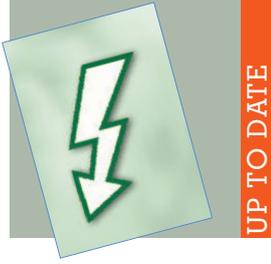


L. Milani



I GUNA COLLAGEN MEDICAL DEVICES 10 ANNI DOPO

– ANALISI RAGIONATA DI 2 RECENTI IMPORTANTI RICERCHE E UPDATE DELLA LETTERATURA

LA TRIPLA ELICA INTELLIGENTE

Il collagene (**COL**) è il biopolimero proteico strutturale più diffuso nei Tessuti connettivi animali; nell'uomo rappresenta il 25-30% di tutte le proteine (Schmidt & Burkhardt, 2001) ed il 6% della massa totale (Wu, 2011).

– Questa fibroproteina, che conferisce alle strutture anatomiche macroscopiche e microscopiche alta resilienza meccanica (trazione), incomprimibilità e tensilità, è prevalente nella cute e sottocute, tendini, capsule articolari, legamenti, cartilagini ed ossa.

Nel muscolo striato il COL è il maggior componente dell'endomisio (Light & Champion, 1984), connettivo areolare avvolgente ogni singola fibra muscolare, costituito principalmente da COL I e II (Fratzl, 2008; Saladin, 2012).

– La funzione del COL, oltre quella di strutturare, sostenere e stabilizzare l'impalcatura somatica (*scaffold*), è, inaspettatamente, anti-ossidante, come dimostrato *in vitro*; l'aggiunta di COL a cel-

lule in coltura aumenta l'attività degli enzimi anti-ossidanti come la SuperOssidoDismutasi (SOD), la Catalasi (CAT) e la Fosfolipid-Iperossido Glutation Perossidasi (GSH-Px) (Song *et al.*, 2017), prevenendo – così – il danneggiamento alle membrane cellulari operato dalle ROS - Specie Reattive dell'Ossigeno (Alemán *et al.*, 2011; Nakchum *et al.*, 2016).



Il COL I – da solo – costituisce il 90% ≈ di tutto il COL dei Vertebrati; attualmente sono conosciuti 29 tipi di COL (Söderhäll *et al.*, 2007), secondo differente composizione, prodotti da fibroblasti, cellule mesenchimali, epiteliali, endoteliali, condroblasti, osteoblasti ed odontoblasti (Hand & Ten Cate, 2006; Gartner & Hiatt, 2007; Shoulders & Raines, 2009).
– Per la sintesi di COL maturo sono necessarie 7 tappe intra- ed extra-cellulari, da Pre-procolla-

Collagen.

– Opera in acciaio e vetro di Julian Voss-Andreae - 2013, posizionata nel Campus della Rutgers University - Center for Integrative Proteomics Research, Piscataway - New Jersey, USA.

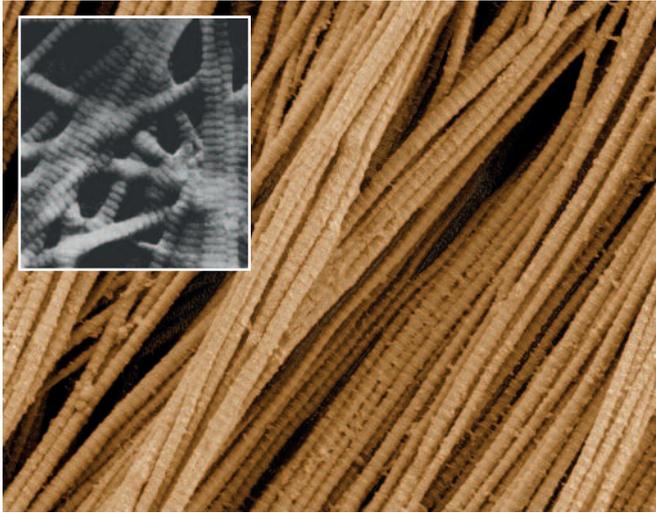


FIG. 1

Affastellamento ed allineamento delle fibre COL mature (ME).

Nell'inserto: ingrandimento TEM 150.000x di alcune fibre COL che esibiscono la caratteristica alternanza di bande chiare e scure dovuta allo slittamento di $\frac{1}{4}$ della fibrilla inferiore rispetto a quella superiore; dopo 4 slittamenti progressivi, la 5^a fibrilla è allineata alla 1^a.

– Nell'uomo, a partire dalla sesta decade di vita, tale struttura compatta inizia a deteriorarsi con conseguente impoverimento fibrillare.

gene (2 tappe) a Procollagene (3 tappe) a Tropocollagene (1 tappa) a Collagene *stricto sensu* (1 tappa).

Questa complessa ed articolata catena di eventi, ottimizzata in milioni di anni di evoluzione, può essere interrotta o alterata e determinare nell'uomo malattie genetiche gravi, come ad es. la Sindrome di Ehlers-Danlos (anomalo posizionamento e spaziatura delle fibrille COL), la Sindrome di Marfan (anomala produzione di Fibrillina 1), la Sindrome di Alport (difetto di sintesi di COL I e IV), la *Osteogenesis imperfecta* (difetto di sintesi di COL I); autoimmunità, come ad es. il LES e la Sclerosi sistemica e malattie acquisite come lo Scorbuto: tanti marinai del passato, nei loro viaggi transoceanici, hanno pagato con la vita la carenza alimentare di Vit. C (ac. L-ascorbico), strettamente necessaria per la sintesi – via Prolina – dell'Idrossiprolina e – via Lisina – dell'Idrossilisina: il loro Tropocollagene era incapace di aggregarsi in fibrille.

– Come tutte le altre molecole arcaiche, primitive, il COL atesta la fatale catena di causalità.

La sua forma a **tripla elica** destrorsa (le singole catene-eliche non coassiali sinistrorse si autoassemblano – intrecciandosi – grazie a forze chimiche deboli) (Ramachandran, 1955 *in* Bhattacharjee, 2005), la sua semplicità costitutiva (triplette ripetute di soli 5 aminoacidi variamente posizionati), la sua immutabilità biochimica (la struttura del COL è pressochè invariata dagli Invertebrati all'uomo) e la sua *intelligenza* strutturale e funzionale sono i garanti di una funzione perfetta; oltre a *costruire* il tendine, l'osso, ecc., il COL entra di diritto filogenetico anche nella composizione della matrice extra- ed intra-cellulare e del citoscheletro (Tomasek *et al.*, 1982; Qin *et al.*, 2018).

– La Natura ama gli schemi ed i moduli, e li ripete quando può e dove servono.

I glucocorticoidi sintetici, soprattutto fluorinati, pur assicurando alta attività anti-infiammatoria, frenano la sintesi di

COL *in vivo* ed in colture cellulari (Cutroneo *et al.*, 1981).

– Paradossalmente la classe di farmaci più prescritta nelle Collagenopatie – di fatto – indebolisce la neosintesi di COL, ipotecendo la propria efficacia nel tempo, creando un *loop* terapeutico vizioso sempre più arduo da dominare con successo.

- Nell'uomo il picco di biosintesi collagenica occorre tra i **40** e i **60 anni** di età (*plateau* collagenico) (*in* Heine, 2009) (FIG. 1); dalla sesta decade di vita si verifica rapidissima caduta, unitamente a quelle di Elastina e di Proteoglicani di matrice (dai 60 agli 80 anni: dimezzamento del *pool* collagenico totale).
- Tale caduta è controllata dai geni crono-dipendenti ad espressione tardiva che codificano per collagenasi [metalloproteinasie (peptidasie) di matrice = **MMPs** (già matrixine)] che prevalgono sui **TIMPs** (inibitori tissutali della metalloproteinasi), glicoproteine inibitrici le MMPs (Brew *et al.*, 2000) (FIG. 2).

I TIMPs, naturali inibitori delle MMPs e delle disintegrine-metalloproteinasie (Brew & Nagase, 2010), hanno funzione antiapoptotica e sono codificati da geni allocati sul cromosoma X. – Anche in questo, probabilmente, sta la ragione della maggiore longevità del genere femminile (allosomi XX) vs il genere maschile (Aviv *et al.*, 2005).

Sia l'ACTH (Reichenstein *et al.*, 2004), sia la IL-10 (Lacraz *et al.*, 1995), sia la IL-6 (Lotz & Guerne, 1991) stimolano il TIMP-1, attraverso l'inibizione delle MMPs.

- Si ricorda ed enfatizza che IL-6 svolge il duplice ruolo pro-infiammatorio ed anti-infiammatorio in dipendenza del contesto fisiologico o patologico e secondo il tessuto in cui opera.
- IL-6 modula la distruzione collagenica operata dalle MMPs; il suo incremento nella fase acuta dell'infiammazione fa sì che questa non si diffonda ulteriormente nel tessuto colpito, circoscrivendola tramite la *tenuta* del COL locale.

Nel rimodellamento collagenico, la discrepanza per cui i fenomeni di degradazione non sono adeguatamente compensati da quelli di sintesi, porta, dopo i 60 anni ≈, a perdita imponente delle strutture prevalentemente costituite da COL con conseguente indebolimento anatomico e funzionale (*crono-ageing* e malattie dell'Apparato locomotore *in primis*).

– L'invecchiamento è espressione dell'Infiammazione Cronica Sistemica di Basso Grado **Fisiologica** (*inflammageing*).

Le catene proteiche costituenti il COL sono massive e difficili da “creare” in laboratorio: ad oggi non è stato possibile sintetizzarle a motivo delle modificazioni post-traslazionali (Tanrikulu *et al.*, 2016), per problemi di simmetria (Schmitt *et al.*, 2009) e di stabilità (Fields, 2010). Il COL ad uso terapeutico deve essere estratto necessariamente da tessuti animali.

COLLAGENE PER OS? – QUALCHE DUBBIO MOTIVATO

Nonostante sia stato riportato che:

1) La supplementazione con COL idrolizzato per os x 8 settimane migliori la densità collagenica e l'idratazione cutanea (Proksh *et al.*, 2014; Choi *et al.*, 2014; Inoue *et al.*, 2016), e che tale effetto permanga per 3 mesi (Asserin *et al.*, 2015);
2) I pazienti con piaghe da decubito trattati con COL idrolizzato per os x 8 settimane ottengano risultati superiori al placebo nella riduzione dell'estensione delle piaghe (Lee *et al.*, 2006), questi dati [1) e 2)] non sono stati adeguatamente confermati e si riferiscono – entrambi e solo – a studi sulle strutture dell'Apparato tegumentario.

– Le evidenze non sono diverse per quanto concerne l'Apparato locomotore:

1) Una *review* comparativa ha valutato i dati di pubblicazione che includevano le parole chiave: collagene, artrosi, cartilagine, condrociti (Bello & Oesser, 2006). L'analisi critica di questi lavori evidenzia che il COL per os non aumenta statisticamente la sintesi di condrociti comparata vs placebo;
2) Una sperimentazione condotta x 6 mesi in 200 pazienti con dolore articolare trattati con COL idrolizzato (1200 mg/die) per os evidenzia la non superiorità di questo vs placebo. Si rilevi che il miglioramento sintomatologico di solo il 20% era già considerato dagli sperimentatori come efficace! (Bruyère *et al.*, 2012);
3) Uno studio prospettico, randomizzato, controllato vs placebo condotto c/o la *Pennsylvania State University* ha valutato gli effetti del COL idrolizzato in 147 atleti sofferenti di dolori articolari (Clark *et al.*, 2008).

Anche se furono ottenuti/e alcuni risultati a riposo, durante la marcia e *performance* migliori nel sollevamento di pesi, gli autori concludono che il *follow-up* è stato troppo breve;

4) Uno studio di efficacia e sicurezza comparate tra COL II e glicosamina + condroitina nel trattamento della gonartrosi in 50 soggetti ha dimostrato che COL II per os è superiore a glicosamina + condroitina, ma – comunque – di scarsa rilevanza clinica (-14% della sintomatologia) (Crowley *et al.*, 2009);

5) Una meta-analisi sull'uso terapeutico del COL idrolizzato (Van Vlijven *et al.*, 2012) ha concluso che, cito dall'inglese tradotto: “la qualità dell'evidenza terapeutica è bassa” e “la *review* conclude che non vi è evidenza sufficiente per raccomandare l'uso del collagene per os nella terapia dell'artrosi”.

Questi risultati non supportano sufficientemente l'ipotesi che l'assunzione di COL idrolizzato per os sia efficace per migliorare lo *status* cutaneo (idratazione, compattezza, rughe), né il dolore articolare, o, in altri studi, la Sindrome dell'intestino permeabile (Koutroubakis *et al.*, 2003), l'aumento della massa muscolare (Schunk *et al.*, 2015), il rafforzamento di unghie, capelli e denti (Hexsel *et al.*, 2017), alcune patologie cardiache (Krum *et al.*, 2011).

La dubbia possibilità del COL idrolizzato assunto per os di apportare effettivi benefici trova il proprio razionale nella struttura biochimica del COL.

– Il COL è costituito da lunghe catene proteiche di oltre 1400 aminoacidi. La sequenza base è formata da triplette di aminoacidi che iniziano **sempre** con l'aminoacido Glicina; gli altri 2 aminoacidi sono più frequentemente Prolina ed Idrossiprolina, meno frequentemente Lisina ed Idrossilisina.

- Nello stomaco, le cellule gastriche, grazie alla gastrina, secercono pepsina, che digerisce **qualsiasi** proteina o peptide introdotta/o per os portandola/o alla frammentazione di corte catene di 5-10 aminoacidi che – a propria volta – vengono scisse successivamente in singoli aminoacidi grazie alle endo- ed eso-proteasi intestinali di origine pancreatica.
- A livello intestinale i singoli aminoacidi o i di/tripeptidi vengono trasportati al fegato e – qui – utilizzati come tali o

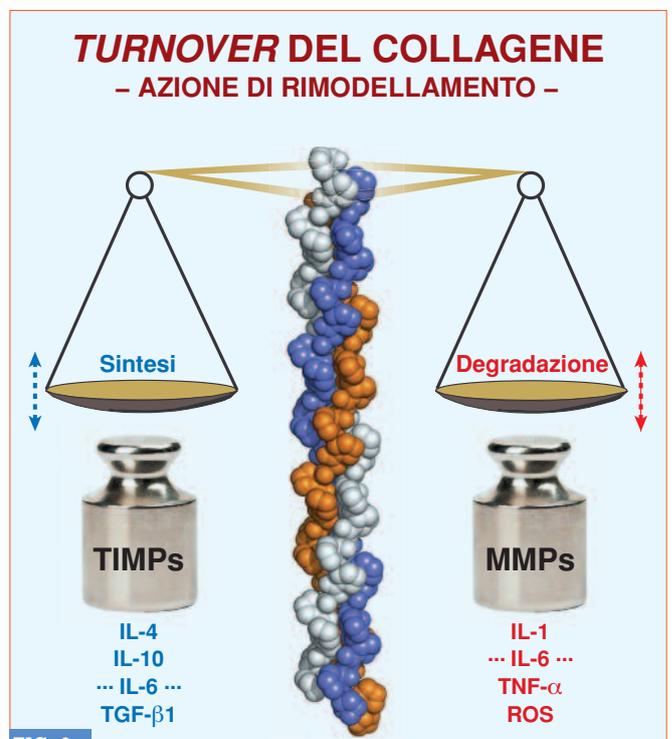


FIG. 2

Il bilanciamento tra sintesi e degradazione del COL è condizionato rispettivamente dalle CKs anti-infiammatorie e dalle CKs pro-infiammatorie e ROS. In condizioni di normalità e fino ai 60 anni \approx i 2 piatti mantengono un equilibrio stabile, garantendo un costante ed efficace rimodellamento del COL nei tessuti e nella matrice extra- ed intra-cellulare.

TAB. 1

Guna Collagen Medical Devices

Articoli pubblicati – Ordine cronologico

STUDI CLINICI		
PATOLOGIA	TITOLO AUTORE/I PUBBLICAZIONE/I	COLLAGEN MEDICAL DEVICE/S
Algie dell'Apparato locomotore	Un nuovo e raffinato trattamento iniettivo delle patologie algiche dell'Apparato locomotore. – Le proprietà bio-scaffold del collagene e suo utilizzo clinico. Milani L. – <i>La Med. Biol.</i> , 2010/3; 3-15. Tradotto in inglese A new and refined injectable treatment for musculoskeletal disorders. – Bioscaffold proprieties of collagen and its clinical use. – <i>Physiological Regulating Medicine</i> , 1/2010; 3-15.	Descrizione di tutti i Guna Collagen MDs
Condropsia femoro-rotulea	Patello-femoral chondropathy treated with MD-Knee + Zeel® T trasmitted with O₂ vs Nimesulide + chondroitin sulphate. Posabella G. – <i>Physiological Regulating Medicine</i> , 2011; 3-10. Tradotto in italiano Terapia della condropsia femoro-rotulea con MD-Knee + Zeel® T veicolati con propulsione di O₂ vs Nimesulide + condroitinsolfato. – <i>La Med. Biol.</i> , 2011/3; 3-11.	MD-Knee
Ageing della pelle del viso	Face revitalization – Biolifting with MD-Tissue. Falconi Klein E. – <i>Physiological Regulating Medicine</i> , 2012; 15-20.	MD-Tissue
Lombalgia	MD-Lumbar, MD-Muscle and MD-Neural in the treatment of low back pain. Pavelka K., Svobodová R., Jarošová H. – <i>Physiological Regulating Medicine</i> , 2012; 3-6. Tradotto in italiano MD-Lumbar, MD-Muscle and MD-Neural nella terapia locale del dolore lombare. – <i>La Med. Biol.</i> , 2012/4; 13-17.	MD-Lumbar MD-Muscle MD-Neural
Gonartrosi	Efficiency of collagen injections of Guna MD in patients with gonarthrosis, assessed clinically and by ultrasounds. Nesterova R., Rashkov R., Reshkova V., Kapandjieva N. – <i>Physiological Regulating Medicine</i> , 2012; 37-39.	MD-Knee MD-Matrix
Dolore vertebrale	Effectiveness of integrated medicine in the control of pain in vertebral disorders: Observational Study. Zocco R., Criscuolo S., Lorenzetti N., Senesi M. – <i>Physiological Regulating Medicine</i> , 2012; 41.	MD-Lumbar
Adiposità addominale	Acumesotherapy with Guna-Matrix in patients with localized abdominal adiposity. Elenkova S., Pozharashka J. – <i>Physiological Regulating Medicine</i> , 2012; 43.	MD-Matrix
Gonartrosi	Application and assessment of efficacy of collagen injections Guna MDs in gonarthrosis. Boshnakov D. – <i>Physiological Regulating Medicine</i> , 2013; 29-30.	MD-Knee MD-Muscle
Algie artro-reumatiche	I Collagen Medical Devices nel trattamento locale delle artro-reumopatie algiche. – Rassegna degli studi clinici e clinical assessment 2010-2012. Milani L. – <i>La Med. Biol.</i> , 2013/2; 3-18. Tradotto in inglese The Collagen Medical Devices in the local treatment of the algic arthro-rheumopathies. – Review of the clinical studies and clinical assessment 2010-2012. – <i>Physiological Regulating Medicine</i> , 2013, 21-36.	MDs corrispondenti
Coxartrosi	Intra-articular administration of MD-Hip in 7 patients affected by hip osteoarthritis unresponsive to viscosupplementation. Six-month multicenter trial. Migliore A., Massafra U., Bizzi E., Vacca F., Tormenta S. – <i>Physiological Regulating Medicine</i> , 2013; 31. Tradotto in italiano Somministrazione intra-articolare di MD-Hip in 7 pazienti con osteoartrosi dell'anca non responsivi alla viscosupplementazione. - Studio multicentrico della durata di 6 mesi. – <i>La Med. Biol.</i> , 2013/2; 13.	MD-Hip

PATOLOGIA	TITOLO AUTORE/ PUBBLICAZIONE	COLLAGEN MEDICAL DEVICE/S
Coxartrosi	Efficacy of injections MD-Hip and MD-Matrix in the treatment of coxarthrosis. – Clinical and ultrasonographic evaluation. Tivchev P. – <i>Physiological Regulating Medicine</i> , 2013; 31-32. Tradotto in italiano Efficacia delle iniezioni di MD-Hip e MD-Matrix nel trattamento della coxartrosi. – Valutazione clinica ed ecografica. – <i>La Med. Biol.</i> , 2013/2; 13-14.	MD-Hip MD-Matrix
Coxartrosi	Il ruolo del Medical Device-Hip nella terapia infiltrativa ecoguidata dell'artrosi di anca. Milano E. – <i>La Med. Biol.</i> , 2013/4; 13. Tradotto in inglese The role of MD-Hip in ultrasound-guided injection therapy in osteoarthritis of the hip. – <i>Physiological Regulating Medicine</i> , 2018; 3-8.	MD-Hip
Lesioni muscolo-scheletriche	La gestione biologica dell'atleta: medicinali omotossicologici e Collagen Medical Devices. Alfieri N. – <i>La Med. Biol.</i> , 2013/4; 27-32.	MD-Muscle MD-Shoulder
Osteoartrosi	Trattamento delle patologie articolari con Collagen Medical Devices. – Studio clinico su 257 pazienti. Ottaviani M. – <i>La Med. Biol.</i> , 2014/3; 11-21. Tradotto in inglese Treatment of joint conditions with Guna Collagen Medical Devices. – Clinical study on 257 patients. – <i>Physiological Regulating Medicine</i> , 2018; 2018; 18-25.	MDs corrispondenti
Gonartrosi	A double blind randomized active-controlled clinical trial on the intra-articular use of MD-Knee versus sodium hyaluronate in patients with knee osteoarthritis ("Joint"). Martin Martin L.S., Massafra U., Bizzi E., Migliore A. – <i>BMC Musculoskeletal Disorders</i> , 2016; 17:94.	MD-Knee
Dolore cronico	Collagen MDs for Chronic Pain. Efficacy and tolerability in chronic treatment in 124 patients. Guitar Vela J., Folch Ibáñez J. – <i>Physiological Regulating Medicine</i> , 2016-2017; 9-12.	MD-Lumbar MD-Ischial MD-Muscle MD-Neural
Tendinite di spalla	Collagen Medical Device infiltrations in shoulder pathologies. Calcific supraspinatus tendinitis. Zurita Uroz N. – <i>Physiological Regulating Medicine</i> , 2016-2017; 15-17.	MD-Shoulder
Sindrome del muscolo piriforme	3 years in Luhačovice Spa with Collagen Medical Devices injections in the treatment of Piriformis Syndrome. Staňa J. – <i>Physiological Regulating Medicine</i> , 2016-2017; 19-20.	MD-Matrix MD-Muscle
Sindrome miofasciale	MD-Muscle in the management of myofascial pain syndrome. Alfieri N. – <i>Physiological Regulating Medicine</i> , 2016-2017; 23-24.	MD-Muscle
Gonartrosi	Efficacy and safety evaluation of Guna Collagen MDs injections in knee osteoarthritis. – A case series of 30 patients. Reshkova V., Rashkov R., Nesterova R. – <i>Physiological Regulating Medicine</i> , 2016-2017; 27-29.	MD-Knee MD-Muscle
Coxartrosi	Intra-articular administration of MD-Hip in 24 patients affected by symptomatic hip osteoarthritis. – A 24-month cohort study. Giovannangeli F., Bizzi E., Massafra U., Vacca F., Tormenta S., Migliore A. – <i>Physiological Regulating Medicine</i> , 2016-2017; 31-32.	MD-Hip
Sindrome della cuffia dei rotatori	Clinical and sonographic assessment of the effectiveness of Guna Collagen MDs injections in patients with partial thickness tear of the rotator cuff. Nesterova R., Rashkov R., Petranova T. – <i>Physiological Regulating Medicine</i> , 2016-2017; 35-37.	MD-Shoulder MD- Muscle
Gonalgia	Usefulness of Guna Collagen Medical Devices in the treatment of knee pain. Mariconti P. – <i>Physiological Regulating Medicine</i> , 2016-2017; 39-40.	MD-Knee MD-Matrix

PATOLOGIA	TITOLO AUTORE/ PUBBLICAZIONE	COLLAGEN MEDICAL DEVICE/S
Lombalgia	Injectable Guna Collagen Medical Device in functional recovery from sport traumatology. – Case Reports Massullo C. – <i>Physiological Regulating Medicine</i> , 2016-2017, 3-7. Tradotto in italiano I Guna Collagen Medical Device nella ripresa funzionale dopo traumi sportivi. – Case Reports – <i>La Med. Biol.</i> , 2017/2; 45-50.	MD-Lumbar MD-Matrix MD-Muscle
Dolore osteo-articolare di spalla e di ginocchio	Associazione di Collagen MDs e Chelt Terapia nel dolore osteo-articolare di spalla e di ginocchio. Feninno D., Bonacina A. – <i>La Med. Biol.</i> , 2017/2; 37-42.	MD-Shoulder MD-Knee
Rizoartrosi del pollice	Rizartrosi e omeosiniatria. Efficacia di Zeel® T e di MD-Small Joints a confronto. Bernardini G. – <i>La Med. Biol.</i> , 2018/2; 15-23.	MD-Small Joints
Lombalgia	Chronic Low Back Pain: Current Pharmacotherapeutic Therapies and a New Biological Approach. Pavelka K., Jarosova H., Sleglova O., Svobodova R., Votavova M., Milani L., Prochazka Z., Kotlarova L., Kostiuk P., Sliva J., Meroni A.M. – <i>Current Medicinal Chemistry</i> , 2018 May 13, 25: 1-8.	MD-Lumbar MD-Muscle MD-Neural
Dolore miofasciale del muscolo massetere	Comparison between Collagen and Lidocaine Intramuscular Injections in Terms of Their Efficiency in Decreasing Myofascial Pain within Masseter Muscles: a Randomized, Single-Blind Controlled Trial. Nitecka-Buchta A., Walczynska-Dragon K., Batko-Kapustecka J., Wieckiewicz M. – <i>Pain Research and Management</i> , 2018; 1-10.	MD-Muscle

STUDIO PRECLINICO

COLLAGEN MEDICAL DEVICE	TITOLO AUTORI PUBBLICAZIONE	STUDIO
MD-Tissue	Effect of Collagen-Based Compound on Morpho-Functional Properties of Cultured Human Tenocytes. Randelli F., Menon A., Giai Via A., Mazzoleni M.G., Sciancalepore F., Brioschi M., Gagliano N. – <i>Cells</i> , 2018 Dic; (246) 7: 8-14.	Studio <i>in vitro</i>

NOTA

- I lavori pubblicati in *La Medicina Biologica* sono consultabili integralmente in: www.medibio.it → **La Medicina Biologica**
- I lavori pubblicati in *Physiological Regulating Medicine* e in altre testate internazionali sono consultabili integralmente in: <https://collagenmd.guna.com>

partecipano alla sintesi *de novo* di proteine o – se in eccesso – convertiti in grasso o utilizzati a scopi energetici (gluconeogenesi) (Kumar & Gill, 2018).

► Prolina e Glicina **non sono** aminoacidi “essenziali”, ovvero possono essere normalmente sintetizzate dall’organismo; inoltre non sono aminoacidi “rari”, essendo comunemente presenti in alimenti di facile accesso:

– Prolina in formaggi/latticini, carne di manzo, maiale, pollo, pesce/frutti di mare, legumi, cereali, farina, pasta, frutta secca;
– Glicina in pesce/frutti di mare, carne di maiale, verdura, ecc.

► Lisina è aminoacido essenziale; tuttavia è facilmente reperibile nella carne di manzo, in alcuni pesci (merluzzo, sardine), pollame, formaggi/latticini, uova, legumi.

Il deficit fisiologico crono-dipendente di neosintesi collagene

non è dovuto alla carenza di aminoacidi costitutivi il COL, bensì al silenziamento progressivo di alcuni geni *template* per TIMPs che si avvia a partire dai 60 anni ≈.

– Non manca la materia prima; sono i geni di **controllo anabolico** del rimodellamento del COL a venir meno.

Non mancano i mattoni... è assente il muratore o – se presente – stenta a comprendere le indicazioni dell’ingegnere muto.

L’IPERMObILITÀ ARTICOLARE

L’ipermobilità articolare (**IA**) benigna (o comune) (Grahame *et al.*, 1992; Bird, 1993), provocata da **lassità legamentaria**, rappresentando la parte superiore di una distribuzione gaussiana del normale *range* di mobilità di una articolazione in

considerazione dell'età, genere e *background* etnico, decresce con l'età (Silverman *et al.*, 1970).

Studi epidemiologici hanno evidenziato che l'IA, in dipendenza dei criteri adottati, è presente nel 25% degli individui nella popolazione caucasica (Al-Rawi *et al.*, 1985; Birrell *et al.*, 1994).

– Per alterazioni parziali – anche minori – della Fibrillina, che svolge un ruolo importante nell'aggregazione delle fibre elastiche, molti bambini ed adulti con lassità legamentaria (Biro *et al.*, 1983; Bridges *et al.*, 1992) sviluppano, con il passare del tempo, artralgie ed artrosi (Beighton *et al.*, 2012).

L'IA si manifesta prevalentemente nelle articolazioni prossimali e distali interfalangee, metacarpo-falangee, tibio-tarsica (Grahame & Jenkies, 1972) e del rachide (prolasso discale, spondilolistesi).

Anche con il progredire dell'età, tutto il COL costituente le strutture **peri-articolari** (legamenti, capsule, tendini, muscoli) ed **intra-articolari** (legamenti solo nelle grosse articolazioni) subisce importanti variazioni quali-quantitative, per cui i capi ossei articolari risultano maggiormente mobili lungo i piani di escursione, non saldamente tenuti *in situ*.

L'ipermobilità delle articolazioni porta ad appoggi anomali con conseguente infiammazione – prima – e degenerazione – poi – della cartilagine articolare, *primum movens* verso la degenerazione artrosica. In buona sintesi: lo scorretto posizionamento di due capi articolari contigui formanti un'articolazione secondo quanto stabilito dalla biomeccanica fisiologica provoca **usura**, **dolore** e **difficoltà di movimento**.

Vi è forte evidenza che l'IA sia un importante fattore di patogenesi di artrosi (Grahame, 1989; Grahame *et al.*, 1992; Jonsson *et al.*, 1996) per *overuse* meccanico dovuto al mancato "allineamento" normale dei capi ossei contigui per **lassità** della **capsula articolare** e dei **legamenti** extra ed intra-articolari.

- È – questo – un concetto cruciale da considerare attentamente.
- Questo stesso concetto è già stato oggetto di trattazione in un elaborato dello scrivente (Milani, 2013) a cui rimando per ulteriori definizioni e dettagli.

I FANS ed i DMARDs – comunque li si consideri – possono essere efficaci per migliorare la sintomatologia algica, ma a nulla servono per migliorare la buona *tenuta* di un'articolazione, il suo assetto, la sua stabilizzazione.

– Limitarsi alla prescrizione sintomatica senza tener conto dell'origine causale di una patologia mutila l'atto medico di una componente fondamentale e non esita in risultati stabili.

I GUNA COLLAGEN MEDICAL DEVICES

Dalla presentazione ed introduzione in terapia iniettiva peri-, intra-articolare e nei tessuti molli dei Guna *Collagen Medical Devices* (MDs) (Milani, 2010) sono stati condotti, sull'azione terapeutica di questi prodotti nelle diverse patologie che interessano – soprattutto – l'Apparato osteo-artro-miofasciale, **28 trials clinici** di qualità, pubblicati anche in Riviste internazionali a revisione paritaria (*peer review*), indexate e ad alto fattore d'impatto (*BMC Musculoskeletal Disorders, Pain Research and Management, Current Medicinal Chemistry*) (TAB. 1).

– In più della metà di queste pubblicazioni (16 su 28) (TAB. 1), gli autori indicano l'associazione terapeutica tra 2 o più MDs (es. nel Dolore lombare cronico: Pavelka *et al.*, 2012, 2018).

- Di seguito, vengono riportate nelle caratteristiche salienti e in analisi ragionata, 2 importanti ricerche di recente pubblicazione, la prima clinica, la seconda di base (preclinica), sulle proprietà terapeutiche e biologiche di 2 Guna *Collagen* MDs: **MD-Muscle** e **MD-Tissue**.

Nitecka-Buchta A., Walczynska-Dragon K., Batko-Kapusteccka J., Wieckiewicz M.

Comparison between Collagen and Lidocaine Intramuscular Injections in Terms of Their Efficiency in Decreasing Myofascial Pain within Masseter Muscles: A Randomized, Single-Blind Controlled Trial [Confronto di efficacia tra iniezioni intramuscolari di Collagene e di Lidocaina nella diminuzione del dolore miofasciale del muscolo massetere: studio clinico randomizzato, monocieco, controllato].

– *Pain Research and Management*, Volume 2018, Article ID 8261090. 10 pagine.
Pubblicazione: 3 Giugno 2018.

– Autori - Sedi operative
Nitecka-Buchta A., Walczynska-Dragon K., Batko-Kapusteccka J.: Dipartimento Disordini Temporomandibolari, Unità SMDZ Zabrze - Università Medica della Slesia, Katowice, Polonia;
Wieckiewicz M.: Dipartimento di Odontoiatria Sperimentale, Facoltà di Odontoiatria - Università Medica di Breslavia, Polonia.

1) Premessa

La sindrome prevalente del dolore miofasciale è determinata da *trigger points*, noduli duri, palpabili, localizzati e dolenti

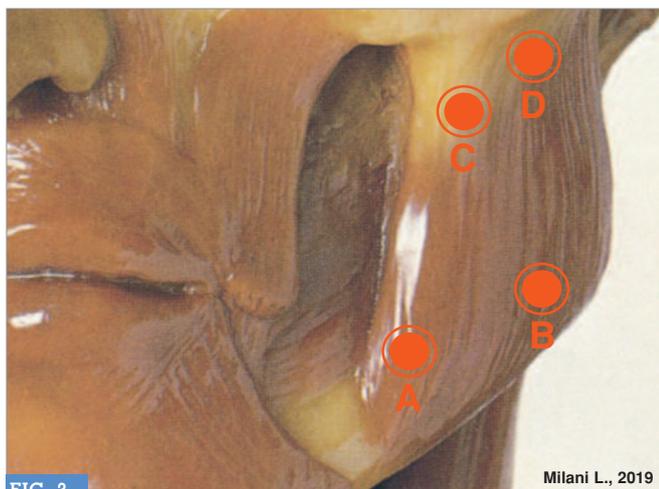


FIG. 3

Milani L., 2019

Muscolo massetere – Trigger Points (TPs). I TPs del m. massetere possono proiettare il dolore: **A** – alla mandibola; **B** – all’orecchio (meato uditivo esterno); **C** – alla mascella; **D** – all’orbita ed in regione frontale. – Nella sindrome miofasciale del m. massetere sono generalmente coinvolti 1-2 TP/s, più frequentemente il TP all’angolo mandibolare (**B**).

alla digitopressione media. Il danno anatomico è caratterizzato da lesione dei miofilamenti e del sarcolemma.

Il danno funzionale è caratterizzato da ipossia locale e liberazione di mediatori pro-infiammatori (bradichinina, catecolamine, neuropeptidi, citochine) con dolore persistente ed infiammazione. Alcuni *trigger points* ravvicinati si aggregano in aree di miogelosi, in cui il livello di O₂ è estremamente basso, con diminuzione di ATP.

– La Lidocaina cloridrato 2% è comunemente utilizzata in infiltrazione locale per blocchi nervini ed analgesia dei tessuti superficiali; il meccanismo d’azione consiste nel blocco dei canali del Na⁺ nella membrana cellulare.

Nella terapia dei *trigger points* viene impiegata senza vasocostrittore per il rischio di necrosi ischemica.

La durata dell’effetto analgesico varia da 30 minuti a 3 ore.

2) Scopo dello studio

– Valutazione dell’efficacia delle iniezioni i.m. locali di *Collagen Medical Device Muscle (MD-Muscle)* o di *Lidocaina* per la riduzione del dolore provocato da *trigger points* del muscolo massetere (FIG. 3).

3) Materiali e Metodi

3-1 Partecipanti

Da un gruppo di 102 pazienti caucasici afferiti al Dipartimento Disordini Temporomandibolari - Università Medica della Slesia, Katowice, Polonia sono stati individuati ed inclusi nel-

lo studio 50 pazienti che presentavano dolore miofasciale cronico del m. massetere da 8,5 mesi (media).

3-2 Criteri d’inclusione

- (1) Età ≥18 e ≤80;
- (2) Presenza di dolore miofasciale del m. massetere secondo i Criteri Diagnostici dei Disturbi Temporo-mandibolari (DC/TMD) (II.1.A. 2 e 3) (Peck *et al.*, 2014);
- (3) Presenza di *trigger points* latenti o attivi nel/nei m./mm. massetere/i rilevati alla digitopressione;
- (4) Consenso dei pazienti all’inclusione.

3-3 Criteri di esclusione

- (1) Pazienti sottoposti a trattamento ortodontico;
- (2) Pazienti in corso di trattamento con o dipendenti da farmaci analgesici e/o farmaci che influenzano la funzione muscolare;
- (3) Pazienti che hanno subito traumi in regione cervicale e/o cefalica nei 2 anni precedenti;
- (4) Pazienti edentuli e pazienti con contatti occlusali senza supporti delle arcate;
- (5) Pazienti trattati da specialista neurologo per disturbi neurologici e/o dolore neuropatico e/o cefalea;
- (6) Pazienti dopo radioterapia;
- (7) Dolore odontogeno;
- (8) Gravidanza o allattamento;
- (9) Neoplasie maligne;
- (10) Gravi disturbi mentali;
- (11) Dipendenza da droghe e/o alcol;
- (12) Controindicazioni alla terapia iniettiva;
- (13) Pazienti agofobici;
- (14) Ipersensibilità alle sostanze previste nello studio.

I 50 pazienti sono stati suddivisi secondo randomizzazione semplice computerizzata in 3 Gruppi: 1) Gruppo I – MD-Muscle = 18; 2) Gruppo II – Lidocaina = 15; 3) Gruppo III – Soluzione fisiologica = 17. Dopo l’assegnazione, 7 pazienti hanno rifiutato la partecipazione allo studio. Conseguentemente, i 3 Gruppi si sono ridimensionati (**43 pz**) come segue (TAB. 2):

- Gruppo I – Gruppo sperimentale *verum* – **Collagen MD-Muscle**, 2 ml = **15 pz** (5 M, 10 F), età media 37,2 ± 4,97 aa;
- Gruppo II – Gruppo controllo *verum* – **Lidocaina 2%**, 2 ml = **13 pz** (5 M, 8 F), età media 42,8 ± 0,98 aa;
- Gruppo III – Gruppo controllo neutro – **Soluzione fisiologica**, 2 ml = **15 pz** (7 M, 8 F), età media 40,3 ± 1,18 aa.

Le 3 sostanze oggetto di sperimentazione venivano iniettate nel/nei *trigger point/s* rilevato/i [monolaterali (40 pz), bilaterali (3 pz)] da un unico medico sperimentatore arruolato.

I pazienti non sono stati informati circa quale sostanza sarebbe stata loro iniettata.

– Lo studio era disegnato in 4 *step*: (1) *screening* per la partecipazione allo studio ed inclusione; (2) *baseline* - prima inie-

TAB. 2

Caratteristiche dei 43 partecipanti con TP (o TPs) del muscolo massetere inclusi nello studio.

	Gruppo I	Gruppo II	Gruppo III
M/F (n°)	5/10	5/8	7/8
Età (anni)	37.2 ± 4.97	42.8 ± 0.98	40.3 ± 1.18
Durata del dolore miofasciale (settimane), media (DS)	30.2 ± 31.48	34.3 ± 29.26	38.3 ± 26.47
Coinvolgimento bilaterale del dolore miofasciale	2	1	0

zione; (3) 1° follow-up e seconda iniezione; (4) 2° follow-up. Il periodo intercorrente tra (2), (3) e (4) era di una settimana (giorni 0, 7 e 14).

4) Misurazione degli esiti del trattamento

– Scala Analogica Visiva (VAS 1-10) - giorni 0, 7 e 14.

Outcome primario.

– Elettromiografia di superficie (EMGs) - giorni 0, 7 e 14.

Outcome secondario.

4-1 VAS

La riduzione media dell'intensità del dolore ai giorni 7 e 14 è stata (FIG. 4, TAB. 3):

– **Gruppo I** – MD-Muscle = -4.3 (-53.75%).

Da 8 (baseline) a 4.6 (a 7 gg) a 3.7 (a 14 gg).

– **Gruppo II** – Lidocaina 2% = -2.3 (-25%).

Da 8.3 (baseline) a 7.4 (a 7 gg) a 6 (a 14 gg).

– **Gruppo III** – Soluzione fisiologica = -1.63 (-20.1%).

Da 8.13 (baseline) a 6.8 (a 7 gg) a 6.5 (a 14 gg).

N.d.a.

A) Si rilevi come, diversamente dalla Lidocaina, MD-Muscle sia molto efficace già a 7 gg dopo la prima iniezione, riducendo del 40% la sintomatologia algica, ulteriormente ridotti dopo la seconda iniezione.

B) Non deve stupire la relativa sovrapposibilità dei risultati tra Lidocaina e Soluzione fisiologica sia a 7 gg, sia a 14 gg, poiché la Lidocaina produce effetto analgesico che si esaurisce al massimo entro 3 ore dall'avvenuta iniezione.

Al giorno 14, la differenza VAS è di -2.3 per Lidocaina e di -1.63 per Soluzione fisiologica.

C) Non deve stupire che anche la Soluzione fisiologica produca modesto effetto analgesico se iniettata in un trigger miofasciale: l'effetto analgesico – in questo caso – non è dovuto alla Soluzione fisiologica per sé, bensì all'effetto meccanico ed alla stimolazione delle fibre nervose Aδ e c che l'infissione di un ago in un trigger point produce (Milani, 2003, 2004).

D) MD-Muscle è più efficace del doppio rispetto alla Lidocaina 2% (-53.75% vs -25.0%).

4-2 EMGs

La riduzione media dei voltaggi registrati ai giorni 7 e 14 è stata (FIG. 5, TAB. 4):

– **Gruppo I** – MD-Muscle = -32.9 μV (-59.2%).

Da 56.6 μV (baseline) a 32.6 μV (a 7 gg) a 23.7 μV (a 14 gg).

– **Gruppo II** – Lidocaina 2% = -23.5 μV (-39.3%).

Da 59.9 μV (baseline) a 42.4 μV (a 7 gg) a 36.4 μV (a 14 gg).

– **Gruppo III** – Soluzione fisiologica = -8.9 μV (-14%).

Da 64.1 μV (baseline) a 60.2 μV (a 7 gg) a 55.2 μV (a 14 gg).

N.d.a.

A) I valori μV EMGs riportati sono i valori medi di 3 misurazioni.

B) Le differenze % dei valori EMGs nei Gruppi I e II rispecchiano quelle dei valori VAS negli stessi Gruppi (vedi sopra).

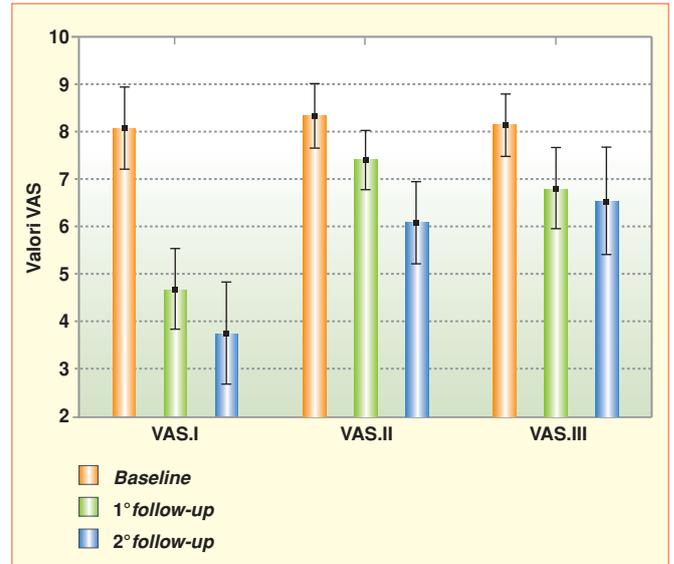


FIG. 4

VAS – Istogrammi. Variazioni dei valori medi nei Gruppi I, II e III durante lo studio (giorni 0, 7, 14).

Visita	Gruppo I	Gruppo II	Gruppo III
Baseline	8	8.3	8.13
Visita 1° follow-up	4.6	7.4	6.8
Visita 2° follow-up	3.7	6	6.5
Variazioni VAS	-4.3	-2.3	-1.63
Percentuali variazioni VAS	-53.75%	-25%	-20.1%

TAB. 3

VAS – Variazioni dei valori medi nei Gruppi I, II e III dopo 14 giorni.

C) Nello studio sono stati riportati anche i valori EMGs dello stesso muscolo del lato asintomatico in 40 pazienti [dati riportati in TAB. 4 (NP)].

5) Effetti collaterali

Circa 30 minuti dopo l'iniezione di MD-Muscle nel/nei trigger point/s rilevato/i nel/nei m./mm. massetere/i, i pazienti hanno riferito sensazione di dolenzimento all'apertura della bocca, lieve sensazione di rigonfiamento locale e lieve rigidità muscolare locale. Dopo circa 1 ora tutti questi sintomi sono scomparsi.

In 9 pazienti su 43 (21%) sono comparsi piccoli ematomi dopo l'iniezione nel/nei punto/i di introduzione dell'ago.

Tutti questi effetti sono stati temporanei e completamente reversibili.

Durante lo studio non si sono verificati effetti avversi gravi.

6) Discussione

Le iniezioni di MD-Muscle, Lidocaina e Soluzione fisiologica nel/i trigger point/s del/i m./mm. massetere/i nel trattamento per la riduzione del dolore miofasciale dello stesso hanno prodotto risultati diversi nei 3 Gruppi.

– I risultati migliori sono stati raggiunti nel Gruppo I – MD-

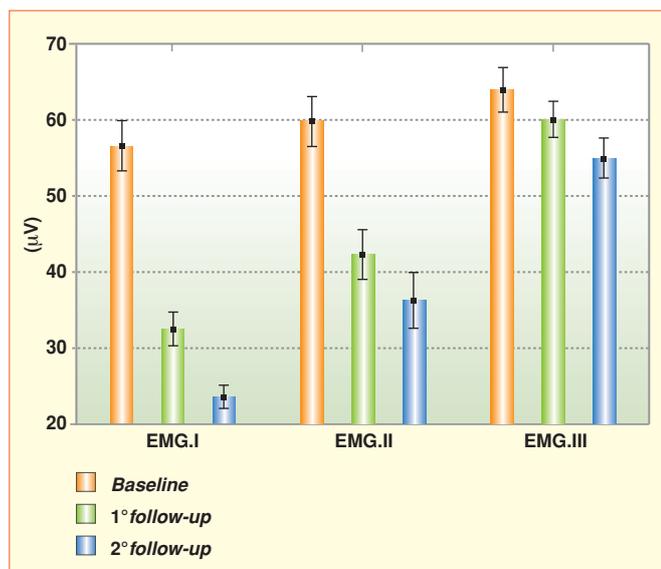


FIG. 5
EMGs – Istogrammi. Variazioni dei valori medi nei Gruppi I, II e III durante lo studio (giorni 0, 7, 14).

Visita	Gruppo I (µV)	Gruppo II (µV)	Gruppo III (µV)
Lato dolente			
Baseline	56.6	59.9	64.1
Visita 1° follow-up	32.6	42.4	60.2
Visita 2° follow-up	23.7	36.4	55.2
Variazioni EMGs	- 32.9	- 23.5	- 8.9
Percentuali variazioni EMGs	- 59.2 %	- 39.3 %	- 14 %
Lato non dolente (NP)			
Baseline	34.3	38.7	36.6
Visita 1° follow-up	34.6	39.2	34
Visita 2° follow-up	35.2	37.7	36.5
Variazioni EMGs	+ 0.9	- 1	- 0.1
Percentuali variazioni EMGs	+ 2.6 %	- 2.5 %	- 0.3 %

TAB. 4
EMGs – Variazioni dei valori medi nei Gruppi I, II e III dopo 14 giorni.

Muscle: migliori risultati antinocicettivi (riduzione VAS -4.3 = -53.75%) e riduzione dei valori EMGs (-32.9 µV = -59.2%).

Conclusione degli Autori

“Lo studio ha dimostrato che l’iniezione intramuscolare di MD-Muscle nel muscolo massetere è più efficace rispetto all’iniezione intramuscolare di Lidocaina”.

Bibliografia della citazione nel testo originale
 – Peck C.C., Goulet J.P., Lobbezoo F. et Al. – Expanding the taxonomy of the diagnostic criteria for temporomandibular disorders. Journal of Oral Rehabilitation, vol. 41, no. 1, pp. 2-23; 2014.

Randelli F., Menon A., Gai Via A., Mazzoleni M., Sciancalepore F., Brioschi M., Gagliano N.

Effect of a Collagen-Based Compound on Morpho-Functional Properties of Cultured Human Tenocytes [Effetti di un composto a base di collagene sulle proprietà morfo-funzionali dei tenociti umani in cultura].

– *Cells*, 2018, 7, 246; doi: 10.3390/cells7120246. 14 pagine.
 Pubblicazione: 6 Dicembre 2018.

– Autori - Sedi operative
 Randelli F., Gai Via A., Mazzoleni M., Brioschi M.: Centro di Chirurgia dell’Anca e Traumatologia - I.R.C.C.S Policlinico San Donato (San Donato Milanese, Milano);
 Menon A., Sciancalepore F.: Azienda Socio Sanitaria Territoriale Centro Specialistico Ortopedico Traumatologico Gaetano Pini-CTO, 1ª Clinica Ortopedica, Milano;
 Gagliano N.: Dipartimento di Scienze Biomediche per la Salute - Università degli Studi di Milano.

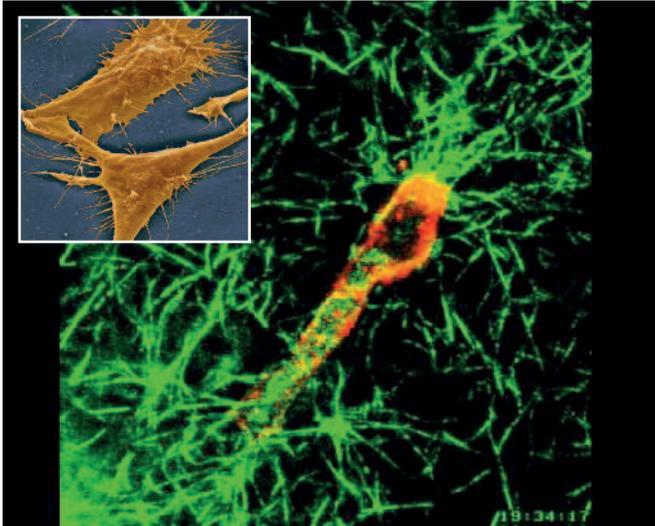
Il lavoro è stato presentato al:
 – XXIX Congresso Nazionale A.M.I.O.T. Bologna, 30 Giugno 2018;
 – 72° Congresso della Società Italiana di Anatomia e Istologia. Parma, 20-22 Settembre 2018;
 – Congresso Mondiale dell’*International Society for Hip Arthroscopy* (ISHA). Melbourne, Australia, 4-6 Ottobre 2018.

1) Premessa

I tessuti appartenenti all’Apparato osteo-artro-miofasciale, in particolare i tessuti molli e – tra questi – soprattutto le capsule articolari, i legamenti ed i tendini, vanno incontro – nel corso di vita – a sovraccarico funzionale, infortunio ed invecchiamento → infiammazione → dolore → **evoluzione degenerativa** e conseguenti **alterazioni funzionali**.

2) Collagene - Metabolismo

Per il fisiologico *turnover* del COL è necessario che la sua degradazione per opera delle Metalloproteinasi di Matrice (**MMPs = Matrix Metallo Proteinases**) sia regolata dagli Inibitori Tissutali delle Metalloproteinasi (**TIMPs = Tissue Inhibitors of Metallo Proteinases**) (vedi anche p. 4, Il colonna).
 – Tale regolazione omeostatica-fisiologica permette all’organismo di poter disporre di COL efficiente sempre nuovo: la biosintesi deve essere lievemente prevalente sulla biodegradazione. Quando l’azione delle MMPs è prevalente su quella dei TIMPs, come avviene fisiologicamente a partire da ≈ 60 anni d’età, si produce evoluzione del quadro patologico verso la degradazione tissutale. Le MMPs sono controllate dalle citochine pro-infiammatorie e dalle ROS (*Reactive Oxygen Species = Speci Reattive dell’Ossigeno*), i TIMPs sono regolati dalle citochine anti-infiammatorie (FIG. 2).



È – ancora una volta – il buon “equilibrio” dei citotipi Th1/Th2 della bilancia immunitaria a regolare la sintesi e la degradazione del COL.

3) Tendine - Istologia

Gli elementi costitutivi il tendine sono essenzialmente

1) fibre COL I; 2) matrice extra-cellulare, ricca in Glicosaminoglicani (GAGs) e in Proteoglicani (PGs).

– La particolare struttura del COL fornisce al tendine la forza tensiva, mentre la matrice extra-cellulare è il supporto (*scaffold*) alle fibre COL.

Tra le fibre COL si osservano elementi cellulari, i **tenociti** (fibrociti dalla morfologia triangolare o – più frequentemente – allungata e frastagliata), promotori della sintesi della matrice e del Pre-procollagene (FIG. 6).

Il COL viene assemblato dapprima in Tropocollagene che si unisce a formare fibrille, fibre, fascicoli di I, II e III ordine ed, infine, il tendine.

Il COL viene sintetizzato all’interno dei tenociti ed assemblato all’esterno di essi, reso – così – disponibile ai tessuti.

4) Scopo dello studio

Valutazione *in vitro* degli effetti di **MD-Tissue** sui tenociti umani, per la comprensione dei meccanismi molecolari che sottendono l’azione di questo *Medical Device* e – quindi – **come** esso possa agire sull’omeostasi e la riparazione del tendine.

5) Citotipo sperimentale

Colture cellulari di **tenociti umani** differenziati ottenuti da frammenti bioptici di tendine sano del muscolo piccolo gluteo prelevati a 8 pazienti volontari (4M, 4F; età $64,8 \pm 7,2$ anni), sottoposti ad intervento chirurgico di protesi d’anca. I tenociti sono stati coltivati:

A) su piastre contenenti uno strato sottile di MD-Tissue (*coating*), oppure

B) su piastre non contenenti MD-Tissue [controllo *no coating* (NC)].

FIG. 6

Fibroblasto e fibre COL (verde).

– In dipendenza dalla struttura anatomica che accoglierà le fibre COL neoformate, queste possono disporsi senza un ordine prestabilito apparente, come nella matrice extra-cellulare o secondo precisi allineamenti, come nelle fasce muscolari, nei legamenti e nei tendini.

– Nelle capsule articolari le fibre COL tendono a disporsi a “rete”, rinforzando e stabilizzando l’articolazione.

6) Parametri investigati

6-1 Proliferazione cellulare (FIG. 7)

I tenociti coltivati su MD-Tissue proliferano (numero di tenociti/24 h) a 72 h di incubazione: tenociti + MD-Tissue = da 100 a 200 (+100%); tenociti senza MD-Tissue = da 100 a 150 (+50%).

6-2 Espressione genica - PCR *real time* x Lisin-Idrossilasi (FIG. 8)

I livelli di RNA messaggero (mRNA) per Lisin-Idrossilasi (LH2b), non vengono influenzati da MD-Tissue a tutti i tempi considerati (24 h, 48 h, 72 h).

6-3 Analisi proteica - *Slot Blot* neosintesi di Collagene tipo I (FIG. 9)

La neosintesi di COL I è **maggiore** nei tenociti coltivati su MD-Tissue rispetto ai controlli NC.

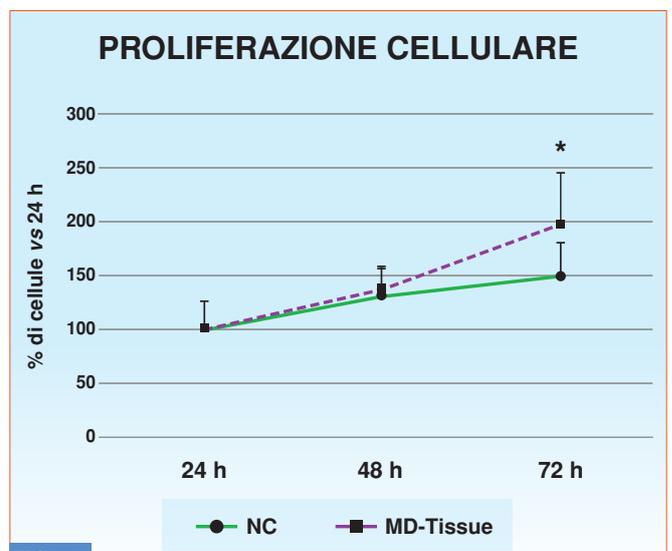


FIG. 7

Curve di crescita dei tenociti coltivati senza *coating* di MD-Tissue (*no coating* = NC) o coltivati su MD-Tissue ai tempi indicati. I dati sono espressi come percentuali – T24; media + DS. * p < 0,05 vs 72 h NC.

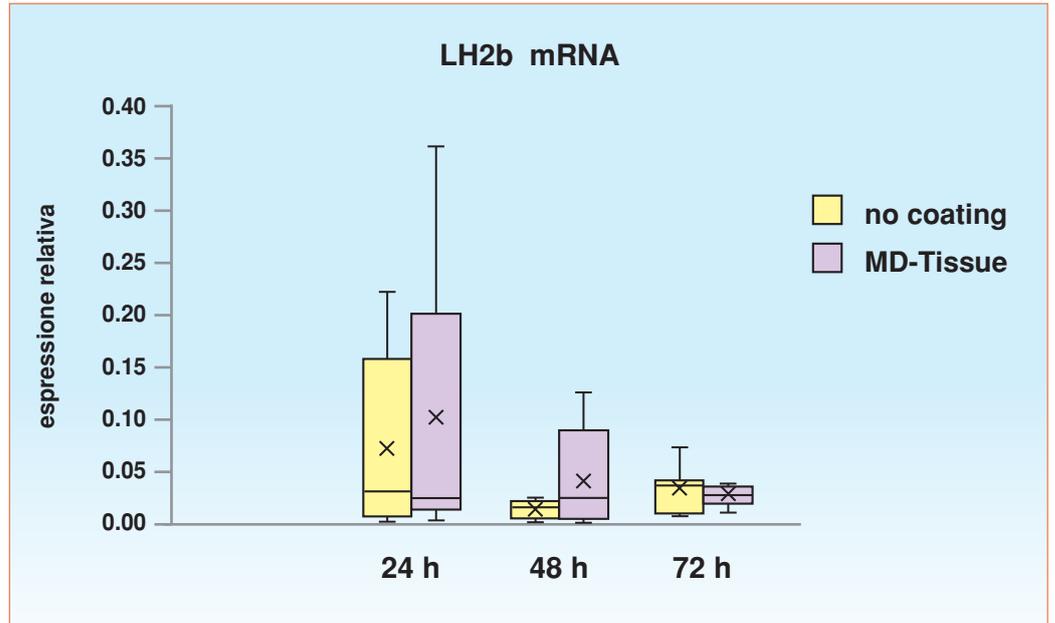


FIG. 8

Livelli di mRNA per Lisin-Idrossilasi 2 (LH2b) in tenociti *no coating* (NC) e in tenociti MD-Tissue valutati mediante PCR *real-time*. N.d.a.: PCR - Polymerase Chain Reaction.
 - I dati sono stati normalizzati sull'espressione genica GAPDH (N.d.a.: GlycerAldehyde 3-Phosp. DeHydrogenase) e sono espressi come media \pm DS per almeno 2 esperimenti indipendenti in duplicato per gli 8 campioni. X = media.

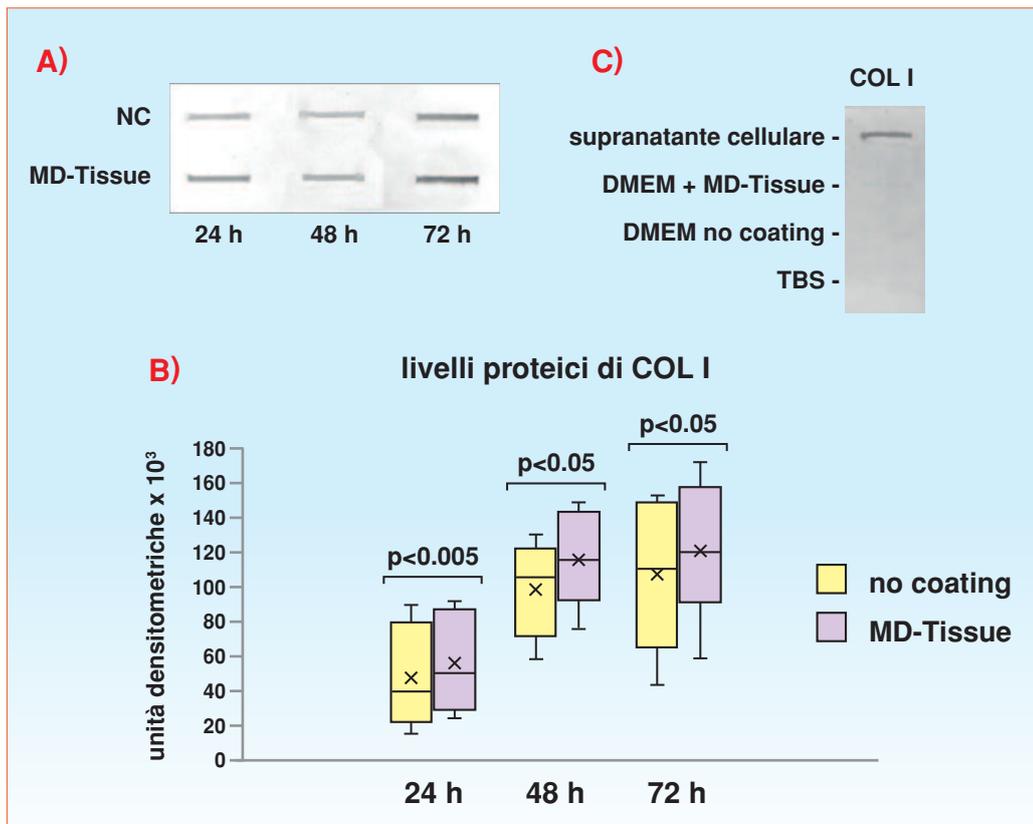


FIG. 9

Slot Blot rappresentativa per collagene tipo I (COL I) (A) in terreno di coltura cellulare di tenociti coltivati *no coating* (NC) o su MD-Tissue.
 - I grafici mostrano i livelli proteici di COL I (B), grazie alla scansione densitometrica di bande immunoreattive nel panel A. I dati sono espressi come media \pm DS per gli 8 campioni.
 (C) Slot Blot per COL I, indicante che COL I origina unicamente dai tenociti e non dal coating. X = media.

FIG. 10

Grafici che mostrano l'espressione genica di TIMP-1 dopo la normalizzazione dei livelli di mRNA su GAPDH.

- I dati ottenuti per gli 8 campioni sono espressi come media \pm DS. X = media.

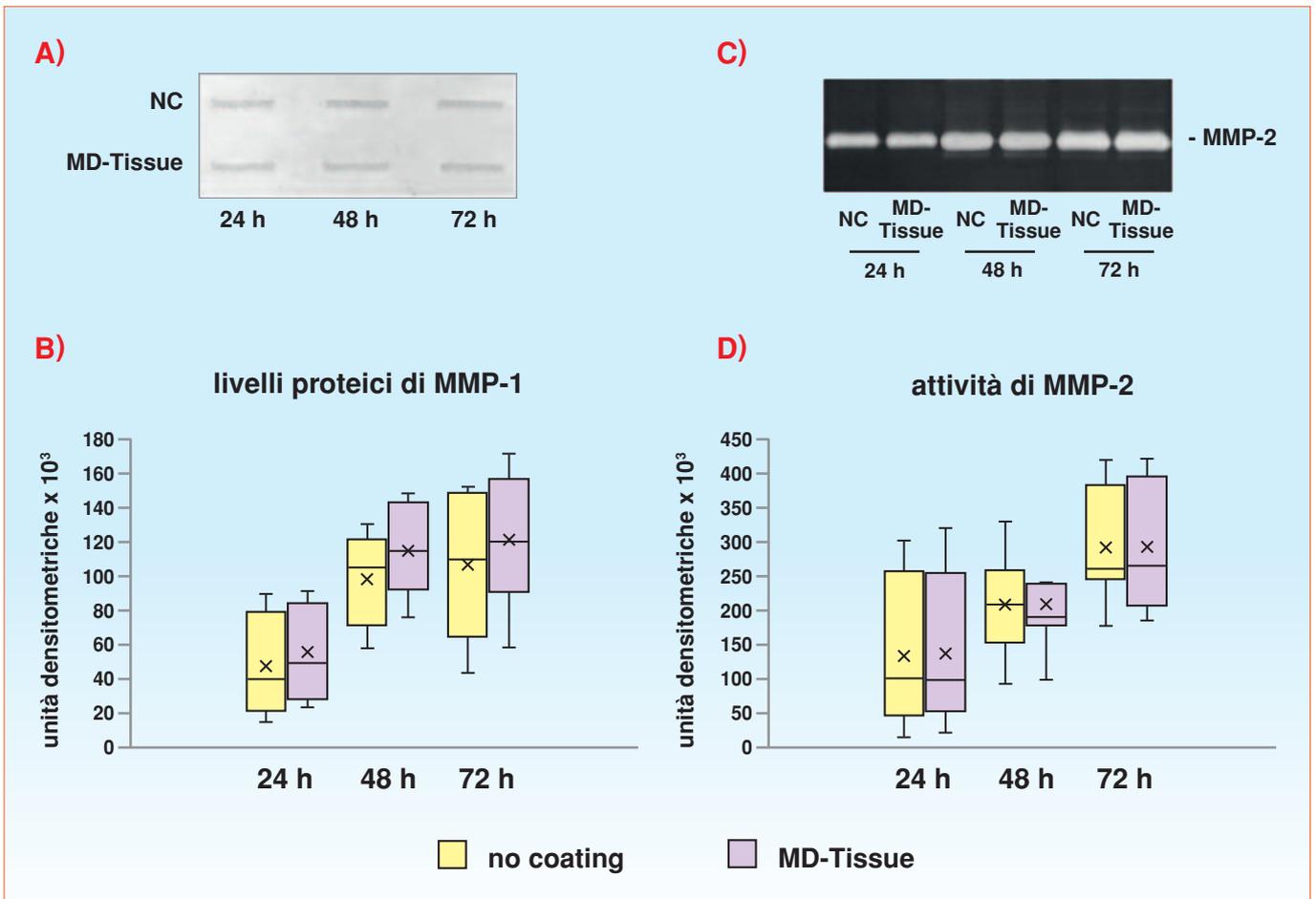
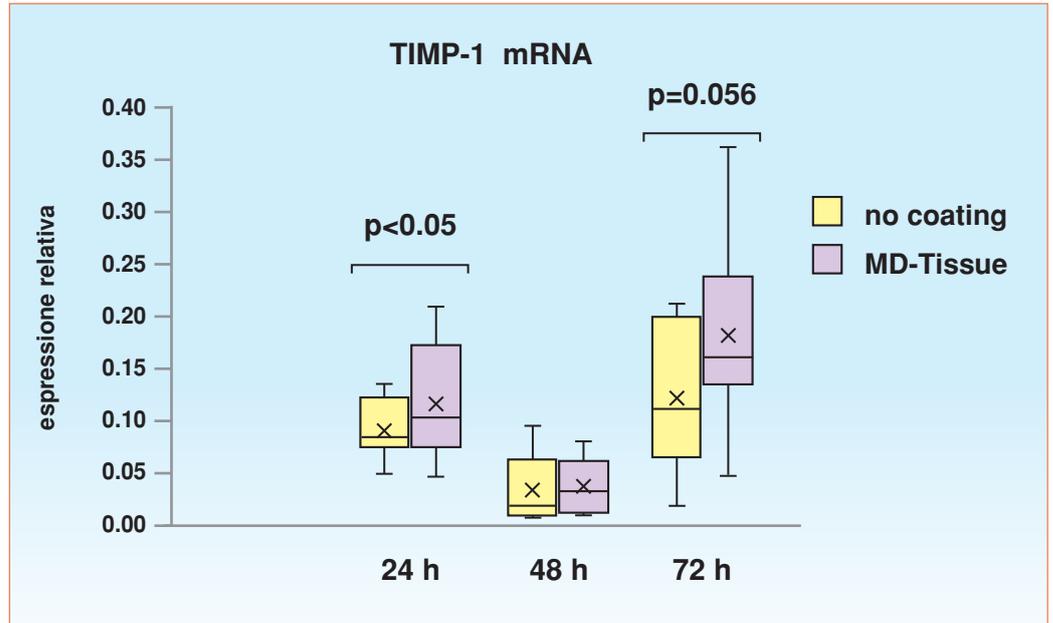


FIG. 11

Slot Blot rappresentativa dei livelli di Metalloproteinasi-1 di Matrice (MMP-1) (A) e zimografia SDS rappresentativa che mostra l'attività di MMP-2 in supernatanti cellulari privi di siero di tenociti NC (no coating) e di tenociti MD-Tissue.

- I grafici mostrano i livelli di MMP-1 (C) e l'attività di MMP-2 (D) dopo analisi densitometrica delle bande immunoreattive e litiche. I dati ottenuti per gli 8 campioni sono espressi come percentuale (%) di unità densitometriche vs NC e sono \pm DS. X = media.

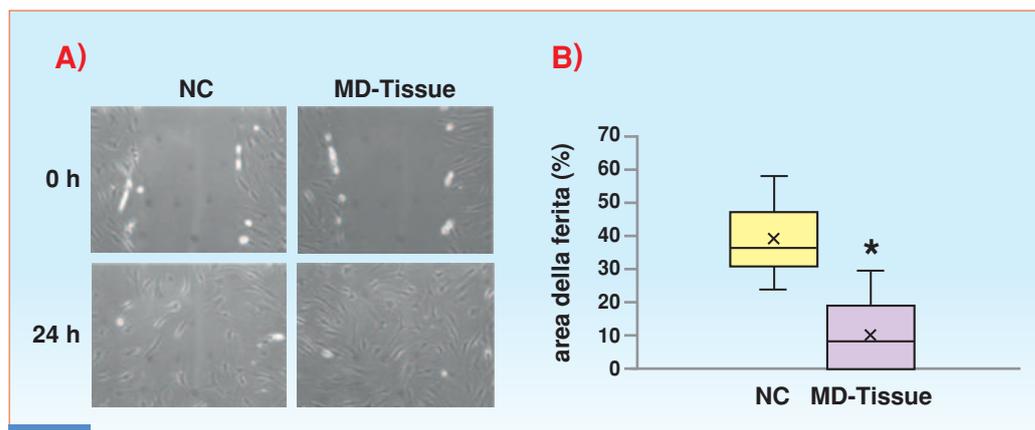


FIG. 12

(A) Micrografie che mostrano la guarigione della ferita da parte dei tenociti controllo (NC) e dei tenociti coltivati su MD-Tissue a 0 e 24 h dopo la scarificazione. Ingrandimento originale: 10x.

(B) Grafici che mostrano l'area di rimarginazione della ferita, espressa come percentuale (%) a 0 h, in tenociti coltivati in entrambe le condizioni sperimentali 24 h dopo il prelievo. * $p < 0,005$ vs NC. X = media.

N.d.a.

– Questi dati sperimentali sono cruciali:

- MD-Tissue INDUCE la proliferazione dei tenociti e la neo-sintesi di COL I con effetto di risanamento e di recupero biologico, oltre l'importante azione *bio-scaffold*.

6-4 Aumento dei TIMPs - Inibitori Tissutali delle Metalloproteinasi di Matrice (FIG. 10)

Uno dei meccanismi d'azione dei Collagen MDs consiste nell'**incremento** del TIMP-1, l'enzima inibitore della degradazione del COL I operata dalla MMP-1 e **non** nell'**inibizione** diretta della MMP-1, enzima di degradazione (FIG. 11).

– L'aumento del TIMP-1 permette di controllare la MMP-1 e la MMP-2 facendole operare in modo fisiologico, ed impedendo – così – che il loro eccesso inneschi fenomeni di collagenolisi.

6-5 Migrazione dei tenociti. Modello di guarigione della ferita (FIG. 12)

I tenociti trattati con MD-Tissue migrano verso il centro della ferita molto più efficacemente dei tenociti controllo NC (A) con conseguente riduzione del vallo della ferita (B).

N.d.a. – SINTESI

Questa è la prima sperimentazione di base (preclinica) su un Guna Collagen Medical Device (MD-Tissue).

– L'aggiunta di MD-Tissue ad una coltura di tenociti umani prelevati chirurgicamente da tendine sano produce effetti **statisticamente significativi** su:

A) Proliferazione dei tenociti

B) Neo-sintesi di COL I per inibizione della sua degradazione

C) Migrazione dei tenociti per la riparazione della ferita.

- Queste 3 evidenze sperimentali sono di **grande rilevanza** per la comprensione dei meccanismi molecolari della ripa-

razione con MD-Tissue dei tendini lesionati (*overuse*, patologie di diversa eziologia, *ageing*).

– MD-Tissue colma – così – un grosso vuoto terapeutico poiché – ad oggi – non esiste nulla in grado di “fare” cosa MD-Tissue “fa”.

L'azione delle cellule staminali e del PRP (*Platelet-Rich Plasma*) si avvicina all'azione di MD-Tissue; queste – tuttavia – presentano risultati non univoci e costi elevati (o molto elevati), oltre a complicanze operative.

Conclusioni degli Autori

“Considerate globalmente, queste evidenze suggeriscono che MD-Tissue agisca da **scaffold meccanico** in grado di indurre un fenotipo anabolico nei tenociti, **favorendo l'omeostasi e la riparazione tendinea** (...omissis). I nostri risultati suggeriscono che MD-Tissue possa rappresentare un nuovo approccio terapeutico e stimolare l'attivazione di nuovi studi clinici per studiare gli effetti di questo prodotto nel trattamento di difficili patologie che interessano i tendini”.

CONCLUSIONI

Sull'uso terapeutico nei *trigger points* di MD-Muscle sono stati pubblicati 2 lavori, il primo (Staňa, 2016-17) nella terapia della Sindrome del muscolo piriforme, il secondo (Nitecka-Buchta *et al.*, 2018), presentato analiticamente in questo elaborato, nella terapia del Dolore miofasciale del muscolo massetere.

– La terapia iniettiva dei *trigger points* miofasciali è – ancora comunemente ed essenzialmente – quella proposta da Simons & Travell (1983), 35 anni fa: anestetico locale (Procaina, Lidocaina, Mepivacaina).

Sono state – e sono – utilizzate anche iniezioni locali con Soluzione fisiologica, Steroidi e Botossina.

Sia gli Anestetici locali (tra gli altri, Shah *et al.*, 2015), sia gli Steroidi (tra gli altri, Fredberg, 2007), sia la Botossina (tra gli altri, Davies & Barnes, 2000), iniettati localmente, esibiscono possibili **gravi effetti collaterali locali e sistemici**.

Per quanto concerne la Soluzione fisiologica, Nitecka-Buchta *et al.*, 2018 (in questo elaborato) la considerano – ovviamente – controllo neutro, non controllo *verum*.

La Soluzione fisiologica riduce – infatti – solo di un quinto il dolore iniziale (-20%) e solo di un settimo (-14%) i voltaggi EMGs prima/dopo terapia (2° ed ultimo *follow-up*).

– A fronte della *massa critica* di lavori clinici sull'efficacia dei Guna *Collagen* MDs mancava la prova provata circa i loro meccanismi d'azione molecolari.

Dimostrato che i MDs sono clinicamente efficaci, restava da dimostrare come e perché lo fossero.

La risposta è arrivata da un recentissimo lavoro di qualità, frutto della collaborazione di 3 Centri italiani d'eccellenza, recentemente pubblicato in *Cells* (vedi p. 12, II colonna).

Nelle reumo-artropatie algiche croniche, ogni ciclo di terapia con i Guna *Collagen Medical Devices* (da 6 a 10 sedute) **deve** essere ripetuto almeno 1 volta all'anno, perchè il periodo di dimezzamento biologico del COL arriva fino a 360 giorni (Olsen, 1983).

– Alla luce delle tante, circostanziate e documentate evidenze cliniche è concretamente possibile sostenere che i Guna *Collagen Medical Devices* siano **1)** efficaci in tempi brevi, **2)** sicuri, **3)** di facile ed intuitiva applicazione e **4)** ad elevata *compliance* sia per il paziente, sia per il medico. ■

Bibliografia

- A** – Alemán A. *et al.* – Contribution of Leu and Hyp residues to antioxidant and ACE-inhibitory activities of peptide sequences isolated from squid gelatin hydrolysate. *Food Chem* 125: 3354-341; **2011**.
 – Al-Rawi Z.S. *et al.* – Joint mobility among university students in Iraq. *Br J Rheumatol*. **1985**; 24(4): 326-31.
 – Asserin J. *et al.* – The effect of oral collagen peptide supplementation on skin moisture and the dermal collagen network: evidence from an *ex vivo* model and randomized, placebo-controlled clinical trials. *J. Cosmet Dermatol*. **2015** Dec; 14(4): 291-301.
 – Aviv A. *et al.* – The longevity gender gap: are telomeres the explanation? *Sci Aging Knowledge Environ*. **2005** Jun 8; 2005(23): pe16.
- B** – Beighton P. *et al.* – *Hypermobility of Joints*. 3rd ed. Springer Verlag, Berlin; **2012**.
 – Bello A.E. & Oesser S. – Collagen hydrolysate for the treatment of osteoarthritis and other joint disorders: a review of the literature. *Curr Med Res Opin.*, **2006** Nov; 22(11): 2221-32.
 – Bhattacharjee A. *et al.* – Collagen structure: the Madras triple helix and the current scenario. *IUBMB Life*, **2005** Mar; 57(3):161-72.
 – Bird H.A. – Special interest group for joint hypermobility. [British Society for Rheumatology meeting report]. *Br J Rheumatol*. **1993** Jan; 32(1):81.
 – Biro F. *et al.* – The hypermobility syndrome. *Pediatrics*. **1983** Nov; 72: 702-6.
 – Birrell F.N. *et al.* – High prevalence of joint laxity in West Africans. *Br J Rheumatol*. **1994** Jan;33(1):56-9.
 – Brew K. *et al.* – Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function. *Biochim Biophys Acta*. **2000**, 1477(1-2):267-83.
 – Brew K. & Nagase H. – The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): an ancient family with structural and functional diversity. *Biochimica et Biophysica Acta* **2010**; 1803(1): 55-71.
 – Bridges A.J. *et al.* – Joint hypermobility in adults referred to rheumatology clinics. *Ann Rheum Dis*. **1992**; 52: 793-796.
 – Bruyère O. *et al.* – Effect of collagen hydrolysate in articular pain: a 6-month randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Complement Ther Med.*, **2012** Jun; 20(3): 124-30.
- C** – Choi S.Y. *et al.* – Effects of collagen tripeptide supplement on skin properties: a prospective, randomized, controlled study. *J. Cosmet Laser Ther* **2014** Jun; 16(3): 132-7.
 – Clark K.L. *et al.* – 24-Week study on the use of collagen hydrolysate as a dietary supplement in athletes with activity-related joint pain. *Curr Med Res Opin*. **2008** May; 24(5): 1485-96.
 – Crowley D.C. *et al.* – Safety and efficacy of undenatured type II collagen in the treatment of osteoarthritis of the knee: a clinical trial. *Int J Med Sci*, **2009** Oct 9; 6(6): 312-321.
 – Cutroneo K.R. *et al.* – Glucocorticoids and collagen synthesis: comparison of *in vivo* and cell culture studies. *Collagen and related research*, Vol I, issue 6, Nov **1981**; 557-568.
- D** – Davis E.C. & Barnes M.P. – Botulinum toxin and spasticity. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. Editorial. **2000** Aug; 69(2):143-7.
- F** – Fields G.B. – Synthesis and biological applications of collagen-model triple-helical peptides. *Organic & Biomolecular Chemistry*; **2010**, 8, 6 (1237).
 – Fratzi P. – *Collagen. Structure and Mechanics*. Springer Science & Business Media, **2008**.
 – Fredberg U. – Local corticosteroid injection in sport: review of literature and guidelines for treatment. *Scand J Med Sci Sports*. **2007** Jun;7(3):131-9.
- G** – Gartner L.P. & Hiatt J.L. – Extracellular matrix. *In: Color Textbook of Histology* (3rd ed.). Saunders **2007**: 73-5.
 – Grahame R. – Clinical conundrum: how often, when and how does joint hypermobility lead to osteoarthritis? *Br J Rheumatol* **1989**; 28:320.
 – Grahame R. & Jenkies J.M. – Joint hypermobility - asset or liability? A study of joint mobility in ballet dancers. *Ann Rheum Dis*. **1972**; 31:109-11.
 – Grahame R.A. *et al.* – A proposed set of diagnostic criteria for the benign joint hypermobility syndrome. *Br J Rheumatol*, **1992**; 31:205.
- H** – Hand. A.R. & Ten Cate A.R. – Cytoskeleton, junction and fibroblasts. *In Nanci A. (Ed.)*. Ten Cate's oral histology. Development, structure and function. India: Elsevier **2006**: 54-60.
 – Heine H. – *Manuale di Medicina Biologica. Regolazione di base e matrice extra-cellulare*. Guna Ed., Milano; **2009**.
 – Hessel D. *et al.* – Oral supplementation with specific bioactive collagen peptides improves nail growth and reduces symptoms of brittle nails. *J Cosmet Dermatol*. **2017**; 16: 520-526.
- I** – Inoue N. *et al.* – Ingestion of bioactive collagen hydrolysates enhance facial skin moisture and elasticity and reduce facial ageing signs in a randomized double-blind placebo-controlled clinical study. *J. Sci Food Agric* **2016** Sep; 96(12): 4077-81.
- J** – Jonsson H. *et al.* – Hypermobility associated with osteoarthritis of the thumb base: a clinical and radiological subset of hand osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. **1996** Aug; 55(8): 540-3.
- K** – Koutroubakis I.E. *et al.* – Serum laminin and collagen IV in inflammatory bowel disease. *J Clin Pathol*. **2003** Nov; 56(11):817-20.
 – Krum H. *et al.* – Relation of peripheral collagen markers to death and hospitalization in patients with heart failure and preserved ejection fraction re-

- sults of the I-PRESERVE collagen substudy. *Circulation: Heart Failure* **2011**; 4(5), 561-568.
- Kumar V. & Gill K.D. – Basic Concepts in Clinical Biochemistry: A Practical Guide. Springer; **2018**.
- L** –Lacraz S. *et al.* – IL-10 inhibits metalloproteinase and stimulates TIMP-1 production in human mononuclear phagocytes. *J Clin Invest.* **1995** Nov; 96(5):2304-10.
- Lee S.K. *et al.* – Pressure ulcer healing with a concentrated, fortified, collagen protein hydrolysate supplement: a randomized controlled trial. *Adv Skin Wound Care*, **2006** Mar; 19(2): 92-6.
- Light N. & Champion A.E. – Characterization of muscle epimysium, perimysium and endomysium collagens. *The Biochemical Journal* **1984**; 219(3) 1017-26.
- Lotz M. & Guerne P.A. – Interleukin-6 induces the synthesis of tissue inhibitor of metalloproteinases-1/erythroid potentiating activity (TIMP-1/EPA). *J Biol Chem.* **1991** Feb 5;266(4): 2017-20.
- M** –Milani L. – Omeosiniatria e Trigger miofasciali: un'accoppiata vincente. Prima parte. *La Med. Biol.*, **2003**/2; 31-41.
- Milani L. – Weihe e altri Punti. Tra Agopuntura e Omeopatia. Libro-Atlante. Guna Ed., **2004**.
- Milani L. – Un nuovo e raffinato trattamento iniettivo delle patologie algiche dell'Apparato locomotore. Le proprietà *bio-scaffold* del collagene e suo utilizzo clinico. *La Med. Biol.*, **2010**/3; 3-15.
- Milani L. – I Collagen *Medical Devices* nel trattamento locale delle artro-reumopatie algiche. Rassegna degli studi clinici e *clinical assessment* 2010-2012. *La Med Biol.*, **2013**/2; 3-18.
- N** –Nakchum L. *et al.* – Preparation of squid skin collagen hydrolysate as an antihyaluronidase, antityrosinase, and antioxidant agent. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, **2016**; 46(2): 123-30.
- O** –Olsen B.R. – Collagen Biosynthesis. In: Hay E.D. (ed.): *Cell Biology of Extracellular Matrix*. 2nd ed. New York-London: Plenum; **1983**: 139-178.
- P** –Pavelka K. *et al.* – MD-Lumbar, MD-Muscle e MD-Neural nella terapia locale del dolore lombare. *La Med Biol.*, **2012**/4; 13-17.
- Pavelka K. *et al.* – Chronic Low Back Pain: Current Pharmacotherapeutic Therapies and a New Biological Approach. *Curr Med Chem.* **2018**, 25:1-8.
- Proksch E. *et al.* – Oral intake of specific bioactive collagen peptides reduces skin wrinkles and increases dermal matrix synthesis. *Skin Pharmacol Physiol.* **2014**; 27(3): 113-9.
- Q** –Qin Z. *et al.* – Actin cytoskeleton assembly regulates collagen production via TGF- β type II receptor in human skin fibroblasts. *J Cell Mol Med.* **2018** Sep; 22(9):4085-4096.
- R** –Reichenstein M. *et al.* – ACTH induces TIMP-1 expression and inhibits collagenase in adrenal cortex cells. *Molecular and Cellular Endocrinology* **2004** Feb; 27, 215(1-2):109-14.
- S** –Saladin K.S. – Anatomy and Physiology: The Unity of Form and Function. New York, NY: McGraw-Hill, **2012**.
- Schmidt R.E. & Burkhardt H.E. – Bindegewebe Siegenthaler W. (Hrsg.): *Klinische Pathophysiologie*. 8. Aufl. Stuttgart New York: Thieme; **2001**: 978-1018.
- Schmitt E. *et al.* – Switching from an induced fit to a lock and key mechanism in an aminoacyl-tRNA synthetase with modified specificity. *J Mol Biol.* **2009** Dec 18; 394(5): 843-851.
- Schunk M. *et al.* – Dietary Supplementation with Specific Collagen Peptides Has a Body Mass Index-Dependent Beneficial Effect on Cellulite Morphology. *J Med Food.* **2015** Dec 1; 18(12): 1340-8.
- Shah J.P. *et al.* – Myofascial Trigger Points Then and Now: A Historical and Scientific Perspective. *PM&R: the journal of injury, function, and rehabilitation.* **2015** Jul; 7(7):746-761.
- Shoulders M.D. & Raines R.T. – Collagen structure and stability. *Annu Rev Biochem.* **2009**; 78:929-58.
- Silverman S. *et al.* – Survey of joint mobility and *in vivo* skin elasticity in London schoolchildren. *Ann Rheum Dis.* **1970**; 32:352-7.
- Simons D.G. & Travell J.G. – Myofascial Pain Dysfunction: The Trigger Point Manual. 1st Ed. Lippincott Williams & Wilkins, **1983**.
- Söderhäll C. *et al.* – Variants in a novel epidermal collagen gene (COL29A1) are associated with atopic dermatitis. *PLoS Biol.* 5:e242; **2007**.
- Song H. *et al.* – The effect of collagen hydrolysates from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin on UV-induced photo-ageing in mice: molecular weight affects skin repair. *Food Funct* 8(4): 1538-46; **2017**.
- Staňa J. – 3 years in Luhačovice Spa with Collagen Medical Devices injections in the treatment of piriformis syndrome. *Physiological Regulating Medicine.* **2016-17**; 19-20.
- T** –Tanrikulu I.C. *et al.* – Peptide tessellation yields micrometre-scale collagen triple helices. *Nat Chem.* **2016** Nov; 8(11):1008-1014.
- Tomasek J.J. *et al.* – Collagen modulates cell shape and cytoskeleton of embryonic corneal and fibroblast fibroblasts: distribution of actin, alpha-actinin, and myosin. *Dev Biol.* **1982** Jul; 92(1):107-22.
- V** –Van Vijven J.P. *et al.* – Symptomatic and chondroprotective treatment with collagen derivatives in osteoarthritis: a systematic review. *Osteoarthritis Cartilage.* **2012** Aug; 20(8):809-21.
- W** –Wu L. – Collagens at a glance. *Top. Curr. Biol.*, **2011**; 147:139-178.

NOTE

Le Figg. 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12 e le Tab. 2, 3, 4, tradotte e ricomposte graficamente, sono tratte dagli articoli originali e sono fedeli alle originali, come le didascalie.

La Fig. 2 è stata composta e modificata dall'autore.

La Fig. 3 (successiva apposizione della localizzazione anatomica dei TP effettuata dall'autore), è tratta (particolare) da: Lanza B., Azzaroli Puccetti M.L., Poggesi M., Martelli A. – *Le cere anatomiche della Specola*. Arnaud Ed., Firenze, 1979.

Le didascalie della Fig. p. 3 e delle Figg. 1, 2 e 6 sono dell'autore.

La Tab. 1 è dell'autore.

L'autore ringrazia gli editor dei siti web da cui sono tratte le immagini di:

Fig. p 3

<http://herenow250.rutgers.edu/gallery/category/arts?page=9>

Fig. 1

https://c1.staticflickr.com/2/1593/25648507056_2726320d17_b.jpg

Fig. 1 (inserto in alto a sn)

<http://www.biology-pages.info/C/Collagen.gif>

Fig. 6

<https://i.ytimg.com/vi/KyoAhyN97ZM/hqdefault.jpg>

Fig. 6 (inserto in alto a sn)

<https://www.sciencephoto.com/media/80294/view/fibroblasts-sem>

Riferimento bibliografico

MILANI L. – I Guna *Collagen Medical Devices* 10 anni dopo. – Analisi ragionata di 2 recenti importanti ricerche e *update* della letteratura. *La Med. Biol.*, **2019**/2; 3-18.

autore

Prof. Leonello Milani

– Direttore Scientifico de La Medicina Biologica e di *Physiological Regulating Medicine*

Via Palmanova, 71

I – 20132 Milano