
**Studio clinico-laboratoristico per la valutazione di efficacia
di X-BIOAGE sullo stress ossidativo cutaneo.**

Eugenio Luigi Iorio, MD, PhD

Maria Giuseppa Gargano, MD



Osservatorio Internazionale dello Stress Ossidativo

Sezione Nutrizione e Medicine Complementari

Pagani (Salerno)

7 febbraio 2012

1. Introduzione

La pelle rappresenta un organo che, per estensione e complessità, gioca un ruolo determinante nell'economia generale dell'intero organismo. Quest'ultimo, grazie ad essa, è costantemente in contatto con l'ambiente esterno con il quale scambia informazioni di ogni tipo ed elabora delle risposte finalizzate a mantenere la propria omeostasi (1).

Purtroppo, la pelle rappresenta anche un organo ampiamente esposto a *noxæ* patogene di natura fisica, chimica e biologica, endogene e esogene, che possono alterarne in varia misura la struttura e/o la funzione, attraverso una serie di meccanismi lesivi, tra i quali gioca un ruolo determinante lo stress ossidativo (1).

Con questa denominazione si intende la perdita del fisiologico equilibrio tra la produzione e l'eliminazione, da parte dei sistemi di difesa antiossidante, delle cosiddette specie reattive dell'ossigeno (reactive oxygen species, ROS) (2). In particolare, la semplice esposizione della pelle alle radiazioni solari favorisce non solo la generazione di ossigeno singoletto ma anche la scissione fotolitica delle molecole d'acqua presenti nei vari strati cutanei con generazione, da esse, del radicale idrossile (HO^{\bullet}) (3). Il conseguente attacco delle diverse molecole organiche suscettibili (in particolar modo, ma non esclusivamente, gli acidi grassi insaturi) genera i perossidi, in particolare gli idroperossidi lipidici o lipoperossidi (LOOH), che si riversano sia nel sangue sia nei liquidi extracellulari e, quindi, sulla superficie cutanea, ove si raccolgono nel film lipidico che riveste l'epidermide, nel sebo e nel sudore, a testimoniare l'avvenuto insulto ossidativo (2, 3).

I lipoperossidi, però, rappresentano non solo semplici "spettatori" ma anche potenziali amplificatori del danno subito dalle cellule e dalla matrice extracellulare nei vari strati della pelle (3). Infatti, in condizioni di acidosi, a causa del rilascio del ferro dai depositi tissutali, essi possono essere trasformati, per effetto della reazione di Fenton, in radicali alcossili e perossili altamente reattivi e, quindi, fortemente istolesivi (3). Di qui, l'ulteriore aggravamento del danno iniziale che, se non tempestivamente corretto, può estendersi a macchia d'olio, accelerando il processo dell'invecchiamento e favorendo l'insorgenza o aggravando il decorso di numerose patologie, locali e sistemiche (3).

Per avere un'idea della gravità di questo fenomeno basti considerare che dalla fotolisi completa di appena 18 grammi di acqua si generano circa $6,02 \times 10^{23}$ radicali idrossili.

Per questo motivo, la pelle costituisce uno degli organi sul quale da tempo si concentrano gli interventi sia preventivi sia terapeutici proposti non solo dalla dermatologia classica ma anche dalla più moderna medicina estetica (1).

In tale contesto, la messa a punto di X-BIOAGE resina cationica, in virtù della specifica formulazione, rappresenta un'interessante quanto innovativa proposta per i professionisti del benessere. Infatti, le peculiari caratteristiche fisico-chimiche rendono questa formulazione candidata a adsorbire dagli strati più profondi della pelle i perossidi lipidici che, in questo modo, possono in seguito essere facilmente rimossi, con favorevoli ripercussioni sul ricambio e sulla vitalità cellulare.

Poiché precedenti studi avevano documentato che l'applicazione della resina sulla pelle riduce i livelli di stress ossidativo a livello sistemico, misurato attraverso il dosaggio della malonildialdeide e di specifiche attività enzimatiche antiossidanti cellulari, si è deciso di eseguire uno studio al fine di valutare se anche a livello cutaneo l'applicazione di X-BIOAGE si accompagna a variazioni significative del livello di perossidi, assunti come marcatori ed amplificatori del danno ossidativo della pelle.

2. Scopo, disegno, soggetti e metodi.

Allo scopo di valutare la capacità di X-BIOAGE di favorire l'eliminazione dei perossidi lipidici dagli strati profondi della pelle verso la superficie, sono stati reclutati, dal 19 dicembre 2011 al 16 gennaio 2012, con criterio sequenziale, 18 volontari (15 donne e 3 uomini), in varie condizioni cliniche, afferenti alla Sezione di Nutrizione e Medicine Complementari dell'Osservatorio Internazionale dello Stress Ossidativo di Pagani (Salerno), diretto dalla dr.ssa Maria Giuseppa Gargano.

A tutti soggetti inclusi nello studio e che hanno fornito regolare consenso informato sono state somministrate dettagliate informazioni allo scopo di preparare la pelle in maniera idonea alla valutazione; per poter essere ammessi al trial, in particolare, ognuno di essi è stato invitato ad interrompere qualsiasi trattamento detergente e cosmetico nelle 12 ore immediatamente precedenti all'applicazione della resina. Su questa base, al momento del reclutamento, dopo una breve visita clinica, si è spalmato sulla pelle del volto uno strato di X-BIOAGE e, dopo 30 minuti, lo stesso è stato rimosso, secondo le istruzioni del produttore.

Immediatamente prima dell'applicazione della resina e subito dopo la sua rimozione, con conseguente lavaggio, si è proceduto alla determinazione della concentrazione dei perossidi lipidici sul film cutaneo superficiale del volto mediante SKIN PEROXIDE TEST (Diacron International s.r.l., Grosseto).

Lo SKIN PEROXIDE TEST, si basa sulla capacità dei perossidi lipidici presenti in un campione biologico di ossidare il ferro che, reagendo con un tiocianato (cromogeno), sviluppa un derivato rosa, valutabile fotometricamente (4, 5). In pratica, con un bastoncino ovattato previamente imbevuto con alcool isopropilico, si è proceduto, in 40 secondi, all'asportazione del film lipidico superficiale di un'area circolare della guancia,

circoscritta ad hoc con particolare “cucchiaio” forato, avendo premura di effettuare il secondo prelievo dalla guancia opposta rispetto a quella usata per il primo (*figura 1*). Il



Figura 1. La fase del prelievo del campione di film lipidico superficiale per l’analisi dei lipoperossidi.

I risultati sono stati espressi in microEq/L, ($media \pm DS$). La significatività delle differenze tra serie di valori è stata determinata mediante test “p” di Student; sono state considerate statisticamente significative variazioni inferiori a 0.05.

Le fasi principali della procedura sono state fotografate e registrate, previo consenso informato delle pazienti al trattamento, per gli scopi strettamente necessari allo studio.

bastoncino ovattato è stato immerso e lasciato per 2 minuti in una soluzione, preparata al momento, sciogliendo in apposito tampone il cromogeno; ciò allo scopo di estrarre i perossidi lipidici presenti nel campione cutaneo. Allontanato il bastoncino, la soluzione è stata sottoposta a centrifugazione per 2 minuti e, quindi, a valutazione fotometrica, dopo aver azzerato contro bianco, usando una strumentazione analitica portatile professionale integrata con minicentrifuga (CARPE DIEM, Diacron International s.r.l., Grosseto) (*figura 2*), in grado di fornire i risultati in pochi minuti.



Figura 2. La strumentazione analitica impiegata per determinare la concentrazione di perossidi lipidici nella pelle.

3. Risultati.

L’età media dei soggetti che hanno partecipato allo studio è risultata compresa tra 17 e 66 anni ($43.6 \pm 12.4 DS$).

Dopo il trattamento, come indicato nelle figure 3 e 4, la concentrazione dei perossidi lipidici cutanei è aumentata mediamente da 213.50 ± 173.89 (valore minimo 68, valore massimo 835) a 304.89 ± 119.57 (da 107 a 484) microEq/L e, in termini percentuali, del 43%, rispetto al valore iniziale. La variazione è apparsa statisticamente significativa ($p=0.022$). L’incremento ha interessato la gran parte dei soggetti reclutati, ossia 14/18 (72%): in questa sottopopolazione la variazione registrata, da 167.4 ± 77.0 a 315.1 ± 112.1 microEq/L, pari all’89%, è risultata ancora più statisticamente significativa ($p<0.0001$).

Variazioni del livello di lipoperossidi cutanei prima e dopo applicazione di X-BIO AGE

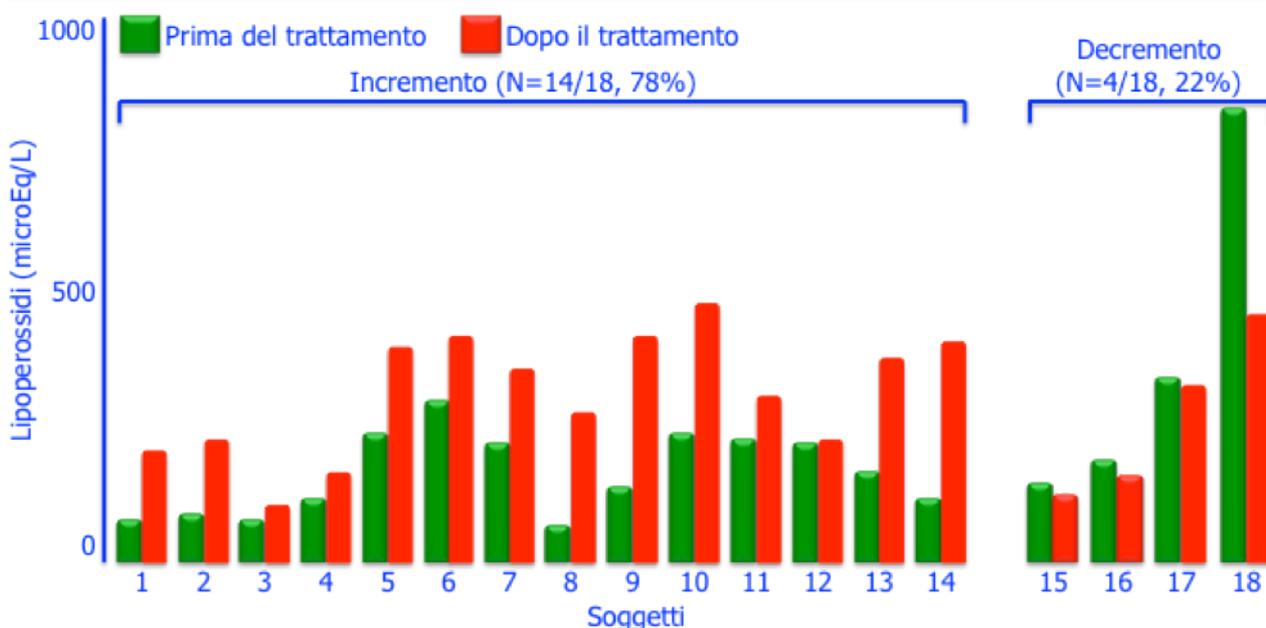


Figura 3. Il trattamento con X-BIOAGE si è associato ad un incremento del livello di lipoperossidi cutanei in 14/18 soggetti e ad un loro decremento nei rimanenti.

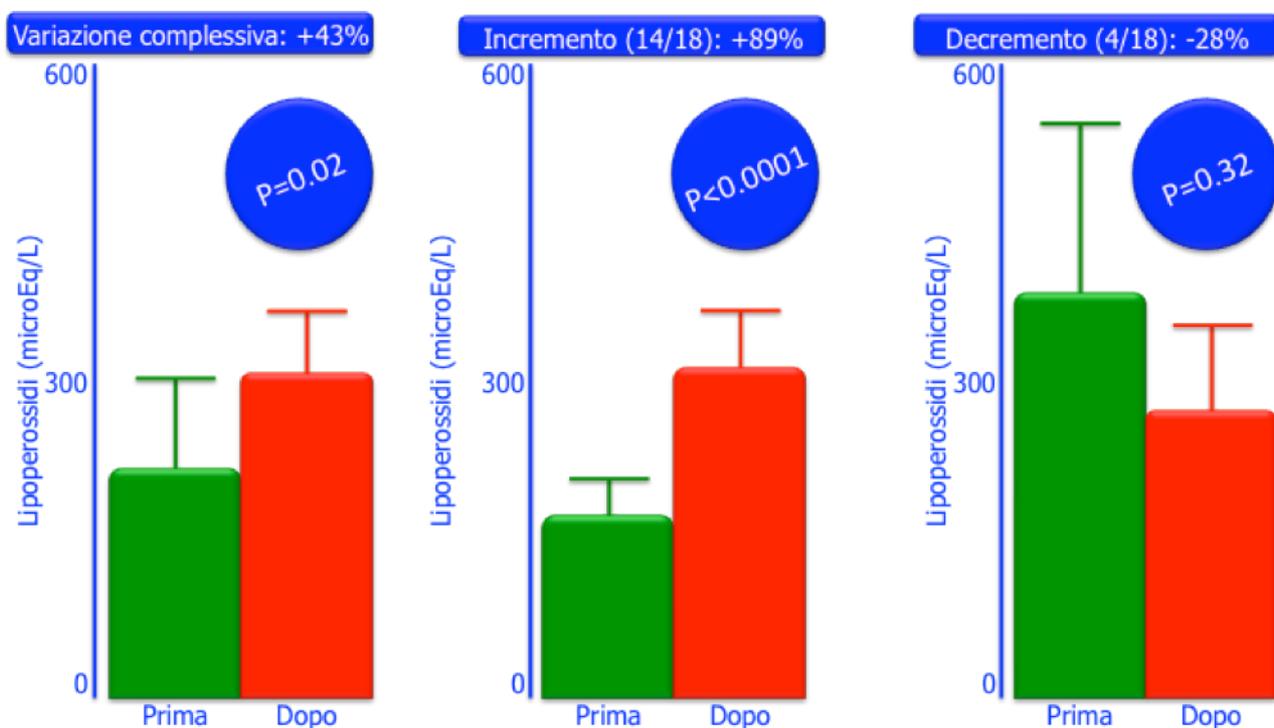


Figura 4. Il trattamento con X-BIOAGE si è associato mediamente ad un incremento del livello dei lipoperossidi cutanei, che è risultato spiccatamente e statisticamente significativo nel 78% delle donne che hanno partecipato allo studio. Nel rimanente 22% dei casi, l'abbassamento dei marcatori biochimici di danno ossidativo non ha raggiunto la significatività statistica.

L'incremento più elevato (+312%) è stato riscontrato in una donna che accusava una forma di intolleranza alimentare ed era in trattamento con una formulazione di estrogeni per os.

L'abbassamento del livello dei lipoperossidi, che ha interessato 4/18 soggetti (22%), non ha raggiunto la significatività statistica (da 375.0 ± 317.0 a 269.2 ± 156 microEq/L, pari al 28%, $p=0.32$).

L'esame visivo comparativo, documentato anche fotograficamente, ha evidenziato, dopo il trattamento, un miglioramento dell'aspetto del viso, in termini di colorito e luminosità, anche se non è stato possibile procedere ad una valutazione su base quantitativa.

Il trattamento è risultato ben tollerato e non si è rilevato nessun effetto collaterale indesiderato.

Non sono state riscontrate significative differenze nella risposta tra i due sessi.

4. Discussione.

La perossidazione lipidica rappresenta uno dei meccanismi più importanti nella patogenesi delle alterazioni cutanee legate all'invecchiamento e, più in generale, all'esposizione della pelle ai più svariati agenti tossici.

I risultati di questo studio, benché preliminari, indicano che una sola applicazione di X-BIOAGE per 30 minuti si accompagna ad una significativa eliminazione, sulla pelle, di perossidi lipidici di presumibile origine profonda che possono, così, essere facilmente rimossi con abituali tecniche di detersione.

A tal proposito, la capacità della resina di scambiare cationi e, in particolare, di rilasciare ioni calcio e trattenere ioni idrogeno, fornisce di per sé un meccanismo protettivo nei confronti del possibile ulteriore danno cutaneo da parte dei perossidi lipidici fatti emergere in superficie (1-3). Infatti, prevenendo l'abbassamento del pH da carico acido, si blocca il rilascio dei metalli di transizione dalle proteine di deposito e, quindi, la reazione di Fenton, responsabile della radicalizzazione dei perossidi e, quindi, dell'insulto ossidativo (3).

Degno di rilievo, il caso clinico, sopra citato, della donna in trattamento estrogenico che ha mostrato l'incremento più cospicuo del livello di perossidi lipidici nello strato superficiale della pelle, dopo il trattamento. Infatti, l'assunzione dei contraccettivi orali costituisce una delle condizioni iatrogene più fortemente associate allo stress ossidativo sistemico (6) e il medico dovrebbe tenere in maggiore considerazione questo emergente fattore di rischio, suggerendo alla donna idonee misure volte ad abbassare il



livello di ROS attraverso un più idoneo stile di vita e, all'occorrenza, un'integrazione nutrizionale personalizzata.

Un controllo a distanza, ovviamente, dovrà confermare l'ipotesi qui formulata sul meccanismo d'azione e sull'efficacia di X-BIOAGE, ma già i primi dati di follow-up, raccolti dai soggetti arruolati nel presente studio, indicano, a quasi un mese dal primo trattamento, una tendenza all'abbassamento graduale dei livelli di stress ossidativo cutaneo, seguendo un protocollo personalizzato anti-age.

Al momento, comunque, i dati qui analizzati sono in perfetta armonia con quelli ottenuti da studi precedenti che avevano dimostrato la capacità di X-BIOAGE in total body di abbassare i livelli sistemici di stress ossidativo: infatti, l'eliminazione attraverso la pelle dei perossidi lipidici può fornire una spiegazione plausibile a questo effetto.

L'individuazione dell'esatto meccanismo molecolare attraverso cui X-BIOAGE facilita l'eliminazione dei perossidi lipidici attraverso la pelle esula dagli scopi del presente lavoro ma è verosimile che l'effetto osservato sia riconducibile, a livello topico, all'azione sinergica di estrazione e adsorbimento esercitata dagli elementi che compongono X-BIOAGE resina cationica.

5. Considerazioni conclusive e prospettive.

Appare evidente che rendere disponibile un sistema efficiente, rapido e sicuro, quale X-BIOAGE, in grado di rimuovere effettivamente dagli strati profondi del derma pericolosi metaboliti reattivi dell'ossigeno, quali i lipoperossidi, considerati non semplici marcatori ma potenziali amplificatori di danno ossidativo, significa fornire al medico estetico un'arma originale ed innovativa per la prevenzione ed il trattamento degli inevitabili insulti ai quali è quotidianamente sottoposta la pelle.

L'esperienza clinica personale degli Autori, inoltre, insieme ai dati che stanno afferendo da altre valutazioni in corso, suggerisce che X-BIOAGE può rappresentare anche un utile presidio medico estetico in grado di preparare la pelle a trattamenti specifici, topici e sistemici, messi in atto per la prevenzione dell'invecchiamento e, più in generale, per il controllo delle numerose patologie associate allo stress ossidativo, dalle malattie infiammatorie a quelle cardiovascolari (3).

Il presente studio, infine, quantunque preliminare, fornisce anche una base e un modello per ulteriori approfondimenti sotto il piano sia speculativo sia pratico. Infatti, la maggior parte dei trattamenti estetici è oggi eseguita senza una valutazione oggettiva di efficacia: in questo caso, invece, l'effetto dell'applicazione di un prodotto sulla pelle è stato valutato, prima e dopo, con un'analisi chimica specifica in grado di fornire al medico, in tempo reale, informazioni indispensabili per la successiva gestione e, quindi,

personalizzazione del trattamento stesso.

In tale contesto, ci si auspica che in un prossimo futuro si possa procedere ad un'estensione dello studio mirante a valutare in maniera combinata, sistemica e topica, i promettenti e favorevoli effetti di X-BIOAGE, dopo applicazione sull'intera superficie corporea.

Bibliografia

1. Delalle-Lozica N. *Local therapy as basic anti-aging prevention*. Acta Clin Croat. **2010**. 49 (4): 529–536.
2. Girotti AW, Kriska T. *Role of lipid hydroperoxides in photo-oxidative stress signaling*. Antioxid Redox Signal. **2004**. 6 (2): 301–310.
3. Iorio EL, Balestrieri ML. *Lo stress ossidativo*. Trattato Italiano di Medicina di Laboratorio, di Angelo Burlina, Ed. Balestrieri C, Piccin, Padua, Italy. **2009**. 533–549.
4. Dohi K, Satoh K, Ohtaki H, Shioda S, Miyake Y, Shindo M, Aruga T. *Elevated plasma levels of bilirubin in patients with neurotrauma reflect its pathophysiological role in free radical scavenging*. In Vivo. **2005**. 19 (5): 855–860.
5. Iorio EL. *The integrated approach of redoxomics and its implications in aesthetics and anti-aging medicine*. Proceedings Aesthetics Asia 2010. 2010, September, 17–19. Singapore. **2010**. 28–29.
6. Finco A, Belcaro G, Cesarone MR. *Evaluation of oxidative stress after treatment with low estrogen contraceptive either alone or associated with specific antioxidant therapy*. Contraception. **2011**. Nov 11. [Epub ahead of print]

Osservatorio Internazionale dello Stress Ossidativo

Pagine 8, compresa la cover e la presente.

Si rilascia in copia unica all'interessato per gli usi consentiti dalle vigenti leggi

07.02.2012