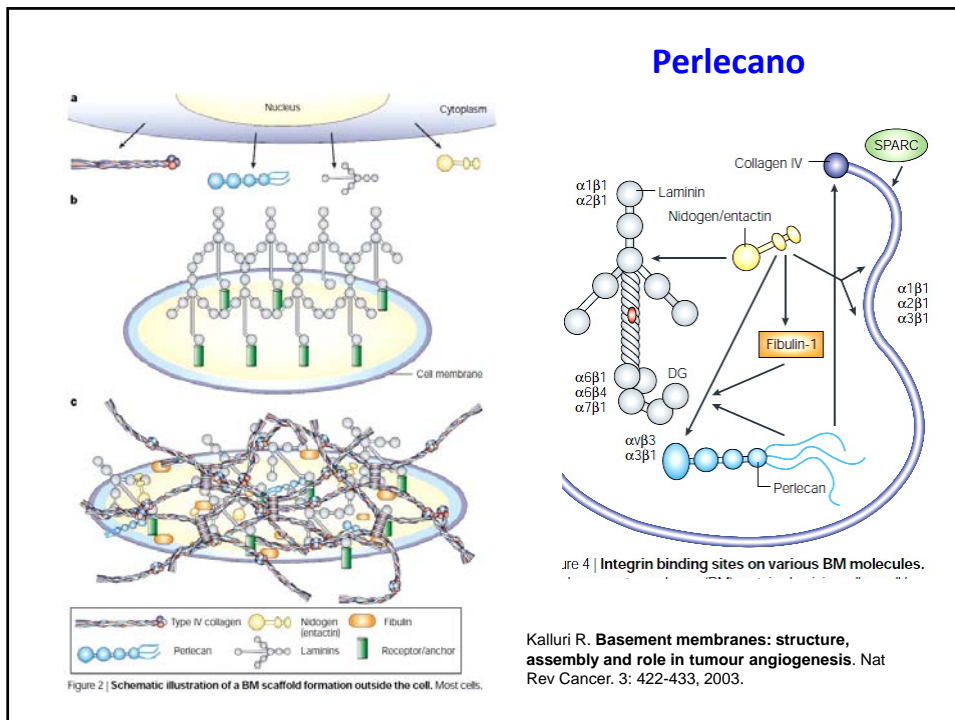


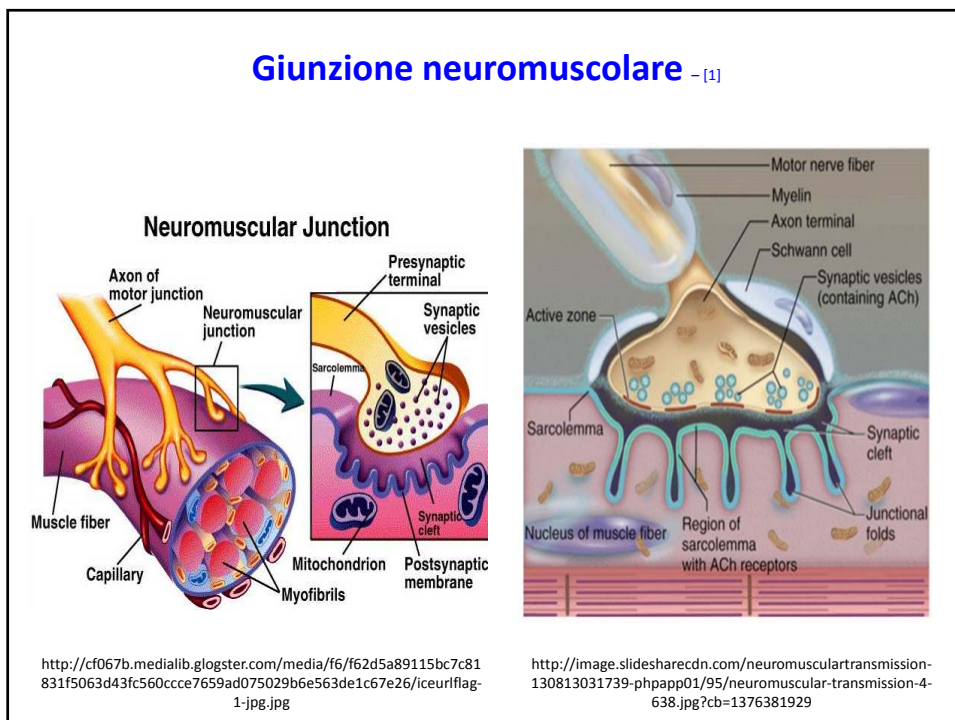
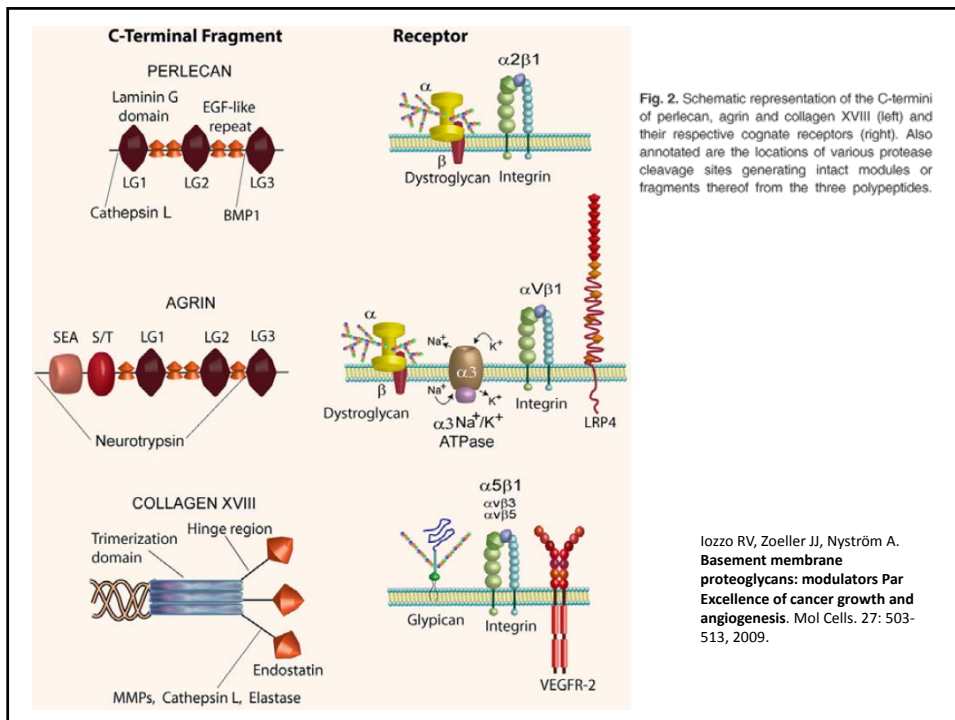
Kalluri R. Basement membranes: structure, assembly and role in tumour angiogenesis. Nat Rev Cancer.3: 422-433, 2003.

Formazione delle reti di Collagene di tipo IV – [2]



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK28430/figure/A5184/>

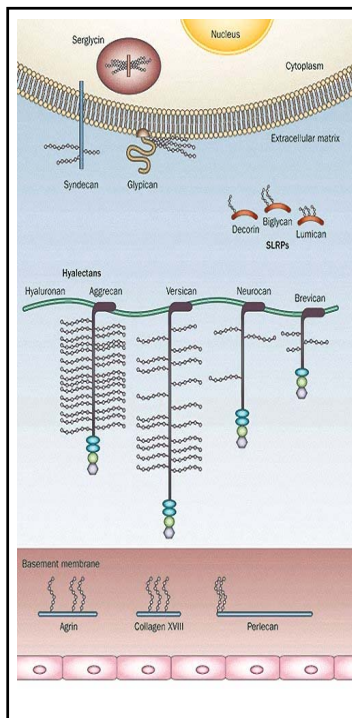




Giunzione neuromuscolare ^{-[2]}

- Nei vertebrati, la lamina basale che circonda la cellula muscolare separa le membrane plasmatiche della cellula nervosa e della cellula muscolare a livello delle sinapsi;
- Nella regione sinaptica la lamina ha caratteristiche chimiche distintive, contenendo **isoforme speciali del collagene di tipo IV e della laminina** e un proteoglicano ad eparan solfato chiamato **agrina**.
- In seguito a danno al nervo o al muscolo la lamina basale a livello della sinapsi gioca un ruolo fondamentali nella ricostruzione della sinapsi nella localizzazione corretta.
- Disfunzioni dei componenti della membrana basale a livello della sinapsi sono responsabili di alcune forme di distrofia muscolare, in cui i muscoli si sviluppano in modo corretto ma in seguito, nell'arco della vita, vanno incontro a degenerazione.

Alberts et al., 2015



Gruppi di proteoglicani basati sui siti con i quali si associano

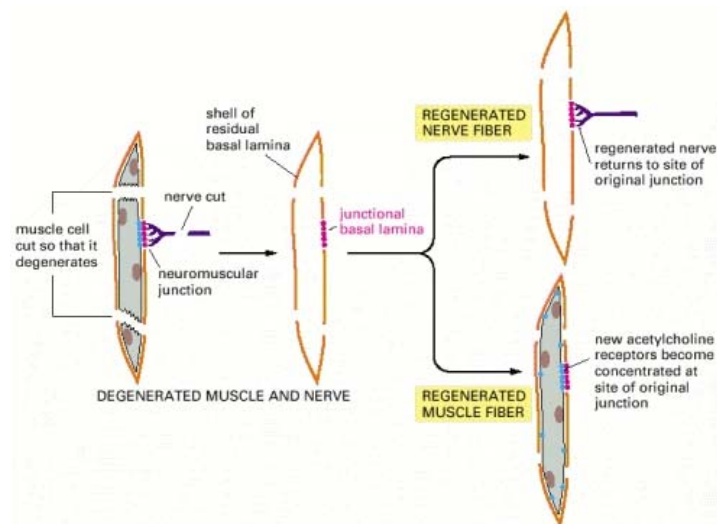
- Il proteoglicano **serglicina** si trova in vescicole di secrezione delle cellule endoteliali e emopoietiche.
- Tre gruppi di proteoglicani extracellulari includono:
 - **lalectani** – aggrecano, versicano, neurocano e brevicano – che si associano con l'ialurano nella matrice extracellulare
 - **«Small Leucine-Rich Proteoglycans»** (SLRPs): decorina, biglicano e lumicano
 - **Proteoglicani della lamina basale:** perlecano, agrina e collagene XVIII.
- Le due principali famiglie di proteoglicani associati alle cellule sono i **sindecani** transmembrana e i **glipicani** ancorati ad un'ancora di GPI.

Edwards IJ. Proteoglycans in prostate cancer. Nat Rev Urol. 2012 Feb 21;9(4):196-206. doi: 10.1038/nrurol.2012.19.

Proteoglicani ad eparan solfato della lamina basale –[1]

- Nonostante il perlecano sembri essere il principale HSPG nella maggior parte delle lamine basali, e nella matrice del mesangio, **il principale HSPG del glomerulo è l'agrina.**
- Le catene laterali solfatate dei GAGs dell'agrina conferiscono un'elevata carica negativa.
- Il dominio N-terminale dell'agrina (NtA) si lega avidamente al braccio lungo della LM-521 mentre il suo C-terminale porta domini che si possono legare a recettori sulla superficie cellulare quali i distroglicani e le integrine.
- Queste proprietà dell'agrina suggeriscono che potrebbero essere rilevanti nel mediare la selettività verso le cariche elettriche all'interno della barriera di filtrazione glomerulare e nel collegamento della "membrana" basale glomerulare (GBM) alle cellule adiacenti.
- Inoltre, le catene laterali di eparan solfato sono importanti in alcuni contesti per il legame e sequestro di fattori di crescita; uno di questi fattori di crescita secreto dai podociti che deve attraversare la GBM e potrebbe beneficiare dalla presenza di tali catene laterali è il VEGF.

Suh JH, Miner JH. The glomerular basement membrane as a barrier to albumin. Nat Rev Nephrol. 2013 August ; 9(8): . doi:10.1038/nrneph.2013.109.



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26810/figure/A3584/>