

L'Invecchiamento Cutaneo

by Maurizio Ceccarelli

Uno spazio importante, nella riarmonizzazione dell'estetica del paziente, lo riveste il trattamento dell'invecchiamento cutaneo.

Oggi, i trattamenti estetici rivestono un ruolo nella medicina del benessere. Infatti, consentire al paziente di veder migliorata la propria immagine corporea consente di ottimizzare lo stato psicologico e, di conseguenza, le funzioni endocrine, nervose e immunitarie.

Dal punto di vista della medicina, i nostri interventi devono sempre rispettare i concetti di Armonia Estetica. Questa è presente in tutto ciò che è bello: dunque in tutte le bellezze che ci circondano, sia naturali, sia prodotte dall'uomo e riconosce delle proporzioni matematiche definite come Proporzioni Auree. I canoni estetici delle proporzioni auree sono applicati sul volto al fine di creare o ricreare la bellezza propria dell'armonia e non già la "bruttezza" della disarmonia.

La Cute

Istologicamente la cute si differenzia in uno strato più superficiale, l'epidermide, e uno strato più profondo, il derma. La cute è l'organo di maggiore dimensione che abbiamo nel nostro corpo, circa 2 mq. Non rappresenta, quindi, solo un rivestimento esterno ma, come tutti gli altri organi, possiede funzioni e sistemi di regolazione che, con la nostra operatività, non dobbiamo alterare.

La variazione del circolo capillare cutaneo, in rapporto alle variazioni della temperatura corporea, consente l'aumento o la diminuzione della dispersione del calore attraverso la cute stessa. Si ottiene così il mantenimento di una temperatura costante. Il film idrolipidico forma, insieme allo strato corneo epidermico, un sistema di regolazione del passaggio dell'acqua dall'interno verso l'esterno del nostro corpo, impedendo la disidratazione. Le ghiandole esocrine consentono, in base alla variazione della concentrazione dei sali nel sudore, di regolare l'osmolarità dei liquidi interni. La particolare struttura del derma costituita dalla matrice, dalle fibre collagene e dalle fibre elastiche consente di ammortizzare gli stimoli meccanici che colpiscono il nostro corpo. La dura cheratina dell'epidermide blocca l'aggressione degli agenti chimici e i granuli di melanina rallentano la penetrazione delle radiazioni ultraviolette responsabili del fotoaging. La vitamina D, importante per la sua azione sul metabolismo del calcio ed il suo effetto antirachitico, viene sintetizzata nella cute per trasformazione, grazie ai raggi UV, dell'ergosterolo. La cheratina, prodotta dalle cellule epidermiche, consente la formazione di quello strato rigido superficiale che è lo strato corneo. La melanina, prodotta dai melanociti, svolge, come già detto poco sopra, un'azione di blocco dei raggi UV. Il Natural Moisturizing Factor, sostanza presente nei corneociti, è capace di legare l'acqua con un'azione di regolazione dell'idratazione. Le cellule di Langerhans svolgono un'attività fagocitaria e di processazione delle sostanze eterologhe. I corneociti producono fattori di attivazione della risposta linfocitaria. Ultima funzione della cute è quella di aiutare la disintossicazione dell'organismo mediante l'eliminazione di sostanze dannose, con il sudore.

Tutte queste funzioni sono mantenute da una cute integra e priva di alterazioni. Spesso gli interventi estetici determinano un danno nella biologia della cute (esfoliazione epidermica con peeling e/o indurimento del derma per incremento del collagene fibrotico) ed è pertanto necessario porre sui piatti della bilancia, poiché siamo medici, i vantaggi del risultato estetico ed i danni funzionali che conseguono al nostro operato, ricordando che dobbiamo sempre rispettare il detto "*primum non nocere*".

Vediamo ora alcuni aggiornamenti sulla **biochimica** e sulla **fisiologia della cute**.

Ricordiamo che lo strato più esterno della nostra cute è costituito dall'epidermide. Il tessuto epidermico si presenta formato da numerosi strati cellulari con funzioni diverse e da altre strutture ad attività specifica. Lo strato più esterno dell'epidermide, il corneo, forma un'importante barriera di difesa per il nostro corpo, formata da cellule cheratinizzate e da lipidi.

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'adenilciclasi ed i mediatori colinergici che agiscono stimolando l'attività guanilatociclasica con formazione di c-GMP. Altri fattori, che regolano la differenziazione cheratinocitaria, sono l'Epidermal Growth Factor (EGF), gli estrogeni e, tra i fattori intrinseci di regolazione, i caloni, sostanze ad attività simil-ormonale.

I caloni epidermici sarebbero prodotti dai cheratinociti in fase avanzata di proliferazione e avrebbero la funzione di inibire la mitosi cellulare nello strato basale.

Dobbiamo, quindi, evidenziare che un corretto funzionamento epidermico non può prescindere da una giusta funzionalità dei

- . fattori di crescita
- . mediatori colinergici
- . caloni epidermici

Sotto l'epidermide abbiamo il derma, responsabile del turgore della cute. Il derma si sviluppa sotto l'epidermide ed è formato principalmente da cellule e fibre collagene ed elastiche immerse in una matrice colloidale. Le cellule sono rappresentate principalmente da fibroblasti.

Il mantenimento di un corretto stato del derma non può prescindere dalle seguenti azioni:

- . Conservare lo stato colloidale della matrice
- . Attivare il fibroblasto
- . Stimolare la neoformazione di matrice, fibre collagene ed elastiche.

La matrice colloidale è formata dalla sostanza fondamentale (acqua con glicosaminoglicani e proteoglicani) e da proteine fibrose quali il collagene e l'elastina. Il collagene, l'elastina, i glicosaminoglicani (GAG) sono prodotti dai fibroblasti. La matrice, quale soluzione colloidale, è normalmente presente in uno stato di sol, in situazioni patologiche si solidifica passando allo stato di gel e perdendo la sua capacità di scambio metabolico.

Ricordiamo la differenza tra soluzione (soluti dispersi tra le molecole di solvente), sospensione (soluti troppo grandi o pesanti per disperdersi tra le molecole di solvente) e colloide (soluti formati da grandi molecole in sospensione nel solvente per repulsione delle cariche elettriche di superficie). Lo stato di sol della soluzione colloidale della matrice è permesso dalla dissociazione delle macromolecole proteiche che la compongono. Al pH fisiologico di 7,4 è dissociato il radicale acido, determinando una carica negativa della macromolecola. La comune negatività delle macromolecole porta a repulsione delle stesse con la creazione di una soluzione colloidale allo stato di sol, che permette il libero scambio metabolico. Gli stati infiammatori o di sofferenza tissutale portano ad acidificazione della matrice con liberazione di protoni idrogeno. I protoni si legano al radicale negativo delle macromolecole, saturandolo e annullando la repulsione elettrica. Persa la repulsione elettrostatica, le macromolecole s'impilano le une sulle altre trasformando in gel la soluzione colloidale. La variazione dello stato colloidale della matrice si evidenzia con un'alterazione degli scambi metabolici e una sofferenza del tessuto. Lo stato di sol permette il normale scambio metabolico del derma; lo stato di gel impedisce, per la sua consistenza, la funzione della matrice. Questo ci fa comprendere che il miglioramento funzionale ed estetico del derma deve evitare processi acidificanti la matrice.

Come già detto, la cellula di maggiore importanza nel derma è il fibroblasto. Questo è capace, sulla base della sua età e della situazione ambientale (stato della matrice), di produrre: proteoglicani, elastina e collagene. I proteoglicani sono delle macromolecole costituenti la struttura base della matrice. Sono formati da glicoproteine costituite da una base di acido ialuronico a cui sono attaccate molecole proteiche con altri zuccheri legati alle medesime. Questa costituzione chimica consente il legame con molecole di acqua. L'elastina è una particolare proteina capace di mantenere elastica la struttura del derma. Questo è consentito da una particolare cerniera formata dalla desmosina che rende la struttura simile ad una molla.

Il fibroblasto produce anche i vari **tipi di collagene** presenti nel derma. In maggioranza collagene di I tipo e di III tipo. I fibroblasti producono collagene di I o di III tipo sulla base dei diversi stimoli recettoriali ricevuti. Nella pelle giovane il rapporto collagene tipo III/tipo I è molto più elevato che nei soggetti adulti. Questo rapporto tende a ridursi con l'età.

La produzione del collagene avviene in parte internamente alla cellula ed in parte esternamente. Nel fibroblasto si forma il procollagene che viene secreto nell'ambiente esterno. Qui delle peptidasi tagliano le porzioni terminali (N- e C- terminali) consentendo il successivo assemblamento prima in tropocollagene, poi in fibrille ed infine in fibre. L'assemblamento del tropocollagene è alla base della formazione del collagene di I tipo o di III tipo ed è determinato dai residui terminali (amino o carbossi terminali). A seconda del tipo di collagene prodotto, possiamo distinguere i fibroblasti in due sottopopolazioni, NF e FF, questa ultima è caratteristica dei tessuti infiammati.

Per approfondire meglio questo concetto alla luce dei trattamenti di medicina estetica capaci di indurre una neocollagenogenesi, dobbiamo distinguere due fenomeni biologici: la rigenerazione e la riparazione.

Col termine di **rigenerazione** intendiamo un processo fisiologico che porta alla continua ricostruzione dei tessuti labili. Nel derma abbiamo un continuo rimaneggiamento dei componenti biologici. Le metalloproteinasi idrolizzano le macromolecole della cute ed il fibroblasto le riforma.

Le metalloproteinasi sono delle idrolasi, con sito attivo contenente zinco, che vengono denominate sulla base del sito di attacco (collagenasi, stromelinas, gelatinasi, etc.). Le metalloproteinasi sono presenti nel derma in forma inattiva e vengono attivate, al momento di agire, per rimozione di un residuo di cistina. Uno dei processi di attivazione delle metalloproteinasi dermiche è quello indotto dalla luce ultravioletta. Gli inibitori delle metalloproteinasi si oppongono al danno di queste.

Nel derma, il fibroblasto riceve l'informazione per la neoformazione della matrice dai frammenti della degradazione di questa. Si ha la neoformazione dei componenti del derma ed in particolare di proteoglicani, di elastina e di collagene di III tipo (reticolare).

Con il termine di **riparazione** intendiamo un processo fisiopatologico che porta al compenso di un danno con la neoformazione di un tessuto fibrotico ricco di collagene di I tipo (cicatrizziale). Nel derma il fibroblasto riceve l'informazione del danno biologico dai componenti intracellulari e dai mediatori dell'infiammazione che consegue al danno.

Ricordiamo ancora che nella cute giovane c'è un alto rapporto tra collagene di III tipo e collagene di I tipo. Quindi il nostro intervento medico deve portare ad una neocollagenogenesi di tipo reticolare in una paziente giovane lasciando la neocollagenogenesi di tipo fibrotico solo per una paziente anziana.

Da quanto esposto sulla fisiologia della cute, la nostra operatività a livello epidermico prevede:

- . Stimolo alla liberazione dei fattori di crescita epidermici
- . Regolazione della sintesi dei mediatori colinergici
- . Regolazione della sintesi dei caloni epidermici

E a livello dermico:

- . Il mantenimento dello stato colloidale di sol nella matrice
- . L'attivazione delle funzioni sintetiche del fibroblasto

- . La stimolazione della neoformazione di matrice e fibre elastiche
- . La stimolazione della neoformazione di collagene reticolare
- . Evitare la formazione di collagene fibrotico

Le **cause dell'invecchiamento cutaneo** sono imputabili a:

- . La genetica della cute
- . Il danno determinato per la fuga dei radicali liberi dell'ossigeno
- . Il danno determinato per le radiazioni ultraviolette del sole
- . Il danno infiammatorio

La Genetica della Cute ha influenza sulla differente resistenza di questa rispetto ai danni biologici. E' ovvio che ereditare geni ad alta espressività per la formazione dei componenti della cute permette una maggiore possibilità di riparazione dei danni ed un mantenimento migliore dell'estetica cutanea. Oggi lo studio dei polimorfismi genetici ci aiuta a programmare in tempo i trattamenti necessari. Studiamo per questo:

Il collagene di tipo 3 alfa1

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 giovanile.

La proteina della matrice extracellulare emilina1

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.

L'acido ialuronico sintasi

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.

La stromelisina-1 o metalloproteinasi di matrice di tipo 3

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.

Il Cronoaging

Approfondiamo i principi dell'azione lesiva dei radicali liberi dell'ossigeno prodotti nei mitocondri (cronoaging). Il processo viene definito escape (sfuggita) dei radicali liberi dell'ossigeno. La scorretta gestione del nostro corpo determina la comparsa di danni cellulari indotti da un incrementato escape dei radicali liberi dell'ossigeno.

I radicali liberi dell'ossigeno vengono prodotti, all'interno dei mitocondri, mediante una catena enzimatica detta catena del trasporto degli elettroni. 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. Fulcro della formazione dei radicali liberi dell'ossigeno è la citocromossidasi.

Primo bersaglio dei radicali liberi dell'ossigeno è il DNA mitocondriale, dove una sola delezione porta a perdita della funzione di tutto il filamento. Poi vi è il danneggiamento dei telomeri, nel DNA, che porta alla non disgiunzione dei cromosomi durante il crossing over, con morte cellulare; la 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 cellulare e morte.

L'escape è stato ovviamente previsto nei processi evolutivi di selezione naturale e, nella cellula, esistono delle sostanze, dette antiossidanti, capaci di bloccare i radicali liberi dell'ossigeno che sfuggono dalla catena del trasporto degli elettroni.

Alcuni di questi vengono detti enzimatici e sono la superossidodismutasi, la catalasi e la glutationperossidasi.

La superossidodismutasi, contenente nel suo sito attivo rame, manganese e zinco, trasforma l'anione superossido in acqua ossigenata. Questo, di per se, non rappresenta un processo positivo. Infatti l'acqua ossigenata diffonde liberamente attraverso le membrane cellulari, mentre l'anione superossido deve muoversi mediante i canali di membrana. L'acqua ossigenata è, a sua volta, una fonte di radicali liberi. L'acqua ossigenata, in presenza di metalli di transizione (ferro), si trasforma in acqua ed anione superossido, dannoso per le cellule. Questa reazione è definita come reazione di Fenton.

A dimostrazione di quanto esposto, nella Trisomia 21 (sindrome di Down) abbiamo un eccesso di SOD (codificata dal cromosoma 21) ed un invecchiamento precoce.

Per evitare tutto ciò sono necessari altri due enzimi: la catalasi e la glutation perossidasi. Questi due enzimi trasformano l'acqua ossigenata in ossigeno, impedendone l'azione dannosa.

Altri antiossidanti, detti non enzimatici, sono rappresentati dalle vitamine E, C ed A. Il principale sistema antiossidante è dato dalla vitamina E e dalla vitamina C. La prima blocca il radicale libero dell'ossigeno, riducendosi. Viene riossidata dall'acido ascorbico (vitamina C) che si riduce a deidroascorbico. Quest'ultimo si ri ossida cedendo il suo elettrone al NAD.

La vitamina A e la sua forma idrosolubile (Betacarotene) stabilizza le membrane biologiche con un effetto concentrazione dipendente ma bisogna ricordare che un eccesso determina destabilizzazione delle medesime. La forma attiva della vitamina A (acido retinoico), inoltre, stimola la produzione di acido ialuronico, a sua volta potente antiossidante.

Il Fotoaging.

Si deve innanzitutto distinguere l'invecchiamento cronologico dall'invecchiamento indotto dalla luce solare. Gli Autori inglesi e quelli americani traducono questi due termini con *intrinsic aging* ed *extrinsic aging* o *photoaging*. L'invecchiamento cronologico della cute può essere differenziato dal photoaging a livello delle parti coperte del corpo.

Già alla fine del secolo XIX Unna e Dubreuilh diressero la loro attenzione sul differente aspetto clinico della cute di chi svolge all'aperto la sua attività lavorativa (marinai, contadini) rispetto a chi la svolge protetto dagli agenti atmosferici. Il passo seguente a questa osservazione fu identificare quale agente esterno fosse causa di invecchiamento cutaneo. E' storia della dermatologia l'aver identificato nella luce del sole la causa del danno. La cute foto invecchiata acquisisce toni cromatici tendenti al giallo, l'impressione che deriva è quello di una cute simile al cuoio. La superficie è solcata da numerose teleangectasie, frequentemente si osserva iperplasia delle ghiandole sebacee e la cheratinizzazione appare alterata per la presenza di discheratosi, fino alla possibilità di lesioni pre-tumorali e tumorali. L'epidermide si ispessisce ed appaiono atipie cellulari con perdita della normale polarità cellulare. Il

derma è la porzione di cute principalmente interessata dai cambiamenti indotti dal foto invecchiamento. In particolare il tessuto elastico appare molto ispessito, con evidenti segnali di degenerazione fino a costituire una massa amorfa. E' stato possibile, mediante esperimenti di laboratorio effettuati su ratti, studiare il differente danno prodotto dai raggi UVB ed UVA.

La radiazione solare raggiunge la superficie della terra sotto forma di energia elettromagnetica. Questa energia quando interagisce con la materia può essere assorbita, deviata, riflessa e/o rifratta. Come la percepiamo, la luce del sole ci appare "bianca" tuttavia gli studi di Newton hanno dimostrato che non è così in realtà. La luce del sole può essere decomposta attraverso un prisma ottico in sette bande di colore che corrispondono ai sette colori dell'arcobaleno. L'occhio umano non percepisce l'intero spettro della radiazione elettromagnetica. In effetti, la luce "visibile" è una porzione molto piccola dello spettro elettromagnetico. La porzione dello spettro elettromagnetico definito visibile comprende le lunghezze d'onda comprese tra 400 e 800 nm. (1 nm = 10 alla meno nove metri). Lunghezze d'onda superiori alla luce visibile ci danno i raggi infrarossi, le microonde e le radioonde e lunghezze inferiori ci danno i raggi ultravioletti, i raggi X, i raggi gamma ed i raggi cosmici. Gli effetti indotti dalla radiazione elettromagnetica sui sistemi biologici sono compresi entro lunghezze d'onda che vanno dai 290 agli 800 nm, è necessario considerare particolarmente l'intervallo compreso tra i 290 ed i 400 nm (raggi ultravioletti). Per le microonde, le radioonde e le lunghezze d'onda superiori non sono noti effetti biologici (eccetto il riscaldamento), quando somministrate in dose adeguata. Anche i raggi infrarossi possiedono la caratteristica, quando somministrati in dose fisiologica, di portare al riscaldamento per eccitazione molecolare.

L'energia contenuta nei raggi ultravioletti è capace di eccitare le molecole ma non è capace di ionizzarle. I raggi UVA vengono oggi ulteriormente suddivisi in UVA 1 ed UVA 2, caratterizzati per una differente lunghezza di onda e, pertanto, da una differente capacità di penetrazione. Gli UVB rappresentano lo 0,3 % della radiazione solare totale ed il 5 % di tutti gli UV. La loro potenza è condizionata dall'altezza del sole, maggiore nelle ore centrali del giorno, e sono, inoltre, fermati dal vetro. Solo il 10 % raggiunge il derma. Gli UVA sono 18 volte più abbondanti degli UVB. Sono assorbiti scarsamente dall'atmosfera e subiscono un'attenuazione per nuvolosità uguale a quello dei raggi visibili passano inoltre attraverso i vetri. IL 30 % di essi raggiunge il derma.

Le lunghezze d'onda brevi come quelle dei raggi X e dei raggi gamma penetrano profondamente nei tessuti biologici ed inducono ionizzazione delle molecole. I raggi compresi nello spettro elettromagnetico oltre i raggi gamma, i cosiddetti raggi cosmici, non raggiungono la superficie terrestre perché fermati dalla fascia dell'ozono nella stratosfera. Se così non fosse, la vita sulla terra non sarebbe possibile. La quantità di energia che è associata ad una radiazione elettromagnetica è misurata in unità chiamate joule. Se consideriamo questa energia somministrata per un certo tempo, otteniamo la potenza della radiazione elettromagnetica che è misurata in unità chiamate watt.

In ambito di fotobiologia cutanea non è solamente l'energia a discriminare gli effetti ma, a parità di energia, l'effetto biologico dipende dalla lunghezza d'onda del raggio e dal suo assorbimento. A proposito di assorbimento, affinché una radiazione elettromagnetica produca un effetto biologico, è necessario che sia assorbita. Si stima che il 5 % della quantità di luce che raggiunge la cute sia riflessa e che il 95 % sia assorbito dallo strato corneo. Durante l'assorbimento l'energia trasportata alle molecole che compongono la sostanza è capace di eccitare la molecola portandola ad un livello energetico superiore. È proprio questo delta energetico che costituisce il presupposto perché avvenga una reazione chimica.

Questi stati di attivazione molecolare, se da un lato sono i presupposti per la vita, dall'altra sono la base dei processi dell'invecchiamento perché da questi tipi di interazione si formano i radicali liberi. I raggi ultravioletti promuovono una serie di reazioni fotochimiche a livello cutaneo.

Le risposte fotobiologiche della cute possono essere divise in:

- Effetti precoci (benefici). I raggi infrarossi scaldano il corpo. La luce visibile, ferma la trasformazione della serotonina in melatonina e migliora il tono dell'umore. Gli UVA trasformano

l'ergosterolo in vitamina D ad azione antirachitica. Infine Gli UVA attivano la formazione dell'abbronzatura immediata, effetto Meirowsky.

- Effetti a breve termine: gli UVB con la loro azione dannosa determinano la comparsa di eritema, iperplasia dell'epidermide (che può dare anche luogo a discheratosi) e pigmentazione ritardata, abbronzatura duratura.

- Effetti tardivi. Sono rappresentati soprattutto dal fotoaging indotto dagli UVA (rughe, elastosi, lentigo senili, ipomelanosi guttata, cheratosi attiniche, teleangectasie). Ma l'effetto più negativo deriva dalla sommazione del danno UVB ed UVA con lo sviluppo della fotocarcinogenesi. L'energia trasportata dalla radiazione elettromagnetica alla cute può indurre danni anche a livello del DNA cellulare.

Gli UVA2 (360 nm) insieme agli UVB determinano la formazione dei dimeri di timina, primo passo della lesione genica del DNA. I raggi UVA1 (400 nm) determinano la formazione di radicali liberi dell'ossigeno che pregiudicano a loro volta le strutture biologiche cutanee, lipidi di membrana, proteine, enzimi, e potenziano il danno del DNA.

Parliamo ora dei processi di riparazione del danno.

Riparazione di tipo recisionale

In questo tipo di meccanismo detto anche riparazione al buio o dark repair, i dimeri di timina vengono tagliati per effetto di azioni enzimatiche e nuovi frammenti di DNA vengono sintetizzati.

Riparazione con ricombinazione

È in sostanza una riparazione che avviene attraverso un by-pass del tratto danneggiato. La zona che contiene il dimero di timina non è copiata. Successivamente, per una ricombinazione, è inserita la parte di DNA che conteneva anteriormente il dimero di timina.

Fotoriparazione

Si tratta di un'inversione fotoenzimatica della dimerizzazione indotta dalla luce ultravioletta. I dimeri di timina vengono monomerizzati in situ dalla luce. Nell'uomo la massima efficacia di questo sistema si ha con una lunghezza d'onda di 405 nanometri.

La risposta cutanea eritematogena dipende da alcuni fattori quale la latitudine, l'ora del giorno, l'inquinamento atmosferico, la durata dell'esposizione, lo spessore della cute, il grado di pigmentazione. L'eritema può apparire 2-6 ore dopo la fotoesposizione, raggiungere il massimo dopo 12-24 ore e sparire nei giorni seguenti

Il grado dell'eritema dipende da alcuni fattori che sono:

- a. la dose
- b. la lunghezza d'onda
- c. la suscettibilità individuale

La Melanogenesi.

Il colore della cute è determinato da tre fattori: lo spessore dell'epidermide, l'intensità del microcircolo e la concentrazione della melanina. Tra queste, la concentrazione di melanina è quella che riveste il ruolo principale, determinando il colore della cute che differenzia le varie razze. La melanina può portare, per deposizione in eccesso o per deposizione disomogenea, anche alla comparsa d'ineestetismi che richiedono interventi correttivi di medicina estetica.

Per comprendere le cause che possono indurre queste diverse risposte nella produzione di melanina, dobbiamo approfondire la fisiopatologia della melanogenesi.

Il sole emette delle radiazioni elettromagnetiche, di lunghezza d'onda differente, che incidono, sulla terra, con potenza diversa. Come sappiamo il sole è fondamentale per la vita animale perché, attraverso la fotosintesi clorofilliana delle piante, permette la produzione dell'ossigeno necessario alla respirazione cellulare. I raggi solari incidono, ovviamente, anche sul nostro corpo con effetti diversi, benefici o negativi. Gli effetti benefici sono dati da un'azione sistemica dei raggi termici, luminosi ed ultravioletti, caratterizzata dall'aumento della concentrazione di serotonina e di endorfine, dalla

induzione e conseguente formazione di vitamina D e dalla funzione antibatterica. Gli effetti negativi sono conseguenti principalmente ai raggi UV che inducono danneggiamento del DNA, immunosoppressione e invecchiamento cutaneo. Il danno del DNA, se non riparato, può indurre il processo della cancerogenesi cutanea.

La causa di questo danno è principalmente riferibile all'azione che i raggi UV hanno sull'acido folico. L'acido folico è essenziale per una regolare sintesi del DNA. Infatti partecipa al processo di biosintesi delle purine, basi azotate presenti negli acidi nucleici che sono fondamentali per l'espressione genetica di questi. Inoltre, l'acido folico è anche componente strutturale dell'enzima fotoliasi che esplica la sua azione nella riparazione dei danni del DNA.

Il diverso colore della pelle nell'uomo cambia, per una diversa concentrazione della melanina, a seconda della latitudine di vita delle popolazioni. È più scuro dove il sole è più forte e più chiaro dove il sole è meno forte. Ciò rappresenta un'importante significato evolutivo. Milioni di anni fa, il primo uomo primitivo, l'australopiteco, aveva il corpo coperto di peli e la cute chiara. Le successive tappe evolutive hanno portato alla perdita della protezione del pelo, lasciando la pelle esposta al danno solare.

Le alterazioni genetiche conseguenti al danneggiamento dell'acido folico, portarono alla selezione, nel tempo, di popolazioni con un colore scuro di pelle che, proteggendo l'acido folico, consentiva la sopravvivenza e la riproduzione di queste.

Dall'Africa centrale, dove è comparso il primo uomo, nei millenni, sono iniziate le migrazioni e la colonizzazione del mondo. Lo spostamento dei soggetti a pelle scura alle latitudini estreme ha indotto un'ulteriore selezione naturale. La scarsa intensità solare di quelle zone portava ad una insufficiente produzione di vitamina D in questi soggetti, rispetto a quelli che presentavano una pelle più chiara, con selezione di una nuova popolazione a pelle chiara.

Questi diversi processi di selezione naturale ci spiegano le diverse intensità di colore di pelle che troviamo nelle varie zone del mondo.

La produzione di melanina nella cute è a carico di una particolare cellula, di derivazione neuronale, presente a livello dello strato basale dell'epidermide, chiamata melanocita. Il melanocita produce la melanina in particolari strutture, dette melanosomi, che vengono poi cedute ai corneociti determinando il colore della pelle. La diversa forma e volume dei melanosomi determina i diversi colori di cute che differenziano la razza negroide da quella orientale e da quella caucasica.

Abbiamo compreso che la produzione di melanina ha la principale funzione di difendere la cute dal danno solare e, quindi, la sua sintesi è attivata dai processi di danno biologico. Il danno induce la liberazione di un particolare ormone chiamato MSH (ormone melanocita stimolante) che agisce sul melanocita attivando la sintesi dei melanosomi contenenti la melanina e la cessione di questi alle cellule epidermiche.

Il primo passo conseguente al danno è la liberazione di un polipeptide POMC (pro-opio-melanocortina) che si scinde in frazioni minori, una delle quali è rappresentata dall'MSH. Il danno cellulare porta all'attivazione del sistema ATR (ataxia telangiectasia and Rad3-related protein) una serine/threonine-specific protein kinase che agisce fosforilando il fattore di trascrizione p53 che regola il ciclo cellulare e la risposta al danno. A questo consegue, da parte delle cellule epidermiche, la secrezione di POMC.

Questo polipeptide si scinde, poi, in porzioni più piccole l'ACTH, l'MSH e le beta-endorfine. (Quest'ultime sono responsabili della sensazione di piacere che consegue all'esposizione solare). L'MSH è un ormone che riveste ruoli diversi a livello centrale (ipotalamico) e a livello periferico (cute), agendo su i recettori MCR (melanocortine receptor). A livello ipotalamico, la stimolazione degli MCR 3 e 4 da parte dell'MSH, regola l'assunzione del cibo principalmente inibendo l'appetito ed attivando il metabolismo (importante funzione nella risposta primaria da stress). A livello cutaneo, la stimolazione dell'MCR 1 stimola il melanocita a sintetizzare la melanina.

La stimolazione dell'MC1R induce la formazione di un fattore di trascrizione chiamato MITF (Microphthalmia-Associated Transcription Factor) che permette la lettura dei geni responsabili della sintesi degli enzimi necessari alla trasformazione della tirosina in melanine. La tirosina per azione della

tirosinasi si trasforma in DOPA, questo segue, poi, due vie sintetiche diverse, la prima porta alla produzione di eumelanine (scure) e la seconda alla formazione delle feomelanine (rosse).

Questa via sintetica ci riporta alla embriogenesi del melanocita che è una cellula neuronale differenziata per una funzione diversa. Infatti le tappe sintetiche iniziali sono le stesse nel neurone e nel melanocita. La fenilalanina si idrossila in tirosina e questa, per azione della tirosinasi, si trasforma in DOPA. Da questo punto le vie sintetiche sono diverse, nel neurone abbiamo la sintesi di dopamina e delle epinefrine e nel melanocita abbiamo la sintesi del dopachinone che forma le eumelanine e le feomelanine.

In questo primo passaggio abbiamo la sintesi di MSH, per azione del danno biologico dei raggi UV, e la stimolazione del melanocita alla produzione di melanina nei melanosomi. Il passo successivo è la cessione dei melanosomi ai corneociti. Questo prevede il movimento dei melanosomi dal corpo centrale del melanocita lungo i dendriti e il passaggio dei granuli nel corneocita.

I melanosomi sono delle vescicole che si formano per gemmazione dal reticolo del Golgi e che incorporano gli enzimi di sintesi delle melanine. Subiscono una maturazione con formazione delle melanine all'interno dei medesimi e di strutture proteiche esterne capaci di collegarsi ai filamenti di miosina intracellulari per muoversi fino alla porzione terminale dei dendriti.

Dal reticolo del Golgi si staccano degli endosomi che legano la tirosinasi e gli altri enzimi necessari la sintesi delle melanine. Mentre la sintesi procede, si legano alla parete dell'endosoma (che si sta differenziando in melanosoma) le vescicole di trasporto Rab. Successivamente il Rab27 si lega alla Melanofilina e alla Miosina. Questo complesso è capace di legarsi ai filamenti di actina dei microtubuli e di permettere il movimento del melanosoma maturo verso il margine dei dendriti del melanocita.

Grazie a questo sistema di movimento, il melanosoma riesce a raggiungere la porzione terminale dei dendriti del melanocita e fissarsi alla membrana cellulare per poter essere ceduti ai corneociti.

Anche il passaggio dei melanosomi dal melanocita al corneocito è un passaggio attivo regolato dalla funzione di particolari recettori. Questi sono chiamati PAR2 e sono attivati dall'azione di particolari proteasi. E' la tripsina che agisce a livello dei recettori PAR2 consentendo il passaggio dei melanosomi nel corneocita.

Compresa la fisiologia della melanogenesi passiamo ora alla patologia della melanogenesi, responsabile di accumuli irregolari di melanina e causa di inestetismo. L'iperpigmentazione consegue o ad un eccesso di melanociti o ad un aumento di melanina. In ambedue i casi abbiamo una causa stimolante irritativa.

La melanina può aumentare come conseguenza di una stimolazione infiammatoria, per un eccesso di MSH sistemico (Morbo di Addison) o per un deposito di ferro (emocromatosi, dermatia diabetica); i melanociti aumentano per reazioni fototossiche o foto allergiche, per azione del sole e per cheratosi seborroica.

In ambedue i casi abbiamo un eccesso di melanina depositata. Questa può depositarsi a livello epidermico e/o a livello dermico. E' importante poter differenziare queste due situazioni perché nel caso di deposito epidermico è sufficiente effettuare l'asportazione di uno strato superficiale di cute (epidermide) per risolvere il problema estetico, mentre nel caso di deposito più profondo (dermico) l'asportazione deve essere più profonda.

La luce di Wood o luce ultravioletta consente di effettuare con facilità questa diagnosi differenziale. Le macchie presenti sulla cute che aumentano d'intensità alla luce ultravioletta, sono macchie epidermiche. Se diminuiscono d'intensità, sono invece macchie dermiche.

Per evitare il danno da iperpigmentazione dobbiamo, ovviamente, ridurre gli stimoli irritativi sulla cute. In caso di trattamenti irritanti (peeling medio - profondi, laser, etc) dobbiamo considerare il fototipo del paziente, ovvero la sua risposta all'esposizione solare. In caso di fototipi alti dobbiamo preoccuparci di far seguire al trattamento applicazioni depigmentanti.

Altra accortezza da seguire prima di praticare un trattamento di asportazione di un'iperpigmentazione è quello di assicurarci che questa non sia patologica. Sappiamo, infatti, che il danno solare del DNA può

indurre la formazione di una neoplasia delle cellule squamose (Carcinoma squamoso), delle cellule basali (Basalioma) o dei melanociti (Melanoma).

Dobbiamo, quindi, differenziare una **lentigo maligna** da una lentigo solare. La dermatoscopia ci aiuta in questa diagnosi differenziale sulla base del colore della pigmentazione (bruno o policromo), sulla specularità o meno della metà dell'immagine, sull'aspetto o meno ad impronta digitale, sull'eventuale irregolarità dei bordi e sulle dimensioni. Tutto ciò abbinato all'evoluzione e all'età d'insorgenza ci consente di porre una diagnosi differenziale iniziale, successivamente confermabile dallo specialista.

Infine, nella nostra azione di medicina estetica, è importante anche regolare la risposta melanica, sia nella normale esposizione solare, sia come risposta ad un trattamento irritativo.

I raggi UV ed in particolare gli UVB inducono una risposta infiammatoria per attivazione della cascata degli eicosanoidi indotta dall'azione della lipasi cellulare sull'acido arachidonico. La risposta infiammatoria induce un danno diretto ed indiretto sulla matrice dermica con elastosi solare e fotoaging. La cute cerca di difendersi dai raggi UVB producendo, con il sudore, acido urocanico, potente filtro selettivo per i raggi UVB. I raggi UV, inoltre, attivano le metalloproteinasi del derma con distruzione della matrice. Un solo MED (minima dose eritematogena) induce un'attivazione delle metalloproteinasi per 72 ore. Tutto ciò porta anche ad un aumento della melanina con iperpigmentazione.

1. Iniziamo riducendo il danno da esposizione solare con principi attivi applicati, al mattino, prima dell'esposizione. Utilizziamo la Laminaria Ochroleuca, alga con attività antinfiammatoria, capace di bloccare le interleuchine e le prostaglandine; la Sanguisorba Officinalis e la Macrocistis Pyrifera, alghe brune capaci di competere con i siti attivi sui quali agiscono le metalloproteinasi, riducendone l'azione negativa; l'istidina, precursore dell'acido urocanico, potente filtro selettivo per gli UVB, secreto con il sudore; fenilalanina, precursore della melanina, per la protezione ai raggi UVA; antiossidanti per ridurre il danno da radicali liberi.

E' possibile, poi, ridurre l'iperpigmentazione agendo sulle varie tappe di questa, mediante l'applicazione topica di principi attivi, prima e dopo l'esposizione solare o il danno irritativo.

Rallentiamo la stimolazione melanocitaria utilizzando l'n-undecyl-10-enoyl-L-phenylalanine: questa sostanza agisce come antagonista del recettore dell'MSH, bloccando l'azione del medesimo.

Aggiungiamo i retinoidi, derivati della vitamina A, capaci di inibire la lettura del gene della tirosinasi.

Limitiamo l'attivazione di questo enzima bloccandone la glicazione con acetil-glucosamina. Inibiamo l'azione della tirosinasi con acido kojico, acido azelaico e arbutina. Rallentiamo il movimento dei melanosomi lungo i dendriti melanocitari con della nicotinamide. Infine, riduciamo il passaggio del melanosoma dal melanocito al cheratinocito inibendo i PAR2 con il soybin trypsin inhibitor.

Concludiamo questa esposizione sulla fisiopatologia della melanogenesi ricordando che il danno UV o iatrogeno può indurre la morte dei melanociti con la comparsa di macchie chiare che caratterizzano la **Ipomelanosì Guttata**. Questa, come detto, segue ad un danno biologico di entità tale da indurre l'apoptosi melanocitaria. L' Ipomelanosì Guttata deve essere distinta dalla **Vitiligine** dove la distruzione dei melanociti consegue ad una risposta autoimmune.

Inflamming. I processi infiammatori danneggiano tutte le strutture biologiche. Il danno infiammatorio induce l'attivazione dei Macrofagi M1 con liberazione di citochine infiammatorie ad azione chemiotattica per i leucociti. I leucociti attivati liberano ROS inducendo danno tissutale. Il macrofago attivato in fase M1 produce tirosina idrossilasi con formazione di norepinefrina. L'azione delle catecolamine sul microcircolo induce vasocostrizione con alterazione circolatoria. L'insieme di queste azioni induce danno anche a livello cutaneo.

Fisiologicamente i processi pro-infiammatori sono regolati da processi anti-infiammatori. Questo per evitare eccessivo danno biologico conseguente alla reazione infiammatoria. Con l'avanzare dell'età il sistema immune subisce un graduale deterioramento definito con il termine d'Immunosenescenza.

Nell'Immunosenescenza diminuisce il numero di mast cells; diminuisce la citotossicità dei NK; diminuiscono la chemiotassi e la funzione dei neutrofili; aumentano i Linfociti CD 8 e diminuiscono i CD 4; diminuiscono le plasmacellule; diminuisce la fagocitosi macrofagica con aumento della liberazione di citochine infiammatorie. Questa situazione viene, poi, aggravata dalle variazioni del DHEA caratteristiche dell'invecchiamento. Tutto ciò determina uno spostamento della bilancia di regolazione dell'Inflammaging a favore delle risposte pro-infiammatorie.

Nello stato d'immunosenescenza precedentemente descritto, l'istaurarsi di risposte immunitarie (innate o adattive) verso patogeni stanziali nel nostro corpo (come il Citomegalovirus e l'Herpes virus) inducono una risposta infiammatoria cronica e il conseguente inflammaging. In particolare, i linfociti NK (immunità innata) aggrediscono la cellula infettata dal virus e liberano interferone gamma. Questo, a sua volta, induce il richiamo dei monociti e la formazione dei macrofagi M1. Possiamo, infatti, distinguere due differenti tipi di macrofagi. Quelli proinfiammatori, detti M1, che una volta attivati sintetizzano citochine infiammatorie (IL1 e TBF), enzimi lisosomiali e ROS. E quelli antinfiammatori, detti M2, che liberano citochine regolatrici della risposta infiammatoria (IL10) e stimolano il processo riparativo (collagenogenesi). Inoltre i macrofagi M1 liberano catecolamine che, con la loro azione vasocostrittrice, riducono l'apporto di ossigeno ai tessuti infiammati.

E' chiaro che, in considerazione di tutto ciò, sia necessario bloccare, nell'inflammaging, l'attività del macrofago M1 e trasformarlo in macrofago M2. L'attivazione del macrofago prevede processi intracellulari che portano alla fosforilazione della mitogen-activated protein kinase p38 e alla lettura dei geni che sintetizzano le citochine infiammatorie. Gli antinfiammatori si inseriscono in alcuni punti di questo processo che può essere ugualmente e più fisiologicamente bloccato agendo sulla espressività genetica. La letteratura ci dice che possiamo inibire la risposta infiammatoria mediante la metilazione del DNA dei macrofagi con l'uso della S-adenosilmetionina.

Passiamo ora all'**Esame Obiettivo**. Si effettua la valutazione dello stato fisiologico della cute sia per individuare i danni da foto e da cronoaging, sia per programmare degli interventi di tipo restitutivo e/o correttivo.

La cute può presentarsi normale, disidratata, sensibile o seborroica. Spesso i vari **biotipi** si sommano o si presentano in modo diverso nei vari distretti del volto.

I parametri necessari alla diagnosi di **fototipo** sono:

- . Il colore della pelle
- . Il colore dei capelli
- . La presenza di efelidi
- . L'eventuale eritema da esposizione solare
- . L'intensità dell'abbronzatura

La scala europea dei fototipi è quella del Cesarini (dermatologo francese) che prevede 6 possibilità che vanno dalla pelle bianca ed i capelli rossi (particolarmente sensibile al danno solare) alla pelle scura con capelli neri (resistente al danno solare). Esiste anche una scala, simile, messa a punto da un dermatologo americano, Fitzpatrick.

Osserviamo anche le variazioni estetiche della cute.

Distinguiamo vari **tipi di rugosità** cutanee:

Le pieghe, sono dovute ad un cedimento muscolo-cutaneo che si evidenzia per la gravità. Tipico esempio è l'accentuazione dei solchi naso-genieni. Le pieghe richiedono un trattamento correttivo basato sull'elevazione del tessuto caduto.

. Le rughe di espressione, sono conseguenti alla ripetuta piegatura cutanea per l'attivazione dei muscoli mimici. Tipici esempi sono le rughe della glabella e le rughe dell'esterno dell'occhio (zampe di gallina). Queste richiedono un trattamento correttivo basato sul blocco della contrazione muscolare.

. Le rughe glifiche, rappresentano un'accentuazione della normale trama della cute conseguente all'aumento di spessore dell'epidermide per photoaging. Queste richiedono un trattamento correttivo basato sulla levigatura dell'eccesso epidermico.

. Le grinze, sono pieghe cutanee dovute a compressione, per particolari posizioni. Un esempio sono le pieghe del sonno che compaiono per la compressione della cute sul cuscino. Queste richiedono un trattamento correttivo basato sul riempimento della piega.

. Le increspature, rappresentano una plissatura conseguente alla perdita delle fibre di ancoraggio della cute con i piani profondi. Caratteristiche della cute anziana anche non fotoesposta. Queste richiedono un trattamento correttivo basato sullo stimolo alla formazione di collagene fibrotico intradermico.

E' importante osservare anche la presenza di macchie pigmentate, spesso conseguenti ad un danno da fotoaging.

L'osservazione delle pigmentazioni cutanee deve essere completata sotto la luce di Wood (ultravioletta) che consente di differenziare le macchie epidermiche (aumentano d'intensità alla luce di Wood) da quelle dermiche (diminuiscono d'intensità alla luce di Wood).

L'osservazione della cute, consente anche di rilevare la presenza di couperose, un inestetismo presente nelle pelli sensibili e determinato da ectasie venulari.

E' possibile quantificare lo stato fisiologico della cute con misure strumentali. Il corneometro misura lo stato d'idratazione dell'epidermide, valore in diretto rapporto con lo stato d'idratazione del derma. Il sebometro misura la quantità di sebo prodotto dalle ghiandole sebacee.

Il test di sensibilità viene eseguito ponendo una goccia di acido lattico al 12% su una guancia e una goccia di acqua distillata sull'altra. Le cuti sensibili lamentano bruciore su ambedue i lati.

Passiamo ora alla operatività medico estetica nel **Trattamento dell'invecchiamento cutaneo**. Il nostro intervento dovrà essere sempre, prima preventivo, poi restitutivo ed, infine, se i primi due interventi non hanno dato risposta, correttivo.

Il **Trattamento Preventivo** dell'invecchiamento cutaneo sarà impostato sulla riduzione del danno da radicali liberi dell'ossigeno (cronoaging), sulla riduzione del danno dei raggi UV prodotti dal sole (fotoaging) e sul danno infiammatorio (inflammaging).

Si inizia con la regolazione dell'alimentazione eccessiva, il movimento incongruo e l'assunzione di sostanze tossiche per ridurre la quantità di escape dei radicali liberi dell'ossigeno. Una completa e normale **nutrizione** è alla base del giusto funzionamento del nostro corpo e di tutti i nostri tessuti. Ovviamente, anche la cute, il più vasto tessuto del nostro corpo, richiede la corretta assunzione di tutti i componenti necessari alla costruzione e alla funzione delle cellule che compongono la cute. I macronutrienti, costituiti da proteine, zuccheri e grassi, sono necessari per fornire le basi utili alla costruzione dei componenti della cute. Già a livello dell'acido nucleico, la struttura che contiene le basi genetiche della completa funzione cellulare, sono richiesti questi componenti strutturali. Gli zuccheri ed in particolare i pentosi, ribosio e desossiribosio, costruiscono la base della spirale a doppia elica che forma il DNA e l'RNA. I grassi, colesterolo e fosfolipidi, sono alla base della componente lipidica che forma la membrana cellulare e ne consente la funzione. In particolare i fosfolipidi, con i loro doppi legami, consentono la fluidità della membrana e l'espressione dei recettori. Le proteine, uno dei componenti più importanti del nostro corpo, non riveste solo una funzione strutturale ma anche quella funzionale. Infatti, gli enzimi, che consentono tutte le funzioni biologiche delle nostre cellule, sono formati da proteine.

Ma aminoacidi, grassi e zuccheri, sono anche utilizzati per costruire particolari strutture proteiche che caratterizzano la fisiologia dell'epidermide e del derma. Volendo prendere in considerazione la componente costituita dagli aminoacidi, una proteina di grande importanza è la cheratina, cioè si tratta di una proteina che forma l'involucro che caratterizza i corneociti e che partecipa al mantenimento della componente acquosa contenuta in queste cellule. Considerando i grassi, colesterolo, acidi grassi,

ceramidi, vengono liberati dai corpi di Odland ed entrano nella composizione del cemento lipidico presente negli spazi intercorneocitari. Le melanine, eumelanine e feomelanine, sono delle proteine che derivano dalla metabolizzazione della tirosina a sua volta derivata dalla fenilalanina, un aminoacido essenziale che deve essere introdotto per via alimentare, sono fondamentali per la protezione del danno da raggi UV a livello del nostro corpo. Nel derma, quei componenti della matrice che sono i proteoglicani, sono costituiti da una parte proteica e da una parte glicidica. Quindi, anche in questo caso zuccheri e proteine rivestono una funzione biologica, importante per l'idratazione del derma.

Anche gli altri componenti strutturali del derma richiedono per la loro costruzione l'assunzione alimentare di zuccheri e proteine. L'acido ialuronico è un aminozucchero importante per l'idratazione cutanea, una sola molecola trattiene almeno 500 molecole di acqua. Il collagene è una proteina fibrosa costituita principalmente dagli aminoacidi prolina, idrossiprolina e glicina. L'elastina, proteina responsabile della capacità elastica della cute, ha come componente principale della sua cerniera elastica, la desmosina, l'aminoacido lisina.

Una regolare alimentazione deve prevedere, oltre ai macronutrienti, anche i micronutrienti: vitamine, minerali ed oligoelementi. Alcune vitamine sono particolarmente importanti per la funzione cutanea:

- La vitamina B2 o Riboflavina, se carente, porta a problemi della cute che si evidenziano con glossite, fessurazioni delle labbra e dermatite seborroica.
- La vitamina B3 o Niacina, importante come componente del NAD e NADP, in caso di carenza determina la pellagra che tra le sue manifestazioni evidenzia anche una dermatite che porta alla disepitelizzazione delle mani e del collo nonchè ad eruzioni bollose e ad eritemi.
- La vitamina B5 o Acido Pantotenico, entra come componente del Coenzima A, punto fondamentale di tutti i metabolismi ed importante nel trattamento dell'acne.
- La vitamina B6 o Piridossina, un coenzima fondamentale per la sintesi proteica, si evidenzia nella sua carenza anche con dermatite seborroica, glossite e stomatite.
- La vitamina B7 o Biotina, fondamentale nelle reazioni di carbosilazione, si evidenzia nella sua carenza anche con dermatite seborroica.

Alcune vitamine rivestono una funzione importante nella prevenzione del cronoaging ed in particolare nella difesa del danno da radicali liberi dell'ossigeno. La cellula presenta, al suo interno, dei sistemi antiossidanti capaci di bloccare l'escape dei radicali liberi dell'ossigeno. Ma quando la quantità aumenta (agenti esterni, iperalimentazione, attività fisica in eccesso) la concentrazione è insufficiente ed avviene il danno. Alcune vitamine, la vitamina A, la vitamina E e la vitamina C, entrano nei sistemi di protezione del danno da radicali liberi dell'ossigeno prevenendo l'invecchiamento biologico.

La vitamina A, come tale o nella sua forma alimentare, il beta-carotene, si metabolizzano nelle forme attive di acido retinoico e di retinale. Il retinale reagisce con la rodopsina nel processo della visione, mentre l'acido retinoico, capace di attivare degli operoni a livello del DNA cellulare, consente di attivare la sintesi dell'acido ialuronico, sostanza con notevoli capacità antiossidanti.

La vitamina C o Acido Ascorbico, con la sua capacità di ossidarsi e ridursi (acido ascorbico - acido deidroascorbico) entra nei processi di sintesi del collagene, ma anche nella riattivazione della Vitamina E nella sua funzione antiossidante. Infatti il sistema Vitamina E - Vitamina C rappresenta il sistema di protezione dal danno da radicali liberi più attivo nelle nostre cellule. La Vitamina E blocca il radicale, divenendo essa stessa radicale e viene riattivata dalla Vitamina C o Acido ascorbico che diviene Acido Deidroascorbico. Quest'ultimo viene poi riattivato dal sistema NAD-NADH.

Anche gli oligoelementi consentono la funzione di meccanismi biologici necessari alla fisiologia della cute. Lo zinco è presente nel sito attivo delle metalloproteinasi cutanee. Il manganese nel sito attivo della superossido-dismutasi dei mitocondri. Altre superossido-dismutasi presenti nel citosol richiedono rame e zinco per funzionare. Ma il rame e lo zinco sono anche necessari nella formazione delle melanine. Il selenio è presente nel sito attivo della glutatione-perossidasi, enzima necessario alla finale metabolizzazione dell'acqua ossigenata.

Infine dobbiamo ricordare la regolare assunzione di acqua con l'alimentazione, necessaria a mantenere il regolare stato d'idratazione di tutto il corpo ed in particolare della cute. Si dovrebbero assumere 2-2,5 litri di acqua al giorno. Di questi, solo per la traspirazione insensibile, si perdono, quotidianamente, 3-500 ml. Al mantenimento dell'idratazione della cute concorrono anche le giuste concentrazioni dell'acido ialuronico e di cheratodesmosomi.

Il cibo, non riveste solo un'azione di apporto di sostanze base (aminoacidi, acidi grassi, zuccheri, vitamine, minerali) ma può essere anche utilizzato per una vera e propria funzione metabolica, ottimizzando particolari reazioni biochimiche che portano alla formazione di un componente biologico fondamentale. Per comprendere questa funzione, dobbiamo inserire il concetto di **Endomodulazione**.

Tutte le reazioni che avvengono nel nostro organismo sono reazioni enzimatiche, cioè reazioni in cui un substrato si unisce ad un enzima per essere trasformato nel prodotto di reazione. Il principio della Costante di Michelis e Menten ci dice che aumentare la concentrazione del substrato consente di ottimizzare la formazione dei prodotti di reazione mediante l'attivazione della velocità di reazione. Ed infatti aumentando la concentrazione dei precursori si ottiene l'ottimizzazione della formazione del prodotto di reazione con la sicurezza di non avere mai un eccesso del prodotto di reazione perché, quando anche una sola molecola si forma in eccesso, questa si lega al sito allosterico dell'enzima bloccando la reazione biologica. Perciò, una giusta quantità di tirosina consente di ottimizzare la formazione di melanine. La presenza di rame migliora l'azione della tirosinasi e, una corretta aggiunta di cisteina e di zinco, è importante per la formazione finale delle feomelanine e delle eumelanine. La supplementazione d'Istidina consente la formazione di una giusta quantità di Acido Urocanico, potente filtro UVB secreto con il sudore.

La supplementazione di Prolina e Glicina facilita la formazione del collagene. Glucosamina e Acido Glicuronico sono necessari per la formazione di acido ialuronico. La Lisina serve per la formazione della Desmosina, cerniera elastica dell'elastina. Valina, Leucina ed Isoleucina necessitano per la formazione di acido valerianico, butirrico ed isobutirrico, componenti del sebo.

La Endomodulazione può essere utilizzata sia per via orale, sia per via trans dermica, sia per via iniettiva. Alcuni Medical Device di III tipo, che vengono utilizzati nella **tecnica di biostimolazione** della cute, contengono sostanze che sono i precursori dei componenti della cute.

Oggi una corretta biostimolazione viene effettuata con:

- attivazione dei fibroblasti in senso anabolico ottenuta con fattori di crescita (needling), meccanotrasduzione e frammenti di acido ialuronico di 20-38 monomeri.
- Aminoacidi precursori dei componenti del derma per ottimizzare la formazione di questi ultimi secondo il principio dell'Endomodulazione.
- Tampone bicarbonato per mantenere costante il valore del pH della matrice ed evitare la coagulazione di questa.
- Cisteina per competere nell'apertura del sito attivo delle metalloproteinasi con attivazione di queste.
- Antiossidanti per ridurre il danno dei radicali liberi dell'ossigeno prodotti dal metabolismo mitocondriale.
- Colina, quale precursore dell'acetil-colina, per attivare la sintesi di questa sostanza necessaria per la funzione dell'epidermide.
- S-adenosilmetionina, per ridurre l'infiammazione causato dai macrofagi M1.

Tutti questi prodotti vengono introdotti nel derma con punture ripetute e secondo frequenze stabilite al fine di ottenere il mantenimento della struttura e della funzione della cute.

E' necessario eliminare il danno cutaneo da sostanze tossiche. Il **fumo** di sigaretta determina:

- Un incremento del danno ossidativo per attivazione della formazione di radicali liberi
- Alterazione della matrice dermica per attivazione delle metallo-proteinasi
- Ipossia da vasocostrizione nicotinic e da intossicazione da ossido di carbonio

- Riduzione della vitamina A per azione del benzopirene
- Aumento dei cross-links del collagene (indurimento) ad opera dell'acetaldeide
- Effetto mutageno per effetto del catrame.

Vari sono i mezzi utili per aiutare il paziente fumatore a smettere. Recentemente è stato utilizzato il bupropione cloridrato (dopaminergico e noradrenergico) utile per la disassuefazione da nicotina. Più recente è la Vareniclina (Champix - Pfizer) che agisce sui recettori nicotinici del cervello.

Per compensare terapeuticamente il danno da radicali liberi dell'ossigeno si usano gli antiossidanti. La necessità di questa somministrazione si stabilisce con il dosaggio dei ROM-s. Sulla base del risultato dei ROM-s si programma il **trattamento antiossidante** integrativo. Valori bassi dei ROM-s non richiedono intervento antiossidante, valori alti lo richiedono. In caso di valore normale dei ROM-s non si devono somministrare antiossidanti per evitare di ridurre le difese immunitarie.

Nei soggetti con i seguenti polimorfismi genetici negativi la somministrazione degli antiossidanti è necessaria in modo continuo:

Superossido dismutasi - 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.

Glutazione s-transefrasi - L'enzima glutazione S-transferasi, appartiene ad una famiglia di enzimi detossificanti che catalizzano la coniugazione di varie molecole tossiche con il glutazione rendendole meno reattive e più facilmente eliminabili dall'organismo.

Catalasi - La catalasi è un enzima coinvolto nella detossificazione della cellula da specie reattive dell'ossigeno.

Uno spazio importante nella prevenzione dell'invecchiamento cutaneo è dato dalla gestione cosmetica della cute. Questa deve essere personalizzata allo stato cutaneo.

Cosmetologia

Può sembrare strano che un medico si interessi di cosmetici ma, come vedremo appresso, oggi il cosmetico può svolgere delle importanti funzioni di restituzione e di correzione del nostro stato cutaneo effettuando un'opera di ottimizzazione biologica, principale oggetto del nostro lavoro. Anche se la legge sui prodotti cosmetici (legge 713/86) ne limita notevolmente la funzione: infatti *Si definiscono prodotti cosmetici le sostanze e le preparazioni, diverse dai medicinali, destinate ad essere applicate sulle superfici esterne del corpo umano (epidermide, sistema pilifero e capelli, unghie, labbra, organi genitali esterni) oppure sui denti e sulle mucose della bocca allo scopo esclusivo o prevalente, di pulirli, profumarli, modificarne l'aspetto, correggere gli odori corporei, proteggerli o mantenerli in buono stato. Vedremo però che il loro reale effetto si può sovrapporre all'effetto dei farmaci.*

Il nostro interesse sarà limitato, sul piano restitutivo, ai:

- Detergenti
- Idratanti
- Protettivi solari

e sul piano del trattamento simil-farmaceutico ai:

- Cosmeceutici

I Detergenti

Con questo termine indichiamo sostanze utili ad asportare lo sporco dalla nostra pelle. La principale caratteristica di questi è la capacità di essere **tensioattivi**. La tensione superficiale è la forza che lega le molecole di superficie dell'acqua e che porta alla formazione del fenomeno della goccia sferica. I tensioattivi riducono la tensione superficiale facilitando la spalmabilità del detergente sopra la superficie di sporco. Altra caratteristica dei detergenti è quella di essere composti chimicamente da una porzione idrofila e da una porzione lipofila. Questo consente di legare lo sporco (grasso) all'acqua per essere asportato. La capacità di asportare il grasso diviene, però, negativa per la cute. Infatti il

detergente può rimuovere il film idrolipidico superficiale della cute, solubilizzare i lipidi intralamellari e danneggiare le membrane cellulari. Lo strato corneo funzionale è composto da cellule (corneociti) e da lipidi con una struttura simile a quella di un muro, dove le cellule sono i mattoni e i lipidi la calce che li tiene uniti. Ovviamente, se togliamo la calce, il muro cade.

Normalmente, nelle rappresentazioni grafiche dell'epidermide, allo strato corneo viene dato un piccolo spazio. Dobbiamo, però, ricordare che su uno spessore dell'epidermide di circa 50 μm , 20 μm sono dati dallo strato corneo. In realtà, tutta l'epidermide opera per costruire uno strato corneo corretto e funzionale. Nello strato basale, il più basso, abbiamo le cellule germinative che si dividono continuamente per assicurare la giusta quantità di cellule da differenziare in corneociti. Nello strato spinoso si vengono a formare le giunture di collegamento tra le varie cellule, i desmosomi o cheratinosomi, che dovranno divenire corneosomi necessari a mantenere attaccati tra loro i corneociti. Spostandoci più in alto abbiamo lo strato granuloso caratterizzato da particolari corpi lamellari che contengono i lipidi necessari a formare il cemento intercorneocitario. Queste strutture, dette Corpi di Odland, si spostano sul margine della cellula ed estrudono Colesterolo, Fosfolipidi e Ceramidi. L'ultimo strato è quello corneo caratterizzato da particolari cellule anucleate dette corneociti. È questo lo strato più importante che svolge la funzione di barriera, principalmente, sulla perdita dell'acqua.

Lo strato corneo può essere diviso in uno strato compatto ed in uno strato disgiunto dove le singole cellule iniziano il processo di esfoliazione. La qualità dei corneociti e la loro connessione, oltre alla composizione dei lipidi intercorneocitari è fondamentale per l'effetto barriera necessario a ridurre la perdita dell'acqua. Dobbiamo approfondire le caratteristiche dello strato corneo e comprendere le funzioni dei corneociti, dei corneodesmosomi, della capsula proteica, del natural moisturizing factor e dei lipidi intracellulari per capire il danno che le variazioni iatrogene (detergenza) possono causare sul mantenimento dello stato d'idratazione cutanea.

Iniziamo con i corneociti, come detto, particolari cellule anucleate che formano i mattoni dello strato corneo dell'epidermide. Rappresentano l'ultimo stadio di differenziazione delle cellule epidermiche e sono immersi in uno strato di lipidi che li unisce con i corneodesmosomi. Una delle loro caratteristiche è la presenza di un involucro proteico detto, *cornified envelope*. Questo è formato dall'unione di diverse proteine, tutte sintetizzate dalla cellula stessa che porta alla formazione di uno strato duro ed impermeabile. Una funzione importante nella formazione di questo involucro l'hanno particolari enzimi detti *transglutaminasi*. Le proteine vengono sintetizzate all'interno della cellula e trasportate alla periferia, dove, in parte vengono assemblate per formare l'involucro proteico interno e in parte vengono estruse dalla cellula e vanno a formare l'involucro proteico esterno. Quest'ultimo è formato sia da proteine che da grassi (fosfolipidi, ceramidi, acidi grassi e colesterolo). Il posizionamento e l'assemblamento delle proteine è permesso dall'azione delle transglutaminasi. I tensioattivi riducono l'attività di questi enzimi determinando una ridotta sintesi dell'involucro proteico e della funzione corneocitaria.

All'interno dei corneociti abbiamo un particolare componente, il natural moisturizing factor (NMF), capace di legare le molecole di acqua e mantenere idratato lo strato corneo. Il NMF è costituito da un insieme di sostanze dove sono preponderanti gli aminoacidi liberi, l'acido carbossil-pirrolidoneico, il lattato, gli zuccheri e l'urea. Quest'ultima lega le molecole di acqua e le trattiene all'interno della cellula. Il mantenimento dell'idratazione cutanea è condizionato dal mantenimento dell'integrità dei corneociti e delle lamelle lipidiche poste al loro esterno. In caso di rottura o perdita, l'acqua fuoriesce e viene dispersa nell'ambiente esterno. Distinguiamo, nello strato corneo, due tipi di acqua, libera e legata. In 100 milligrammi di corneo abbiamo 35 mg di acqua dei quali, il 20% è nei corneociti ed il 30% risulta legata tra i lipidi interlamellari.

Lo strato granuloso libera nello spazio intercorneocitario i lipidi contenuti nei Corpi di Odland. Ceramidi, colesterolo ed acidi grassi vanno a comporre il cemento lipidico intercellulare, che rappresenta il 20% del volume dello strato corneo. I lipidi sono per il 50% ceramidi, per il 25% colesterolo e per il 10-20% acidi grassi. La cute produce approssimativamente 100-150 mg di lipidi al

giorno per compensare la perdita per desquamazione. I lipidi extracellulari si dispongono in uno strato lamellare all'interno del quale si ordinano le molecole di acqua. Ceramidi, colesterolo e colesterolo solfato si alternano in uno strato lipidico intervallato da uno strato acquoso. Se misuriamo lo stato di disidratazione dell'epidermide possiamo notare che questo è in diretto rapporto con la concentrazione delle ceramidi. Si ha una diminuzione progressiva della concentrazione di questi lipidi passando dalla cute normale, alla cute disidratata, alla cute danneggiata, alla dermatite atopica.

I corneodesmosomi rappresentano i ponti di congiunzione tra un corneocita e l'altro. La rottura di questi ponti proteici, mediata da proteasi, è alla base del processo di esfoliazione dello strato corneo. I corneodesmosomi sono l'evoluzione superficiale dei desmosomi che uniscono i cheratinociti a livello dello strato spinoso dell'epidermide. La desquamazione del corneo può essere quantizzata in 1000 cellule per centimetro quadro per ora, o in $5 * 10^8$ cellule al giorno. Occorrono 14 giorni perché una cellula dello strato basale subisca le differenziazioni necessarie a raggiungere lo strato corneo e altri 14 giorni per superare i 20 strati cellulari che compongono lo strato corneo ed essere esfoliata. Le proteasi rompono i corneodesmosomi e sono condizionate nella loro azione dal valore del pH. La loro funzione è normale a pH acido, mentre viene esaltata a pH neutro o alcalino. I detergenti ed in particolare i saponi hanno un'azione di alcalinizzazione della cute e aumentano l'esfoliazione dello strato corneo.

Un ruolo importante nel processo di desquamazione è rivestito da un particolare enzima, il colesterolo solfato. Questo deriva dal colesterolo per solfatazione di questo ad opera della colesterolo solfato sintetasi. Il colesterolo solfato regola il processo di differenziazione epidermica regolando l'attività di trascrizione ed inibisce l'azione delle proteasi. La sua idrolizzazione porta al processo di desquamazione. Nella ittiosi (forma patologica di secchezza cutanea) abbiamo un deficit genetico di colesterolo solfatasi che determina un aumento della concentrazione del colesterolo solfato. Da ciò deriva un aumento della coesione corneocitaria (aumento degli ioni calcio) un aumento della corneificazione cellulare (aumento della sintesi dell'involucrina), un blocco dell'esfoliazione (riduzione dell'attività proteasica).

I detergenti agiscono nella disidratazione diminuendo il NMF, diminuendo gli inibitori delle proteasi, aumentando l'attività proteasica. Tutto questo altera lo strato corneo portando alla rottura di questo. Inoltre, i detergenti asportano anche il film idro-lipidico che è presente al di sopra dell'epidermide. Questo è costituito dai prodotti di decomposizione dello strato corneo e dalla secrezione delle ghiandole cutanee. In particolare la sua composizione è data da:

- Costituenti del sebo (ghiandole sebacee). Acidi grassi insaturi (20%), esteri del colesterolo, esteri cerosi (20%), squalene (15%), steroli liberi/esterificati (5%), trigliceridi (40%).
- Detriti cellulari. Sostanze lipidiche provenienti dalla desquamazione dello strato corneo, materiale enzimatico liberato dalle cellule epidermiche.
- Sostanze di derivazione batterica. Molecole prodotte o modificate dalla flora microbica cutanea.
- Acqua. Componente del sudore proveniente dalle ghiandole sudoripare eccrine e apocrine, TEWL (acqua libera di passaggio attraverso l'epidermide).
- Sostanze esogene.

Il danno dello strato corneo causato dai detergenti induce una riduzione delle capacità di difesa della cute rendendola più sensibili alle aggressioni fisiche e chimiche esterne.

Ricapitolando, i tensioattivi:

- riducono l'attività delle transglutaminasi
- riducono i lipidi intercorneocitari
- riducono la concentrazione di colesterolo solfato
- aumentano il pH e l'attività delle proteasi

determinando:

- minor consistenza dei corneociti
- rottura dei corneociti

- riduzione del NMF
- perdita dello stato lipidico
- riduzione dell'acqua intracellulare
- riduzione dell'acqua extracellulare
- aumento dell'esfoliazione

Detto questo, però, rimane il fatto che dobbiamo utilizzare queste sostanze per pulire il nostro corpo. L'asportazione dello sporco, in un ambiente acquoso, non può prescindere dall'uso dei tensioattivi. Quindi, dobbiamo cercare di ottenere il risultato di detergenza della cute con il minimo danno di questa. I detergenti sono caratterizzati da molecole con una porzione idrofila ed una porzione idrofoba. Inoltre, in base alla loro capacità di idrolizzarsi, distinguiamo:

- detergenti anionici
- detergenti cationici
- detergenti anfoteri
- detergenti non ionici

I detergenti anionici inducono un pH alcalino e sono aggressivi per la pelle. Sono i saponi normali (alchilosolfati, laurilsolfati, acilglutammati, solfo succinati). I detergenti cationici, si legano bene alle cheratine (sostantivanti), neutralizzano l'elettrostaticità (batteriostatici). Sono i balsami per capelli e i detergenti per l'igiene intima (sali di alchilammonio, isochinolinici). I detergenti anfoteri, sono schiumogeni, detergenti e bagnanti. Si dissociano a seconda del pH. Sono ben tollerati da cute e mucose (alchil-amido-propil betaine, derivati imidazolinici). I detergenti non ionici, sono buoni detergenti, poco schiumogeni. Non hanno carica elettrica. Sono ben tollerati dalla cute ed eudermici (amidi, derivati polisaccaridici, esteri di zuccheri).

A seconda della forma fisica e dei componenti, distinguiamo i seguenti prodotti di detergenza:

- Saponi tradizionali
- Syndets
- Bagnoschiama
- Bagnodoccia
- Olio da bagno
- Latte detergente

I saponi tradizionali sono dei tensioattivi anionici. Buoni detergenti. Hanno, però, un'azione delipidizzante e alcalinizzante. Formano sali insolubili (precipitati). I syndets sono saponi non saponi formati da alcoli grassi solfatati. Non producono precipitati. Si presentano sia in forma liquida che solida. Possono essere formulati a pH acido. I bagnoschiama sono formati da una miscela di tensioattivi anionici ed anfoteri. Hanno azione schiumogena. I bagno doccia sono più eudermici perché si devono applicare direttamente sulla cute. Gli oli da bagno sono dei sistemi ternari di oli, solubilizzanti e acqua. I latte detergenti sono una emulsione ad attività detergente per affinità. sostanza grassa che asporta altra sostanza grassa (sporco). Richiedono un prodotto finale per asportare detergente e sporco (tonico). I tonici migliori sono estratti di camomilla, amamelide o calendula.

Gli idratanti

Si definiscono con questo termine i cosmetici che migliorano lo stato d'idratazione della cute. Il mantenimento della giusta idratazione cutanea richiede una giusta concentrazione di proteoglicani a livello dermico e una corretta funzione e compattezza dello strato corneo a livello epidermico. Quindi, come primo passo si deve normalizzare lo stato biologico del derma e dell'epidermide. Successivamente si possono utilizzare cosmetici utili ad idratare la pelle. Distinguiamo:

- Gli umettanti che attirano e trattengono l'acqua dall'aria, al fine di idratare la pelle. Sono sorbitolo, polietilenglicoli, eteri etossilici, dimeticoni.
- Gli occlusivi che formano una pellicola sottile sulla superficie della pelle per evitare qualsiasi perdita di umidità. Sono collagene, acido ialuronico, chitina.

- Gli idratanti biologici che ripristinano i fattori idratanti naturali della pelle. Quest'ultimi sono rappresentati dal NMF ricostituito e dai lipidi intercellulari.

Il NMF viene oggi ricostituito sinteticamente dall'industria cosmetica grazie alla perfetta conoscenza della sua composizione (aminoacidi liberi, acido carbossil-pirrolidonic, lattato, zuccheri, urea, sali minerali).

I lipidi intercellulari sono costituiti per il 40-50% da ceramidi, per il 25% da colesterolo e per il 10-15% da acidi grassi liberi. Questi si vanno ad aggiungere ai lipidi del sebo formati da gliceridi, acidi grassi, cere, squalene, colesterolo ed esteri vari.

L'industria cosmetica, oggi, utilizza tutti questi prodotti, ma un discorso a parte va fatto per le ceramidi. Si conoscono diversi tipi di ceramidi contenuti nella cute in concentrazioni e funzioni diverse. Infatti, questi lipidi non hanno solo una funzione meccanica ma anche una funzione biologica. Le ceramidi rappresentano una tappa intermedia del metabolismo delle sfingosine, delle sfingomieline e dei glico-sfingolipidi, con un precursore comune derivato dall'unione della serina con il palmitol-CoA.

Le ceramidi funzionano, anche, come secondi mediatori cellulari regolando i processi di:

- differenziazione
- proliferazione
- apoptosi (tipo I PCD)

Quindi, una non corretta composizione delle ceramidi, utilizzabili per via cosmetica, potrebbe inserirsi nel processo di apoptosi tipo I delle cellule. Da ciò, meglio utilizzare cosmetici contenenti tutti i tipi di grassi descritti meno le ceramidi ed, eventualmente, considerare l'utilizzo dei precursori (serina e palmitol-CoA) per ottimizzarne la sintesi in loco.

Concludiamo questa prima parte dando delle indicazioni sul tipo di cosmesi da utilizzare in base ai diversi biotipi cutanei.

Cute Seborroica

Detergente a risciacquo (non saponi) o latte di pulizia privi di lipidi comedogeni (occlusione pori).

Tonico alcolico (liposolvente) non astringente (rebound).

Crema (giorno e sera) leggera e opacante (fa apparire meno unta la pelle - carbossimetilcisteina).

Periodicamente, applicare una maschera a base di argilla (asciuga la secrezione sebacea).

Cute Disidratata

Detergenti molto delicati, poco sgrassanti e contenenti sostanze restitutive idrofile e lipofile. Tónico analcolico.

Crema (giorno) con sostanze idratanti (NMF ricostituito, filmogeni idrofili, lipidi sebo-simili).

Crema (sera) grassa o semigrassa con sostanze sebosimili (squalene, trigliceridi, acidi grassi) e lipidi epidermici (colesterolo, acidi polinsaturi).

Cute Sensibile

Detergente a base di lipoproteine additivato con azulene, pantenolo e bisabololo (lenitivi).

Tonico alla camomilla.

Crema (giorno) leggera, poco untuosa e non penetrante, con filtri UV-B e sostanze funzionali (vasoprotettivi - escina, ruscogenine - lenitivi e antiarrossamento) .

Crema (sera) semigrassa A/O/A, poco penetrante e con sostanze funzionali.

La Protezione Solare

Il sole emette energia elettromagnetica che incide sul nostro corpo e viene, in parte assorbita da questo. Durante l'assorbimento, l'energia trasportata alle molecole che compongono la sostanza è capace di eccitare la molecola portandola ad un livello energetico superiore. È proprio questo delta energetico che costituisce il presupposto perché avvenga una reazione chimica. Questi stati di attivazione molecolare, se da un lato sono i presupposti per la vita, dall'altra sono la base dei processi dell'invecchiamento perché da questi tipi di interazione si formano i radicali liberi.

I raggi ultravioletti promuovono una serie di reazioni fotochimiche a livello cutaneo, delle quali abbiamo già parlato e che richiedono interventi di prevenzione e di protezione diretta. Questi ultimi si effettuano con gli **schermi solari**. Gli schermi solari permettono di aumentare il tempo di esposizione senza comparsa del danno. Distinguiamo:

- Composti chimici organici che assorbono la luce ultravioletta. (para-aminobenzoico o PABA).
- Prodotti inorganici che riflettono la luce UV (biossido di titanio, ossido di zinco).
- Particelle organiche che assorbono la luce, come i composti chimici organici, ma possono anche riflettere la luce come le particelle inorganiche .

Si dividono in base al tipo di raggi UV che riescono a filtrare. La maggior parte degli organici agisce sui raggi UVB, una parte di questi anche sui raggi UVA e gli inorganici coprono tutto lo spettro.

La capacità di azione di un filtro solare viene espressa con il valore del SPF (*sun protection factor*). Questo rappresenta la quantità di radiazione UV necessaria a provocare scottature sulla pelle con la protezione solare, come un multiplo della quantità necessaria senza la protezione solare.

Esistono due scale di SPF, la prima europea, detta DIN, e la seconda statunitense, detta FDA. I valori della prima corrispondono ai valori doppi della seconda (cioè SPF 10 DIN è uguale a SPF 20 FDA).

E' utile, nei soggetti che tendono a pigmentarsi troppo o in modo irregolare, ridurre la melanogenesi con i prodotti di cui abbiamo parlato prima e regolare le funzioni di protezione cutanea e di riparazione cutanea con endomodulatori.

Gli **Endomodulatori** sono degli ottimizzatori delle reazioni biologiche del nostro organismo. Seguono il principio della Costante di Michelis-Menten sulle reazioni biologiche enzimatiche. Nel nostro organismo tutte le reazioni biologiche sono caratterizzate dall'unione di un substrato con un enzima per dar luogo alla formazione di un prodotto di reazione. La Costante di Michelis-Menten dice che aumentando la concentrazione del substrato si ottimizza la velocità della reazione enzimatica. Su questa base somministriamo i precursori biologici dei componenti della cute per ottimizzare la formazione dei prodotti finali (es. tirosina per ottimizzare la melanina). Gli endomodulatori, essendo dei normali componenti della nostra alimentazione, devono essere assunti, sempre, a stomaco vuoto. L'ottimizzazione della sintesi delle melanine può essere ottenuta somministrando:

- Tirosina, quale aminoacido precursore
- Rame , coenzima della tirosinasi
- Cisteina, necessaria alla formazione delle feomelanine
- Zinco, necessario alla formazione delle eumelanine.

Questo consente di ottimizzare la formazione dei pigmenti necessari alla protezione dal danno solare. Questa protezione può essere ottimizzata consentendo una migliore formazione di acido urocanico, il filtro naturale UVB prodotto con il sudore. Per questo somministriamo:

- Istidina, quale aminoacido precursore.

Il danno biologico determina alterazione dei componenti della cute, per questo possiamo utilizzare l'endomodulazione per ottimizzare la nuova formazione di questi. Quindi, la sera a stomaco vuoto assumiamo:

- Prolina, precursore del collagene
- Glucosamina, precursore dell'acido ialuronico
- Lisina, precursore dell'elastina
- Valina, leucina ed isoleucina, precursori dei componenti del sebo.

I Cosmeceutici

Questo termine è stato coniato per indicare la possibilità di utilizzare la via transdermica per veicolare sostanze ad effetto farmacologico. Come visto, in realtà, i cosmetici non dovrebbero contenere sostanze che penetrino nella nostra cute, ma questa non è la realtà. La via transdermica è oggi riconosciuta come una normale via d'introduzione di un principio attivo che si somma alla via iniettiva ed

orale. Il passaggio transcutaneo può avvenire attraverso gli annessi cutanei e/o attraverso la cute stessa. Quest'ultima via può seguire un percorso trans cellulare (penetrazione attraverso le cellule) o intercellulare (penetrazione attraverso gli spazi intercellulari). Le varie zone del nostro corpo permettono un passaggio diverso delle sostanze che, per passare attraverso la cute, devono avere delle caratteristiche che facilitino il passaggio medesimo. Sono correlate con una buona capacità di penetrazione le sostanze :

- con un basso peso molecolare (<500 Dalton)
- con discreta lipofilia
- con un punto di fusione inferiore a <200 °C

La legge di Fick regola il flusso di una sostanza, attraverso la cute:

LEGGE DI DIFFUSIONE DI FICK

J è il flusso per unità di area

K è il coefficiente di partizione del principio attivo

D è il coefficiente di diffusione del principio attivo

h spessore dello strato corneo

c_o è la concentrazione di sostanza attiva alla superficie della pelle

c_i è la sua concentrazione all'interno della pelle.

Inoltre, riconosciamo una diffusione passiva, caratteristica delle sostanze apolari e una diffusione attiva, caratteristica delle sostanze polari (aminoacidi e vitamine).

Anche quando una sostanza attiva presenta tali proprietà, è utile trovare ulteriori mezzi per aumentare il trasporto attraverso la pelle. Possiamo agire:

- sulla via di penetrazione, utilizzando liposomi.
- modificando lo strato corneo, sia aumentando l'idratazione con sostanze occludenti, sia utilizzando sostanze lipofile.
- praticando delle fessurazioni sulla cute con aghi o esfoliazione.

Infine, ricordiamo che, nella prescrizione cosmetologica, preferiamo, nei confronti delle nostre pazienti, non dare un prodotto definito ma offrire una scelta in rapporto allo stato biologico della loro cute e alle loro necessità.

Passiamo ora al **Programma Restitutivo** e cioè agli interventi necessari a riportare, per quanto possibile, la struttura ed il metabolismo dei tessuti del volto alla normalità.

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 ipotonici. 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 può agire su tutti i tessuti del volto: cute, grasso, muscolo e osso.

Il trattamento è basato su due parti: la rigenerazione di tutti i tessuti del volto (Full Face Regeneration) e l'ottimizzazione funzionale dei tessuti rigenerati (Full Face Optimize).

Il Full Face Medical Rejuvenation è stato presentato, per la prima volta, a livello internazionale nel gennaio 2012, a Los Angeles, in un Corso di Formazione tenuto dal Prof. Maurizio Ceccarelli per l'American Association of Aesthetic Medicine & Surgery. In quest'occasione il Prof. Ceccarelli ha ricevuto il titolo di Charman of Regenerative Medicine.

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

Con il Medical Face Regeneration possiamo rigenerare:

- L'epidermide
- Il derma
- L'ipoderma

- L'osso

Nel processo di rigenerazione, utilizziamo fattori di crescita e cellule staminali.

I **fattori di crescita** sono dei piccoli frammenti proteici appartenenti al gruppo delle citochine, prodotti da vari tipi di cellule e tessuti. Vengono nominati in funzione dei tessuti che stimolano. Si utilizzano delle sigle formate dalle lettere GF precedute dalle iniziali del 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 tirosinKinasi, e questo legame determina una serie di attivazioni intracellulari che portano alla risposta biologica.

I recettori della tirosinKinasi 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 il 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
- Il blocco del DNA Repair
- La riduzione dell'apoptosi

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 differenziata presenta 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.

Il primo blocco allo sviluppo neoplastico è dato dai geni soppressori. Una seconda mutazione, alterando i geni soppressori, induce una divisione cellulare incontrollata. La sommazione 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.

Dunque 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. Peraltro, dopo tutto ciò, 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. Victor 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). 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 le cellule ematiche con il connettivo perivasale. Le piastrine si legano al collagene extravasale mediante il fattore di von Willebrant. Ciò 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/ml e il tempo d'azione del PDGF è molto breve perché dopo 2 minuti è già dimezzato.

In un lavoro del 2008 pubblicato su Communicative & Integrative Biology leggiamo 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 tirosinkinasi e una seconda stimolazione, questa volta con PRP, determina una maggiore risposta biologica.

Gli studi istologici del Prof. Garcia e del Dott. Gonzales-Nicolas, inoltre, ci hanno aperto nuove conoscenze sulla biostimolazione con PDGF. Dopo 7 giorni dalla biostimolazione con PDGF si verifica 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.

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 tale trattamento si ripete sino al risultato voluto.

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 rende impossibile la trasformazione della protrombina in trombina e quindi impedisce la coagulazione.

Preleviamo 20 ml di sangue venoso. Per ottenere, dopo la centrifugazione, 7-8 ml di plasma. Possiamo utilizzare le provette non certificate per l'uso umano o possiamo utilizzare kit certificati per l'uso umano che, però, hanno un alto costo, tuttavia presentano 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). A questo punto 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 in base al raggio della centrifuga. Per 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 semplice 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, verificiamo, con una conta piastrinica, 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. Ora possiamo separare il plasma, prelevandolo nel suo insieme. La siringa con il plasma deve essere agitata per omogeneizzare le piastrine.

Adesso 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. Il calcio 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. E ciò perché, dopo 6-8 ore, abbiamo il reclutamento recettoriale dei 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. 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. Effettuiamo il trattamento.

Durante la centrifugazione del sangue, prepariamo la cute della nostra paziente applicando una maschera anestetica. Asportata la maschera anestetica disinfettiamo 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. La somministrazione di un'alta concentrazione di questi consente di ottimizzare il lavoro del 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, su viso, collo, décolleté e mani. Infiltriamo, nel derma, con un ago da 4 mm 30 G.

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 l'esiguo spessore dell'epidermide, dobbiamo, perciò, applicare topicamente i fattori di crescita piastrinici. 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.

Preleviamo 10 ml di sangue venoso. Effettuiamo la centrifugazione con la nostra centrifuga. Otteniamo il frazionamento delle piastrine con una maggior concentrazione nella parte bassa del plasma. 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 in 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.

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. La plasmina formata all'interno del trombo fibrinico lo degrada formando i prodotti di degradazione della fibrina (FDP).

Come già detto poco sopra, 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. Tutto ciò 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. 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. 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 ridurne la depressione o a livello del dorso della mano, utilizzando delle cannule. Otteniamo la formazione di un coagulo di fibrina intradermico. Tale coagulo permane per un tempo sufficiente alla colonizzazione fibroblastica e alla neocollagenogenesi rigenerativa.

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, 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.

Vediamo ora la **rigenerazione del tessuto adiposo** del volto.

Quando il tessuto adiposo si atrofizza effettuiamo un liposowing con le cellule staminali adulte del grasso dette *fat transit amplyfing cells* autologhe.

La rigenerazione del tessuto adiposo del volto non deve essere confusa con 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 con un'azione di filler.

Il Liposowing usa principalmente, cellule staminali adulte del grasso. Queste vengono seminate in piccole quantità per stimolare la nascita di nuovo tessuto adiposo.

Nel lipofilling quando ci troviamo di fronte ad un volto scavato, introduciamo il grasso con un effetto filler determinando un miglioramento immediato di volumi che nel tempo diminuisce. Nel liposowing, quando ci troviamo di fronte ad 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.

Approfondiamo l'uso delle **cellule staminali nella rigenerazione dei tessuti**.

Con il termine di cellule staminali si indicano delle cellule che possono differenziarsi in ogni tipo di tessuto. La cellula staminale primitiva è l'uovo che, fecondato, si moltiplica in numerose cellule dando luogo, successivamente, alla formazione di tutti i tessuti. La moltiplicazione e la differenziazione delle cellule staminali è importante per la morfogenesi e la embriogenesi che consente la formazione, da una singola cellula, di un organismo completo. Questo ci dice che le cellule embrionali hanno un programma genetico che consente loro, tramite attivazione ed inibizione di particolari geni, di formare l'organismo finale. In particolare, il processo di metilazione e di demetilazione permette di silenziare o attivare l'espressione genetica. Man mano che le cellule staminali si differenziano, perdono la loro capacità a formare diversi tessuti. Passiamo da cellule totipotenti, a cellule pluripotenti, a cellule multipotenti per arrivare, con la differenziazione completa, a cellule unipotenti. Importante è il fatto che le cellule staminali, nel loro processo di differenziazione, presentano la proteina p27 Kip1 che permette il processo d'inibizione di contatto. La proteina p27 Kip1, liberata al momento del contatto tra due cellule, si lega alle Cicline bloccando la loro azione e fermando la mitosi. Ciò evita una proliferazione anomala. L'uso di cellule oligopotenti, dette *transit amplyfing cells*, ci mette al riparo dal rischio di dare origine ad un tumore.

Le prime cellule staminali studiate sono quelle del midollo osseo. Capostipiti di tutte le cellule ematiche. Queste sono cellule mesodermiche e sono in grado di differenziarsi in tessuti di derivazione mesenchimale. Le cellule mesenchimali possono essere prelevate, oltre che dal midollo osseo, anche, più facilmente, dal tessuto adiposo. Inoltre, il grasso è molto ricco in cellule staminali. Nel tessuto adiposo, infatti, una cellula ogni 50 è una cellula staminale (il midollo osseo, invece, ne contiene 1 ogni 10.000).

Ma perché, nel tessuto adiposo, ci sono tutte queste cellule staminali?. La spiegazione del fatto che 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 che raggiunge un massimo del 170% del volume normale. Raggiunto questo volume, l'adipocita manda un messaggio alle cellule staminali per farle moltiplicare e differenziare in nuovi adipociti.

Le cellule staminali si trovano nella zona del connettivo perivasale. Nel tessuto adiposo, come nel midollo osseo e nel derma, si trovano anche altre cellule dette MUSE Cells. Queste sono capaci di differenziarsi in tutti i tipi di tessuto. Le Muse cells sono, quindi, delle cellule pluripotenti cioè cellule parzialmente differenziate. Questo determina una insufficiente formazione dei Proteina p27 Kip1 con il potenziale rischio di una moltiplicazione anarchica. In realtà questo rischio non c'è perché le Muse cells hanno una bassa attività telomerasica che blocca la proliferazione dopo un determinato numero di divisioni cellulari.

Oggi le cellule mesenchimali sono codificate sulla base di particolari cluster of differentiation (CD). Anche le Muse cells sono individuabili per particolari recettori presenti sulla loro superficie (Stage-specific embryonic antigen 3). Possiamo, quindi, facilmente prelevare la frazione vascolo-stromale del tessuto adiposo, dove le cellule staminali sono presenti nella zona del connettivo perivasale, ma dobbiamo, poi, liberare le singole cellule presenti all'interno del lipoaspirato.

Abbiamo tecniche di separazione meccanica ed enzimatica. Particolari strumentazioni ci consentono la separazione delle cellule staminali dal tessuto adiposo prelevato. Nella nostra pratica, frammentiamo il lipoaspirato, meccanicamente, per ottenere piccole particelle di tessuto più facilmente attaccabili dalla collagenasi. Liberiamo le cellule dal connettivo attraverso una digestione con collagenasi. Puliamo la soluzione dalla collagenasi residua e otteniamo le cellule da utilizzare.

L'infiltrazione diretta è di facile esecuzione, ma l'introduzione sistemica presenta alcune problematiche quali l'arresto di tali cellule 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, che contengono nel loro interno 100-200.000 cellule CD34+. Ma la letteratura pone l'accento sulla necessità di iniettare milioni di cellule. Questo fatto ha persuaso i ricercatori ad eseguire un'ulteriore manipolazione delle cellule prima dell'impianto. Si parla di Induced Pluripotent Stem Cell (IPSC), cioè di cellule staminali generate artificialmente a partire da una cellula 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 la possibilità di manipolare, coltivare, trasformare le cellule per poi infiltrarle o iniettarle per via sistemica aumenta ancora i rischi di questo tipo di terapia.

Lo studio delle cellule staminali ha evidenziato che queste 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. Dopo aver raggiunto la zona, 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 trovato 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, applicando una crema all'acido Acido 5-aminolevulinico e successivamente esponendo la cute ad una luce led rossa a 630nm si può attivare la proliferazione e la differenziazione delle cellule staminali della cute. O, ancora, utilizzando una soluzione, già usata in medicina estetica, l'acido ascorbico in presenza di ferro ferrico, che produce piccole quantità di radicali liberi, si può rigenerare la cute.

Per calcolare esattamente la quantità di acido ascorbico da utilizzare in questo trattamento abbiamo ricercato nella bibliografia internazionale che ha evidenziato come "*ROS can regulate the hESC differentiation via MAPKs signaling at low concentrations (0.1-0.5 mM), whereas increased apoptosis occurred at a high concentration (1.0 mM)*", cioè, con 0,1-0,5 Mmol di acido ascorbico possiamo indurre la differenziazione delle cellule staminali presenti nella nostra cute. Da ciò, il nostro ultimo protocollo per la rigenerazione della cute prevede un trattamento a tappeto della cute che vogliamo rigenerare, con 0,34 Mmol di acido ascorbico, diluito in acqua ferrica, e una successiva applicazione di PDGF per attivare la proliferazione e l'attivazione metabolica dei fibroblasti neoformati.

Tornando al **liposowing**, utilizziamo in questa tecnica le cellule prelevate dal tessuto adiposo. Prima del prelievo, 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 de fatto che il grasso sia 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 (superiore al 170% del volume normale) l'adipocita stimola, come già detto, la formazione di nuovo tessuto adiposo. Lo stimolo alla mitosi e alla differenziazione dei preadipociti consegue principalmente all'aumento del tasso insulinemico per down regulation del recettore nell'adipocita ipertrofico e dalla liberazione di IGF-1. Quindi, quando il volume dell'adipocita supera il valore del 170% del normale, 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. 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. grazie allo 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 regolano, poi, le funzioni adipogenetiche mantenendo costante il volume del

tessuto perché la compressione determina inibizione dell'adipogenesi. La risposta estetica segue alla rigenerazione del tessuto adiposo e compare dopo 3-6 mesi dall'impianto.

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. Quando il volume diviene superiore al 170% del volume normale l'adipocita stimola la formazione di nuovo tessuto adiposo. Effettuiamo l'attivazione con insulina e glucosio nella zona da rigenerare. Il trattamento si esegue dopo un pasto grasso perché 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 30 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.

Passiamo ora alla **rigenerazione dell'osso**.

La rigenerazione dell'osso viene effettuata, principalmente, a livello dell'osso zigomatico, anche se possiamo effettuarla su ogni osso. 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 al pentacalcico, l'idrossiapatite (16-18 mesi). 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 per indurre una risposta infiammatoria inferiore.

La sospensione che otteniamo tende lentamente a sedimentare dividendo la parte corpuscolata da quella liquida. Perciò denaturiamo le proteine plasmatiche con il calore (60-70 °C) ottenendo una fase omogenea da utilizzare come filler (STBA-Fill). 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. 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.

L'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 mescolano con 500 mg di fosfato calcico a piccola granulazione, si denatura con il calore, si disgrega con il movimento meccanico: così otteniamo l'STBA-Fill. 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.

Abbiamo completato la prima fase del Full Face Rejuvenation. 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 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

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. Perciò, il nostro intervento dovrà essere diretto all'attivazione della funzione fibroblastica e alla limitazione dell'azione delle metalloproteinasi.

Attiviamo, dunque, 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. È 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 meccano-trasduzione 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 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.

Quindi 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 criteri della mesoterapia, verranno rilasciati gradualmente nell'arco di 5-6 giorni.

Le sostanze che rilasciamo nel ponfo sono: aminoacidi, in particolare cisteina, colina, antiossidanti, S-adenosilmetionina e un tampone bicarbonato, in una soluzione normotonica 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 la *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 e 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 avere 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) e ciò 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, da parte del 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 la *colina*, precursore dell'acetilcolina, ottimizzando il metabolismo dei cheratinociti. Infine, per bloccare l'infiammaging, trasformiamo il macrofago M1 in macrofago M2 con l'uso della S-adenosilmetionina.

Introduciamo quanto detto sopra all'interno del derma, con un ago 30G 4 mm, assicurandoci la formazione del ponfo. 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, sul viso, collo e dorso delle mani.

Praticamente (in attesa di un nuovo medical device), prepariamo galenicamente la biostimolazione usando i farmaci. Precisamente uniamo 7 ml di aminoacidi al 3%, 2 ml di bicarbonato di sodio all'1,4%, 100 mg di colina, 100 mg di Acido Ascorbico 2 2 mg di S-adenosilmetionina.

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 **umentare 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 della *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 (metalloproteinasie 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.

In definitiva miglioriamo l'idratazione locale:

- Attivando il fibroblasto alla produzione di acido ialuronico
- Richiamando acqua per osmosi
- Riducendo la *perspiratio insensibilis* tramite il miglioramento della funzione cheratinocitaria

Attiviamo, perciò, i recettori del fibroblasto utilizzando i fattori di crescita piastriinici (needling), dopo la meccanotrasduzione. Quindi, introduciamo, nel derma, una soluzione amminoacidica 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% e 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 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 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. Per cui, 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 meccanotrasduzione 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 cisteina per chelare il ferro e impedire la Reazione di Fenton che produce altri radicali liberi; ancora rilasciamo 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).

Passando a tessuti più profondi, 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'ipotonìa tessutale. 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 evidenzia come dosaggi di acido ascorbico, compresi tra lo 0,12% e lo 0,24%, inducano 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 apoptotici 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 procero 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 maior 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 maggiore rispetto alla quantità di filler inserito.

Se il risultato è soddisfacente, ci fermiamo, altrimenti ripetiamo le sedute fino al risultato desiderato.

Descritto il Full Face Rejuvenation quale trattamento più attuale e completo nel ringiovanimento di tutti i tessuti del volto, dobbiamo fare qualche accenno ai trattamenti di correzione estetica del volto ottenibili attraverso l'uso di:

- Filler
- Tossina botulinica
- Peeling

Con i **Filler** otteniamo un riempimento delle perdite volumetriche della cute. I filler vengono utilizzati nella correzione delle rughe del volto. Non tutte le rughe possono essere corrette con il filler. Le rughe da mimica, i cedimenti tissutali e l'ispessimento delle rughe glifiche, devono essere risolte con altri interventi. I filler trovano utilizzo in estetica anche negli aumenti volumetrici del volto ed in particolare per la definizione delle labbra e degli zigomi. Alcune zone del volto sono particolarmente sensibili e richiedono un'anestesia prima di procedere all'impianto del filler.

Oggi abbiamo a disposizione un gran numero di sostanze utilizzabili quali filler. Possiamo dividerle in tre grandi categorie: i naturali, i sintetici ed i misti. I prodotti naturali danno un risultato immediato ma sono riassorbiti nell'arco di alcuni mesi, i prodotti sintetici danno un risultato ritardato ma permanente, i misti accoppiano le due possibilità.

Sia i filler naturali che i sintetici presentano vantaggi e svantaggi. I filler naturali presentano la sicurezza del materiale, la reversibilità del risultato, la maneggevolezza del prodotto e la possibilità di essere utilizzati per il trattamento delle rughe superficiali. Ma hanno lo svantaggio della breve durata, del costo elevato rispetto ai tempi di risposta, dell'essere riassorbiti più rapidamente se inseriti in profondità e del presentare una parte acquosa che viene rapidamente eliminata. I prodotti naturali sono rappresentati dal collagene e dall'acido ialuronico, estrattivo o ricombinante.

I filler sintetici hanno il vantaggio della durata del risultato, dell'elevato potere riempitivo (conseguente all'incapsulamento fibroso), della plasticità e della economicità in relazione ai tempi di permanenza del risultato. Gli svantaggi sono dati dall'impossibilità di utilizzarli nelle rughe superficiali, dalla difficoltà nel poter riparare gli errori ed ai possibili effetti indesiderati di un prodotto sintetico. La capsula fibrosa consegue alla impossibilità del riassorbimento del prodotto e si presenta di spessore differente sulla base del tipo e della purezza del prodotto. Importante è sempre l'introduzione profonda per evitare che il volume della capsula possa determinare inestetismi.

I filler sintetici sono formati da materiali alloplastici o eterologhi, quali le strutture polimeriche biocompatibili, in uso clinico come materiali di sutura, protesi e drenaggi. Requisiti indispensabili sono la stabilità chimica e strutturale, la biocompatibilità e una consistenza simile alla sede di impianto. Il trattamento deve essere eseguito con piccole quantità e la seduta deve essere ripetuta non prima di 30-40 giorni.

Recentemente, la medicina rigenerativa ci ha consentito la formulazione di un nuovo **filler naturale**. Abbiamo visto l'uso dell'STBA unito alla Idrossiapatite posizionato sul periostio per stimolare una rigenerazione dell'osso, principalmente nella zona zigomatica e/o malare. La stessa preparazione, con una concentrazione di Idrossiapatite minore (5-10%), può essere utilizzata come filler naturale a risposta definitiva. Infatti, l'introduzione del preparato nel sottocute, in zone depresse o rugose,

induce una risposta fibrotica che permane nel tempo e consente una correzione estetica. Si esegue una seduta ogni 30-40 giorni, inserendo piccole quantità e massaggiando per omogeneizzare il prodotto, fino al risultato richiesto. Le proteine plasmatiche vengono riassorbite rapidamente e l'idrossiapatite viene solubilizzata per azione dell'anidrasi carbonica del fibroblasto. La capsula fibrotica rimane nel tempo.

Torniamo alla correzione delle rughe. La piega cutanea che forma la ruga può essere spianata con l'inserimento di un piccolo volume di filler che elevi verso l'alto il tessuto eliminando l'ineestetismo. Si deve tener presente che le rughe formate da tempo presentano una briglia cicatriziale che deve essere tagliata per permettere la giusta posizione del filler.

Un particolare trattamento è richiesto per il così detto **codice a barre**. Questo consegue alle ripetute sollecitazioni mimiche del muscolo orbicolare della bocca. La tossina botulinica presenta il rischio di paralisi dell'orbicolare con dismetria della bocca. Il peeling può portare ad una differente pigmentazione tra la zona trattata ed il resto del volto. Il riempimento classico con filler può peggiorare l'ineestetismo con alternanza di volumi e depressioni. L'unica possibilità è un riempimento a tappeto con piccolissime quantità di filler per irrigidire la cute, distendendola e riducendo la sua mobilità. La zona è soggetta ad ematomi per la ricca vascolarizzazione.

Di particolare interesse è la correzione delle **labbra** con filler. Il trattamento deve essere soggettivizzato trattando o il contorno, o il volume o la definizione dell'arco di Cupido. Per la definizione del contorno si riempie il canale virtuale compreso tra cute e vermiglio. Il contorno si continua con la definizione dell'Arco di Cupido. L'aumento di volume del labbro richiede la rotazione di questo aumentando la base d'appoggio della mucosa sul dente.

Il filler viene usato anche per ridare un aspetto triangolare al volto, aumentando il volume dello **zigomo**. L'aumento di volume può interessare l'osso zigomatico e/o l'osso malare. Bisogna porre attenzione alla vascolarizzazione della zona. Il trattamento della zona malare richiede attenzione per evitare danneggiamenti del nervo infraorbitario con conseguenti parestesia o anestesia della zona mediale della guancia. L'aumento volumetrico della zona zigomatica consente, anche, un riposizionamento dei tessuti ipotonicici che per gravità determinano un'accentuazione delle pliche naso-geniene. Infatti riempire le pliche nasogeniene evidenziate da una ipotonia di tessuto non determina un miglioramento estetico, ma un peggioramento per formazione di un cannello di tessuto al di sopra della ruga. La zigomoplastica deve sempre rispettare le armonie del volto senza determinare trasformazioni inestetiche. Evitando di accontentare le richieste, spesso esasperate, delle nostre pazienti che, insoddisfatte del proprio schema corporeo, per una visione alterata di questo, chiedono sempre ulteriori aggiunte di prodotto.

Per quanto riguarda la tecnica, già sappiamo che l'ago viene introdotto perpendicolarmente al volto e fatto penetrare attraverso la cute, l'ipoderma e la muscolatura sino a raggiungere l'osso; da qui ci si sposta parallelamente all'osso sia nella zona zigomatica che in quella malare. Il punto d'inserzione dell'ago si reperta tracciando due rette: la prima va dall'angolo dell'occhio all'angolo della bocca e la seconda dal margine superiore del trago al margine inferiore della narice. Nel punto d'intersezione si inserisce l'ago. Quindi ci si muove a raggiera sia sull'osso zigomatico che su quello malare. Distribuendo il prodotto sul periostio e massaggiando, successivamente, per distenderlo bene. Si esegue una seduta ogni 30-40 giorni iniettando un max di 1 ml per zona.

Le rughe dovute alla mimica muscolare richiedono una denervazione chimica del muscolo con conseguente paralisi flaccida e spianamento della ruga stessa.

Nel capitolo sui filler dobbiamo fare una precisazione sull'uso dell'**acido ialuronico**. La scarsa durata dell'acido ialuronico ha portato le ditte produttrici ad una continua specializzazione della cross-linkatura con il fine di ridurre le possibilità di attacco delle ialuronidasi dermiche. Oggi si è arrivati ad avere un prodotto tridimensionale che permane nel derma per circa un anno. L'uso intradermico di questo prodotto non deve essere effettuato perché la presenza di un componente estraneo nella cute per un così lungo periodo induce una reazione fibrotica da corpo estraneo, determinando la comparsa di noduli inestetici e definitivi. Detti prodotti, perciò, devono sempre essere introdotti mediante una

micro cannula che consente la deposizione di questi nello spazio sottocutaneo ed evita i danni estetici descritti.

La Tossina Botulinica . Questo trattamento si usa solo per le rughe causate dalla mimica muscolare.

La Tossina Botulinica è una neurotossina prodotta dal *Clostridium botulinum*. Si conoscono varie tossine che si differenziano per potenza: A-B-C-D-E-F-G. Le più utilizzate sono la A e la B. La tossina agisce bloccando, in maniera reversibile, la liberazione di acetilcolina a livello della placca neuromuscolare. La tossina è costituita da due catene: la catena pesante determina la specificità per le terminazioni nervose colinergiche. La tossina penetra nella terminazione nervosa per endocitosi. All'interno del neurone, si dissocia nelle sue due catene, attivandosi. La catena leggera distrugge la proteina SNAP-25 impedendo la formazione del complesso proteico di membrana SNARE. Questo complesso è essenziale per la liberazione dell'acetilcolina, perché permette l'ancoraggio delle vescicole che la contengono alla membrana. I vari tipi di tossina botulinica hanno diversi punti d'azione ma, tutte, inducono un'alterazione del complesso SNARE. Dopo l'azione della tossina, in pochi giorni, appaiono gli sprouts (germinazioni nervose), e dopo soli 28 giorni liberano già acetilcolina. Questa produzione è però insufficiente per una regolare contrazione. In 2-3 mesi, si apprezza una ripresa muscolare, per liberazione di una concentrazione efficace di acetilcolina. Nel frattempo la produzione di SNAP-25 continua. In 6-8 mesi la placca riprende la sua normale funzione per recuperare la sua funzione, mentre gli sprouts spariscono. Studi istologici hanno verificato l'assenza di lesioni sia a livello del nervo sia a livello della architettura dermica.

La tossina botulinica viene dosata in Unità. Esiste una differenza tra le unità americane e quelle anglosassoni (rapporto di 1:5). Un flacone del prodotto americano di 100 U corrisponde ad un flacone anglosassone di 500 U. La dose d'uso viene compresa tra 6 e 400 unità americane. La dose massima tra le 400 e le 600 u. americane. La DL50 o dose tossica tra le 2500 e le 3000 u. americane. Esistono altre tossine in commercio che possono differenziarsi per purezza ed eccipienti. Il differente volume usato per la diluizione porta a concentrazioni diverse del prodotto. Si usano delle siringhe da insulina riempite ad 1 ml con la tossina: questo corrisponde a 50 U. americane (la dose normalmente utilizzata per un paziente). La tossina è termolabile e cronolabile.

È buona abitudine, prima d'iniziare il trattamento, compilare il consenso informato e fotografare il paziente durante i movimenti. Ovviamente per questo trattamento si deve conoscere bene l'anatomia muscolare. E la proiezione cutanea dei muscoli responsabili della mimica facciale. Le rughe sono causate dal ripiegamento della cute in senso perpendicolare alla direzione della contrazione del muscolo. Nel trattamento si utilizzano le variazioni estetiche determinate dal blocco di muscoli antagonisti. Il prodotto diffonde dal punto d'iniezione e la larghezza di diffusione dipende da:

- . Volume iniettato
- . Orientamento della puntura
- . Velocità/Pressione della iniezione
- . Sanguinamento prodotto

Per evitare la discesa del prodotto il paziente viene posto in leggero Trendelenburg. Il trattamento del terzo superiore del viso si effettua con sicurezza. Trattare la porzione inferiore può determinare dismetrie facciali.

Subito dopo il trattamento:

- . non massaggiare la zona
- . evitare compressioni locali
- . evitare movimenti violenti
- . evitare il calore

Effetti collaterali possibili sono:

- . dolore per l' iniezione
- . eritema

- . edema
- . ecchimosi
- . herpes labiale
- . cefalea / emicrania

Conseguenti ad errata pratica sono la paresi transitoria della muscolatura vicina e l'asimmetria. Il risultato difficilmente può essere annullato. Il protocollo prevede:

- . trattamento
- . controllo dopo 7-14 giorni
- . ritocco entro 20-30 giorni
- . microdenervazione percutanea
- . nuovo trattamento dopo 3-6 mesi

Non sono riportate reazioni allergiche alla tossina. Si deve evitare la formazione di anticorpi anti tossina.

Blocco cutaneo colinergico nella prevenzione delle manifestazioni acneiche.

L'acetilcolina è un neurotrasmettitore che svolge diverse funzioni anche a livello cutaneo. In particolare:

- Regola lo spessore dell'epidermide - *Acetylcholine (ACh)muscarinic receptors activate a metalloproteinase, which liberates surface-associated heparin-binding epidermal growth factor (HB-EGF) and causes transactivation of epidermal growth factor receptors (EGFRs).*
- Svolge un'azione antiossidante - *Acetylcholine (ACh) opening of mitochondrial (mito) K(ATP) channels with the generation of reactive oxygen species (ROS).*
- Regola la secrezione sebacea - *..... role for Acetylcholine (ACh) in sebum production and as a promoter of sebocyte differentiation.*
- Regola la microcircolazione - *Adrenergic neurons release noradrenaline and ATP to reduce cutaneous blood flow while cholinergic neurons release acetylcholine and a co-transmitter to dilate skin blood vessels.*

Per queste sue azioni, il blocco colinergico può essere utilizzato nella terapia dell'acne.

La ghiandola sebacea è una ghiandola acinosa a secrezione olocrina (cioè tutto il citoplasma cellulare viene trasformato in sebo e secreto). E' costituita da una porzione secretiva, situata nel derma, e da un canale escretivo che si versa nel condotto pilifero.

La funzione delle ghiandole sebacee è sotto il controllo ormonale. Gli androgeni giungono alla ghiandola veicolati dalla microcircolazione e, qui, per azione della 5-alfa-reduttasi vengono trasformati nella forma attiva, il diidrotestosterone. La stimolazione ormonale porta alla sintesi del sebo che poi verrà secreto.

L'acne definisce una malattia delle cute causata da un'infiammazione del follicolo sebaceo, malattia che si manifesta in aspetti evolutivi che vanno dal comedone, alla papula, al brufolo, al nodulo e alla cicatrice.

La papula è la prima manifestazione conseguente alla difficoltà d'escrezione del sebo. L'ossidazione del sebo della papula porta alla formazione del comedone o punto nero. La sovrinfezione batterica porta alla formazione del foruncolo o brufolo. Questo può esitare nella formazione del nodulo per blocco alla secrezione sebacea. La rottura interna del nodulo determina una risposta cicatriziale con danno cutaneo definitivo.

Riassumendo, la eziopatogenesi dell'acne riconosce:

- L'occlusione per ipercheratosi del dotto escretivo
- L'ipersecrezione sebacea per stimolo ormonale
- La proliferazione batterica (*Propionibacterium acnes*) all'interno della ghiandola
- La liberazione di acidi grassi liberi per azione delle lipasi batteriche
- L'infiammazione locale per passaggio degli acidi grassi liberi nel derma
- La formazione del nodulo e della cisti

- La rottura del nodulo e lo stimolo cicatriziale.

Nei soggetti adulti si può accompagnare una vasodilatazione del microcircolo che determina l'acne rosacea.

Sulla base delle cause, possiamo impostare la terapia. Utilizzeremo antibiotici per combattere l'infiammazione batterica, peeling per eliminare l'ipercheratosi che occlude il dotto sebaceo, antiandrogeni per limitare lo stimolo ormonale all'ipersecrezione ghiandola.

A questo aggiungiamo il blocco colinergico con tossina botulinica diluita introdotta nel derma. Il rationale di questo utilizzo fa capo all'azione che l'acetilcolina ha sull'ipercheratosi, sulla produzione del sebo e sulla microcircolazione.

Il blocco colinergico, quindi:

- Riduce l'ipercheratosi
- Riduce la secrezione sebacea
- Riduce la vascolarizzazione (riducendo l'apporto ematico degli androgeni e la vasodilatazione delle rosacea)

Utilizziamo 10 unità di tossina diluite con 3 millilitri di soluzione fisiologica. Si trattano a tappeto le zone interessate dall'acne (viso, spalle) con punture intradermiche.

Il nostro protocollo finale prevede:

1. Tossina botulinica diluita, una sessione ogni tre mesi per infiltrazione intradermica
2. Gestione cosmetica della cute
3. Peeling chimico con acido piruvico o mandelico
4. Trattamento antibiotico topico
5. Antiandrogeni (ciproterone acetato 0,5%) per applicazione topica.

Passiamo ora ai trattamenti peeling.

Col termine **Peeling** si indica l'uso di sostanze chimiche che, esfoliando la cute, eliminano gli strati più superficiali di questa, levigandola. A seconda dello strato asportato distinguiamo vari tipi di peeling.

Con **peeling superficiale** intendiamo l'asportazione dell'epidermide sino ad arrivare al derma papillare. Gli anglosassoni definiscono questo trattamento con il termine di *freshening*.

Come **peeling medio - profondo** si intende un peeling che provoca una esfoliazione che raggiunge il derma reticolare superiore. Gli anglosassoni definiscono questo trattamento con il termine di *rejuvenation*.

Infine, con il termine di **peeling profondo** si intende la completa asportazione dell'epidermide e del derma, fino al derma reticolare medio.

In base alla potenza dell'acido usato possiamo o rompere i legami intercorneocitari esfoliando l'epidermide o coagulare le proteine della cute asportando uno strato più o meno spesso. La profondità del peeling deve essere in rapporto alla profondità delle patologie cutanee.

La tecnica del peeling prevede, indipendentemente dalla sostanza utilizzata, una stessa procedura.

- Detersione della cute
- Un pre-peeling tamponante
- Il peeling
- Un post-peeling decongestionante
- Una terapia domiciliare di protezione

Ci sono diversi tipi di peeling chimici.

Gli idrossiacidi sono acidi carbossilici come l'acido glicolico, un componente naturale del succo di canna da zucchero e l'acido lattico, che si trova nel latte acido. Producono un peeling leggero utile per il trattamento di rughe sottili, aree di secchezza, pigmentazione irregolare e acne. Si dividono in alfa idrossiacidi e beta idrossiacidi. I primi con molecola più piccola penetrano di più ed i secondi con molecola più grande penetrano meno. Ci sono vari tipi di idrossiacidi: acido citrico, acido glicolico, acido lattico, acido malico, acido tartarico, acido mandelico, acido salicilico e acido piruvico.

Peeling più profondi richiedono l'uso dell'acido tricloroacetico o il fenolo (detto anche acido fenico o acido carbolico). L'Acido tricloroacetico (TCA) viene usato in concentrazioni comprese tra 20-50%. La profondità di penetrazione aumenta all'aumentare della concentrazione, con il 50% TCA si può penetrare fino al derma reticolare. Concentrazioni superiori al 35% non sono consigliate a causa del rischio di cicatrici. Il fenolo è il più forte tra le soluzioni chimiche e produce un peeling profondo della pelle. Si può utilizzare in abbinamento con il croton oil, un enhancer di penetrazione, che agisce negli strati epidermici più superficiali. Ad alte concentrazioni può causare rischio di aritmie e problemi renali.