

# On Medicine

RIVISTA SCIENTIFICA INDIPENDENTE QUADRIMESTRALE



**Intervista di Francesco Saverio Dioguardi**

- **Gli aminoacidi essenziali portano le cellule tumorali all'apoptosi inibendo il proteasoma e attivando l'autofagia**  
*Redazione On Medicine*
- **Valutazione dell'efficacia antibatterica dell'olio di girasole ozonizzato sulla flora crevicolare.**  
*Ciavanni R*
- **Allergie alimentari: il BAT test è utile per definire l'alimento nocivo e la gravità delle reazioni all'allergene**  
*Finelli C*



Quest'opera è protetta dalla legge sul diritto d'autore. Tutti i diritti, in particolare quelli relativi alla traduzione, alla ristampa, all'utilizzo di illustrazioni e tabelle, alla registrazione su microfilm o in database, o alla riproduzione in qualsiasi altra forma (stampata o elettronica) rimangono riservati anche nel caso di utilizzo parziale. La riproduzione di quest'opera, anche se parziale, è ammessa solo ed esclusivamente nei limiti stabiliti dalla legge sul diritto d'autore ed è soggetta all'autorizzazione dell'editore. La violazione delle norme comporta le sanzioni previste dalla legge.

© Sintesi InfoMedica S.r.l.

Sebbene le informazioni contenute nella presente opera siano state accuratamente vagliate al momento della stampa, l'editore non può garantire l'esattezza delle indicazioni sui dosaggi e sull'impiego dei prodotti menzionati e non si assume pertanto alcuna responsabilità sui dati riportati, che dovranno essere verificati dal lettore consultando la bibliografia di pertinenza.

Copyright © 2018 by Sintesi InfoMedica S.r.l.  
 Via Brembo, 27 - 20139 Milano (MI)  
 Tel. +39 02 56665.1

OnMedicine - Reg. Trib. di Milano n. 63 del 30/01/2007

Direttore responsabile: Alberto De Simoni  
 Marketing e vendite: Marika Calò

Giugno 2018

## SOMMARIO

**2** INTERVISTA  
 Francesco Saverio Dioguardi



**7** FOCUS  
 Gli aminoacidi essenziali portano le cellule tumorali all'apoptosi inibendo il proteasoma e attivando l'autofagia



Redazione On Medicine

**10** APPROFONDIMENTI  
 Valutazione dell'efficacia antibatterica dell'olio di girasole ozonizzato sulla flora crevicolare.



Ciavanni R

**15** IL PARERE DELLO SPECIALISTA



Osteoporosi e frattura di femore: gestione del paziente

Galmarini V

## BOARD SCIENTIFICO

**Giorgio Walter Canonica**  
 Allergologo

**Antonio Ceriello**  
 Diabetologo

**Aldo De Rosa**  
 Urologo

**Fernando Di Benedetto**  
 Pneumologo

**Marco Guelfi**  
 Ortopedico

**Giovanni Carlo Isaia**  
 Geriatra

**Antonio Simone Laganà**  
 Ginecologo

**Giorgio Lambertenghi**  
 Ematologo

**Giovanni Minisola**  
 Reumatologo

**Vincenzo Montemurro**  
 Cardiologo

**Donato Rosa**  
 Ortopedico

**Raul Saggini**  
 Fisiatra

**Enzo Silvestri**  
 Radiologo

**Michele Fiore**  
 Pediatra

## On Medicine

Anno XII, Numero 2 - giugno 2018



### EDITORIALE

De Simoni A

#### Gentili lettori,

*Il secondo numero del 2018 di On Medicine si apre con l'intervista a uno specialista di eccezione: il professor Francesco Saverio Dioguardi, titolare della Cattedra di Nutrizione Clinica del Dipartimento di Medicina Interna dell'Università di Milano, una delle massime autorità nello studio del metabolismo e delle terapie nutrizionali. L'intervista prende spunto dalla recente pubblicazione di un articolo elaborato dal professore e dalla sua équipe che mette in luce il ruolo degli aminoacidi nello sviluppo del cancro. In particolare, gli aminoacidi essenziali impediscono alcune mutazioni che normalmente la cellula neoplastica tende ad attuare per bloccare l'efficienza del chemioterapico nel portare a morte la cellula. La comprensione di questi meccanismi può portare a una maggior efficienza della terapia chemio- e radioterapica: gli aminoacidi essenziali potrebbero infatti impedire le modificazioni anti-suicidio cellulare che permettono ai tumori di sfuggire all'effetto di questi interventi terapeutici. Lo studio è presentato in dettaglio nel Focus, la cui lettura non potrà che risultare di interesse per la peculiarità dell'argomento e delle procedure adottate dai ricercatori.*

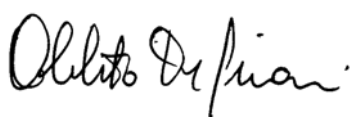
*La rubrica Approfondimenti ospita un contributo del dottor Raffaele Ciavanni, odontoiatra ozonoterapista, che ha valutato l'azione battericida di un gel orale mucoadesivo al 15% di olio di semi di girasole ozonizzato sulla microflora orale e, in particolar modo, su quella del solco parodontale, considerata per la sua aggressività la principale causa di gengiviti e parodontiti. Queste insidiose patologie possono manifestarsi già a partire dai 30-35 anni e, se non adeguatamente controllate, possono minare la stabilità dei denti a tal punto da renderne necessaria la rimozione. Il metodo utilizzato è innovativo e concentra l'azione del "gel orale" sulla struttura gengivo-dentaria attraverso l'impiego di mascherine personalizzate appositamente confezionate.*

*Il dottor Valter Galmarini, dell'U.O.C. Ortopedia e Traumatologia - Ospedale Fatebenefratelli - ASST Fatebenefratelli Sacco, condivide con i lettori la sua lunga esperienza nel campo della gestione del paziente con osteoporosi e frattura di femore, sottolineando l'importanza di sensibilizzare le figure interessate alla gestione del paziente riguardo ai fattori di rischio e alle numerose e valide strategie farmacologiche oggi a disposizione: oltre all'ortopedico, il fisiatra, che interviene per una riabilitazione "personalizzata", e il Medico di Famiglia, che esercita un monitoraggio globale delle comorbidità.*

*Ringraziamo come sempre gli Autori per la collaborazione e i nostri lettori per l'attenzione con cui seguono la rivista.*

*Buona lettura*

**Il direttore responsabile**



## On Medicine

Anno XII, Numero 2 - giugno 2018



### INTERVISTA

## Intervista al Professor Francesco Saverio Dioguardi

Redazione On Medicine



*Nella sezione Focus di questo numero vi abbiamo parlato di un importante studio realizzato da un team di ricercatori tutto italiano, pubblicato nel maggio 2017 da una delle più prestigiose riviste internazionali di Biochimica e Biologia molecolare (The FEBS Journal).<sup>1</sup> Questo lavoro ha destato grande interesse perché ha in qualche modo aperto le porte a un nuovo modo di guardare alla biologia del cancro e al suo trattamento, rappresentando il primo passo verso la possibilità di un nuovo approccio alla terapia dei tumori.*

*Ne abbiamo voluto parlare più nel dettaglio con uno degli Autori principali, il Professor Francesco Saverio Dioguardi, associato e titolare della Cattedra di Nutrizione Clinica del Dipartimento di Medicina Interna dell'Università di Milano, considerato una delle massime autorità a livello internazionale nello studio del metabolismo e delle terapie nutrizionali,*

*autore di numerosi brevetti nell'ambito delle miscele di aminoacidi e culture della biochimica.*

**Professor Dioguardi, Lei è tra i principali Autori dello studio pubblicato su FEBS che ha preso in esame il rapporto tra cellula tumorale e ambiente esterno, spiegando il modo in cui quest'ultimo può influenzare lo sviluppo del cancro. Può spiegarci perché, dal**

## Suo punto di vista, questo studio è tanto importante?

Questo lavoro è importante innanzitutto perché è stato il primo a focalizzarsi su una problematica mai affrontata in precedenza. Finora la ricerca in campo oncologico aveva cercato di comprendere in che modo il tumore produca energia così da individuare strategie terapeutiche che potessero interferire con questo processo e, quindi, con lo sviluppo del cancro. Il tumore produce energia primariamente (anche se non esclusivamente) facendo glicolisi nel citoplasma (nello specifico quella che comunemente viene chiamata glicolisi anaerobica) quindi buona parte della ricerca sulla fisiologia del tumore si è focalizzata su questo meccanismo.

Noi abbiamo affrontato il problema sotto un'ottica totalmente diversa, cioè partendo dall'ipotesi che la cellula tumorale, derivando da una cellula sana, obbedisca alle sue stesse regole ancestrali di sopravvivenza e quindi abbia le medesime necessità della cellula da cui deriva, richiedendo lo stesso materiale per sopravvivere e duplicare. In particolare ciò su cui abbiamo concentrato la nostra attenzione è l'ambiente in cui vive la cellula tumorale e il modo in cui gli aminoacidi forniscano alla cellula dei messaggi che ne influenzino la vita o la morte.

## Un razionale scientifico completamente diverso. Come siete arrivati a questa ipotesi?

Ogni ricerca scientifica ben fatta nasce da ipotesi. Io mi considero fortunato perché ho trovato un team di persone che ha voluto ascoltare le mie ipotesi e le ha volute mettere alla prova insieme a me.

Diciamo che il percorso che ha portato al risultato di oggi sul *FEBS Journal* ha avuto inizio con un primo studio condotto all'Università dell'Aquila con il Professor Vincenzo Flati.<sup>1</sup> Avevamo già osservato che gli aminoacidi essenziali erano estremamente efficaci nell'aumentare la produzione energetica della cellula del miocardio anche in pazienti con grave insufficienza cardiaca, quindi volevamo verificare se questi stessi aminoacidi potessero proteggere i malati oncologici dal danno cardiaco da chemioterapici. Lo abbiamo dimostrato, *in vitro* e *in vivo*, ma a quel punto ci siamo posti il dubbio che questo effetto protettivo potesse in qualche modo comportare un vantaggio per la cellula tumorale, perché naturalmente non volevamo la responsabilità di proteggere le cellule dall'effetto del chemioterapico avvantaggiando dall'altra parte il tumore e nutrendolo in maniera favorevole.

La sorpresa che abbiamo avuto è stata, al contrario, che il somministrare gli aminoacidi insieme al chemioterapico aumentava notevolmente l'efficienza del trattamento sulle cellule tumorali. Il passaggio successivo, e direi naturale, è stato allora domandarsi se gli aminoacidi essenziali avessero un qualche effetto sulle cellule tumorali.

## Perché proprio gli aminoacidi essenziali?

Gli aminoacidi sono macronutrienti importantissimi nel metabolismo umano, necessari alla cellula per sintetizzare e duplicare. Questo vale per la cellula sana, ma anche la cellula tumorale deve sintetizzare proteine e lipidi per replicarsi e crescere. Quindi il nostro presupposto era che anche il tumore potesse essere influenzato dalla qualità dei nutrienti introdotti. Perciò abbiamo studiato l'efficienza del tumore variando la "qualità" di aminoacidi introdotti, distinguendoli in "essenziali" e "non essenziali".

Questa distinzione è molto importante: gli aminoacidi essenziali sono quelli che siamo costretti a introdurre perché non siamo in grado di sintetizzarne quantità sufficienti, quelli non essenziali sono derivabili dai primi, e sono particolarmente abbondanti nei cibi che introduciamo. Essi rappresentano la varietà di aminoacidi più presente nelle proteine dei mammiferi.

Bene, per prima cosa modificando l'alimentazione dei topi abbiamo variato la qualità degli aminoacidi introdotti e così osservato che somministrare soltanto aminoacidi essenziali aumentava notevolmente la durata di vita dell'animale. Al contrario, se l'animale assumeva solo aminoacidi non essenziali sopravviveva soltanto 2-3 settimane, in base alle dimensioni e all'età del soggetto.

La prima cosa che ci siamo chiesti è stata dunque: "quindi il tumore si nutre di aminoacidi essenziali o di non essenziali?".

## Sembrerebbe di aminoacidi essenziali.

Sembrerebbe così, ma in realtà abbiamo osservato che le cose non stanno per niente in questi termini.

Innanzitutto bisogna tenere presente che quantità e qualità del nutrimento presente nell'ambiente condizionano molto lo sviluppo di una cellula tumorale. È un meccanismo di controllo arcaico e insito nel DNA, già presente probabilmente

nella prima cellula originatasi dalla fusione di ovocita e spermatozoo e che tende a non perdersi con la differenziazione. La cellula neoplastica, quindi, non può ignorare questo controllo in quanto deriva da una cellula sana, anche se è andata incontro a “sdifferenziazione”, processo che ha comportato la perdita della capacità di svolgere tutta una serie di attività dispendiose (tra cui la capacità di produrre aminoacidi non essenziali dagli essenziali) al fine di mantenere soltanto quanto strettamente necessario per la replicazione ma aumentando la efficienza competitiva con le cellule sane. In questo modo la cellula tumorale risparmia energia ma, abbiamo scoperto, può sopravvivere solo in un ambiente estremamente ristretto e limitato in termini di concentrazioni di aminoacidi essenziali e non essenziali.

Per far meglio comprendere questo concetto faccio un esempio pratico. Immaginiamo la cellula tumorale come una macchina da corsa. La macchina da corsa, una “Formula 1”, è fatta per correre il più veloce possibile in un circuito e per farlo al meglio ha eliminato tutto quanto non necessario (aria condizionata, imbottitura dei sedili ecc.) in modo da poter essere leggera e veloce sulla pista. Ma questa stessa macchina, proprio per le sue caratteristiche, non sarebbe in grado di sopravvivere facilmente fuori da un circuito, non sarebbe in grado per esempio di stare in coda in città, o di percorrere un viottolo di campagna pieno di buche e sassi. Analogamente, la cellula tumorale è specificatamente efficiente a fare una certa cosa, cioè sopravvivere in un ambiente in cui ci sia una prevalenza di aminoacidi non essenziali rispetto agli essenziali. Pertanto quello che apparentemente parrebbe essere un vantaggio del tumore è in verità una debolezza.

## **Il lavoro pubblicato su FEBS ha dimostrato che gli aminoacidi essenziali hanno un effetto sulla cellula tumorale, ma hanno anche spiegato come questo avvenga?**

Certo non del tutto, ce ne mancano i mezzi, ma sì, nel nostro lavoro abbiamo individuato e descritto in parte questi meccanismi.

Sappiamo che una cellula sana si rinnova regolarmente degradando le proteine vecchie e sintetizzandone di nuove. In questo processo utilizza strumenti differenti, tra i quali l'autofagia e il sistema della ubiquitina/proteasoma. Insieme essi permettono l'attività di “proteostasi”, che ripulisce le cellule dalle strutture non più efficienti.

L'autofagia è stata descritta per la prima volta in modo completo non più di 10 anni fa, è un processo sempre attivo, che permette di riconoscere le proteine (ma non solo, anche strutture più grosse come i mitocondri) più vecchie e meno efficienti ed eliminarle, così da permettere la sintesi di proteine nuove e più efficienti. Il sistema ubiquitina/proteasoma invece, il cui funzionamento tuttora non è completamente caratterizzato, è un meccanismo molto mirato che non solo decide dell'eliminazione delle proteine ma anche del DNA e degli RNA, influenzando l'attuazione del controllo del genoma sulla cellula. Il sistema ubiquitina/proteasoma decide per esempio che enzimi devono essere presenti, oltre a veicolare le proteine che non vengono più utilizzate riducendo le dimensioni della cellula e facilitandone la sopravvivenza. Autofagia e proteolisi ubiquitino-mediata sono processi spesso attivi in parallelo e che dialogano fra di loro, ma potenzialmente del tutto indipendenti fra di loro. Come abbiamo dimostrato, un sistema identifica cosa non serve più, sia meno utilizzato o più vecchio, l'altro è specifico nel mantenere al massimo dell'efficienza ciò che viene costruito dalla cellula, creando spazio ed eliminando ciò che è meno efficiente. Nel nostro lavoro abbiamo visto che gli aminoacidi essenziali agiscono sulla cellula tumorale bloccando la proteolisi-ubiquitino-dipendente e iper-attivando l'autofagia. Quest'ultimo processo in particolare era ritenuto impossibile da attuare.

Questo è molto importante, perché quando la cellula tumorale rileva nell'ambiente la presenza di molti aminoacidi essenziali risponde a questo stimolo promuovendo la sintesi, e quindi facilitando il processo di duplicazione. Questo processo non può più essere arrestato una volta avviato. Dunque la cellula inizia a sintetizzare tutte le proteine necessarie alla sopravvivenza della cellula figlia così come della madre, ma nel momento in cui non trova aminoacidi non essenziali nell'ambiente circostante (e non essendo in grado di crearseli da sola) attiva l'autofagia, cercando di eliminare tutte le proteine che può sacrificare per produrre gli aminoacidi di cui è carente per completare le sintesi. L'insieme di questi due processi, la duplicazione e l'autofagia, portano alla creazione di due cellule incomplete, destinate a morire.

## **E questo in che tipo di cellule tumorali lo avete osservato?**

Noi abbiamo riportato i dati relativi al carcinoma del colon, ma il bello di questo fenomeno è che abbiamo osservato lo stesso tipo di meccanismi in altri tipi diversi di carcinoma: della mammella, della prostata e nel melanoma. Quello che possiamo inoltre dire è che tanto maggiore è la velocità di duplicazione del tumore tanto più velocemente le cellule andranno incontro a morte sulla base di questo meccanismo indotto dalla prevalenza di aminoacidi essenziali. Non conosciamo questi meccanismi in modo completo, vorremmo poterli studiare ma non ne abbiamo i mezzi per ora, però è

la prima volta che abbiamo stabilito come il tumore sia in grado di sopravvivere soltanto in un ambiente estremamente ristretto e modificabile in sicurezza per il paziente.

## Quali ritieni saranno le applicazioni di questa scoperta?

Noi riteniamo che il primo passo di applicazione in umano sarà l'uso nella protezione del cuore e del rene nei pazienti che fanno chemioterapia, sicuri del fatto che non soltanto questo non farà male ai pazienti, ma che li proteggerà anche dal danno da chemioterapici e nello stesso tempo aumenterà l'efficienza del chemioterapico.

## Perché questi meccanismi aumenteranno l'efficienza del chemioterapico?

Perché gli aminoacidi essenziali impediscono alcune mutazioni che normalmente la cellula neoplastica tende ad attuare per bloccare l'efficienza del chemioterapico nel portare a morte la cellula. Disponiamo di alcuni dati sull'equilibrio fra proteine pro- e anti-apoptosi (suicidio cellulare) che speriamo di riuscire a pubblicare presto, che ci permetteranno probabilmente di dimostrare che quello che si verifica non è soltanto un aumento di efficienza e sensibilità al chemioterapico, ma forse anche un aumento di efficienza e sensibilità alla radiazione: gli aminoacidi essenziali impediscono le modificazioni anti-suicidio cellulare che permettono al tumore di sfuggire all'effetto dei chemioterapici o dell'irradiazione.

## Questo studio può aprire le porte a grandi cambiamenti nel campo del trattamento del tumore.

Sì, forse un giorno i pazienti oncologici verranno trattati eliminando completamente le proteine dall'alimentazione, si nutriranno con alimenti creati ad hoc e unicamente con aminoacidi essenziali a dosaggi estremamente elevati (30-40 g al giorno) in maniera tale che gli aminoacidi essenziali potranno prendere il controllo della cellula tumorale rendendola più sensibile ai chemioterapici, o quantomeno influenzando la velocità di sviluppo del tumore. Allo stato attuale l'unica cosa che sappiamo, che abbiamo visto nelle nostre ricerche su animale, è che questo tipo di strategia abolisce il numero delle metastasi osservabili a parità di tempo di osservazione. È però uno studio fatto su numeri estremamente piccoli e al momento non sappiamo se e quando potremo continuare con questa ricerca perché ci mancano le risorse per farlo.

## Senza dubbio il vostro lavoro apre scenari di ricerca nuovi e offre nuove possibilità ai pazienti oncologici. Quale sarà ora il passo successivo?

Ci stiamo muovendo per poter portare la nostra ricerca su un piano più avanzato e sperimentare le nostre ipotesi in umano e in animale. La nostra ricerca è l'ennesima prova che i dati *in vitro* e quelli *in vivo* siano due cose molto lontane fra di loro. Però in questo contesto per poter disporre di dati concreti e validi è necessario arruolare numerosi pazienti e seguirli per diversi anni. Questo è molto difficile e costosissimo da fare, perciò la nostra idea ora è quella di fare uno studio di tolleranza del chemioterapico di breve termine, della durata di 3 mesi, che abbia come obiettivo primario la valutazione dell'efficacia protettiva di questo approccio sul danno cardiaco e renale, ponendoci poi come *endpoint* secondario la valutazione della risposta alla chemioterapia.

Oltre agli ostacoli prettamente legati alla realizzazione di uno studio clinico, inoltre, c'è da aggiungere che non è facile capire i meccanismi che portano a morte cellulare, perché ce ne sono diversi tipi. Per questo scopo lo studio dell'animale è indispensabile. L'apoptosi o il controllo delle metastasi, per esempio, sono meccanismi che già di per loro hanno diverse possibili origini. Ci rendiamo conto che quello che stiamo scoprendo a volte è molto diverso da quanto avevamo ipotizzato e derivabile dalle pubblicazioni precedenti, ma per comprendere questi meccanismi è peraltro necessario disporre di una solida preparazione nel campo della biologia molecolare, certamente non alla portata di tutti. Il nostro lavoro è sicuramente destinato a pochi esperti in questo campo, perché caratterizzato da una certa complessità, ma se ben interpretato può aprire nuovi scenari di studio e offrire grandi prospettive ai malati oncologici.

## Bibliografia

1. Bonfili L, Cekarini V, Cuccioloni M, Angeletti M, Flati V, Corsetti G, Pasini E, Dioguardi FS, Eleuteri AM. Essential amino acid mixtures drive cancer cells to apoptosis through proteasome inhibition and autophagy activation. FEBS

J. 2017 Jun;284(11):1726-1737. doi: 10.1111/febs.14081. Epub 2017 May 11.PMID: 28391610

2. Flati V, Corsetti G, Pasini E, Rufo A, Romano C, Dioguardi FS1. Nutrition, Nitrogen Requirements, Exercise and Chemotherapy-Induced Toxicity in Cancer Patients. A puzzle of Contrasting Truths? *Anticancer Agents Med Chem.* 2016;16(1):89-100.



## On Medicine

Anno XII, Numero 2 - giugno 2018



### FOCUS

## Gli aminoacidi essenziali portano le cellule tumorali all'apoptosi inibendo il proteasoma e attivando l'autofagia

Redazione On Medicine

Le cellule tumorali hanno bisogno di energia e di materiale per sopravvivere, duplicare e crescere, in un ambiente biologico in cui sono in competizione con le cellule sane.

Finora pochi studi hanno indagato in che modo, in quali condizioni ambientali, le cellule del tumore crescano e cerchino di riprodursi con maggior efficienza rispetto alle cellule normali, in quanto l'argomento è complesso e finora la ricerca ha invece cercato di comprendere soprattutto in che modo il tumore producesse energia, così da individuare strategie terapeutiche che interferissero con questo processo in modo da neutralizzare il tumore attraverso mezzi fisici e biologici.

Per la prima volta un gruppo di ricercatori italiani, guidati dal Professor Francesco Saverio Dioguardi dell'Università di Milano, ha analizzato questa problematica partendo dall'ipotesi che una cellula tumorale, in quanto derivata da una sana, sia soggetta alle stesse regole di sopravvivenza e abbia le medesime necessità della cellula da cui proviene.

Sebbene il ruolo della nutrizione nel rallentare la progressione tumorale e nel favorire la sopravvivenza alla chemioterapia sia noto fin dai primi anni '50, molto poco si conosce dei meccanismi attraverso i quali la cellula del tumore regoli le sintesi cellulari necessarie per replicare e si avvantaggi dal punto di vista metabolico rispetto a una cellula sana.

Lo studio, pubblicato a giugno 2017 su *The FEBS Journal*, una tra le più prestigiose riviste internazionali di Biochimica e Biologia molecolare, è partito dal presupposto che nel metabolismo dei mammiferi l'utilizzo di macronutrienti avvenga secondo una precisa gerarchia, in cui gli aminoacidi (aa) rappresentano le uniche fonti di azoto. Gli aa rappresentano elementi fondamentali per la cellula anche perché, oltre che rappresentare una fonte calorica, influenzano e modulano numerosi processi, contribuendo a mantenere la cellula in vita e consentendole di crescere. Gli aa però non sono tutti uguali, sono contenuti in proporzioni diverse nelle diverse proteine e, soprattutto, non possono essere tutti sintetizzati a livello endogeno.

La categorizzazione più rilevante ai fini biologici distingue infatti tra aa essenziali (EAA) e aa non essenziali (NEAA): i primi non sono sintetizzabili in quantità sufficienti da parte dell'organismo mentre i secondi lo sono a partire dagli essenziali, quando questi ultimi siano disponibili in sufficienti quantità nell'ambiente circostante.

La ricerca pubblicata su FEBS ha ipotizzato che alterare l'equilibrio tra EAA e NEAA introdotti con l'alimentazione potesse alterare l'ambiente di sviluppo della cellula tumorale e influenzarne così il destino di vita o morte.

## Lo studio nel dettaglio

I ricercatori hanno testato due miscele speciali di aminoacidi essenziali: una costituita al 100% da EAA, l'altra da un 85% di EAA e un 15% di NEAA, valutando poi i loro effetti sulla sopravvivenza di linee cellulari sane (derivanti da tessuto mammario normale) e tumorali (i modelli sperimentali comprendevano cellule HeLa, linee cellulari di cancro del colon-retto umano, cellule di adenocarcinoma mammario e cellule di epatocarcinoma umano).

Ciò che è emerso dallo studio è che la somministrazione di queste diverse formulazioni di aa ha comportato un effetto pro-apoptotico che è risultato particolarmente evidente nelle cellule tumorali del colon e del tutto non osservabile nelle linee cellulari sane.

Un effetto dipendente dal tipo di cellula dunque, specifico però per le cellule neoplastiche. Nello specifico, dal punto di vista molecolare, l'effetto pro-apoptotico era conseguenza di due precisi eventi: l'inibizione della proteolisi ubiquitino/proteasoma-mediata e l'attivazione dell'autofagia, che sono due differenti strumenti impiegati dalla cellula sana per degradare le proteine vecchie e/o inutilizzate e rinnovarle. Con ciò, provando anche la non scontata indipendenza dei due sistemi, altamente integrati nella cellula.

Questi risultati hanno pertanto dettagliato ulteriormente la stretta correlazione esistente tra questi due processi cellulari, dimostrando (per la prima volta) che alla variazione del rapporto ambientale tra EAA e NEAA la cellula tumorale reagisce cercando di mantenere un equilibrio a lei favorevole, autodistruggendosi nel processo per incapacità di adattamento. Già altri studi clinici avevano dimostrato che la supplementazione con miscele bilanciate di EAA comportasse benefici organici in numerose patologie, in particolare nell'insufficienza cardiaca cronica, migliorando qualità di vita e performance fisica, nell'animale anche un prolungamento della sopravvivenza, ma nessuno mai aveva individuato e indagato i meccanismi molecolari alla base della citotossicità indotta dagli EAA nelle cellule cancerose.

## Conclusioni: cosa ha dimostrato questo studio?

Lo studio del Professor Dioguardi e colleghi ha per la prima volta offerto una nuova visione della biologia del tumore, dimostrando che la cellula tumorale si è evoluta per sopravvivere in un ambiente ristretto a concentrazioni di NEAA prevalenti sugli EAA, che essa sfrutta appieno adattandosi completamente e in cui sa riprodursi e crescere in modo estremamente efficiente, ma che questo potenziale punto di forza in realtà può diventare la sua principale debolezza.

Un cambiamento improbabile in natura nell'ambiente circostante, in cui si crei un eccesso di EAA rispetto ai NEAA, rappresenta un messaggio cui la cellula tumorale è costretta a rispondere in maniera "obbligata" mantenendo la spinta alla duplicazione (normalmente limitata dalla carenza di EAA) ma bloccando la proteolisi ubiquitino-mediata, e attivando l'autofagia per mantenere un flusso di NEAA proporzionato alla disponibilità di EAA. Ma nel corso del processo di duplicazione (che non è più arrestabile) la carenza relativa di NEAA costringe la cellula ad aumentare enormemente l'autofagia per procurarseli, attivando così il processo di morte spontanea per apoptosi, che è un processo scritto nel DNA di ogni cellula, sana o neoplastica che sia.

L'ipotesi è che la cellula tumorale non sia in grado di sintetizzare i NEAA poiché non sfrutta la glicolisi aerobica mitocondriale dipendendo pertanto dalla sovrabbondanza di NEAA nell'ambiente del corpo, cosa che le permette di ridurre i carichi metabolici e il fabbisogno enzimatico, di sfruttare la propria produzione energetica in modo specifico per aumentare la propria efficienza a duplicare e poter competere con la cellula sana per la sopravvivenza in uno specifico ambiente.

Tutti questi eventi hanno come risultato finale la duplicazione in due cellule quanto più "vuote", prive delle strutture proteiche sufficienti per sopravvivere, quindi destinate alla morte nel processo stesso di duplicazione.

La scoperta di una così specifica debolezza metabolica può permettere degli sviluppi straordinari nel campo della ricerca, in quanto se è stato dimostrato che un aumento degli EAA nella dieta prolunga la sopravvivenza delle cavie, ora è evidente anche che queste stesse condizioni aumentano la probabilità di morte delle cellule tumorali.

L'articolo completo è reperibile qui: <https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/febs.14081>.

*Gentili lettori, On Medicine questo mese ha avuto l'opportunità di intervistare il Professor Francesco Dioguardi, che ha approfondito con noi questa tematica fornendoci ulteriori spunti di riflessione. Trovate l'intervista all'interno di questo numero.*

## Bibliografia

- Bonfli L, Cecarini V, Cuccioloni M, Angeletti M, Flati V, Corsetti G, Pasini E, Dioguardi FS, Eleuteri AM. Essential amino acid mixtures drive cancer cells to apoptosis through proteasome inhibition and autophagy activation. *FEBS J.* 2017 Jun;284(11):1726-1737.
- Dioguardi FS. Gli aminoacidi. Lettere di un alfabeto più antico della vita. 2018; Sintesi Infomedica.
- D'Antona G, Ragni M, Cardile A, Tedesco L, Dossena M, Bruttini F, Caliaro F, Corsetti G, Bottinelli R, Carruba MO, Valerio A, Nisoli E. Branched-chain amino acid supplementation promotes survival and supports cardiac and skeletal muscle mitochondrial biogenesis in middle-aged mice. *Cell Metab.* 2010 Oct 6;12(4):362-72.

## On Medicine

Anno XII, Numero 2 - giugno 2018



### APPROFONDIMENTI

## Valutazione dell'efficacia antibatterica dell'olio di girasole ozonizzato sulla flora crevicolare. Estratto di tesi di master di II livello in ossigeno-ozono terapia

Ciavanni R

Da tempo l'attenzione del mondo odontoiatrico si è focalizzata sui problemi che la malattia paradontale provoca nei pazienti, soprattutto con l'avanzare dell'età. Spesso, infatti, giungono alla visita dello specialista odontoiatra soggetti (dai 30-35 anni in avanti) con infiammazione cronica delle gengive che si manifesta con sanguinamento, edemi e piccoli ascessi. Le gengiviti di sovente si evolvono in "tasche" gengivali che nel tempo minano la stabilità del dente, provocandone anche la rimozione. Tetraciline, metronidazolo,  $\beta$ -lattamici, macrolidi e clorexidina sono le molecole farmacologiche più impiegate per questo disturbo, ma anche le terapie fotodinamiche, il laser, l'ablazione e le levigature radicolari sono tra i trattamenti non chirurgici più comuni, mirati a curare o ad attenuare le parodontopatie riducendo l'aggressività della flora batterica locale. Tutto ciò deve sempre essere accompagnato da un'igiene domiciliare giornaliera e continua, integrata necessariamente dall'igiene professionale (presso un igienista o un odontoiatra).



Ogni Ozonoterapista conosce molto bene le qualità e la validità terapeutica dell'Ozono, molecola caratterizzata da azione battericida (sia sui gram negativi sia sui gram positivi), fungicida e virustatica. Purtroppo nel passato la volatilità che caratterizza l'Ozono (in soli 5 minuti infatti si scinde in Ossigeno  $O_2+O$  radicale libero) ne ha permesso l'impiego soltanto presso gli studi odontoiatrici, ma oggi, grazie alla tecnologia dell'ozonizzazione di oli vegetali ad alta insaturazione che permette di mantenere nel tempo l'azione della molecola, si è reso possibile anche l'utilizzo domiciliare della sua forma in gel. Lo scopo di questo lavoro è stato quindi di valutare l'azione battericida dell'Ozono, sotto forma di un gel orale mucoadesivo al 15% di olio di semi di girasole ozonizzato, sulla microflora orale e in particolar modo su quella nel solco paradontale (cioè della flora crevicolare) considerata, per la sua aggressività, la principale causa di gengiviti e parodontiti. Il metodo utilizzato è innovativo ed è stato quello di concentrare l'azione del "gel orale" sulla struttura gengivo-dentaria attraverso l'impiego

di mascherine personalizzate appositamente confezionate.

## Il protocollo dello studio: un metodo personalizzato

Lo studio ha coinvolto tre pazienti, di sesso femminile ed età differente (25, 34 e 56 anni). Tutte le pazienti si sono sottoposte a cicli di igiene professionale per gengiviti ricorrenti e formazione di tartaro; una di queste (che abbiamo denominato “caso 2”) presentava anche un’elevata propensione alla carie.

Prima di prendere parte allo studio ogni paziente è stata adeguatamente informata e ha fornito il consenso scritto a partecipare.

Nel corso della prima visita, insieme alla consegna del foglio informativo, sono state prese a ogni paziente le impronte in alginato di entrambe le arcate dentarie.

In occasione dell’incontro successivo le pazienti sono state sottoposte a prelievo del fluido crevicolare mediante coni di carta sterili in 5 diversi siti (2 denti superiori e 3 denti inferiori, definiti e segnalati in cartella). Il campione è stato poi inviato al laboratorio per l’analisi BPA (*Bacterial Periodontal Assessment*), è un’indagine in grado di fornire un risultato qualitativo e quantitativo relativamente ai principali agenti patogeni responsabili della parodontite e delle complicanze legate all’implantologia.

In parallelo le pazienti sono state istruite a utilizzare a domicilio due mascherine personalizzate trasparenti, una superiore e una inferiore, realizzate con un particolare materiale termoplastico (Etilene Vinil Acetato -EVA) sulla base dei modelli in gesso ricavati dalle impronte prese durante la prima visita (**Figura 1**).

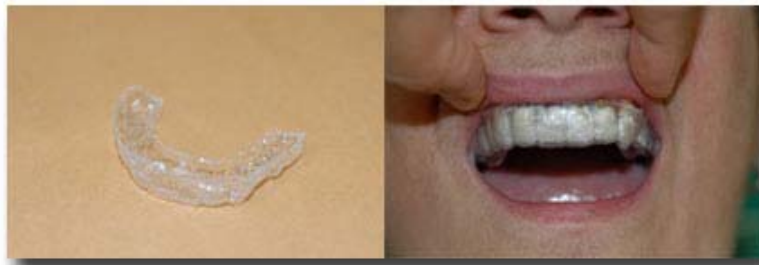


Figura 1. La mascherina personalizzata realizzata in EVA indossata a domicilio dalla paziente.

Le pazienti dovevano posizionare queste mascherine dopo avervi applicato il gel e indossarle per 15 minuti alla sera, dopo cena e dopo l’igiene orale. Questa procedura doveva essere ripetuta ogni giorno per 15 giorni.

Dopo questo periodo, le pazienti sono state nuovamente sottoposte a prelievo per l’analisi BPA.

## L’analisi microbiologica

I prelievi sono stati analizzati da un laboratorio specializzato e i risultati sono stati organizzati in una scheda campione utile per le analisi e le conclusioni finali. L’analisi è stata effettuata tramite metodica “PCR Real Time in doppio”, metodo che simultaneamente amplifica e quantifica il DNA permettendo la conta delle copie presenti nel campione. La classificazione microbiologica utilizzata è stata quella di Socransky, che divide i batteri maggiormente presenti nel solco gengivale in tre complessi, come illustrato in Tabella 1.

Tabella 1. Classificazione microbiologica di Socransky

<i>Aggregatibacter</i> <i>Actinomycetemcomitans</i>	<i>Fusobacterium nucleatum ssp</i>	<i>Eikenella corrodens</i>
<i>Tannerella forsythensis</i>	<i>Prevotella intermedia</i>	
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Campylobacter rectus</i>	
<i>Treponema denticola</i>		
<i>Peptostreptococcus micros</i>		

La patogenicità dei batteri varia in funzione del colore. I complessi rosso e arancione, prevalentemente Gram-negativi, costituiscono i principali agenti eziologici delle malattie parodontali. Il complesso rosso è correlato alla profondità delle tasche parodontali, al sanguinamento e al sondaggio (quindi alla progressione della malattia) e laddove questi batteri sono presenti in maggioranza si riscontrano lesioni parodontali più gravi e croniche. Il complesso arancione invece

esplica la sua pericolosità precedendo la colonizzazione e permettendo una maggiore aggregazione batterica. Tutti questi microrganismi, chi in misura chi in specificità, risultano essere i principali colpevoli dell'avvio del lento e distruttivo processo proprio della malattia paradontale.

La flora batterica è particolarmente concentrata nel cavo orale, in un millilitro di saliva si ritrovano oltre 500 milioni di batteri e in 1 grammo di placca dentaria ben 10 miliardi. Il microbiota orale è estremamente complesso e specializzato a sopravvivere nell'ecosistema orale, molte sono le specie differenti che lo caratterizzano (circa 600) e non tutte sono state identificate e/o classificate. Tutto ciò rende impossibile ottenere una conta definitiva di tutti i batteri, ma l'analisi di laboratorio è utile ai fini della ricerca di questa tesi per dimostrare l'azione diretta dell'Ozono su determinati batteri appartenenti a una zona anatomica difficile da trattare e curare quale il solco gengivale.

## Risultati in sintesi

La prima analisi, quella più importante, ci ha permesso di osservare l'efficace azione di riduzione della flora batterica paradontale dell'olio ozonizzato (**Tabella 2**). Nonostante la brevità della terapia (15 giorni) e la sua comodità (una sola somministrazione) l'azione locale dell'Ozono è stata sottolineata dalla riduzione del 55% della carica batterica totale, ma anche, complessivamente, di quella patogena e dei saprofiti (**Tabella 3 e 4**). L'uso di mascherine anatomiche ha permesso un contatto diretto della sostanza con la parete del dente e il relativo solco gengivale e ne ha sicuramente potenziato l'effetto. Vista l'efficacia si può pensare a una maggior azione battericida con la doppia somministrazione giornaliera. Considerando la facilità d'uso e i possibili cicli ripetitivi della terapia e il fatto che questo trattamento non comporti alcun effetto collaterale, si potrebbe osservare anche un buon mantenimento dell'effetto terapeutico nel tempo.

I risultati della seconda analisi (**Tabella 5**) ci hanno indicato che il complesso rosso di Socransky, ricco di batteri con una spiccata patogenicità verso le lesioni paradontali, risulta essere quello più sensibile all'Ozono, mentre appare più resistente il complesso arancione che, come evidenziato in precedenza, lascia costante il rischio di futura ricrescita e aggregazione dei batteri patogeni. Il mutamento della flora a favore di batteri meno invasivi è comunque un risultato positivo. Anche in questo caso raddoppiare la somministrazione del gel e/o allungare la terapia può portare solo a un miglioramento.

La Tabella 6 indica, per la paziente del caso 2, la presenza insolita nella flora crevicolare di due batteri: il "*Mutans*" e il "*Salivarius*". Questi ultimi sono pericolosi in quanto sono i primi responsabili della carie. Il risultato sorprendente di riduzione a meno di 100 copie dimostra ancora una volta l'efficacia dell'azione battericida della molecola.

Tabella 2. Riduzione della carica batterica totale

Carica batterica totale	28/09/2016	14/10/2016	%
Caso 1 (anni 56)	11.200.000	6.720.000	-40%
Caso 2 (anni 34)	11.500.000	2.540.000	-78%
Caso 3 (anni 25)	3.560.000	2.530.000	-29%
<b>Totale</b>	<b>26.260.000</b>	<b>11.790.000</b>	<b>-55%</b>

Tabella 3. Riduzione della carica batterica patogena

Carica batterica patogena	28/09/2016	14/10/2016	%
Caso 1 (anni 56)	1.680.000	678.720	-60%
Caso 2 (anni 34)	2.111.400	689.610	-67%
Caso 3 (anni 25)	108.580	283.613	+161%
<b>Totale</b>	<b>3.899.980</b>	<b>1.651.943</b>	<b>-58%</b>

Tabella 4. Riduzione della carica batterica saprofiti

Carica batterica patogena	28/09/2016	14/10/2016	%
Caso 1 (anni 56)	9.520.000	6.041.280	-37%
Caso 2 (anni 34)	9.388.600	1.850.390	-80%
Caso 3 (anni 25)	3.451.420	2.246.134	-35%
<b>Totale</b>	<b>22.360.020</b>	<b>10.137.804</b>	<b>-55%</b>

Tabella 5. Riassuntiva dei tre casi

Totale	28/09/2016	14/10/2016	%
Differenza complesso rosso	3.506.053	1.139.002	-67,51%
Differenza complesso arancione	315.744	492.071	+55,85%
Differenza complesso verde	77.794	20.721	-73,36%
	3.899.590	1.651.795	-57,64%

Tabella 6. Dati provenienti dal Caso 2 (anni 34)

Batteri prettamente salivari	N° copie	
Streptococco mutans	290	<100
Lactobacillus salivarius	1.100	<100
Evidente differenza in riduzione nei due prelievi	28/09/2016	14/10/2016

In generale l'analisi mostra una ottima risposta in tutti e tre i casi in termini di riduzione della flora batterica totale. Solo il caso 3 si discosta da questo trend, ma va detto che il +161% evidenziato nella Tabella 3 (come anche il +55,85% registrato in Tabella 5) è dovuto solo a un incremento del complesso arancione, quindi a una condizione meno "temibile". Il dato essenziale è che nel 100% dei casi abbiamo osservato comunque un decremento della flora totale e che l'Ozono è sicuramente efficace nel 66% dei pazienti nel ridurre i tre complessi patogeni.

## Conclusioni

I progressi nella comprensione della malattia paradontale sono stati notevoli, sia per quel che riguarda la sua patogenesi sia anche la sua possibile associazione (in forma diretta o indiretta) con malattie sistemiche come quelle cardiovascolari, il diabete, le patologie polmonari e i tumori all'esofago. Gli stessi avanzamenti in campo terapeutico non chirurgico sono quasi sempre discutibili per la loro efficacia, effetti collaterali, complessità e costi.

Le ragioni che ci hanno spinto a verificare la validità di questo protocollo anche con esami di laboratorio sono diverse:

1. L'evidenza clinica del beneficio paradontale legato all'utilizzo del gel orale mucoadesivo al 15% di olio di semi di girasole ozonizzato;
2. la sicurezza della molecola, il cui impiego non comporta alcun effetto collaterale anche nel lungo periodo (come dimostrato dalla numerosa bibliografia);
3. la praticità della formulazione idrogel e le sue proprietà terapeutiche;
4. la comodità per il paziente nell'eseguire la terapia a domicilio.

I risultati ottenuti da questo studio, seppur effettuato su pochi pazienti, confermano l'efficacia dell'azione dell'Ozono nel ridurre la flora batterica presente nel fluido crevicolare. L'incoraggiante risultato può dare adito a ulteriori indagini e approfondimenti, quali:

- verificare con ulteriore test a distanza il mantenimento delle concentrazioni batteriche;
- ripetere il test con due somministrazioni, mattina e sera, in pazienti con gravi parodontopatie;
- ripetere la ricerca finalizzandola alla valutazione dell'efficacia dell'Ozono sulla flora batterica salivare, nel ridurre cioè il rischio di carie.

Resta inteso che la prevenzione primaria effettuata con un'igiene domiciliare scrupolosa e quotidiana, insieme a quella professionale programmata e alle buone abitudini alimentari e comportamentali, rimangono una regola fondamentale da praticare per non inficiare qualsiasi terapia e annullarne gli effetti positivi in breve tempo. Il mantenimento del cavo orale in uno stato di buona salute permette anche di ridurre rischi di malattie generali ben più gravi e debilitanti, nonché di una perdita globale dei denti.

*A cura di Raffaele Ciavanni*

*Medico Chirurgo, Odontoiatra, Ozonoterapista*

## **Bibliografia**

- Linee guida nazionali per la promozione della salute orale e la prevenzione delle patologie orali in età adulta. Aggiornamento anno 2015. A cura di Ministero della Salute.
- Teti G, Mattina R. Microbiologia del cavo orale; in Poli G, Cocuzza G, Nicoletti G, Clementi M (II ed). Microbiologia medica. UTET, 2002.
- Bocci V et al: Studies on the biological effects of ozone: 3. An attempt to define conditions for optimal induction of cytokines. Lymphokine Cytokine Res. 1993 Apr;12(2):121-6.
- Guinesi AS et al. Ozonized oils: a qualitative and quantitative analysis Braz Dent J. 2011;22(1):37-40.
- Geweely NSI. Antifungal activity of ozonized Olive Oils (Oleozone). Int. J. Agri. Biol. 2006;8(5):670-5.
- Zanardi I et al. What is the best strategy for enhancing the effects of topically applied ozonated oils in cutaneous infections? Biomed Res Int. 2013;2013:702949.
- Sanseverino R. Aspetti immunologici dell'ozonoterapia. Rivista Italiana di Omotossicologia. 1989;3:19-24.
- Di Pierro F. Argomenti di terapia batterica. CEC editore, 2015.
- Malattie Parodontali e sistemiche. Revisione Letteratura. A cura della SidP (Società Italiana di Parodontologia)<http://www.sidp.it/progetti/www.periomedicine.it/?f=http://www.sidp.it/progetti/www.periomedicine.it/parodontite/letteratura/index.html>
- Pseudomonas-Gingivalis, Tumore Esofago, Il Dentista Moderno. 2016, 5.



## On Medicine

Anno XII, Numero 2 - giugno 2018



### IL PARERE DELLO SPECIALISTA

## Osteoporosi e frattura di femore: gestione del paziente

Galmarini V

La percezione della rilevanza delle fratture da fragilità (in particolar modo di quelle del collo femorale) è ancora limitata nella popolazione generale e presso la stessa classe medica, nonostante il considerevole impatto di questa problematica sui soggetti anziani e sulle famiglie in termini di salute e qualità della vita, nonché sul Sistema Sanitario Nazionale (SSN) in termini di risorse economiche erogate.

È di fondamentale importanza sensibilizzare le figure interessate alla gestione del soggetto con frattura del collo del femore riguardo ai fattori di rischio e alle numerose e valide strategie farmacologiche oggi a disposizione: in questo sono coinvolti l'Ortopedico, che opera il paziente con frattura del collo del femore, il Fisiatra che interviene per una riabilitazione "personalizzata" e il Medico di Famiglia, che esercita un monitoraggio globale delle comorbidità.

Importante premessa è la considerazione che le uniche manifestazioni dell'osteoporosi sono le fratture e le loro conseguenze.

Oltre al collo del femore, le fratture da fragilità possono interessare tutti i segmenti scheletrici, ma principalmente il corpo vertebrale, il radio distale e il collo dell'omero. Mentre la diagnosi di frattura vertebrale è spesso difficile, tanto che solo in un terzo dei soggetti si formula una diagnosi clinica (i criteri per farlo prevedono presenza di dolore dorso-lombare anche senza trauma efficiente, ipercifosi del rachide dorsale, calo staturale di oltre 6 cm, distanza tra le ultime coste e la cresta iliaca inferiore a 2 cm e uso prolungato di steroidi) alla base delle fratture degli altri distretti ossei è sempre presente un trauma da caduta.

Tra i soggetti anziani le fratture osteoporotiche sono una delle maggiori cause di mortalità, con incidenza sostanzialmente sovrapponibile a quella correlata all'ictus e al carcinoma mammario e superiore di 4 volte a quella del carcinoma endometriale.

La diagnosi di osteoporosi si basa sull'indagine densitometrica, che misura in modo abbastanza accurato e preciso la massa ossea e la densità (*Bone Mineral Density* - BMD), responsabile della resistenza meccanica dell'osso per il 60-80%. Con l'evoluzione dei software della densitometria (*Hip Structural Analysis* - HSA e *Trabecular Bone Score* - TBS), in realtà poco diffusi per i costi, si riescono oggi ad avere anche informazioni sulla qualità ossea del paziente, migliorando in tal modo il suo inquadramento clinico e il monitoraggio.

Nella patogenesi della frattura intervengono molti fattori di rischio, che possono direttamente ridurre la BMD o che ne risultano indipendenti. Da questo deriva che, mentre con la densitometria possiamo identificare una soglia diagnostica

di osteoporosi, solo valutando i fattori di rischio indipendenti dalla BMD possiamo individuare una soglia terapeutica. I pazienti andranno pertanto trattati dal punto di vista farmacologico in base all'integrazione tra BMD e fattori di rischio di frattura, elencati in **Tabella 1**.

<b>Modificabili</b>	<b>Non modificabili</b>
Ridotta attività fisica	Età avanzata
Ridotto introito di calcio	Menopausa precoce
Deficit di esposizione al sole e di vitamina D	Amenorrea
Magrezza	Nulliparità
Abuso di alcool	Uso cronico di corticosteroidi
Fumo	Familiarità
Elevato consumo di caffè	Razza bianca

Tabella 1. Principali fattori di rischio di frattura.

### Inquadramento dell'osteoporosi

L'osteoporosi è una malattia sistemica dello scheletro caratterizzata da una *ridotta massa ossea e da variazioni qualitative* della micro e macroarchitettura dell'osso, da alterazioni della sua geometria e delle proprietà materiali e dalla presenza di microdanni, *che si accompagnano a un aumento della fragilità ossea e, di conseguenza, del rischio di frattura (Figura 1)*.



Figura 1. Alterazioni a carico dell'osso provocate dall'osteoporosi.

L'incidenza di osteoporosi aumenta con l'età e arriva a interessare la maggior parte della popolazione oltre l'ottava decade di vita. Si stima che in Italia ci siano oggi circa 3,5 milioni di donne e 1 milione di uomini affetti da osteoporosi. In Italia l'aspettativa di vita è salita progressivamente negli ultimi anni: nel 1930 era di 53,8 anni per gli uomini e di 56 per le donne; nel 2010 è salita rispettivamente a 79,4 e 84,5 anni e nel 2016 a 80,6 e 85,1 anni, con una media di 82,8 anni.

Al primo gennaio 2017 gli over 65 superavano i 13,5 milioni, rappresentando il 22,3% della popolazione italiana, e gli ultraottantenni erano ben l'8%. A questo corrisponde anche un calo delle nascite, che ha raggiunto il livello minimo (474.000 nuovi nati) nel 2016 (dati ISTAT 2016).

Poiché nei prossimi 20 anni la percentuale della popolazione italiana al di sopra dei 65 anni d'età aumenterà del 25%, ci dovremo attendere un proporzionale incremento dell'incidenza dell'osteoporosi.

Il *life time risk* di frattura osteoporotica a carico del polso distale, dei corpi vertebrali o del femore prossimale è di circa il 15% per ogni sito specifico e del 40% per tutti i siti complessivamente.

Nella popolazione italiana con oltre 50 anni d'età il numero di fratture di femore in un anno supera le 90.000 unità e per quelle vertebrali nel 2010 sono stati registrati oltre 70.000 accessi al Pronto Soccorso ma, per la sottostima prima analizzata, si teme che il loro numero sia di oltre 10 volte superiore (**Figura 2**).

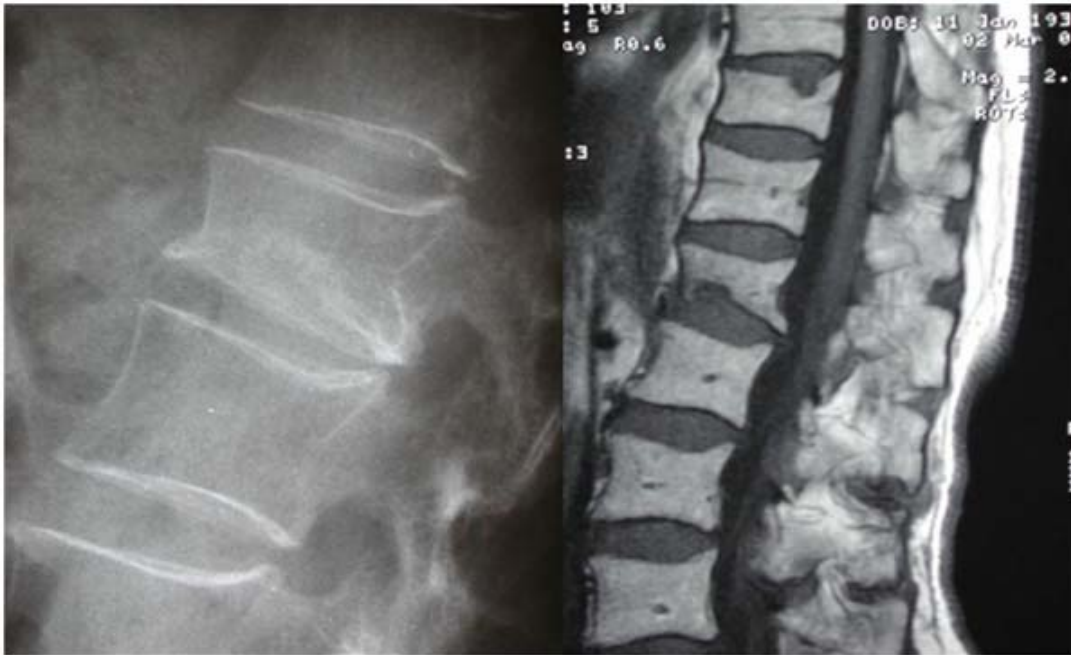


Figura 2. Frattura del corpo vertebrale lombare: nonostante sia causa di numerosissimi accessi al pronto soccorso, si ritiene che questo tipo di frattura sia un evento sottostimato.

Le fratture osteoporotiche hanno importanti implicazioni sociali ed economiche, oltre che sanitarie.

I pazienti con frattura del femore prossimale presentano mortalità del 5% in acuto e del 15-30% entro un anno dall'evento.

L'incremento della mortalità persiste per 5 anni per tutte le fratture e sino a 10 anni per la frattura di femore.

L'aver subito una frattura da fragilità è il principale fattore di rischio per l'insorgenza di altre fratture, anche indipendentemente dai valori della BMD. In ogni caso è stato dimostrato che, in entrambi i sessi, una riduzione del 10-12% della BMD, in qualsiasi sito essa venga misurata, raddoppia il rischio di frattura del femore, delle vertebre e del polso. In tutti gli studi condotti sul tema viene chiaramente evidenziato che un frattura del collo del femore aumenta di 6-8 volte la probabilità di un seconda frattura femorale rispetto al rischio di soggetti coetanei senza pregresse fratture (**Figura 3**).



Figura 3. Nuova frattura del collo femore dopo 6 mesi. Nell'immagine si osserva una osteosintesi a destra e una protesi cefalica a sinistra.

Un soggetto di sesso femminile con frattura vertebrale presenta un rischio del 19% di subire una nuova frattura

vertebrale entro un anno, rischio che dopo due fratture aumenta ulteriormente di oltre 7 volte. In presenza di una frattura di femore si possono osservare fratture vertebrali nel 50% dei casi. Anche la semplice frattura del radio distale rappresenta un elemento sensibile di fragilità scheletrica, predisponendo a ulteriori fratture, in particolar modo del femore (Tabella 2).

Precedente frattura	Rischio di ulteriore frattura (rispetto ad un paziente non fratturato)		
	Polso	Vertebra	Femore
Polso	3,3	1,7	1,9
Vertebra	1,4	4,4	2,3
Femore		2,5	2,3

Tabella 2. Rischio di rifrattura (da Black D, 1999).

A un anno dalla frattura del femore il 40% dei pazienti non è in grado di camminare autonomamente, il 60% è limitato in attività di classe 1 (mangiare, lavarsi e vestirsi) e l'80% in attività di classe 2 (fare la spesa, salire e scendere le scale ed esercitare il giardinaggio). Questa riduzione del livello di autosufficienza comporta l'istituzionalizzazione a lungo termine in circa il 20% dei casi.

L'impatto economico delle fratture da osteoporosi in Italia è rilevante: si stima che esso superi i 7 miliardi di euro/anno (60% per le fratture del femore prossimale), di cui *solo* 360.000 per la prevenzione farmacologica secondaria, a dimostrazione di quanto sia sottostimata questa patologia.

## Classificazione dell'osteoporosi

L'osteoporosi può essere classificata in due forme principali, che a loro volta includono differenti varietà:

- Le **osteoporosi primitive** includono la varietà giovanile, post-menopausale e maschile. La **forma post-menopausale** è caratterizzata da una rapida perdita d'osso a livello trabecolare, con perforazione delle trabecole ossee e parziale risparmio dell'osso corticale, ed è responsabile principalmente delle fratture vertebrali e del radio distale. Essa è caratterizzata da un elevato *turn-over* osseo, con aumento del riassorbimento endostale e inibizione della formazione ossea periostale. La **forma maschile** ha invece rilevanza in quanto il 20% delle fratture di femore si verifica nel sesso maschile e l'incidenza di fratture vertebrali è circa la metà rispetto a quella della donna. Nei due terzi dei casi è secondaria (mentre nelle donne lo è in un terzo dei soggetti).
- Le **osteoporosi secondarie** sono legate a numerose patologie e al trattamento con determinati farmaci, tra cui predominano quelle provocate da glucocorticoidi.

## Fattori di rischio

La patogenesi della frattura deve tenere conto dei molteplici fattori di rischio che influenzano resistenza ossea, frequenza e tipo di trauma.

- **Densità minerale ossea.** Dipende dal picco di massa ossea raggiunto all'apice dello sviluppo e dalla perdita ossea correlata alla menopausa e all'invecchiamento ed è influenzata da fattori genetici e nutrizionali, abitudini di vita, malattie coesistenti e terapie farmacologiche. Il potere predittivo della densità minerale ossea per le fratture è simile a quello della pressione arteriosa per l'ictus e migliore di quello del colesterolo nella predizione dell'infarto miocardico.
- **Età.** Il rischio di frattura correlato all'età è parzialmente mediato dalla riduzione della BMD, ma dipende da altri fattori, quali alterazioni qualitative della struttura ossea, aumento della frequenza di cadute e rallentamento delle risposte protettive. Un identico *T-score* ha un significato diverso alle differenti età e, a parità di BMD, il rischio di frattura è più elevato negli anziani rispetto ai giovani.
- **Pregresse fratture.** Soggetti con 3 o più fratture hanno un rischio di nuove fratture circa 10 volte superiore a chi non ha avuto fratture e 2-3 volte superiore a chi ha avuto una sola frattura.
- **Familiarità.**

- **Fumo.**
- **Comorbidità.** Le malattie più frequentemente associate ad aumentato rischio di frattura sono: Artrite reumatoide e altre connettiviti, diabete (i soggetti con questa patologia tendono a fratturarsi a livelli di BMD superiori rispetto a quelli dei soggetti non diabetici), BPCO, malattie infiammatorie croniche intestinali, AIDS, Parkinson, Sclerosi Multipla e grave disabilità motoria.
- **Terapie farmacologiche.** Con maggior rilievo per glucocorticoidi (**Tabella 3**) e terapie di blocco ormonale adiuvante (inibitori dell'aromatasi nelle donne operate per carcinoma della mammella e agonisti del GnRH negli uomini con carcinoma prostatico).
- **Fattori di rischio per cadute.** Sordità, disturbi del *visus*, patologie neuromuscolari, malattia di Parkinson, demenze, malnutrizione, abuso di alcool, ipovitaminosi D, oltre a fattori ambientali che potrebbero aumentare le cadute come barriere architettoniche, tappeti, scarsa illuminazione, ecc.

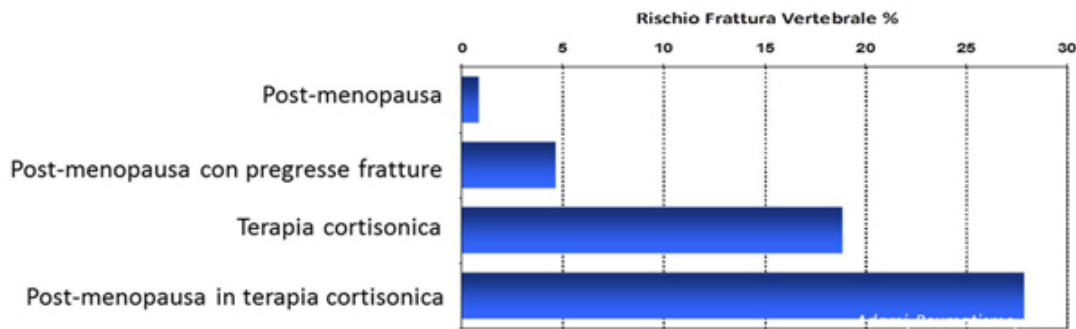


Tabella 3. Corticosteroidi e rischio di frattura vertebrale (da Adami S et al. 2000).

## Valutazione complessiva del rischio di frattura

Nell'ultimo decennio sono stati sviluppati algoritmi scaricabili dal web quali il FRAX e il DeFRA (quest'ultimo basato sui dati relativi al rischio di frattura della popolazione italiana stratificando in modo più accurato alcune delle variabili già presenti nel FRAX), che calcolano il rischio delle principali fratture da fragilità (vertebre, femore, omero e polso) nei 10 anni successivi. Essi integrano le informazioni derivanti dalla misurazione della BMD con quelle provenienti dalla presenza dei fattori di rischio clinici, aiutando in tal modo la decisione terapeutica.

## Diagnosi densitometrica

La diagnosi densitometrica di osteoporosi si basa sul confronto fra il valore di BMD del soggetto esaminato, espresso in Deviazioni Standard (DS), e il valore medio di BMD di giovani adulti sani al picco di massa ossea (*T-score*). Il valore di BMD può anche essere espresso in raffronto al valore medio di soggetti di pari età e sesso (*Z-score*).

Per l'Organizzazione Mondiale della Sanità la soglia per diagnosticare la presenza di osteoporosi (*T-score* < -2,5 DS) è applicabile soltanto ai valori densitometrici ottenuti con tecnica DEXA (*Dual-Energy X-ray Absorptiometry*). I criteri non sono applicabili a donne prima della menopausa né a uomini prima dei 50 anni.

## Diagnosi densitometrica

Gli esami di laboratorio sono fondamentali in quanto:

- possono consentire la diagnosi differenziale con altre malattie metaboliche dello scheletro che possono determinare un quadro clinico o densitometrico simile a quello dell'osteoporosi;
- possono aiutare a individuare possibili fattori causali, consentendo una diagnosi di osteoporosi secondaria;
- possono orientare nelle scelte farmacologiche e nel giudicare l'aderenza alla terapia.

La normalità di 8 semplici esami biochimici di I livello (VES, emocromo completo, protidemia frazionata, calcemia, fosforemia, fosfatasi alcalina totale, creatininemia, calciuria delle 24 ore) esclude nel 90% dei casi altre malattie o forme di osteoporosi secondarie.

Talvolta per sospetti clinici mirati bisogna procedere con indagini di laboratorio di II livello più specifiche (calcio ionizzato, TSH, paratormone sierico, 25-OH-vitamina D, cortisolemia, testosterone nei maschi, immunofissazione sierica e/o urinaria ac. anti-transglutaminasi, esami specifici per patologie associate). Stante l'alta incidenza di ipovitaminosi D e di iperparatiroidismo secondario, il dosaggio della vitamina D e del paratormone sono spesso inseriti in quelli di I livello.

Le analisi per escludere cause secondarie della malattia dovrebbero essere richieste qualora il valore di BMD sia inferiore a quello atteso per l'età ( $Z\text{-score} < 2$ ) o qualora non si ottengano adeguati risultati densitometrici nonostante la terapia sia stata seguita correttamente.

## Gestione del paziente con frattura del collo del femore

L'Ortopedico è il primo specialista che interagisce con il paziente con frattura del femore; è il testimone oculare, intervenendo chirurgicamente, delle modificazioni di resistenza e qualità dell'osso causate dall'osteoporosi.

Presso l'UOC di Ortopedia e Traumatologia dell'Ospedale Fatebenefratelli di Milano (ASST Fatebenefratelli-Sacco) abbiamo attivato da tempo un protocollo per la gestione dei pazienti con frattura del collo femorale che prevede che il soggetto venga operato nelle prime 48 ore dopo il ricovero. Dalla seconda-terza giornata post-operatoria il malato viene posizionato in poltrona e inizia il trattamento riabilitativo e l'integrazione farmacologica con calcio e vitamina D.

Abbiamo notato che risulta problematico somministrare una terapia antiosteoporotica durante il periodo della degenza, in quanto spesso molti farmaci (bisfosfonati) devono essere assunti in posizione eretta e distanziati dalla colazione, fattori non sempre realizzabili quando il paziente è allettato, così come, mancando il dovuto tempo, risulta difficile inquadrare correttamente il soggetto e fare uno *studio anamnestico* dei fattori di rischio.

Abbiamo stilato un protocollo che prevede l'inquadramento del paziente dopo circa 60 giorni dall'intervento, in occasione del primo controllo clinico-radiografico eseguito nell'ambulatorio dedicato all'osteoporosi e alle malattie metaboliche dell'osso.

Infatti, all'atto della dimissione, oltre alla supplementazione con calcio e vitamina D (50.000 UI di colecalciferolo/15 giorni), da monitorare, viene prescritta una radiografia di controllo dell'anca ed esami ematochimici di I livello.

In occasione del controllo si procede quindi a un accurato studio anamnestico per evidenziare e correggere gli eventuali fattori di rischio concomitanti:

- di tipo nutrizionale;
- riguardanti lo stile di vita: scarso esercizio fisico (addirittura limitato a piccoli spostamenti nelle mura domestiche) e scarsa o assente esposizione al sole;
- abuso di bevande alcoliche e/o di fumo;
- frequenza delle cadute.

A questo punto si imposta la terapia medica più adeguata, soppesando le problematiche rischio-benefici, e spesso si richiede un esame morfometrico in latero-laterale del rachide dorso-lombare, al fine di evidenziare progressi cedimenti misconosciuti, completando in tal modo l'inquadramento e soddisfacendo le condizioni di applicazione corretta della nota AIFA 79. Se il soggetto è particolarmente anziano spesso non si richiede l'esecuzione di un esame densitometrico al femore controlaterale, anche se teoricamente questo sarebbe utile per monitorare la risposta terapeutica.

## Prevenzione delle cadute

Un attento e costante intervento riabilitativo permette di limitare la disabilità, di modificare il rischio di cadute e di realizzare un rapido reinserimento sociale. La riabilitazione dev'essere volta, oltre che al miglioramento dell'articolari dell'anca, anche al potenziamento muscolare, al miglioramento dell'equilibrio e della deambulazione.

La persistenza del dolore e la limitazione articolare si associa a una sindrome depressiva, specialmente nell'anziano, che innesci un circolo vizioso: il paziente ha paura di cadere e di uscire e si chiude sempre più in se stesso, determinando una progressiva perdita della funzione che può arrivare all'immobilità.

Sono estremamente importanti le misure preventive, basate su semplici accorgimenti, come prima detto, volti a modificare il rischio di cadute.

Vari studi hanno dimostrato che la riduzione dei sedativi, così come la sospensione dal fumo, riducono del 40% il rischio di frattura da fragilità; il miglioramento della vista lo riduce del 33% e l'esercizio fisico del 30%.

## Prevenzione farmacologica

Prove cliniche hanno dimostrato che il trattamento medico, non oggetto di questo articolo, può ridurre il rischio di future fratture sino al 50%. Il trattamento medico può anche aiutare a ridurre gli insuccessi della tenuta dei mezzi di sintesi nelle fratture pertrocanteriche, valutati in letteratura nell'ordine del 10%.

La ricerca farmacologica ha realizzato un'importante gamma di trattamenti approvati in prevenzione primaria e secondaria, dispensabili dal SSN con la nota AIFA 79.

Da quanto detto emerge anche una problematica medico-legale nel momento in cui un paziente, che abbia riportato una frattura del collo del femore e non sia stato adeguatamente trattato, vada incontro a una nuova frattura femorale.

In ogni caso bisogna garantire un introito giornaliero globale di almeno 800 UI di vitamina D e di 1.200-1.500 mg di

calcio.

## Conclusioni

Nella gestione del paziente anziano con frattura di femore il ruolo dell'Ortopedico deve tornare centrale, di guida, ma deve prevedere la collaborazione per il trattamento riabilitativo e per quello farmacologico, con il Fisiatra, il Medico di Famiglia e tutti gli altri Specialisti deputati alla gestione delle comorbidità (basti pensare alla problematiche farmacologiche del paziente con insufficienza renale).

È fondamentale impostare un'adeguata terapia medica con farmaci che abbiano dimostrato di ridurre in modo significativo il rischio di frattura.

Dovrà pertanto esser un antico ricordo l'affermazione di Wallace del 2001: *“con un numero talmente alto di fattori di rischio a cui riferirsi quando si vede un paziente con frattura osteoporotica è facile non pensare alla causa, ma alla frattura”*.

A cura di

Valter Galmarini

U.O.C. Ortopedia e Traumatologia - Ospedale Fatebenefratelli - ASST Fatebenefratelli Sacco

Responsabile ambulatorio II livello osteoporosi e malattie metaboliche dell'osso

## Bibliografia

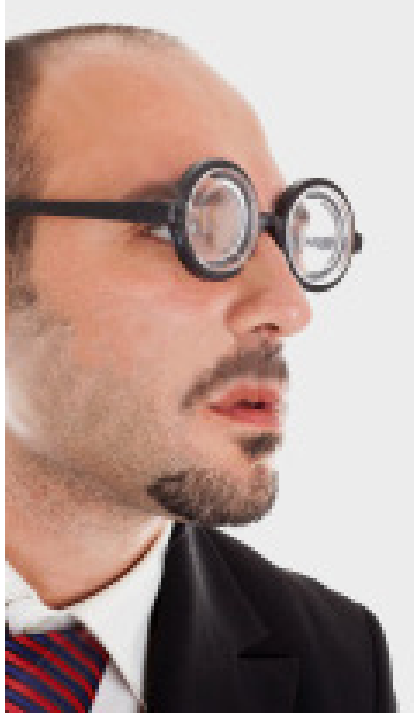
- *Annuario statistico italiano*. <https://www.istat.it>, 2016.
- Adami S et al. *Guidelines for the diagnosis, prevention and treatment of osteoporosis*. *Reumatismo*. 2009;61:260-84.
- Adami S et al. *Validation and further development of the WHO 10-year fracture risk assessment tool in Italian postmenopausal women: project rationale and description*. *Clin Exp Rheumatol*. 2010;28:561-70.
- Adami S et al. *Linee guida su prevenzione e trattamento dell'ipovitaminosi D con colecalciferolo*. *Guidelines on prevention and treatment of vitamin D deficiency*. *Reumatismo*. 2011;63:129-47.
- Cosman F et al. *Clinician's guide to prevention and treatment of osteoporosis*. *Osteoporos Int*. 2014;25:2359-81.
- Gehlbach S et al. *Previous fractures at multiple sites increase the risk for subsequent fractures: The global longitudinal study of osteoporosis in women*. *J Bone Miner Res*. 2012;27:645-53.
- Hodsmann AB et al. *10-year probability of recurrent fractures following wrist and other osteoporotic fractures in a large clinical cohort: an analysis from the Manitoba Bone Density Program*. *Arch Intern Med*. 2008;168:2261-7.
- Kanis JA et al. *A family history of fracture and fracture risk: a metaanalysis*. *Bone*. 2004;35:1029-37.
- Kanis JA et al. *Interpretation and use of FRAX in clinical practice*. *Osteoporos Int*. 2011;22:2395-411.
- Kanis JA et al. *Scientific advisory board of the european society for clinical and economic aspects of osteoporosis and osteoarthritis (ESCEO) and the committee of scientific advisors of the international osteoporosis foundation (IOF)*. *European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women*. *Osteoporos Int*. 2013;24:23-57.
- *Linee guida intersocietarie: gestione dell'Osteoporosi e delle fratture da fragilità*, Pharmastar, suppl. 25/2017, <http://www.pharmastar.it>.
- Morin SN et al. *The importance of previous fracture site on osteoporosis diagnosis and incident fractures in women*. *J Bone Miner Res*. 2014;29:1675-80.
- Rossini M et al. *Safety issues and adverse reactions with osteoporosis management*. *Expert Opin Drug Saf*. 2016;15:321-32.
- Rossini M et al. *Linee Guida SIOMMMS per diagnosi, prevenzione e terapia dell'osteoporosi*, <http://www.siommmms.it>, 2016.
- Varenna M et al. *Safety profile of drugs used in the treatment of osteoporosis: a systematical review of the literature*. *Reumatismo*. 2013;65:143-66.

## Eventi di più comune riscontro in corso di collaborazione con Sintesi InfoMedica \*

### MUTAZIONI CREATIVE



### IPERVISIONE STRATEGICA



### EUFORIA DA SUCCESSO



\* Data on file Sintesi Infomedica 2000-2018  
ATTENZIONE. Gli effetti sono dose-dipendente e non transitori

# INTOLLERABILMENTE EFFICACI

Siamo un'agenzia di comunicazione specializzata nell'area Healthcare; sviluppiamo strategie di informazione e formazione scientifica e le supportiamo attraverso un'ampia gamma di prodotti e servizi.

Siamo un team di professionisti con storie ed esperienze diverse, che condividono le proprie competenze per creare progetti innovativi di elevata qualità scientifica.

Siamo dei buoni ascoltatori e dei partner flessibili; rispondiamo in modo rapido alle richieste dei nostri clienti grazie a una struttura agile ed esperta.

Siamo una realtà nata e cresciuta in Italia, ma ci avvaliamo di specialisti internazionali per far parlare i nostri progetti in tutte le lingue.

**Siamo così. Prendeteci, sul serio.**



**Soluzioni integrate per la comunicazione medico-scientifica**

Via Brembo, 27 - 20139 Milano (Italia)  
Tel. +39 02 56665.1

[www.sintesi-infomedica.it](http://www.sintesi-infomedica.it) - [info@sintesiinfomedica.it](mailto:info@sintesiinfomedica.it)



