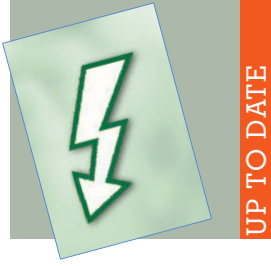


L. Milani



# 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.

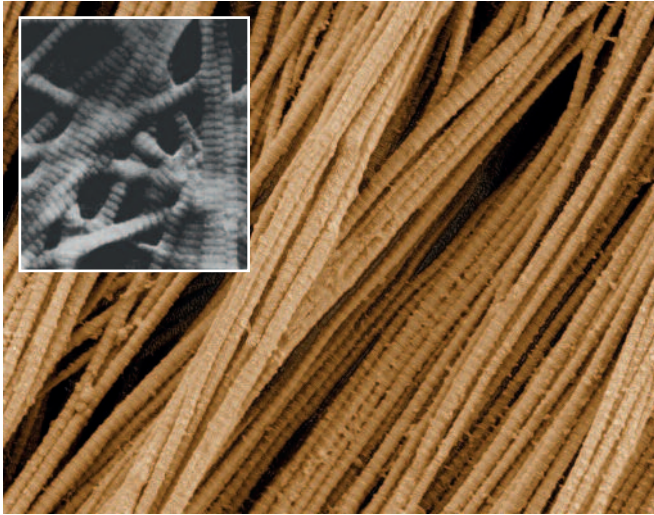


FIG. 1

**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<sup>a</sup> fibrilla è allineata alla 1<sup>a</sup>.**

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

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 metalloproteinasie), 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 Vijven *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

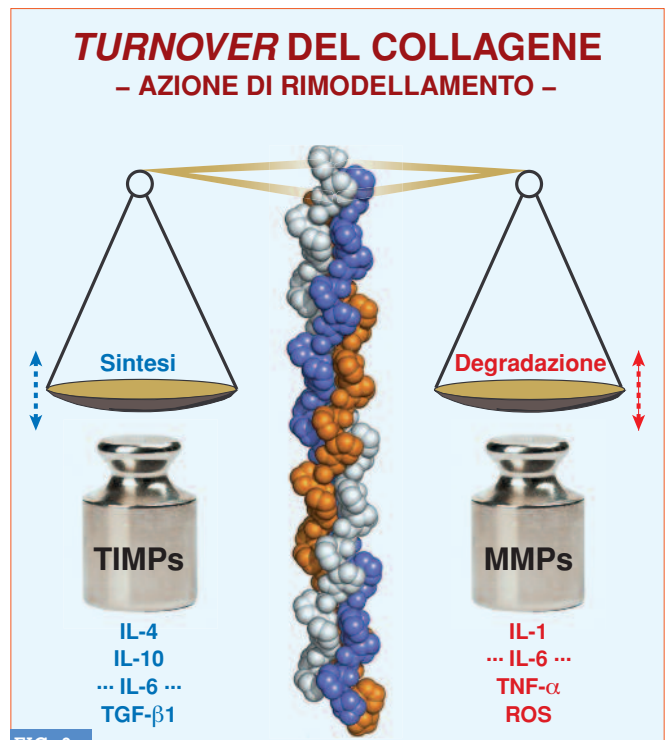


FIG. 2

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

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

PATOLOGIA	TITOLO AUTORE/ PUBBLICAZIONE	COLLAGEN MEDICAL DEVICE/S
Lombalgia	<b>Injectable Guna Collagen Medical Device in functional recovery from sport traumatology. – Case Reports</b> Massullo C. – <i>Physiological Regulating Medicine</i> , 2016-2017, 3-7.  Tradotto in italiano <b>I Guna Collagen Medical Device nella ripresa funzionale dopo traumi sportivi. – Case Reports</b> – <i>La Med. Biol.</i> , 2017/2; 45-50.	MD-Lumbar MD-Matrix MD-Muscle
Dolore osteo-articolare di spalla e di ginocchio	<b>Associazione di Collagen MDs e Chelt Terapia nel dolore osteo-articolare di spalla e di ginocchio.</b> Feninno D., Bonacina A. – <i>La Med. Biol.</i> , 2017/2; 37-42.	MD-Shoulder MD-Knee
Rizoartrosi del pollice	<b>Rizartrosi e omeosiniatria. Efficacia di Zeel® T e di MD-Small Joints a confronto.</b> Bernardini G. – <i>La Med. Biol.</i> , 2018/2; 15-23.	MD-Small Joints
Lombalgia	<b>Chronic Low Back Pain: Current Pharmacotherapeutic Therapies and a New Biological Approach.</b> 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	<b>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.</b> 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	<b>Effect of Collagen-Based Compound on Morpho-Functional Properties of Cultured Human Tenocytes.</b> 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](http://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

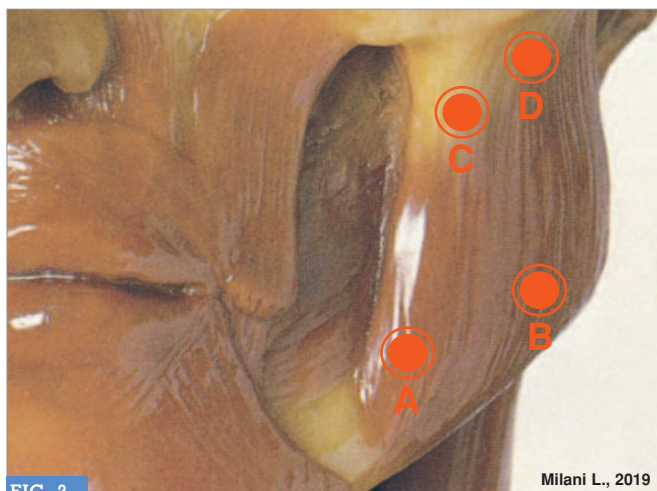


FIG. 3

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 O<sub>2</sub> 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<sup>+</sup> 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).

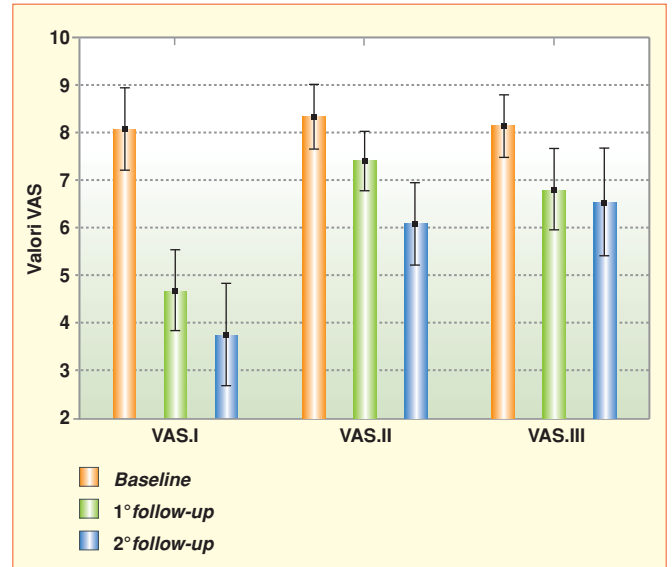


FIG. 4

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.

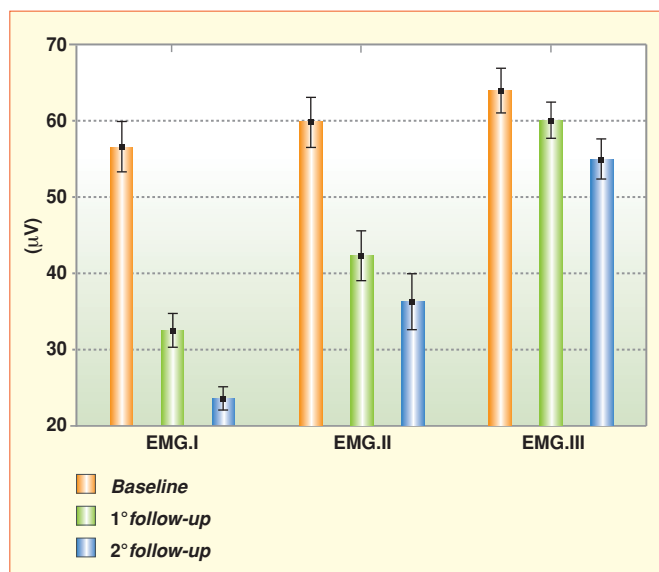
Tutti questi effetti sono stati temporanei e completamente reversibili.

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)
<b>Lato dolente</b>			
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 %
<b>Lato non dolente (NP)</b>			
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.

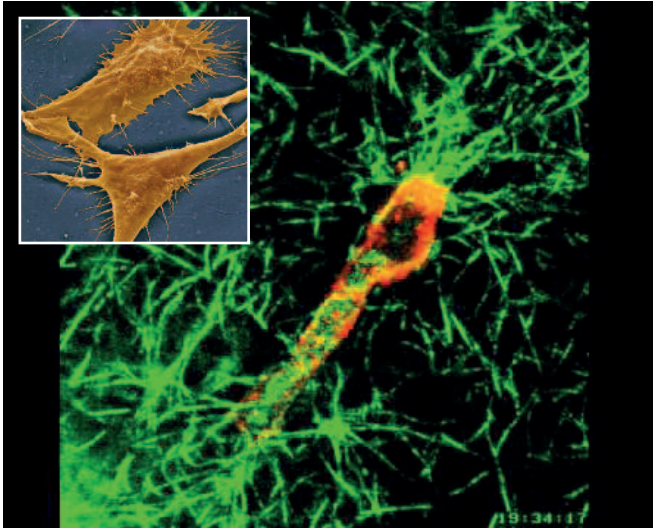
Il lavoro è stato presentato al:  
 – XXIX Congresso Nazionale A.M.I.O.T. Bologna, 30 Giugno 2018;  
 – 72° Congresso della Società Italiana di Anatomia e Istologia. Parma, 20-22 Settembre 2018;  
 – Congresso Mondiale dell’*International Society for Hip Arthroscopy* (ISHA). Melbourne, Australia, 4-6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

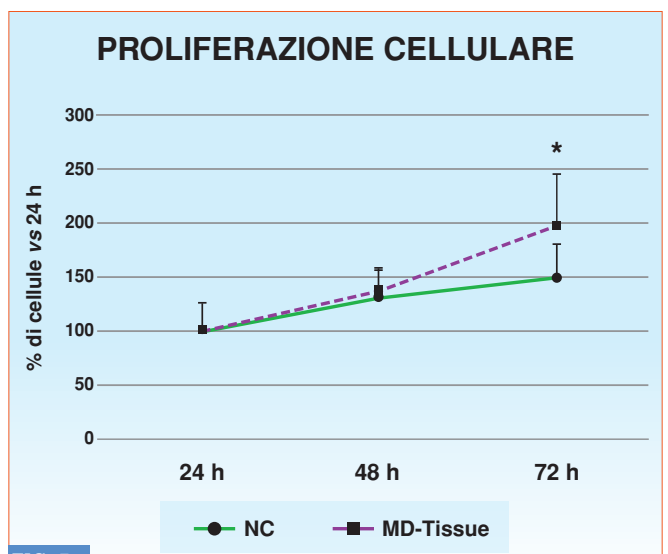


FIG. 7

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.

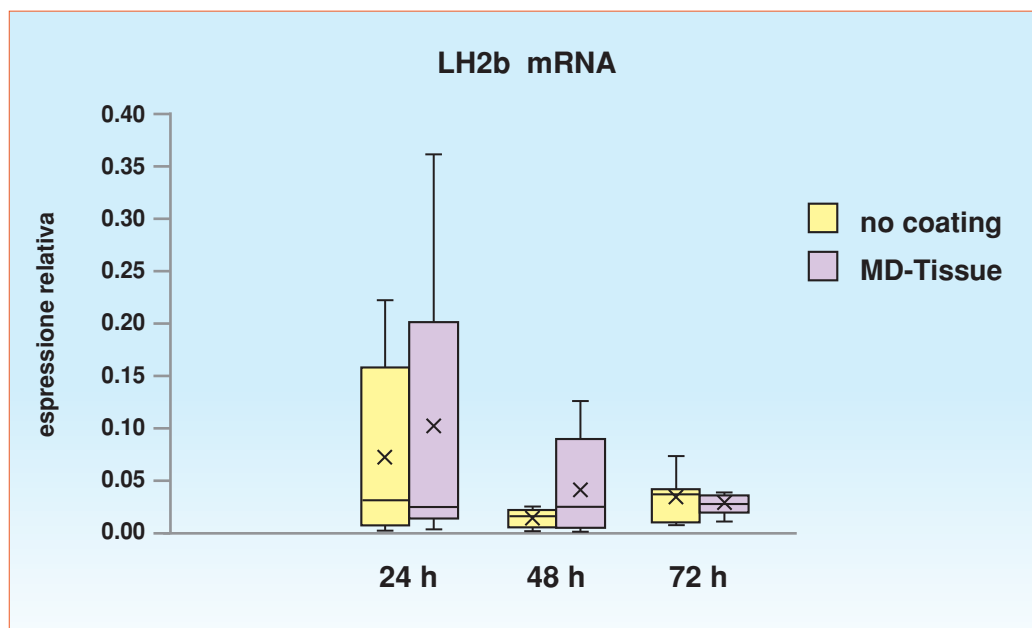


FIG. 8

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.

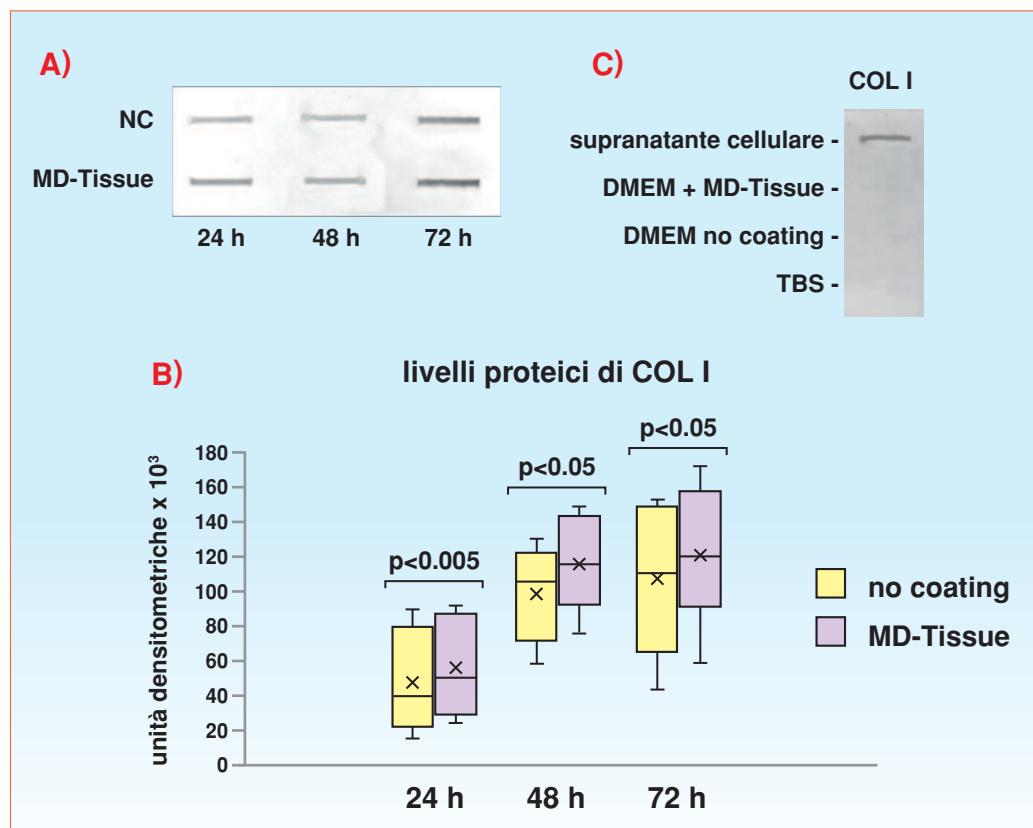


FIG. 9

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.

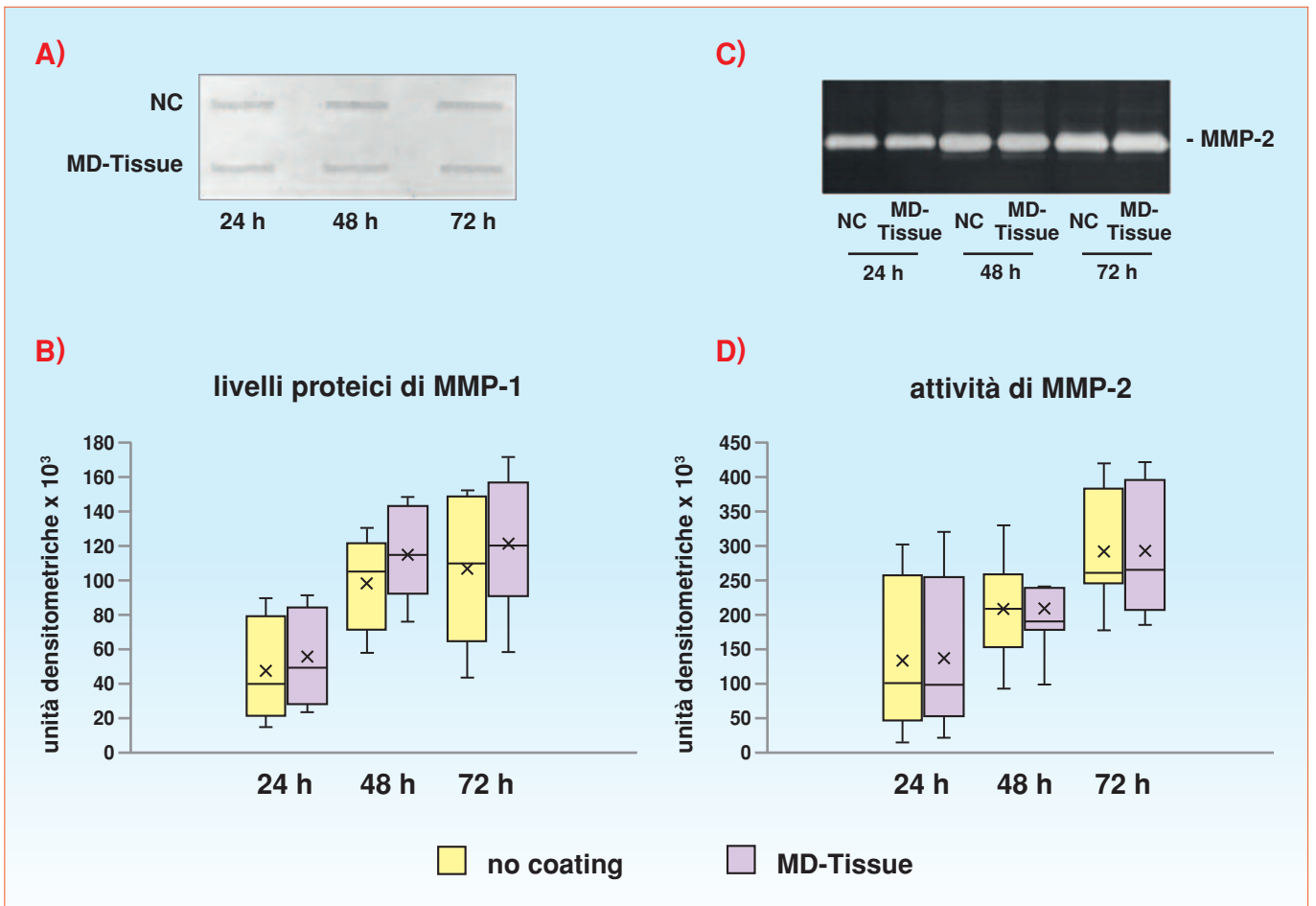
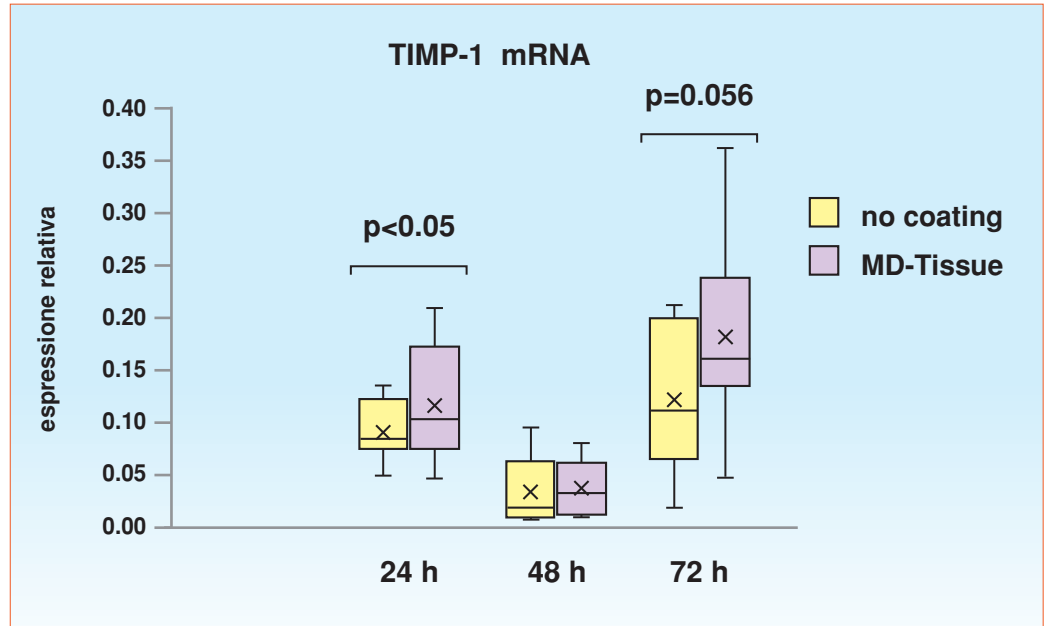


FIG. 11

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.

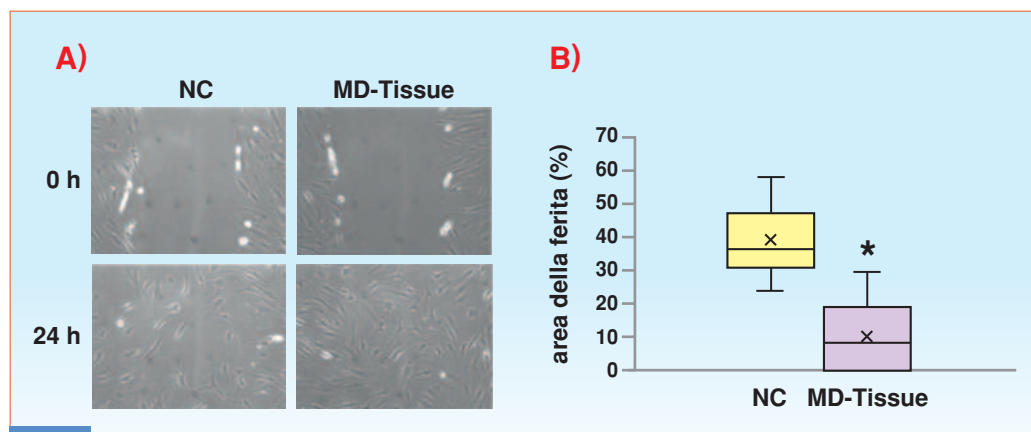


FIG. 12

(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*. 3<sup>rd</sup> 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* (3<sup>rd</sup> 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*. 2<sup>nd</sup> 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- $\beta$  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. 1<sup>st</sup> 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 fibroma 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](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