

A portrait of Maurizio Ceccarelli, an elderly man with white hair, wearing a dark suit, light blue shirt, and patterned tie. He is holding a pair of glasses in his right hand. The background is dark.

Maurizio Ceccarelli

I MIEI TRENTANNI DI
MEDICINA ESTETICA
Tra scienza ed emozioni

2014

I MIEI TRENT'ANNI DI MEDICINA ESTETICA

Tra scienza ed emozioni

di Maurizio Ceccarelli

La Premessa

La libera professione rappresenta, per chi la svolge una sorta d'infezione progressiva. Scegliamo la nostra attività occasionalmente, o per interesse culturale o semplicemente per essere stati colpiti dall'immagine di qualcuno che già la svolgeva. Ci incuriosiamo di un settore e lo poniamo, lentamente, come scopo della nostra vita lavorativa. Ci entriamo con piacere e desiderio di conoscenza e lui entra in noi. Pian piano diffonde nel nostro cervello e riempie in nostri spazi temporali. Diviene il nostro lavoro e il nostro hobby. Lavoriamo, studiamo, approfondiamo, applichiamo e riprendiamo questo cerchio lavorativo che diviene la nostra vita.

Dedichiamo al nostro lavoro la maggior parte della giornata e del tempo, con piacere e carica emotiva. Cresciamo professionalmente e la gratificazione dei nostri successi ci porta sempre più a vivere, con maggiore intensità, la nostra professione. E il tempo passa.

Poi, un giorno, avviene nella nostra vita qualcosa che ci porta a una battuta d'arresto. Ad esempio, un problema di salute.

La nostra corsa verso il futuro si ferma. La nostra continua ricerca di tempo da dedicare al nostro lavoro, si arresta. I nostri piani per un domani, che consideriamo eterno, sfumano di fronte alla realtà. Ci fermiamo di fronte alla consapevolezza del tempo limitato che caratterizza vita umana. E pensiamo.

Facciamo un bilancio di quello che abbiamo vissuto, dei nostri affetti, delle nostre sofferenze, dei nostri piaceri. Riflettiamo su quanto bene e quanto

male abbiamo fatto o ricevuto. Facciamo il punto della nostra vita passata, di quanto abbiamo guadagnato e di quanto abbiamo perso.

Anch'io ho vissuto questo momento. Nel novembre del 2013, un problema di salute ha fermato la mia corsa continua verso il futuro, ponendomi di fronte alla realtà della vita, alla precarietà della stessa, al non essere eterno e invincibile. Mi ha riportato alla mia realtà e umanità.

Anch'io ho fatto il bilancio personale della mia vita privata e professionale. E, in quest'ultima, ho valutato i miei trent'anni di medicina estetica.

Negli anni '80, mi avvicinai a questo settore, ancora agli albori, rimanendo colpito dal rapporto paritario che il paziente aveva con noi. Non esisteva la classica dipendenza del malato nei confronti del medico, caratterizzata dall'accettazione passiva di ogni nostra decisione. Ma una persona che chiedeva una soluzione a un suo disagio e, principalmente, delle spiegazioni su quello che volevamo fare e perché lo volevamo fare.

Questo mi stimolò particolarmente cambiando il ruolo decisionale assoluto che caratterizzava la mia figura di medico nella necessità di dover spiegare, con parole semplici e chiare, la mia proposta terapeutica e aspettare, per l'esecuzione della stessa, la decisione del paziente.

Iniziai quest'attività professionale e, la mia formazione biologica oltre che medica, mi portò a voler approfondire le basi di quello che facevo e a studiare delle nuove possibilità di trattamento per quelle che venivano considerate le patologie estetiche.

E iniziai la mia attività scientifica.

Eseguii degli studi di ricerca fondamentale su gli effetti biologici degli ultrasuoni, dell'ossigeno-ozonoterapia, delle radiofrequenze, dei vari tipi di sorgenti di luce, della elettrostimolazione muscolare e dell'introduzione nella cute di filler naturali e sintetici.

Quindi, definii i razionali scientifici e l'attuazione pratica de:

- il **Tamponamento dei Farmaci in Mesoterapia**. Questo ha permesso la riduzione del dolore, per il paziente, nell'uso di questa tecnica e una miglior risposta clinica, per la minore diffusione del farmaco, per riduzione dei radicali acidi (1984);
- il **Calcolo della Dose di Farmaco** da utilizzare in **Mesoterapia**. Questo ha consentito l'uso di concentrazioni fisiologiche di principio attivo, utili alla risposta clinica, senza effetti collaterali (1986);
- l'**Idrolipoclasia Ultrasonica**. Metodica medica per la riduzione del grasso localizzato, in eccesso, tramite l'attivazione del processo di cavitazione indotto dagli ultrasuoni sulle soluzioni acquose (1989).
- la **Biostimolazione Cutanea**. Ottimizzazione delle funzioni biologiche della cute, con miglioramento estetico di questa e prevenzione dei processi d'invecchiamento (1991);
- l'**Endomodulazione**. Ottimizzazione delle reazioni enzimatiche che avvengono nel nostro organismo, tramite l'utilizzazione dei precursori biologici, per normalizzare le concentrazioni dei neurotrasmettitori, degli ormoni e dei componenti biologici strutturali, senza effetti collaterali (1992);

- **l'Ormonoterapia Sostitutiva Soggettivizzata.** Somministrazione, nei casi di mancanza di funzione d'organo, della quantità di ormoni necessaria alla funzione metabolica, senza eccessi e senza feed back negativi (1994);
- **il Trattamento Aminoacido.** Trattamento alimentare utile alla mobilizzazione rapida del grasso in eccesso, generalizzato e localizzato (1995).
- **il Life Quality Medical Program.** Protocollo di medicina fisiologica utile a prevenire i danni dell'invecchiamento generale, consentendo a ogni soggetto la possibilità di raggiungere un'età avanzata nel pieno delle sue capacità fisiche e psicologiche (1996).
- **l'Ossigenoclasti.** Metodica medica per la riduzione del grasso localizzato, in eccesso, tramite l'ossidazione delle membrane biologiche degli adipociti (2000).
- **La Biostimolazione con Fattori di Crescita Piastrinici.** Protocollo di medicina rigenerativa, utile all'ottimizzazione biologica della cute del volto. Messo a punto con Il Prof. Victor Garcia di Barcellona (2003).
- **il Liposowing.** Utilizzazione delle cellule staminali adulte del tessuto adiposo per la rigenerazione dello stesso, nel volto. Messo a punto con Il Prof. Victor Garcia di Barcellona (2008).
- **la Fat Apoptosis.** Protocollo di medicina estetica, utile a diminuire le volumetrie localizzate del tessuto adiposo, senza infiammazione o danno (2009).

- il **Medical Face Lifting**. Protocollo di medicina rigenerativa, utile all'ottimizzazione biologica di tutti i tessuti del volto. Messo a punto con Il Prof. Victor Garcia di Barcellona (2010).
- il **Face Sculpture**. Protocollo di medicina estetica, utile a ottimizzare i volumi del volto, migliorando l'estetica di questo. Messo a punto con il Prof. Roberto Tullii (2011).
- I **Polimorfismi Genetici del Benessere**, selezione dei polimorfismi genetici utili a mantenere lo stato di benessere, fisico, psichico ed estetico, del paziente (2012).
- Protocollo di **Trattamento**, su base **eziopatogenetica**, della così detta **Cellulite** (2013)
- Il **Full Face Optimize**. Protocollo medico di ottimizzazione biologica ed estetica del volto, effettuato con farmaci e/o medical device (2014).

Tutto questo lavoro mi ha permesso di acquisire riconoscimenti, ufficiosi e ufficiali, per i miei meriti scientifici. Tra i vari, è degno di nota ricordare, il titolo di Commendatore della Repubblica Italiana e la Medaglia d'Argento del Presidente della Repubblica Italiana.

Questo bilancio positivo, personale, mi ha stimolato a raccogliere, tutte le mie conoscenze scientifiche, nella Medicina Estetica e nella Medicina Fisiologica, e a proporle a tutti quelli che le vorranno acquisire, sia per ottimizzare il loro lavoro professionale, che, spero, per continuare il mio lavoro scientifico quando gli accadimenti me lo impediranno.

Capitolo 1

Tamponamento dei Farmaci in Mesoterapia

Svolgevo la mia attività di biologo e di medico presso la Clinica San Giuseppe in Roma. In questa clinica lavoravano, tra gli altri, due medici con i quali avrei poi condiviso il mio percorso professionale nella medicina estetica. Si trattava di Carlo Alberto Bartoletti, che lavorava nel reparto di cardiologia e di Fulvio Tomaselli che lavorava nel reparto di radiologia.

Nella clinica c'era anche un'ottima scuola per infermiere e, tra queste, divenne mia amica Diane Caruso, che lavorava sia in cardiologia che in laboratorio analisi.

Un giorno Diane, di origine francese, mi raccontò che Bartoletti, oltre alla cardiologia, praticava anche la mesoterapia, una tecnica iniettiva inventata da Michel Pistor in Francia e utilizzata anche per il trattamento della cellulite. Diane mi disse: "Perché non impari? Poi organizzo con delle mie amiche *cellulitiche* e così potrai iniziare anche questa nuova attività che ha buone ragioni di rivelarsi redditizia.

A quei tempi, guadagnare per me era fondamentale. Correvo in giro per Roma dalla mattina presto a sera tardi. Iniziavo alle 6 del mattino facendo prelievi domiciliari, poi andavo alla Clinica Villa Angela a fare i prelievi in ambulatorio; uscivo e mi recavo in ospedale, al San Giacomo, dove frequentavo il reparto di medicina interna come medico volontario; nel primo pomeriggio tornavo a Villa Angela per fare le analisi; andavo, poi, alla Clinica San Giuseppe per completare gli esami di ematologia e, infine, alle ore 19

andavo al laboratorio Natalizi fino alle 21-22. Tornavo a casa e al mattino dopo riprendevo la mia consueta giornata.

Avere una nuova possibilità di guadagno era, allora, per me, molto importante.

Andai quindi da Carlo Alberto Bartoletti, presidente della Società Italiana di Mesoterapia, per chiedergli di frequentare l'ambulatorio di mesoterapia ed entrai, attraverso questa tecnica, nel mondo della medicina estetica.

Carlo Alberto Bartoletti era anche il presidente della Società Italiana di Medicina Estetica e frequentando i suoi congressi e lavorando con lui, m'innamorai di questo settore.

Mi motivò, in particolare, il rapporto che esisteva tra il medico e il paziente in questo campo della medicina, completamente diverso rispetto a quello cui ero abituato. Sia in ospedale che privatamente (a quei tempi i pazienti privati, per me, erano delle mosche bianche) il paziente che incontravo era un malato, completamente dipendente da me, il suo medico, in attesa che io formulassi la diagnosi e trovassi una soluzione alla sua malattia. In ospedale, poi, il paziente era addirittura spersonalizzato, veniva indicato come "il paziente del letto numero" oppure semplicemente con la patologia che lo caratterizzava. Nella medicina estetica s'incontravano pazienti sani che richiedevano il nostro intervento per risolvere un problema estetico che non accettavano. Arrivavano già con le idee chiare su quello che volevano e lo chiedevano direttamente, domandando solo, se noi potevamo risolverlo. Un rapporto alla pari.

Diventava, perciò, ogni volta, una prova che vivevo al fine di far comprendere al paziente che il suo problema estetico era solo un epifenomeno di un altro

problema dovuto ad errori comportamentali e che, se non si risolveva questi ultimi, non avremmo potuto esaudire la sua richiesta.

Iniziai così e pian piano mi trovai sempre più attratto da questa materia medica.

Un giorno, il mio primario in ospedale mi chiamò e mi apostrofò : "Maurizio, ma che cosa mai ti sei messo a fare per guadagnare qualche soldo?". Mi sentii colpito. Non pensavo assolutamente che quest'attività servisse solo a "fare soldi". Provai a spiegargli le mie motivazioni e il mio interesse, ma mi licenziò con aria di sufficienza. Decisi, allora, di lavorare per dare alla medicina estetica una credibilità scientifica.

Cominciai a ragionare su ciò che veniva fatto in questo settore con lo scopo di evidenziare i principi biologici che potevano essere alla base dei risultati clinici che venivano ottenuti. Iniziai con la tecnica che, allora, era di maggior uso, la mesoterapia.

Frequentavo l'ambulatorio della Società di Mesoterapia, gestito, presso la Clinica S. Giuseppe, dal Prof. Bartoletti. Un giorno mi trovavo a parlare con altri colleghi, che come me frequentavano tale ambulatorio, e si discuteva sul dolore che i pazienti lamentavano, non solo per la puntura ma per l'introduzione del farmaco. La scintilla che mi "illuminò" nacque dall'affermazione di un collega sardo che attribuiva il dolore all'acidità dei farmaci. I farmaci sono acidi per permettere una più rapida diffusione del principio attivo nei tessuti.

Pensai, allora, che nella mesoterapia noi richiedevamo una lenta diffusione e, per questo, ragionai sulla possibilità di ridurre questa acidità. Le mie conoscenze di chimica, dovute alla mia formazione come Perito Chimico

Industriale e di Biologo, quale sono, si affiancarono alle mie conoscenze di medico permettendomi di trovare una soluzione.

Aggiunsi un tampone bicarbonato (acido carbonico e bicarbonato di sodio) al farmaco da somministrare e lo iniettai nel tessuto della paziente. Questa non riferì alcun dolore.

Avevo tamponato l'acidità del farmaco, togliendo la sensazione di bruciore, anticipando, in siringa, quello che sarebbe successo fisiologicamente tramite i tamponi presenti nel nostro corpo.

Proposi la cosa a Bartoletti che, pur interessato a questa possibilità, mi chiese di avere un riscontro ufficiale alle mie affermazioni. Io, inizialmente, provai a contestare questa richiesta, avevo applicato dei principi di chimica e biologia che erano acclarati, ma poi capii il comportamento di Bartoletti e, negli anni successivi, lo feci mio. Ogni affermazione fatta nella medicina estetica doveva essere supportata da un riferimento scientifico ufficiale. Nessuno doveva pensare, ne' tanto meno asserire, che facessimo affermazioni campate in aria con leggerezza e senza supporti assolutamente scientifici.

Mi recai, allora, dal Prof. Arcangeli, titolare della cattedra di Farmacologia, presso l'Università di Roma "La Sapienza", sottoponendogli le mie argomentazioni circa il tamponamento dei farmaci e chiedendogli una conferma alle mie affermazioni. Lui, persona squisita, mi mise per iscritto che queste erano perfettamente corrette da un punto di vista scientifico e dunque del tutto valide. I farmaci sono acidi, per farli diffondere rapidamente, ma i tamponi biologici agiscono, appunto, tamponandoli, per mantenere il valore di pH allo stato fisiologico di 7,4.

Nacque così il **Tamponamento dei Farmaci in Mesoterapia**. Bartoletti lo inserì nei nostri protocolli e, insieme, mettemmo a punto un lavoro che io presentai al Congresso Italiano di Mesoterapia.

Bartoletti, poi, mi offrì la possibilità di accompagnarlo a Parigi, presso la Società Francese di Mesoterapia, della quale lui era membro, per presentare questo lavoro a chi aveva inventato la mesoterapia, Michel Pistor. La cosa mi eccitò e mi preoccupò. Fui eccitato dalla fiducia che Bartoletti mi dimostrava offrendomi di parlare della mia intuizione in prima persona. Preoccupato, per due ragioni, non conoscevo una parola di francese e non avevo i soldi per il biglietto aereo.

Riflettei lungamente - ma non troppo in realtà - e decisi che non potevo rifiutare questo lancio internazionale che Bartoletti mi offriva. Diedi fondo ai miei risparmi e comprai il biglietto aereo, mentre per il francese la cosa fu più indaginosa. Scrisi la mia presentazione in italiano e, poi, la feci tradurre in francese. Chiesi, anche, a chi me l'aveva tradotta, Beatrice Lanari, di leggermela lentamente affinché potessi annotarmi la pronuncia. Beatrice si dedicò ad ascoltarmi più volte mentre leggevo le parole come dovevano essere pronunciate, finché fui in grado di farmi comprendere dai colleghi francesi.

Partimmo con Bartoletti per Parigi e anche questa fu un'importante occasione per me. Parlammo a lungo durante il viaggio, conoscendoci. Io gli parlai di altre idee scientifiche che avevo avuto. Lui mi raccontò della sua vita, dei suoi incontri importanti (Visconti, Pistor, Aslan, Legrand) e mi diede consigli dei quali ho fatto tesoro nel tempo. Infine, a Parigi, dopo la mia relazione, andammo a pranzo con Michel Pistor al Circolo della Caccia. Era la

prima volta che mi trovavo accanto a due persone importanti in un luogo esclusivo.

La sera prima avevo fatto la mia relazione alla Società Francese di Mesoterapia e gli uditori erano rimasti colpiti dal mio francese, tanto che Pistor mi disse che avevo un accento parigino. Grazie Beatrice!

Particolarmente divertente fu una scena, dopo la presentazione, quando una giornalista mi chiese di pubblicare quanto avevo detto. Io le dissi che le avrei inviato la bozza della relazione e lei si contrariò. Aveva visto che tenevo nelle mani la relazione, scritta, di ciò che avevo letto e me la chiese. Quando la guardò e la lesse, rimase un attimo perplessa e poi scoppiò a ridere come una matta, contagiandomi con la sua risata.

Iniziiò allora il rapporto di collaborazione tra me e Bartoletti che durò per oltre dieci anni. Bartoletti m'inserì, con ruoli ufficiali, nella Società di Mesoterapia e nella Società di Medicina Estetica. I nostri nomi si affiancarono in numerose relazioni congressuali e negli studi dei razionali scientifici di numerose tecniche di medicina estetica:

- azione biologica dell'elettrolipolisi
- azione biologica dell'ossigeno-ozonoterapia
- azione biologica degli ultrasuoni

Inoltre, insieme, mettemmo a punto la stadiazione ecografica della PEFS, la visita in medicina estetica e, sempre insieme, creammo la prima scuola di medicina estetica presso l'Ospedale Fatebenefratelli di Roma nel 1990.

Fu poi, però, proprio questa scuola a dividerci nel 1995.

Avevamo costruito la scuola sulla falsa riga di una specializzazione perché speravamo in un riconoscimento accademico della nostra branca medica. Nel 1994, con il primo governo Berlusconi, venne eletto ministro l'onorevole Antonio Guidi, la cui famiglia era amica della mia.

Insieme al fratello Francesco, amico pure lui e allievo della scuola, chiesi ad Antonio se si potesse fare qualcosa per la medicina estetica. Volevamo che questa avesse il riconoscimento accademico. Antonio ci mandò in giro per l'Italia, dai vari rettori universitari per vagliare le possibilità.

Aldo Brancati, rettore dell'Università di Roma "Tor Vergata" e preside della Facoltà di Medicina ci accolse e accolse la nostra idea. La medicina estetica poteva andare in università.

Mandai Francesco Guidi, per correttezza, - visto che tutto era avvenuto tramite suo fratello - a parlare con Bartoletti, ma lui rifiutò il progetto. Io non credetti alle mie orecchie, volevamo tanto tutto questo e ora? Perché? Non ha rilevanza scrivere oltre la cronologia dei particolari che portarono a dividerci perché, Carlo Alberto Bartoletti, rimane per me sempre una persona cara ed importante. Ma sta di fatto che il nostro sodalizio si ruppe e per sempre.

Recentemente, l'amico Fulvio Tomaselli mi ha raccontato che, ora, nella odierna Società di Medicina Estetica, uno dei membri ha proposto la stessa cosa all'attuale presidente, Emanuele Bartoletti (figlio di Carlo Alberto), e questi si è dimostrato possibilista.

Professore, forse, se mi avesse ascoltato allora la Società Italiana di Medicina Estetica sarebbe stata la prima portare la medicina estetica in università, quella medicina estetica della quale lei è stato e sarà sempre il padre.

CAPITOLO 2

Dose di Farmaco da Utilizzare in Mesoterapia

Restando nell'argomento mesoterapia il mio lavoro successivo fu il **Calcolo della Dose di Farmaco da Utilizzare in Mesoterapia**. Usavamo, inizialmente, in mesoterapia, direttamente, i farmaci che venivano utilizzati per iniezione endovenosa nell'uso sistemico. Questo portava, spesso, a delle manifestazioni locali negative che non comprendevamo.

In realtà, non si poteva pensare che una concentrazione farmacologica dedicata a tutte le cellule di un organismo completo potesse essere utilizzata in una terapia loco regionale, per una piccola quantità di tessuto.

Già il concetto di somministrazione farmacologica uguale per tutti è errato. Infatti, non si comprende perché variamo le quantità di un farmaco sulla base del peso nei bambini, e non lo facciamo sugli adulti. Come possiamo credere che la stessa quantità molecolare di principio attivo possa stimolare, in ugual modo, le cellule di un soggetto di cinquanta chili e di uno di cento chili. E' un illogico farmacologico.

Ancor più, questo riguardo l'uso di un principio attivo in una terapia locoregionale, dove le molecole vengono concentrate in una piccola quantità di tessuto. Possiamo pensare a un'ottimizzazione funzionale bombardando le cellule con eccessi di farmaco?

Volli allora calcolare quale dovesse essere la quantità molecolare, di farmaco, corretta per stimolare una singola cellula. Iniziai calcolando i volumi di tessuto interessati dal trattamento mesoterapico e determinando il numero di cellule presenti in detti volumi. Poi calcolai, sulla base del

numero di Avogadro, la quantità di molecole presenti nelle quantità di farmaco utilizzate in mesoterapia.

Da questo determinai il numero di molecole di principio attivo che raggiungono ogni singola cellula rapportandole alle corrette concentrazioni di attivazione recettoriale.

Iniziai calcolando le cellule delle zone da trattare.

Considerai una gamba delle seguenti dimensioni: circonferenza alla radice 60 cm, circonferenza alla caviglia 25 cm, altezza 65 cm. Con approssimazione, un valore medio di circonferenza di gamba uguale a 42,5 cm. Una circonferenza è uguale a $2 \cdot 3,14 \cdot r$, da ciò il valore di r è uguale a $42,5 / 2 \cdot 3,14$, cioè 6,76.

Calcolai poi il volume di due cilindri, il primo corrispondente all'arto intero, il secondo corrispondente all'arto privo della cute (uno spessore medio di 2-3 cm). Sottraendo il valore del secondo cilindro al primo ottenni il volume del tessuto interessato dal trattamento mesoterapico.

1° cilindro: $6,76 \cdot 6,76 \cdot 3,14 \cdot 65 = 9337 \text{ cm}^3$

2° cilindro: $4,26 \cdot 4,26 \cdot 3,14 \cdot 65 = 3703 \text{ cm}^3$

La differenza tra i due era uguale a $5,6 \cdot 10^3 \text{ cm}^3$ e corrispondeva al volume di tessuto interessato dal trattamento mesoterapico.

Mi interessai, poi, dei farmaci.

L'aminofillina presenta un PM di 180. Per mesoterapia usavamo fiale da 10 ml contenenti 240 mg di sostanza e ne prelevavamo, per seduta, 2 ml corrispondenti a 48 mg di principio attivo.

Questo corrisponde a 3 per 10^{-4} moli. Moltiplicando per il numero di Avogadro abbiamo 18 per 10^{19} molecole di aminofillina.

Calcolando che il farmaco, nel derma, si libera in 5-6 giorni.

Abbiamo: $18 \text{ per } 10^{19}/5 = 3,6 \cdot 10^{19}$ molecole per giorno.

Queste molecole vengono cedute ad un volume di $5,6 \cdot 10^3 \text{ cm}^3$. Ogni cm^3 di tessuto contiene mediamente 500 milioni di cellule ($5 \cdot 10^8$). $5 \cdot 10^8$ cellule moltiplicate per $5,6 \cdot 10^3 \text{ cm}^3$ danno $28,5 \cdot 10^{11}$ cellule.

Dividendo il numero di molecole disponibili ogni giorno per il numero di cellule otteniamo:

$3,6 \cdot 10^{19}/28 \cdot 10^{11}$ e cioè, circa, $2 \cdot 10^7$ per ogni singola cellula.

Si deduce che somministrando per via mesoterapica 2 ml di aminofillina, corrispondenti a 48 mg di principio attivo, bombardiamo ogni cellula con 20 milioni di molecole di principio attivo!

La carnitina presenta un PM di 286. Per mesoterapia usiamo fiale contenenti 1 gr di sostanza.

Sviluppando lo stesso calcolo per la carnitina, si deduce che somministrando per via mesoterapica 1 gr di principio attivo bombardiamo ogni cellula con 216 milioni di molecole di principio attivo.

Effettuai, poi, gli stessi calcoli anche per la troxerutina e il carbazocromo ottenendo sempre quantità molecolari in eccesso.

Questo mi permise di concludere che la concentrazione dei farmaci utilizzati in Medicina Estetica presentava valori molto alti che potevano creare delle alterazioni recettoriali. Questo poteva spiegare alcuni degli effetti collaterali rilevati nei trattamenti mesoterapici, ma, principalmente ci diceva che utilizzavamo un eccesso molecolare che poteva determinare variazioni biologiche nelle cellule iperstimolate.

Calcolando che una cellula contiene circa 20.000 recettori decisi di diluire il farmaco e portarlo ad una diluizione di D3., quindi, di iniziare l'utilizzo dei principi attivi, diluiti nei trattamenti mesoterapici.

Diluii una fiala di ciascun farmaco in 100 cc di Soluzione Fisiologica (S.F.) ottenendo una diluizione D2. Diluendo ulteriormente 1 ml di questa soluzione in 10 cc di S.F. ottenni una diluizione D3 che conteneva la concentrazione molecolare ottimale.

A questo punto dovevo verificare se i concetti teorici rispondevano anche clinicamente, verificando che le diluizioni proposte davano anche un risultato clinico. Grazie alla collaborazione dell'amico Giuseppe Castaldo, nell'Azienda Ospedaliera "G. Moscati" di Avellino, verificammo l'efficacia clinica dei farmaci flebotonici in diluizione D3.

Lo studio, condotto su 10 pazienti di sesso femminile, affette da ipotonia venosa costituzionale, rivelò variazioni positive, nei controlli strumentali (flussimetria laser doppler, reografia a luce riflessa, diametro delle safene), dopo trattamento mesoterapico con un farmaco a base di troxerutina/carbazocromo diluito in D3.

Da ciò, oggi utilizziamo la mesoterapia in diluizione D3 per ottenere risposte cliniche senza effetti collaterali.

CAPITOLO 3

Antropometria in Africa

L'apertura della Scuola Fatebenefratelli ci portò alla messa a punto della visita di medicina estetica. Detta visita prevedeva, oltre alla classica ispezione medica, una serie di valutazioni fisiologiche che dovevano aiutarci a determinare le irregolarità estetiche del paziente. Tra queste, la prima che definimmo fu la valutazione antropometrica.

In questo studio, una parte importante era data dalla plicometria, una valutazione relativa della quantità di grasso del soggetto. La plicometria era stata studiata in modo approfondito dagli autori anglosassoni. Questi avevano misurato lo spessore dei tessuti molli, sopramuscolari, in varie parti del corpo e avevano rapportato questi valori al valore assoluto della massa grassa misurata con metodi assoluti (pesata idrostatica e altro). Lo studio, fatto su un elevato numero di persone, per la legge dei grandi numeri, permetteva, con buona approssimazione, di risalire alla quantità di grasso di un soggetto, misurando le pliche corporee.

Questa valutazione era particolarmente importante per valutare la necessità o meno di un paziente di ridurre la sua massa adiposa mediante un trattamento alimentare e/o di medicina estetica.

In quegli anni andai a trovare una mia cara amica che si era trasferita in Africa, in Kenia e in particolare a Watamu. Arrivai in questo posto meraviglioso, sul mare, dove Lise, la mia amica, aveva costruito una villa meravigliosa con tutti i confort europei in una realtà africana. In questa

meraviglia, Lise viveva contornata da dodici persone locali che svolgevano le funzioni di camerieri e di sorveglianti.

Passai, ovviamente, un soggiorno da sogno coccolato dalla mia a mica e dal suo personale e, alla fine della mia vacanza, chiesi a Lise come ringraziare il personale. Lise mi disse: "Visitali, loro non hanno la mutua e non possono pagarsi le spese mediche. Questo, per loro, è il più grande favore che puoi fare". La guardai stupito, i ragazzi erano tutti giovani e, apparentemente, in ottima salute. Mi sembra inutile visitarli, ma accettai di buon grado.

Quando iniziai, rimasi sconvolto dalla situazione, tutti avevano una splenomegalia perché malati di malaria e, in maggioranza, soffrivano di problemi polmonari e reumatici perché dormivano regolarmente in terra e spesso all'umidità.

Parlai con Lise di questa sorprendente realtà e lei mi confermò che la vita di questi ragazzi non era buona e, quando ammalavano, nessuno li assisteva e le poche cure che ricevevano erano date dagli stregoni della tribù. Rimasi colpito da tutto questo e mi domandai se era giusto che noi arrivassimo in quel meraviglioso paese per godere del lusso offerto dai resort e della bellezza della natura senza preoccuparci delle realtà umane che ci circondavano.

Chiesi a Lise cosa potevo fare e, insieme, decidemmo di organizzare dei piccoli periodi di attività medica gratuita per la popolazione di quel luogo.

Tornai in Italia e parlai con amici medici per raccontare questa realtà e trovare altri colleghi disposti a dedicare una piccola parte del loro tempo libero ad un'attività di volontariato. Nel frattempo Lise aveva preso contatto dei suoi amici del Rotary locale, offrendo la nostra attività

gratuita e cercando un posto dove farla. Organizzammo così quest'operazione di volontariato medico libera da organizzazioni strutturate. Lise trovò un piccolo dispensario nel *bush* e iniziò a diffondere questa novità. Io con altri amici medici iniziai una raccolta di medicinali da portare (non si poteva spedire nulla perché non sarebbe mai arrivato alla giusta destinazione) e fissai una data. Fortunatamente il proprietario della linea aerea che collegava Roma con il Kenia, ci fece degli sconti per i biglietti e partimmo per quest'avventura.

Lise ci ospitò tutti nella sua meravigliosa casa e, il mattino, partimmo per il nostro posto di lavoro. Dopo più di un'ora di jeep nella foresta arrivammo a destinazione e trovammo un caseggiato molto spartano con dei letti all'interno. Trovammo anche dei cortesi ragazzi locali che parlavano inglese e swahili e che diverranno i nostri interpreti con i pazienti, oltre ad aiutarci come infermieri.

Ma la cosa che più mi colpì fu vedere una lunga coda di gente, donne, uomini e bambini, che era in attesa del nostro intervento. Questa lunga fila non poté essere smaltita nella giornata e le persone dormirono in terra per non perdere la fila.

I rappresentanti del Rotary avevano comunicato nei vari villaggi di questa possibilità e la gente era accorsa per essere curata gratuitamente dai "dottori bianchi".

Questa esperienza fu per tutti noi particolarmente toccante. Eravamo un pronto soccorso medico e chirurgico, all'aperto e visionammo le più differenti e incredibili situazioni cliniche. Ma la cosa che più ci colpì fu la risposta di queste persone ai trattamenti farmacologici. Ascessi importanti con raccolte di pus sparivano in una sola giornata in questi soggetti che mai

avevano utilizzato i farmaci moderni. Questo aumentò il numero delle persone perché si diffuse l'idea che i "medici bianchi" erano degli stregoni magici.

Mentre visitavo i pazienti, notavo in molti, specialmente nei bambini, delle strane cicatrici e chiesi ai nostri infermieri se rappresentassero dei tatuaggi rituali. La risposta mi sconvolse, erano dei tagli che gli stregoni facevano per permettere al male di uscire fuori.

Il caldo e l'umidità rendevano il nostro lavoro particolarmente pesante e, dopo 5-6 ore eravamo sconvolti e stanchi. Tornavamo alla villa di Lise e ci riprendevamo in quell'ambiente cinque stelle ma, nella nostra mente, restavano queste persone con i loro problemi e le loro malattie e, al mattino successivo, riprendevamo il nostro lavoro, consapevoli che eravamo una goccia nel grande mare del loro bisogno e che eravamo più noi a ricevere da loro che loro da noi. A differenza della nostra attività in Italia dove operavamo nel voluttuario, lì davamo salute ai malati, soluzione ai problemi eravamo medici con l'emme maiuscola.

Una foto, nel mio studio, mi ricorda giornalmente quello che ho vissuto ma, principalmente, mi ricorda qual è la vita di chi ha bisogno e, quando mi sento insoddisfatto per dei miei accadimenti personali, osservo quella foto nella quale tengo in braccio un piccolo bambino nero, ricordo quali sono i veri problemi della vita, sorrido e dimentico le miei piccole preoccupazioni.

Vorrei ricordare un episodio tra i tanti che ho vissuto in questa meravigliosa esperienza. Un giorno arrivano da noi tre vecchi con una giovane ragazza in braccio. La ragazza era semiosciente e in cattivo stato. I nostri infermieri ci raccontano che la giovane aveva avuto un aborto con una grave emorragia, la madre, il padre e la nonna l'avevano portata in ospedale dove, avendo visto

le sue condizioni, non l'avevano accettata e l'avevano lasciata al suo destino. I tre anziani, saputo della nostra presenza, avevano portato in braccio per tre ore la giovane per farcela salvare.

Vista la situazione, avevamo necessità di albumina da trasfondere. Chiesi che qualcuno andasse subito con una macchina a Mombasa a prenderla, a nostre spese, e mi arrabbiai quando mi dissero che era una cosa impossibile. Blocai il nostro lavoro e minacciai di lasciare tutto se non ero immediatamente soddisfatto. Così ottenni l'albumina.

La sera, a cene, Lise mi disse che avevo un brutto carattere e che mi ero impuntato per una situazione che avveniva ogni giorno in Africa. "Ogni giorno, qui in Africa, la gente muore nei loro villaggi". "E' vero, ma quando questo avviene davanti ai miei occhi, io devo e voglio cercare di evitarlo". "Ti capisco, ma loro non comprendono quello che tu hai fatto".

I fatti confutarono le affermazioni di Lise. La ragazza rimase con noi per tre giorni e i tre anziani restarono accanto al suo letto, sperando. Al terzo giorno, la ragazza si era ripresa e quando i mi accostai al suo letto, la più anziana dei tre, forse la nonna, si alzò, mi venne vicino, mi prese la mano, me la baciò e, con uno strano italiano, mi disse: "Grazie". Questa donna aveva chiesto come potermi ringraziare nella mia lingua agli infermieri e mi aveva dimostrato la sua riconoscenza.

Ancora adesso, raccontando questo fatto e rivivendolo nella mia mente, mi emoziono e sono felice per il poco che ho potuto fare per quelle persone.

Avevo iniziato questo resoconto partendo dall'antropometria. Il nostro lavoro nel dispensario della foresta era molto impegnativo ma volli ugualmente studiare la composizione corporea di quei pazienti. Donne,

uomini, bambini e anziani che erano visitati e trattati per il loro problema, prima di essere dimessi, venivano misurati nel peso, altezza, pliche secondo Durnin e circonferenza mediana del braccio.

Raccogliemmo un elevato numero di valori che elaborammo una volta tornati in Italia.

Ci trovammo ad evidenziare una particolarità, quelli con migliore antropometria erano gli uomini, poi venivano le donne, i bambini e infine gli anziani. Mentre nelle nostre popolazioni, i migliori erano i bambini, poi le donne, poi gli uomini e, sempre per ultimi gli anziani.

Questo lavoro, che presentammo in sede congressuale, evidenziò una particolare differenza nel concetto di famiglia tra le popolazioni primitive e le nostre.

Nella nostra famiglia, sul piano alimentare la cura primaria è rivolta al bambino, poi alla donna, quindi all'uomo e, per ultimo all'anziano. Cioè nella distribuzione del cibo si pensa prima alle fasce più deboli, bambini e donne, poi all'uomo e infine all'anziano.

Nelle popolazioni primitive quest'ordine cambia in rapporto all'importanza del componente familiare. Il primo a d alimentarsi correttamente è l'uomo, questo è il responsabile della vita della famiglia perché è lui che porta in casa il cibo e, per questo, deve essere in buona salute. Poi viene la donna che deve procreare, senza questa sua funzione la famiglia non può esistere. Segue il bambino che mangia se il cibo avanza dopo l'alimentazione dell'uomo e della donna. Il bambino se muore può essere sostituito con una nuova gravidanza. Ultimo nella catena alimentare è l'anziano, inutile, sul piano produttivo, alla famiglia e quindi non necessario.

Una realtà dura ma comprensibile in un'economia evolutiva. L'anziano, sia nella nostra società sia in quella primitiva è l'ultimo. Destinato alla morte, deve costare poco per il gruppo sociale.

Questo cruda realtà mi stimolerà nella successiva elaborazione della Medicina Fisiologica, branca medica dedicata all'ottimizzazione del benessere con il fine di permettere a ciascuno di noi di vivere, il tempo stabilito, in buona salute e con l'autonomia operativa ed economica che ci consenta di non gravare sulla società.

Questo concetto ha mosso l'operazione chiamata "Aiuta l'alimentazione di un anziano" che lanciammo nel 2000 in occasione di un Congresso internazionale del mio gruppo scientifico (International Centre for Study and Research in Aesthetic and Physiological Medicine). Avevamo valutato che l'anziano riduce la sua alimentazione proteica sia perché diminuisce la sua richiesta energetica e, quindi, mangia meno sia perché preferisce alimenti zuccherini, più facili da masticare e digerire e meno costosi. Il fabbisogno proteico dell'anziano è, però, lo stesso del giovane e le proteine hanno, non solo una funzione strutturale (muscolo, ossa, cute) ma anche funzionale (enzimi) e immunitaria (anticorpi). Questo porta a una maggiore morbilità degli anziani per una cattiva alimentazione.

Prendemmo contatto una ditta che produceva polveri proteiche e ci offrimmo come gruppo medico di studiare gratuitamente lo stato antropometrico e di salute degli anziani indigenti e di somministrare loro una corretta integrazione proteica per verificare i cambiamenti.

Questo progetto, insieme all'importanza sociale della Medicina Fisiologica, mi fece ricevere una nuova onorificenza nazionale, la Medaglia d'Argento del

Presidente della Repubblica Italiana, per meriti scientifici (la prima l'avevo ricevuta nel 1994, il titolo di Commendatore della Repubblica Italiana, sempre per meriti scientifici), ma non andò a buon fine. I media ai quali c'eravamo rivolti, per diffondere e portare a conoscenza di tutti, il progetto non lo diffusero. Purtroppo quando si propone qualcosa di gratuito senza chiedere o dare in cambio nulla, si generano diffidenza e sospetto e ci si allontana dal proponente.

CAPITOLO 4

Idrolipoclasia Ultrasonica

Come detto, uno degli approfondimenti biologici fatti sulle tecniche di medicina estetica riguardava l'uso degli ultrasuoni.

Tutto iniziò dopo aver ascoltato una relazione congressuale dove si affermava che l'uso degli ultrasuoni permetteva il passaggio di principi attivi posti sulla cute perché, in conseguenza delle onde d'urto degli ultrasuoni, si aveva lo "slamellamento" delle cellule con apertura di passaggi dove il principio attivo si inseriva per raggiungere l'ipoderma. Queste affermazioni mi causarono delle perplessità e decisi di approfondire l'argomento in una relazione, presentata in un congresso SIME, con il nome di: "**A proposito degli ultrasuoni in medicina estetica**".

La relazione fu presentata in Italia e pubblicata sul giornale "La Medicina Estetica" e da questo primo lavoro nacque la tecnica della **Idrolipoclasia Ultrasonica**, da me messa a punto e presentata, per la prima volta nel mondo, al Congresso Internazionale di Medicina Estetica di Rio de Janeiro nel 1990.

La tecnica dell'Idrolipoclasia Ultrasonica (definita in seguito con l'acronimo ILCUS da Fulvio Tomaselli) consisteva nell'infiltrazione del grasso da diminuire con una soluzione acquosa e dalla successiva applicazione di ultrasuoni ad alta potenza al fine di indurre la cavitazione del liquido e determinare danno meccanico al grasso.

Approfondiamo ora i concetti scientifici che mi hanno portato alla formulazione di questo principio.

Gli ultrasuoni sono delle onde meccaniche ad elevata frequenza, oltre 20.000 cicli al secondo. Il flusso di onde ultrasoniche nasce utilizzando le proprietà piezoelettriche o magnetostrittive di alcuni cristalli, cioè la loro capacità di contrarsi ed espandersi sotto l'azione di un campo elettrico o di un campo magnetico alternante.

Gli effetti prodotti dagli ultrasuoni sopra un materiale biologico possono essere raggruppati in:

- a) micromeccanici
- b) termici
- c) di cavitazione

Effetti micromeccanici - Dobbiamo immaginare l'onda ultrasonica come un forte vento che incide sul materiale biologico con una forza proporzionale all'intensità degli ultrasuoni. Gli effetti micromeccanici determinano spostamento e traslocazione delle molecole organiche intracellulari, con rottura di cromosomi e di macromolecole, conglomerazione molecolare per rottura di ponti di legame, modificazione della struttura spaziale delle proteine. Questi effetti si hanno perché le macromolecole proteiche presentano più strutture spaziali. La primaria è formata da legami covalenti, resistenti al movimento meccanico. Le altre strutture sono formate da legami deboli (polari, idrogeno, etc.) che richiedono di una particolare vicinanza spaziale dei gruppi che li costituiscono per mantenersi. Essendo unioni deboli è sufficiente una debole energia per romperli e provocare l'allontanamento dei gruppi chimici che li formano. La perdita delle strutture spaziali secondarie, terziarie e quaternarie determina perdita di funzione della macromolecola.

Effetti termici - Gli effetti termici degli ultrasuoni vanno attribuiti al così detto effetto Joule. L'onda meccanica degli ultrasuoni aumenta l'energia cinetica (= movimento proprio di un corpo) delle molecole: per la Legge di Joule l'energia delle molecole in movimento è liberata in parte sotto forma di calore. Si ha un aumento della temperatura del materiale biologico. Da 37° C (valore fisiologico) inizia la denaturazione proteica, e pertanto la perdita delle funzioni cellulari.

La cavitazione - Si tratta di un fenomeno che avviene in un liquido sottoposto ad una forte variazione di pressione. Quando un'onda ultrasonica incide su un liquido crea un'alternanza di compressioni e depressioni. Quando il valore della pressione applicata (= depressione) è inferiore alla tensione di vapore del liquido il liquido si trasforma in vapore sotto forma di piccole bollicine. Quando il valore della pressione (= compressione) raggiunge il suo valore massimo, comprime le bollicine, producendo un'implosione che causa onde di pressione sulle strutture circostanti. Se la zona dove colpiscono le onde di pressione è sempre la stessa si arriva a produrre danno. Questo processo, con ultrasuoni di 100 kHz, a potenza adeguata, avviene centomila volte in 1 secondo.

La cavitazione è stata studiata perché si produce anche sulle eliche di barche ed di aeroplani ed è di tale importanza da indurre erosione del metallo. Si valuta che la pressione liberata dall'implosione di una bolla di cavitazione può raggiungere le 1000 atmosfere (motivo della potente azione corrosiva).

Il fenomeno della cavitazione può essere valutato con l'impiego del Numero di Cavitazione definito attraverso la seguente relazione:

$$n = \frac{Pa + Ps + Pv}{(d/2) \times V^2}$$

dove Pa, Ps e Pv sono la pressione applicata, la idrostatica e la tensione di vapore; d la densità e V la velocità, sempre riferiti al liquido. Cioè, la tendenza di un liquido a cavitare è direttamente proporzionale alle pressioni applicate ed inversamente proporzionale alla sua densità e alla sua velocità di movimento.

In rapporto al valore della densità, affinché la cavitazione si produca nei tessuti, si ha bisogno di intensità 1000 volte superiori a quelle necessarie per i liquidi. Tuttavia, bisogna considerare che il corpo umano è costituito per un sessanta per cento di acqua.

Nel tessuto adiposo, però, ne abbiamo solo il 18% e da questo nasce la mia metodica dell'Idrolipoclasia Ultrasonica (ILCUS). L'infiltrazione di acqua nel tessuto adiposo e l'immediata applicazione degli ultrasuoni poteva determinare cavitazione del liquido inserito, formazione di microbolle, implosione di queste e danno del materiale biologico circostante.

Iniziai a provare questa tecnica, prima su pezzo anatomico e poi in vivo, verificando che il processo avveniva. Era nata un'alternativa alla liposuzione. L'ILCUS si poteva usare per produrre una riduzione volumetrica di tessuti costituiti da strutture sensibili al danno meccanico prodotto per l'implosione delle microbolle di cavitazione.

Dobbiamo però chiarire ulteriormente alcuni concetti per comprendere perché, oggi, nonostante la grande diffusione nel mondo di questa tecnica e la presenza di numerosi apparati per la cavitazione, io non la utilizzi.

Per questo approfondiamo altri concetti fisici degli ultrasuoni.

L'*intensità* di un suono dipende dall'ampiezza (A) del movimento vibratorio della fonte che lo produce, perciò quanto maggiore è l'ampiezza dell'onda, maggiore è la quantità di energia (*potenza*) che genera. Nel Sistema Internazionale questa si misura in watt per metro quadrato, in simboli Watt/m^2 .

La *frequenza* è una misura che indica il numero di onde che si ripetono in un'unità di tempo. Si può misurare l'intervallo di tempo tra gli istanti iniziali di due onde consecutive (periodo) e calcolare la frequenza come misura risultante da questa durata. 1 kHz è uguale a 1000 onde per secondo. 1 MHz è uguale a 1 milione di onde per secondo. Maggiore è la frequenza (numero di onde per secondo) e minore è la capacità di penetrare dentro i tessuti. Infatti, l'elevato numero di onde per secondo determina una perdita dell'intensità (urto sulle molecole) e quindi della forza di penetrazione.

Su queste basi, se vogliamo indurre una corretta clasia del tessuto adiposo, dobbiamo:

- a. Infiltrare la zona da ridurre con un liquido acquoso
- b. Applicare ultrasuoni ad alta potenza
- c. Applicare ultrasuoni ad alta frequenza

Dell'importanza dell'infiltrazione abbiamo già parlato, possiamo infiltrare della soluzione fisiologica o, meglio, delle soluzioni che già di per se possano danneggiare gli adipociti. Queste soluzioni possono essere:

- a. Acqua sterile, che agisce rompendo gli adipociti per azione osmotica.
- b. Acqua con desossicolato, che induce rottura adipocitaria per emulsione della parete cellulare.
- c. Acqua con acido ascorbico, che stimola l'apoptosi degli adipociti.

L'alta potenza è richiesta perché, come abbiamo visto, il processo di cavitazione è direttamente proporzionale all'intensità dell'onda ultrasonica. Per questo, solo con alte potenze possiamo far cavitare il liquido.

L'alta frequenza è richiesta per limitare il danno ai tessuti più superficiali ed evitare le controindicazioni di un danneggiamento dei tessuti profondi (osso, ovaie, etc.).

Tentai più volte di far fare alle ditte di produzione un apparecchio corretto, ma tutto inutilmente. Oggi, in commercio, abbiamo apparecchi di cavitazione con una bassa potenza e bassa frequenza. Cioè onde incapaci di dare cavitazione e che penetrano fino ai tessuti più profondi.

Per chi volesse utilizzarli ugualmente, raccomando d'infiltrare superficialmente (aghi da 6 mm perpendicolari) la soluzione liquida e di applicare tangenzialmente gli ultrasuoni (plicare con una pinza il tessuto e mettere la testa di emissione degli ultrasuoni lateralmente) per non mandarli in profondità.

CAPITOLO 5

Biostimolazione Cutanea.

Negli anni 80 l'interesse della medicina estetica era rivolto, principalmente, al miglioramento dell'armonia del corpo. Poi, nella seconda metà di quegli anni il boom del collagene fece sì che l'operatività della medicina estetica comprendesse anche il volto.

Il collagene era un filler che permetteva il compenso dei volumi mancanti nel volto. Cioè consentiva la riduzione delle rughe e riempiva vuoti conseguenti al processo d'invecchiamento.

La mia ottica di biologo e di medico mi portò, tuttavia, a considerare questo trattamento per quello che era in realtà: un trattamento puramente estetico. Noi medici, riflettei, dobbiamo curare e, quindi, prima di tutto prevenire la comparsa di quei segni che, una volta impressi sul viso, potremo poi, eventualmente, correggere con il collagene.

Fondamentale è, dunque, la prevenzione e cioè la protezione dai danni solari, la corretta alimentazione, un corretto stile di vita e la cosmesi. Ma essenziale è anche la restituzione, cioè, il tentativo, con le armi della medicina, di riportare i tessuti cutanei allo stato giovanile attraverso l'ottimizzazione fisiologica di questi: e ciò tramite una stimolazione delle funzioni biologiche della cute. Nasceva così la **Biostimolazione Cutanea**.

Con il concetto di Biostimolazione Cutanea, allora innovativo, volevo indicare un'attivazione biologica delle funzioni fisiologiche della cute, necessaria per migliorarla sia funzionalmente che esteticamente.

Nel tempo la parola biostimolazione è stata usata come sinonimo di biorigenerazione , bioattivazione, bioristrutturazione: a questo proposito, però, dobbiamo chiarire alcuni concetti.

Il termine, usato da me inizialmente, voleva indicare che la risposta biologica, definita genericamente col nome di biostimolazione, induceva una stimolazione che esitava in un miglioramento funzionale e strutturale della cute, ovviamente, a questo, conseguiva anche un miglioramento estetico. Oggi il termine, abusato, è utilizzato per indicare un miglioramento della bellezza del volto anche se conseguente ad un danno biologico.

Questo è sbagliato. Perché dobbiamo ricordare che una cute giovane è caratterizzata da una prevalenza di collagene reticolare o di III tipo, rispetto al collagene fibrotico o di I tipo. Se, con il nostro intervento, provochiamo un danno, induciamo neoformazione di collagene di I tipo e fibrosi; questo determina un migliorando nell'estetica della cute, conseguentemente alla retrazione di questo collagene (con effetto lifting), ma la invecchia per l'inversione del rapporto dei due collageni.

Preferisco definire i trattamenti che inducono fibrosi con il termine di bioristrutturazione, per indicare che questi non rispettano la fisiologia della cute ma danno un miglioramento solo estetico.

Ora, approfondiremo questi concetti partendo dalla fisiologia della cute: tenendo conto che le funzioni cutanee, attivate, danno un miglioramento funzionale delle cellule epidermiche e dermiche, cosa che porta ad una normalizzazione dello stato della cute attraverso sia un regolare ricambio epidermico che l'ottimizzazione chimico-fisica della matrice dermica.

Il processo di differenziazione della cellula epidermica è molto complesso ed è regolato da una serie d'informazioni che sono fornite sia dall'esterno sia da complessi sistemi enzimatici intracellulari che funzionano da secondi messaggeri.

Tra gli informatori esterni vanno ricordati i mediatori alfa- e beta-adrenergici (che agiscono stimolando l'attività dell'adenilciclastasi) ed i mediatori colinergici (che agiscono stimolando l'attività guanilciclastica con formazione di c-GMP).

Altri fattori che regolano la differenziazione cheratinocitaria sono l'Epidermal Growth Factor (EGF) e gli estrogeni. Tra i fattori intrinseci di regolazione hanno significato i caloni, sostanze ad attività simil-ormonale. I caloni epidermici sarebbero prodotti dai cheratinociti in fase avanzata di proliferazione ed avrebbero la funzione di inibire le mitosi cellulari delle cellule dello strato basale. In questo modo si ha la regolazione dello spessore dell'epidermide: cioè il regolare ricambio epidermico nasce da una normalizzazione della funzione dell'EGF e dei caloni. In altre parole, la stimolazione dell'EGF incrementa le mitosi dello strato germinativo e, quando lo spessore raggiunge il suo stato ottimale, anche la concentrazione dei caloni prodotti dai cheratinociti raggiunge il livello necessario a bloccare le mitosi dello strato basale; quando l'esfoliazione corneocitaria riduce il numero dei corneociti, anche la concentrazione dei caloni si abbassa e lo stimolo dell'EGF riattiva le mitosi. La corretta funzione di questa bilancia regola il giusto spessore epidermico.

Concludendo questo ricordo sulle funzioni dell'epidermide e riferendolo ai nostri interventi estetici, dobbiamo porre particolare attenzione ai mediatori colinergici ed ai caloni.

Questo perché (e introduciamo così, subito, un esempio dal risvolto pratico) il trattamento con tossina botulinica, ad azione anticolinergica, a livello cutaneo, riduce l'effetto di questo mediatore variando alcune funzioni cellulari ed il trattamento peeling esfoliando e diminuendo lo strato corneocitario determina una riduzione dei caloni con incremento dello stimolo mitotico ed ipertrofia epidermica. Perciò l'uso della tossina botulinica e dei peeling, utili all'estetica della nostra paziente, richiedono un'attenzione nella zona, nella quantità e nella frequenza del trattamento.

Sotto l'epidermide abbiamo il derma. Il derma è formato principalmente da cellule e fibre collagene ed elastiche immerse in una matrice colloidale. Le cellule sono rappresentate principalmente da fibroblasti. La matrice colloidale è formata dalla sostanza fondamentale (glicosaminoglicani e proteoglicani) e da proteine fibrose quali il collagene e l'elastina. Il collagene, l'elastina ed i glicosaminoglicani (GAG) sono prodotti dai fibroblasti.

Lo stato fisico della matrice dermica è importante perché, a seconda della sua consistenza, gli scambi metabolici sono facilitati od inibiti. L'ottimizzazione chimico-fisica della matrice richiede la neoformazione dei componenti strutturali di questa e la fluidità del suo stato colloidale.

Dunque lo stato di sol della soluzione colloidale che compone la matrice consente più facilmente gli scambi metabolici, mentre lo stato di gel, più solido, li impedisce.

Le soluzioni colloidali sono caratterizzate da molecole di soluto di grandi dimensioni, quindi incapaci di essere disperse negli spazi intermolecolari dell'acqua, ma dotate di carica elettrica uguale. Per gravità, le prime molecole si depositano sul fondo ma impediscono alle altre di depositarsi

perché la repulsione della carica elettrica dello stesso segno le mantiene in sospensione.

Se saturiamo le cariche elettriche delle molecole colloidali con cariche di segno opposto, cessa la forza di repulsione e le varie molecole colloidali si compattano trasformando la soluzione colloidale (sol) in un gel colloidale (gel).

Nel derma lo stato di sol è mantenuto dalla carica negativa presente sulla superficie delle macromolecole di *GAG* che lo costituiscono. Questa carica elettrica negativa deriva dalla dissociazione di queste macromolecole nell'ambiente leggermente alcalino che caratterizza il derma (pH: 7,4). Detto valore di pH è mantenuto costante dal sistema tampone del bicarbonato.

I processi infiammatori acidificano la matrice dermica. Gli ioni idrogeno, positivi, neutralizzano le cariche elettriche negative dei *GAG* e determinano gelificazione del derma con riduzione degli scambi metabolici e conseguente danno biologico. È quindi importante che i nostri interventi estetici non inducano acidificazione del derma (infiammazione) né riduzione dei sistemi tampone bicarbonato.

Il fibroblasto è la cellula del derma capace di produrre tutti i componenti di questo: *GAG*, collagene ed elastina. La capacità produttiva del fibroblasto è diversa in funzione sia dell'età della cellula, sia dei diversi recettori stimolati, sia dell'ambiente fisico-chimico che lo circonda.

In particolare dobbiamo fare una distinzione riguardo i tipi di collagene che vengono prodotti. Questo perché in numerosi interventi estetici si parla di neocollagenogenesi senza indicare né il tipo di collagene che viene prodotto

né se a questa neoproduzione corrisponde un ringiovanimento biologico reale della cute.

Dobbiamo ricordare, come già anticipato, che nella pelle giovane il rapporto collagene tipo III/tipo I è molto più elevato che nei soggetti adulti e che questo rapporto tende a ridursi con l'età.

Il fibroblasto produce un collagene immaturo, il tropocollagene, che si assembla in modo diverso utilizzando le porzioni carbossiterminali (collagene di tipo I) od aminoterminali (collagene di tipo III).

Il collagene di tipo III è detto reticolare e, caratteristico dei tessuti giovani, mantiene il turgore del derma. Il collagene di tipo I è detto fibrotico e, caratteristico dei tessuti anziani e del tessuto cicatriziale, indurisce il derma.

Studi recenti ci indicano la capacità del fibroblasto di essere attivato per produrre un tipo o l'altro di collagene ed in particolare indicano che possiamo distinguere i fibroblasti in due sottopopolazioni, NF (natural fibroblast) e FF (fibrotic fibroblast), quest'ultima è caratteristica dei tessuti infiammati. I NF producono principalmente collagene reticolare, mentre i FF producono principalmente collagene fibrotico.

Considerando che il collagene fibrotico è un indice d'invecchiamento dei tessuti cutanei, è importante che la neocollagenogenesi indotta da un nostro trattamento estetico non ne stimoli la formazione, perché già sappiamo che, anche se l'aspetto estetico della cute può migliorare, le funzioni biologiche subiscono un danno.

Utilizzeremo perciò, ricordiamolo ancora, trattamenti di neocollagenogenesi di tipo reticolare per migliorare la cute delle pazienti giovani, il cui collagene è prevalentemente di tipo reticolare, con l'intento di dare un'attivazione

delle funzioni biologiche della cute al fine di ottimizzare la fisiologia di questa con un conseguente miglioramento estetico; mentre potremo utilizzare trattamenti di neocollagenogenesi di tipo fibrotico nelle pazienti anziane, il cui collagene è già prevalentemente di tipo fibrotico, consapevoli, in questo secondo caso, di dare un miglioramento estetico anche se a scapito della fisiologia cutanea, poiché provochiamo, qui, un'alterazione dei normali componenti cutanei con danno, appunto, della fisiologia della cute

L'attivazione di un corretto stato biologico del derma prevede:

- Mantenere lo stato colloidale della matrice
- Attivare il metabolismo del fibroblasto
- Stimolare la neoformazione di fibre collagene ed elastiche

E' ora importante approfondire questo concetto di neocollagenogenesi analizzando il processo della rigenerazione e quello della riparazione.

La rigenerazione è un processo fisiologico alla base della continua ricostruzione di alcuni tessuti, quali quello cutaneo.

Per mantenere funzionali tessuti ed apparati il nostro organismo attua una continua rigenerazione, di alcuni di questi, basata sulla loro ricostruzione, quando le volumetrie diminuiscono. Nel derma cutaneo abbiamo una continua rigenerazione.

Nel derma sono presenti enzimi particolari detti metalloproteinasi capaci di solubilizzare mediante processi di idrolisi le macromolecole che compongono il derma. Le metalloproteinasi vengono contraddistinte da numeri progressivi, indici della diversa molecola sulla quale effettuano la loro azione: MMP1 collagenasi, MMP3 stromelinasi, MMP9 gelatinasi, etc. Le metalloproteinasi sono presenti nel derma in forma inattiva con il sito attivo

bloccato da un residuo di cistina; l'idrolisi di questo aminoacido libera il sito contenente zinco e permette l'azione dell'enzima.

Come nella maggior parte dei sistemi biologici anche la dissoluzione della matrice è regolata da attivatori ed inibitori delle MMP. Il giusto equilibrio tra i due apparati consente il mantenimento di una matrice dermica sana e funzionale.

A compenso della distruzione del derma da parte delle metalloproteinasi abbiamo la funzione anabolica del fibroblasto. Particolari recettori sulla parete cellulare di questo sono attivati o dai fattori di crescita o dai componenti lisati del derma ed inducono la sintetizzazione di nuove molecole. I recettori della tirosin-kinasi, detti anche CD 44 (cluster of differentiation 44), vengono attivati dai fattori di crescita (fibroblast growth factor) e dai frammenti di acido ialuronico lisato. La loro attivazione determina l'idrolisi dei polifosfoinositoli di membrana con liberazione dell'1-3 difosfoinositolo; questo raggiunge il reticolo endoplasmatico liscio dove, legandosi ad un recettore specifico, induce l'ingresso di ioni calcio; gli ioni calcio attivano la proteinKinasi C con stimolo dei geni ad induzione precoce Jun e Fos e successivo avvio della sintesi proteica. Si ha così la neoformazione dei componenti della matrice dermica ed in particolare di glicosaminglicani, di collagene reticolare (tipo III) e di elastina.

Nella riparazione, invece, si attiva un processo biologico utile a compensare la perdita di parte di tessuto, conseguente ad un danno. Questa perdita è bilanciata con la neoformazione di un tessuto connettivale detto tessuto cicatriziale, tessuto riccamente rappresentato da collagene di tipo I(°).

La cellula deputata alla formazione del tessuto cicatriziale è sempre il fibroblasto. Ovviamente dobbiamo, in questo caso, avere degli stimoli diversi

dai precedenti per indurre la costruzione di questo nuovo tessuto e non dei tessuti originari.

Se prima erano i frammenti liberati dall'idrolisi dei normali componenti del derma ad attivare la rigenerazione della cute, ora sono i componenti endocellulari, liberati dal danno biologico e i mediatori dell'infiammazione, conseguenti al danno biologico, ad indurre l'attivazione del processo riparativo.

Quanto ai recettori di parete, in questo caso di attivazione del processo riparativo, si ha la stimolazione dei CD 39 da parte dei frammenti di acido nucleico, liberati dal nucleo della cellula danneggiata, e dei CD 40 da parte dei mediatori dell'infiammazione (interleuchine) con stimolo alla formazione di tessuto fibrotico ricco in collagene di I° tipo.

Noi dobbiamo, se vogliamo rispettare la fisiologia della cute, stimolare il fibroblasto in senso rigenerativo e non riparativo.

La risposta alla stimolazione di recettori diversi può indurre miglioramento biologico con ottimizzazione della fisiologia della cute e conseguente miglioramento estetico o miglioramento puramente estetico ma con danno biologico. Il miglioramento biologico è utile in ogni tipo di cute; il miglioramento puramente estetico è da considerarsi utile solo nelle cuti vecchie.

Quindi se parliamo di biostimolazione fibroblastica da effettuare su una paziente giovane, dobbiamo essere certi che i recettori stimolati siano solo i CD 44. Mentre nella stimolazione fibroblastica di una cute anziana, anche lo stimolo dei CD 39 e dei CD 40, pur inducendo un danno biologico, può essere accettato per il suo miglioramento estetico: in questo caso parliamo di bioristrutturazione.

Dunque in definitiva volendo stimolare i CD 44 dobbiamo ricordare che:

- Le proteine derivate dal danno della matrice extracellulare, stimolano la sintesi dei componenti di questa.
- Il CD-44 presenta la massima attività in presenza di complessi di 20-38 monomeri di acido ialuronico.
- La meccano-trasduzione, attraverso lo stretching del citoscheletro cellulare, consente di attivare il metabolismo del fibroblasto

Inducono invece il risultato opposto altri fattori e precisamente:

- I nucleotidi (PDRN) extracellulari, che stimolano i recettori purinergici di tipo 2 (CD 39)
- I nucleotidi extracellulari sono implicati come mediatori infiammatori in molte situazioni patologiche
- L'interleuchina IL-4 si lega al CD 40 dei fibroblasti con effetto profibrotico e riduzione dell'effetto antifibrotico dell'IFN-gamma
- Stimoli flogogeni selezionano delle sottopopolazioni di fibroblasti con un ruolo importante nella formazione della fibrosi

Le proposte, attualmente rivolte ai medici nel campo della biostimolazione e della sua controparte, la bioristrutturazione, ci parlano dell'uso di:

- Vitamine
- Acido ialuronico
- Frazioni di DNA
- Acido polilattico
- Silicio organico

- Radiofrequenza
- Energia laser

E' importante che, prima d'iniziare uno qualsiasi di questi trattamenti, ci preoccupiamo dei reali effetti biologici di ciascuno di questi. Liberandoci, poiché siamo medici, dal semplice business economico e scegliendo in tutta scienza e coscienza.

Questi principi ci portano a formulare i punti di una **corretta biostimolazione:**

- Attivazione del fibroblasto, in senso rigenerativo, mediante fattori di crescita, frammenti di acido ialuronico e meccano-trasduzione
- Inibizione competitiva dell'attivazione delle metalloproteinasi, mediante l'aumento quantitativo di cisteina
- Normalizzazione dello stato colloidale della matrice mediante il mantenimento di un ph fisiologico (7,4) con tampone bicarbonato.
- Riduzione del cronoaging, mediante la somministrazione di antiossidanti capaci di ridurre il danno da radicali liberi dell'ossigeno
- Riduzione del photoaging, mediante la somministrazione di colina, quale precursore dell'acetilcolina, utile alla differenziazione cheratinocitaria e al metabolismo epidermico.

Questi principi attivi, mescolati galenicamente o contenuti in un medical device, vengono introdotti nel derma del paziente, con sedute distanziate di 15-30 giorni. Il trattamento viene eseguito, a tappeto, sul volto, il collo il décolleté e le mani.

Vediamo ora di esaminare un altro importante trattamento, che rispetta e migliora biologicamente i tessuti su cui agisce.

Recentemente la luce ed in particolare la **Fotostimolazione** è stata approvata dalla FDA americana per il trattamento delle rughe. Il principio si basa sul fatto che i LED rilasciano fotoni con un basso potere d'incidenza, in grado tuttavia di dare effetti positivi sulle cellule sia a livello morfologico che molecolare. Il trattamento viene oggi collocato, a livello internazionale, tra le tecnologie non ablativo ed in particolare come fotoringiovanimento con luce emessa da diodi, senza effetto termico.

La differenza tra luce laser e luce LED è la seguente:

- Il laser emette luce coerente, monocromatica e collimata
- Il LED emette luce coerente, monocromatica ma non collimata.

Il fatto che la luce non sia collimata porta alla divergenza dei raggi con conseguente diminuzione della intensità per punto d'irradiazione. Infatti, mentre l'intensità del Laser si misura in watt, quella del LED si misura in microWatt.

L'assorbimento della potenza di luce incidente è diverso a seconda della lunghezza d'onda e del materiale incontrato. La lunghezza d'onda compresa tra circa 600 e 900 nm non viene assorbita dalle molecole biologiche. In questo range (600-900 nm), maggiore è la lunghezza d'onda e maggiore è la penetrazione nella cute.

Ma qual è il sito d'azione della Fotobiostimolazione?

Sappiamo che in natura, sia nel mondo vegetale che in quello animale, ci sono molecole dette fotosensibili, si tratta cioè di molecole che cambiano la loro funzione a seconda della stimolazione della luce. La luce attiva i fotosistemi

della cellula vegetale con scissione dell'acqua ed utilizzazione degli idrogeni per attivare il complesso ATP-sintetasi e produrre l'energia necessaria per le sintesi biologiche.

Anche a livello animale abbiamo delle strutture biologiche attivate dalla luce. L'esempio più evidente è quello della rodopsina contenuta a livello retinico, la cui attivazione è alla base del meccanismo della visione. Ma anche i melanociti della cute sono cellule attivate dalla luce per la produzione dei melanosomi della melanina.

La luce svolge anche una funzione importante nel cosiddetto "Light-Repair" del DNA cellulare. L'enzima Fotoliasi è una flavoproteina che, attivata dalla luce, ripara le porzioni di DNA danneggiato. Ma il punto più interessante nel nostro discorso è rappresentato dagli anelli tetrapirrolici presenti nei citocromi mitocondriali.

A livello dei mitocondri, la Catena del Trasporto degli Elettroni consente la formazione delle molecole di ATP. Gli enzimi di questa catena sono rappresentati da citocromi. Lo schema di trasferimento elettronico prevede:

- Il trasferimento degli elettroni dal NADH al citocromo Q
- Il trasferimento degli elettroni dal FADH al citocromo Q
- Il trasferimento degli elettroni dal citocromo Q al citocromo c
- Il trasferimento degli elettroni dal citocromo c all'ossigeno per azione della citocromossidasi.

Fondamentale, alla catena del trasporto degli elettroni si abbina un flusso protonico di ioni idrogeno. Questo flusso consente la formazione, tramite l'ATP-sintetasi, delle molecole di ATP. L'ATP-sintetasi mitocondriale ha una

particolare struttura stereochimica dotata di movimento orario e antiorario in base al flusso protonico.

L'ATP o adenosin-trifosfato è una particolare molecola formata da un nucleo adenosinico (adenina più pentosio) con tre radicali fosforici uniti. Il legame dell'ultimo gruppo fosforico è un legame ad alto contenuto energetico la cui rottura libera un'alta quantità di energia.

Fatta questa premessa fondamentale, possiamo ora a comprendere come la Fotobiostimolazione con LED possa essere utile nella prevenzione dei processi d'invecchiamento.

Studi scientifici affermano che la citocromossidasi è il principale accettore della luce compresa tra il rosso e l'infrarosso e che questa luce LED migliora il movimento elettronico nella citocromossidasi, fulcro della formazione dei radicali liberi dell'ossigeno, capace di cedere 4 elettroni alla molecola dell'ossigeno.

Dobbiamo evidenziare la delicatezza di questo processo perché il meccanismo di riduzione dell'ossigeno prevede un tempo necessario all'inversione dello spin di uno dei due elettroni da aggiungere. Infatti l'ossigeno ha due elettroni con spin parallelo nell'ultima orbita e l'aggiunta di altri due elettroni a spin antiparallelo deve essere preceduta da un'inversione di spin. Se tutto ciò non avviene in tempi precisi si può avere l'escape del radicale libero dell'ossigeno, che è alla base dell'invecchiamento cellulare:

- Primo bersaglio del radicale libero dell'ossigeno è il DNA mitocondriale, dove una sola delezione porta a perdita della funzione di tutto il filamento.

- Quindi, il danneggiamento dei telomeri, nel DNA, porta alla non disgiunzione dei cromosomi durante il crossing over, con morte cellulare.
- Il radicale libero dell'ossigeno induce, anche, lipoperossidazione delle membrane biologiche che porta a perdita di funzione di queste con morte cellulare. La perdita dei doppi legami dei fosfolipidi determina irrigidimento delle membrane con perdita di fluidità ed alterazione delle funzioni di espressione recettoriale.
- Infine, la liberazione di radicali liberi dell'ossigeno dalla citocromossidasi porta all'attivazione delle caspasi con induzione dell'apoptosi e morte cellulare

Oltre all'azione di miglioramento della funzione della citocromossidasi, la fotobiostimolazione con LED (rosso-infrarosso) porta ad un'attivazione della catena respiratoria dei mitocondri con attivazione della sintesi di ATP e miglioramento funzionale cellulare.

Come detto, il flusso elettronico in movimento lungo le creste mitocondriali è accompagnato da un flusso protonico nello spazio tra le membrane. Dopo la cessione degli elettroni all'ossigeno i protoni passano nell'ATP-sintetasi provvedendo a dare la forza per la formazione dell'ATP. Si ha il passaggio di un radicale difosforico in abbinamento ad un protone. Il radicale si lega ad un nuovo protone formando acido fosforico che termina la sua reazione unendosi all'adenosin-difosfato e formando ATP.

La rotazione in senso orario consente la sintesi di ATP. La rotazione in senso antiorario porta ad idrolisi dell'ATP. L'energia liberata dall'ATP viene utilizzata dalle cellule per la sintesi proteica, per le pompe del sodio e del calcio e per la sintesi di DNA e RNA.

I tempi di applicazione della Fotomodulazione, per seduta, sono compresi in un range tra 15-20 minuti. Il numero delle sedute varia da 1 a 2 alla settimana per un totale di 8-10 trattamenti.

Passiamo ora a considerare gli altri trattamenti evidenziandone i meccanismi d'azione ed inquadrandoli nella loro funzione biologica ed estetica.

L'acido ialuronico macromolecolare.

L'acido ialuronico è un polimero costituito dalla ripetizione di monomeri formati dall'unione dell'acido glicuronic con l'acetil-glucosamina. Questa unione è permessa dal legame dell'acido glicuronic con l'uridin-trifosfato.

Non possiamo parlare di effetto biostimolante per l'acido ialuronico macromolecolare perché, come ci dice la letteratura scientifica:

- *La presenza di acido ialuronico non ha effetto sulla produzione di acido ialuronico endogeno*
- *0,5-1 micromoli di acido ialuronico inducono una riduzione della sintesi proteica*
- *Alte concentrazioni di acido ialuronico limitano la formazione di matrice extracellulare*
- *1mg/ml di acido ialuronico aumenta l'espressione delle metalloproteinasi (MMP) ed attiva quelle che sono latenti nella matrice extracellulare (MMPs)*

Possiamo solo parlare di effetto antiossidante ed idratante dell'acido ialuronico macromolecolare. Infatti la letteratura ci dice:

- *Recent reports described antioxidant properties of glycosaminoglycans (GAGs). Since several findings have shown that*

hyaluronic acid (HYA) and chondroitin-4-sulphate (C4S) may act as antioxidant molecules

- *Since hyaluronic acid and chondroitin-4-sulfate possess antioxidant properties*
- *Hyaluronan has been assigned various physiological functions in the intercellular matrix, e.g., in water and plasma protein homeostasis*

Non abbiamo, quindi, la stimolazione dei fibroblasti e la neocollagenogenesi ma solo azioni di idratazione passiva e di effetto antiossidante.

I frammenti di acido nucleico (PDRN)

L'acido nucleico è un componente intracellulare contenuto prevalentemente nel nucleo, ma presente anche nei mitocondri e nel reticolo endoplasmatico rugoso. Quindi il contatto di questo materiale con la superficie del fibroblasto indica una rottura cellulare dovuta ad un danno biologico. Il legame di frammenti di acido nucleico ai CD 39, attiva il processo riparativo con formazione di tessuto cicatriziale.

Lavori scientifici sul PDRN ci parlano di incremento dell'attività fibroblastica del 30% con un aumento di collagene e di fibronectina e riempimento dermico. Questa neocollagenogenesi è di tipo fibrotico.

Ricordiamo ulteriormente come la letteratura affermi che:

- *I nucleotidi (PDRN) extracellulari stimolano i recettori purinergici di tipo 2*
- *L'adenosina (base purinica) regola l'infiammazione e la riparazione dei tessuti*
- *I recettori adenosinici giocano un ruolo attivo nella patogenesi della fibrosi dermica*

- *I nucleotidi extracellulari sono stati implicati come mediatori infiammatori in molte situazioni patologiche*
- *La stimolazione dei recettori Purinergici 2 dei CD 39 è associata con una risposta infiammatoria cronica*
- *Stimoli flogogeni selezionano delle sottopopolazioni di fibroblasti con un ruolo importante nella formazione della fibrosi*

In questo caso non possiamo parlare di ringiovanimento biologico, ma solo estetico e, perciò, dobbiamo riservare questa tecnica esclusivamente alle pazienti anziane.

La Radiofrequenza

Il più conosciuto e pubblicizzato strumento a radiofrequenza per contrastare l'invecchiamento cutaneo viene presentato con queste parole: *"Is a safe, clinically proven way to tighten and contour skin, with improvements in tone, contour, and texture occurring naturally through the stimulation of your own collagen."* Anche in questo caso si parla di neocollagenogenesi senza indicare il tipo di collagene.

Approfondiamo il concetto di radiofrequenza. Questa permette la trasformazione di un'energia fredda di alta frequenza relativa in calore, con aumento della temperatura interna per effetto Joule. Ogni cellula del tessuto trattato assorbe parte di questa energia, grazie al suo grado di resistività, e la trasforma in calore.

Sembra importante ricordare che la legge fisica alla base degli effetti della radiofrequenza è data dalla modificazione del campo elettrico della zona trattata, con un cambiamento della carica elettrica e della resistenza e al movimento degli ioni e delle molecole, che determina calore secondo la formula:

$$J = I \times R \times T$$

dove J= energia, I= corrente, R= impedenza del tessuto, T= tempo

Generalmente il calore prodotto si sviluppa tra 3 e i 9 mm di profondità, a seconda delle punte utilizzate, e determina un riscaldamento fino a 55-65 gradi centigradi in modo omogeneo, senza diffusione termica alle zone circostanti.

L'effetto biologico del calore prodotto dalla radiofrequenza è una denaturazione delle fibre collagene (dal 5 al 30 % delle fibre totali) con conseguente contrazione immediata delle fibre stesse e con effetto progressivo nei successivi 4-6 mesi.

Dobbiamo ricordare che la struttura delle proteine è caratterizzata da quattro classi: primaria, secondaria, terziaria e quaternaria. La primaria, formata da legami covalenti, forti, unisce i vari aminoacidi fra loro; le altre, formate da legami deboli, consentono la tridimensionalità della proteina e la loro funzione (struttura, enzima, anticorpo, etc.). I legami deboli si rompono facilmente con il solo aumento della energia cinetica molecolare (calore) i legami covalenti richiedono invece un processo enzimatico di idrolisi.

Questo ci fa comprendere che l'aumento del calore oltre il valore fisiologico di 37° C denatura le proteine e fa perdere loro la funzione biologica. Se il danno si protrae si ha danno biologico e risposta riparativa.

Gli effetti delle correnti di RF sono in relazione alla loro frequenza e potenza. Al di sopra di 1,5 - 2 MHz si ha un'elevata frizione molecolare che provoca una intensità di calore tale da indurre distruzione dei tessuti. Frequenze inferiori a 0.3 MHz producono stimolazioni indesiderabili nel sistema nervoso.

La letteratura ufficiale conferma:

- *Radiofrequency causes movement of charged particles within the tissue, and the resultant molecular motion generates heat. The heat in turn causes collagen shrinkage and new collagen deposition.*
- *Gli agenti fisici (meccaniche, termiche, elettriche, radianti ecc.) determinano sul materiale biologico un processo infiammatorio di varia entità, con danno dello stesso.*
- *Stimoli flogogeni selezionano delle sottopopolazioni di fibroblasti con un ruolo importante nella formazione della fibrosi.*
- *L'interleuchina IL-4 si lega al CD 40 dei fibroblasti con effetto profibrotico e riduzione dell'effetto antifibrotico dell'IFN-gamma*

Quindi, pur considerando utile la radiofrequenza nel trattamento dell'invecchiamento cutaneo, dobbiamo utilizzare questa tecnica solo su cuti anziane perché l'effetto biologico è dannoso e quindi il risultato è unicamente estetico.

Un discorso simile a quanto detto per la radiofrequenza vale per il trattamento laser dell'invecchiamento cutaneo.

La laserterapia

Questa si avvale di una vaporizzazione controllata di sottili strati della cute. La luce emessa dai laser è così intensa che in un tempo brevissimo (90 microsecondi) vaporizza e coagula uno spessore di pelle compreso tra 40 e 60 micron (millesimi di millimetro).

Il resurfacing con il laser produrrà risultati molto apprezzabili e la superficie cutanea rinascerà più ricca di collagene fibrotico e conseguentemente più compatta.

Una fonte energetica attiva le molecole di un gas presente all'interno di un tubo determinando un'eccitazione atomica ed il successivo rilascio di energia

che colpendo la cute determina un danno coagulativo o necrotico, a seconda dell'intensità.

Alla denaturazione proteica o alla coagulazione consegue un processo riparativo che si evidenzia con deposito di tessuto cicatriziale contenete collagene di I tipo. La letteratura ci conferma:

- *A 1440-nm inducing nonablative neocollagenesis in the remodeling of scars and rhytids. Histologic evidence confirms the microcolumnar nature of collagen heating using this microarray.*
- *Gli agenti fisici (meccaniche, termiche, elettriche, radianti ecc.) determinano sul materiale biologico un processo infiammatorio di varia entità, con danno dello stesso.*
- *Stimoli flogogeni selezionano delle sottopopolazioni di fibroblasti con un ruolo importante nella formazione della fibrosi.*
- *L'interleuchina IL-4 si lega al CD 40 dei fibroblasti con effetto profibrotico e riduzione dell'effetto antifibrotico dell'IFN-gamma*

Detto ciò possiamo affermare che il laser resurfacing riconosce un utilizzo nel miglioramento estetico della cute delle pazienti, pur provocando un danno biologico, Il suo utilizzo va quindi riservato alle pazienti anziane.

Acido polilattico

Questo filler è stato proposto non solo come riempitivo ma come stimolo biologico al ringiovanimento cutaneo. Infatti in letteratura leggiamo:

- L'acido polilattico è diverso dagli altri fillers. Detta in parole molto semplici, la sua azione si basa non sul riempimento del difetto cutaneo, ma sull'aumento di volume del derma dovuto alla proliferazione di neocollagene, indotta dallo stimolo sui fibroblasti provocato dal polilattico stesso.

Questa è un'affermazione di per sé corretta perché un filler permanente induce una risposta fibrotica da corpo estraneo, ma come affermato da diversi autori:

- *Polylactic acid microspheres (New-Fill) induced a mild inflammatory response. Host defense mechanisms react differently to the various filler materials*
- *Gli agenti chimici determinano sul materiale biologico un processo infiammatorio di varia entità, con danno dello stesso.*
- *Stimoli flogogeni selezionano delle sottopopolazioni di fibroblasti con un ruolo importante nella formazione della fibrosi.*
- *L'interleuchina IL-4 si lega al CD 40 dei fibroblasti con effetto profibrotico e riduzione dell'effetto antifibrotico dell'IFN-gamma*

Quindi la neocollagenogenesi è reale ma costituita da collagene fibrotico di tipo I e quindi non induce un ringiovanimento biologico ma solo un ringiovanimento estetico.

E' importante inoltre ricordare che la capsula fibrotica che si forma attorno ad un filler permanente può presentare delle dimensioni più o meno evidenti. Perciò è importante utilizzare questi prodotti nel derma profondo ed evitarne l'uso in zone di cute con scarso spessore come ad esempio il collo.

I silanoli

Dalla Francia è stato proposto un prodotto costituito da silanoli (Monometiltrisilanolo ortohidroxibenzoato di sodio - salicilato di silanolo - a pH 5,7).

In questo prodotto il silicio organico è legato all'acido salicilico con legami idrogeno, e ciò permette di mantenere il prodotto in soluzione evitando la policondensazione del monometiltrisilanolo. Questi legami si rompono una

volta che la sostanza sia stata inserita nel derma e dunque la prima cautela che dobbiamo avere è quella nei confronti dei pazienti allergici all'acido salicilico.

Il prodotto viene presentato come utile nel trattamento delle rughe, delle cicatrici, delle smagliature e della cellulite e proposto per l'effetto biologico che il silicio svolge nella cute:

- Ponti di silicio tra i glucosaminoglicani e le glucoproteine formano lo scheletro della matrice intercellulare
- Negli individui giovani, la pelle è il tessuto che, insieme alle arterie e al timo, contiene più silicio organico. Questi tassi decrescono progressivamente con l'età.

Questa affermazione è vera ma riguarda il silicio introdotto con la dieta, come afferma la letteratura ufficiale:

- *Il silicio è uno degli oligoelementi importanti per il regolare metabolismo di alcuni nostri tessuti ed in particolare per il tessuto osseo, cartilagineo e connettivale. Il silicio viene introdotto normalmente nel nostro organismo con la dieta ed assorbito a livello intestinale come acido ortosilicico.*
- *Il suo ruolo principale è svolto nella sintesi di collagene di tipo I e nell'attività dell'enzima prolina idrossilasi.*
- *La sua carenza si evidenzia con un'alterazione della formazione del tessuto osseo e con una ridotta funzione epatica della ornitina transaminasi.*
- *La supplementazione esogena di silicio nella dieta consente, attraverso la normalizzazione della concentrazione di acido ortosilicico, di*

regolare la formazione della matrice extracellulare ed il metabolismo del calcio.

Ma la letteratura afferma anche:

- *Le forme idrossilate od ossidate del silicio (silanoli) vengono utilizzate nella tecnologia medica analitica (tecniche di separazione selettiva) per immobilizzare molecole idrofiliche ad alto peso molecolare come l'acido ialuronico e, legandole, dividerle da altri componenti.*
- *Le particelle di silicio organico introdotte nell'organismo inducono una reazione infiammatoria ed una risposta di carattere fibrotico.*

Quindi non possiamo attribuire ad un silicio organico introdotto nel derma quelle azioni che vengono svolte dal silicio introdotto con la dieta.

Pertanto possiamo affermare che:

- I silanoli si legano alle molecole idrofiliche del derma
- I silanoli inducono una stimolazione irritativa a carattere infiammatorio che stimola una risposta connettivale con neoformazione di collagene di I tipo
- Il pH di 5,7 satura i legami negativi della soluzione colloidale della matrice con gelificazione e coagulazione di questa
- L'acido salicilico regola il processo infiammatorio indotto dai silanoli evitando un danno eccessivo.

L'uso dei silanoli, dunque, deve essere consentito solo per il ringiovanimento estetico delle cuti anziane.

Come detto, iniziai la mia biostimolazione mescolando dei principi attivi contenuti in farmaci e, in particolare:

- Fattori di crescita contenuti in estratti placentari

- Aminoacidi come precursori dei componenti del derma
- Tampone bicarbonato per regolare il pH a un valore fisiologico

La miscela era introdotta nel derma secondo i principi della mesoterapia.

Iniziò così la diffusione della biostimolazione che divenne, negli anni successivi, una delle tecniche mediche di ringiovanimento cutaneo, più diffuse.

Il numero di trattamenti, sempre in aumento, portò le aziende del settore a preparare dei medical device, pronti, da utilizzare direttamente, ovviando alla preparazione galenica.

Per molto tempo abbiamo utilizzato questi prodotti ma, oggi, siamo tornati nuovamente alla preparazione manuale. Questo perché lo studio sul trattamento dell'invecchiamento del volto è evoluto mentre i medical device sono rimasti gli stessi.

Abbiamo stimolato l'industria ad aggiornare i prodotti in commercio ma è difficile far comprendere a chi già vende dei medical device che questi devono essere aggiornati e che, per ottenere tale scopo, l'industria deve fare dei nuovi investimenti.

Comprendiamo le esigenze delle aziende commerciali ma, noi come medici, non possiamo preoccuparci se non dei nostri pazienti e, per questo, in attesa dell'aggiornamento dei medical device, siamo tornati alle nostre preparazioni galeniche.

CAPITOLO 6

Endomodulazione

La somministrazione dei farmaci che adoperiamo nella Biostimolazione si effettua con la scelta di principi attivi necessari alla giusta formazione dei componenti strutturali della cute e nasce da leggi biochimiche che, riprese ed ampliate, hanno portato alla messa a punto della **Endomodulazione**.

Per spiegare con esattezza cos'è l'Endomodulazione dobbiamo prima prendere in considerazione quello che è il trattamento terapeutico classico della medicina allopatrica, trattamento che prevede l'assunzione di sostanze farmacologiche utili a risolvere la patologia in atto. Spesso questa impostazione terapeutica può portare a temporanee remissioni della malattia in questione, però, nel tempo, si possono produrre effetti anche più negativi del problema iniziale. E ciò avviene in quanto nelle situazioni di insufficienza metabolica, che hanno causato la patologia, si impiegano terapie sostitutive di ormoni o neurotrasmettitori variando artificialmente le corrette concentrazioni dei medesimi e determinando, con il trascorrere del tempo, un riassetto biologico da carenza.

Per amore di chiarezza vogliamo ora parlare, di cosa può succedere nel nostro organismo quando - anche indipendentemente da somministrazioni farmacologiche proprie della medicina allopatrica - le sostanze di cui stiamo trattando, ormoni e neurotrasmettitori, superano un preciso limite ed aumentano oltre misura.

Gli ormoni e i neurotrasmettitori sono sostanze normalmente prodotte dal nostro organismo ed hanno importanti funzioni metaboliche. L'organismo si avvale di complessi meccanismi che permettono di regolare opportunamente la concentrazione di queste sostanze. I più semplici sono il così detto feedback e l'internalizzazione recettoriale.

Nel primo caso, quello del feedback, succede che l'eccesso di concentrazione di un ormone - dopo che questo ha saturato tutti i recettori specifici - agisce sulla produzione di un altro ormone che è responsabile dello stimolo produttivo del primo, bloccandolo. La riduzione della concentrazione di questo ormone, che ha la funzione di stimolo, determina ovviamente anche una riduzione della concentrazione dell'ormone, indotto dallo stimolo stesso, con regolazione del suo effetto.

Nel secondo caso, che riguarda l'internalizzazione recettoriale, quando aumenta la concentrazione di un neurotrasmettitore, la cellula ricevente, iperstimolata, regola la concentrazione dei suoi recettori di membrana internalizzandone una parte e riducendo, così, lo stimolo eccitatorio in eccesso.

Questi meccanismi di regolazione possono, a maggior ragione, essere attivati incrementando dall'esterno la concentrazione di un ormone o di un neurotrasmettitore. L'organismo si riassetta biologicamente su queste nuove condizioni artificialmente indotte: diventando, però, inadeguato nel momento in cui viene a cessare la somministrazione farmacologica. Un esempio per tutti è quello conseguente alla somministrazione di testosterone nell'uomo per aumentare il desiderio sessuale. L'aumentata concentrazione ematica determina un feedback negativo sulla produzione di LH, ormone deputato alla stimolazione delle cellule di Leydig del testicolo,

con conseguente atrofia testicolare e incapacità del soggetto a produrre testosterone dopo la cessazione del supporto farmacologico.

Con l'Endomodulazione questi problemi non esistono.

La biochimica ci viene in aiuto per comprendere questi nuovi principi. Le reazioni biologiche che avvengono nel nostro organismo sono delle reazioni enzimatiche, cioè reazioni dove una sostanza si unisce a un enzima per essere trasformata in un prodotto di reazione. La concentrazione del prodotto di reazione è dipendente dalla velocità con la quale questo si forma: più veloce è la reazione biologica e maggiore è la quantità di sostanza che posso ottenere.

Secondo la legge di Michelis-Menten la velocità di una reazione biologica è direttamente proporzionale alla concentrazione sia dell'enzima sia del substrato di partenza. Ciò vuol dire che se io aumento notevolmente la concentrazione dell'enzima e del substrato otterrò obbligatoriamente un'alta concentrazione del prodotto di reazione. Questo è il principio che sta alla base dell'endomulazione.

A questo punto ci si potrebbe chiedere perché aumentare i precursori quando si può somministrare direttamente il prodotto preformato. La risposta è semplice: perché la somministrazione del prodotto preformato può causare, già si è detto, problemi da eccesso della sostanza con conseguenti feed-back negativi in caso di sostanze ormonali e/o internalizzazione e reclutamento recettoriale in caso di ormoni o neurotrasmettitori. In tutti i casi abbiamo una trasformazione della normale fisiologia, e questo è un evento contrario alle nostre finalità.

L'endomodulazione consente, invece, indipendentemente dalla quantità di precursori somministrati, di ottenere un'ottimizzazione del prodotto di reazione senza mai causare un eccesso di questo. Infatti, con l'endomodulazione stimoliamo la formazione del prodotto di reazione, ma quando, anche una sola molecola di questo, fosse in eccesso, non potendo proseguire la normale via metabolica, s'inserisce nel sito allosterico dell'enzima bloccandone la funzione e impedendo la formazione di ulteriori quantità della molecola stessa.

Dunque, se io voglio, non incrementare, ma ottimizzare la concentrazione di un ormone o di un neurotrasmettitore non somministro le sostanze in oggetto, cioè le sostanze preformate, ma alte concentrazioni dei loro precursori in modo da accelerare al massimo la reazione di formazione del prodotto che mi necessita. Così, in maniera naturale, ottimizzo la funzione. Un esempio può essere quello della stimolazione della serotonina, neurotrasmettitore importante per regolare il sonno, la fame ed il tono dell'umore. Aniché utilizzare farmaci serotoninergici che incrementano artificialmente la concentrazione della serotonina rischiando un riassetamento, recettoriale delle cellule bersaglio, preferiamo somministrare il triptofano - un aminoacido precursore della serotonina - e vitamina B6, sito attivo dell'enzima idrossilasi, meglio se in presenza di un poco di zucchero che, attivando l'insulina, incorpora gli altri aminoacidi nel muscolo facilitando l'utilizzazione metabolica del triptofano per formare serotonina.

Tutto questo sembra un discorso difficile e complicato che prevede studi e intuizioni scientifiche particolari, ma in realtà non rappresenta altro che il razionale scientifico di uno dei tanti rimedi naturali tramandati di

generazione in generazione. Abbiamo, infatti, detto che una delle funzioni della serotonina è l'induzione del sonno e, se ricordiamo, prima dell'uso degli ipnoinduttori, i nostri nonni per addormentarsi prendevano un bel bicchiere di latte e zucchero: guarda caso, il latte contiene alte concentrazioni di triptofano e vitamine del complesso B e lo zucchero, come già detto, migliora il processo metabolico di trasformazione del triptofano in serotonina.

L'endomodulazione si dimostra così una farmacologia naturale dalle origini antiche ma che, come tutte le scienze degne di questo nome nel mondo attuale, riconosce dei razionali scientifici che ce ne fanno comprendere il significato e l'importanza.

Da quanto esposto, la conoscenza della biochimica ci consente di formulare tutti gli endomodulatori che vogliamo. Ma vediamo alcuni esempi.

Il Sonno

Il triptofano per azione della piridossina si trasforma in serotonina, questa reazione è condizionata dal livello locale di niacina. Infatti se la concentrazione di quest'ultima diminuisce il triptofano viene utilizzato per la sua produzione rallentando la via di sintesi della serotonina. E' importante, perciò, aggiungere anche la niacina al fine di stabilizzarne la concentrazione. L'ulteriore aggiunta di vitamina C facilita la formazione di serotonina.

La supplementazione va effettuata lontano dai pasti proteici, quindi si preferisce somministrare a stomaco vuoto (45 minuti prima di andare a dormire). Gli zuccheri presenti nelle compresse stimolano l'insulina che facilita l'utilizzazione degli altri aminoacidi da parte del muscolo riducendo

la competizione con il triptofano e agevolando in questo modo la formazione di serotonina. Il magnesio regola il flusso di ioni calcio nei recettori NMDA riducendo l'eccitabilità neuronale e rilassando il paziente.

L'Herpes

L'Organizzazione contro l'Herpes, nel Regno Unito, consiglia una terapia a base di lisina - questa compete con l'arginina riducendo l'attività virale - e di vitamina C, sulla base degli studi condotti dal Dr. Kagan del Cedars nel Lebanon Hospital di Los Angeles.

Inoltre l'ornitina stimola la produzione di GH e la vitamina B6 partecipa ai processi di idrossilazione degli aminoacidi. Il GH stimola il sistema immunocompetente attraverso l'incremento di timopentina. Lo zinco, poi, migliora la funzione del sistema immunitario.

La Fame

Il triptofano, già lo sappiamo, è utile per stimolare la sintesi di serotonina e quindi agisce anche sul centro della sazietà stimolandolo. Il triptofano per azione della piridossina si trasforma quindi in serotonina e questa reazione, come è noto, è condizionata dal livello locale di niacina. Infatti, si è detto poco sopra, se la concentrazione di quest'ultima diminuisce il triptofano viene utilizzato per la sua produzione rallentando la via di sintesi della serotonina. E' importante, perciò, aggiungere anche la niacina al fine di stabilizzarne la concentrazione. L'ulteriore aggiunta di vitamina C facilita la formazione di serotonina. Inoltre la fenilalanina agisce sul controllo dell'appetito favorendo la liberazione di colecistochinina (CCK) che induce sazietà agendo sia sullo svuotamento gastrico sia sul centro della fame. La valina, poi, si associa alla fenilalanina nello stimolo della CCK.

L'Invecchiamento

L'arginina e l'ornitina si trasformano in GH per effetto della vitamina B6 (idrossilasi) che ha come sito attivo il manganese. Il GH stimola durante la notte tutti i processi anabolici e di ricostruzione organica delle alterazioni avvenute durante il giorno. Inoltre, già lo sappiamo, il GH stimola il sistema immunocompetente attraverso l'incremento di timopentina. Lo zinco migliora la funzione del sistema immunitario.

La Memoria

La fenilalanina viene trasformata, per intervento della piridossina, in norepinefrina sostanza che dà tono mentale, prontezza di riflessi, chiarezza di pensiero. La glicina entra nella struttura del recettore NMDA, importante per il potenziale postsinaptico a lungo termine e per il consolidamento dell'informazione. L'acido glutammico rappresenta il principale neurotrasmettitore eccitatorio ed è importante per la stimolazione dei recettori AMPA, NMDA e metabotropici e per la formazione del GABA: tutte sostanze importanti per una corretta memorizzazione delle informazioni apprese. La colina entra nel metabolismo dell'acetil-colina, importante neurotrasmettitore, responsabile dello stimolo di rinforzo. L'arginina si trasforma in citrullina per mezzo dell'enzima NO-sintetasi producendo NO, importante nel potenziamento dell'azione dell'acido glutammico. Il magnesio regola l'attività dei recettori NMDA importanti per il processo di memorizzazione.

Il Cervello

Il triptofano è utile per stimolare la sintesi di serotonina, responsabile anche di un corretto tono dell'umore. Il meccanismo d'azione è il solito e, dunque, il triptofano, per azione della piridossina, si trasforma in serotonina, questa reazione è sempre condizionata dal livello locale di niacina. Come già

detto, infatti, se la concentrazione di quest'ultima diminuisce il triptofano viene utilizzato per la sua produzione rallentando la via di sintesi della serotonina. Di qui l'importanza - già è stato precisato - di aggiungere anche la niacina al fine di stabilizzarne la concentrazione. La fenilalanina viene trasformata per intervento della piridossina, in norepinefrina sostanza che, sappiamo, agisce positivamente sul tono mentale, sulla prontezza di riflessi e sulla chiarezza di pensiero. Ricordiamo ancora che l'acido glutammico rappresenta il principale neurotrasmettitore eccitatorio ed è importante, per la stimolazione dei recettori AMPA, NMDA e metabotropici e per la formazione del GABA: tutte sostanze essenziali - come già precisato in precedenza - per una corretta memorizzazione delle informazioni apprese. La colina entra nel metabolismo dell'acetil-colina, importante neurotrasmettitore, responsabile dello stimolo di rinforzo.

Anche dell'arginina sappiamo che si trasforma in citrullina per mezzo dell'enzima NO-sintetasi producendo NO importante nel potenziamento dell'azione dell'acido glutammico. L'istidina è fondamentale per il mantenimento della guaina mielinica. La taurina è un neurotrasmettitore ad attività neuroinibitrice (come la glicina e il GABA). La treonina è un aminoacido essenziale la cui carenza determina irritabilità e disturbi della personalità. Il magnesio regola l'attività dei recettori NMDA importanti per il processo di memorizzazione. Lo zinco entra nella regolazione del recettore NMDA.

La Cute

La prolina è importante per la sintesi del collagene cutaneo. Lo zinco, come sito attivo dell'anidrasi carbonica, e la vitamina C facilitano la formazione del collagene. La valina, la leucina e l'isoleucina si trasformano in acido

isovalerianico, acido 2-metil butirrico e acido isobutirrico, cioè in acidi grassi omega 6, fondamentali per la sintesi del sebo e per il mantenimento dell'idratazione cutanea.

L'arginina e l'ornitina si trasformano in GH per effetto della vitamina B6 (idrossilasi con sito attivo il manganese). E già sappiamo che il GH stimola durante la notte tutti i processi anabolici e di ricostruzione organica delle alterazioni cutanee avvenute durante il giorno. La nicotinamide deve essere supplementata perché la somministrazione di leucina può indurre carenza.

L'Abbronzatura

Una buona abbronzatura deve prevedere la giusta produzione di melanina e una giusta protezione dai danni dei raggi ultravioletti. La melanina viene sintetizzata, a partire dalla tirosina, per azione degli UV che attivano la tirosinasi, una idrossilasi (B6) contenente rame; questa trasforma la tirosina in DOPA e successivamente in dopachinone; quest'ultimo segue due vie: la prima per mezzo di ioni zinco porta alla formazione di idrossindolo e poi di eumelanina, la seconda unendosi con la cisteina porta alla formazione della feomelanina.

La Funzione Sessuale dell'Uomo

La secrezione d'istamina da parte dell'organismo, con la sua azione vasodilatatrice, è una condizione indispensabile per l'eccitazione sessuale e, pertanto, la somministrazione d'istidina (con niacina e piridossina, necessarie per la trasformazione dell'istidina in istamina) può essere utile nel trattamento dei problemi sessuali. L'arginina, la carnitina e lo zinco sono importanti per una corretta spermatogenesi.

Il Muscolo

L'arginina e l'ornitina si trasformano in GH per effetto della vitamina B6 (idrossilasi con sito attivo il manganese). Il GH, come già sappiamo, stimola durante la notte tutti i processi anabolici e di ricostruzione organica. Gli aminoacidi a catena ramificata, leucina, isoleucina e valina, favoriscono la sintesi proteica muscolare e a differenza degli altri aminoacidi non vengono captati dal fegato ma direttamente dal muscolo. Qui oltre ad una funzione anabolica rivestono una funzione energetica producendo glucosio, per gluconeogenesi e mantenendo costante il tasso glicemico.

La creatina è contenuta in prevalenza nel tessuto muscolare dei mammiferi, dove, sotto forma di creatinfosfato, svolge un ruolo importante nel fenomeno della contrazione dei muscoli. La forma fosforilata della creatina, la fosfocreatina, rappresenta un'importante riserva di fosfati ad alta energia per l'organismo. Infatti, il legame della fosfocreatina è un legame ricco di energia come quello dell'ATP; quando i depositi di ATP diventano insufficienti a fornire energia, come nel caso di intensa attività muscolare, vengono allora utilizzati i depositi di fosfocreatina, di cui il muscolo è molto ricco.

La Cellulite

L'arginina e l'ornitina si trasformano, in GH per effetto della vitamina B6 (idrossilasi con sito attivo il manganese). Il GH - cosa che già si è detta ripetutamente - stimola durante la notte tutti i processi anabolici e di ricostruzione organica. La glucosamina è il precursore dei glicosaminglicani che compongono il connettivo perivasale ed aumenta la consistenza della parete dei vasi. La lisina è precursore dell'elastina responsabile dell'elasticità della parete vasale. La diosgenina è un precursore naturale del

pregnenolone a sua volta precursore del progesterone: quest'ultimo svolge un'importante azione antiedemigena periferica.

Il Climaterio Ormonale

La diosgenina è un precursore naturale del pregnenolone a sua volta precursore di tutti gli ormoni steroidei sia ovarici che surrenalici. Nella donna in menopausa facilita il compenso surrenalico, cosa importante poiché è cessata la funzione ovarica. L'arginina e l'ornitina, come già ci è noto, si trasformano in GH per effetto della vitamina B6 (idrossilasi con sito attivo il manganese) ed il GH, ovviamente, stimola durante la notte tutti i processi anabolici e di ricostruzione organica.

La Sindrome Premestruale

Utilizziamo, per contrastare questa sindrome, ancora la diosgenina, che sappiamo essere un precursore naturale del pregnenolone, a sua volta precursore del progesterone: quest'ultimo svolge un'importante azione antiedemigena periferica. Il magnesio regola il flusso di ioni calcio nei recettori NMDA riducendo l'eccitabilità neuronale e rilassando il paziente.

Il Capello

Riprendiamo qui alcuni concetti che sono già stati esposti nel paragrafo sulla cute. La prolina è importante per la sintesi del collagene cutaneo. Lo zinco, come sito attivo dell'anidrasi carbonica, e la vitamina C facilitano la formazione del collagene. La valina, leucina e l'isoleucina si trasformano in acido isovalerianico, acido 2-metil butirrico e acido isobutirrico, acidi grassi omega 6 fondamentali per la regolare sintesi del sebo. L'arginina e l'ornitina si trasformano in GH per effetto della vitamina B6 (idrossilasi con sito attivo il manganese). Il GH stimola durante la notte - cosa già ripetutamente precisata - tutti i processi anabolici e di ricostruzione organica delle

alterazioni cutanee avvenute durante il giorno. La nicotinamide deve essere supplementata perché la somministrazione di leucina può indurre carenza. Una corretta pigmentazione del pelo deve prevedere la giusta produzione di melanina. La melanina viene sintetizzata a partire dalla tirosina per azione della tirosinasi, una idrossilasi (B6) contenente rame; questa trasforma la tirosina in DOPA e successivamente in dopachinone; quest'ultimo segue due vie: la prima per mezzo di ioni zinco porta alla formazione di idrossindolo e poi di eumelanina, la seconda unendosi con la cisteina porta alla formazione di feomelanina.

Lo Stress

Anche qui è necessario riportare, pari pari, concetti già esposti in precedenza. Il triptofano è utile per stimolare la sintesi di serotonina responsabile anche di un corretto tono dell'umore. Il triptofano per azione della piridossina si trasforma in serotonina, questa reazione è condizionata dal livello locale di niacina. Infatti se la concentrazione di quest'ultima diminuisce il triptofano viene utilizzato per la sua produzione rallentando la via di sintesi della serotonina. E' importante, perciò, aggiungere anche della niacina al fine di stabilizzarne la concentrazione. La fenilalanina viene trasformata per intervento della piridossina in norepinefrina sostanza che dà tono mentale, prontezza di riflessi, chiarezza di pensiero. L'acido glutammico rappresenta il principale neurotrasmettitore eccitatorio ed è importante per la stimolazione dei recettori AMPA, NMDA e metabotropici e per la formazione del GABA: tutti importanti per una corretta memorizzazione delle informazioni apprese. La colina entra nel metabolismo dell'acetil-colina, importante neurotrasmettitore, responsabile dello stimolo di rinforzo. L'arginina si trasforma in citrullina per mezzo

dell'enzima NO-sintetasi producendo NO importante nel potenziamento dell'azione dell'acido glutammico. L'istidina è fondamentale per il mantenimento della guaina mielinica. La taurina è un neurotrasmettitore ad attività neuroinibitrice (come la glicina e il GABA). La treonina è un aminoacido essenziale la cui carenza determina irritabilità e disturbi della personalità. Il magnesio regola l'attività dei recettori NMDA importanti per il processo di memorizzazione. Lo zinco entra nella regolazione del recettore NMDA.

E, per terminare, una raccomandazione: l'unica particolarità che dobbiamo sempre ricordare, utilizzando l'endomodulazione è che, somministrando principalmente aminoacidi, è necessario assumerli assolutamente a stomaco vuoto per non mescolarli con quelli contenuti nel cibo che andrebbero ad alterare il percorso preferenziale dei principi attivi che adoperiamo.

CAPITOLO 7

Ormonoterapia Sostitutiva Soggettivizzata.

Nel 1990 avevo già iniziato i miei studi, sia dal punto di vista biologico che clinico, sulla prevenzione dell'Invecchiamento Generale. Studi dai quali nascerà, in seguito, il Life Quality Medical Program.

Nell'inquadramento terapeutico di questi pazienti è indispensabile, ovviamente, prendere in considerazione anche il riequilibrio del quadro ormonale. Sappiamo, infatti, che il processo d'invecchiamento è caratterizzato da una diminuzione delle concentrazioni ormonali che richiedono, quando l'attivazione endomodulatoria risulti insufficiente, un trattamento sostitutivo.

Ma, come anticipato nel precedente capitolo, la sostituzione, se non correttamente bilanciata, dal punto di vista quantitativo, può determinare un blocco totale, da feed back negativo, della residua secrezione ormonale. Si richiede, perciò, un trattamento soggettivizzato, cioè, un'**Ormonoterapia Sostitutiva Soggettivizzata**.

Da alcuni anni vengono proposte sostanze ad azione ormonale o neurotrasmettitoriale che dovrebbero avere una grande influenza nella prevenzione del processo d'invecchiamento. E' indubbio che queste sostanze siano prodotte dal nostro organismo in concentrazione elevata nel periodo giovanile e tendono a diminuire notevolmente nella vecchiaia, ma questo non ci conferma un loro diretto rapporto con l'invecchiamento biologico.

Va ancora ricordato che queste sostanze hanno una funzione metabolica e il loro incremento produce effetti positivi sul metabolismo. Bisogna, perciò, tener conto sia dell'utilità di una loro somministrazione esogena sia dei pericoli di feed-back negativo e/o degli eventuali effetti collaterali.

Growth Hormon, Melatonina, DHEA, sono stati proposti in tempi diversi come "ormoni della giovinezza". A queste sostanze sono state attribuite funzioni di mantenimento della giovinezza perché diminuiscono di concentrazione con il passare degli anni. In realtà la loro diminuzione è frutto di un rallentamento metabolico.

L'esempio più evidente è quello del GH.

Uno studio effettuato negli USA evidenziò che alcune persone ricoverate in una residenza per anziani presentavano riduzione della massa magra, perdita di forza e scadimento delle difese immunitarie con relativo aumento dell'incidenza di patologie, il tutto abbinato a una notevole diminuzione della concentrazione del Growth Hormon. La supplementazione esogena dell'ormone normalizzava tutti i valori menzionati in precedenza. Per cui venne proposta ed effettuata la somministrazione del GH, come terapia antinvecchiamento.

La stessa équipe, più avanti, approfondì il lavoro già fatto, sui medesimi pazienti, evidenziando che, quali anziani ricoverati in un unico ambiente protetto, questi si alimentavano in maniera irregolare e assumevano un'insufficiente quantità di proteine. La regolazione dell'apporto proteico determinava, nei soggetti, la normalizzazione del valore del Gh, senza necessità di supplementazione esogena.

Tutto questo ci conferma i concetti, in precedenza esposti nel capitolo sull'endomodulazione e cioè la necessità di stimolare le funzioni ormonali prima di passare a un intervento di sostituzione esogena, intervento che, se non soggettivizzato può indurre un ulteriore feed back sulla secrezione ormonale.

Il concetto attuale è quello di somministrare al paziente la quantità di ormone necessaria a compensare la differenza tra il valore ematico repertato sul sangue del paziente e il valore massimale riportato dal laboratorio, rispettando il concetto di disponibilità biologica ed evitando, non solo il feed back negativo, ma anche la variazione recettoriale della cellula eccessivamente stimolata dall'ormone o dal neurotrasmettitore.

Infatti, alcuni studi tedeschi hanno dimostrato che, spesso, la generica somministrazione di un quantitativo farmacologico, non soggettivizzato, porta ad un eccesso di molecole di principio attivo che colpiscono la singola cellula alterandone la risposta biologica per variazione numerica dei recettori di superficie.

Le cellule, normalmente, esprimono un numero di recettori che va dai 10.000 ai 20.000. Inoltre la tipologia di questi è diversa, con una variabilità tra i 10 e i 20 tipi. Tutto ciò fa comprendere come sia necessario un ridotto numero di molecole di principio attivo, utili a stimolare i recettori.

Somministrarne un numero maggiore può indurre un cambiamento metabolico della cellula stessa o per fenomeni di down regulation (internalizzazione) o per reclutamento di altri recettori interni (up regulation).

E' utile, perciò, calcolare il numero delle cellule e dei recettori che vogliamo stimolare in un organismo e supplementare la quantità di molecole necessaria.

Un millimetro cubo di tessuto pesa 1 mg e contiene 5 milioni di cellule ($5 \cdot 10^6$).

Quindi 1 gr di tessuto ne contiene $5 \cdot 10^9$. 1 Kg di tessuto ne contiene $5 \cdot 10^{12}$.

10 Kg di tessuto contengono $5 \cdot 10^{13}$ cellule.

Se vogliamo stimolare un numero medio di 100 recettori per cellula dobbiamo moltiplicare 100 per il numero di cellule suddetto. 10 Kg di tessuto contengono $5 \cdot 10^{15}$ recettori, che abbisognano dello stesso numero di molecole di principio attivo per essere stimolati.

Avogadro, chimico piemontese, nel 1811 calcolò il numero di molecole di principio attivo presenti in una mole dello stesso: $6 \cdot 10^{23}$. Una mole è definita come il Peso Molecolare di una sostanza espresso in grammi. Cioè se il PM di una sostanza è 100, una mole corrisponde a 100 gr di questa sostanza. Da ciò conoscendo i pesi molecolari di varie sostanze è possibile calcolare il numero di molecole presenti in una determinata quantità delle stesse.

Esemplifichiamo i nostri calcoli con l'ormone somatotropo (GH).

Sono prodotti 0,5 mg al giorno di GH. Il suo PM è 22.000. L'emivita del GH è di trenta minuti.

Tenuto conto di quanto esposto precedentemente possiamo effettuare il seguente calcolo:

0,5 mg nelle 24 ore con un'emivita di 30 minuti corrispondono a $50 \cdot 10^{-5} / 48$ cioè 10^{-5} gr.

Una mole di GH pesa 22.000 gr e contiene $6 \cdot 10^{23}$.

Applichiamo:

$$22.000 : 6 \cdot 10^{23} = 10^{-5} : x$$

$$x = 3 \cdot 10^{14}$$

Calcolo delle molecole di GH da supplementare

Una mole di GH pesa 22.000 gr e contiene $6 \cdot 10^{23}$. 10 kg di tessuto contengono $5 \cdot 10^{15}$.

Di quanti grammi abbiamo bisogno per stimolare i recettori contenuti in 10 kg di tessuto ?

Applichiamo la proporzione: $22.000 : 6 \cdot 10^{23} = x : 5 \cdot 10^{15}$

$$x = 18 \cdot 10^{-5} \text{ gr cioè } 0,018 \text{ mg.}$$

Abbiamo bisogno di 0,091 mg di GH per stimolare 10 kg di tessuto.

Operativamente l'intervento si esegue in varie fasi :

- * dosaggio ematico;
- * calcolo del rapporto (R) tra valore repertato e valore massimale ;
- * misura del peso del paziente (P) ;
- * applicazione della seguente formula :

$$D \text{ (mg calcolati per } 10\text{Kg)} * R * P/10$$

Esempio :

Un paziente di 80 Kg presenta un valore ematico di GH di 3 ng/ml contro un valore massimale di 10 ng/ml.

La dose da somministrare sarà

$$0,018(D) * 3/10 (R) * 80/10 = 0,018 * 0,3 * 8 = 0,04 \text{ mg}$$

Quindi, per tutti i così detti ormoni della gioventù, dopo aver verificato l'assenza di risposta induttiva (endomodulazione) passiamo al trattamento

sostitutivo, calcolando il fabbisogno giornaliero e rapportandolo sia al peso del paziente, sia al quoziente valore repertato /valore normale.

L'esperienza clinica ha evidenziato che raramente abbiamo necessità di trattamento sostitutivo ormonale, eccetto che per gli ormoni sessuali per i quali, principalmente nella donna, vi è la cessazione della funzione dell'organo produttore (climaterio).

Anche per il trattamento sostitutivo del climaterio preferiamo seguire una posologia soggettivizzata al bisogno personale calcolato attraverso il dosaggio ormonale dell'estradiolo e del progesterone. La possibilità di utilizzare preparazioni transdermiche di queste due sostanze ci consente di introdurre l'incremento giusto per raggiungere la concentrazione ottimale.

Il trattamento medico del climaterio deve iniziare nella premenopausa e continuarsi nella postmenopausa per tutta la vita della paziente. Nella premenopausa è utile dapprima la somministrazione di un endomodulatore contenente il precursore degli ormoni steroidei, con il fine di ottimizzare la steroidogenesi surrenalica. La postmenopausa richiede un intervento ormonale sostitutivo che già iniziato nella premenopausa con somministrazione di progesterone si concluda nella postmenopausa con la somministrazione sia d'estrogeni sia di progesterone.

Il calcolo della quantità di estrogeni da somministrare si evince dal rapporto tra il valore ematico repertato, ed i valori normali massimali. La differenza, in mg, consente una somministrazione per via transcutanea (ogni giorno in maniera continua). Anche per il progesterone si deve soggettivizzare la quantità da somministrare. Il valore calcolato, in mg, consente una

somministrazione per via transcutanea (10 giorni al mese in abbinamento al trattamento estrogenico).

Più semplicemente, oggi, effettuiamo il calcolo che qui di seguito esemplifichiamo. La somministrazione di 1 mg di estradiolo transdermico porta ad una concentrazione ematica di 67 pg/ml. Eseguiamo la media dei valori massimali, follicolari e luteali in pg/ml, dell'estradiolo e, al risultato, sottraiamo il valore repertato sul sangue del paziente. Dividiamo il risultato per 67 ed abbiamo i mg di estradiolo transdermico da somministrare quotidianamente.

Uguualmente per il progesterone. La somministrazione di 1 mg di progesterone transdermico porta ad una concentrazione ematica di 3 ng/ml. Sottraiamo al valore massimale luteali in ng/ml del progesterone il valore repertato sul sangue del paziente. Dividiamo il risultato per 3 ed abbiamo i mg di progesterone transdermico da somministrare quotidianamente.

Terminiamo il trattamento ormonale sostitutivo nel climaterio femminile, accennando ai possibili rischi di questa terapia. Dobbiamo subito distinguere il concetto di eccitoproliferativo da quello di cancerogeno.

Gli estrogeni sono eccitoproliferativi cioè fanno crescere più velocemente una cellula indipendentemente dal suo stato. Una cellula normale avrà dei benefici da questo stimolo, ma anche una cellula neoplastica verrà stimolata a crescere di più.

Quindi gli estrogeni non trasformano cellule normali in neoplastiche ma fanno crescere meglio tutte e due. La trasformazione in cancro di una cellula prevede, invece, delle mutazioni a livello del DNA che, ripetute nel tempo, determinano la variazione della cellula in senso neoplastico.

I danni devono essere ripetuti e sommarsi. Dobbiamo avere un danno che riattivi gli oncogeni; un danno che inibisca i geni repressori del tumore; un danno che alteri il DNA Repair e un danno che inattivi le funzioni apoptotiche del p53. Tutto questo induce la formazione di una neoplasia che, se le funzioni del sistema immunitario sono deficitarie, si sviluppa nell'organismo.

Dobbiamo ricordare che esiste una possibilità di azione cancerogenica da parte, non degli estrogeni, ma di alcuni loro metaboliti: le forme 4 idrossilate. La metabolizzazione degli estrogeni prevede una iniziale idrossilazione ed una successiva metossilazione. Una piccola percentuale di estrogeni lega il gruppo OH a livello del carbonio 4. A livello del seno la ricchezza di citocromi CYP1B1 facilita l'idrossilazione in posizione 4. Queste forme, se non sono subito metossilate, possono ossidarsi a chinoni ed indurre mutazione a livello del DNA. Clinicamente nel cancro del seno repertiamo alte concentrazioni di forme 4 idrossilate e dei conseguenti chinoni (forme non presenti nel fibroadenoma).

Per ciò, abbiniamo alla terapia ormonale sostitutiva della donna in climaterio, una crema per il seno contenente inibitori del citocromo B1 e antiossidanti che evitino la formazione di chinoni.

A breve avremo a disposizione un gel dopo doccia contenente alte concentrazioni di flavonoidi (inibizione del citocromo CYP1B1) e antiossidanti (inibizione della formazione dei chinoni).

CAPITOLO 8

Trattamento Aminoacidico

Nel 1990, con Carlo Alberto Bartoletti, fondammo la Scuola di Medicina Estetica della Fondazione Fatebenefratelli in Roma.

La medicina estetica era cresciuta in modo esponenziale e sempre più i medici si avvicinavano a questa nuova branca. Si cominciava a sentire la necessità di formare in modo corretto gli operatori in questo settore.

Avevamo già fatto dei corsi di approfondimento sulla base di giornate congressuali dove, diversi docenti, parlavano di argomenti, monotematici, che potevano interessare la medicina estetica.

Ma un giorno Carlo Alberto Bartoletti mi disse che era ora di fare una scuola e di aver contattato al proposito l'allora ministro dell'istruzione, Rosa Russo Iervolino, che aveva avallato questa proposta e di aver contattato anche la Fondazione Fatebenefratelli che era pronta a fornirci il supporto logistico e d'immagine.

Era estate e Bartoletti mi invitò nella sua villa di Vulcano dove, tra un pasto succulento e un poco di sole, lavorammo per costruire un programma scientifico didattico per la nuova Scuola di Medicina Estetica.

Strutturammo il programma in quattro anni perché speravamo di trasformare presto questa scuola in una specializzazione universitaria. Ma fu, purtroppo, già si è detto, proprio la possibile attuazione del discorso universitario che portò, qualche anno dopo, alla nostra separazione.

La scuola iniziò con grande successo d'immagine e di presenza. Io, oltre che direttore scientifico, ne fui docente per gli spazi didattici della medicina estetica e dell'invecchiamento generale.

Fu proprio durante una delle mie lezioni nella quale trattavo la riduzione del tessuto adiposo che un allievo, il dott. Giuseppe Castaldo, mi parlò della sua esperienza nel trattamento della dieta proteica. Io, che non avevo ancora approfondito tale argomento lo aggredii affermando che un buon medico deve dare diete bilanciate e non far rischiare la salute al paziente per avere un beneficio estetico.

Castaldo non demorse e, più volte, tornò alla carica dando le sue motivazioni ed invitandomi a verificare i suoi casi clinici in quel di Avellino, dove lui dirigeva la Sezione di Nutrizione Clinica presso l'Ospedale Moscati.

Un giorno, mentre viaggiavo verso la Puglia per una vacanza lessi sui cartelli autostradali le indicazioni per la città di Avellino. Subito telefonai a Castaldo e lo raggiunsi al suo ospedale. Qui rimasi colpito dalla sua casistica (oltre 600 pazienti, allora) studiati in maniera approfondita sia sul piano clinico che antropometrico e con risultati che mi facevano ricredere sulle mie affermazioni circa il rischio di questo trattamento (preferisco parlare di trattamento e non di dieta :vedi spiegazione poco oltre).

Mi fermai alcune ore a discutere con lui sui meccanismi biochimici che potevano essere alla base di quei risultati e quella non fu la sola volta che andai ad Avellino, infatti, poi, vi ritornai spesso per costruire, insieme al dr. Castaldo, il razionale scientifico e il protocollo finale. Nasceva il **Trattamento Aminoacidico**.

L'integrazione proteica nella formulazione di particolari regimi dietetici ha oggi, dopo numerosi anni di perplessità, il riconoscimento delle organizzazioni scientifiche che operano nel settore della nutrizione.

Oggi, sempre più, si parla di dieta proteica per il trattamento rapido degli eccessi adiposi sino ad arrivare ai termini più coloriti quali "la liposuzione alimentare". Da sempre il nostro team scientifico ha preferito parlare di Trattamento Aminoacidico per distinguerlo dal termine DIETA che nel suo significato etimologico deriva dal latino DIAETA, a sua volta derivato dal greco DIAITA che significa vita, modo di vivere. Infatti il corretto modo di vivere o più semplicemente di alimentarsi non può e non deve rispecchiarsi nella dieta proteica caratterizzata da un notevole squilibrio nell'assunzione dei vari macronutrienti. Parlando, invece, di Trattamento si indica un intervento medico, temporaneo, che ha come fine la soluzione di un problema e nel quale si possono anche evidenziare alcuni risvolti non fisiologici.

Oggi, la Medicina Fisiologica si interessa del miglioramento dello stato di benessere del paziente ed in questa sua operatività utilizza il Trattamento Aminoacidico in varie situazioni quali:

- Il trattamento dell'eccesso adiposo generalizzato
- Il trattamento dell'eccesso adiposo localizzato
- L'ottimizzazione del fabbisogno energetico dell'anziano

Ma prima d'iniziare a parlare dell'utilizzazione del Trattamento Aminoacidico in questi quadri clinici, ci pare opportuno ricordare la storia e l'evoluzione scientifica di questa importante possibilità terapeutica.

Si inizia a parlare di dieta proteica nel 1973 da parte di George L. Blackburn, MD, PhD , Professore Associato di Nutrizione e Direttore Associato della Divisione di Nutrizione presso l'Harvard Medical School e Direttore del Centro per lo Studio della Nutrizione in Medicina, collegato agli Beth Israel Deaconess Medical Center di Boston in Massachusetts.

Blackburn iniziò i suoi studi proponendo un' alternativa al digiuno assoluto. Questo regime, che è composto da sola acqua assunta a volontà, porta ad una perdita di massa magra superiore alla perdita della massa grassa. Questa perdita avviene soprattutto a livello dei muscoli striati. Le fibre muscolari cardiache fanno parte di questa perdita con possibili conseguenze mortali. Studi fatti sul bilancio azotato mostrano che con il digiuno assoluto un adulto che pesa 70 Kg perde 3,7 Kg di azoto ogni giorno. Considerando che un grammo d'azoto corrisponde a 6,25 grammi di proteine e che il muscolo contiene circa il 20% di queste, la perdita è di 32 grammi di muscolo al giorno. Aggiungendo il fatto che i bisogni proteici aumentano sotto restrizione calorica, si deve concludere che dopo 10 giorni di digiuno il paziente perde circa due chili di tessuto muscolare. Grazie a queste considerazioni numerosi autori cominciarono a studiare la possibilità di trovare una dieta che potesse dare un bilancio calorico negativo minimizzando la perdita di massa magra. Per questo era necessario modificare il digiuno assoluto con un'integrazione proteica.

Bollinger nel 1966 provò ad aggiungere dell'albumina. Apfelbaum nel 1970 aggiunse caseina. Geunth e Verter nel 1974 aggiunsero del glucosio con della caseina. Baird e Howard nel 1975 mescolarono del glucosio con degli aminoacidi. Ma fu Blackburn che dimostrò come una privazione calorica, con un'assenza completa d'idrati di carbonio, potesse neutralizzare l'effetto anabolico dell'insulina sul metabolismo dei grassi.

Blackburn codificò la quantità esatta di proteine che era necessario assumere nel corso del digiuno per proteggere la massa nobile di un individuo, cioè da 1,2 a 1,5 gr per chilo di peso ideale. Nacque così la dieta proteica che permetteva la diminuzione della massa adiposa senza alterare i

delicati ed essenziali equilibri dell'organismo nel corso di un tale trattamento. Inoltre, in questa dieta, la diminuzione del glucosio con conseguente attivazione del catabolismo dei trigliceridi adipocitari porta ad una notevole produzione di Acetil-CoA che, incapace di entrare completamente nel ciclo degli acidi carbossilici, interreagisce con se stesso dando luogo alla formazione dei corpi chetonici. Tra questi, l'acido beta-idrossi-butyrico agisce a livello ipotalamico riducendo la sensazione della fame e dando tono ed euforia al paziente.

Gli studi di Blackburn evidenziarono, inoltre, delle importanti novità sul metabolismo dei corpi chetonici. Ed in particolare il fatto che questi possono fornire il 25% dell'energia richiesta dall'organismo e che facilitano l'utilizzazione degli acidi grassi liberi da parte del cervello il quale può trasformare la sua fonte energetica utilizzando per l'80% del suo metabolismo i corpi chetonici; Questi studi evidenziarono inoltre che i corpi chetonici circolano liberamente nell'organismo fornendo energia, infatti non hanno bisogno di proteine vettrici e penetrano liberamente nelle membrane cellulari.

Tutto questo portò alla diffusione rapida di tale dieta dimagrante che consentiva una veloce mobilizzazione e metabolizzazione del grasso in eccesso.

La diffusione in Italia di questo programma alimentare va riconosciuta al dott. Giuseppe Castaldo, responsabile del modulo di Nutrizione Clinica dell'Azienda Ospedaliera "Moscati" di Avellino. Castaldo ha sperimentato lungamente questa dieta sia su pazienti ospedalizzati che su pazienti ambulatoriali. Prima e durante la dieta i pazienti erano studiati dal punto di vista antropometrico, cardiologico ed ematochimico. In tutta la casistica

iniziale riportata dal dott. Castaldo (oltre 600 pazienti) si evidenziava la perdita di tessuto adiposo senza diminuzione della massa magra; tutti i parametri ematochimici rimanevano nella norma senza rivelare variazioni dell'uricosuria (uno dei pericoli del digiuno è la necrosi tubulare dovuta all'acido urico), del pH ematico (l'eventuale acidosi iniziale da corpi chetonici era prontamente tamponata) o degli enzimi epatici (assenza di steatosi); anche il tracciato elettrocardiografico non rivelava alcuna alterazione. Di particolare interesse fu il rilevare da parte di Castaldo che la perdita di grasso avveniva principalmente nei distretti di adiposità localizzata in eccesso.

Il nostro team (International Centre for Study And Research in Aesthetic and Physiological Medicine) approfondì sul piano scientifico questi risultati per cercare di comprendere le cause che portavano alla perdita del grasso prevalentemente dalle zone dove questo era in eccesso. Nella formulazione finale della nostra teoria utile fu il lavoro di biologia molecolare di Loftus e Lane che nel 1997 dimostrarono come, sul piano genetico, l'insulina e gli estrogeni agiscono a livello della C/EBP e del PPAR attivando la trascrittasi per l'adipogenesi e come il GH agisca fosforilando il PPAR ed inibendo l'adipogenesi.

Tenuto conto di tutto ciò noi affermammo che:

- Il tessuto adiposo è un tessuto ad attivissimo metabolismo: nell'arco di 3-4 settimane i trigliceridi intravacuolari vengono completamente disciolti e ricostituiti. Esistono, perciò, degli attivi sistemi enzimatici di costruzione (liposintesi) e di dissoluzione (lipolisi) del grasso.
- Su questi sistemi enzimatici, nelle zone di adiposità localizzata, gli ormoni sessuali si inseriscono, principalmente attivando la liposintesi. In particolare

il distretto trocanterico della donna è influenzato dagli ormoni estrogeni che stimolano l'adipogenesi, creando così una riserva energetica naturale necessaria per fornire acidi grassi al momento della lattazione.

- Che il trattamento delle adiposità localizzate richiedeva normalmente un intervento specifico locale, perché un trattamento dietetico classico avrebbe mobilizzato il grasso dai distretti a normale metabolismo, lasciando quasi indenni le adiposità localizzate.

- Che una dieta capace di ridurre i tassi circolanti d'insulina e di aumentare i tassi ematici di GH avrebbe potuto essere utilizzata nel trattamento dietetico delle adiposità localizzate.

La dieta proteica, o meglio il Trattamento Aminoacidico, venne inserito nei protocolli utili alla riduzione degli eccessi adiposi localizzati e gli ottimi risultati clinici ottenuti fecero sì che tale trattamento venisse denominato impropriamente "liposuzione alimentare".

Nel 2007 il Prof. Gianfranco Cappello del Policlinico Umberto I° di Roma, ebbe l'intuizione di somministrare il Trattamento Aminoacidico nei grandi obesi solo sottoforma di integratore e mediante un sondino naso-gastrico collegato ad una pompa continua. Questo portava a due vantaggi: sia il mantenimento di un tasso aminoacidico costante, sia l'impedimento psicologico di alimentarsi per via orale per la presenza del sondino.

Va infine ricordato, riguardo al trattamento aminoacidico, l'uso di questo per ottimizzare il fabbisogno energetico nell'anziano mediante l'incremento della termogenesi indotta dagli alimenti verificato con gli studi della Prof.ssa Maria Rosa Bollea, Responsabile dell' Ambulatorio Specialistico di Nutrizione Clinica e Disturbi Alimentari nell'Università degli Studi di Roma "Tor Vergata".

Il fabbisogno calorico quotidiano dipende da tre diversi componenti: dal metabolismo basale, dalla TID o termogenesi indotta dagli alimenti (chiamata anche azione dinamico-specifica degli alimenti) e dall'attività fisica. La TID: rappresenta l'energia spesa dall'organismo per digerire, assorbire ed utilizzare il cibo introdotto con la dieta. Questa varia in base al tipo e alla quantità di macronutrienti. La TID dei grassi è dello 0-3%, quella dei carboidrati è 5-10% e quella delle proteine è il 10-30%. Ne consegue che una dieta ricca in proteine determina un aumento del dispendio calorico del paziente.

Questo trattamento si può somministrare all'anziano che, ovviamente, ha le sue problematiche tra cui, in particolare, la riduzione del suo fabbisogno energetico con la concomitante riduzione della sua attività fisica e della sua assunzione proteica: questo fatto ci consente di affermare che cicli di trattamento aminoacidico nell'anziano possono consentire di mantenere corretto il consumo energetico, di integrare la percentuale proteica della dieta e di migliorare le sue performance fisiche e psichiche.

*Per il trattamento sistemico delle adiposità generalizzate e/o localizzate si esegue il trattamento aminoacidico per tre settimane, somministrando il 50% del fabbisogno proteico con un integratore ed il 50% con alimenti a scarso contenuto glicidico e dividendo l'assunzione in tre pasti giornalieri. Il trattamento è sempre integrato con vitamine, sali minerali, oligoelementi e potassio e con un congruo (500 grammi) apporto di verdure a scarso contenuto glicidico. Dopo le tre settimane si passa ad una dieta ipocalorica soggettivizzata per una perdita di 1 chilo di grasso la settimana, per due settimane. Poi si può riprendere il trattamento. L'interruzione è necessaria

per mantenere alto il tasso di GH che tende a diminuire dopo le 3 settimane.

*Per il trattamento di stimolo del fabbisogno energetico si esegue il trattamento aminoacidico per una settimana al mese per tre volte, sempre somministrando il 50% del fabbisogno proteico con un integratore e il 50% con alimenti a scarso contenuto glicidico e dividendo l'assunzione in tre pasti giornalieri. Il trattamento è sempre integrato con vitamine, sali minerali, oligoelementi e potassio e con un congruo (sempre 500 grammi) apporto di verdure a scarso contenuto glicidico.

*Per il trattamento delle grandi obesità si esegue il trattamento aminoacidico per tre settimane, somministrando il 100% del fabbisogno proteico con un integratore. Il trattamento è sempre integrato con vitamine, sali minerali, oligoelementi e potassio. E' consigliabile interrompere il trattamento per due settimane passando ad una dieta ipocalorica soggettivizzata per una perdita di 1 chilo di grasso la settimana. Poi si può riprendere il trattamento.

Una particolare cura deve essere posta alla scelta dell'integratore proteico da inserire nel trattamento aminoacidico perché i numerosi prodotti presenti in commercio spesso non corrispondono alle particolarità richieste da un trattamento così delicato come questo.

Le caratteristiche di un integratore aminoacidico debbono rispondere ai seguenti requisiti:

1. Una giusta composizione aminoacidica che rispecchi le percentuali proposte da Meinster in *Biochemistry of Aminoacid* nel 1965 e necessarie per permettere una corretta sintesi proteica indispensabile a mantenere la massa magra in un regime molto ipocalorico. (Istidina 7%, Isoleucina 15% ,

Leucina 20%, Lisina 16%, Metionina 7%, Fenilalanina 10%, Treonina 10%, Triptofano 5%, Valina 10%).

2. Una corretta preparazione industriale che non determini la perdita di aminoacidi. La tecnica più idonea è quella dell'ultrafiltrazione, che non altera la composizione aminoacidica e si contraddistingue per un contenuto in sodio, del prodotto, inferiore allo 0,025%. In caso di contenuto in sodio maggiore, questo indica una preparazione effettuata con precipitazione d'idrossido di sodio, un processo che determina perdita di Triptofano e Fenilalanina. Perciò, in quest'ultima situazione il prodotto deve indicare un' successiva integrazione con questi aminoacidi.

3. Un ridotto contenuto glicidico. Il primo prodotto preparato su formulazione di Castaldo prevedeva un tasso glicidico dello 0,2%; questo portava ad una ridottissima palatabilità dell'integratore che determinava, spesso, la non assunzione da parte della paziente. Studi clinici più recenti hanno evidenziato che un tasso glicidico del 5% (corrispondente a 0,75 gr.) non determina variazioni del valore insulinemico. Oggi, quindi, consigliamo un preparato con questo quantitativo glucidico, specialmente per la somministrazione orale, in quanto consente una maggiore compliance da parte del paziente.

Importante è stata la verifica che la somministrazione di questo trattamento in soggetti con normale funzione pancreatica non induce acidosi metabolica.

Approfondiamo questo concetto, importante per consentire l'uso del trattamento aminoacidico in sicurezza.

La funzione del pancreas endocrino, nei pazienti non diabetici, secreta un livello insulinemico adeguato a consentire la conversione dei corpi chetonici in Acetil-CoA ed il successivo metabolismo di questo prodotto.

Infatti, solo in carenza d'insulina si riduce il trasporto di glucosio nelle cellule dei tessuti. L'insulina, legandosi allo specifico recettore presente sulla membrana cellulare, consente l'apertura dei canali delle acquaporine e l'ingresso nella cellula del glucosio.

Nel diabete, l'esaurimento di quest'ormone determina uno stato di carenza di glucosio all'interno della cellula, che contrasta con la iperglicemia extracellulare.

La mancanza di glucosio non permette di mantenere costante il valore dell'acido ossalacetico, fondamentale per il funzionamento del ciclo di Krebs, e determina un'incompleta ossidazione dei prodotti del catabolismo dei lipidi e aminoacidi (Acetil-CoA).

L'Acetil-CoA, punto finale del catabolismo proteico e lipidico, non può entrare nel Ciclo di Krebs. Questo determina una reazione tra le varie molecole di Acetil-CoA che porta alla formazione dei corpi chetonici (acetone, acido acetoacetico e acido beta-idrossibutirrico). I corpi chetonici formati sono trasportati, principalmente dal fegato, nel sangue e portati ai vari tessuti.

La mancanza di glucosio intracellulare non permette ai tessuti extraepatici di utilizzare i corpi chetonici (perché manca l'acido ossalacetico, OAA) e porta all'accumulo di questi nel sangue (chetonemia).

Dei tre corpi chetonici, due, l'acido acetoacetico e l'acido beta-idrossibutirrico sono, per l'appunto, acidi e quindi tendono a cambiare il valore del pH ematico causando l'acidosi metabolica. L'aumento dei radicali

acidi determina dapprima un consumo dei sistemi tampone bicarbonato e, quando questi si sono esauriti, porta all'acidificazione del sangue, abbassando il valore fisiologico di 7,4. Un pH ematico inferiore a 7 porta al coma metabolico il paziente.

Invece, in presenza di una normale funzione pancreatica e di una normale concentrazione d'insulina non abbiamo un accumulo di corpi chetonici, non abbiamo cambiamento del valore del pH del sangue ed il rischio di acidosi metabolica.

Infatti, la normale funzione insulinemica consente il passaggio intracellulare del glucosio consentendogli di seguire la normale via glicolitica citoplasmatica.

Il glucosio, nella via di Embden-Meyerof, viene scisso in due molecole di acido piruvico o piruvato. La formazione del piruvato consente, per azione della piruvato carbossilasi, la formazione di ossalacetato (OAA). L'acido ossalacetico permette l'ingresso dell'Acetil-CoA nel Ciclo di Krebs e la sua successiva metabolizzazione finale.

Questo sistema metabolico ci consente di comprendere perché nel trattamento aminoacidico, pur avendo un'iniziale accumulo di corpi chetonici, non si verifica il consumo del sistema tampone bicarbonato e non ci sono i rischi dell'acidosi metabolica.

I corpi chetonici, prodotti inizialmente hanno poi il vantaggio di dare al paziente uno stato di benessere e di ridurre il senso di fame. Ciò è da imputarsi ad uno dei corpi chetonici prodotti, l'acido beta-idrossi-butirrico. L'acido beta-idrossi-butirrico agisce a livello cerebrale riducendo il senso di fame e migliorando il tono dell'umore del paziente. Infatti l'acido beta-idrossi-butirrico interferisce nella concentrazione di serotonina a livello

cerebrale ed il miglioramento della concentrazione di questo neurotrasmettitore porta sia a stimolazione del centro ipotalamico della sazietà, sia ad un effetto antidepressivo con miglioramento del tono dell'umore.

Quindi, come detto, l'assunzione di aminoacidi contenenti arginina ed ornitina induce la neoformazione di growth hormon e l'assenza di zuccheri nell'alimentazione determina una caduta dei livelli d'insulina. Questo consente di bloccare la liposintesi e di indurre, in modo indiretto, un'attivazione della lipolisi.

L'insulina è il principale ormone liposintetico, infatti facilita il passaggio del glucosio e degli acidi grassi nell'adipocita consentendo la formazione dei trigliceridi.

Questa attività è svolta a tre livelli:

- Azione a livello del Recettore di Attivazione del Perissosoma (PARR), con successiva formazione dell'mRNA responsabile della costruzione della lipoproteinlipasi (enzima necessario alla captazione degli acidi grassi contenuti nelle lipoproteine circolanti nel sangue);
- Attivazione della funzionalità della lipoproteinlipasi con aumento della captazione degli acidi grassi dal sangue e della trasmissione di questi negli adipociti;
- Attivazione del recettore insulinico sulla membrana degli adipociti con conseguente apertura dei canali delle acquaporine e maggior apporto di glucosio nell'adipocita. Il glucosio viene convertito in glicerolo fosfato, questo si unisce agli acidi grassi e permette la formazione dei trigliceridi.

Essendo molto attivo il metabolismo del tessuto adiposo, nell'arco di 3-4 settimane i trigliceridi intradipocitari vengono scissi (lipolisi) e ricostruiti

(liposintesi), la caduta dei livelli d'insulina si traduce nel blocco della liposintesi e nell'attivazione, indiretta, della lipolisi.

Anche l'elevazione dei valori dell'ormone della crescita partecipa all'attivazione indiretta dell'idrolisi dei trigliceridi intradipocitari. Il Growth Hormon induce la fosforilazione del recettore PPAR. In biologia molecolare, la fosforilazione del recettore determina la sua inattivazione. Induce pertanto, una riduzione della sintesi di lipoproteinlipasi e, conseguentemente, della liposintesi con attivazione, indiretta, della lipolisi.

Ciò è confermato da studi di biologia molecolare fatti da Loftus e Lane. Questi Autori, in una pubblicazione del 1997 dimostrarono come sia l'insulina che gli estrogeni, agiscano a livello del C/EBP e del PPAR (fattori di trascrizione che promuovono l'espressione di certi geni interagendo con il promoter) attivando trascrittasi per la formazione della lipoproteinlipasi. Nello stesso lavoro, dimostrarono che il GH induce la fosforilazione del PPAR, bloccandolo, con conseguente inibizione dell'adipogenesi.

Il lavoro di Loftus e Lane ci permette di allargare l'utilizzazione del trattamento aminoacidico anche alle adiposità localizzate in sede trocanterica, nel corpo femminile.

Infatti, a livello del grasso distribuito nella zona trocanterica e dei fianchi, nel corpo della donna, gli ormoni estrogeni stimolano l'adipogenesi attraverso l'attivazione dei C/EBP e PPAR e la sintesi della lipoproteinlipasi. Si determina così una resistenza alla mobilizzazione del tessuto adiposo in queste zone.

Il perché di quest'azione degli ormoni sessuali va ricercato, come già accennato poc'anzi, in un significato evolucionistico. La donna ha come principale funzione biologica la procreazione e, indipendentemente dal suo

stato alimentare, deve essere in grado, alla nascita del bambino, di fornire un giusto apporto energetico con la lattazione. Il grasso localizzato nel distretto inferiore del corpo, resistente in tempi normali alla lipolisi, rappresenta una riserva naturale di energia capace di attivarsi e liberare acidi grassi nella fase dell'allattamento.

Con queste premesse è chiaro che il trattamento aminoacidico può essere utilizzato anche nel trattamento delle adiposità localizzate. Infatti, il processo di fosforilazione dei recettori C/EBP e PPAR ne determina il blocco funzionale, portando alla mobilitazione del grasso da questi distretti. Inoltre, nel caso di un successivo aumento di tessuto adiposo, questo è distribuito in modo più armonico nel corpo senza depositarsi, prevalentemente, in sede trocanterica.

Possiamo dunque concludere che il trattamento aminoacidico consente una variazione dell'equilibrio tra la lipolisi e la liposintesi con un'indiretta attivazione della mobilitazione del tessuto adiposo. Dato il rapido metabolismo del tessuto adiposo - qualche settimana, tre o quattro -, è possibile ottenere una mobilitazione rapida e significativa del grasso con questo intervento.

La massiccia mobilitazione di grasso consente al paziente di compensare il suo fabbisogno energetico rispetto alla quantità calorica assunta. Infatti, durante il periodo di trattamento, il paziente assume un quantitativo energetico molto basso (400-500 kcal/die). Tale apporto non sarebbe sufficiente per consentire una vita normale ad un paziente che solitamente presenta un fabbisogno energetico di 2000-3000 calorie al giorno. L'indiretta attivazione della lipolisi consente, però, di integrare le calorie mancanti con l'idrolisi dei trigliceridi intradipocitari. Questo permette al

paziente di avere sia un normale metabolismo energetico sia un rapido dimagrimento. Infatti, l'utilizzazione, ogni giorno, di 2000 calorie prelevate dal tessuto adiposo consente una perdita di circa 250 grammi di grasso. Ecco spiegata la rapida perdita di peso (fino a 10-15 chili di grasso in 30-40 giorni).

Esposti i principi scientifici alla base del trattamento aminoacidico, ora vediamo il protocollo pratico.

La prima visita del paziente deve prevedere, oltre al classico esame obiettivo, una valutazione antropometrica utile a calcolare la massa grassa, massa magra, la massa acquosa ed fabbisogno energetico. Questo viene fatto con:

1. La Plicometria secondo Durnin per la Massa Grassa.
2. L'Arm Muscular Area per la Massa Muscolare.
3. La Natriemia o l'Impedenziometria per il Total Body Water.
3. L'Equazione di Harrison-Benedict corretta con i Fattori di Attività e di Stress, per il Fabbisogno Energetico.

La prescrizione degli esami clinici di base deve essere completata con la richiesta dei valori dell'insulina e del growth hormon per avere un indice prognostico del tempo di risposta al trattamento. Ovviamente i soggetti con alti valori basali d'insulina e bassi valori basali di growth hormon risponderanno più rapidamente al trattamento.

Il calcolo dell'apporto aminoacidico da somministrare ogni giorno viene determinato sulla base di 1,5 grammi di aminoacidi per chilo di peso del paziente. E' importante, durante il trattamento, verificare che non ci sia perdita di massa magra. Questo viene fatto, sia con il controllo della composizione corporea, sia con la determinazione del bilancio di azoto.

Il Bilancio di Azoto si determina applicando la seguente formula:

Azoto Introdotto - Azoto Eliminato

Il valore che risulta non deve mai essere inferiore a zero. Valori positivi indicano un aumento della massa magra. Valori negativi indicano perdita di massa magra.

Le proteine contengono una quantità di azoto pari al valore di 6,25 per grammo. Perciò per calcolare la quantità di azoto introdotta nel nostro organismo dobbiamo dividere i grammi di proteine per il valore di 6,25. L'azoto catabolico corrisponde al valore dell'urea, determinato nelle urine del paziente, sommato alla perdita biologica (cute, feci) che corrisponde ad un valore medio di 3.

In caso di valori negativi, si deve sospendere il trattamento per verificare le cause che l'hanno determinato. Solitamente un contenuto proteico inadeguato o una composizione aminoacidica irregolare.

CAPITOLO 9

Life Quality Medical Program

Il binomio Bartoletti - Ceccarelli funzionò fino al 1995 quando, come già raccontato, le nostre strade si divisero a causa di incomprensioni relative all'ingresso della medicina estetica nell'Università. La rottura, purtroppo, fu traumatica e restò insanabile per sempre. Io uscii dalla Scuola e dalla Società di medicina estetica e rivolsi il mio sguardo all'estero.

L'amico Giorgio Fischer mi chiese un giorno se volevo partecipare ad un congresso in Spagna. Andai. E lì incontrai Victor Garcia, presidente della Società Spagnola di Medicina e Chirurgia Cosmetica, (in spagnolo Medicina Estetica viene tradotto con il termine "Medicina Cosmetica") che diverrà, nella mia vita, non solo un amico ma un fratello. Victor mi accolse con amicizia e si dimostrò interessato alle mie presentazioni congressuali, tanto che incominciammo subito a parlare di studi e ricerche scientifiche approfondendo i nostri interessi comuni.

Iniziai a frequentare la Spagna e quando Victor aprì il primo Master Universitario al mondo in Medicina Cosmetica e in Medicina dell'Invecchiamento, mi inserì nel corpo docente ed insieme mettemmo a punto il **Life Quality Medical Program**, un protocollo medico impostato sulla qualità di vita, con il fine di permettere a chiunque di raggiungere l'età più avanzata nel pieno delle proprie capacità psico-fisiche.

Approfondiamo i concetti filosofici e scientifici di questo argomento.

La società moderna è caratterizzata da ritmi di vita estremamente veloci e da un continuo ripetersi di esami e prove, frutto dell'esasperata

competizione tra noi e gli altri. Ovviamente non possiamo approvare un tale sistema di vita, ma non abbiamo grandi possibilità di cambiarlo: dobbiamo, perciò, accettarlo. Risulta dunque evidente la necessità di ogni essere umano di ottimizzare le proprie performance al fine di essere sempre più pronto ed efficiente nelle continue "lotte" che lo aspettano.

Il soggetto con questa necessità non trova aiuti utili nella medicina occidentale e quindi cerca rifugio nelle medicine orientali, valide ma, a volte, esercitate, in occidente, da persone non qualificate. Questa ricerca del mondo medico orientale nasce dall'esigenza del paziente di un approccio olistico che il medico orientale, appunto, offre.

Un tale medico si interessa della persona nella sua totalità posponendo anche, eventualmente, la valutazione del sintomo che ha portato il paziente a consultarlo, ad un interessamento prima di tutto psicofisico globale.

Da sempre in oriente il medico si preoccupa prima di tutto di mantenere la salute, tant'è che nella antica Cina veniva pagato per tutto il periodo in cui il suo cliente rimaneva sano, e si smetteva di pagarlo nel momento in cui insorgevano delle patologie.

Quest'approccio è proprio quello che manca alla moderna medicina occidentale. Infatti, la veloce crescita scientifica e tecnologica ha portato alla necessità, da parte del medico, per mantenersi aggiornato, di restringere il suo campo operativo in un'esasperata specializzazione che ha portato prima alla specializzazione di branca, poi a quella di organo ed infine a quella della singola patologia.

Si è perso, quindi, nella medicina occidentale l'approccio del medico verso l'insieme psicofisico del paziente. Quest'ultimo non rappresenta più una persona, ma un caso clinico spersonalizzato di tutte le emotività umane. Da

ciò il rifiuto da parte del paziente di questo medico che è visto, oggi, non più come figura di riferimento ma unicamente come possibile soluzione di un malessere.

La Medicina Fisiologica si inserisce in questo vuoto culturale formando un medico che prima di interessarsi di patologia si interessi di fisiologia. La medicina fisiologica rappresenta lo studio dei vari meccanismi che controllano le funzioni del nostro corpo: è una branca medica che non si distingue per l'esasperato e velocissimo sviluppo che caratterizza invece la patologia medica e la terapia. Il nostro corpo è lo stesso da migliaia di anni e lo sviluppo scientifico può interessarlo solo per una comprensione sempre maggiore delle regole che lo governano e che consentono il giusto svolgimento delle funzioni dello stesso.

Quindi il medico fisiologo si deve mantenere aggiornato anche sugli sviluppi scientifici di tutta la fisiologia e può trovare gli schemi operativi utili ad ottimizzare le funzioni del paziente e quindi il suo benessere.

Si crea così una nuova figura di medico. Un medico che, prima di curare la malattia, si adopera per supportare il benessere. Un medico che approccia il paziente nella sua interezza psicofisica analizzando gli errori comportamentali e di igiene di vita che alterano i sistemi fisiologici. Un medico che svolge verso il paziente un'opera di educatore prima ancora di rivestire il ruolo di terapeuta, ruolo che, ovviamente, gli compete e riguardo al quale deve comunque sempre aggiornarsi. Un medico, in definitiva, che aiuti ogni suo paziente a vivere bene, al massimo delle sue possibilità, consentendo, attraverso l'ottimizzazione della fisiologia, di allontanare la comparsa della patologia.

La Medicina Fisiologica diviene, quindi, quella branca medica che affianca alle competenze della classica medicina interna un'attenzione particolare per i processi fisiologici ma anche per la personalità, il temperamento, l'emotività ed i disagi del suo paziente. Ha l'importante ruolo sociale di migliorare, non tanto la durata della vita, ma la qualità di questa. Questo modo di agire del medico nella propria professione può consentire la trasformazione di una fascia di popolazione in continuo aumento: quella degli anziani.

L'anziano, oggi, è visto nella società economica come un peso, come un malato inabile al lavoro e quindi non produttivo; come una continua fonte di spesa che grava, in modo sempre più importante, sulla produttività economica del giovane, costretto a devolvere parte della sua ricchezza a favore del mantenimento del vecchio. Tutto questo può e deve essere trasformato.

La Medicina Fisiologica, attraverso la rieducazione comportamentale e l'ottimizzazione dei sistemi di vita, permette a ciascuno di noi di raggiungere un'età avanzata nel pieno delle sue capacità psicofisiche e, quindi, non incapace di lavorare e di produrre ma, in rapporto alle proprie possibilità, ancora valido per sé e per gli altri.

La Medicina Fisiologica nasce per naturale evoluzione della medicina estetica. Quest'ultima da molti anni ha rivolto il suo interesse, oltre che alla pura restituzione e correzione degli inestetismi, anche al più importante aspetto di prevenzione della comparsa di questi. Infatti il medico estetico da tempo si è accorto che la reale soluzione del problema estetico non avviene soltanto grazie alla sua operatività ma, anche, ed in gran parte, grazie alla corretta gestione che il paziente fa di se stesso.

Un'obesità si sconfigge non soltanto mettendo il paziente a dieta, ma rieducandolo ad una giusta alimentazione. Le rughe si combattono non unicamente grazie ai fillers usati dal medico ma anche regolando l'esposizione della cute ai raggi solari. La cellulite sparisce non solo per i trattamenti mesoterapici, ma perché la paziente impara ad attivare, con il movimento, la circolazione degli arti inferiori. La medicina estetica diviene così prima di tutto una medicina di prevenzione ed, ovviamente, riconosce, nel tempo, il suo spazio operativo maggiore nella prevenzione dell'invecchiamento generale.

Iniziai a parlare di Medicina Fisiologica nei primi anni '90 cercando di far comprendere ai non addetti ai lavori che la medicina estetica rappresenta, appunto, una medicina della salute a cui consegue poi la bellezza: infatti la bellezza è armonia, ed armonia, anche, di tutti i nostri organi e apparati che devono essere messi in grado di funzionare alla perfezione.

Affiancai, quindi, alla parola medicina "la scienza che si interessa di mantenere il corpo in salute", l'appellativo fisiologica che indica "la corretta funzione degli organi e degli apparati" necessaria per ottenere la salute del corpo. Non dimenticando, però, che fisiologico deriva dal greco *physis* e cioè l'apparire del corpo: questo non per motivare gli interventi di restituzione e correzione estetica propri anche della medicina fisiologica, ma perché una scienza recente, la psico-neuro-endocrino-immunologia, ci dice che aiutare un paziente a vivere meglio ((con)) la sua immagine corporea, aiuta il suo equilibrio psichico portando ad una ottimizzazione le funzioni sia nervose, che endocrine, che immunitarie del corpo.

Raccolsi, nel 1992, i concetti scientifici della medicina fisiologica nel testo *Invecchiamento Generale e Medicina Estetica*. Questo libro ebbe, per l'importanza sociale dei suoi contenuti, dei rilevanti riconoscimenti.

Nel 1994, l'allora Ministro della Famiglia, onorevole Antonio Guidi, rilevando nell'attuazione dei contenuti del testo la possibilità di ottenere una fascia di popolazione, l'anziana, non quale carico sociale ma gruppo produttivo sul piano economico, mi propose al titolo di Commendatore della Repubblica Italiana. Per le stesse motivazioni ricevetti il Premio Ignazio Ciaia nel 1995 e, nel 2002, la Medaglia d'Argento del Presidente della Repubblica Italiana.

Nel 1996, chiamato come consulente scientifico nel Principato di Montecarlo, compilai il primo protocollo pratico di Medicina Fisiologica con l'elaborazione del T.I.R.P. (Trattamento Individuale di Rinvigorismento Psico-fisico) per le Thermes Marines. Il T.I.R.P. fu registrato tramite Envelope Solau n° MC0111020996 nello stesso anno.

Il consolidamento scientifico della Medicina Fisiologica mi portò, nel 1998, alla fondazione dell'International Centre for Study and Research in Aesthetic and Physiological Medicine, centro rappresentato da un team, una équipe scientifica internazionale che opera per la formazione e la ricerca nel settore della medicina estetica e fisiologica. Il Centro iniziò la sua operatività con una convenzione con il C.I.M.S. (Centro Interdipartimentale Malattie Sociali) dell'Università degli Studi di Roma - La Sapienza; procedette poi in maniera autonoma diffondendo i concetti scientifici della medicina fisiologica in Italia, in Europa ed in Sud America.

A seguito di alcune lezioni di medicina fisiologica tenute sia presso l'Università degli Studi di Madrid, sia presso l'Università degli Studi di Barcellona, Victor Garcia, Presidente della Società Spagnola di Medicina e

Chirurgia Cosmetica, mi propose la creazione di un marchio di qualità (Life Quality Medical Centers) da attribuire ai centri medici che operano nel settore della medicina fisiologica rispettando i protocolli clinici derivati dal T.I.R.P. e raccolti, oggi nel Life Quality Medical Program. Il marchio venne registrato dall'Ae.Phy.Med. Centre per l'Europa e proposto alla South American Academy of Cosmetic Surgery per il Sud America.

Il Life Quality Medical Program inizia con un'approfondita anamnesi comportamentale utile alla rilevazione delle abitudini alimentari, motorie, cosmetiche e comportamentali del paziente.

Quindi, il paziente accede alla Consultazione Fisiologica e viene visitato secondo gli schemi classici della medicina interna ma, una volta esclusa la presenza di patologie, non viene abbandonato: la visita continua con una serie di valutazioni e di misurazioni necessarie a comprendere il livello di funzione dei vari organi ed apparati.

Si determina:

- la composizione corporea (massa grassa, massa magra e massa acquosa),
- la postura del corpo e le funzionalità articolari
- la funzione cutanea (biotipo e fototipo)
- la funzione mnesica
- la funzione del sonno e del tono dell'umore
- l'eustress ed il distress
- il vissuto sessuale

quindi si effettua un prelievo di sangue per studiare:

- la capacità che ha l'organismo di resistere al danno dei radicali liberi dell'ossigeno, responsabili del danno biologico dell'invecchiamento (ROM-s e Capacità Antiossidante)
- il test delle intolleranze alimentari per regolare la dieta
- la concentrazione dell'insulina per le funzionalità del tessuto adiposo
- il dosaggio dell'emoglobina glicosilata per i danni da glicosilazione
- la funzionalità dell'asse Gh/IGF-1 responsabile di un corretto anabolismo e delle difese immunitarie
- la funzionalità dell'asse surrenalico (DHEA) per l'anabolismo e la libido
- la funzionalità dell'asse serotonina-melatonina per inquadrare la tendenza alla depressione e le irregolarità del sonno
- la concentrazione degli ormoni sessuali femminili (estradiolo, progesterone, testosterone)
- la concentrazione degli ormoni sessuali maschili (testosterone biodisponibile)
- gli indice ematochimici del distress (prolattina, beta-endorfine)
- il test di funzione immunitaria (Linfociti Helper, Suppressor e Natural Killer)

e un prelievo di saliva per valutare i polimorfismi genetici negativi per:

- tipo di alimentazione
- capacità disintossicante
- funzione intestinale

- necessità d'integrazione
- difesa dai danni infiammatori
- difesa dai danni ossidativi
- capacità mnesica
- tendenza alla depressione
- funzionalità ormonale
- metabolismo cutaneo

Alla fine della visita e sulla base dei risultati delle analisi, si compila un consuntivo che riguarda il livello di benessere del paziente.

Sulla base di questi risultati si riprogrammano i comportamenti del paziente sul piano:

- alimentare (dieta, integratori, probiotici)
- motorio (attività fisica)
- cosmetico (detersione, normalizzazione cutanea, protezione agenti fisici e chimici)
- psicologico (esercizi di rilassamento)
- comportamentale (riduzione dei principi tossici)

oltre ad attuare i programmi di restituzione e/o correzione per:

- La funzione metabolica (terapia disintossicante e metabolotropica)
- La funzione mnesica (endomodulatori, farmaci nootropi di 1° e 2° livello)
- La funzione del sonno e dell'umore (endomodulatori, fitoterapici e psicofarmaci)

- La funzione comportamentale in stress (terapie di rilassamento)
- La funzione sessuale (ormonoterapia sostitutiva, farmaci erettogeni)
- La funzione immunitaria (fitoterapici e immunostimolanti)
- I danni da radicali liberi (antiossidanti)
- I danni infiammatori (fitoterapici, sistemi tampone ed antinfiammatori)
- I danni da glicosilazione (fitoterapici e farmaci allopatici)
- L'aspetto estetico (medicina e chirurgia estetica)

Il consuntivo finale prevede un dossier con:

- Lo studio anamnestico
- La visita medica
- Le valutazioni fisiologiche
- I risultati delle analisi
- La descrizione dello stato attuale del paziente (età biologica)
- Il protocollo comportamentale
- Il protocollo restituivo
- Il protocollo correttivo

Oggi, ancora, accedono alla Consultazione Fisiologica pazienti di livello medio alto: manager, professionisti, personaggi dello spettacolo. Questo non vuol dire che il benessere sia prerogativa per pochi, ma che l'esigenza di ottimizzare le proprie performance è ancora sentita e, forse, conosciuta da un target di persone molto attente a tutte le possibili novità utili per migliorare la propria persona.

In realtà la Medicina Fisiologica è una medicina di facile accesso per ogni classe sociale: infatti è una medicina di poco costo. Tolto il costo della visita medica non prevede dispendiosi trattamenti ma semplicemente una rieducazione comportamentale che non presenta onere economico. E' quindi possibile per tutti affrontare una consultazione fisiologica e, seguendo le direttive del medico, ottimizzare il proprio stato di salute.

Fanno pur sempre parte, però, della Medicina Fisiologica, che è la medicina del Benessere e della prevenzione dell'Aging, i trattamenti efficaci in quei casi in cui la sola prevenzione e la sola buona gestione di se stessi non siano più sufficienti.

Anzi, si deve dire che molto è stato fatto in questo senso negli ultimi anni e che ci sono oggi importanti trattamenti di restituzione e correzione utili e scientificamente validi, per ridare alla nostra immagine ciò che gli anni tenderebbero a togliere.

CAPITOLO 10

Ossigenoclasì

La mia frequentazione spagnola divenne sempre più assidua e il rapporto di amicizia con Victor Garcia sempre più forte. Mi accorsi che nella vita poche sono le persone che possiamo considerare amiche e, per me, la maggior parte di queste sono in terra straniera.

Con Victor da 1995 ad oggi abbiamo sempre costruito la medicina estetica (in Spagna chiamata cosmetica) e abbiamo consolidato un rapporto che non è stato mai intaccato da dissapori, invidie o contrasti.

Le mie lezioni in Spagna vertevano sull'Invecchiamento Generale, sull'Invecchiamento Cutaneo e sulla Cellulite. In Spagna ebbi l'onore ed il piacere d'incontrare Max Lafontaine, direttore del Centro Ricerche sul Tessuto Adiposo in Tolosa (Francia), uno dei più grandi esperti mondiali sul tessuto adiposo e, ascoltandolo, fui stimolato ad approfondire i miei studi su questo organo (sì, il tessuto adiposo è un organo) con il fine, non solo speculativo, ma anche per ricercare un nuovo trattamento medico utile alla riduzione delle adiposità localizzata. Da questo nacque l'**Ossigenoclasì**.

Il tessuto adiposo è un tessuto di derivazione mesenchimale, distribuito in una porzione viscerale ed in una porzione superficiale. Il tessuto adiposo viscerale ha funzioni di sostegno e contenimento degli organi interni. Il tessuto adiposo superficiale ha principalmente funzione di protezione termica e di riserva energetica. La funzione di protezione termica è evidente dal fatto che uno spessore del pannicolo adiposo di 2 mm consente

di sentire freddo quando la temperatura raggiunge i 15° C; mentre un pannicolo di 1 mm porta alla stessa sensazione a 16° C.

La capacità del tessuto adiposo a conservare l'energia di riserva è data dal fatto che la combustione di un grammo di zuccheri o proteine fornisce 4 Kcal, mentre la combustione di 1 grammo di grasso ne fornisce 9. Questo significa che a parità di volume il grasso conserva oltre il doppio di energia.

La disposizione del tessuto adiposo superficiale è differente nell'uomo e nella donna. Nell'uomo il grasso si deposita prevalentemente a livello della porzione superiore del corpo, mentre nella donna si deposita prevalentemente nella parte inferiore.

Oltre alla diversa disposizione, il grasso presenta anche una diversa facilità di mobilizzazione. Il grasso della porzione superiore del corpo (uomo) si metabolizza più facilmente di quello della porzione inferiore del corpo (donna). Questo fenomeno riconosce una funzione evolutiva. La donna ha il compito di procreare e di fornire il sostegno alimentare al neonato, indipendentemente dalla sua situazione alimentare. Per questo il grasso del distretto inferiore del corpo è resistente a ogni richiesta energetica sino al momento del parto nel quale diviene sensibile alla lipolisi liberando gli acidi grassi necessari al fabbisogno energetico del lattante.

Il tessuto adiposo si divide in tessuto adiposo bruno e tessuto adiposo bianco. Nell'adulto è prevalente il secondo tipo. Il tessuto adiposo bruno prende il nome dal colore scuro che consegue all'alta concentrazione di mitocondri presenti nella cellula. Il tessuto adiposo bruno è riccamente innervato e vascolarizzato in rapporto alla sua funzione di produzione di calore. L'innervazione stimola la liberazione del calore ed il sangue, attraverso la circolazione, lo conduce a tutto il corpo mantenendo costante

la temperatura di questo. Lo stimolo nervoso parte dall'ipotalamo dove risiede il centro di controllo della temperatura e attraverso uno stimolo simpatico raggiunge i recettori beta 3 adrenergici dell'adipocita bruno. L'abbassamento di temperatura stimola la trasformazione del tessuto bianco in tessuto bruno e la dispersione di calore. Il calore è prodotto per effetto della proteina UCP-1, capace di disaccoppiare la fosforilazione ossidativa dalla catena del trasporto degli elettroni e disperdere l'energia prodotta, dall'ossidazione delle deidrogenasi ridotte, in calore. La termogenesi e la lipolisi del tessuto adiposo bruno sono sotto il controllo beta adrenergico e sotto il controllo ormonale.

Il tessuto adiposo bianco deriva il suo nome dal fatto che tutto il corpo dell'adipocita è occupato da un vacuolo ripieno di trigliceridi e le strutture intracellulari sono compresse lateralmente. L'adipocita è caratterizzato da un'alta attività funzionale ed in particolare dalla secrezione di numerose sostanze ad effetto autocrino, paracrino ed endocrino.

L'attivo metabolismo cellulare porta a che le cellule adipose ricambino il loro contenuto in trigliceridi in 3-4 settimane. Questo porta a continui processi di liposintesi e di lipolisi.

Il processo di liposintesi prevede la captazione degli acidi grassi contenuti nelle lipoproteine circolanti da parte della lipoproteinlipasi. Gli acidi grassi liberati per idrolisi delle lipoproteine ematiche sono poi trasportati all'interno della cellula da una proteina carrier la cui attività è influenzata dalla concentrazione di acidi grassi esterni all'adipocita. L'enzima lipoproteinlipasi è stimolato, nella sua sintesi e nella sua attività, dall'insulina. L'insulina è il principale ormone liposintetico. L'azione liposintetica dell'insulina si evidenzia anche attraverso il suo legame ad uno

specifico recettore adipocitario che consente l'ingresso del glucosio nella cellula attraverso i canali delle acquaporine. L'ingresso del glucosio consente la metabolizzazione di questo attraverso la glicolisi anaerobica con produzione di glicerolo. Questo si lega agli acidi grassi per formare i trigliceridi.

Alla costruzione si oppone la dissoluzione dei trigliceridi. Questa avviene attraverso la lipolisi caratterizzata dall'idrolisi dei trigliceridi per azione di una idrolasi detta lipasi ormonosensibile. La lipasi ormonosensibile viene attivata dall'AMP-c liberato dalla stimolazione ormonale adrenergica. Anche sulla lipolisi l'insulina svolge la sua azione, in questo caso ovviamente inibitoria. Infatti, blocca la formazione dell'AMP-c inibendo l'attivazione della lipolisi. La stimolazione adrenergica, come detto, attiva la lipolisi attraverso lo stimolo dei recettori beta adrenergici. L'adrenalina tempera il suo effetto stimolando contemporaneamente i recettori alfa 2 adrenergici che, invece di stimolare, inibiscono la lipolisi. L'idrolisi dei trigliceridi libera glicerolo ed acidi grassi. Questi prodotti, se ristagnano nel citoplasma, tendono a ricombinarsi. Per questo la lipolisi si deve completare con il passaggio degli acidi grassi all'interno dei mitocondri e con la loro metabolizzazione. La lipolisi è sotto il controllo ormonale e nervoso. Quest'ultimo svolge sia azione di stimolo sia d'inibizione.

Altri ormoni presentano un'azione liposintetica. Gli estrogeni, come pure l'insulina, agiscono a livello del DNA adipocitario stimolando il PPAR (recettore di attivazione del perissosoma) che induce la sintesi degli enzimi liposintetici. Il growth hormon presenta un'azione lipolitica indiretta. Infatti inattiva il recettore PPAR impedendo la sintesi degli enzimi liposintetici. Questo sposta l'equilibrio liposintesi/lipolisi a favore della lipolisi.

Come detto il tessuto adiposo è un tessuto di derivazione mesenchimale. La cellula staminale progenitrice si differenzia prima in adipoblasto, poi in preadipocita ed infine in adipocita. L'adipocita si accresce, aumentando il suo volume, e si moltiplica, aumentando il numero. La moltiplicazione adipocitaria avviene solo in due periodi della vita: nel terzo trimestre di gravidanza (feto) e nella pubertà. Da ciò la necessità di evitare uno stimolo moltiplicativo del tessuto adiposo in questi due periodi. I tessuti adiposi iperplastici (formati da molte cellule) sono la base per lo sviluppo dell'obesità dell'adulto.

Il risultato del trattamento delle adiposità ipertrofiche è migliore del trattamento delle adiposità iperplastiche. Questo perché l'adipocita tende a mantenere costante il suo volume. Da ciò lo stimolo lipolitico di una cellula ipertrofica porta alla normalizzazione del volume adipocitario; mentre la riduzione di volume di un adipocita normale, avrà breve durata perché, al ritorno delle condizioni normali, la cellula riprende il suo volume.

Il numero di cellule adipose può aumentare anche per aumento di peso. Quando noi ingrassiamo, le cellule adipose, raggiunta una determinata volumetria, stimolano la moltiplicazione delle cellule staminali con aumento del numero di adipociti. Quando il volume dell'adipocita supera il 170% del volume normale, si ha la neoformazione di adipociti per stimolo e differenziazione delle cellule staminali adipose.

Cellule staminali di derivazione adipocitaria (ASCs) sono state isolate nel tessuto adiposo umano e sono localizzate negli spazi perivasali. Riguardo le cellule staminali del tessuto adiposo, il numero di cellule presenti è di 1:50 contro le 1:10000 del midollo osseo.

Il processo di attivazione delle cellule staminali consegue all'iperplasia adipocitaria. Le cellule fibrotiche perivasali si differenziano in adipoblasti che a loro volta si trasformano in preadipociti ed adipociti, attraverso l'attivazione di recettori per gli acidi grassi.

L'adipocita umano presenta delle variazioni di diametro che possono passare da 10 e 100 μm . Delle variazioni di volume che possono passare da 0,5 ed 1,2 μgr . Il numero degli adipociti, normalmente è di 30×10^9 . Il tessuto adiposo si differenzia dagli altri tessuti anche per la sua composizione. Infatti è formato dal 18% di acqua, dall'80% di trigliceridi e dal 2% di proteine.

L'aumento di volume non può superare la volumetria caratteristica dell'inizio della divisione cellulare. L'adipocita differenziato, non potendo moltiplicarsi, blocca la neoformazione dei trigliceridi impedendo l'ingresso nella cellula di glucosio. Questo consegue al fenomeno della down regulation del recettore dell'insulina.

Nella differenziazione in adipociti intervengono principalmente ormoni quali, appunto, l'insulina e l'IGF1. Ma anche il T3, le prostacicline ed i glucocorticoidi svolgono questa funzione.

Il volume adipocitario è anche funzione dei regolari scambi microcircolatori. Maggiore è il contatto tra l'adipocita ed il capillare e più facile è il mantenimento di un giusto volume degli adipociti.

Parliamo ora del trattamento degli eccessi adiposi.

Il trattamento degli eccessi adiposi varia sulla base della disposizione del tessuto adiposo. Gli eccessi adiposi generalizzati richiedono un trattamento sistemico (dietoterapia); quelli localizzati richiedono trattamenti locali di tipo lipolitico e/o lipoclasico.

Il trattamento degli eccessi adiposi può essere medico o chirurgico, ma sempre richiede prima una valutazione diagnostica. Dobbiamo differenziare un eccesso generalizzato da uno localizzato. Il primo richiede un trattamento sistemico, il secondo uno locale.

Il trattamento sistemico dell'adiposità generalizzata richiede un regime dietetico ipocalorico. (Fabbisogno energetico -1300 Kcal) od un trattamento aminoacidico che diminuisca la secrezione dell'insulina ed aumenti quella del growth hormon.

Come detto, l'eccesso di grasso generalizzato non si determina con la misurazione del solo peso e dell'altezza (BMI). Ma con il calcolo della massa adiposa e con il confronto del valore determinato con quello normale. L'eccesso adiposo generalizzato si corregge normalmente con una dieta ipocalorica. Questa permette di ridurre l'apporto energetico di paziente riducendo il deposito sotto forma di grasso a parità di dispendio energetico. Elaboriamo, ora, il fabbisogno energetico di un paziente. Il fabbisogno energetico è uguale al metabolismo basale moltiplicato il fattore di attività e moltiplicato il fattore di stress. Calcoliamo il metabolismo basale, cioè la quantità di energia necessaria per i normali processi vitali dell'organismo. L'equazione di Harris e Benedict ci aiuta a calcolare il valore del metabolismo basale. O, più semplicemente, il metabolismo basale viene calcolato moltiplicando un fattore, diverso per l'uomo e per la donna, per la superficie corporea e per il tempo (normalmente le 24 ore). La superficie corporea si ottiene con la radice quadrata dell'altezza, espressa in metri, moltiplicata per il peso, espresso in chili, diviso 60. Il fattore di attività varia a seconda delle abitudini del paziente tra 1,6 e 2,0. Il fattore di stress varia tra 1,2 e 1,5.

La dieta giornaliera di un soggetto deve essere equilibrata nei contenuti e corretta nel numero di calorie. Dal valore calorico di questa dieta partiamo per calcolare la riduzione energetica necessaria al dimagrimento. Dobbiamo determinare una perdita di 1 chilo di grasso la settimana per evitare perdita di massa magra. Questo perché un chilo di grasso corrisponde a 9000 calorie, che divise in 7 giorni ci danno 1300. La dieta ipocalorica determina però l'attivazione del processo biochimico della fame.

Questa (la fame) può essere ridotta stimolando con infiltrazioni intradermiche, irritanti, di acqua distillata dei punti specifici dell'agopuntura. La stimolazione dello stomaco 36 riduce il senso di fame ed attiva i processi digestivi. Il punto viene reperito in una depressione presente lungo la linea mediana tra la tuberosità tibiale e la testa del perone. Si deve scendere lungo questa linea per 3 cun (un cun è uguale alla lunghezza della falange media del dito medio del paziente). Segnato il punto il paziente può anche autostimolare la zona nei momenti di fame.

Possiamo utilizzare anche l'endomodulazione somministrando triptofano per ottimizzare la formazione di serotonina (neuromediatore che stimola il centro della sazietà) o fenilalanina come precursore della colecistochinina (neuromediatore che stimola il centro della sazietà).

Possiamo utilizzare anche la fitoterapia con:

- . Citrus Auranticum che contiene Sinefrina e Ephedra Sinica che contiene Efedrina, alcaloidi ad attività adrenergica che riducono l'appetito ma con tutta una serie di effetti collaterali sistemici.
- . Griffonia Simplicifolia che contiene 5-OH triptofano, precursore della serotonina che agisce sul centro della sazietà.

Sempre con la fitoterapia possiamo attivare la lipolisi con:

. *Garcinia Cambogia*: contiene acido idrossicitrico capace di bloccare la sintesi di acetilcoenzima A e di ridurre la sintesi degli acidi grassi.

. *Guaranà*: contiene la guaranina, base xantinica capace di attivare la lipolisi (inibizione delle fosfodiesterasi)

Oppure effettuare un trattamento aminoacidico, tecnica medica per la veloce riduzione del grasso in eccesso basata su un particolare sistema alimentare.

Per il trattamento delle adiposità localizzate dobbiamo differenziare un'adiposità ipertrofica da una iperplastica. La prima può essere trattata attivando la lipolisi, la seconda richiede una lipoclastasi (distruzione del tessuto adiposo).

L'attivazione della lipolisi richiede l'uso di farmaci inibenti l'azione delle fosfodiesterasi. E di farmaci che veicolino gli acidi grassi liberi nei mitocondri impedendo la loro riesterificazione. L'attivazione della lipolisi non può essere indotta direttamente per i possibili effetti collaterali dei farmaci beta stimolanti (tiroxina, catecolamine). L'attivazione indiretta si effettua con il blocco delle fosfodiesterasi 3 indotto dalle basi xantiche (aminofillina). Gli acidi grassi liberati per idrolisi vengono veicolati nei mitocondri dalla carnitina e qui subiscono la metabolizzazione finale.

Anche in questo caso il farmaco viene diluito prima dell'uso. Una fiala di aminofillina e mezza fiala di carnitina vengono diluiti a 100 cc con soluzione fisiologica, ottenendo una diluizione D2. Al momento dell'uso un millilitro della soluzione D2 viene diluito con 9 cc. Di soluzione fisiologica ottenendo una diluizione D3.

Si effettuano iniezioni intradermiche del principio attivo, a tappeto su tutta la zona interessata. La cessione graduale dei principi attivi, caratteristica della mesoterapia, porta ad una somministrazione settimanale degli stessi.

Le forma iperplastiche richiedono una distruzione del tessuto adiposo in eccesso (lipoclasti).

La lipoclasti può essere medica o chirurgica. La prima prevede l'intervento di liposcultura.

Le tecniche mediche utilizzate sono:

- . Ossigenoclasti
- . Adipoclasti Osmotica
- . Adipoclasti Emulsiva
- . Adipoclasti per Apoptosi
- . Idrolipoclastia Ultrasonica

L'uso dell'ossigeno in medicina estetica deve essere riservato al trattamento classico (distruttivo) delle volumetrie di tessuto in eccesso (adiposità localizzate). Infatti la sua azione biologica è ossidativa e quindi dannosa se non regolata.

L'ossigeno è normalmente utilizzato dalle cellule per ossidare le deidrogenasi ridotte prodotte dai vari metabolismi catabolici. Questa ossidazione avviene a livello della catena del trasporto degli elettroni presente nei mitocondri ed è accoppiata alla fosforilazione ossidativa e porta alla formazione di ATP (molecola ad alto contenuto energetico). Nel corso di questa serie di reazioni enzimatiche l'atomo dell'ossigeno riceve due elettroni che, oltre a completare il suo ottetto, gli consentono di legarsi a due ioni idrogeno formando una molecola di acqua. Questo processo, permesso dalla

citocromossidasi, richiede un tempo intermedio. Infatti la presenza di due elettroni con il medesimo spin sullo stesso orbitale consente l'accesso del primo elettrone facilmente, mentre per il secondo, la necessità di invertire lo spin prima dell'unione, porta ad un rallentamento temporale. In questo tempo intermedio, infinitesimale, l'ossigeno, con un elettrone in più e quindi in forma radicalica, può liberarsi (escape) e ossidare le strutture biologiche cellulari con danno funzionale e strutturale.

Tutti i tessuti utilizzano ossigeno per le loro reazioni ossidative ed un grammo di tessuto utilizza 6×10^{20} molecole di ossigeno per ogni minuto di attività metabolica. L'iperossia (aumento della concentrazione parziale di ossigeno) non migliora lo stato metabolico del tessuto, come alcuni pensano, ma, al contrario, determina danno biologico. Infatti, David Joyce in un articolo del 1987 pubblicato su *Adverse Drug Reaction Bulletin* ci descrive i danni biologici dell'iperossia:

"... L'iperossia determina la trasformazione della xantina deidrogenasi in xantina ossidasi. Questa utilizza O_2 al posto del NAD generando O_2^- (radicale libero dell'ossigeno). L'eccessiva formazione di radicali liberi dell'ossigeno annulla i meccanismi di difesa degli antiossidanti cellulari e determina ossidazione dei tessuti con lipoperossidazione delle membrane biologiche, danno e morte cellulare."

Da ciò, generare un'iperossia nei tessuti mediante l'infiltrazione di ossigeno medicale, genera danno lipoperossidativo nelle cellule che li compongono con morte cellulare e riduzione del volume del tessuto. Se consideriamo l'introduzione di un millilitro di gas, contenente 6×10^{22} molecole di ossigeno, in 10 grammi di tessuto abbiamo una concentrazione in ossigeno dieci volte maggiore del normale con conseguente iperossia e danno classico.

Considerando che l'ossigeno è una sostanza apolare e manifesta una debole tendenza a disciogliersi in acqua e che i tessuti biologici sono principalmente composti di acqua, l'infiltrazione di ossigeno nei tessuti porta ad una localizzazione dello stesso nel punto d'introduzione e la sua diffusione locale può avvenire soltanto manipolando il tessuto. Questo ci assicura dalla diffusione a distanza dell'ossigeno e dal possibile danno da questo in parenchimi nobili. La sua apolarità permette una miglior diffusione nel tessuto adiposo, zona dove normalmente desideriamo una riduzione di volume (adiposità localizzate e/o lipomi).

Altra cosa importante da evidenziare nell'uso dell'ossigeno per la classificazione del tessuto adiposo è che la produzione dei radicali liberi (responsabili del danno) avviene solo all'interno della cellula per attivazione del sistema xantina-deidrogenasi/xantina-ossidasi. Questo consente un'autolimitazione del danno perché la produzione intracellulare di radicali liberi dell'ossigeno si blocca con la morte della cellula stessa.

Da quanto esposto, possiamo evidenziare che, di là dal danno classico richiesto per la zona in trattamento, non esiste possibilità di problemi clinici che possano limitare l'uso dell'ossigeno medico nel trattamento di Ossigenoclasti. Anche il pensiero che il gas possa produrre emboli gassosi, deve essere completamente confutato perché l'ossigeno gorgogliante nel sangue viene immediatamente fissato all'emoglobina dei globuli rossi e non può indurre questo problema.

Il nostro protocollo nel trattamento delle adiposità localizzate prevede l'infiltrazione intradiposa di 1 millilitro di ossigeno medico per centimetro cubo di grasso, con una manipolazione profonda immediatamente successiva

all'infiltrazione. Il trattamento si ripete ogni 7-14 giorni fino ad ottenimento del risultato.

CAPITOLO 11

Rigenerazione con i Fattori di Crescita Piastrinici

Nel 2001, un giorno, a Barcellona, Victor Garcia mi iniziò a parlare di fattori di crescita piastrinici. Questi piccoli frammenti proteici erano già in uso in medicina con lo scopo di migliorare i tempi di guarigione delle ferite, mediante la loro applicazione topica. Victor mi fece vedere i risultati di questo trattamento e mi disse che stava iniziando ad utilizzarli per via iniettiva, nel derma, per biostimolare la cute.

Mi chiese cosa ne pensavo sul piano biologico e, come spesso avveniva tra noi, mi diede "i compiti a casa" per approfondire la biologia dei fattori di crescita.

Io avevo una piccola esperienza sull'argomento per la biostimolazione che, un tempo, facevamo anche con gli estratti placentari e avevo approfondito il meccanismo d'azione di questi studiando dei lavori dell'Università di Catania datemi dall'amico Franco Goretti che lavorava per la Geymonat, venditrice del farmaco che li conteneva.

Iniziai a studiare e in abbinamento con Victor Garcia, che lavorava sul piano clinico ed istologico, formulammo il protocollo finale, chiamato Full Face Regeneration, che pubblicammo nel 2010.

Negli anni dal 2001 al 2010 la **Rigenerazione con i Fattori di Crescita Piastrinici**, nata dall'intuizione di Victor Garcia, iniziò a diffondersi nel mondo e, nel 2003, io la lanciai, per la prima volta, in Italia.

Approfondiamo ora la rigenerazione dei tessuti del volto, il Full Face Regeneration.

Nel processo di rigenerazione, utilizziamo i fattori di crescita. I fattori di crescita sono dei piccoli frammenti proteici appartenenti al gruppo delle citochine, prodotti da vari tipi di cellule e tessuti. I Fattori di Crescita vengono nominati in funzione dei tessuti che stimolano. Si utilizzano delle sigle formate dalle lettere GF precedute dalle iniziali dei tessuti di origine.

Si inizia a parlare di fattori attivi presenti nel sangue già nel 1971. E nel 1974 si afferma che fattori di derivazione piastrinica agiscono sulla proliferazione cellulare. Ma è nel 1986 che, con la scoperta del Nerve Growth Factor da parte della professoressa Rita Levi Montalcini in collaborazione con il professor Cohen, si comprendono i meccanismi biologici di questi fattori. Montalcini e Cohen ricevono per questa scoperta il Premio Nobel per la medicina.

I Fattori di crescita agiscono sulla cellula determinando sia la proliferazione (moltiplicazione), sia l'aumento della funzione metabolica. Per svolgere la loro azione si legano a particolari recettori, detti recettori della tirosin-kinasi, e questo legame determina una serie di attivazioni intracellulari che portano alla risposta biologica.

I recettori della tirosin-kinasi sono così chiamati perché hanno nella loro porzione intracellulare dei residui di tirosina che si fosforilano una volta attivato il recettore. La fosforilazione innesca le reazioni di attivazione cellulare. Queste iniziano con l'attivazione del Growth Factor Receptor-Bound Protein 2. All'attivazione del Growth Factor Receptor-Bound Protein 2 segue, con l'attivazione del RAS, la formazione della Mitogen Activated Protein Kinase. La MAPK attiva l'AP-1 Transcription Factor, necessario alla lettura del DNA. L'AP-1 Transcription Factor, con i geni Jun e Fos, permette l'attacco della RNA-Polimerasi che legge DNA per consentire la sintesi

proteica. Il Mitogen Activated Protein Kinase induce anche la moltiplicazione cellulare.

Dobbiamo approfondire il concetto fisiologico di proliferazione per distinguerlo da quello patologico della cancerogenesi.

La proliferazione cellulare è caratterizzata dall'attivazione del processo mitotico che, ripetuto, porta ad aumento del numero di cellule. Questo processo rappresenta la base per il mantenimento funzionale dei tessuti costituiti da cellule labili che debbono essere continuamente ricambiate.

L'attivazione della Mitogen Activated Protein Kinase determina attivazione delle Cicline che portano sia alla duplicazione del DNA, sia alla attivazione della mitosi. La mitosi viene poi regolata dalla proteina p27 Kip1 che si lega alle Cicline bloccando la loro azione e fermando la proliferazione. E' la proteina p27 Kip1 che svolge la funzione del processo d'inibizione di contatto che porta al blocco della mitosi quando lo spazio della proliferazione cellulare è completato.

La proliferazione avviene sia nelle cellule normali che nelle cellule neoplastiche. Il passaggio da una cellula normale ad una neoplastica richiede delle mutazioni del DNA. Le mutazioni del DNA devono essere ripetute e stabili. Le mutazioni del DNA riconoscono varie cause: radiazioni, sostanze chimiche, virus. Tutte queste agiscono negativamente su soggetti predisposti al cancro su base genetica.

La trasformazione cancerogena richiede danni ripetuti su diversi punti d'azione. Si deve avere:

- L'attivazione dei proto-oncogeni
- La soppressione degli inibitori
- La riduzione dell'apoptosi

- Il blocco del DNA Repair

Nella cellula normale abbiamo una crescita controllata mentre, nella cellula cancerogena, le mutazioni dei proto-oncogeni silenziati, inducono una proliferazione anarchica. I proto-oncogeni sono importanti per l'ontogenesi. Infatti permettono la formazione dell'embrione e dei suoi differenti tessuti. Finito il loro compito vengono silenziati.

La cellula mantiene una normale attività proliferativa, caratterizzata dall'inibizione di contatto. Una mutazione dei proto-oncogeni porta alla loro de-repressione con l'inizio di una moltiplicazione anarchica e con la formazione di una neoplasia.

Abbiamo sempre una bilancia che regola, da una parte, la proliferazione e la sopravvivenza cellulare e, dall'altra, la soppressione della mitosi e l'attivazione dell'apoptosi. Questo consente di limitare le proliferazioni anomale.

Il primo blocco allo sviluppo neoplastico è dato dai geni soppressori. Una seconda mutazione, alterando i geni soppressori, induce una divisione cellulare incontrollata. La somministrazione delle due mutazioni può indurre la trasformazione cancerogena della cellula.

Ma cosa avviene dopo una mutazione. Continuamente il DNA viene verificato nella sua normalità e, in caso di danni, vengono asportate le porzioni danneggiate e sostituite con nuove triplette funzionali. Questo sistema, definito DNA Repair, viene attivato da vari punti della funzione cellulare. Ma possiamo avere anche una mutazione dei geni del DNA Repair. In questo caso non si ha riparazione e si può sviluppare un cancro.

Il riconoscimento dei danni cellulari porta all'attivazione della Tumor Protein 53. Il p53 induce l'apoptosi della cellula danneggiata. Il processo apoptotico

segue all'attivazione della cascata delle caspasi che porta alla dissoluzione del nucleo e alla fagocitosi della cellula danneggiata.

Quindi, se la cellula mantiene un p53 funzionale può opporsi alla trasformazione cellulare da mutazione genetica con l'apoptosi e la morte cellulare. Ma possiamo avere anche un'alterazione delle funzioni del p53. Questo consente alla cellula di continuare la sua vita e consente lo sviluppo del cancro.

Quindi, la trasformazione in cancro di una cellula richiede ripetute mutazioni che inducano l'attivazione degli oncogeni, il blocco dei soppressori, l'incapacità di riparazione del danno e l'assenza di apoptosi. Anche dopo tutto questo, l'organismo può ancora difendersi con il suo sistema immune. L'attivazione dei Natural Killer e delle cellule citotossiche consente di bloccare l'espansione delle cellule neoplastiche che si formano continuamente nel nostro organismo.

Quindi, anche se le ripetute mutazioni inducono l'attivazione degli oncogeni, il blocco dei soppressori, l'incapacità di riparazione del danno e l'assenza di apoptosi, solo se il sistema immune non è funzionale, si può sviluppare un cancro.

Vediamo ora l'uso clinico dei fattori di crescita piastrinici.

Nel 1999 il dott. Eduardo Anitua inizia ad utilizzare il PDGF per migliorare i processi di riparazione. In questi lavori, i fattori di crescita piastrinici, applicati sopra la lesione, inducevano una rapida riparazione.

Questi primi lavori si basavano sull'utilizzazione dei fattori di crescita piastrinici concentrati (PRP), per apposizione topica su di una lesione. Per una corretta risposta clinica, nell'applicazione topica, si richiede l'aumento delle concentrazione piastrinica di 5 -10 volte rispetto al normale (PRP).

Nel 2001, il Prof. Garcia inizia la biostimolazione della cute con fattori di crescita piastrinici, introducendoli direttamente all'interno del derma ed inducendo una rigenerazione del tessuto cutaneo.

E' molto importante differenziare il concetto di rigenerazione da quello della riparazione. Ricordiamo che con il termine di rigenerazione intendiamo un processo fisiologico che porta alla continua ricostruzione dei tessuti labili. Cioè, nella rigenerazione abbiamo una normalizzazione della quantità di tessuto funzionale.

Con il termine di riparazione, invece, intendiamo un processo fisiopatologico che porta al compenso di un danno tessutale con la neoformazione di un nuovo tessuto (tessuto fibrotico), ricco di collagene di I° tipo (cicatrizziale). Nella riparazione, l'aumento del collagene di I° tipo è negativa per la gioventù della cellula. Ricordiamo che nella cute giovane c'è un alto rapporto tra collagene di III° tipo e collagene di I° tipo. Questa proporzione decresce con l'aumento dell'età ed il collagene di III° tipo è un marker della giovinezza della cute. Infatti, l'aumento del collagene di I tipo caratterizza una cute invecchiata, mentre, l'aumento del collagene di III tipo caratterizza una cute giovane.

Vediamo ora l'uso dei fattori di crescita e della medicina rigenerativa nella medicina estetica. Come detto, nel 2001, il Prof. Garcia inizia la biostimolazione della cute con fattori di crescita piastrinici, introducendoli direttamente all'interno del derma ed inducendo una rigenerazione del tessuto cutaneo. Dal 2001 al 2010 sono stati fatti numerosi studi di ricerca fondamentale e di clinica che hanno portato alla messa a punto del protocollo finale, successivamente pubblicato.

Parliamo di Full Face Regeneration perché possiamo rigenerare:

- L'epidermide
- Il derma
- L'ipoderma
- L'osso

Per ottenere questo utilizziamo prodotti autologhi del paziente ed in particolare:

- Autologus Platelets Derived Growth Factors
- Autologus Platelets Rich Plasma
- Autologus Plasmatic Fibrin
- Autologus Adult Fat Stem Cells
- Autologus Biological Tissue Support

Gli studi sono iniziati da un approfondimento delle nostre conoscenze sul PDGF. Il PDGF è particolarmente indicato per la rigenerazione della cute perché svolge un'azione specifica sulla sintesi della matrice dermica e sull'attivazione fibroblastica.

I fattori di crescita piastrinici sono contenuti nelle piastrine all'interno di specifici granuli. Il PDGF viene liberato dalle piastrine legato all'eparina. Distaccato, in forma dimerica, si lega ai recettori della tirosinKinasi con attivazione cellulare. Le piastrine contengono vari tipi di granuli. I granuli alfa sono capaci, di liberare PDGF, PF4, Fatt. V, Fatt. XIII, fibrinogeno, mentre i granuli delta liberano serotonina, ADP e calcio. Attorno alle piastrine sono presenti numerosi altri fattori di crescita che contribuiscono alle funzioni biologiche di rigenerazione tessutale. Il PDGF è attivo sulla sintesi del collagene e sull'angiogenesi. L'Epidermal Growth Factor induce la proliferazione delle cellule epidermiche. Il Trasforming Growth Factor

rimodella il collagene neoformato. I Fibroblast Growth Factor agiscono sulla proliferazione e la differenziazione dei fibroblasti.

Fisiologicamente la lesione di un vaso, induce l'aggregazione piastrinica e la degranolazione dei granuli interni. Il danno porta a contatto delle cellule ematiche con il connettivo perivasale. Le piastrine si legano al collagene extravasale mediante il fattore di von Willebrand . Questo porta all'Adesione piastrinica e alla successiva Aggregazione piastrinica. Il legame delle piastrine al collagene connettivale induce la loro attivazione e la degranolazione con liberazione dei fattori di crescita. Lo studio della letteratura ha portato alla luce caratteristiche del PDGF utili alla formulazione del nostro protocollo.

Un lavoro pubblicato su J.Biol Chem nel luglio del 2008 ci dice che: - Già con solo con 5 ng/ml si ha una forte induzione alla proliferazione fibroblastica. Quindi anche solo 5 ng/ml attivano i recettori cellulari con risposta biologica interna.

Un lavoro pubblicato su Blood nell'agosto del 1984 ci dice che: la concentrazione di PDGF, in un siero umano sano, dopo la degranolazione piastrinica, è di circa 20 ng/ml e l'emivita del PDGF è molto breve, circa 2 minuti. Cioè, un millilitro di plasma normale libera, dalle piastrine in esso contenute, 20 ng di PDGF e il tempo d'azione del PDGF è molto breve perché dopo 2 minuti è già dimezzato.

Un lavoro del 2008 pubblicato su Communicative & Integrative Biology scrive che: - dopo 6-8 ore da una stimolazione fibroblastica con PDGF si ha un reclutamento di recettori sulla superficie cellulare. Quindi, trascorse 6-8 ore da una prima biostimolazione si ha un aumento di recettori della tirosin-

chinesi e una seconda stimolazione, questa volta con PRP, determina una maggiore risposta biologica.

Normalmente, una cellula non presenta espressi in superficie tutti i suoi recettori. Quando riceve uno stimolo positivo, manda un'informazione ai recettori interni. Questi vengono reclutati ed espressi sulla superficie della membrana cellulare. Una seconda stimolazione, effettuata con una concentrazione maggiore di stimolanti, determina una maggior risposta biologica. Una nuova stimolazione dopo 6-8 ore con PRP consente una risposta clinica maggiore.

Gli studi istologici del Prof. Garcia e del Dott. Gonzales-Nicolas, inoltre, ci hanno aperto delle nuove conoscenze sulla biostimolazione con PDGF. Dopo 7 giorni dalla biostimolazione con PDGF abbiamo il massimo dell'angiogenesi. Dopo un mese abbiamo il massimo di fibroblasti attivati. Dopo due mesi abbiamo una neocollagenogenesi di collagene reticolare (III tipo) con ringiovanimento biologico della cute. Infatti, nella cute giovane c'è un alto rapporto tra collagene di III° tipo e collagene di I° tipo.

Riassumendo: All'interno e intorno alle piastrine ci sono numerosi fattori di crescita. Il contatto delle piastrine con il tessuto connettivo determina l'attivazione di queste e la degranolazione dei granuli contenuti all'interno. La degranolazione dei granuli alfa porta alla liberazione dei fattori di crescita e alla loro funzione biologica. Per indurre una risposta biologica sono sufficienti 5 ng/ml di fattori di crescita. nel plasma normale abbiamo una concentrazione di 20 ng/ml di PDGF. L'emivita del PDGF è brevissima, due minuti. Dopo 6-8 ore dall'attivazione con PDGF si ha un reclutamento di nuovi recettori sulla parete del fibroblasto. Dopo 30 giorni dal PDGF si ha il picco

numerico massimo dei fibroblasti attivati. All'attivazione fibroblastica segue la neoformazione di collagene di III° tipo (reticolare).

Veniamo all'attuazione pratica. Il Full Face Regeneration si divide in due tempi. Nel primo trattiamo la cute e, questo trattamento, viene ripetuto più volte nell'anno. Nel secondo trattiamo grasso ed osso e, questo, si ripete sino al risultato.

Vediamo la rigenerazione del derma cutaneo. Il Dermal Regeneration si divide in tre fasi. Nella prima fase utilizziamo i fattori di crescita piastrinici del paziente in concentrazione normale. Effettuiamo un prelievo venoso in provette con citrato di sodio. Il Sodio Citrato, in presenza di ioni calcio, forma il Calcio Citrato, più stabile. La sequestrazione del calcio porta all'impossibilità di far passare la protrombina in trombina e quindi impedisce la coagulazione del sangue.

Preleviamo 20 ml di sangue venoso. Per ottenere, dopo la centrifugazione, 7-8 ml di plasma. Possiamo utilizzare le provette BD Vacutainer Glass Citrate Tube No. 367704. Non certificate per l'uso umano. Possiamo utilizzare kit certificati per l'uso umano con, però, un alto costo ed il vantaggio del gel separatore. Le provette con il gel ci consentono di centrifugare ad alta velocità per un lungo tempo. Il gel separa i globuli rossi ed i polimorfonucleati dal plasma con le piastrine (ed i linfociti). Dopo si inverte, più volte la provetta, per omogeneizzare le piastrine nel plasma. E, a provetta invertita, preleviamo tutto il plasma.

Per le provette prive di gel (non certificate), dobbiamo tarare la nostra centrifuga prima di iniziare i trattamenti, al fine di ottenere una corretta concentrazione di piastrine. Il tempo ed il numero di giri variano sulla base del raggio della centrifuga. Per le piccole centrifughe (raggio 8 cm) il tempo

di centrifugazione è intorno agli 8 minuti per un numero di giri di 1200/min. Ma possiamo utilizzare una piccola tecnica per facilitare la taratura della nostra centrifuga.

Facciamo delle prove, aumentando o diminuendo i parametri, fino ad ottenere una corretta separazione della parte corpuscolata dal plasma, evidenziando un plasma torbido per la presenza di piastrine. A questo punto, verifichiamo, con una conta piastrine, il valore su sangue intero e sul nostro plasma. Dobbiamo avere una concentrazione di almeno il 50% rispetto al valore su sangue intero, considerando che nel plasma abbiamo 4 volte la concentrazione in piastrine necessaria all'attivazione cellulare. A questo punto, possiamo separare il plasma, prelevandolo nel suo insieme. La siringa con il plasma deve essere agitata per omogeneizzare le piastrine.

Recentemente Victor Garcia ha proposto una novità che ci consente di non utilizzare le provette. (superando sia il problema della certificazione sia quello del costo). Colleghiamo ad un butterfly un rubinetto a due vie. A questo colleghiamo due siringhe da 10 ml con stantuffo dividibile. In ogni siringa mettiamo 1 ml di citrato di sodio al 3,8% sterile. Preleviamo 20 ml di sangue. Tutto il materiale utilizzato è mono uso. Ideale è il reperimento di siringhe senza silicone interno, con attacco luer lock e con stantuffo spezzabile. Rompiamo o tagliamo lo stantuffo alle siringhe e mettiamo un tappo sterile al posto dell'ago. E, se non abbiamo siringhe senza silicone, effettuiamo una prima centrifugazione ad alto numero di giri (4000 giri per 10 minuti). Togliamo il tappo alla siringa e la colleghiamo con un connettore ad un'altra. Aspiriamo quasi tutta la parte corpuscolata. Rimettiamo il tappo e agiamo il plasma nella siringa. Effettuiamo una nuova centrifugazione a basso numero di giri (1200 giri per 8 minuti). Ripetiamo l'aspirazione

eliminando definitivamente la parte corpuscolata. Ruotiamo la siringa per omogeneizzare le piastrine nella stessa. Siamo pronti per l'uso.

Ora possiamo effettuare la biostimolazione con il plasma prelevato. Durante la centrifugazione del sangue, prepariamo la cute della nostra paziente applicando una maschera anestetica. Tolta la maschera anestetica, disinfettiamo la cute. Effettuiamo la biostimolazione dermica su viso, collo, décolleté e mani, infiltrando il plasma con un ago da 4 mm 30 G. E' importante verificare la formazione del ponfo, segno di introduzione intradermica, necessaria per l'attivazione piastrinica. L'introduzione intradermica porta le piastrine a contatto con il collagene dermico, alla loro attivazione e alla successiva degranolazione. E' il calcio che induce la degranolazione piastrinica. Questo viene liberato per via endogena per l'attivazione dei recettori del collagene delle piastrine. La degranolazione libera il fattore di crescita che, staccatosi dall'eparina, agisce sui recettori cellulari. Dopo il trattamento, la zona non deve essere contaminata con creme o trucchi e deve essere ben sterilizzata.

Nella seconda fase utilizziamo i fattori di crescita piastrinici concentrati. Questo perché, dopo 6-8 ore abbiamo il reclutamento recettoriale sui fibroblasti. La prima attivazione richiama nuovi recettori sulla parete del fibroblasto e la seconda, effettuata con una maggior concentrazione di piastrine, induce una risposta metabolica superiore. Per questo effettuiamo la seconda biostimolazione con Plasma Ricco in Piastrine (terzo inferiore della provetta centrifugata).

Preleviamo 20 ml di sangue venoso. Effettuiamo la centrifugazione secondo la taratura della nostra centrifuga (1200 giri/min per 8 min). Otteniamo la separazione del plasma con una diversa concentrazione piastrinica (PRP in

basso). Asportiamo tutta la parte superiore del plasma e preleviamo, per l'uso, solo il terzo inferiore. Agitiamo la siringa per omogeneizzare le piastrine nel plasma. Nelle provette con gel, dopo la centrifugazione, asportiamo la porzione superiore del plasma lasciando solo il terzo inferiore. Agitiamo la provetta e preleviamo il Plasma Ricco in Piastrine.

Secondo la nuova tecnica, sicura e senza costo. Colleghiamo ad un butterfly un rubinetto a due vie. A questo colleghiamo due siringhe da 10 ml con stantuffo dividibile. In ogni siringa mettiamo 1 ml di citrato di sodio al 3,8% sterile. Preleviamo 20 ml di sangue. Tagliamo lo stantuffo alle siringhe e mettiamo un tappo sterile al posto dell'ago. Effettuiamo una prima centrifugazione ad alto numero di giri (4000 giri per 10 minuti). Togliamo il tappo alla siringa e la colleghiamo con un connettore ad un'altra. Aspiriamo quasi tutta la parte corpuscolata. Rimettiamo il tappo e agitiamo il plasma nella siringa. Effettuiamo una nuova centrifugazione a basso numero di giri (1200 giri per 8 minuti). Ripetiamo l'aspirazione eliminando definitivamente la parte corpuscolata. Montiamo una nuova siringa ed aspiriamo il terzo inferiore del plasma, ricco in piastrine (PRP). Effettuiamo il trattamento.

Durante la centrifugazione del sangue, prepariamo la cute della nostra paziente applicando una maschera anestetica. Asportata la maschera anestetica disinfectiamo accuratamente la cute. Effettuiamo la biostimolazione solo nelle zone più danneggiate del volto. Anche in questo caso dobbiamo introdurre il plasma nel derma per consentire il contatto delle piastrine con il collagene dermico. L'attivazione delle piastrine consente la degranolazione di queste e la liberazione di fattori di crescita. Anche in questo caso, dopo il trattamento, la zona non deve essere contaminata con creme o trucchi e deve essere ben sterilizzata.

La terza fase del Dermal Regeneration si effettua con aminoacidi precursori dei componenti del derma e tampone bicarbonato. L'istologia ci dice che dopo 30 giorni dal PDGF si ha il picco numerico massimo dei fibroblasti attivati. Il fibroblasto attivato utilizza gli aminoacidi precursori per formare la giusta concentrazione dei componenti del derma. Gli aminoacidi rappresentano i precursori dei componenti del derma, la somministrazione di un'alta concentrazione di questi consente di ottimizzare il lavoro di fibroblasto. Il tampone bicarbonato mantiene un pH di 7,4 evitando la formazione di collagene di I° tipo. Prepariamo la cute della nostra paziente applicando una maschera anestetica. Asportata la maschera anestetica disinfettiamo accuratamente la cute. Effettuiamo, quindi, una Biostimolazione con Aminoacidi Precursori e Tampone Bicarbonato. Possiamo utilizzare un Medical Device già pronto. Oppure, possiamo preparare noi una miscela di aminoacidi al 3% e tampone bicarbonato. Effettuiamo la biostimolazione dermica su viso, collo, décolleté e mani. Infiltriamo con un ago da 4 mm 30 G. A questo punto dobbiamo fare un'ulteriore chiarimento sul trattamento rispondendo ad alcune domande.

1. Dobbiamo usare PRP o plasma normale?
2. Dobbiamo attivare esternamente la degranolazione?
3. Quale kit dobbiamo utilizzare?
4. Dobbiamo usare piastrine giovani?
5. Dobbiamo evitare la presenza di globuli bianchi?

Iniziamo con la domanda relativa a se dobbiamo usare PRP o plasma normale? Un lavoro pubblicato su Blood nell'agosto del 1984 ci dice che la concentrazione di PDGF, in un siero umano sano, dopo la degranolazione piastrinica, è di circa 20 ng/ml. Ora dobbiamo dimostrare che 20 ng/ml sono

sufficienti per stimolare i recettori presenti sui fibroblasti della zona trattata.

Per ottenere il numero di molecole corrispondenti a 20 ng/ml dobbiamo determinare prima il numero di moli, rapportando i grammi al Peso Molecolare della sostanza. Il Peso Molecolare del PDGF è 300.000 (3×10^5); dividiamo i grammi per il PM ($20 \times 10^{-9} : 300.000$) e otteniamo 6×10^{-13} moli; Il numero di molecole presenti in una mole di sostanza è espresso dal Numero di Avogadro (6×10^{23}); Moltiplicando questo numero per il numero di moli di PDGF liberate otteniamo il valore di 36×10^{10} molecole.

Nel nostro intervento di biostimolazione trattiamo normalmente viso e collo. Sviluppiamo il volume medio di queste zone ed otteniamo il valore di 1000 cmq. La letteratura ci dice che in un cmq di derma sono presenti 10^6 fibroblasti. Moltiplichiamo per il numero di centimetri quadri ed otteniamo 10^9 fibroblasti da stimolare. Nel nostro trattamento utilizziamo 7-8 ml di plasma. Quindi moltiplicando il numero di molecole per millilitro per il nostro volume otteniamo 26×10^{11} fibroblasti. Quindi, se dividiamo 26×10^{11} molecole per 10^9 fibroblasti, otteniamo 2600 molecole per fibroblasto.

Dobbiamo ora verificare se questo numero di molecole è sufficiente per stimolare i recettori della tirosinkinasi presenti sulla superficie dei fibroblasti. Sappiamo che i recettori cellulari (cluster of differentiation) sono stati catalogati, a tutt'oggi, in 350 diversi tipi (International Workshop and Conference on Human Leukocyte Differentiation Antigens) e che i vari tipi sono divisi in famiglie e sottofamiglie. I recettori delle tirosin-kinasi appartengono ad una delle sottofamiglie.

La letteratura ci dice che sulla superficie cellulare abbiamo tra i 10 e il 20 mila recettori di tipo diverso. Possiamo calcolare che il numero dei recettori

della tirosinkinasi si aggiri tra i 500 e i 1000. Quindi le 2600 molecole calcolate rappresentano 3-5 volte la quantità necessaria ad attivare i recettori. Questo era affermato anche dalla letteratura che parlava di 5 ng/ml necessari all'attivazione cellulare, cioè la quarta parte del PDGF presente nel plasma normale (20 ng/ml).

Diversa è la necessità per il trattamento topico. Che richiede una concentrazione piastrinica di 5 -10 volte rispetto al normale.

La successiva domanda è: Dobbiamo attivare la degranolazione prima del trattamento?

Non parliamo (volutamente) dell'attivazione con ozono o con il laser perché dovremmo effettuare critiche importanti. Ma l'uso di attivatori a base di cloruro di calcio è proposto e abbastanza diffuso. Tale uso è importante nelle applicazioni topiche per ottenere la degranolazione piastrinica. Mentre è inutile nell'introduzione dermica delle piastrine. Infatti, l'introduzione intradermica porta le piastrine a contatto con il collagene, alla loro attivazione e alla successiva degranolazione. Le piastrine, nel processo di attivazione, si uniscono al collagene connettivale tramite il fattore di von Willebrant. A questo processo segue la degranolazione con liberazione dei fattori di crescita. E' il calcio che induce la degranolazione piastrinica. Questo viene liberato per via endogena per l'attivazione dei recettori del collagene delle piastrine. E' quindi inutile attivare esternamente la degranolazione, anche perché un lavoro pubblicato su Blood nell'agosto del 1984 ci dice che l'emivita del PDGF è molto breve, circa 2 minuti e un'attivazione esterna rischia di annullare l'effetto biologico.

Ma, come possiamo essere sicuri della degranolazione e dell'azione dei fattori di crescita? Ci vengono in aiuto i corpi densi o granuli delta che

ugualmente si degranulano all'attivazione delle piastrine, liberando serotonina. Quindi, la sicurezza della degranolazione piastrinica l'abbiamo attraverso l'osservazione degli effetti che conseguono la liberazione della serotonina dai granuli densi. Questa induce rossore, calore e prurito al paziente indicandoci la liberazione anche dei fattori di crescita.

Quale kit dobbiamo utilizzare?

Possiamo fare la separazione delle piastrine come vogliamo verificando, però, che il contenuto in piastrine nel plasma da utilizzare rispetti la seguente formula:

Piastrine nel Plasma da usare =

$50\% (\text{Piastrine sangue intero} * \text{Volume prelievo} / \text{Volume Plasma Ottenuto})$

Nel caso dell'uso di una provetta normale (senza gel) si deve essere attenti nell'aspirazione a raccogliere solo il plasma piastrinico senza inquinare con altre cellule. Possiamo utilizzare kit certificati per l'uso umano con lo svantaggio di un alto costo e il vantaggio del gel separatore. Le provette con il gel ci consentono di centrifugare ad alta velocità per un lungo tempo. Il gel separa i globuli rossi ed i polimorfonucleati dal plasma con le piastrine (ed i linfociti).

Bisogna utilizzare un anticoagulante a base di Citrato di sodio al 3,8%. Il Citrato di Sodio determina la sequestrazione del calcio e porta all'impossibilità di far passare la protrombina in trombina, quindi impedisce la coagulazione del sangue. E' il calcio che induce la degranolazione piastrinica. Questo è liberato, per via endogena, per l'attivazione dei recettori del collagene delle piastrine.

Recentemente sono venute in commercio delle provette con gel, certificate per l'uso clinico e a basso costo, prodotte in Russia. Queste presentano

l'inconveniente di avere dell'eparina come anticoagulante. L'eparina induce aggregazione delle piastrine, all'attivazione di queste e alla degranolazione, in vitro. Questo porta alla diminuzione del numero delle piastrine attive contenenti PDGF e alla loro funzione biologica.

Dobbiamo usare piastrine giovani?

La vita media delle piastrine è di nove giorni. Distinguiamo piastrine giovani, più pesanti, e piastrine vecchie, più leggere. I due gruppi si differenziano per la concentrazione di fattore 3 ma non presentano differenza nel contenuto di fattori di crescita all'interno dei granuli. Da ciò, la perdita prevalente di piastrine giovani, presenti sul fondo della provetta, non preclude la risposta clinica. Importante è sempre il numero.

Dobbiamo evitare la presenza di globuli bianchi?

Coloro che giudicano negativa la presenza di leucociti nel plasma da iniettare, affermano che, mentre le piastrine rigenerano il tessuto, i linfociti ed i neutrofili portano a danno della matrice per liberazione di metalloproteinasi ed interleuchine infiammatorie. Ma facciamo una valutazione biologica su cosa accade quando piastrine e leucociti si trovano nel derma. Le piastrine si attivavano unendosi al collagene connettivale tramite il fattore di von Willebrand. A questo processo segue la degranolazione con liberazione dei fattori di crescita. I granulociti per attivarsi e liberare sostanze attive devono trovarsi in un ambiente infiammatorio. Anche per i linfociti è necessaria un'attivazione che richiede la processazione di un antigene da parte di un macrofago e la presentazione di questo al linfocita. Inoltre, la letteratura è contrastante in proposito e troviamo, addirittura, lavori che affermano un miglior risultato clinico con l'uso di piastrine e leucociti.

Vediamo ora la rigenerazione epidermica. I fattori di crescita, anche se introdotti per via dermica, riescono a raggiungere lo strato basale dell'epidermide ed attivare la moltiplicazione cellulare. Ma, in soggetti con danno epidermico più evidente (ipercheratosi solare) possiamo intensificare la risposta utilizzando un trattamento diretto sull'epidermide. Ovviamente, non è possibile introdurre un ago a livello epidermico, visto il piccolo spessore di questo. Dobbiamo, perciò, applicare topicamente i fattori di crescita piastrinici. Ma per permettere a questi di raggiungere le cellule epidermiche dobbiamo preparare la cute con un'abrasione ed un peeling. L'abrasione ci consente di asportare lo strato corneo, particolarmente resistente al passaggio di liquidi dall'esterno. Il peeling ci consente di fessurare l'epidermide rompendo i ponti disolfuro dei desmosomi. Utilizziamo per questo un peeling con acido mandelico. L'acido mandelico, anche se acido debole, produce ioni idrogeno che si legano ai ponti disolfuro, rompendoli. Questo facilita la penetrazione dei fattori di crescita applicati topicamente.

Preleviamo 10 ml di sangue venoso. Effettuiamo la centrifugazione tarata per la nostra centrifuga (1200 giri/min per 8 min). Otteniamo il frazionamento delle piastrine con una maggior concentrazione nella parte bassa del plasma. Secondo la nuova tecnica, sicura e senza costo. Colleghiamo ad un butterfly un rubinetto a due vie. A questo colleghiamo due siringhe da 10 ml con stantuffo dividibile. In ogni siringa mettiamo 1 ml di citrato di sodio al 3,8% sterile. Preleviamo 20 ml di sangue. Tagliamo lo stantuffo alle siringhe e mettiamo un tappo sterile al posto dell'ago. Effettuiamo una prima centrifugazione ad alto numero di giri (4000 giri per 10 minuti). Togliamo il tappo alla siringa e la colleghiamo con un connettore

ad un'altra. Aspiriamo quasi tutta la parte corpuscolata. Rimettiamo il tappo e agitiamo il plasma nella siringa. Effettuiamo una nuova centrifugazione a basso numero di giri (1200 giri per 8 minuti). Ripetiamo l'aspirazione eliminando definitivamente la parte corpuscolata. Montiamo una nuova siringa ed aspiriamo il terzo inferiore del plasma, ricco in piastrine (PRP). Effettuiamo il trattamento.

In questo caso, non introduciamo le piastrine nel derma e per questo dobbiamo attivare la degranolazione all'esterno. Aggiungiamo, quindi, qualche goccia di calcio cloruro per attivare la liberazione dei fattori di crescita. Il PDGF viene liberato nella siringa e, per la sua breve emivita, dobbiamo essere molto rapidi ad utilizzarlo. Facciamo cadere delle piccole gocce sulla cute e massaggiamo per facilitare la penetrazione dei fattori di crescita. Lasciamo asciugare il plasma che, evaporando l'acqua min esso contenuta, determina una sorta di occlusione che migliora la risposta. La rigenerazione dell'epidermide viene effettuata due volte l'anno, possibilmente lontano dal sole.

Completiamo la rigenerazione della cute del volto attivando un processo rigenerativo preferenziale nel tessuto sottostante le rughe e/o le depressioni. Per le rughe infiltriamo la zona sottostante a queste con fibrina plasmatica autologa (APF) come base di movimento e di funzione dei fibroblasti. Ovviamente, il coagulo deve permanere per un tempo sufficiente alla colonizzazione fibroblastica e alla nuova formazione di tessuto. Per comprendere come mantenere nel tempo il coagulo, dobbiamo ricordare i meccanismi di costruzione e distruzione di questo. Il coagulo si forma per trasformazione del fibrinogeno in fibrina ad opera della trombina. La trombina (derivata dalla protrombina) agisce sul fibrinogeno trasformandolo

in fibrina che viene poi stabilizzata dal fattore XIII. La trombina scinde i terminali B del fibrinogeno consentendo la polimerizzazione dei monomeri di questo. Per la formazione della trombina è importante la presenza delle piastrine. Queste legano sulla loro superficie il fattore VIII, il fattore V e il fattore X consentendo la trasformazione della protrombina in trombina. Alla formazione del coagulo segue la retrazione di questo e la sua successiva fibrinolisi ad opera della plasmina. Alla riparazione tessutale segue la liberazione di un fattore liberato dalle cellule endoteliali. Questo indica che il vaso è stato riparato e che il trombo può essere rimosso, perciò attiva la formazione della plasmina. La plasmina formata all'interno del trombo fibrinico lo degrada formando i prodotti di degradazione della fibrina (FDP). Come detto, dobbiamo consentire una lunga durata al coagulo di fibrina che formiamo sotto le rughe, al fine di consentire una corretta riparazione. Per questo dobbiamo rallentare la retrazione del coagulo che porta all'attivazione della plasmina e alla distruzione del reticolo di fibrina. La retrazione del coagulo consiste nell'accorciamento dei filamenti di fibrina e nella spremitura del siero fuori del reticolato formato da questi filamenti. La retrazione del coagulo avviene ad opera delle piastrine che attivate iniziano la produzione di una sostanza, detta reactozima, che stimola la retrazione del reticolo. La retrazione del coagulo consente la trasformazione del plasminogeno, contenuto nel reticolo di fibrina, in plasmina.

Praticamente, effettuiamo un prelievo di sangue venoso senza anticoagulante. Dal momento del prelievo abbiamo il tempo della coagulazione plasmatica (12 minuti) per completare il nostro trattamento. Effettuiamo una centrifugazione rapida ad alto numero di giri per allontanare le piastrine

ed evitare la liberazione della trombostenina responsabile della retrazione del coagulo. Preleviamo il plasma in fase di coagulazione. Nella pratica, utilizziamo una siringa senza anticoagulante e preleviamo 10 ml di sangue. Tagliamo lo stantuffo e mettiamo il tappo. In questo caso è preferibile utilizzare siringhe siliconate. Queste, come vediamo dalla letteratura, allungano il tempo di coagulazione. Centrifughiamo rapidamente per pochi minuti (2-3). Eliminiamo la parte corpuscolata ed abbiamo il plasma pronto. Aggiungiamo una goccia di acido tranexamico per impedire il passaggio del plasminogeno in plasmina. L'acido tranexamico si lega al plasminogeno impedendo il legame di questo alla fibrina e impedendo, quindi, la fibrinolisi. L'acido tranexamico è un coagulante presente in tutto il mondo anche se con nomi differenti. La Fibrina Plasmatica Autologa viene infiltrata nel derma sotto le rughe e/o le depressioni del volto. L'infiltrazione viene fatta, con un ago 30G, molto superficiale. Possiamo infiltrarla anche a livello del solco orbitario per ridurre la depressione. Possiamo infiltrarla anche a livello del dorso della mano, utilizzando delle cannule. Otteniamo la formazione di un coagulo di fibrina intradermico. Questo permane per un tempo sufficiente alla colonizzazione fibroblastica e alla neocollagenogenesi riparativa.

Abbiamo completato la rigenerazione della cute. Il trattamento, come detto, si ripete 2-4 volte l'anno. Manteniamo i risultati ottenuti con la rigenerazione dermica, effettuando dei trattamenti di biostimolazione, normale o potenziata, una volta ogni 15-30 giorni. Come abbiamo detto, al trattamento rigenerativo della cute segue, se necessario, la rigenerazione del tessuto adiposo e del tessuto osseo.

CAPITOLO 12

Liposowing

Il Full Face Regeneration prevedeva non solo la rigenerazione della cute ma anche del tessuto adiposo e del tessuto osseo. Tutte queste fasi nascono dall'intuizione di Victor Garcia e dalla partecipazione scientifica da parte mia.

La rigenerazione del tessuto adiposo fu denominata da Victor Garcia con il termine di **Liposowing** perché, a differenza del lipofilling, nel quale si utilizza il grasso come un semplice filler, nel liposowing si utilizza una coltura di cellule staminali adulte per formare la giusta quantità del tessuto adiposo normale.

Il nostro studio, del quale parlerò dopo, fu presentato a livello internazionale ad una Consensus Conference sulle Cellule Staminali tenutasi a Ginevra, nel Palazzo delle Nazioni, nel 2008. L'importanza dell'argomento ha portato all'inserimento nel testo "Advanced Techniques in Liposuction and Fat Transfer".

Quando il tessuto adiposo si atrofizza effettuiamo un liposowing con le cellule staminali adulte del grasso. Il liposowing è l'impianto di fat transit amplifying cells autologhe nel tessuto adiposo del volto del paziente. La rigenerazione del tessuto adiposo del volto segue lo schema di una tecnica già in uso: il lipofilling. Questo prevede l'asportazione di una certa quantità di grasso da una sede periferica del corpo e il reimpianto dello stesso, trattato o meno, a livello del volto. La Tecnica di Rigenerazione non usa normali cellule adipose ma, principalmente, cellule staminali adulte del

grasso. Queste vengono seminate in piccole quantità per stimolare la nascita di nuovo tessuto adiposo (Liposowing).

Nel lipofilling noi abbiamo un volto scavato, introduciamo il grasso con un effetto filler determinando un miglioramento immediato di volumi che nel tempo diminuisce. Nel liposowing abbiamo ugualmente un volto scavato, introduciamo piccole quantità di cellule staminali del grasso senza ottenere un miglioramento immediato. Nel tempo la moltiplicazione delle cellule staminali consente una normalizzazione dei volumi adiposi del volto con un risultato estetico che si mantiene a lungo.

Parliamo ora dell'altro elemento che utilizziamo per la rigenerazione tessutale: le cellule staminali.

E' importante, quando parliamo di cellule staminali, distinguerle sulla base della loro potenza. Possiamo avere cellule totipotenti che, differenziandosi, diminuiscono la loro capacità di formare tessuti differenti. Le cellule embrionali sono totipotenti. Cioè sono capaci di differenziarsi in ogni tipo di tessuto e di dar luogo ad un organismo intero. L'uovo fecondato si differenzia in L'uovo fecondato si differenzia in blastocisti con cellule totipotenti. Queste si differenziano dando luogo alla formazione dell'embrione. Nella formazione dell'embrione, le cellule staminali totipotenti si differenziano in tre foglietti embrionali: ectoderma, mesoderma ed endoderma. Ognuno di questi darà poi origine ad un particolare tipo di tessuti. Le cellule totipotenti possono essere utilizzate nella rigenerazione di ogni tipo di tessuto e nella cura di tutte le patologie degenerative. Mentre le cellule staminali adulte, di differenti foglietti embrionali, possono formare solo tessuti che derivano dallo specifico foglietto. Dobbiamo ricordare che tutte le cellule e tutti i tessuti del nostro

organismo hanno una derivazione ontologica diversa provenendo dai tre foglietti embrionali (ectoderma, mesoderma o endoderma). In particolare, presentano la proteina p27 Kip1 importante per il processo d'inibizione di contatto. Le cellule staminali adulte o transit amplifying cells derivano dalla cellula staminale per iniziale differenziazione. Il passaggio da cellula staminale a transit amplifying cell è caratterizzato da una differente divisione cellulare che passa da simmetrica ad asimmetrica. Questo consegue ad una differenziazione delle proteine del citoscheletro e del fuso cellulare. Queste proteine si presentano anche a livello della parete e permettono, in caso di contatto tra due cellule, di bloccare la mitosi. Le proteine di superficie di una cellula si connettono a quelle di un'altra cellula permettendo di comunicare l'informazione dell'avvenuto contatto. E' la proteina p27 Kip1 che svolge la funzione del processo d'inibizione di contatto. La proteina p27 Kip1 si lega alle Cicline bloccando la loro azione e fermando la mitosi. Le cellule staminali adulte sono presenti in numerosi tessuti del nostro corpo e hanno una funzione di riparazione del danno. Distinguiamo cellule labili, caratterizzate da continuo rinnovamento, cellule quiescenti, che possono attivarsi in un processo rigenerativo e cellule permanenti, incapaci di moltiplicarsi e che, per questo, necessitano di transit amplifying cells.

Troviamo cellule staminali adulte in vari tessuti: midollo osseo, ghiandola mammaria, sistema nervoso, bulbo olfattivo, testicolo, polpa dentale. Le cellule del midollo osseo, di derivazione mesodermica, si differenziano dando luogo alla formazione di tutti gli elementi corpuscolati del sangue. Le cellule staminali adulte della cute, di derivazione ectodermica, possono dar luogo

alla formazione delle cellule epidermiche, degli annessi cutanei (pelo, ghiandole) e dei melanociti.

Il grasso è molto ricco in cellule staminali. Di tutte le cellule, ogni 50 una è una cellula staminale (contro il midollo osseo che ne contiene 1 ogni 10.000). Studi d'immunoistochimica e d'immunofluorescenza dimostrano che le cellule staminali del grasso si trovano nella zona del connettivo perivasale. Le cellule staminali adulte prelevate dal grasso sono in grado di differenziarsi in tessuti di derivazione mesenchimale.

Nel derma (nel grasso e nell'osso) troviamo, anche, delle cellule particolari, dette *Muse Cells* (Multi-lineage Differentiating Stress Enduring Cell), capaci di differenziarsi in tutti i tipi di cellule, sono quindi delle cellule pluripotenti. Queste cellule, però, pur non essendo differenziate come le *transit amplifying cells* non hanno il rischio di una proliferazione anarchica. Infatti, hanno una bassa attività telomerasica che le porta ad un numero stabilito di moltiplicazioni e, poi, alla morte.

Utilizziamo, nel liposowing, le cellule prelevate nel tessuto adiposo. Le cellule staminali adulte prelevate dal grasso sono in grado di differenziarsi in tessuti di derivazione mesenchimale. Il grasso è molto ricco in cellule staminali. Una cellula ogni 50 è una cellula staminale (contro il midollo osseo che ne contiene 1 ogni 10.000). Nel liposowing introduciamo nel volto grasso arricchito in cellule staminali adipose adulte.

Prima dell'inserimento, aumentiamo la quantità di cellule staminali per migliorare il risultato. Il Professor J. Victor Garcia e il Professor Maurizio Ceccarelli hanno messo a punto una semplice tecnica di arricchimento in cellule staminali della zona di prelievo per il liposowing, utilizzando la fisiologia del grasso. Questa tecnica è stata presentata per la prima volta al

Biobridge Event del 2008 a Ginevra presso il palazzo delle Nazioni Unite. Pubblicata in internet sul testo "Advanced Techniques in Liposuction and Fat Transfer " ha avuto oltre 2000 accessi in cinque paesi (USA, Cina, India, UK, Giappone).

La tecnica si basa sulla funzione del tessuto adiposo. La spiegazione del perché il grasso è così ricco in cellule staminali va ricercata nella necessità di accumulare energia da parte del tessuto adiposo anche in uno stato di adipociti ipertrofici. L'accumulo di trigliceridi determina un incremento del volume cellulare per aumento del vacuolo intradipocitario. L'adipocita è capace di aumentare notevolmente il suo volume per raccogliere energia sotto forma di trigliceridi. Ma quando il suo volume è molto elevato l'adipocita stimola la formazione di nuovo tessuto adiposo, le cellule fibrotiche perivasali si differenziano in adipoblasti che a loro volta si trasformano in preadipociti ed adipociti, attraverso l'attivazione di recettori per gli acidi grassi.

Sulla base di quanto esposto, possiamo aumentare il numero di cellule staminali utilizzando una soluzione di glucosio ed insulina. L'insulina, quale principale ormone lipogenetico, stimola la funzione della lipoproteinlipasi consentendo la captazione degli acidi grassi circolanti e l'ingresso del glucosio nell'adipocita. Il glucosio è il precursore del glicerolo fosfato. Quest'ultimo si lega agli acidi grassi per formare i trigliceridi. Dopo l'arricchimento, impiantiamo le cellule staminali adipose adulte, distribuendo delle piccole quantità (tipo i grani di riso di Fischer). Per facilitare la regolare distribuzione può essere utilizzata un'apposita pistola.

Dopo 7 giorni da una biostimolazione con PDGF, abbiamo la risposta neoangogenetica e possiamo effettuare il liposowing. Infiltriamo la zona di

aspirazione con una soluzione preparata con 100 ml di Soluzione Glucosata al 5% e 0,4 U.I. d'insulina. Prepariamo la soluzione lipogenetica diluendo 1 ml di insulina rapida con 100 U.I. in 500 ml di soluzione fisiologica. Otteniamo una soluzione con 0,2 U.I. d'insulina per millilitro. Mescoliamo 1 ml della soluzione (0,2 U.I.) diluita d'insulina con 50 ml di soluzione glucosata al 5%. Questa preparazione viene iniettata con un ago da spinale 9mm 20G. Iniettiamo un totale di 100 ml di soluzione glucosata al 5% con 0,4 U.I. d'insulina in una superficie di 400 cc di tessuto adiposo. Aspettiamo 4 ore per consentire la neoformazione di trigliceridi intradipocitari (45 minuti) e la conseguente moltiplicazione delle cellule staminali per opera dell'insulina e dell'IGF-1. Passate le quattro ore, effettuiamo l'anestesia della zona di prelievo infiltrando 50 ml di Soluzione di Klein utilizzando sempre un ago da spinale. Aspettiamo lo sbiancamento della zona, indice dell'azione dell'anestetico e del vasocostrittore. Effettuiamo il prelievo con ago da 16 G per consentire la raccolta della frazione stromale ricca di cellule staminali. E' importante la raccolta della frazione vascolo-stromale perché qui sono contenute le cellule staminali, come dimostrato da K.A. Almeida. Preleviamo con siringhe da 5 ml con attacco luer lock. Normalmente raccogliamo 4 siringhe affinché, dopo decantazione ed eliminazione delle soluzioni, possiamo utilizzare 3 ml di grasso per siringa. Prepariamo la zona d'impianto con una maschera anestetica. Oppure, effettuando un'anestesia tronculare del nervo infraorbitario e del nervo mentale. Le cellule staminali adipose vengono poi impiantate con una piccola (2,1 mm) cannula, distribuendo piccole quantità di tessuto. Effettuiamo, sempre con un ago 16 G due aperture nella cute per permettere l'ingresso della cannula. Utilizziamo cannule di 2,1 mm per effettuare il liposowing. Distribuiamo il grasso nel tessuto adiposo del volto.

Utilizziamo 6 ml di grasso per parte di viso, iniettando 0,5 ml, per punto. Per facilitare questa distribuzione utilizziamo la pistola di Nacul. Dopo il trattamento somministriamo un antibiotico di copertura per tre giorni.

E' importante l'introduzione delle cellule staminali direttamente nel tessuto adiposo del volto e non in altre zone o tessuti. L'impianto nel tessuto adiposo consente il colloquio paracrino delle cellule adipose presenti con le nuove cellule staminali e la regolazione della moltiplicazione e del volume finale di sviluppo. Sulla base dello stimolo paracrino, le cellule staminali si differenziano in adipoblasti, preadipociti ed adipociti. Questo consente di ripristinare il normale volume del tessuto adiposo. I meccanismi di trasduzione meccanica, infatti, regolano le funzioni adipogenetiche o lipolitiche utili a mantenere costante il volume del tessuto. L'introduzione deve essere il più possibile atraumatica per mantenere intatte le fibre della matrice adiposa. Infatti, le fibre connettivali della matrice si collegano al citoscheletro della cellula, determinando variazioni metaboliche e recettoriali. Lo stiramento del tessuto determina attivazione dell'adipogenesi, mentre la compressione determina inibizione dell'adipogenesi. La risposta estetica segue alla rigenerazione del tessuto adiposo e, quindi, compare dopo 3-6 mesi dall'impianto. Come vediamo in questa paziente.

Nei soggetti più giovani, l'ipotrofia del tessuto grasso del volto può essere ridotta anche attraverso la moltiplicazione delle cellule staminali adulte del tessuto adiposo, direttamente nel volto. Quindi, se non è presente eccessiva atrofia del grasso del volto, possiamo stimolare la moltiplicazione delle cellule staminali adulte direttamente nella zona. La stimolazione porta ad accumulo di trigliceridi e determina un incremento del volume cellulare. Si

attiva, così, la moltiplicazione e la differenziazione delle cellule staminali presenti a livello dello stroma vascolo-connettivale. Effettuiamo l'attivazione con insulina e glucosio nella zona da rigenerare. Il trattamento si esegue dopo un pasto grasso alla paziente. Dopo 2-4 ore abbiamo un'alta concentrazione di acidi grassi circolanti nel sangue. Infiltriamo 10 ml di soluzione glucosata al 5% con 0,05 U.I. d'insulina, con un ago 6 mm 30G. Il trattamento si ripete ogni 15 giorni, fino al risultato. I meccanismi di trasduzione meccanica, permessi dal collegamento matrice/cellula, regoleranno la moltiplicazione adipocitaria per mantenere costante il volume del tessuto.

Di particolare interesse è stata l'individuazione nel tessuto adiposo (ma anche nel midollo osseo e nel derma) di particolari cellule dette MUSE Cells (Multi-lineage Stress-Enduring Cells), una linea di cellule staminali pluripotenti, non teratogene, capaci di differenziarsi, spontaneamente o sotto stimolo di citochine, in tutti i tipi di tessuto. Tutto questo apre notevoli possibilità nell'uso delle cellule derivate dal tessuto adiposo, in medicina rigenerativa sia clinica che estetica.

Le Muse Stem Cells, quali cellule pluripotenti, possono formare tessuti di derivazione mesodermica, ectodermica e endodermica, quindi con potenzialità simile alle cellule embrionali. Rispetto a queste, però, abbiamo la sicurezza di non indurre proliferazione anarchica, perché queste cellule sono dotate di una scarsa attività telomerasica. Questo consente un numero limitato di divisioni cellulari.

Il Prof. Victor Garcia, padre della biostimolazione con PDGF e del Liposowing, ci fornisce un'ulteriore spazio operativo con l'uso, iniettabile, di queste cellule di derivazione adiposa. L'infiltrazione può essere applicata,

localmente, in numerose condizioni cliniche di nostro interesse come l'invecchiamento cutaneo e l'alopecia androgenetica e, per uso sistemico (intravascolare), nel miglioramento dei problemi relativi all'invecchiamento generale, nelle patologie neurodegenerative (Parkinson), nelle vasculopatie, nel diabete e nelle malattie reumatiche.

La tecnica di preparazione richiede il prelievo di dette cellule, normalmente presenti nello stroma vascolo-connettivale., cioè nel tessuto connettivo che riveste i vasi periadipocitari. La letteratura riferisce che la zona periombelicale è quella più ricca in cellule staminali. Dobbiamo, perciò, aspirare il grasso in detta zona, con una cannula sufficiente ad asportare sia grasso sia connettivo perivasale. Quindi, dobbiamo solubilizzare il connettivo per liberare le cellule in esso contenute, tramite l'uso di una collagenasi da DNA ricombinante. E, infine, introdurre le cellule, attivate e potenziate con fattori di crescita, nei tessuti.

Il Full Face Regeneration si completa con la rigenerazione del tessuto osseo. La rigenerazione dell'osso viene effettuata, principalmente, a livello dell'osso zigomatico, anche se possiamo effettuarlo su ogni osso. Questo consente di ridurre l'ipotonia dei tessuti della guancia aumentando il volume dell'osso zigomatico. Questo trattamento è stato messo a punto dal Prof. Victor J. Garcia dell'Università di Barcellona in Spagna e pubblicato su varie riviste scientifiche. Il principio scientifico si basa sui concetti dell'osteogenesi. L'osteogenesi avviene per stimolazione all'aggregazione proteica effettuata da un particolare sale, il fosfato tri- o penta- calcico. Per indurre una nuova osteogenesi si utilizza fosfato tricalcico (o pentacalcico) mescolato con proteine plasmatiche del paziente, in forma denaturata (STBA). Victor

Garcia ha scelto per questo trattamento il Fosfato Tricalcico perché è più velocemente riassorbibile (12-14 mesi) rispetto l'idrossiapatite (16-18 mesi). Inoltre, il calcio liberato facilita la rigenerazione ossea. Importante è anche la forma, la dimensione (granulometria), l'omogeneità e la porosità delle particelle di fosfato tricalcico, in relazione a:

- Il passaggio attraverso un ago
- La distribuzione più o meno omogenea dell'impianto
- La possibilità di fagocitosi da parte dei macrofagi
- La difficoltà o facilità di unire le particelle tra loro
- La possibilità di indurre una risposta infiammatoria

Perciò, le particelle di fosfato tricalcico devono avere le seguenti caratteristiche:

1. Una granulometria compresa tra 30 e 40 micrometri, perché una granulometria inferiore (15-20 micron) può essere fagocitata dai macrofagi e una granulometria superiore (45-50 micron) non consente il passaggio attraverso gli aghi o le cannule comunemente utilizzati nel trattamento (23G-27G)
2. Una elevata porosità per consentire un adeguato assorbimento del plasma
3. Una forma sferica di indurre una risposta infiammatoria inferiore.

La sospensione che otteniamo tende lentamente a sedimentare dividendo la parte corpuscolata da quella liquida. Maggiore è la densità del liquido e più stabile è la sospensione. Perciò denaturiamo le proteine plasmatiche con il calore (60-70 °C) ottenendo una fase omogenea da utilizzare come filler (STBA-Fill). Otteniamo la denaturazione proteica utilizzando il calore. Formiamo così un prodotto proteico coagulato che viene definito Supporto

Tissutale Biologico Autologo (STBA). Completiamo la preparazione del filler con la completa disgregazione del fosfato tricalcico. Questo si effettua meccanicamente con passaggi ripetuti tra due siringhe. Infine, il filler viene introdotto in siringhe da 1 ml per ridurre la forza necessaria al passaggio dello stesso in aghi o cannule da 23-27 Gauge. Impiantiamo il prodotto a livello del periostio delle zone zigomatiche. Se necessario, trattiamo anche le zone malari e mandibolari.

Praticamente, preleviamo 2,5 ml di plasma e lo mescoliamo con 500 mg di fosfato tricalcico a piccola granulazione, denaturiamo con il calore, disgreghiamo con il movimento meccanico ed otteniamo l'STBA-Fill. Per impiantare correttamente il prodotto, tracciamo sul volto del paziente le due linee di Hinderer e nel punto d'intersezione entriamo con l'ago e distribuiamo il prodotto nella zona zigomatica e/o malare. Le linee di Hinderer vanno dall'angolo della bocca all'angolo dell'occhio e dal margine inferiore della narice al margine superiore del trago. Nel punto d'intersezione entriamo con l'ago fino a toccare l'osso e ci spostiamo nella zona zigomatica e nella zona malare. Poi effettuiamo un massaggio profondo. Molto importante è il massaggio successivo all'introduzione per evitare la formazione di granuli di fosfato tricalcico.

Le particelle di fosfato tricalcico richiamano i fibroblasti nella zona e stimolano la produzione di collagene di I tipo. L'STBA-Fill induce, nel tempo (30-40 giorni), una risposta fibrotica che determina l'aumento del volume della zona trattata. La risposta fibrotica da corpo estraneo, indotta dai granuli di Fosfato Tricalcico, si evidenzia, in 30-40 giorni. A questa segue un processo di osteogenesi con un aumento di volume dell'osso. Questo avviene perché il fosfato calcico, oltre all'azione di osteoinduzione e di

osteoconduzione, induce la differenziazione delle cellule staminali mesenchimali in osso. Il periostio contiene cellule di derivazione mesenchimale che, in presenza di fosfato di calcio, si differenziano in osteoblasti. Le cellule staminali adulte di derivazione mesenchimale si differenziano, a seconda dell'ambiente in tessuti diversi, sempre di derivazione mesodermica.

STBA-Fill, in concentrazione diversa, può essere utilizzato anche per la correzione delle depressioni cutanee del volto. Il trattamento deve essere eseguito solo nella zona peribuccale. Questo prevede l'uso di STBA-Fill come un filler autologo, mescolando le proteine plasmatiche del paziente in una sospensione al 10% di Fosfato Tricalcico ed utilizzandolo nella correzione delle depressioni del volto e delle rughe profonde. Preleviamo 5 ml di plasma e lo mescoliamo con 500 mg di fosfato calcico a piccola granulazione, denaturiamo con il calore, disgreghiamo con il movimento meccanico ed otteniamo l'STBA-Fill. Iniettiamo sottocute nelle zone peribuccali. Si completa il trattamento con un massaggio accurato. Il trattamento non deve essere ripetuto prima di 30-40 giorni.

La componente proteica viene rapidamente metabolizzata mentre il Fosfato Tricalcico induce la neocollagenogenesi. Nel corso di alcuni mesi il Fosfato Tricalcico viene metabolizzato ad opera delle anidrasi carboniche cellulari. Questi enzimi producono ioni idrogeno che sciolgono il sale in calcio e fosfato.

Il trattamento può essere eseguito anche con albumina farmaceutica. Si prelevano 5 ml di albumina e si mescola con 500 mg di fosfato calcico a piccola granulazione, si denatura con il calore, si disgrega con il movimento meccanico ed otteniamo l'STBA-Fill. Possiamo diluire il fosfato tricalcico

anche con soluzione fisiologica se lo utilizziamo rapidamente. Diluiamo con 3 ml di Soluzione Fisiologica i 500 mg di Fosfato Tricalcico con una granulometria di 30 micron. Questa granulometria consente una sospensione sufficientemente stabile nel tempo (sedimentazione di 1 mm in 10 min) per consentire l'infiltrazione. Infiltriamo 0,2 ml di sospensione per ogni cmq di superficie cutanea, nella zona che vogliamo correggere, con un ago da 4 mm 30G perpendicolare. Molto importante è il massaggio successivo all'introduzione per evitare la formazione di granuli di fosfato tricalcico. Dopo 30-40 giorni si osserva il risultato conseguente alla neoformazione di collagene di I tipo. Il trattamento si ripete sino a risultato.

Il Full Face Regeneration riesce a riportare, attraverso la rigenerazione dei tessuti trattati, i volumi del volto a livello giovanile. Infatti, il processo d'invecchiamento determina la diminuzione volumetrica e funzionale di tutti i tessuti del volto. Questo causa la retrazione dei tessuti fissi, osso, e la caduta in basso, per gravità, dei tessuti molli, determinando le manifestazioni classiche dell'invecchiamento del volto.

Riportare i tessuti del volto al loro stato volumetrico fisiologico consente di donare al volto un aspetto giovanile che può essere definito Lifting Medico. Questo trattamento ringiovanisce il volto delle pazienti in modo migliore e fisiologico rispetto al lifting chirurgico.

Infatti con il lifting chirurgico si asporta, mediante taglio, l'eccesso dei tessuti superficiali resi flaccidi dalla perdita di volume. Questo determina uno stiramento innaturale del volto. Col **Full Face Medical Lifting**, invece, riportiamo i volumi dei tessuti a livello normale determinando un ritorno dell'aspetto del volto allo stato giovanile. Inoltre, il ripristino di tessuto

funzionale permette anche una funzione di normalizzazione delle funzioni biologiche dei tessuti del volto.

CAPITOLO 13

Fat Apoptosis

I miei contatti, sempre più frequenti, con la Spagna ed in particolare con l'Universitat Autònoma de Barcelona, mi hanno portato grandi vantaggi quali, una fraterna amicizia con Victor Garcia e un professorato a contratto presso l'Università di Barcellona ma, principalmente, hanno costituito una vera e propria spinta culturale alla ricerca di novità e all'applicazione delle medesime nella nostra pratica medica.

Con Victor abbiamo verificato l'idrolipoclasia ultrasonica e l'ossigenoclasia, abbiamo definito l'utilizzazione dei fattori di crescita piastrinici per via intradermica, l'uso della fibrina autologa, l'uso delle cellule staminali adulte del grasso, l'utilizzazione delle MUSE Cells, la rigenerazione dell'osso con fosfato tricalcico. Ma, è nei congressi, organizzati da Victor, che io ho ricevuto il maggior beneficio cogliendo gli stimoli utili alla mia ricerca e ai miei studi.

Nei congressi, organizzati da Victor, a differenza di ciò che succede nella maggior parte degli altri congressi di Medicina e Chirurgia Estetica vengono sempre invitati professori provenienti da tutto il mondo ed esperti in particolari settori, che presentano importanti novità. Ciò permette agli uditori, di ricevere informazioni di alto livello dalle quali partire per formulare ipotesi speculative.

Proprio in uno di questi congressi, il Prof. Max Lafontaine, direttore del Centro Ricerche sul Tessuto Adiposo di Tolosa tenne una lezione magistrale sul tessuto adiposo. Ascoltai con grande interesse, prendendo appunti e

riferimenti da approfondire e, della sua relazione, soprattutto, mi colpì quanto disse al riguardo della durata media della vita degli adipociti.

Già sapevo che gli adipociti possono aumentare di numero anche in età adulta perché, una volta raggiunta la loro dimensione massima, stimolano la moltiplicazione e la differenziazione delle cellule mesenchimali, che formano nuovi adipociti. Ma non ero ancora a conoscenza del fatto che le cellule adipose, una volta moltiplicate, impiegano anni per tornare al numero normale mediante il processo dell'apoptosi di cui è dotato il nostro organismo.

Cioè, una volta ingrassati, dobbiamo stare a dieta per anni per consentire la normalizzazione del numero di adipociti eccedenti!

Dopo aver ascoltato Max, pensai: "e se fosse possibile accelerare l'apoptosi...? Riusciremmo ad eliminare più in fretta le cellule in eccesso e a normalizzare il tessuto adiposo!!".

Iniziai una ricerca sull'apoptosi e su come poteva essere indotta.

Oggi internet ci consente di spaziare nel mondo scientifico senza alcuna limitazione. Dobbiamo solo stare molto attenti ai contenuti dei lavori che leggiamo. Ma, con Pub Med abbiamo la sicurezza di trovare delle affermazioni scientifiche pubblicate da riviste serie.

Leggevo il meccanismo dell'apoptosi, studiavo i riferimenti alle possibili cause, quando, all'improvviso mi capitò davanti una pubblicazione intitolata: "*The effect of local injection with vitamin C to adipocytes apoptosis*", la vitamina C induceva apoptosi!

Approfondii i concetti scientifici evidenziando il danno cellulare conseguente all'eccesso di antiossidanti e nacque la **Fat Apoptosis**.

Definii un protocollo sperimentale e partii per il Brasile.

In Brasile, a San Paolo, vive uno dei miei più grandi amici, il Prof. Roberto Tulli, chirurgo vascolare e chirurgo estetico.

Ho conosciuto Roberto nel 1985 all'Università di Siena. Io avevo un professorato a contratto presso il Centro Flebologico della Clinica Chirurgica, diretto dal Prof. Sergio Mancini e, Roberto, veniva periodicamente a Siena, anche lui con un professorato a contratto, quale maggior esperto mondiale sull'impotenza vascolare dell'uomo.

Ci incontravamo in istituto, dove io andavo ogni settimana, sia per tenere lezione, sia perché avevamo aperto il primo ambulatorio pubblico di medicina estetica. Incredibile! Nel 1985, i pazienti venivano all'Università di Siena, che offriva prestazioni di mesoterapia flebotonica e trattamenti per la cellulite, portando l'impegnativa. Che tempi! Oggi siamo tornati indietro e la vera essenza della medicina estetica, cioè la prevenzione che evita il conclamarsi della patologia, è in pratica scomparsa, spazzata via dall'onda dei trattamenti correttivi che agiscono solo sul sintomo.

Su questo argomento ci sarebbe da dire una gran quantità di cose: ci vorrebbe forse un intero libro! Preferisco dunque tornare all'apoptosi e a Roberto Tullii.

Come dicevo, incontravo Roberto all'Università di Siena e ci scambiavamo solo dei saluti: "Buongiorno, professore" e "Buongiorno professore". Poi, un giorno, Roberto mi chiese un passaggio per tornare a Roma e ci trovammo in macchina noi due e il Prof. Brizio di Buenos Aires, uno dei primi medici che aveva studiato l'importanza dell'appoggio plantare in flebologia.

Nel percorso verso Roma, familiarizzammo e scoprii Roberto come uomo, semplice, divertente e allegro. Arrivammo a Roma ed eravamo amici. Ancora

oggi, anche se non ci vediamo per lunghi periodi, il nostro affetto rimane immutato.

Più volte sono andato a San Paolo per vedere l'attività di Roberto, prima per il trattamento medico dell'impotenza vascolare (non esistevano ancora le compresse blu), poi per la sua attività di chirurgo estetico. Roberto, oggi, è uno dei maggiori esperti mondiali nell'uso delle Suture con il metodo di Serdev (uno smas a cielo chiuso fatto solo con dei particolari fili) - ovviamente secondo soltanto all'amico Nikolay Serdev - e nell'uso del peeling al fenolo.

E fu proprio in uno di questi miei soggiorni in Brasile che gli parlai dell'apoptosi con vitamina C. Come sempre, mi chiese, innanzitutto, di comprendere il meccanismo d'azione e poi, insieme, iniziammo a mettere in pratica la teoria formulata. In Brasile, le pazienti non hanno problemi a farsi fotografare e ci fu possibile raccogliere la prima iconografia che dimostrava chiaramente i risultati di questo trattamento sul volto.

Insieme iniziammo anche il trattamento delle borse adipose palpebrali, sempre con la Fat Apoptosi.

Grazie al lavoro fatto a San Paolo, con Roberto, fui in grado di ottimizzare la soluzione da adoperare mediante la normalizzazione dell'osmolarità. In seguito, in Italia e in Spagna, verificai la concentrazione di acido ascorbico utile all'induzione dell'apoptosi senza rischio di rottura cellulare e, oggi, la **Fat Apoptosis** è il trattamento di riduzione cellulare più sicuro (senza rischio di necrosi per rottura cellulare) e facile da eseguire.

Ma vediamo le cose dettagliatamente.

Quando le cellule subiscono un danno d'intensità tale da non poter essere riparato, si attiva questo particolare processo, l'apoptosi, che porta alla morte spontanea della cellula. Si attiva una cascata enzimatica che inizia con la liberazione dal mitocondrio del citocromo c. Questo si lega alle procaspasi, attivandole in caspasi e determinando l'innescamento di endonucleasi, che frammentano il materiale nucleico e di proteasi, che lisano il materiale citoplasmatico portando all'espressione, fuori della membrana cellulare, di residui di fosfatidilserina. Questi, non riconosciuti come componenti cellulari, determinano la fagocitosi cellulare da parte dei macrofagi.

Il processo apoptotico è presente nel tessuto adiposo con il fine di eliminare gli adipociti che hanno terminato il loro ciclo vitale. Ed il nostro scopo è quello di attivare questo processo in modo da indurre la morte degli adipociti normali, che eccedono in numero. Determinante, in questo processo che noi vogliamo indurre, sono l'acido ascorbico ed il ferro quale metallo di transizione.

Gli studi sull'azione delle varie sostanze antiossidanti ha rilevato che questa loro funzione è presente quando sono in una concentrazione limitata. Il loro eccesso svolge un effetto paradossale portando, anziché ad una protezione del danno, alla attivazione del danno per produzione di radicali liberi. Questo riguarda tutte le sostanze antiossidanti e, in particolare, l'acido ascorbico che, in presenza di metalli di transizione, porta all'attivazione della Reazione di Fenton e alla formazione di radicali idrossilici che danneggiano la cellula.

L'Apoptosi è cioè un processo di morte cellulare programmata. È caratterizzata da una serie di eventi biochimici che portano ad alterazioni cellulari caratteristiche e alla morte della cellula. Questi cambiamenti

includono il blebbing, la frammentazione nucleare, la condensazione della cromatina e la frammentazione del DNA cromosomico. A differenza della necrosi, che è una forma di morte cellulare traumatica e che deriva da una lesione cellulare, l'apoptosi produce la divisione della cellula in corpi apoptotici che i fagociti sono in grado d'inglobare e rimuovere rapidamente senza liberare le sostanze intracellulari responsabili del processo infiammatorio.

Una cellula avvia l'attivazione intracellulare apoptotica in risposta ad uno stress o ad un danno non riparabile. Il processo è caratterizzato da un'attivazione a cascata di enzimi, controllata da proteine regolatrici che possono interrompere il loro percorso in ogni momento. Molti percorsi e segnali portano all'apoptosi, ma sempre con lo stesso meccanismo intracellulare.

Le proteine d'induzione dell'apoptosi (TNF-R1, Fas) provocano rigonfiamento mitocondriale attraverso la formazione di pori della membrana e aumentano la permeabilità della membrana mitocondriale. Proteine mitocondriali conosciute come SMACs vengono rilasciate nel citosol a seguito di questo aumento della permeabilità. Le SMACs si legano all'inibitore dell'apoptosi (IAP) e lo disattivano, impedendo allo IAP di arrestare il processo apoptotico e quindi permettendo il proseguimento dell'apoptosi. Lo IAP normalmente sopprime l'attività di un gruppo di proteasi chiamato caspasi. Ci sono due tipi di caspasi: caspasi iniziatrici (8,10,9,2) e caspasi effettrici (3,7,6). Le caspasi effettrici attivate stimolano una serie di proteine intracellulari (endonucleasi, proteasi) al fine di effettuare il programma di morte cellulare. Dai mitocondri è rilasciato il Citocromo c, questo, una volta rilasciato, si lega, con il fattore di attivazione delle proteasi apoptotiche-1

(Apaf-1), alla pro-caspasi-9 per creare un complesso conosciuto come apoptosoma. E' la forma attiva della caspasi-9, che a sua volta attiva l'effettore caspasi-3.

Le cellule danneggiate dall'apoptosi vengono eliminate, come anticipato poco sopra, dai fagociti in un processo definito efferocitosi. Più precisamente il danno apoptotico porta all'espressione, sulla superficie dei corpi apoptotici, della fosfatidilserina. La fosfatidilserina si trova normalmente sulla superficie citosolica della membrana plasmatica, ma viene ridistribuita durante l'apoptosi sulla superficie extracellulare. Queste molecole sono uno stimolo per la fagocitosi da parte dei macrofagi. La rimozione delle cellule da parte dei fagociti avviene in modo ordinato senza provocare una risposta infiammatoria.

Gli studi precedentemente riportati, hanno evidenziato la capacità dell'acido ascorbico di danneggiare gli adipociti e hanno indicato la concentrazione di 0,12-0,24% come quella necessaria all'attivazione del processo apoptotico (*The effect of local injection with vitamin C to adipocytes apoptosis, Gao Yan Wei Qiang Chen ShiHai, Journal of Chinese Medicine Research, 2009 Vol. 9 No. 6 pp. 325-329*).

In un altro lavoro (*Relationship between ascorbyl radical intensity and apoptosis-inducing activity, Sakagami H, Satoh K, Ohata H, Takahashi H, Yoshida H, Iida M, Kuribayashi N, Sakagami T, Momose K, Takeda M., Anticancer Res. 1996 Sep-Oct;16(5A):2635-44*) si parla dell'induzione di apoptosi con 1-10 mMoli di acido ascorbico. Con un semplice calcolo, sapendo il Peso Molecolare dell'Acido Ascorbico (176), possiamo risalire alla quantità di vitamina che dobbiamo utilizzare: 5,68 mMoli.

L'apoptosi attivata dall'acido ascorbico segue la via intrinseca, mediante la formazione endocellulare di radicali idrossilici. In presenza di metalli di transizione, in questo caso ferro ionico trivalente, l'acido ascorbico attiva la Reazione di Fenton con liberazione di radicali liberi di tipo idrossilico. L'aumento di radicali liberi determina, a livello cellulare, l'attivazione dei canali del calcio con aumento intracellulare di questo ione. L'aumento di ioni calcio porta ad aumento di permeabilità dei mitocondri con liberazione del citocromo c e attivazione della cascata delle caspasi. In particolare, la morte cellulare avviene per attivazione finale di una endonucleasi, che frammenta il nucleo, e di proteasi, che dividono la cellula in piccole porzioni (i corpi apoptotici) e liberano sulla superficie della cellula dei residui di fosfatidilserina. I residui di fosfatidilserina rendono eterologhi i corpi apoptotici stimolandone la fagocitosi e la digestione.

La particolarità dell'apoptosi, che la differenzia dalla necrosi cellulare, è l'assenza d'infiammazione. La cellula viene fagocitata dai macrofagi senza liberazione di mediatori infiammatori. Sia l'apoptosi che la necrosi portano a morte cellulare, ma la prima non è caratterizzata da rottura cellulare e da liberazione di sostanze che possano attivare un processo infiammatorio. Dobbiamo perciò essere sicuri che la concentrazione dell'acido ascorbico, al di là del risultato, non induca danno nella parete cellulare.

Infatti, i radicali liberi prodotti nella prima fase del processo, se in concentrazione non eccessiva, inducono apoptosi. Ma se in eccesso possono lipoperossidare le pareti cellulari danneggiandole e portare a rottura cellulare.

Possiamo distinguere l'apoptosi dalla necrosi, con un microscopio a fluorescenza e differenti colorazioni. La positività all'Annexina V caratterizza l'apoptosi ed evidenzia la fosfatidilserina. La positività allo Ioduro di Propidio che evidenzia la cromatina nucleare, caratterizza la necrosi.

Le valutazioni microscopiche e cliniche effettuate, ci consentono di affermare che concentrazioni di 40 mg di acido ascorbico/ml sono sicure e provocano apoptosi senza necrosi.

Dobbiamo ancora considerare un particolare essenziale: l'iperosmolarità dell'acido ascorbico. Infatti, applicando la legge di Van't Hoff, che lega la pressione osmotica alla concentrazione molare di una sostanza abbiamo rilevato l'osmolarità dell'acido ascorbico che iniettavamo. Possiamo vedere che, per l'acido ascorbico, l'osmolarità è sette volte il valore normale. La soluzione fisiologica (cloruro di sodio allo 0,9%) è così chiamata perché non interferisce sull'equilibrio osmotico dei tessuti. Infatti il calcolo della sua pressione osmotica ci dà il valore di 310 mOsm/l.

Dopo questi approfondimenti scientifici, possiamo procedere alla preparazione della soluzione apoptosica. In mancanza, per ora, di un Medical Device pronto, prepariamo, galenicamente, il prodotto da utilizzare.

Mettiamo in una boccettina da 100 ml di acqua sterile, 0,1 ml di ferro ferrico e 3 ml di lidocaina al 2%. Al momento dell'uso, preleviamo 7 ml della soluzione preparata e li mescoliamo con 200 mg di acido ascorbico. Iniettiamo, per ogni cmq, con ago da 6 mm 30G, 1 ml di soluzione preparata (30 mg acido ascorbico).

Anche le borse palpebrali, già l'abbiamo accennato, quando dovute a un eccesso di grasso, possono essere ridotte con l'induzione locale dell'apoptosi degli adipociti. Si inserisce la soluzione apoptotica direttamente nelle borse di grasso. Si iniettano 0,1 ml di soluzione (3 mg acido ascorbico), utilizzando un ago da 4 mm 30G, per ciascuna delle tre borse adipose (laterale, centrale e mediale). L'ago è inserito subito sopra l'arcata orbitaria inferiore. Il risultato è molto rapido (l'apoptosi è un processo che avviene in poche ore) ed evidenziabile dopo solo 2-3 giorni.

Il Brasile fu la patria sperimentale del Fat Apoptosis. Trattammo numerose adiposità localizzate con rapidi e notevoli risultati, ma le risposte migliori le rilevammo sul volto.

L'apoptosi cellulare consente di diminuire le volumetrie in eccesso nel volto, conseguenti ai cedimenti del tessuto per l'effetto gravitazionale. Le pliche nasogeniene e i bargigli che si presentano ai lati del mento, in un soggetto invecchiato, possono essere facilmente e rapidamente eliminati attivando l'apoptosi nelle cellule in eccesso.

Questo trattamento, abbinato alla zigomoplastica (aumento di volume dell'osso zigomatico ottenibile o con la rigenerazione ossea o con filler), consente di riarmonizzare il volto riportando il Triangolo della Bellezza alle giuste proporzioni.

I rapporti estetici che ci fanno considerare un volto bello prevedono che il viso sia inserito in un triangolo con la base rivolta verso l'alto e l'apice rivolto in basso. Questo posizionamento è responsabile della gradevolezza di un volto in chi lo osserva: il viso deve perciò essere contenuto in un triangolo come sopra descritto che viene definito Triangolo della Bellezza.

Nel processo d'invecchiamento si sa che lo svuotamento dei tessuti porta alla perdita dei volumi nella porzione superiore del viso (zigomi) e all'aumento della porzione inferiore per caduta gravitazionale dei tessuti molli, invertendo il Triangolo della Bellezza.

Con Roberto Tullii evidenziammo che l'aumento del volume della zona zigomatica, abbinato all'apoptosi dei tessuti ceduti per gravità, consentiva di riportare il Triangolo della Bellezza alle giuste proporzioni, trasformando un viso invecchiato in un volto giovane.

Da ciò, vista la possibilità di scolpire un volto variando i suoi volumi, definimmo le due tecniche abbinate con il termine di **Face Sculpture**.

CAPITOLO 14

Polimorfismi Genetici del Benessere

La collaborazione scientifica con Victor Garcia proseguì e prosegue tutt'oggi. Il nostro filo diretto prevede domande e risposte che reciprocamente ci rivolgiamo sia per arricchire le nostre conoscenze sia per comunicarle, successivamente, ai colleghi in Spagna, in Italia e nel resto del mondo.

Uno degli spazi oggetto di un nostro continuo aggiornamento è quello del Life Quality Medical Program. Questo protocollo ha avuto, e ha, un grande successo nella presentazione dei vari argomenti in sede universitaria e congressuale, ma uno scarso risultato nella sua applicazione pratica. Ancora il vero concetto di medicina, quale scienza del mantenimento dello stato di salute del paziente, non è entrato nell'operatività dei medici e, di conseguenza, ancora non è recepito dai pazienti.

Ma il nostro lavoro continua.

Il 6 aprile 2000: (*Nature Biotechnology*, 18, 475, 2000) si ha l'annuncio del completamento del sequenziamento del genoma umano da parte della Celera Genomics, un progetto intrapreso da questa società nel 1999. Hanno completato il sequenziamento, e completeranno la mappatura entro l'anno. Il genoma umano si è rivelato composto da 3,12 miliardi di coppie di basi nucleotidiche. La Celera Genomics continuerà il sequenziamento per l'identificazione degli SNP (single nucleotide polymorphisms), cioè di quei

singoli nucleotidi che cambiano da un individuo all'altro e che in alcuni casi determinano la suscettibilità a sviluppare patologie.

Dal 2000 al 2010 i ricercatori hanno lavorato in questo settore per evidenziare le risposte fenotipiche di ciascun gene e le possibili variazioni conseguenti alla mutazione di questi. Oggi, abbiamo a disposizione il GeneCards, un database che fornisce le informazioni complete su tutti i geni umani conosciuti, integrando dati provenienti da oltre 125 fonti web, di genomica, trascrittomica, proteomica, genetica, clinica e informazioni funzionali.

Da questo, nel 2011, iniziammo a valutare i polimorfismi genetici la conoscenza dei quali poteva esserci utile nella prevenzione dell'invecchiamento generale e nel miglioramento della qualità della vita dei nostri pazienti. Selezionammo 28 polimorfismi che definimmo i **Polimorfismi Genetici del Benessere**.

Io pubblicai tre lavori di chiarimento sull'argomento, lavori che riporto di seguito.

Lo studio del nostro genoma (i geni contenuti nel nostro DNA) ha avuto negli ultimi tempi un notevole sviluppo e l'attuale accessibilità delle ultime tecniche di studio (attraverso i microarray, che permettono l'analisi simultanea di centinaia di diverse porzioni di DNA ed una veloce analisi elaborata da un computer) ci porta alla possibilità di utilizzare queste metodiche nella valutazione di routine dello stato di benessere dei nostri pazienti. Questo studio si rivolge in particolare alle piccole variazioni del genoma che sono alla base dei meccanismi di differenziazione fenotipica e, nel tempo, alla selezione di una nuova specie.

Il Genoma Umano è composto da 23 coppie di cromosomi (46 in totale), ognuno dei quali contiene centinaia di geni separati da regioni intergeniche. Le regioni intergeniche possono contenere sequenze regolatrici e DNA non codificante. Il gene è l'unità ereditaria fondamentale degli organismi viventi. Concretamente, essa corrisponde ad una sequenza di acidi nucleici composta da regioni codificanti e regioni regolatorie. Nel genoma si evidenziano delle sequenze geniche codificanti (esoni), insieme a delle sequenze geniche non codificanti (introni). I geni dirigono lo sviluppo fisico e comportamentale di un essere vivente. Il fenotipo di un organismo può dunque essere considerato come il prodotto dei suoi geni, e dell'interazione di tale prodotto con l'ambiente. La maggior parte dei geni codifica per proteine, che sono le macromolecole maggiormente coinvolte nei processi biochimici e metabolici della cellula. Molti geni non codificano per proteine, ma producono RNA non codificante, che può in ogni caso giocare un ruolo nella biosintesi delle proteine e nell'espressione genica.

Una parte del contenuto dei geni non viene tradotta ma può coordinare la stessa espressione genica. Tra queste regioni figurano i promotori, i terminatori e gli introni, sequenze non tradotte che spaziano gli esoni, poi eliminate attraverso la maturazione del trascritto primario (splicing).

È stata ipotizzata l'esistenza di 20.000-25.000 geni codificanti proteine. Sarebbero 20.433 codificanti e 5.871 non codificanti. Il numero di geni umani sembra essere 100 volte meno grande rispetto a quello di organismi molto più semplici. Questo perché le cellule umane utilizzano massicciamente lo splicing alternativo per produrre un gran numero di proteine differenti

dalla lettura di un singolo gene. Per questo, si pensa che il proteoma umano sia molto più grande di quello degli organismi summenzionati.

I geni umani sono distribuiti in maniera non uniforme lungo i cromosomi. Ogni cromosoma contiene varie regioni ricche di geni e poveri di geni, che sembrano correlate con le bande cromosomiche e il contenuto in GC. Il significato di questa alternanza non casuale di densità genica non è ben compresa allo stato attuale della conoscenza scientifica.

L'intero patrimonio di acido nucleico umano è solo per il 27% composto da geni e questi sono codificanti per solo il 10% (ovvero il 2,7% del genoma umano codifica per una proteina). Questo perché il genoma umano ha molte differenti sequenze regolatrici che sono cruciali nel controllare l'espressione del gene. Queste sono di solito brevi sequenze che appaiono in prossimità ed all'interno dei geni. Ed, inoltre, contiene ampie regioni di DNA la cui funzione, se esiste, rimane ignota. Queste regioni comprendono, di fatto, la maggior parte, da alcuni stimata intorno al 97%, del genoma umano. Recenti esperimenti con microarray hanno rivelato che una frazione sostanziale di DNA non-genico è di fatto trascritto in RNA, che conduce all'ipotesi che i trascritti risultanti possano avere delle funzioni sconosciute. Inoltre, la conservazione evolutiva lungo i genomi dei Mammiferi di un numero di sequenze così alto da superare la porzione codificante proteine indica che molti, e forse la maggior parte, degli elementi funzionali del genoma rimangono ignoti.

Il codice genetico è lo schema attraverso cui la cellula traduce una sequenza di codoni (o triplette di basi) di RNA in una sequenza di amminoacidi durante

la sintesi proteica. Quasi tutti gli esseri viventi usano il medesimo codice genetico, chiamato codice genetico standard.

La prima fase di lettura del codice genetico è la trascrizione, in cui una data sequenza di DNA, chiamata gene strutturale, viene usata come stampo per la creazione di un filamento complementare di RNA. La sequenza di RNA si compone di gruppi non sovrapposti di tre basi ciascuno, chiamati codoni. Ad ogni codone corrisponde uno specifico amminoacido, si dice quindi che il codone codifica quell'amminoacido nel codice genetico.

Le basi dell'RNA sono quattro: adenina, guanina, citosina ed uracile (nel DNA l'uracile è sostituito dalla timina). Esistono quindi $4^3 = 64$ codoni possibili. 61 di essi codificano gli amminoacidi, mentre i restanti tre (UAA, UAG, UGA) codificano segnali di stop (stabiliscono, cioè, a che punto deve interrompersi l'assemblamento della catena polipeptidica). Poiché gli amminoacidi che concorrono alla formazione delle proteine sono 20, essi in generale sono codificati da più di un codone (con l'eccezione di triptofano e metionina). Il codice genetico è pertanto detto degenero e codoni distinti che codificano il medesimo amminoacido sono sinonimi.

In biologia molecolare, la trascrizione è il processo mediante il quale le informazioni contenute nel DNA vengono trascritte enzimaticamente in una molecola complementare di RNA. Concettualmente, si tratta del trasferimento dell'informazione genetica dal DNA all'RNA. Nel caso in cui il DNA codifichi una proteina, la trascrizione è l'inizio del processo che porta, attraverso la produzione intermedia di un mRNA, alla sintesi di peptidi o proteine funzionali.

La trascrizione avviene attraverso particolari enzimi detti RNA polimerasi. La trascrizione consta essenzialmente di tre fasi: l'iniziazione, l'allungamento e la terminazione. La RNA polimerasi si lega al DNA solo presso particolari sequenze, dette promotori, che non sono trascritte. Dal promotore iniziano a inserirsi i nucleosidi trifosfato per formare una sequenza di nucleotidi che sarà complementare al filamento di DNA in via di trascrizione. Dopo l'individuazione del promotore, la RNA polimerasi rende il DNA adatto alla trascrizione. Il filamento di RNA inizia quindi ad allungarsi, attraverso l'aggiunta di un nucleotide per volta. Quando, durante la trascrizione, nel DNA si incontrano particolari sequenze di basi (poste solitamente alla fine di ogni gene), la trascrizione termina. L'RNA polimerasi degli eucarioti si associa con gli enzimi di verifica dell'mRNA durante la trascrizione, in modo da far procedere velocemente la modificazione dopo l'inizio della trascrizione. Il prodotto non modificato o parzialmente modificato è chiamato pre-mRNA, che una volta modificato prende il nome di RNA maturo. Le tappe della maturazione sono lo Splicing (eliminazione delle regioni non codificanti), il Capping (aggiunta di un cappuccio - 7-metil-guanosina - necessario per il legame al ribosoma) e la Poliadenilazione (nell'aggiunta di una sequenza poliadenilica di circa 200 nucleotidi necessari per riutilizzo del filamento di RNA da parte dei ribosomi al termine di un ciclo di traduzione).

L'mRNA modificato e trasportato al citoplasma (RNA maturo), può poi essere tradotto dal ribosoma. La traduzione può avvenire in ribosomi liberi nel citoplasma oppure nel reticolo endoplasmatico. Il ribosoma legge le basi dell'mRNA a triplette (dette codoni) e a ciascuna tripletta fa corrispondere

un amminoacido rispettando il codice genetico. In realtà, essendo il codice ridondante, alcune triplette codificano per lo stesso amminoacido e solo due amminoacidi sono specificati da una sola tripletta (AUG per la metionina e UGG per il triptofano), esistono inoltre triplette che specificano la fine della traduzione, dette codoni di stop, sono UAA, UAG e UGA, esse non codificano per nessun amminoacido.

La proteina liberata nel citoplasma si ripiega per azione dei legami deboli assumendo la disposizione spaziale necessaria alla sua funzione. Proteine strutturali e funzionali contribuiscono alla formazione del nostro fenotipo.

Nella trascrizione dei geni le informazioni contenute nel DNA vengono trascritte enzimaticamente in una molecola complementare di RNA. Concettualmente, si tratta del trasferimento dell'informazione genetica dal DNA all'RNA. Nel caso in cui il DNA codifichi una proteina, la trascrizione è l'inizio del processo che porta, attraverso la produzione intermedia di un mRNA, alla sintesi di peptidi o proteine funzionali. Le porzioni di un gene che vengono trascritte dalle RNA polimerasi si chiamano esoni. Si definiscono, invece, introni le regioni non codificanti di un gene che, insieme agli esoni, vengono trascritte dalle RNA polimerasi. A differenza degli esoni, gli introni, in seguito al processo di splicing del trascritto primario, non si ritrovano negli mRNA maturi.

Si è a lungo studiato il motivo dell'esistenza degli introni, ma nulla nella cellula è inutile. Varie sono le spiegazioni:

- gli introni possono contenere enhancer, ovvero sequenze che promuovono la trascrizione del gene successivo in RNA, aumentando la velocità di polimerizzazione del RNA polimerasi

- regolano lo splicing alternativo, fondamentale per la costruzione di numerose proteine differenti
- contengono sequenze complementari ad alcuni tratti di DNA in cui agiscono come regolatori d'espressione genica
- possono determinare un aumento della diversità genetica

Non si è ancora certi dell'origine di tutti gli introni, ma si portano tre spiegazioni che tuttavia non soddisfano l'intera massa:

- alcuni introni sono residui fossili di virus (retrovirus) che hanno lasciato il loro patrimonio inserito nelle cellule ospiti, le quali sono riuscite a evitarne la successiva trascrizione, rendendoli inattivi. La riattivazione di alcuni di questi tratti virali, può indurre gravi malattie genetiche.
- alcuni sono la rimanenza di esoni che, a causa di gravi mutazioni, sono stati silenziati —volontariamente— dalla cellula.
- molti possono essere il risultato del processo di exon shuffling, tale teoria ipotizza che gli introni permettano l'assemblaggio delle diverse unità funzionali di una proteina in nuove combinazioni evolutivamente vantaggiose (ad esempio quando un certo genoma ha "imparato" la sequenza che codifica un sito ATPasico, lo inserisce in altri geni che codificano proteine che necessitano di idrolizzare ATP per la loro funzione).

Una sequenza di regolamentazione (detto anche regione di regolamentazione o di una zona di regolamentazione) è un segmento di DNA in cui proteine regolatrici come fattori di trascrizione si legano di preferenza.

La metilazione del DNA è un metodo comune di silenziamento genico. L'acetilazione degli istoni è anche un importante processo di trascrizione.

L'acetiltransferasi dell'istone dissocia il DNA dal complesso degli istoni, permettendo la trascrizione di procedere. Spesso, metilazione del DNA e deacetilazione degli istoni lavorano insieme nel silenziamento genico.

Dopo che il DNA è trascritto e l'mRNA si forma, esiste una regolamentazione sulla traduzione del mRNA in proteine. Le cellule modulano il capping e lo splicing, i tassi di sequenza specifica e la esportazione nucleare. La traduzione di mRNA può essere controllata anche da una serie di meccanismi, per lo più a livello di iniziazione. L'induzione enzimatica (ad esempio) è un processo in cui una molecola induce l'espressione di un enzima. Un sistema inducibile è spento a meno che non vi è la presenza di qualche molecola (chiamata un induttore) che permette di espressione genica. La molecola si dice che "inducono l'espressione. Un sistema reprimibile è attivo sino a che qualche molecola (chiamata corepressor) sopprime l'espressione genica. Enhancer è un esaltatore della trascrizione, cioè una regione di DNA che può essere collegata con delle proteine (in particolare, fattori di trascrizione) per migliorare la trascrizione di geni.

Il processo evolutivo consegue alla selezione che l'ambiente nel quale viviamo esegue sulle diverse espressioni fenotipiche delle variazioni del nostro genoma. Quando questa mutazione è sfavorevole alla vita nell'ambiente nel quale viviamo, il fenotipo viene estinto. Quando questa mutazione è favorevole alla vita nell'ambiente nel quale viviamo, viene selezionata positivamente ed ampliata negli individui successivi. Cioè, abbiamo la trasmissione del patrimonio genico contenente la mutazione positiva alla sua progenie. Sebbene i cambiamenti tra una generazione e l'altra siano generalmente piccoli, il loro accumularsi nel tempo può portare un

cambiamento sostanziale nella popolazione, attraverso i fenomeni di selezione naturale, fino all'emergenza di nuove specie. La selezione naturale è il fenomeno per cui organismi della stessa specie con caratteristiche differenti ottengono, in un dato ambiente, un diverso successo riproduttivo.

Lo studio attuale di queste variazioni genetiche riguarda principalmente un polimorfismo a singolo nucleotide (spesso definito in inglese Single Nucleotide Polymorphism o SNP, pronunciato snip): Questo è un polimorfismo, cioè una variazione, del materiale genico a carico di un unico nucleotide, tale per cui l'allele polimorfico risulta presente nella popolazione in una proporzione superiore all'1%. Al di sotto di tale soglia si è soliti parlare di mutazione. Gli SNPs possono presentarsi all'interno di una sequenza codificante di un gene, all'interno di una regione intronica (porzione di DNA non codificante proteine) o in una regione intergenica. Gli SNPs all'interno di un gene, in ogni caso, non necessariamente modificano la sequenza aminoacidica codificata, dal momento che il codice genetico è degenerato (cioè diversi nucleotidi possono codificare lo stesso aminoacido). Gli SNPs che non si trovano in una sequenza codificante possono, in ogni caso, presentare sequenze negative sullo splicing o sul legame dei fattori di trascrizione.

Lo studio degli SNPs è molto utile poiché variazioni anche di singoli nucleotidi possono influenzare i processi metabolici del nostro organismo condizionandone la risposta nei confronti di alimenti, agenti chimici, farmaci fino ad arrivare ad una diversa predisposizione verso le varie patologie. L'accessibilità delle ultime tecniche di studio (attraverso i microarray, che permettono l'analisi simultanea di centinaia di diverse porzioni di DNA ed

una veloce analisi elaborata da un computer) ha reso accessibile lo studio dei polimorfismi genetici. Un microarray di DNA è costituito da un insieme di microscopiche sonde di DNA attaccate ad una superficie solida come vetro, plastica, o chip di silicio formanti un array (raggruppamento). Tali array sono usati per esaminare il profilo d'espressione di un gene o per identificare la presenza di un gene o di una breve sequenza all'interno di una miscela di migliaia di geni (spesso anche tutto il patrimonio genetico di un organismo).

I microarray sfruttano una tecnica di ibridazione inversa, che consiste nel fissare tutti i segmenti di DNA (detti probe) su un supporto e nel marcare invece l'acido nucleico che vogliamo identificare (detto target). È una tecnica che è stata sviluppata negli anni '90 e oggi permette l'analisi dell'espressione genica monitorando in una sola volta gli RNA prodotti da migliaia di geni. Gli SNP microarray sono particolari DNA microarray che sono usati per identificare i così detti tratti ipervariabili, ovvero quelle sequenze che variano da individuo a individuo nell'ambito della stessa specie o in sottopopolazioni isolate geograficamente o socialmente. Array di oligonucleotidi corti sono usati per identificare il polimorfismo di un singolo oligonucleotide (single nucleotide polymorphisms) (SNPs), che si pensano responsabili della variazione genetica e della suscettibilità individuale a manifestare determinate malattie. I DNA microarray possono essere usati anche per la genotipizzazione (genotyping), che trova impiego nella medicina forense (esame del DNA), nella diagnostica e in una nuova branca della farmacologia, la farmacogenomica, che si propone di studiare la relazione tra diversità genetica e risposta ai farmaci, intendendo per risposta sia gli effetti terapeutici che quelli collaterali o avversi. Lo studio di questi

polimorfismi può rilevare sia mutazioni positive (l'espressività variata del gene determina un fenotipo migliore rispetto a quello di base) che mutazioni negative (l'espressività variata del gene determina un fenotipo peggiore rispetto a quello di base).

Sulla base di quanto esposto abbiamo inserito lo studio di alcuni SNPs nella valutazione del nostro paziente che approccia al nostro programma medico di ottimizzazione psico-fisica con il fine di evidenziare se il suo particolare fenotipo richiede degli interventi privativi o sostitutivi. Il risultato della valutazione degli SNPs effettuati nell'ambito del Life Quality Medical Program, consente di compilare un consuntivo diagnostico con la prescrizione di programmi comportamentali, integrativi e terapeutici che devono essere seguiti dal paziente per tutta la vita.

(ASSENZA DELLA LATTASI) Variazione -13910 C/T sul gene lattasi:

Quando la variazione è presente in entrambe le copie del DNA (CC), essa causa una ridotta espressione dell'enzima lattasi nei microvilli dell'intestino tenue; questa ridotta espressione fa sì che il lattosio venga digerito sempre meno portando a manifestazioni cliniche come coliche, crampi, meteorismo e diarrea. Al contrario, nel caso in cui la variazione presenti la lettera T, in una sola copia (CT) oppure in entrambe le copie del DNA (TT), l'attività enzimatica è sufficiente a garantire la digestione del lattosio. Nel polimorfismo (CC) il paziente deve sospendere l'assunzione di latte e derivati.

(RISCHIO CELIACHIA) Alleli HLA DQ2 e DQ8

La celiachia è una particolare forma d'intolleranza permanente alla gliadina, una frazione proteica della farina di grano, dell'orzo e di altri cereali. Alcuni

geni coinvolti nella risposta del sistema immunitario sono associati al meccanismo che determina l'insorgere della malattia celiaca. In particolare la malattia celiaca è associata nel 90% dei casi alla presenza di antigeni HLA DQ2 e nei restanti casi alla presenza di HLA DQ8. I pazienti che presentano gli antigeni HLA DQ2 e/o HLA DQ8 devono sospendere l'assunzione di alimenti contenenti glutine.

(RECETTORE PER GLI ATTIVATORI DEI PEROSSISOMI GAMMA)

Variazione Pro12Ala (C>G) nel gene PPAR gamma:

Il gene *PPARG* (PPAR-gamma, o recettore gamma di attivazione-proliferazione di perossisomi) codifica per l'omonima proteina, che regola l'adipogenesi ed il metabolismo di grassi e zuccheri, influenzando i livelli di glucosio e di insulina. Individui (CC) sono maggiormente predisposti allo sviluppo del diabete di tipo 2. Mentre gli individui (GC) o (GG) hanno una normale sensibilità all'insulina, con un minor rischio di sviluppare il diabete di tipo 2. Nel polimorfismo (CC) il paziente deve ridurre l'assunzione di zuccheri ed, eventualmente, programmare una terapia con ipoglicemizzanti glitazonici.

(METILENE TETRAIDROFOLATO REDUTTASI) Mutazione C677T sul gene *MTHFR*:

Il gene metilene-tetraidrofolato reduttasi (*MTHFR*) codifica per un enzima in grado di sintetizzare molecole necessarie alla trasformazione dell'omocisteina in metionina. L'iperomocisteinemia è un marker di rischio di obesità e di patologie cardiovascolari, neurodegenerative e oncologiche. I soggetti (CC) e sono da considerarsi con una attività enzimatica normale. Soggetti (CT oppure TT) hanno un *MTHFR* con attività enzimatica ridotta

rispettivamente in modo meno e più accentuato. Nel polimorfismo (CT) o (TT), con attività enzimatica ridotta, si deve attivare il processo di metilazione supplementando acido folico (400 microgrammi al giorno) ed aggiungendo nella dieta frutta e verdura (crucifere). In caso di supplementazione farmacologica, controllare i livelli di vitamina B12 una volta l'anno.

(CONVERTITORE DELL'ANGIOTENSINA) Variazione I/D nel gene ACE:

Questo gene codifica catalizza la conversione dell'angiotensina I in angiotensina II, peptide fisiologicamente attivo. L'angiotensina II controlla la pressione arteriosa e l'equilibrio idrico - elettrolitico. I soggetti (DD), sono predisposti a fenomeni di ipertensione e ad alterazione dell'equilibrio idrico ed elettrolitico, rispetto a soggetti che hanno la variante I, sia essa II o ID. Nel polimorfismo con doppia delezione (DD) il paziente deve ridurre l'assunzione di sodio e controllare l'eventuale aumento della pressione arteriosa.

(ALCOOL DEIDROGENASI 1C) Variazione Ile349Val(A>G) nel gene ADH1C:

L'Alcool - deidrogenasi 1C (ADH1C) è una subunità dell'alcool deidrogenasi, enzima che permette il metabolismo dell'etanolo con successiva formazione di acetaldeide, un composto tossico e altamente reattivo, responsabile di alcuni effetti negativi dovuti all'eccessivo consumo di alcool. Lo stato (GG) o (AG), porta ad una attività enzimatica minore: l'alcool viene quindi metabolizzato più lentamente portando ad una minor tolleranza alle bevande alcoliche. Al contrario la presenza di AA porta ad una migliore metabolizzazione dell'alcool, sebbene sia correlata a malesseri causati dalla grande quantità di acetaldeide prodotta a seguito dell'assunzione eccessiva

di alcool. Nel polimorfismo (GG) e (AG) il paziente deve ridurre l'assunzione di alcool per la lenta metabolizzazione dello stesso. Mentre nel polimorfismo (AA), in caso di assunzione di alte quantità di alcool, si deve ridurre il danno da acetaldeide assumendo Metadoxina che ne aumenta l'eliminazione urinaria.

(CITOCROMO P450 1A2) Variazione *F (-163A>C) sul gene CYP1A2:

Il gene CYP1A2 codifica per il citocromo P-450 di tipo 1A2, un enzima coinvolto nella detossificazione di numerose sostanze xenobiotiche e nel metabolismo di caffeina e di carni grigliate (carni cotte ad elevate temperature). Lo stato (AA) induce un'attività più veloce dell'enzima, la quale favorisce la formazione di sostanze tossiche derivate dal metabolismo di carne grigliata; tale variante però metabolizza bene le basi xantiniche (caffeine). Nello stato (AC) vengono prodotti due enzimi, uno con attività veloce ed uno ad attività lenta. I soggetti (CC) hanno una attività enzimatica lenta e quindi possono metabolizzare facilmente la carne cotta ad elevata temperatura, ma devono porre attenzione a caffè e derivati. Nel polimorfismo (AA) il paziente deve eliminare dalla dieta la carne grigliata perché la più veloce attività dell'enzima favorisce la formazione di sostanze tossiche. Nel polimorfismo (AC) il paziente deve limitare il consumo di carni grigliate, del fumo di sigaretta e di basi xantiniche (caffeine). Nel polimorfismo (CC) il paziente deve porre attenzione all'uso di caffè e derivati e del fumo di sigaretta. Inoltre, molti farmaci (antidepressivi) sono metabolizzati da questo citocromo e possono avere una risposta diversa a seconda del polimorfismo che regola l'azione enzimatica.

(LIPOPROTEINA LIPASI) Variazione C1595G nel gene LPL:

La lipoproteina lipasi (LPL) ha la funzione di idrolizzare i trigliceridi contenuti nelle lipoproteine (chilomicroni e VLDL), liberando acidi grassi. Questi diffondono nelle cellule, dove possono o essere metabolizzati oppure nel caso di un surplus energetico possono essere per la sintesi di nuovi trigliceridi, che verranno poi accumulati nel tessuto adiposo. La variante (CC) predispone a livelli più bassi di HDL e a livelli più alti di trigliceridi. Mentre la variante (GG) presenta effetto benefico con un rischio minore di insorgenza di patologie cardiovascolari, ridotta pressione arteriosa e bassi livelli di trigliceridi. I soggetti GC possono avere profilo normale o alterato sulla base della loro dieta. Nel polimorfismo (CC) il paziente deve ridurre l'assunzione di grassi nella dieta, aumentare l'attività fisica e supplementare l'alimentazione con Omega 3.

(APOLIPOPROTEINA C3) Variazione C3175G nel gene APOC3:

L'apolipoproteina C3 (APOC3) è una lipoproteina capace di legare i lipidi e deputata al trasporto di colesterolo e trigliceridi ai vari tessuti ed organi, attraverso la circolazione. La variazione può portare ad ipertrigliceridemia, con un rischio circa quattro volte più elevato di insorgenza di patologie cardiovascolari e arteriosclerosi. La variante CC non è legata a livelli elevati di trigliceridi. In presenza della variante GG si ha una maggiore concentrazione di trigliceridi nel plasma. In presenza della variante CG, si ha una concentrazione intermedia di trigliceridi. Nel polimorfismo (GG) il paziente deve ridurre l'assunzione di grassi e di zuccheri nella dieta ed aumentare l'attività fisica.

(RECETTORE DELLA GRELINA) Variazione 477G>A nel gene GHSR:

La secrezione di grelina determina la comparsa dell'appetito. Poiché la grelina agisce attraverso il suo recettore GHSR, bloccando tale recettore viene ridotto il consumo di cibo. Il polimorfismo (AA) o (GA) presenta un ridotto blocco del recettore con una suscettibilità all'iperalimentazione e all'obesità. Nel polimorfismo (AA) o (GA) il paziente deve assumere prima dei pasti principali degli integratori (mucillagini ad espansione od endomodulatori per la sazietà) che inducano una riduzione indiretta del senso di fame.

(MOTILINA) Variazione rs9366829 G>A nel gene MLN:

La motilina stimola la funzionalità muscolare e la motilità gastrica e intestinale, con un ruolo importante nell'assorbimento gastrico dei nutrienti e nella peristalsi intestinale. Soggetti (GG) o (GA) possono presentare dispepsia intestinale e sono a rischio di obesità per eccessiva permanenza di cibo nel tratto intestinale rispetto ai normali (AA). Nel polimorfismo (GG) o (GA) il paziente deve eliminare dalla dieta sostanze irritanti (spezie, caffè, etc.) e fermentanti (zuccheri). Assumere fermenti lattici per regolare la flora batterica. Regolare la secrezione gastrica assumendo aminoacidi semplici, dieci minuti prima del pasto. Regolare lo svuotamento gastrico con Domperidone e la flatulenza con Simeticone.

(SUPEROSSIDO DISMUTASI 2) Variazione 47C/T nel gene MnSOD2:

La superossido dismutasi è un enzima antiossidante, responsabile della detossificazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS), attraverso la conversione dei radicali dell'ossigeno in idrogeno perossido. I soggetti con variazione genetica CC hanno ridotta funzione enzimatica e sono maggiormente soggetti ad accumulo di radicali e ad invecchiamento cellulare.

Le persone che presentano la variazione CT oppure TT hanno circa il 33% in più di attività enzimatica di SOD2 (con aumento del perossido d'idrogeno) rispetto a coloro che presentano la variante CC. Nel polimorfismo con polimorfismo (CC) devono assumere regolarmente antiossidanti. Mentre i soggetti (CT) o (TT), producendo un'alta quantità di perossido d'idrogeno, se hanno polimorfismo negativo per la catalasi, devono aiutare la metabolizzazione di questa sostanza (ottimizzando la funzione del Glutatione) supplementando vitamina PP (Niacina) ed il suo precursore (Tryptofano).

(GLUTATIONE S-TRANSEFRASI M1) Variazione Ins/Del nel gene *GSTM*:

L'enzima glutatione S-transferasi, appartiene ad una famiglia di enzimi detossificanti che catalizzano la coniugazione di varie molecole tossiche con il glutatione rendendole meno reattive e più facilmente eliminabili dall'organismo. La delezione (DEL) del gene *GSTM1* determina la perdita della funzionalità detossificante. Al contrario, i soggetti che presentano lo stato (INS) hanno una normale attività detossificante. Nel polimorfismo con delezione (DEL) il paziente deve supportare i processi di disintossicazione sia supplementando vitamina PP (Niacina) ed il suo precursore (Tryptofano), sia con cicli di Glutatione per via endovenosa e Silimarina per via orale.

(CATALASI) Variazione -262C/T nel gene *CAT*:

La catalasi è un enzima coinvolto nella detossificazione della cellula da specie reattive dell'ossigeno. Soggetti (CC) esprimono un quantitativo di catalasi normale e pertanto sono protetti dalle patologie causate da stress ossidativo. Mentre i soggetti (CT) o (TT), esprimono un quantitativo di catalasi ridotto e pertanto sono maggiormente soggetti a patologie causate

da stress ossidativo. Nel polimorfismo (CT) o (TT) i pazienti devono assumere regolarmente antiossidanti.

(INTERLEUCHINA 6) Variazione -174G/C nel gene IL-6:

E' una citochina pro-infiammatoria secreta da macrofagi e linfociti T, che è coinvolta nella regolazione delle risposte immunitarie e nella regolazione della risposta infiammatoria sia di fase acuta che di fase cronica. L'infiammazione ha un ruolo importante nei processi d'invecchiamento e nella patogenesi dell'arteriosclerosi. I soggetti (GG) hanno uno stato normale nella risposta all'infiammazione e non hanno rischio aumentato di patologie. I pazienti (CC) hanno maggiori livelli plasmatici di IL-6 e hanno una maggiore probabilità di essere colpiti dal danno infiammatorio. Soggetti (CG) hanno uno stato infiammatorio intermedio con possibilità di risposta aumentata. Nel polimorfismo (CC) o (CG) i pazienti devono prevenire, per quanto possibile le infiammazioni, regolare la risposta infiammatoria con antiinfiammatori ed assumere regolarmente prodotti tampone per ridurre il danno d'acidosi nei tessuti. Inoltre, prima e dopo l'esposizione solare devono applicare sulla cute sostanze che riducano il processo infiammatorio causato dai raggi UV (Laminaria Ochroleuca).

(FATTORE DI NECROSI TUMORALE A) Variazione -308G/A nel gene TNF alfa:

Il TNF-alfa (Fattore di Necrosi Tumorale alfa) è una citochina pro-infiammatoria coinvolta nell'infiammazione. Nei casi GA e GG, il TNF è poco espresso, aiutando a controllare e ridurre lo stato infiammatorio generale e a livello cutaneo. Lo stato AA porta ad un aumento dell'infiammazione con conseguente danno tissutale che può associarsi ad un aumento delle risposte

infiammatorie da contatto con allergeni (dermatiti da contatto). Nel polimorfismo (AA) i pazienti devono regolare la risposta infiammatoria con antiinfiammatori ed assumere regolarmente prodotti tampone per ridurre il danno d'acidosi nei tessuti. Particolare attenzione deve essere fatta nell'uso di sostanze atopiche per la cute.

(INTERLEUCHINA 10) Variazione -1082G/A nel gene IL-10:

L'interleuchina 10 è una citochina anti-infiammatoria che inibisce il rilascio delle citochine pro-infiammatorie (come TNF alfa) durante lo sviluppo delle risposte infiammatorie. Esiste una variazione nella regione regolatrice del gene che si associa ad una minore produzione di IL10. Soggetti (AA) presentano una normale concentrazione di IL-10. Mentre i soggetti (GA e GG) sono associati ad una minore produzione di IL-10 e pertanto ad una minore attività immunosoppressiva. Nel polimorfismo (GA) o (GG) i pazienti devono prevenire, per quanto possibile le infiammazioni, regolare la risposta infiammatoria con antiinfiammatori ed assumere regolarmente prodotti tampone per ridurre il danno d'acidosi nei tessuti. Inoltre, prima e dopo l'esposizione solare devono applicare sulla cute sostanze che riducano il processo infiammatorio causato dai raggi UV (Laminaria Ochroleuca).

(RECETTORE PER LA VITAMINA D) Variazione B/b (A>G) nel gene VDR:

Gli effetti della Vitamina D sono mediati dal suo recettore (VDR) che regola il trasporto e l'omeostasi del calcio ed è fondamentale per il corretto processo di mineralizzazione ossea. Soggetti (AA) sono predisposti ad una minore densità ossea e ad una riduzione dell'assorbimento del calcio. Mentre i soggetti (GG) o (AG) hanno normale la densità ossea. Nel polimorfismo (AA) i pazienti devono supplementare la dieta con calcio e vitamina D.

(COLLAGENE 1 DI TIPO A1) Variazione S/s (G>T) nel gene COL1A1:

La proteina COL1A1 (Catena Alfa-1 del Collagene di tipo 1) costituisce il collagene, presente nella pelle, nei tendini e nelle ossa. L'espressione di COL1A1 deve essere finemente regolata per la formazione di un collagene più fragile e non perfettamente funzionante con una riduzione di massa ossea. I soggetti GT o TT sono maggiormente predisposti a fratture e a fenomeni osteoporotici rispetto ai normali GG. Nel polimorfismo (GT) o (TT) i pazienti devono assumere Bifosfonati ed integrare l'apporto proteico con la dieta.

(CITOCROMO P450 19A1) Variazione nel gene CYP19A1:

L'aromatasi è l'enzima che sintetizza gli estrogeni dagli androgeni. Il gene che lo codifica si chiama CYP19A1, è localizzato sul cromosoma 15. La variazione nel DNA di CYP19A1 si associa ad una riduzione della sua attività e dei livelli plasmatici e urinari dell'estradiolo ed è correlata a resistenza insulinica, quindi indirettamente a diabete. I soggetti (CC) hanno normale funzione dell'enzima che si presenta, invece, ridotta nei soggetti TT o CT. Nel polimorfismo (CT) o (TT) i pazienti devono ridurre l'assunzione di zuccheri. Inoltre, le pazienti femmina, in climaterio, devono soggettivizzare l'apporto estrogenico nella terapia sostitutiva.

(ENZIMA CATECOL-O-METILTRANSFERASI) Variazione G472A nel gene COMT:

Il gene COMT codifica per l'enzima catecol-O-metiltransferasi, un importante mediatore del metabolismo delle catecolamine cerebrali e degli estrogeni. Lo stato funzionale normale prevede la presenza di GG. I soggetti AG hanno una ridotta funzionalità enzimatica porta ad una ridotta

degradazione della dopamina (con aumento della memoria e dello stato di benessere), ma (nelle donne) ad una ridotta metossilazione degli estrogeni. I soggetti AA hanno migliori performance cognitive e una più efficiente attivazione della corteccia prefrontale (regione responsabile della memoria di lavoro) ma (nelle donne) con notevole riduzione della metossilazione degli estrogeni. Nel polimorfismo (AG) o (AA) i pazienti devono evitare l'uso di sostanze ad effetto dopaminergico (amfetamine, cocaina, nicotina). Nelle donne, lo stesso polimorfismo determina riduzione del processo di metossilazione degli estrogeni con il rischio di neoplasia mammaria. Per questo si deve utilizzare l'applicazione locale (sul seno) di flavonoidi ad effetto antiossidante.

(TRASPORTATORE DELLA SEROTONINA) Variazione L/S nel gene SLC6A4:

Il gene SLC6A4 codifica per la proteina trasportatrice della serotonina (SERT), neurotrasmettitore fondamentale per il tono dell'umore e per l'adattamento allo stress ambientale. I soggetti LL hanno una buona funzionalità della serotonina. Mentre la variante SS e la variante SL sono caratterizzate da una minore espressione del trasportatore e quindi da una ridotta funzionalità della serotonina. Nel polimorfismo (SS) o (SL) i pazienti devono potenziare le funzioni serotoninergiche supplementando Triptofano, quale precursore del neurotrasmettitore.

(RECETTORE DELLA DOPAMINA D2) Variazione TaqIA nel gene DRD2:

DRD2 è il gene codificante il recettore D2 per la dopamina, un neurotrasmettitore implicato nella regolazione della memoria, dell'attenzione, delle energie e delle sensazioni di piacere di una persona. In

particolare soggetti che presentano la variante TT o CT hanno una riduzione della presenza del recettore D2 nel cervello il quale li rende più vulnerabili a disturbi psicotici, che si possono esprimere anche come dipendenza da alcool e droghe, rispetto al normale stato CC. Nel polimorfismo (TT) o (CT) i pazienti con manifestazione clinica devono essere supportati psicologicamente e/o farmacologicamente dalla tendenza a dipendenze da alcool e droghe ed attivare il processo dell'attenzione nella memoria. In casi particolari, il medico può prescrivere dell'Aloperidolo.

(PROTEINA ASSOCIATA A CAPACITÀ COGNITIVE E DELLA MEMORIA) Variazione rs17070145 C>T nel gene KIBRA:

Il gene kibra codifica per la proteina citoplasmatica KIBRA, appartenente alla famiglia delle proteine di trasduzione del segnale ed espressa principalmente nell'ippocampo, regione del cervello essenziale per la memoria. I soggetti TT o CT hanno una memoria episodica potenziata sia di tipo verbale che di tipo visivo. Questo comporta che tali soggetti ricordino meglio e con maggiori dettagli sia le informazioni verbali che quelle visive che riguardano episodi personali passati al contrario dei soggetti CC che hanno performance mnemoniche ridotte. Nel polimorfismo (CC) i pazienti devono supportare il processo biochimico della memoria con endomodulatori, la neosinaptogenesi con fosfolipidi ed utilizzare tecniche di memorizzazione.

(COLLAGENE DI TIPO 3 ALFA1) Variazione 2209G/A nel gene COL3A1:

Il collagene è la principale proteina del tessuto connettivo disposta sotto forma di fibrille molto resistenti. Nell'uomo sono stati identificati numerosi tipi di collagene. I più importanti sono quelli di tipo I, II e III. In particolare, il collagene di tipo III è il componente più importante della

matrice extracellulare. I soggetti GG hanno una normale capacità di formazione di questo tipo di collagene rispetto ai soggetti (AG) o (AA) che presentano una ridotta o mancata produzione del collagene di tipo III. Nel polimorfismo (AG) o (AA) i pazienti devono attivare la neoformazione di collagene reticolare con periodici trattamenti di rigenerazione cutanea con fattori di crescita piastrinici.

(PROTEINA DELLA MATRICE EXTRACELLULARE EMILINA1) Variazione 3159G/C nel gene EMILIN1:

Le fibre elastiche sono composte per il 90% da una rete di microfibrille di elastina, e da molecole che consolidano l'organizzazione nel suo insieme. Tra queste molecole indispensabili alla corretta organizzazione delle fibre del derma vi è l'Emilina. L'emilina 1 contribuisce a mantenere la buona qualità delle fibre elastiche e consolida al contempo l'architettura del derma assicurando il legame tra fibre elastiche e fibre di collagene. I soggetti GC o CC hanno normali concentrazioni di Emilina rispetto ai soggetti GG che hanno una sintesi inferiore di fibre elastiche. Nel polimorfismo (GG) i pazienti devono stimolare la sintesi di Emilina con introduzione intradermica di precursori biologici ed attivatori cellulari (biostimolazione).

(ACIDO IALURONICO SINTASI) Variazione 833A/G nel gene HAS1:

L'acido ialuronico sintetasi (HAS1), è un gene che codifica per una proteina che sintetizza acido ialuronico, una delle componenti fondamentali dei tessuti connettivi dell'uomo. La sua concentrazione nei tessuti del corpo tende a diminuire con l'avanzare dell'età e quindi è per questo che una sua mancanza determina un indebolimento della pelle, promuovendo la formazione di rughe ed inestetismi. I soggetti AG o AA hanno una normale

funzione di questo enzima. DNA (AA) o almeno in una delle due (AG) rispetto ai soggetti GG nei quali l'enzima prodotto è parzialmente non funzionante. Nel polimorfismo (GG) i pazienti devono stimolare la sintesi di Acido Ialuronico con introduzione intradermica e/o transdermica di precursori biologici ed attivatori cellulari (biostimolazione).

(STROMELISINA-1 O METALLOPROTEINASI DI MATRICE DI TIPO 3) Variazione 5A/6A nel gene MMP3:

La stromelisina (detta anche metalloproteinasi di matrice di tipo 3 o MMP3) è una proteoglicanasi. Essa viene secreta assieme ad altre metallo proteinasi e degrada i componenti maggiori della matrice. La MMP3 viene indotta dalle citochine infiammatorie. Tutti gli stimoli che causano infiammazione sono in questo modo causa di invecchiamento precoce della pelle. I soggetti che presentano la variazione (6A/6A) hanno una riduzione dell'espressione di MMP3 del 50%. Questo fa sì che la pelle di questi soggetti sia più resistente a stimoli infiammatori e non subisca un invecchiamento precoce. I soggetti (6A/5A) hanno una produzione di MMP3 equilibrata. I soggetti (5A/5A) hanno una espressione di MMP3 aumentata di 4 volte. Queste persone devono porre particolare ai danni cutanei. Nel polimorfismo (5A/5A) i pazienti ridurre l'attività delle metalloproteinasi cutanee con l'introduzione intradermica di Cisteina (blocco del sito attivo) e con l'utilizzazione transdermica di *Macrocistis Pyrifer*a e *Sanguisorba Officinalis*.

Quanto esposto ci permette di dare delle indicazioni preventive al nostro paziente, al fine di evitare o rallentare l'espressioni negative del polimorfismo riscontrato. L'esame riveste una particolare importanza perché permette di valutare le predisposizioni negative che possono presentarsi nel

tempo e divenire un problema funzionale che ritarda i normali processi fisiologici del nostro organismo. Altrettanto importante è evidenziare che questo esame deve essere fatto una sola volta nella vita, questo perché il nostro patrimonio genetico non cambia.

CAPITOLO 15

Trattamento Eziopatogenetica Cellulite

Quando iniziai ad occuparmi professionalmente della medicina estetica (anni '80), la nostra operatività era principalmente rivolta al trattamento della cellulite.

Erano stati i francesi, con la loro mesoterapia, a iniziare a trattare questo problema estetico della donna. S'infiltrava un particolare prodotto, chiamato Thiomucase, che non era altro che un enzima capace di solubilizzare il tessuto connettivo. Si dava, perciò, un danno biologico per consentire un transitorio miglioramento estetico.

In un convegno sulla cellulite, organizzato dalla Società Italiana di Medicina Estetica, incontrai il prof. Sergio Curri che presentava la sua Panniculopatia Edemato-Fibro-Sclerotica. Lui attribuiva al problema una causa microcircolatoria che determinava un processo evolutivo di degenerazione del tessuto adiposo. Il Prof. Curri era un istopatologo ma, principalmente, era un maestro. Non solo di scienza medica ma di ogni branca culturale.

Nella mia vita ho avuto l'onore e il piacere di incontrare alcuni di questi uomini, maestri di scienza medica, che potevano spaziare, quando li ascoltavi, negli argomenti più disparati di storia, arte, letteratura, filosofia, religione ecc. Curri era uno di questi, come il Prof. Ivo Pitanguy o il Prof. Jose Juri. Uomini che ti affasciano con la loro cultura e il loro carisma. Uomini che puoi ascoltare per ore con attenzione, apprendendo sempre qualcosa di nuovo. Uomini che possono colloquiare in molte lingue diverse. Uomini che

possono recitare a memoria una poesia di dieci minuti, come un attore provetto. Uomini che, citando il Proemio dell'Odissea (nella traduzione di Ippolito Pindemonte), potremmo definire "uomini dal multiforme ingegno". Uomini che oggi, purtroppo, non esistono più.

Ma torniamo a Curri, ebbi l'occasione di passare alcune ore con lui un giorno che, ritornando dall'Università di Siena, gli diedi un passaggio in macchina. Nel percorso ci fermammo a mangiare alla Locanda dell'Amorosa, un piccolo ristorante albergo molto grazioso. E' a tavola che lo scoprii, nella sua conoscenza e ricercatezza dei piatti toscani e dei vini che li accompagnano. Non una conoscenza superficiale, ma una conoscenza che gli permetteva di descrivere con particolarità il piatto o il vino e di riprendere il gestore sulle irregolarità della preparazione culinaria. Infatti, la locanda era stata venduta a degli inglesi che, nonostante la buona volontà, non conoscevano tutti i segreti della cucina toscana. Curri li convocò e parlando in un inglese perfetto gli descrisse quello che c'era di sbagliato nel piatto, parlando, non solo dei componenti, ma del perché questi dovevano essere abbinati e in quali quantità.

Poi iniziammo a mangiare e, tra un boccone e l'altro, mi parlò, prima della "malnomata" cellulite (così lui la definiva) e poi delle Cariatidi del Partenone che lui aveva studiato per una particolare muffa che le aggrediva e da lì, alla storia, alla filosofia greca, all'arte antica, alla biologia. Io ascoltavo e assorbivo come una spugna tutta questa cultura e mi chiedevo quanto bisognasse studiare per divenire come lui. Un maestro.

Ancora oggi, in una mia recente presentazione sull'eziopatogenesi della cellulite, riporto la sua intuizione del 1979 quando coniò l'acronimo di PEFS

dando l'indicazione della causa che dovevano trattare se volevamo risolvere il problema cellulite.

Ricevetti proprio da lui stimolo a studiare per arrivare al Protocollo di **Trattamento**, su base **eziopatogenetica**, della così detta **Cellulite**.

Il termine comunemente usato di **cellulite** è termine, generico e improprio sul piano medico, che non indica il reale problema. Il consolidamento, però, di questa terminologia ci obbliga ad accettarlo, ma con i dovuti chiarimenti.

Questo termine viene, comunemente, utilizzato dalle nostre pazienti, per indicare un aumento di volume a livello della faccia supero esterna della coscia.

Detto aumento di volume può essere determinato da cause prettamente estetiche:

- . Un cedimento del muscolo gluteo
- . Una sporgenza ossea (testa del trocantere) in eccesso

O da cause d'interesse medico:

- . Un eccesso di grasso localizzato
- . Un'alterazione microcircolatoria del tessuto adiposo (PEFS)

Le cause estetiche richiedono un trattamento non medico di armonizzazione del corpo della paziente. Nell'ipotonia muscolare abbiamo la perdita di volume e di tonicità del muscolo gluteo. Questa porta a scivolamento della massa muscolare verso il basso, per azione della gravità, con compressione dei tessuti posteriori della coscia e spostamento degli stessi verso l'esterno.

Nell'accentuazione dell'habitus ginoide abbiamo una strutturalità ossea del bacino femminile che porta ad un'prominenza esterna della testa del trocantere.

In ambedue i casi, armonizziamo il corpo della paziente con un incremento muscolare. Nel primo caso, a livello del muscolo gluteo. Nel secondo caso, a livello della porzione superiore del corpo (deltoidi e trapezio), per nascondere l'habitus ginoide. Anche se il termine ginoide ci dice che questa strutturalità è caratteristica della donna. Ma oggi, la variazione dei canoni estetici porta all'esaltazione delle strutturalità anatomiche delle modelle anglosassoni, caratterizzate da un habitus androide (mascolino).

Passando alla cellulite d'interesse medico, dobbiamo approfondire le caratteristiche fisiopatologiche del tessuto adiposo, già approfondito nel capitolo sull'ossigenoclasia.

Il volume adipocitario è anche funzione dei regolari scambi microcircolatori. Maggiore è il contatto tra l'adipocita e il capillare e più facile è il mantenimento di un giusto volume degli adipociti.

Gli scambi metabolici tra arteriole ed adipocita e tra adipocita e venule è regolato dall'Equilibrio di Sterling, che prevede una pressione idrostatica maggiore della pressione oncotica al versante arteriolare e una pressione idrostatica minore della pressione oncotica al versante venulare. Questo consente ai liquidi e ai metaboliti a loro associati di passare dall'arteriola alla cellula e dalla cellula alla venula.

L'alterazione del microcircolo del tessuto adiposo porta a un'alterazione cronica del tessuto adiposo che evolve nel tempo nella panniculopatia edemato-fibro-sclerotica. Questa patologia porta a una degenerazione del

tessuto adiposo che evolve nel tempo dall'edema, alla risposta fibrotica, alla retrazione fibro-sclerotica.

Come detto, il rallentamento del circolo venulare, dovuto o a stasi della circolazione veno-linfatica degli arti inferiori o a compressione dei capillari per ipertrofia dell'adipocita, induce la formazione di edema. L'acqua, che ristagna nel tessuto, è ovviamente incomprimibile e determina delle variazioni meccaniche sulle cellule. La meccano-trasduzione ci chiarisce che, stimoli meccanici sulla cellula determinano variazioni biochimiche nella stessa.

Tutto questo avviene in conseguenza della particolare struttura della matrice. Nella matrice abbiamo una sostanza amorfa, formata dai proteoglicani, e delle fibre rigide, costituite prevalentemente da fibre collagene, queste fibre non solo libere, ma collegate, mediante particolari ponti proteici (caderine) al citoscheletro cellulare. Da ciò, ogni movimento delle fibre esterne induce un movimento del citoscheletro ed una variazione della biochimica cellulare (espressione recettoriale, apertura chiusura dei pori nucleari).

L'aumento dell'acqua nella matrice induce un allontanamento delle fibre collagene dalla cellula e, in conseguenza uno stiramento del citoscheletro. La letteratura scientifica (*International Journal of Obesity*, 2003, 27, 1178-1186) ci dice che la compressione del citoscheletro cellulare inibisce il metabolismo dell'adipocita, mentre lo stiramento (stretching) lo attiva. Da ciò, lo stato edematoso determina un'ipertrofia adipocitaria.

Questa ipertrofia è anomala perché il tessuto adiposo in quel distretto è scarsamente irrorato (alterazione del microcircolo) e, quindi, ipossico.

L'adipocita si oppone a questo stato liberando citochine infiammatorie (THF, IL-6). Abbiamo trovato l'eziopatogenesi della cellulite? L'infiammazione?

Dobbiamo fare un chiarimento, le citochine sono dei piccoli frammenti proteici che vengono liberati dalle cellule per effettuare un regolamento metabolico delle funzioni sia della stessa cellula (funzione autocrina), sia di cellule vicine (funzione paracrina) sia di cellule lontane (funzione endocrina).

La scoperta di nuove citochine in un particolare meccanismo biologico porta a nominarle con il riferimento al meccanismo studiato. Da ciò, le citochine infiammatorie sono citochine evidenziate nel processo infiammatorio, ma che stimolano l'infiammazione quando agiscono sui macrofagi. Diversa è la risposta quando agiscono su cellule differenti.

Per comprendere meglio, la biologia cellulare è sempre caratterizzata da uno stimolo (citochina) che agisce sulla cellula (recettore) e induce una risposta biologica. Questo meccanismo è sempre uguale, cambia la risposta a seconda del tipo di cellula stimolata.

Perciò, le citochine TNF e IL-6, liberate dall'adipocita, agiscono in maniera autocrina regolando il metabolismo dei grassi cellulari. Ma, se non abbiamo questa regolazione, vengono prodotte in quantità maggiore e possono interessare anche i macrofagi attraverso uno stimolo paracrino, inducendo infiammazione. Infine se la produzione aumenta, possono essere liberate nel circolo ematico, risposta endocrina, e raggiungere il fegato determinando la sindrome metabolica.

Chiarito questo meccanismo possiamo confermare che l'eziopatogenesi della "cellulite" è determinata da un'alterazione microcircolatoria, dovuta o a stasi del circolo veno-linfatico degli arti inferiori, o a compressione dei vasi

capillari per ipertrofia dell'adipocita. In ambedue i casi abbiamo la formazione di edema e l'attivazione della progressione della patologia.

Questo ci permette di spiegare tutte le altre ipotesi eziopatogenetiche. Infatti l'edema da stasi, conseguente all'alterazione microcircolatoria, determina, per mecano trasduzione, l'ipertrofia adipocitaria; a questa consegue la liberazione di citochine che interessano anche i macrofagi, causando infiammazione; lo stato infiammatorio produce acidificazione della matrice con iperpolimerizzazione dei mucopolisaccaridi; nello stato infiammatorio, le metalloproteinasi attivate determinano proteolisi dei setti interlobulari, già danneggiati dalla compressione dell'edema. Tutto questo consegue al primum movens della stasi microcircolatoria e della formazione dell'edema.

Da tutto ciò, il trattamento eziopatogenetico della cellulite prevede:

1. Il trattamento del microcircolo e dell'edema
2. La riduzione del volume degli adipociti
3. La riduzione del numero degli adipociti.

Iniziamo perciò il nostro trattamento, sempre, con una mesoterapia flebotonica e dei linfodrenaggi (almeno per un mese); proseguiamo con della mesoterapia lipolitica per diminuire il volume degli adipociti (quattro sedute ogni sette giorni); infine riduciamo il numero degli adipociti, prima con la Fat Apoptosis e, se questa non è sufficiente, con l'Ossigenoclastasi.

CAPITOLO 16

Ma la vita cambia

Gli anni passavano e il mio sguardo correva sempre in avanti. Vivevo la mia vita professionale a pieno senza rimpianti o rimorsi per il passato, pieno della mia sicurezza, professionale e personale, sicuro che il mio futuro, per il tempo che la vita mi avrebbe concesso, sarebbe stato sempre gestito dalla mia forza e dalla mia volontà.

Dopo una vita basata solo sulla mia capacità, caratterizzata solo dalle mie scelte, giuste o sbagliate, dalle quali avevo ricevuto successi conquistati o delusioni da me volute. Mi sentivo forte, nella mia debolezza. Sapevo che tutto quello che avevo fatto o conquistato era frutto delle mie capacità. Pur riconoscendo che le persone, con le quali avevo trascorso una parte del percorso della mia vita, erano state importanti nella mia crescita, sapevo che nulla mi era stato dato o concesso e che tutto quello che avevo conquistato era stato solo frutto della mia forza, della mia intelligenza e della mia caparbità. Ero felice di quello che avevo fatto, di non aver mai rinunciato ai miei principi, che, non ostante gli altri mi ritenessero troppo rigido, questa rigidità, rivolta anche a me stesso, mi aveva fortificato e mi avrebbe permesso di continuare la vita che avevo scelto e di viverla intensamente e a pieno.

Il mio lavoro scientifico mi aveva portato a dei riconoscimenti ufficiali in tutto il mondo, Venivo invitato in importanti congressi internazionali. Mi appellavano con il titolo di Professore o di Maestro, non per i miei ruoli accademici ma perché ero considerato una delle maggiori personalità

scientifiche nel mondo della medicina estetica. Ero chiamato a tenere lezioni in Sud America, negli Stati Uniti, in Europa, nei paesi dell'ex Unione Sovietica e, ovunque portavo le novità e le intuizioni nate dal mio lavoro.

Anche sul piano della libera professione i miei successi mi consentivano risultati economici tali da permettermi una vita che, da ragazzo, non avrei mai sognato. Io, figlio di un barbiere, che avevo iniziato a lavorare, per continuare a studiare, dall'età di undici anni. Io che avevo fatto i lavori più disparati, dal cascherino del fornaio al cameriere, dal fattorino allo scaricatore ai mercati generali, dal materassaio al lattaio, ero riuscito, non solo a prendermi due lauree e due specializzazioni, a diventare docente universitario in Italia e all'estero, ma ad acquistare un posto sociale ed economico invidiabile. Mi muovevo su una Jaguar, vivevo in una villa in un centro residenziale, viaggiavo in aereo in classe business, facevo le vacanze invernali alle Maldive. Avevo un mio studio professionale in una zona bene di Roma, facevo consulenza in altre città italiane ed ero arrivato ad avere uno studio a Mosca e uno a Kiev.

Mi sentivo unico, forte, invincibile. Ma la vita mi doveva dare una grave lezione di umiltà e mi doveva far toccare, con mano dolorosa, la mia fragilità fisica. Questo avrebbe intaccato anche la mia forza psichica.

Mi trovavo a Kiev, dove avevo tenuto delle lezioni e avevo fatto il mio studio professionale. La sera ero stato a cena con dei professori russi, lì avevo sfoggiato la mia forza e la mia ironia mettendo alle corde un russo presuntuoso. Ma erano i miei ultimi colpi.

La sera, in bagno, nel mio albergo, improvvisamente sento una dolore pazzesco alla schiena, al petto e al collo. Un dolore che avevo letto sui libri di medicina e che indicava gli attimi che precedevano la morte in una paziente con dissecazione aortica. Pensai: "Possibile che la mia vita debba finire in un bagno di un albergo ucraino, da solo?". Mi sento mancare, la testa mi gira, mi compaiono delle ombre negli occhi. Esco dal bagno e mi butto sul letto. Il dolore è ancora forte, ma meno intenso. E non muoio.

Passo una notte con questo dolore continuo, ma comincio a pensare che la causa non fosse una possibile dissecazione (ricordavo che l'esito inevitabile doveva essere la morte) ma un colpo di freddo preso la sera all'uscita del ristorante.

Il giorno successivo, inizio ad assumere del nimesulide (quattro al giorno), vado in aeroporto e torno in Italia. Il dolore, sicuramente minore, permane ed io continuo ad assumere farmaci antidolorifici. Riprendo la mia vita e vado avanti per più di dieci giorni. Poi, come facevo saltuariamente, essendo iperteso da sempre (mai preso un farmaco antipertensivo per non intaccare la mia mascolinità. Sì il termine che stai dicendo è corretto, sono stato un coglione), misuro la mia pressione e mi accorgo di non avere più, sull'arto sinistro, il polso brachiale e il polso radiale. Decido di fare un controllo. Chiamo il mio amico Francesco Baratta, titolare di un centro diagnostico, e chiedo di fare un ecocardiogramma. Francesco mi dà un appuntamento per il lunedì successivo.

Quel giorno, 11 novembre 2013, lascio lo studio alle 15:30 dicendo: "Esco e torno tra un paio di ore, vado a fare un piccolo controllo". Non sono

tornato. Vado a fare l'esame e, durante questo, vedo sbiancare la giovane cardiologa che lo sta eseguendo. Mi dice: "Deve andare immediatamente in ospedale, ha un'aorta con un diametro di otto centimetri". Io la guardo, ho sempre il mio dolore ma penso di stare bene. Non sono convinto. La ringrazio, chiedo il referto, ringrazio Francesco e vado via, deciso a tornare a lavoro. In macchina, Francesco mi chiama: "Maurizio, la cardiologa è disperata, mi ha detto che non dovevo lasciarti andare, che da un momento all'altro puoi morire, ti prego vai in ospedale". Prometto a Francesco di ascoltarlo e telefono a un altro amico, il prof. Marco Guazzaroni, primario della Radiologia Interventistica dell'Ospedale S. Eugenio. Marco mi ascolta e mi dice di andare subito in ospedale. "Marco, sono le 17:30, non ti voglio prendere tempo, ci vedremo domani". "Maurizio, vieni immediatamente, ti sto aspettando!". Vado, mi fa immediatamente una TAC con contrasto e mi fa vedere che la mia aorta è dissecata da sopra le coronarie a dopo la succlavia (una dissecazione di tipo A, la peggiore). Vengo caricato urgentemente su una autoambulanza, arrivo al Policlinico Tor Vergata e mentre mi portano, in lettiga, nella sala operatoria del Centro di Cardiocirurgia, mi iniettano nella vena, già incannulata, l'anestetico e.....inizia il mio incubo.

Quando dormiamo, sogniamo, sogni belli o brutti, quasi mai li ricordiamo. Sotto anestesia, si sogna, solo sogni brutti e, purtroppo, in maggioranza, si ricordano. Anch'io ho sognato, principalmente sogni angosciosi.

Una cappella, una bara con sopra delle scarpe da donna in cristallo. Tutto nella penombra, poi il fuoco attorno alla bara, fuoco che la avvolge e la consuma, ma le scarpe restano intatte.

Difficoltà a respirare, chiuso, con qualcuno, in una stanza di cristallo. La stanza si muove sott'acqua, lungo i canali di Venezia. Attraverso le pareti trasparenti vedo un'acqua verde e cupa. Voglio uscire alla luce e all'aria, ma non posso.

Sono in una stanza, bloccato in un letto, personale medico indiano gira all'interno, fa caldo e ho sete. La stanza è sollevata con un elicottero e mi portano via. Sono depositato in un magazzino. Ho sete, ma nessuno mi dà acqua.

Sono in una grande via, sono bloccato, forse legato, delle persone dell'est, una banda mafiosa, mi minaccia. Mi chiede delle cose che io non voglio fare. Mi negano l'acqua. Ho sete. Non voglio dargli soddisfazione. Il tempo passa. Periodicamente loro tornano per vedere se ho ceduto. Mi propongono acqua se io accetto quello che vogliono. Io non cedo. Soffro ma non cedo.

Sono in una grande barca. Ci sono medici e infermieri. Io ho qualcosa al collo che mi stringe. Voglio toglierlo, ma un'infermiera, accanto a me, mi blocca. Cerco di allentare questa stretta al collo, ma lei mi vede, mi sgrida, mi colpisce la mano. La odio. Aspetto che si distraiga e ci riprovo e, lei, mi colpisce ancora. Poi mi trovo in un porto. Sono sempre bloccato, ma una porta si apre ed entra la mia famiglia. Sono sempre in India e mi meraviglio che loro stiano lì. Mi dicono che sono venuti per salvarmi per portarmi via.

Sono nel fondo di una piccola barca. Un medico è sopra di me. Mi dice di resistere. Sento male al collo. Sta cucendo qualcosa. Io mi sforzo di resistere. Devo resistere. Continua a farmi male. Finalmente finisce.

Arriva qualcun altro. Lo sgrida perché ha fatto male. Mi toglie tutto e ricomincia il dolore.

Tra tutti questi incubi, forse l'unico sogno che mi ha dato del sollievo è un sogno strano, strano per me che sono ateo. Ero davanti ad un tunnel, chiuso da una massa di roccia compatta. Accanto a me Papa Francesco. Con un piccolo scalpello colpisce ripetutamente la roccia, raccoglie i pezzi e li mette nella gerla di un piccolo asino. Si gira verso di me. Mi sorride e mi dice: "Non ti preoccupare, pian piano passiamo". Lo stesso sogno si è ripetuto due volte. Un segno che doveva variare la mia spiritualità? Forse, ma tornato alla vita, ho voluto provare a credere. Non ci sono riuscito.

Poi mi sveglio, mi guardo intorno, vedo una grande stanza, delle infermiere, tante strumentazioni. Sono nel centro di terapia intensiva. Come prima cosa, penso e mi accorgo che il mio cervello funziona. Bene. Poi provo a muovermi, ma solo il braccio sinistro mi risponde e male. Provo a parlare, ma non ci riesco. Sono tracheotomizzato. E l'incubo inizia.

Mi rifiuto di raccontare quello che ho vissuto nei trenta giorni di terapia intensiva. Trenta giorni nei quali vivi, minuto per minuto, un tempo che non passa mai. Trenta giorni nei quali perdi la tua dignità di uomo e sei gestito come un pupazzo, anzi, peggio, come uno straccio da sbattere da una parte e dall'altra. Trenta giorni nei quali inizi a sopportare, ma poi non ce la fai più, vorresti farla finita, ma non puoi, perché non ti muovi, non parli e se anche comunichi, nessuno ti ascolta. Trenta giorni di vera tortura.

Dopo questa mia esperienza, ho letto un libro: "Quello che sognano i pesci rossi" e ho rivissuto, una piccola parte della mia incredibile sofferenza. Questo libro dovrebbe divenire libro di testo per gli infermieri e per i

medici, anche se la sensibilità e l'umanità non si studiano. O l'hai o sarebbe meglio che facessi un lavoro diverso.

Fortunatamente, tutto finisce e anche la mia brutta esperienza rimane nel passato. Una settimana in reparto, due mesi di riabilitazione e poi si cerca di tornare alla vita normale. Non c'è più nulla di normale. Tutto è cambiato. Il superman di una volta è scomparso. Ora c'è un uomo che dipende dagli altri, che ancora non riesce ad essere autonomo, che prende 10 pillole al giorno, che si muove a fatica. La consapevolezza di questa situazione fisica ti rende debole anche psicologicamente, cominci a comprendere cosa è la depressione.

Ti chiedi: "Ma cos'è la vita? Quantità o qualità?". "Perché non sono morto?". Avevo vissuto alla grande per sessantacinque anni. Avevo avuto tutto quello che volevo. Non avevo fatto rinunce, se non volute. Avevo avuto una vita intensa, faticosa, ma sempre vissuta a testa alta. Ora, continuo a vivere, ma consapevole dei miei limiti fisici, delle mie dipendenze, delle mie fragilità. Questa non è più la mia vita, ma la vita di un altro Maurizio. Un Maurizio che, per la prima volta, scopre il rimpianto.

Mio nipote Stefano, sentendo queste mie parole, prima mi ha detto che non dovevo nemmeno pronunciarle, poi, scherzando, mi ha detto: "Dio esiste. Sarebbe stato troppo comodo per te, lasciare tutte le persone che ti amano e chiudere questa tua vita arrogante e presuntuosa. Dio ha deciso che tu rimanga sulla terra per scontare il tuo superomismo e capire cosa è la paura, il dolore, la fragilità, la malattia". Chissà? Forse ha ragione.

Sono passati due anni da allora. La mia forza fisica è aumentata. Fuori sono quasi tornato lo stesso di prima. Ma il mio animo, la mia consapevolezza, il mio essere, è cambiato. Questo mi ha portato alla necessità di sedermi al computer per raccontarmi, per lasciare al tempo quello che ho fatto e come l'ho fatto. Questo mio scritto è la vera dimostrazione della mia debolezza e di quanto è cambiato il Maurizio che, non solo non chiedeva, ma che non doveva raccontare o spiegare nulla di se stesso. Qualcuno può senz'altro preferire questo Maurizio, più umano. Io rimpiango l'altro.

CAPITOLO 17

Full Face Optimize

Stiamo arrivando ai nostri giorni ma il mio lavoro non si è fermato. Uno degli ultimi nati è il **Full Face Optimize**, un trattamento di ottimizzazione biologica e estetica eseguito con l'uso di principi attivi farmacologici.

Abbiamo lungamente parlato di biostimolazione e di come abbiamo iniziato questa tecnica mescolando principi attivi farmacologici. Poi è arrivata l'industria e ha preparato dei medical device pronti. Alcuni di questi più validi e altri meno. Io avevo dato delle formulazioni che hanno portato ad una linea allora molto valida ma che nel tempo ha perso la sua funzione. Perché? Perché il nostro lavoro di ricerca non si ferma e abbiamo trovato delle nuove possibilità che non potevano essere espletate con quanto avevamo a disposizione.

Purtroppo, l'ottica commerciale è diversa da quella scientifica e che già vende un prodotto, con una resa economica, non è disposto ad investire nella formulazione di prodotti nuovi e più attuali.

Abbiamo, perciò, ripreso le nostre vecchie abitudini di mescolare principi attivi farmacologici per ottenere i risultati che volevamo sulle nostre pazienti. Questo ci ha consentito una ottimizzazione full face dei tessuti che compongono il volto attraverso:

- Il miglioramento del metabolismo cutaneo
- L'idratazione del derma

- La distensione, per fibrosi, dei tessuti ipotonicici
- La regolazione della secrezione sebacea
- Lo sbiancamento della cute
- L'elevazione, antigravitaria dei tessuti molli
- La riduzione dei volumi adiposi
- Il rilassamento e la tonificazione dei muscoli del volto
- L'aumento dei volumi delle ossa

Ed è nato il Full Face Optimize.

Il processo d'invecchiamento del volto è caratterizzato dal progressivo svuotamento del volume dei tessuti e dalla caduta in basso di questi, per azione della forza di gravità. Fino a poco tempo fa il trattamento richiedeva un intervento chirurgico con asportazione di una parte dei tessuti ipotonicici. Questo determinava delle variazioni nell'espressività del volto. Oggi, possiamo parlare di Full Face Medical Rejuvenation perché, le ultime tecniche di medicina estetica, ci consentono di ringiovanire un volto senza l'uso del bisturi. Infatti, il nostro intervento, effettuato solo con aghi, può agire su tutti i tessuti del volto: cute, grasso, muscolo e osso, riportandoli allo stato giovanile.

Il Full Face Medical Rejuvenation prevede una parte iniziale di rigenerazione (stimolazione alla nuova formazione di tessuto biologico funzionale), detta Full Face Regeneration, alla quale segue un mantenimento di ottimizzazione funzionale e biologica e un'ottimizzazione estetica del volto che si denomina, Full Face Optimization. Questi trattamenti medici ci consentono di ottenere

un risultato di ringiovanimento del volto della paziente sovrapponibili ai risultati ottenibili con il lifting chirurgico.

Con il Medical Face Regeneration possiamo rigenerare:

- L'epidermide
- Il derma
- L'ipoderma
- L'osso

Per ottenere questo utilizziamo prodotti autologhi del paziente ed in particolare:

- Autologus Platelets Derived Growth Factors
- Autologus Platelets Rich Plasma
- Autologus Plasmatic Fibrin
- Autologus Adult Fat Stem Cells
- Autologus Biological Tissue Support

La parte rigenerativa permette di normalizzare quantitativamente i tessuti del volto, mantenendo la loro funzione biologica. Dopo questa primaria normalizzazione, ci inseriamo con il **Full Face Optimize**.

I trattamenti del Full Face Optimize, come detto, prevedono:

- Il miglioramento del metabolismo cutaneo
- L'idratazione del derma
- La distensione, per fibrosi, dei tessuti ipotonici
- La regolazione della secrezione sebacea
- Lo sbiancamento della cute

- L'elevazione, antigravitaria dei tessuti molli
- La riduzione dei volumi adiposi
- Il rilassamento e la tonificazione dei muscoli del volto
- L'aumento dei volumi delle ossa

Il **Full Face Optimize** può essere eseguito contemporaneamente nella stessa seduta perché prevede il trattamento di tessuti diversi o di zone diverse di uno stesso tessuto.

Iniziamo con la il miglioramento del metabolismo cutaneo o **biostimolazione cutanea**.

Con il termine di biostimolazione cutanea intendiamo una regolazione dei normali processi fisiologici cutanei fatta al fine di mantenere le corrette funzioni biologiche. L'ottimizzazione funzionale si ottiene attraverso un'ottimizzazione dello stato fisiologico della cute.

La cute è un tessuto labile. Infatti, nel derma abbiamo un continuo rimaneggiamento dei componenti biologici. Le metalloproteinasi idrolizzano le macromolecole della cute ed il fibroblasto le riforma. Da ciò, il nostro intervento dovrà essere diretto all'attivazione della funzione fibroblastica e alla limitazione dell'azione delle metalloproteinasi.

Attiviamo, perciò, i recettori del fibroblasto (recettori della tirosinKinasi o CD44) utilizzando dei fattori di crescita piastrinici, o dei frammenti di acido ialuronico, o la meccano-trasduzione. I fattori di crescita piastrinici vengono liberati mediante un needling perpendicolare effettuato con lo stesso ago utilizzato per inserire, nel derma, i principi attivi. E' importante introdurre perpendicolarmente l'ago e non utilizzare dei roller, perché dobbiamo fare

una soluzione di continuo del tessuto e del vaso, senza eccessivo trauma e senza indurre un processo infiammatorio, al quale seguirebbe una neocollagenogenesi di I° tipo.

I frammenti di acido ialuronico, di 20-38 monomeri, si legano ai CD44 stimolando la proliferazione fibroblastica e l'attività metabolica. Questa possibilità richiede l'uso di un medical device con questi frammenti.

La *meccanotrasduzione* induce, tramite stiramento della cute, una variazione del citoscheletro cellulare che traduce lo stimolo meccanico in stimolo biochimico anabolico. Sappiamo che, nella matrice dermica, le fibre collagene sono collegate, tramite le integrine, al citoscheletro cellulare. I movimenti meccanici della matrice portano ad un movimento delle fibre collagene che si continua sul citoscheletro cellulare e su delle variazioni meccaniche intracellulari, come la variazione dell'espressione recettoriale e i meccanismi di lettura del DNA. LA letteratura ci dice che i processi di compressione meccanica della cellula inducono inibizione delle attività biochimiche di questa, mentre i processi di stiramento, attivano le funzioni cellulari.

Da ciò, la nostra attivazione fibroblastica avviene, prima con un stretching meccanico del derma e poi con un needling perpendicolare dell'ago. Nella fase di ritiro dell'ago, rilasciamo un ponfo dermico di principi attivi che, secondo i principi della mesoterapia, verranno rilasciati gradualmente nell'arco di 5-6 giorni.

Le sostanze che rilasciamo nel ponfo sono: aminoacidi, in particolare cisteina, colina, antiossidanti e un tampone bicarbonato, in una soluzione normotonica e a pH di 7,4. Vediamo il perché di questi principi attivi.

Attivato il fibroblasto, stimolando la sua funzione anabolica di ricostruzione della matrice dermica, inibiamo, con della cisteina, l'attività delle

metalloproteinasi che distruggono la matrice dermica. Le metalloproteinasi, enzimi normalmente presenti in fase inattiva nel derma, si attivano tramite distacco della cisteina dal sito attivo; l'introduzione di questo aminoacido compete con l'apertura del sito attivo e con l'attività delle metalloproteinasi. Forniamo, poi, al fibroblasto, attivato, gli aminoacidi per consentire la nuova formazione dei costituenti del derma. Prolina per il collagene, lisina per l'elastina e glucosamina per l'acido ialuronico. Questa soluzione deve essere con un'osmolarità di 310 mOsm/l per evitare danno biologico e non creare edema. Inoltre deve avere un valore del pH di 7,4, ottenuto con un tampone bicarbonato, per evitare le conseguenze del processo di acidificazione.

L'acidificazione induce un'alterazione della matrice variando lo stato colloidale di questa. I proteoglicani della matrice, al pH fisiologico di 7,4, hanno tutti la stessa dissociazione (negativa), questo consente una repulsione elettrostatica che mantiene queste grandi molecole diffuse nell'acqua, evitando la loro aggregazione e la trasformazione della soluzione colloidale della matrice in uno stato di gelificazione che impedirebbe i normali scambi biologici. L'aumento delle cariche elettriche positive (acidificazione), come avviene nell'infiammazione, satura le cariche negative e le macromolecole si accumulano solidificando la soluzione.

Inoltre, in ambiente acido, ricco di cariche positive, abbiamo una più facile secrezione, dal fibroblasto, di frammenti carbossiterminali del procollagene (con carica negativa) e, conseguente assemblamento delle fibre in collagene di I° tipo (l'aumento della quantità di questo collagene, rispetto al collagene reticolare determina invecchiamento della cute).

Per completare l'ottimizzazione biologica della cute, dobbiamo ridurre il cronoaging (indotto dall'escape dei radicali liberi dell'ossigeno), mediante

degli antiossidanti, e il photoaging (danno da raggi UV). Quest'ultimo induce a livello epidermico una irregolarità nel processo di differenziazione cheratinocitaria, regolato dal sistema colinergico cutaneo. Per questo, aggiungiamo anche della colina, precursore dell'acetilcolina, ottimizzando il metabolismo dei cheratinociti.

Introduciamo quanto esposto all'interno del derma, con un ago 30G 4 mm, assicurandoci la formazione del poro. Vengono fatte 2 sedute distanziate di quindici giorni, per ottimizzare il risultato. Questo, poi, viene mantenuto con una seduta ogni 30 giorni. Il protocollo d'uso prevede introduzioni intradermiche, a tappeto, nel viso, nel collo e nelle mani.

Praticamente (in attesa di un nuovo medical device), prepariamo galenicamente la biostimolazione usando dei farmaci. Uniamo 7 ml di aminoacidi al 3%, 2 ml di bicarbonato di sodio all'1,4%, 100 mg di colina e 100 mg di Acido Ascorbico.

Il trattamento di biostimolazione consente di normalizzare tutti i parametri fisiologici della cute. Ma, in situazioni particolari, possiamo ottenere, localmente, la soluzione di un particolare problema funzionale.

In caso di una **zona** cutanea particolarmente **disidratata**, possiamo aumentare l'idratazione.

Il contenuto in acqua del derma dipende dalla concentrazione di acido ialuronico (una molecola di acido ialuronico fissa 500 molecole di acqua) e dalla funzionalità dello strato corneo (regolazione del transepidermal water loss).

Per quanto riguarda la concentrazione di acido ialuronico, dobbiamo attivare il fibroblasto alla produzione di questo principio attivo. Infatti,

l'introduzione esogena di acido ialuronico porterebbe ad un'attivazione delle ialuronidasi (metalloproteinasi presenti nel derma che sciolgono l'acido ialuronico) alterando la normale costituzione della matrice.

Per la funzionalità corneocitaria, possiamo regolare il sistema colinergico dell'epidermide, migliorando la concentrazione dell'acetilcolina con aggiunta di colina. Questo permette una migliore differenziazione cheratinocitaria e uno strato corneo più funzionale.

Infine, possiamo richiamare nel distretto disidratato, un maggior quantitativo di acqua, tramite un'azione osmotica. Sappiamo che l'aumento locale del numero di molecole, attraverso l'aumento della pressione osmotica, sposta acqua nel distretto trattato.

Da quanto esposto, miglioriamo l'idratazione locale:

- Attivando il fibroblasto alla produzione di acido ialuronico
- Richiamando acqua per osmosi
- Riducendo la perspiratio insensibilis migliorando la funzione cheratinocitaria

Attiviamo, perciò, i recettori del fibroblasto utilizzando dei fattori di crescita piastrinici (needling) dopo la meccano-trasduzione. Quindi, introduciamo, nel derma, una soluzione aminoacidica leggermente ipertonica (400-450 mOsm/l), per richiamare acqua, e della colina, per ottimizzare la concentrazione dell'acetilcolina epidermica e la funzione dei corneociti. Prepariamo la nostra soluzione con 7 ml di aminoacidi al 5%, 2 ml di bicarbonato di sodio all'1,4%, 100 mg di colina.

Trattiamo la zona interessata, una volta la settimana, fino ad ottenere il risultato richiesto. Manteniamo, poi, le funzioni cutanee con la biostimolazione prima proposta.

In caso di una **zona** cutanea **ipotonica**, possiamo aumentare la consistenza del derma stimolando uno stato fibrotico. Infatti, la fibrosi dermica porta a compattamento del tessuto (tramite l'aumento della concentrazione di collagene di I° tipo) con irrigidimento dello stesso. La successiva retrazione del collagene di I° tipo, prodotto, induce la distensione della cute con miglioramento estetico.

Il trattamento si esegue effettuando una serie di ponfi intradermici, a tappeto, sulla parte ipotonica, con una soluzione irritante, acida (ph 5,8) e ipertonica(900 mOsm/l). Usiamo, per il trattamento, una soluzione di aminoacidi all'8,5%, introdotta nel derma, dopo aver effettuato il needling per attivare il fibroblasto.

Possiamo, poi, regolare l'**ipersecrezione sebacea**. La funzionalità del sebocita, sotto stimolo degli ormoni androgeni, è regolata dall'acetilcolina. Utilizzando della tossina botulinica, diluita, possiamo bloccare l'acetilcolina cutanea, in modo transitorio, e ridurre la quantità di sebo prodotta. Per questo, preleviamo 10 unità americane di tossina e le diluiamo con 3 ml di soluzione fisiologica. Effettuiamo delle infiltrazioni intradermiche con piccoli ponfi, a tappeto sulle zone interessate. Ripetiamo il trattamento ogni tre mesi.

Completiamo il miglioramento estetico del volto delle nostre pazienti effettuando uno **sbiancamento cutaneo** per via iniettiva.

Il colore della pelle è dato principalmente dalla concentrazione della melanina (oltre che dallo spessore dello strato corneo e dalla

vascolarizzazione). Inoltre, in caso di alterata sintesi, la melanina dà luogo ad inestetici accumuli (macchie) che richiedono un intervento medico.

La melanina viene prodotta dal melanocita in risposta ad uno stimolo irritativo. Il danno produce radicali liberi che attivano la liberazione di proopiomelanocortina dai cheratinociti. Questa si frammenta e libera MSH (ormone melanostimolante) che attiva il melanocita alla produzione di melanina. La sintesi di questo pigmento avviene per azione della tirosinasi sulla tirosina. Una volta formata, la melanina, raccolta in melanosomi, si muove nel melanocito e viene ceduta ai cheratinociti. In caso di eccessiva produzione, abbiamo il passaggio della melanina anche nel derma. Da ciò, in caso di iperpigmentazioni dobbiamo sia rallentare la formazione di nuove melanine sia attivare la fagocitosi dei macrofagi per eliminare i granuli di melanina.

Quindi, attiviamo i macrofagi con la meccano-trasduzione e con i fattori di crescita liberati con il needling; rilasciamo nel derma antiossidanti per bloccare i radicali liberi dell'ossigeno che stimolano il melanocita e della cisteina, per chelare il ferro e impedire la Reazione di Fenton che produce altri radicali liberi; aminoacidi capaci di ridurre la funzione della tirosinasi e acetil-glucosamina per bloccare l'attivazione (glicosilazione) di questa.

Infiltriamo, sotto la pigmentazione, più superficialmente possibile, o, nello sbiancamento totale del volto, a tappeto su tutta la zona. La preparazione galenica si ottiene unendo 4 ml di aminoacidi al 3%, 2 ml di Bicarbonato di sodio all'1,4%, 1 ml di Vitamina C e 1 ml di Glutazione.

Possiamo, infine, **definire il contorno del volto** sollevando i tessuti ipotonici con l'introduzione di fili di PDO. La stimolazione fibrotica, determinata dalla

permanenza del filo, forma, nel tempo, una reazione fibrotica che, retraendo, stira i tessuti in senso antigravitario, definendo il contorno del volto. Potenziamo questa risposta fibrotica infiltrando, durante l'estrazione dell'ago guida, una soluzione irritante (aminoacidi all'8,5% e a pH 5,6).

Possiamo diminuire il numero di cellule negli **eccessi volumetrici adiposi** con la tecnica di Apoptosi cellulare, senza indurre danno. Possiamo con questa, trattare anche i volumi in eccesso conseguenti all'ipotonia tissutale. L'apoptosi è un processo biologico utilizzato dal nostro organismo per ridurre il numero di cellule. La particolarità dell'apoptosi, che la differenzia dalla necrosi cellulare, è l'assenza d'infiammazione. La cellula viene fagocitata dai macrofagi senza liberazione di mediatori infiammatori.

La letteratura ci riferisce che dosaggi di acido ascorbico, compresi tra lo 0,12% e lo 0,24%, inducono il processo di apoptosi. Vediamo come questo processo avviene.

In presenza di metalli di transizione (ferro trivalente) l'acido ascorbico attiva la Reazione di Fenton con liberazione di radicali liberi di tipo ossidrilico. L'aumento di radicali liberi determina, a livello cellulare, l'attivazione dei canali del calcio con aumento, intracellulare, di questo ione. L'aumento di ioni calcio porta ad aumento di permeabilità dei mitocondri con liberazione del *citocromo c* e attivazione della cascata delle caspasi. In particolare, la morte cellulare avviene per attivazione finale di endonucleasi, che frammentano il nucleo, e di proteasi, che dividono la cellula in piccole porzioni (i corpi apoptotici) e liberano sulla superficie della cellula dei residui di fosfatidilserina. I residui di fosfatidilserina rendono eterologhi i

corpi apoptosici stimolandone la fagocitosi e la digestione, da parte dei macrofagi.

Si prepara, galenicamente una soluzione di acqua sterile con ferro ferrico e, al momento dell'uso, si unisce con l'acido ascorbico. Effettuiamo il trattamento con una puntura ogni cmq, con ago da 6 mm 30G, ed utilizziamo 35-40 mg di acido ascorbico per centimetro cubo di tessuto. I risultati sono rapidi, anche se dipendono dal volume da trattare. Il risultato è evidenziabile, rapidamente, dopo 2-3 giorni.

Applichiamo questa tecnica anche a livello della palpebra inferiore, per ridurre il volume delle borse di grasso. L'apoptosi delle cellule adipose, in questi distretti, porta a soluzione del problema estetico senza chirurgia. Si iniettano 3 mg di Vitamina C, per ogni borsa, con un ago da 4 mm 30G.

Per il tessuto muscolare effettuiamo un **potenziamento del tono muscolare** per migliorare la distensione cutanea attraverso la tonificazione dei muscoli del volto. La tonificazione muscolare si effettua sulla porzione laterale del muscolo frontale, sulla porzione inferiore del muscolo orbicolare dell'occhio e sui due muscoli zigomatici (minor e maior).

Sappiamo che il tono muscolare si ottiene con il rilascio continuo di piccole quantità di acetilcolina. Invecchiando, i nostri livelli di acetilcolina scendono e causano la riduzione del tono muscolare. Possiamo potenziare il tono dei muscoli migliorando la secrezione di acetilcolina a livello della placca neuromuscolare. L'acetilcolina deriva, nella sua formazione, dalla colina (a sua volta derivata dal DMAE). Quindi, la somministrazione di questo precursore, a livello muscolare, consente di migliorare la concentrazione di acetilcolina e migliorare il tono dei tessuti.

Il trattamento si abbina a quello di **rilassamento muscolare** effettuato con la tossina botulinica. La tossina botulinica agisce a livello della placca neuromuscolare impedendo, transitoriamente, il rilascio dell'acetilcolina.

Nella porzione superiore del volto possiamo effettuare un blocco muscolare della porzione mediale del muscolo frontale, del muscolo corrugatore, del muscolo procerico e della porzione esterna del muscolo orbicolare dell'occhio.

In contemporanea, possiamo tonificare la porzione laterale del muscolo frontale e la porzione inferiore del muscolo orbicolare dell'occhio. La tonificazione della porzione esterna del muscolo frontale consente l'elevazione del sopracciglio determinando l'apertura della parte esterna dell'occhio. La tonificazione della parte inferiore del muscolo orbicularis oculi oltre a tonificare il muscolo migliora la differenziazione dei cheratinociti dell'epidermide. Nella parte inferiore del volto, manteniamo alto l'angolo della bocca (con l'invecchiamento tende a cadere in basso), sia bloccando la contrazione del muscolo triangolare della bocca, sia tonificando il muscolo zigomatico maggior e il muscolo zigomatico minor. Questi, tonificati, alzano l'angolo della bocca.

Utilizziamo una soluzione preparata unendo 2 ml di aminoacidi al 3%, 1 ml di bicarbonato di sodio all'1,4%, 400 mg di Colina. Infiltriamo il prodotto nel muscolo con un ago da 6 mm 30G. Il trattamento si ripete ogni 7 giorni per 4 volte ed il risultato si mantiene con una seduta al mese.

L'aumento del volume dell'osso viene normalmente effettuato con la rigenerazione dell'osso, ma oggi possiamo effettuare anche un **aumento del volume osseo con filler**. I filler di ultima generazione permangono nei tessuti per un lungo tempo e inducono una risposta fibrotica da corpo

estraneo formata da collagene di I° tipo. Il collagene fibrotico è resistente alla metabolizzazione e permane per lungo tempo formando un volume stabile.

Da ciò possiamo introdurre questi filler direttamente al di sopra del periostio e stimolare un aumento volumetrico delle ossa zigomatiche e malari, o anche del naso e del mento.

Dobbiamo introdurre piccole quantità di prodotto (mediamente un millilitro per zona) ed osservare il risultato dopo 30-40 giorni. Questo perché il processo fibrotico determina un aumento di volume rispetto alla quantità di filler inserito.

Se il risultato è soddisfacente, ci fermiamo, altrimenti ripetiamo le sedute fino al risultato desiderato.

CAPITOLO 18

La medicina rigenerativa oggi

Abbiamo parlato del contributo dato dal Prof. Victor Garcia all'introduzione, nella medicina estetica, della medicina rigenerativa.

Indubbiamente, le possibilità che offre questa nuova branca nel campo medico sono incredibili e con un fondo fantascientifico. Già ora si stanno generando degli organi che potranno essere trapiantati in un soggetto malato e, forse un giorno, ci troveremo a rigenerare le parti del nostro corpo deteriorate dal tempo o da una malattia, come una lucertola.

In fondo, nel mondo animale l'epimorfosi (far "ricrescere" una parte del corpo dell'individuo utilizzando del tessuto indifferenziato e facendolo proliferare, fino ad ottenere la giusta quantità di cellule. Una volta giunti al numero di cellule necessario, avviene una differenziazione che riporta la struttura danneggiata alle sue condizioni originarie) e la morfallassi (riorganizzazione delle cellule che vengono prima dedifferenziate, traslocate dove servono ed infine ridifferenziate), sono già presenti.

Ma torniamo alla scienza attuale e, in particolare alle cellule staminali.

Recentemente l'amico Victor Garcia mi ha proposto, per il suo annuale congresso a Sitges (Jornadas Mediterráneas de Confrontaciones Terapéuticas en Medicina y Cirugía Cosmética) di fare il punto sulle cellule staminali nell'ottica della medicina estetica.

Ho accettato, sia perché, ad un fratello non si nega nulla, sia perché approfondire uno spazio scientifico è un'occasione e uno stimolo a studiare, a leggere, a riflettere.

Vi riporto la mia prossima relazione sull'argomento dalla quale sono nate delle considerazioni utili al nostro lavoro.

Actualizaciones en terapia celular. Criterios diferenciales de las células madre: origen, características morfológicas, expresión de marcadores específicos, potencia, empleo terapéutico.

Le cellule staminali sono cellule primitive, non specializzate, dotate della capacità di trasformarsi in diversi altri tipi di cellule del corpo, attraverso un processo denominato differenziamento cellulare. Queste sono fondamentali nella formazione dell'embrione.

L'unione dello spermatozoo con l'uovo dà luogo allo zigote che inizia delle divisioni mitotiche con formazione della morula (32 o 64 cellule) alla quale segue la blastula (per formazione di una cavità interna) e la gastrula (con formazione dei foglietti embrionali).

La formazione della gastrula è un momento fondamentale nella formazione dell'embrione. E' adesso che inizia la prima differenziazione delle cellule staminali. In questo momento inizia un meccanismo di autoregolazione dell'espressività del DNA. Le proteine prodotte da un gene agiscono silenziando un altro gene o attivando l'espressione di un terzo, secondo un progetto genetico scritto nelle nostre cellule. Questo consente la prima formazione dei differenti tessuti che comporranno l'embrione e il feto. Abbiamo la formazione di tre differenti tipi di cellule che compongono, a

loro volta, tre diversi foglietti embrionali: l'ectodermico, l'endodermico e il mesodermico. Dai tre foglietti embrionali avremo la formazione di tutti i tessuti ed organi che compongono il feto.

In questo processo di differenziazione si ha la perdita delle capacità delle cellule che, silenziando sempre più geni, possono formare un numero sempre più ridotto di tipi cellulari.

Passiamo dalle cellule totipotenti, caratteristiche della morula e della blastula, alle cellule pluripotenti della gastrula, alle cellule multipotenti dei foglietti embrionali e, infine, alle cellule unipotenti dei tessuti.

Un processo importante che accompagna le tappe di differenziazione cellulare è quello della inibizione da contatto. Ovviamente le cellule totipotenti e pluripotenti dovendo formare un organismo completo, seguono il programma genetico senza avere un blocco spaziale. Quando i tessuti e gli organi si sono formati, il processo di moltiplicazione deve essere limitato dallo spazio che, ognuno di questi, ha a sua disposizione.

La cellula differenziata presenta un particolare meccanismo che ne regola la mitosi sulla base dello spazio a disposizione. In pratica, quando due cellule entrano in contatto, ricevono l'informazione che lo spazio è finito e bloccano la loro attività mitotica.

Questo meccanismo è permesso da una particolare proteina, la p27 Kip1, capace di legarsi alle cicline (necessarie al processo mitotico) bloccandole e bloccando la moltiplicazione cellulare. Questo processo ci consente di non avere moltiplicazioni anarchiche che danno origine ad un tumore.

Quanto esposto ci dà già delle informazioni sull'uso delle cellule staminali e sul rischio neoplastico di utilizzare cellule altamente indifferenziate (toti o pluripotenti).

Nell'attuale pratica di utilizzo di cellule staminali, si utilizzano le cellule oligopotenti, definite dagli anglosassoni con il termine di *transit amplifying cells*.

Il primo tipo di cellule staminali studiato è la cellula staminale del sistema emopoietico, presente nel midollo osseo. Questa cellula è capace di moltiplicarsi (come le altre cellule staminali) con una divisione simmetrica, per aumentare il proprio numero e con una divisione asimmetrica per dare origine ad una cellula staminale e ad una differenziata. Con questo processo, nel midollo osseo, originano tutte le cellule che circolano nel sangue.

La cellula staminale ematopoietica forma due capostipiti, il progenitore mieloide e il progenitore linfoide. Dal progenitore mieloide origineranno il megacarioblasto (piastrine), l'eritroblasto (emazie), il mieloblasto (granulociti e monociti). Dal progenitore linfoide originerà il linfoblasto (linfociti).

Oggi, si preferisce utilizzare le cellule staminali presenti nel tessuto adiposo, perché in numero maggiore rispetto al midollo osseo (nel grasso abbiamo una cellula staminale ogni 50 cellule, nel midollo osseo, ne abbiamo una ogni 10.000).

Il tessuto adiposo presenta questa elevata quantità di cellule staminali perché deve essere in grado di formare nuovi adipociti, in caso di eccessivo accumulo energetico. Infatti, l'aumento della dimensione adipocitaria oltre il valore del 170% del volume normale induce una moltiplicazione delle cellule staminali e una loro differenziazione in nuovi adipociti, pronti per accumulare nuovi trigliceridi.

Queste cellule staminali (midollo e grasso) sono delle cellule mesenchimali, cioè di derivazione mesodermica e, normalmente, possono dare origine solo ai seguenti tessuti: osseo, cartilagineo, tendineo, muscolare, dermico (fibroblasto), connettivo nervoso (astrociti), sangue e grasso.

Recentemente, nel grasso, nel derma e nel midollo osseo, sono state individuate delle altre cellule, le MUSE cells (*multi-lineage differentiating stress enduring cell*) cellule pluripotenti non tumorigene. Queste cellule, pur presentando una ridotta differenziazione, possono, infatti, differenziarsi in tutti i tipi di tessuto che originano dai tre foglietti embrionali, non presentano il rischio di una proliferazione anarchica. Questo perché, pur non sviluppando l'inibizione da contatto, possono riprodursi per un numero limitato di mitosi, avendo una scarsa funzionalità telomerasica (la telomerasi è un enzima che allunga in continuazione i telomeri. Questi rappresentano la parte terminale dei cromosomi che consente, dopo l'appaiamento, di ridividere le singole unità cromosomiche. In ogni divisione abbiamo una perdita di telomero e, quando questo finisce, la mitosi si blocca).

Lo studio continuo nella ricerca di cellule staminali ha evidenziato altri tipi di cellule, le *Very Small Embryonic Like Stem Cells* (VSEL stem cells), le *Multipotent Adult Stem Cells* (MASCs). Queste, in realtà, definiscono, con nomi diversi, le MUSE cells già descritte.

La scoperta di cellule pluripotenti non tumorigene ha aperto, ancor più, le nostre speranze, di utilizzazione di queste, per rigenerare tessuti danneggiati da una patologia. Si potrebbero trattare: Ictus, Infarto Miocardico, Alzheimer, Parkinson, Distrofia Muscolare, Diabete, Morbo di Crohn, Sclerosi Amiotrofica, Trapianto di Midollo, Danni Spinali, Osteoartriti, Calvizie, Cecità, Sordità, Guarigione Ferite.

E' stata costituita l'International Society for Cellular Therapies che ha tipizzato sul piano istochimico le cellule staminali, evidenziando che le cellule staminali mesenchimali, (h)MSC, esprimono CD105, CD90 e CD73 e non esprimono CD79a, CD45, CD34, CD19, CD14, CD11b.

Ma l'uso di queste cellule, al di là dei problemi etici e legislativi, richiede una tecnologia che ne consenta la separazione e il corretto utilizzo. Le (h)MSC sono presenti nel connettivo perivasale, mescolate con i periciti e, per essere separate, richiedono una manipolazione. Sono state messe a punto delle strumentazioni (normalmente di alto costo) capaci di separare le cellule staminali dal tessuto adiposo o dalla cute. Abbiamo tecniche di separazione meccanica e tecniche di separazione enzimatica.

Noi, Victor Garcia ed io, abbiamo messo a punto una tecnica di arricchimento e separazione delle cellule staminali del grasso. Questa tecnica è stata presentata per la prima volta al Biobridge Event del 2008 a Ginevra presso il palazzo delle Nazioni Unite e pubblicata sul testo "Advanced Techniques in Liposuction and Fat Transfer".

La tecnica si basa sulla funzione del tessuto adiposo. L'accumulo di trigliceridi determina un incremento del volume cellulare per aumento del vacuolo intradipocitario. Quando il volume dell'adipocita supera il valore del 170% del normale, le cellule mesenchimali perivasali si differenziano in adipoblasti, che a loro volta si trasformano in preadipociti ed adipociti.

Sulla base di quanto esposto, possiamo aumentare il numero di cellule staminali utilizzando una soluzione di glucosio e insulina. L'insulina, quale principale ormone lipogenetico, stimola la funzione della lipoproteinlipasi consentendo la captazione degli acidi grassi circolanti e l'ingresso del

glucosio nell'adipocita. Il glucosio è il precursore del glicerolo fosfato. Quest'ultimo si lega agli acidi grassi per formare i trigliceridi.

Dopo l'arricchimento, dobbiamo separare le cellule dallo stroma vascolo-connettivale., cioè il tessuto connettivo che riveste i vasi periadipocitari. La letteratura riferisce che la zona periombelicale è quella più ricca in cellule staminali. Dobbiamo, perciò, aspirare il grasso in detta zona, con una cannula sufficiente ad asportare sia grasso sia connettivo perivasale. Quindi, dobbiamo solubilizzare il connettivo per liberare le cellule in esso contenute, tramite l'uso di una collagenasi, da DNA ricombinante. Dobbiamo poi eliminare la collagenasi che, se introdotta in un tessuto sano, lo danneggerebbe. Infine, dobbiamo infiltrare le cellule staminali liberate.

L'infiltrazione diretta è di facile esecuzione, ma l'introduzione sistemica presenta alcune problematiche quali il blocco a livello polmonare, nell'iniezione endovenosa, o la possibilità di trombosi, nell'iniezione arteriosa. Altra problematica è quale deve essere il numero delle cellule da infiltrare. Da 100 ml di lipoaspirato si ottengono 2-3 milioni di cellule dello stroma vascolo-connettivale, con all'interno 100-200.000 cellule CD34⁺. Ma la letteratura parla della necessità di iniezione di milioni di cellule.

Questo ha stimolato un'ulteriore manipolazione delle cellule prima dell'impianto. Si parla di *Induced Pluripotent Stem Cell* (iPSC), cellule staminali generate artificialmente a partire da una differenziata (in genere una cellula somatica adulta), mediante l'introduzione di quattro geni specifici, codificanti determinati fattori di trascrizione che ne inducono la conversione. Le cellule staminali pluripotenti indotte sono per molti aspetti simili alle cellule staminali pluripotenti naturali, come le staminali embrionali.

Ma il rischio di manipolare, coltivare, trasformare le cellule per poi infiltrarle o iniettarle per via sistemica può aumentare ancora i rischi di questo tipo di terapia.

Nel nostro studio delle cellule staminali abbiamo evidenziato che queste cellule svolgono, nel nostro organismo, un'importante funzione nel processo di risoluzione del danno. Sappiamo che un danno biologico, inizialmente, può esitare in diversi tipi di risposta, DNA repair, apoptosi e attivazione della funzione delle cellule staminali per indurre una moltiplicazione ed una differenziazione, a compenso delle cellule perdute.

Le cellule staminali, pronte per queste funzioni, le troviamo in quasi tutti i tessuti del nostro organismo, inoltre, cellule staminali circolano continuamente nel nostro sangue e vengono richiamate da un tessuto in sofferenza.

La cellula staminale presenta la caratteristica dell'*homing* che consente il richiamo delle cellule circolanti da parte di chemorecettori liberati dalla cellula in sofferenza. Le cellule arrivate nella zona di richiesta, per diapedesi, raggiungono la zona e qui si differenziano rigenerando le cellule mancanti del tessuto in oggetto.

Questo ci porta ad una prima considerazione.

Le cellule staminali, in differenti stati di potenza, si trovano già nel nostro organismo, in quasi tutti i tessuti. Inoltre, circolano nel sangue e sono capaci di raggiungere i tessuti sofferenti per rigenerarli.

Ma, allora, perché introdurne delle altre? Il vero problema è aumentare il numero di cellule o attivarle per rigenerare il tessuto che dobbiamo

migliorare? E, anche se iniettiamo in un tessuto molte cellule staminali, queste si attivano spontaneamente?

Pensiamo perciò che sia importante comprendere cosa attiva una cellula staminale a moltiplicarsi e a differenziarsi.

La letteratura ci dice:

- *Here we found that increased activity of the RB cell cycle inhibitor in human embryonic stem cells induces cell cycle arrest and cell differentiation.*
- *Mesenchymal stem cells (MSCs) are multipotent cells and exhibit two main characteristics that define stem cells: self-renewal and differentiation. MSCs can migrate to sites of injury, inflammation in response to transforming growth factor- β (TGF- β)*
- *.....redox status plays an important role in stem cell maintenance, that is, regulation of the cell cycle. In fact, ROS at low levels function as signaling molecules to mediate cell proliferation, migration, and differentiation and gene expression.*

Su queste basi abbiamo rilevato una nuova proposta (Ottobre 2015) nella rigenerazione cutanea che ci arriva dalla Spagna:

Investigadores del Grupo de Dermatología Experimental y Biología Cutánea del Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria del Hospital Universitario Ramón y Cajal han demostrado cómo la producción transitoria y limitada de especies reactivas de oxígeno en un tejido de un organismo vivo tiene un efecto estimulador y es capaz de activar las células madre de dicho tejido.

La tecnica proposta prevede di attivare temporaneamente la produzione endogena di piccole quantità di ROS. Questo stimola la proliferazione delle cellule senza effetti negativi. Questa procedura si basa sulla somministrazione di precursori della protoporfirina IX. La PpIX è una molecola fotosensibile in grado di produrre molecole reattive dell'ossigeno quando illuminata con luce di lunghezza d'onda adatta, la luce rossa a 630 nm.

I risultati del lavoro hanno dimostrato, per la prima volta, che attivare transitoriamente la produzione di ROS in un tessuto, induce proliferazione e differenziazione delle cellule staminali con rigenerazione dei tessuti.

Possiamo affermare, perciò, che un piccolo danno (liberazione di una piccola quantità di radicali liberi dell'ossigeno) e/o la liberazione di una piccola quantità di fattori infiammatori (TGF- β) induce sia l'homing delle cellule staminali, sia la loro proliferazione, sia la loro differenziazione.

Su queste basi, potremmo attivare la proliferazione e la differenziazione delle cellule staminali della cute, applicando una crema all'acido Acido 5-aminolevulinico (Ameluz) e successivamente esponendo la cute ad una luce led rossa a 630nm.

O, ancora, utilizzando una nostra soluzione, utilizzata già in medicina estetica, l'acido ascorbico in presenza di ferro ferrico, che produce piccole quantità di radicali liberi, per rigenerare la cute.

CONCLUSIONE

Siamo arrivati alla conclusione di questo viaggio tra scienza ed emozioni. Dovrei, ora, fare la parte più difficile per me, rileggere quanto ho scritto di getto, correggere, tagliare, verificare. Come si dice in gergo "correggere la bozza".

Ma prima di approcciare a questo ingrato lavoro (alla fine chiederò aiuto) mi nasce una domanda: "Perché ho voluto scrivere questo libro?". Io che da tempo mi sono rifiutato di scrivere libri di medicina estetica perché affermavo che un libro scientifico, nel momento che si scrive, è già sorpassato. Io che ho avuto sempre pudore delle mie emozioni. Perché raccontare a chi non può capire a fondo quello che ho vissuto e le ragioni che mi hanno portato a reagire in un determinato modo in quella particolare situazione. Perché oggi sì?

Forse sono veramente invecchiato e ho sentito la necessità di fare un testamento, di ricordare la mia vita? Forse il mio drammatico vissuto durante la malattia ha motivato questa mia denuncia? Forse ho voluto presentarmi ad un mondo che mi ha sempre visto in primo piano, sicuro e forte, con tutte le mie vere debolezze?

Non so rispondere. Forse ognuna di queste motivazioni ha influito in questa mia decisione. Ma riflettendo, non sulla motivazione, ma sul significato di quanto ho riportato, in realtà, vorrei lasciare una traccia di vita a chi vuole seguire un percorso simile al mio. A chi sceglie un'attività professionale non solo per moda o per denaro, ma per scelta culturale.

Vorrei che quanto da me raccontato venisse preso, non come insegnamento di vita, questa non si insegna ma si vive, ma come stimolo a continuare nel far

crescere questa branca che è nata con un fine solo estetico e è divenuta la vera medicina di prevenzione e di restituzione dello stato di benessere del paziente.

Le mie intuizioni possono sembrare uno sfoggio di presunzione di chi si vuole raccontare per far vedere quanto è stato bravo. La realtà è un'altra. E' solo un invito a tutti voi per studiare e ragionare.

Se leggiamo, nella realtà tutto è già stato scritto, ma non dobbiamo solo leggere dobbiamo ragionare su quanto leggiamo e, se in noi è presente lo spirito critico e speculativo, possiamo dedurre e questa nostra deduzione si trasforma in una intuizione che può essere applicata nel nostro spazio professionale.

Girando il mondo per congressi, normalmente, non faccio solo la mia relazione, ma mi fermo ad ascoltare quelle degl'altri. Sempre, anche nelle cose più scontate o inutili, c'è una parola, un concetto, una descrizione che mi spinge a ragionare, ad approfondire e a sviluppare. Molti dei giovani che mi accompagnavano in queste occasioni congressuali mi chiedevano perché resti ad ascoltare cose che so o, di primo impatto, prive d'interesse.

Chi pone questa domanda e una persona che non ascolta, o meglio, che non legge tra le parole che ascolta. Che non ha curiosità.

Spero che le emozioni che ho mescolato alle descrizioni scientifiche stimolino qualcuno di voi a iniziare questo percorso e raccogliere il mio testimone c, prima o poi, cadrà dalle mie mani.

L'attività professionale, se ben gestita, ci può dare degli importanti riscontri economici, ma nulla può essere paragonato alla soddisfazione di vedere attuata una propria intuizione.

In ogni caso, anche se non sarò stato capace di creare input in nessuno di voi, vi ringrazio per aver *ascoltato* questo mio scritto fino alla fine.