

The Physiological Medical Letter

Vol. XIII

JUNE 2018

N° 1

CELLULE STAMINALI E RINGIOVANIMENTO DEI TESSUTI DEL VOLTO

Maurizio Ceccarelli & Coll.

Premessa

Il processo d'invecchiamento interessa tutti i tessuti del volto ed è caratterizzato, principalmente, da una riduzione dei volumi fisiologici. Questo determina la ptosi tissutale che caratterizza un volto invecchiato.

In medicina estetica, per lungo tempo, si è tentato di compensare questo inestetismo con l'introduzione di filler che equilibrassero il volume perso. Oggi abbiamo la possibilità di rigenerare fisiologicamente tutti i tessuti del volto, ridando a questo, non solo la normale volumetria giovanile, ma anche la funzione biologica dei tessuti neoformati.

Il trattamento prevede, inizialmente, l'attivazione differenziativa delle cellule staminali quiescenti presenti fisiologicamente in tutti i nostri tessuti ed il loro successivo stimolo metabolico e proliferativo per ottimizzare lo stato biologico del tessuto trattato. Si ottiene così la neoformazione di cellule giovanili, metabolicamente attive, che ridanno corpo al tessuto ripristinando il volume. Raggiunto il volume fisiologico il tessuto ferma la sua rigenerazione, perché la meccano-trasduzione limita il rischio di un'iperplasia.

A seconda dei diversi tessuti e della vita media delle nuove cellule formate, il trattamento, raggiunta la volumetria fisiologica, viene ripetuto con tempi differenti.

Attivazione delle cellule staminali quiescenti

La letteratura scientifica ci dice che in tutti i tessuti sono presenti cellule staminali. Queste cellule hanno la funzione di rigenerare un tessuto sottoposto ad un danno lieve. Un grande danno determina, invece, un processo riparativo (cicatrizziale) dei volumi cellulari persi, per apoptosi o necrosi.

Esiste, inoltre, un pool di cellule staminali circolanti, continuamente, nel sangue. Quando un tessuto subisce un lieve danno, richiama queste cellule che si muovono per diapedesi fino a

raggiungere il tessuto per rigenerarlo. Il richiamo e lo stimolo a differenziarsi alle cellule mesenchimali sono dati dalla lieve infiammazione che segue al danno del tessuto.

Le cellule staminali in fase latente sono presenti in tutti i tessuti: cute, grasso, muscolo ed osso.

Nella cute troviamo cellule staminali sia a livello dello strato basale dell'epidermide sia a livello del derma. Nel tessuto adiposo troviamo un'altissima concentrazione di cellule staminali (1 ogni 50 adipociti) necessarie per mantenere un giusto numero di cellule adipose capaci di immagazzinare energia sotto forma di trigliceridi. Nel tessuto muscolare si trovano delle cellule dette *cellule satellite* comprese fra le fibre muscolari e l'endomysio, la guaina di tessuto connettivo che le ricopre. Queste sono delle cellule staminali che, in presenza di un piccolo trauma si possono differenziare in nuove fibrocellule muscolari. A livello dell'osso, il periostio, una membrana connettivale fibro-elastica che aderisce alla superficie esterna delle ossa, contiene cellule staminali. Nel periostio si distinguono due strati: uno strato esterno, fibroso, povero di cellule ma ricco di vasi, ed uno interno, più ricco di cellule e con uno strato epitelioide con proprietà osteogeniche (strato osteogeno di Ollier). In caso di lesioni le cellule acquistano la potenzialità osteoformativa ed elaborano sostanza ossea.

Vediamo, come confermato dalla letteratura scientifica, che lo stimolo alla differenziazione delle cellule staminali quiescenti è conseguente ad un lieve stato infiammatorio con liberazione di piccole quantità di ROS (radicali liberi dell'ossigeno).

Tutto ciò ci conferma che i ROS rappresentano dei mediatori intracellulari che regolano le funzioni della cellula. In piccole quantità inducono la differenziazione delle cellule staminali quiescenti, mentre in alta quantità inducono l'apoptosi cellulare.

Da queste affermazioni scientifiche, nel novembre 2015, presso il Centro di Dermatologia Sperimentale dell'Hospital Universitario Ramón y Cajal di Madrid, si è impostato un lavoro di rigenerazione cutanea mediante l'applicazione di un trattamento di terapia fotodinamica a basso dosaggio. Nel lavoro si propone di applicare una bassa concentrazione di ALA (acido aminolevulinico) e di stimolare, con luce rossa a 630 nm a bassa energia, la liberazione di una piccola quantità di ROS, capaci di non produrre apoptosi o necrosi, ma la differenziazione delle cellule staminali quiescenti.

La letteratura scientifica ci dice che basse concentrazioni di ROS (0,1-0,5 mMoli) stimolano la differenziazione delle cellule staminali quiescenti, mentre concentrazioni più alte (superiori a 1,0 mMoli) stimolano l'apoptosi cellulare. Da ciò, liberare ROS in concentrazione superiore a 1,0 mMoli induce la morte cellulare per apoptosi, mentre concentrazioni inferiori, comprese tra 0,1 e 0,5 mMoli stimolano la differenziazione delle cellule staminali quiescenti.

Ci sembrava difficile calcolare la corretta quantità di ROS utile alla differenziazione delle cellule staminali senza rischiare l'apoptosi, tramite l'applicazione di ALA e di luce a 630 nm.

Per questo abbiamo ricercato una possibilità che ci consentisse un corretto calcolo stechiometrico dei ROS da produrre.

Nel 2009 avevamo iniziato ad utilizzare la liberazione di ROS in concentrazione di 5 mMoli per ottenere l'apoptosi degli adipociti. Quindi, una diluizione di questa soluzione poteva permetterci di attivare le cellule staminali quiescenti.

L'acido ascorbico, in presenza di ioni ferrici, attiva la reazione di Fenton con liberazione di ROS. Sulla base della reazione chimica descritta, è possibile calcolare, in maniera stechiometrica, la quantità di ROS liberati da una determinata quantità di acido ascorbico. Per l'apoptosi utilizziamo una concentrazione di 5 mMoli di acido ascorbico in soluzione ferrica, la diluizione di questa può farci ottenere la concentrazione giusta per attivare le cellule staminali quiescenti. Diluendo 60 mg per litro l'acido ascorbico otteniamo una concentrazione di ROS di 0,34 mMoli, utile e sufficiente ad attivare la differenziazione delle cellule staminali quiescenti.

L'iniezione della soluzione preparata consente l'attivazione e la differenziazione delle cellule staminali quiescenti in tutti i tessuti che vogliamo rigenerare. Il processo di differenziazione cellulare si completa nell'arco di 21 giorni. Questo consente di ottenere giovani cellule differenziate capaci di riportare il tessuto allo stato giovanile.

Dopo 21 giorni attiviamo la proliferazione e l'attività metabolica delle cellule neoformate con l'introduzione di fattori di crescita di derivazione piastrinica. Tutto ciò ci consente di ottenere un reale ringiovanimento tessutale.

Il protocollo attuale di rigenerazione cutanea prevede, quindi, prima l'attivazione differenziativa delle cellule staminali quiescenti e successivamente lo stimolo proliferativo e metabolico delle cellule neo formate.

Rigenerazione dei tessuti del volto

Il trattamento, raggiunta la normalizzazione volumetrica fisiologica, si ripete nel tempo sulla base della vita media delle cellule che compongono i diversi tessuti.

Per la **cute**, vista la vita media del fibroblasto di due mesi e la permanenza del collagene reticolare per sei - otto mesi, il trattamento viene ripetuto ogni sei mesi. Si inietta a tappeto e per via intradermica, nelle zone da rigenerare, una soluzione di acido ascorbico e ferro ferrico capace di produrre 0,34 mMoli di ROS. Dopo 21 giorni, ottenuta la differenziazione delle cellule staminali cutanee in nuovi fibroblasti, iniettiamo PDGF per ottenere la proliferazione e l'attivazione metabolica delle cellule neoformate. Ripetiamo il trattamento 2 volte l'anno.

Per il **grasso**, vista la vita media dell'adipocita di sei - nove anni, il trattamento, raggiunta la volumetria fisiologica, viene ripetuto dopo circa sei anni. Si inietta a tappeto e per via

sottocutanea, nelle zone da rigenerare, una soluzione di acido ascorbico e ferro ferrico capace di produrre 0,34 mMoli di ROS. Dopo 21 giorni, ottenuta la differenziazione delle cellule staminali in nuovi adipociti, si stimola ulteriormente la crescita adipocitaria con una soluzione lipogenetica. Questa, formata da una soluzione glucosata e da insulina rapida, consente un'iniziale ipertrofia adipocitaria, alla quale segue lo stimolo proliferativo e differenziativo delle cellule staminali con nuova iperplasia del tessuto. Ripetiamo il trattamento 3-4 volte l'anno.

Per il **muscolo**, vista la vita media del miocita di dieci - quindici anni, il trattamento, raggiunta la volumetria richiesta, viene ripetuto dopo 10 anni. Si inietta a tappeto e per via intramuscolare, nelle zone da rigenerare, una soluzione di acido ascorbico e ferro ferrico capace di produrre 0,34 mMoli di ROS. Dopo 21 giorni, ottenuta la differenziazione delle cellule staminali in nuovi miociti, iniettiamo PDGF per ottenere la proliferazione e l'attivazione metabolica delle cellule neoformate. Dopo trenta giorni, stimoliamo la sintesi proteica del muscolo e la tonificazione dello stesso iniettando una soluzione di aminoacidi ramificati e di colina. Gli aminoacidi ramificati (BCAA) esaltano la sintesi proteica, perché attivano il segnale mTORC1, essenziale per l'anabolismo muscolare. Un altro potenziale vantaggio dato dai BCAA il miglioramento del profilo ormonale anabolico, facilitando la crescita muscolare. La colina, quale precursore dell'acetilcolina, ottimizza la concentrazione di questo neurotrasmettitore, migliorando il tono muscolare. Inoltre, stimolando l'ossido d'azoto sintetasi, migliora l'irrorazione sanguigna muscolare.

Colina e BCAA vengono introdotti per via intramuscolare, una volta la settimana, per quattro volte. Il risultato si mantiene una volta al mese.

Per l'**osso**, vista la vita media dell'osteoblasto di 3 mesi, il trattamento viene ripetuto ogni tre - sei mesi, fino all'ottenimento del volume richiesto. Si inietta a tappeto, con ago perpendicolare a toccare il periostio, nelle zone da rigenerare, una soluzione di acido ascorbico e ferro ferrico capace di produrre 0,34 mMoli di ROS. Dopo 21 giorni, ottenuta la differenziazione delle cellule staminali in nuovi osteoblasti, iniettiamo del PDGF, mescolato con fosfato tricalcico (granuli sferici 30-40 micron di diametro) per ottenere la proliferazione e l'attivazione metabolica delle cellule neoformate in un ambiente osseo utile alla deposizione di collagene fibrotico. Ripetiamo il trattamento a distanza di 3 mesi, fino al risultato voluto.

Conclusioni

Il trattamento, definito come Full Face Rejuvenation, consente un completo ringiovanimento di tutti i tessuti del volto, riportando l'aspetto volumetrico estetico allo stato giovanile e ottimizzando lo stato biologico dei tessuti.

Bibliografia

1. *Abhishek Sohni and Catherine M. Verfaillie Mesenchymal Stem Cells Migration Homing and Tracking Stem Cells International Volume 2013 (2013), Article ID 130763, 8 pages*
2. *Ae-Ri Ji,1,* Seung-Yup Ku,1,2,* Myung Soo Cho,3 Yoon Young Kim,2 Yong Jin Kim,1 Sun Kyung Oh,2 Seok Hyun Kim,1,2 Shin Yong Moon,1,2 and Young Min Choicorresponding author1,2 Reactive oxygen species enhance differentiation of human embryonic stem cells into mesendodermal lineage Exp Mol Med. 2010 Mar 31; 42(3): 175-186.*
3. *Barbara Gunnella, Maurizio Ceccarelli Attivazione cellule staminali quiescenti The Physiologica Medical Letter Vol.XI September 2016 N°2*
4. *Carr A1, Frei B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? FASEB J. 1999 Jun;13(9):1007-24.*
5. *Dr. Scott P. Bruder David J. Fink Arnold I. Caplan, Mesenchymal stem cells in bone development, bone repair, and skeletal regeneration therapy, Journal of Cellular Biochemistry Volume 56, Issue 3*
6. *Elisa Carrasco, María I. Calvo, Alfonso Blázquez-Castro, Daniela Vecchio, Alicia Zamarrón, Irma Joyce Dias de Almeida, Juan C. Stockert, Michael R. Hamblin, Ángeles Juarranz, and Jesús Espada1, Photoactivation of ROS production in situ transiently activates cell proliferation in mouse skin and in the hair follicle stem cell niche promoting hair growth and wound healing J Invest Dermatol. 2015 Nov; 135(11): 2611-2622.*
7. *Francesco Saverio Tedesco, Arianna Dellavalle, Jordi Diaz-Manera, Graziella Messina and Giulio Cossu, Repairing skeletal muscle: regenerative potential of skeletal muscle stem cells, J Clin Invest. Volume 120, Issue 1 2010;120(1):11-19.*
8. *García Giménez J. Víctor - González Nicolás Alban J. Antonio Tratamiento del envejecimiento cutáneo mediante bioestimulación con factores de crecimiento autógenos International Journal Of Cosmetic Medicine And Surgery Volume 7 - numero 2 - 2005*
9. *John Tower Stress and stem cells Wiley Interdiscip Rev Dev Biol. 2012 Nov-Dec; 1(6): 10.1002/*
10. *Maurizio Ceccarelli J. Víctor García Full Face Regeneration: theoretical and practical protocol, The Physiologica Medical Letter Vol.2 May 2010 N°1*
11. *Maurizio Ceccarelli Trattamento delle adiposità localizzate per apoptosi degli adipociti The Physiological Medical Letter Vol.V December 2011 N°4*

12. Maurizio Ceccarelli, J.Victor Garcia Gimenez, J.Antonio Gonzales-Nicolas Albandea, STBA y STBA-FILL: tratamiento del envejecimiento cutaneo a partir de las proteinas plasmaticas, *Cosmetic Surgery Times*, Octubre 2012, Vol.3 N° 5
13. Mishra PJ, Banerjee D. Activation and differentiation of mesenchymal stem cells. *Methods Mol Biol.* 2011;717:245-53.
14. Tullia Maraldi, Cristina Angeloni, Elisa Giannoni and Christian Sell Reactive Oxygen Species in Stem Cells *Oxid Med Cell Longev.* 2015; 2015: 159080.
15. Valerie Horsley, Antonios O. Aliprantis, Lisa Polak, Laurie H. Glimcher and Elaine Fuchs NFATc1 balances quiescence and proliferation of skin stem cells *Cell.* 2008 Jan 25; 132(2): 299-310.
16. Zhuqing Qu-Petersen, Bridget Deasy, Ron Jankowski, Makato Ikezawa, James Cummins, Ryan Pruchnic, John Mytinger, Baohong Cao, Charley Gates, Anton Wernig, Johnny Huard, Identification of a novel population of muscle stem cells in mice, *JCB Home* » 2002 Archive » 28 May » 157 (5): 851