

IL MONDO DELLA MICROIMMUNOTERAPIA

A cura de Dott.ssa Tiziana Semplici, Dott. Marco Monzani, Dott. Nicola Frisia

ALOPECIA E IMMUNITÀ

L'Alopecia areata è una malattia che colpisce i follicoli piliferi e porta alla caduta dei capelli. Si può manifestare con piccole chiazze ben definite - Alopecia areata - fino alla completa perdita di tutti i peli del corpo.

Nonostante la sua incidenza elevata, i meccanismi patobiologici sottostanti non sono ancora completamente conosciuti.

- L'Alopecia areata è generalmente considerata una **malattia autoimmune**, nella quale si assiste all'alterazione del *network* immunitario dei follicoli piliferi.

La maggiore prevalenza dell'Alopecia areata nella popolazione femminile e l'aumento del rischio complessivo di altre malattie autoimmuni sono suggestivi dell'ipotesi autoimmune.

Inoltre, la presenza di anticorpi contro molteplici componenti dei follicoli piliferi presenti nella fase anagen, fase in cui avviene la melanogenesi, suggerisce il coinvolgimento di autoantigeni associati alla melanogenesi come epitopo bersaglio.

Alcuni ricercatori ritengono che l'Alopecia areata non sia una malattia propriamente autoimmune ma solo "coerente con" meccanismi autoimmuni.

Come in tutte le patologie complesse anche nell'Alopecia intervengono fattori genetici, immunitari, psicologici, infettivi, vascolari ed ormonali, nell'ottica di alterazioni di *network* condivisi (PNEI).

- Ad oggi, le evidenze disponibili suggeriscono che l'Alopecia areata sia una malattia autoimmune, nella quale il collasso del privilegio immunitario dei follicoli piliferi può svolgere un ruolo fondamentale nella patogenesi. Come tutte le altre patologie autoimmuni - pertanto con

Basso numero di cellule T CD4+ o CD8+ e cellule di Langerhans CD1a+ nel bulbo pilifero in fase anagen. Inoltre, le cellule di Langerhans hanno ridotta capacità di presentazione dell'antigene attraverso il MHC di classe II (MHC II).

L'espressione del MHC I nei bulbi piliferi in fase anagen è assente o sostanzialmente ridotta.

I melanociti dell'unità pigmentaria del follicolo pilifero sono MHC I negativi.

I follicoli piliferi in fase anagen contengono pochissime cellule NK.

La reattività del fattore di regolazione dell'INF-1 è significativamente sotto-regolata nella matrice dei capelli in fase anagen (l'INF- γ agisce come il più importante potenziatore dell'espressione del MHC I tramite il fattore di regolazione dell'INF-1).

Il bulbo pilifero in fase anagen genera molecole immunosoppressive, come TGF- β 1, TGF- β 2, ACTH e MSH- α .

Il bulbo pilifero epiteliale è protetto da una speciale barriera a *matrice*, che ostacola il traffico delle cellule immunitarie.

Tab. 1

I meccanismi del privilegio immunitario del follicolo pilifero.

Tab. 2
Elementi tricoscopici
dell'Alopecia areata.

1. **Punti esclamativi:** capelli più stretti alla base rispetto alla parte superiore, dando loro un aspetto a forma di punto esclamativo.
2. **Capelli caduti:** noti come “capelli a caduta esclamativa,” più corti e più sottili alla base.
3. **Capelli rotti** appena sopra la superficie del cuoio capelluto.
4. **Punti rossi e pigmentazione:** punti rossi e cambiamenti della pigmentazione nell'area colpita dall'Alopecia areata.
5. **Vasi sanguigni dilatati:** aree nell'area interessata.

una caratterizzazione di tipo “genetico” – si rende necessario che uno o più *trigger* inneschino la patologia.

NORMALE CRESCITA DEI CAPELLI

I follicoli piliferi e i capelli subiscono una trasformazione ciclica per tutta la vita seguendo tre fasi di crescita (anagen, catagen e telogen).

– La fase **anagen** è suddivisa in 6 fasi; si caratterizza per un periodo di formazione e crescita molto rapida, con importante attività mitotica e metabolica, pigmentazione e produzione del fusto del capello. Seguono le fasi **catagen** (fase di regressione) e **telogen** (fase di riposo).

Questa trasformazione ciclica è controllata da eventi finemente sintonizzati nell'ambiente di segnalazione locale, basati su cambiamenti nell'espressione di citochine, ormoni, neurotrasmettitori, nonché fattori di trascrizione ed enzimi. La capacità rigenerativa dei follicoli piliferi dipende da un gruppo di cellule staminali di cheratinociti e di melanociti nell'area del bulbo follicolare.

La regolazione delle attività delle cellule del bulbo pilifero coinvolgono molte vie di segnalazione, come Wnt/ β -catenina, BMP/*Smad* e Sonic *hedgehog* (Shh), vie di trasduzione del segnale cellulare coinvolte nella differenziazione cellulare, nella morte cellulare programmata (apoptosi) e nella modulazione della proliferazione cellulare.

– Si ritiene che i follicoli piliferi in fase anagen godano di una condizione di “**privilegio immunitario**”, concetto formulato da almeno un secolo relativo alla presenza di aree anatomiche particolari in cui le cellule allogeniche trapiantate sono in grado di sfuggire al rilevamento e all'eliminazione da parte del **Sistema Immunitario (SI)** (altre zone che non comportano rigetto da allotrapianto sono gli occhi, i testicoli e il Sistema Nervoso Centrale).

La formazione di un privilegio immunitario relativo protegge dall'attacco autoimmune sugli autoantigeni espressi all'interno del follicolo e previene il danno immunopatogeno. Questo privilegio è legato al mancato apporto linfatico

che limita l'infiltrazione locale delle cellule del SI, *down-regolazione* dell'espressione del MHC (Complesso Maggiore di Istocompatibilità) con minor presentazione degli antigeni al SI, maggiore espressione del MHC-Ib che inibisce l'attività dei *Natural Killer*, *up-regolazione* delle molecole di superficie che inibiscono l'attivazione del Complemento e produzione di TGF ad attività immunosoppressiva via aumento dei linfociti Tregolatori (Tab. 1).

– Dal **punto di vista epidemiologico** il rischio di Alopecia areata nel corso di vita è stimato essere di circa l'**1,7%** nella popolazione generale con picco di incidenza in età compresa tra 15 e 29 anni.

L'esordio dell'Alopecia areata si verifica nel 44% dei pazienti prima dei 20 anni; meno del 30% sviluppa la malattia dopo i 40 anni. Il decorso clinico è altamente imprevedibile e può verificarsi a qualsiasi età, dalla nascita fino agli ultimi decenni di vita.

Dal **punto di vista clinico** l'Alopecia areata si manifesta come una rapida perdita di capelli in chiazze piccole e ben circoscritte. Le lesioni sono generalmente rotonde o ovali, con bordi distinti e capelli normali che delineano la periferia. La caduta dei capelli si manifesta in zone isolate o in più zone del cuoio capelluto.

La malattia può portare alla completa calvizie (*Alopecia areata totalis*) o alla perdita di tutti i peli del corpo (*Alopecia universalis*).

– Nell'Alopecia areata, la tricoscopia fornisce informazioni utili per la diagnosi differenziale con altre condizioni di perdita di capelli e per valutare la gravità della malattia; mostra reperti caratteristici (Tab. 2).

Poiché l'Alopecia areata è una malattia sistemica, può colpire anche le unghie. Alterazioni delle unghie (rigature, vaiolature, onicomadesi, onicolisi, trachionichia) si osservano nel 3-30% dei pazienti.

Il loro coinvolgimento è solitamente associato ad una forma grave di Alopecia areata.

Se da un lato l'Alopecia areata è considerata una malattia propriamente autoimmune cellulo-mediata, in cui le cellule T citotossiche auto-reattive riconoscono le proteine associate ai melanociti (es. la tirosinasi), dall'altro molte

evidenze sembrano suggerire una condizione “solo coerente con” il meccanismo autoimmune.

– Le evidenze relative alla prima ipotesi (autoimmune organo-specifica in senso stretto) sono legate alla presenza di predisposizione genetica, di un tasso di incidenza più elevato nella popolazione femminile, come avviene per tutte le patologie autoimmuni e ad un aumento del rischio di altre malattie autoimmuni.

Si stima che circa il 12-16% degli individui affetti da Alopecia areata sviluppi una malattia autoimmune.

– Dal punto di vista istologico nell’Alopecia areata è presente un infiltrato linfocitario a “sciame di api” adiacente al sito del follicolo pilifero dovuto all’accumulo di cellule T auto-reattive per collasso del privilegio immunitario del follicolo pilifero.

Si osserva un’infiltrazione, soprattutto nella fase acuta della malattia.

Nell’accumulo che circonda il follicolo pilifero predominano le cellule CD4+ Th1, mentre all’interno dell’epitelio follicolare le cellule CD8+ Tc1 rappresentano la maggioranza.

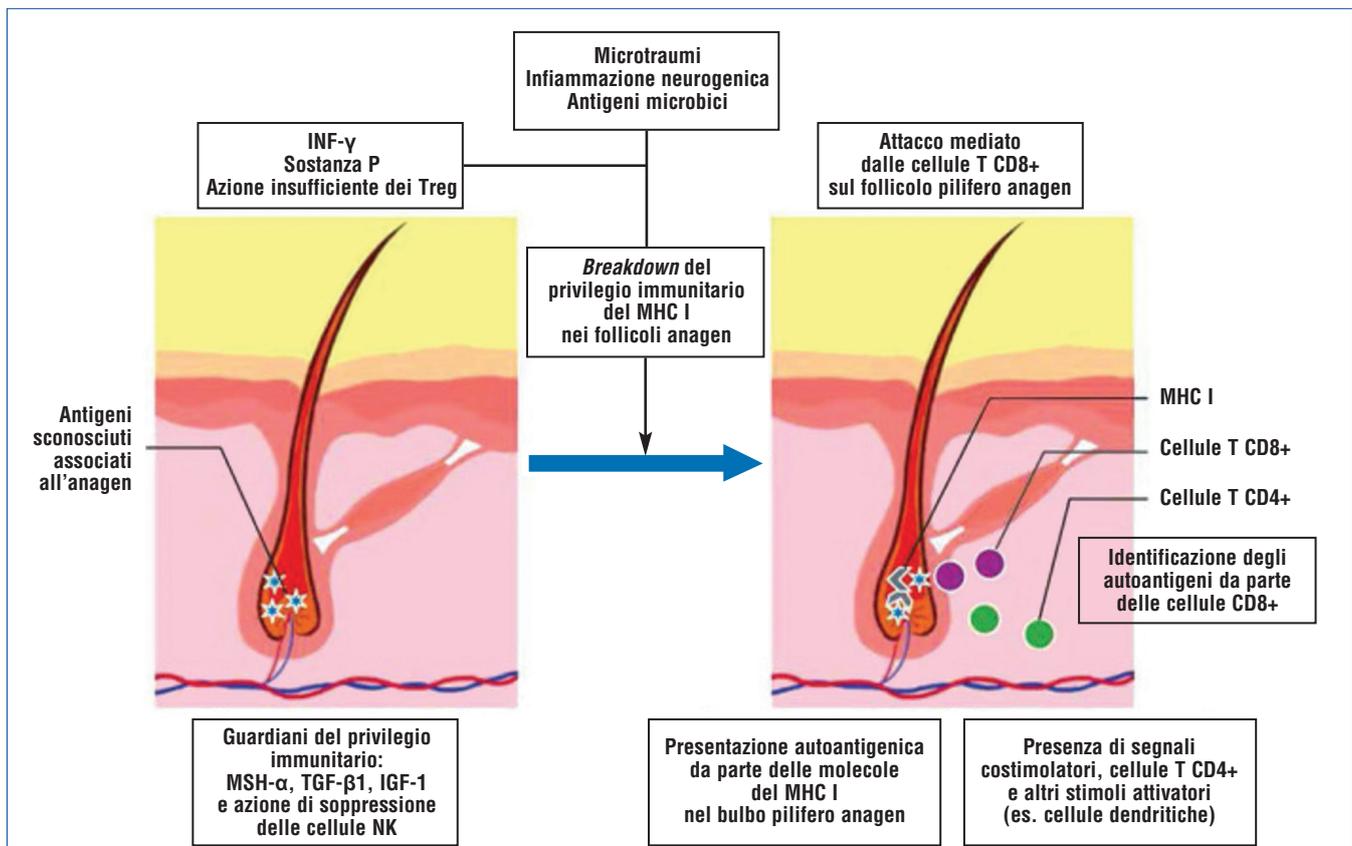
– Nella fase cronica si osserva una marcata miniaturizzazione del follicolo pilifero con persistenza di cellule.

Le lesioni dell’Alopecia areata possono amplificarsi con una reazione autoimmune a catena nei follicoli piliferi adiacenti indotta dalla diffusione delle cellule T e delle citochine pro-infiammatorie rilasciate nel *milieu*.

Alcuni studi hanno suggerito che la riduzione della risposta immunitaria mediata da Th1 comporti un aumento dei livelli sierici di IL-2 e IFN- γ e che queste citochine correlino in modo positivo con la gravità e la durata della malattia.

– Si assisterebbe, pertanto, alla rottura del privilegio immuno-soppressivo a causa di vari fattori come l’aumento di IFN- γ , sostanza P, citochine pro-infiammatorie (IL-1, IL-6, IL-17), aumento dell’attività dei NK, aumento di espressione di MHC-I, riduzione del freno immunitario indotto dai Tregolatori con innesco della risposta autoimmune contro autoantigeni e propagazione delle lesioni CD8+, seppure in numero meno elevato (Tab. 3).

I sostenitori dell’Alopecia areata come malattia “solo coerente con” meccanismi autoimmuni segnalano studi ri-



Tab. 3

Proposta patogenesi dell’Alopecia areata. L’ambiente immunosoppressivo del bulbo pilifero in fase anagen è modulato da fattori immunosoppressori, come MSH- α , TGF- β e IGF-1, e dalla soppressione delle cellule NK. L’Alopecia areata è un modello di risposta del follicolo pilifero a vari eventi infiammatori associati, ad esempio, alla sovraregolazione dell’espressione dell’MHC di classe I (MHC I) indotta dall’IFN- γ all’interno del follicolo pilifero. Gli autoantigeni associati all’anagen vengono riconosciuti una volta esposti dal MHC ectopico di classe I.

– Ciò porta a reazioni autoimmuni contro il follicolo pilifero.

– fonte tradotta: Żeberkiewicz M. et Al. – Immunology of alopecia areata. Cent Eur J Immunol. 2020; 45(3):325-333.



Fig. 1
Caso 1. Giugno 2021.

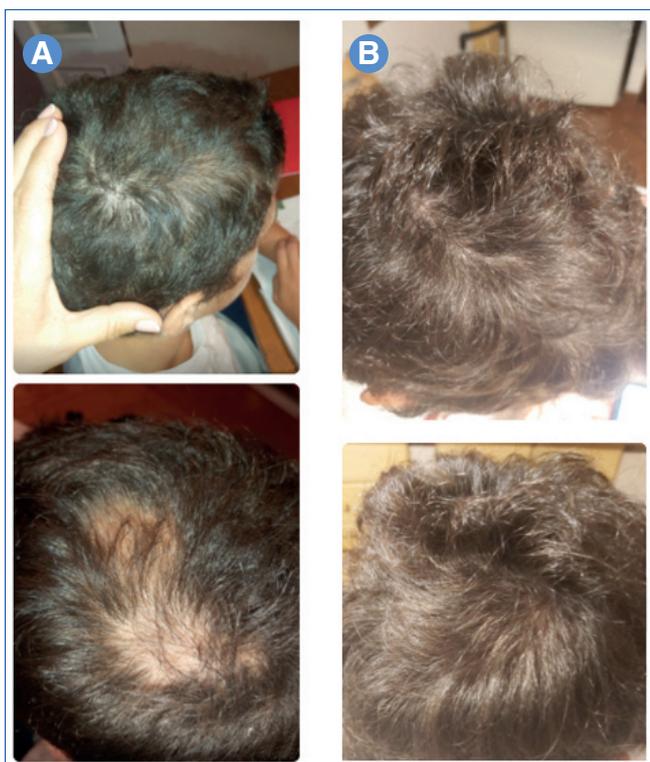


Fig. 2
A: Caso 1. Settembre 2021; B: Caso 1. Dicembre 2021.

portanti la stessa frequenza di malattia in entrambi i generi, l'età di insorgenza variabile e la mancata concordanza di malattia al 100% nei gemelli monozigoti, indicando una natura complessa della malattia che coinvolge fattori sia genetici sia ambientali.

– Inoltre, altri dati di letteratura non riportano la coesistenza di altre malattie autoimmuni in pazienti affetti da Alopecia.

Anche l'infiltrato di cellule mononucleari attorno al bulbo pilifero, classico reperto nella fase iniziale (acuta) dell'Alopecia areata, si riscontra solo in un terzo dei pazienti e le cellule immunitarie sono comunemente assenti nelle biopsie effettuate in una fase successiva e nelle aree con grave danno follicolare.

In aggiunta, si assiste a lunghi periodi di remissione completa di malattia, elementi non caratteristici nelle malattie autoimmuni.

– Anche la somministrazione di IFN- γ , che sembrerebbe promuovere il collasso del privilegio immunitario del follicolo pilifero con innesco delle lesioni infiammatorie, non sempre è efficace.

Ciò dimostra che, sebbene possa essere necessario il collasso dei privilegi immunitari del follicolo pilifero per innescare la malattia, sono necessari anche ulteriori fattori.

Anche altre osservazioni sperimentali come la presenza di autoanticorpi contro una varietà di cheratine dei capelli in pazienti clinicamente normali o l'Alopecia areata in topi albi (privi di melanina, che sembrerebbe rappresentare l'epitopo scatenante) o l'incapacità di inibire la crescita dei capelli su cuoio capelluto umano innestato su topi "nudi" dopo trasferimento passivo di autoanticorpi da un individuo colpito, suggeriscono che gli autoanticorpi e la risposta autoimmune non sia sempre il fattore patogenetico determinante.

- È noto che le infezioni acute, e soprattutto i **virus erpetici**, possano far da innesco alle malattie autoimmuni in soggetti geneticamente predisposti, con meccanismi diretti o attraverso il disequilibrio immunitario conseguente (sia come risposta immunitaria ipo-reattiva sia iper-reattiva).

Come già osservato nelle malattie autoimmuni, spesso il SI non è "too much", bensì "misdirected".

Nella nostra esperienza anche i pazienti con Alopecia non sempre hanno un SI iper-reattivo; frequentemente presentano un SI in ipo-reattività.

– In entrambe le situazioni si possono verificare situazioni di rilascio di citochine infiammatorie con riduzione dei linfociti Tregolatori per una incapacità di *gestire* i virus erpetici riattivati (SI ipo-reattivo con utilizzo del SI innato per insufficienza del SI adattativo) o risposta immunitaria eccessiva (spesso su base genetica) per una sovrapproduzione di 7 citochine pro-infiammatorie in risposta a stimoli o a *trigger* di natura virale.

– Recentemente per la terapia dell'Alopecia sono stati proposti farmaci immunosoppressori monoclonali come i

JAK inibitori, non scevri da potenziali effetti avversi anche gravi, come l'aumento di infezioni o di neoplasie per blocco totale delle vie di segnalazione JAK-STAT implicate nelle vie di segnalazione delle citochine pro-infiammatorie TNF- α , IL-1, IL-6 e INF- γ .

L'infiammazione è necessaria per attivare la risposta di difesa immunitaria e pertanto, a nostro avviso, dovrebbe essere modulata, non soppressa.

Diventa pertanto essenziale la "misurazione" dello stato immunitario del paziente per la verifica dell'effettivo stato del SI e la presenza di riattivazioni di virus erpetici che potrebbero mantenere la disregolazione immunitaria.

- Presentiamo due casi clinici di pazienti con Alopecia che evidenziano quadri immunitari e *trigger* di tipo infettivo

diversi. Una dettagliata analisi immunitaria potrebbe pertanto facilitare la personalizzazione dell'intervento terapeutico e ridurre il rischio di effetti collaterali iatrogeni.

Caso 1 - M, 12 aa.

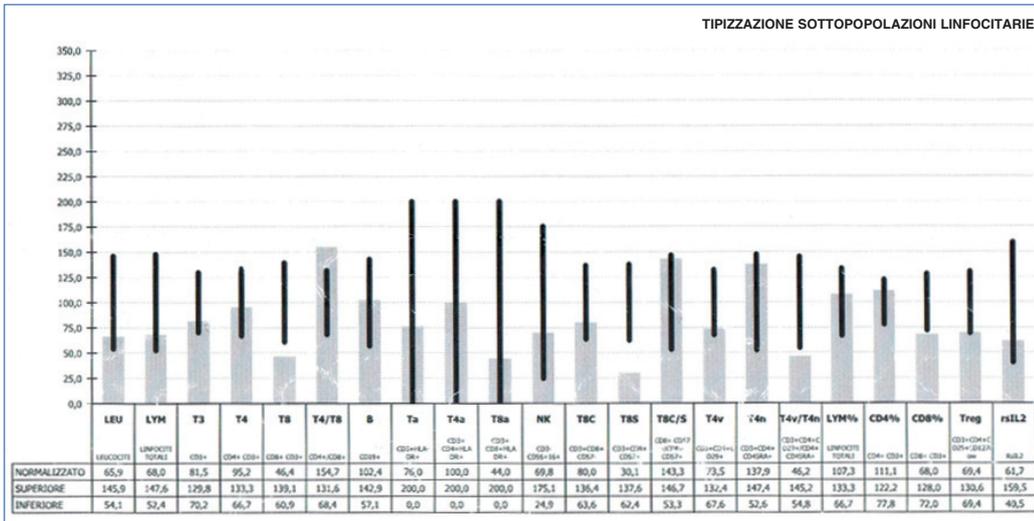
Anamnesi. Prima visita, giugno 2021 (Fig. 1).

Nonno materno cardiopatico; nulla di rilevante nella nonna materna.

Nonno paterno cardiopatico; nonna paterna con DMT2.

Nato a termine da parto eutocico; sviluppo somatopsichico nella norma. Primogenito, due fratelli in buona salute. Varicella in terza elementare.

Allergia a pelo di gatto, intolleranza al latte.

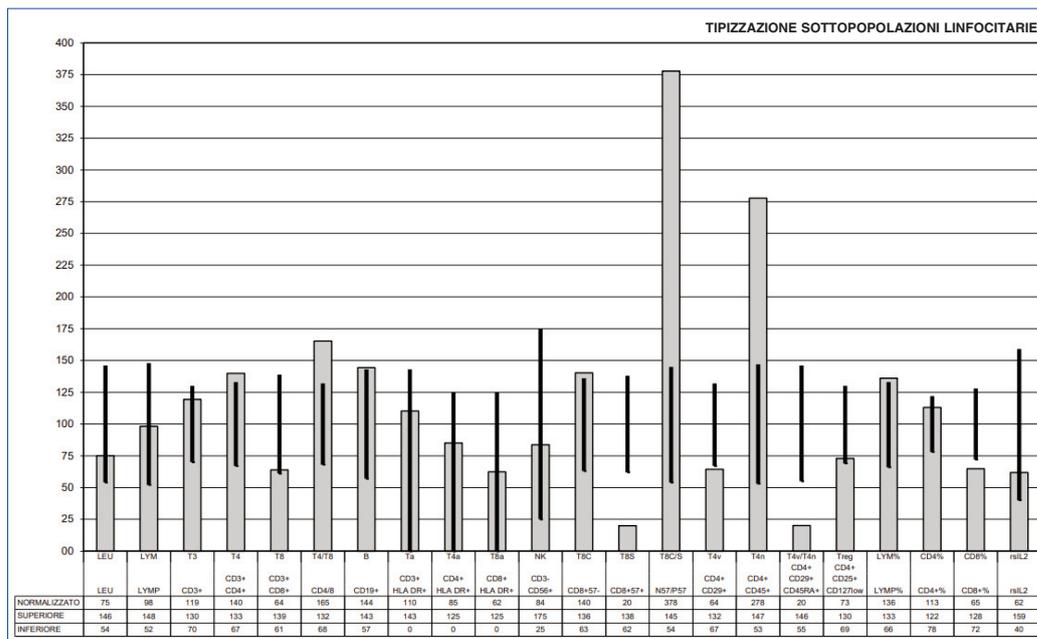


Tab. 4
Caso 2.
- 1° pannello linfocitario.

Analisi	Risultati	U.M.	Valori di riferimento
ANTICORPI ANTI-HERPES TIPO 2 IgG CHEMILUMINESCENZA	< 0,50	Index	< 0,9 Negativo 0,9 - 1,1 Dubbio > 1,1 Positivo
ANTICORPI ANTI-EPST. BARR NUCLEAR ANTIGEN (EBNA) IgG CHEMILUMINESCENZA	545	U.A.	< 5 Negativo * 5 - 20 Dubbio > 20 Positivo
- Anticorpi Nucleari IgG -			
ANTICORPI ANTI-EPSTEIN BARR VCA IgG CHEMILUMINESCENZA	351,0	U.A.	< 20 Negativo * > 20 Positivo
- Anticorpi Capsidici IgG -			
ANTICORPI ANTI-EPSTEIN BARR EA (Early) CHEMILUMINESCENZA [*]	< 5	U/mL	< 10 Negativo 10 - 40 Dubbio > 40 Positivo
ANTICORPI ANTI-VARICELLA IgG CHEMILUMINESCENZA [*]	2033	mUI/mL	< 135 Negativo 135 - 165 Dubbio > 165 Positivo

Tab. 5
Caso 2.
- Sierologia.

Tab. 6
Caso 2.
- 2° pannello linfocitario.



Tab. 7
Caso 2.
- Sierologia.

Analisi	Risultati	U.M.	Valori di riferimento
ANTICORPI ANTI-CITOMEGALOVIRUS IgG CHEMILUMINESCENZA [S]	Negativo 5,2	U/mL	< 12,0 Negativo 12,0 - 14,0 Dubbio > 14,0 Positivo
NOTA: Nel caso di valori positivi di IgG e IgM si consiglia l'approfondimento diagnostico mediante il test dell'AVIDITÀ anti CMV IgG.			
ANTICORPI ANTI-HERPES TIPO 1 IgG CHEMILUMINESCENZA [S]	0,2	Index	< 0,9 Negativo 0,9 - 1,1 Dubbio > 1,1 Positivo
ANTICORPI ANTI-HERPES TIPO 2 IgG CHEMILUMINESCENZA [S]	< 0,5	Index	< 0,9 Negativo 0,9 - 1,1 Dubbio > 1,1 Positivo
ANTICORPI ANTI-EPSTEIN BARR (EBNA) IgG CHEMILUMINESCENZA [S]	600	U/mL	< 5 Negativo 5 - 20 Dubbio > 20 Positivo
- Anticorpi Nucleari IgG -			
ANTICORPI ANTI-EPSTEIN BARR VCA IgG CHEMILUMINESCENZA [S]	260	U/mL	< 20 Negativo ≥ 20 Positivo
- Anticorpi Capsidici IgG -			
ANTICORPI ANTI-EPSTEIN BARR EA (Early) CHEMILUMINESCENZA [S]	< 5	U/mL	< 10 Negativo 10 - 40 Dubbio > 40 Positivo
ANTICORPI ANTI-VARICELLA IgG CHEMILUMINESCENZA [S]	1166	mUI/mL	< 135 Negativo 135 - 165 Dubbio > 165 Positivo

Intervento al piede sn (agosto 2020) per piede piatto pronato di 3° grado; segue intervento al piede dx (dicembre 2020).

- Inizio di Alopecia areata in quinta elementare, in peggioramento.

Già effettuate le valutazioni specialistiche dermatologiche.

Esami ematochimici eseguiti nel dicembre 2020: TSH, ferro, magnesio, calcio, potassio, vitamina D, zinco, rame.

Si prende visione del pannello linfocitario che evidenzia SI in lieve iporeattività immunitaria con leggero incremento del titolo anticorpale antivariella.

Aumento anche dei T4 veri, come nelle situazioni di disbiosi intestinale e/o parassitosi intestinale.

Terapia:

2LZONA[®], 1 cps al mattino a digiuno; disperdere il contenuto della cps (granuli) sotto la lingua, rispettando l'ordine numerico delle cps;

Enterogel[®], 1 cucchiaino da minestra da emulsionare in un abbondante bicchiere d'acqua naturale; assumere alla sera prima di coricarsi per un 1 ciclo/mese x 3 vv con intervallo di 10 gg tra un ciclo e l'altro;

Gunaelmint, 1 bustina x 3/die x 5 gg; in seguito ulteriore ciclo dopo 15 gg;

Anti Age Cap, 3 granuli/mattino e sera;

Curcumin-gel 95+ (integratore alimentare a base di curcuma), 1 busta/die durante la giornata x 30 gg.

Seconda visita, settembre 2021.

Netto miglioramento dell'Alopecia con la terapia in corso (Fig. 2A; foto scattate dalla mamma portate in visione).

Continuare con:

2LZONA[®] x altri 3 mesi;

Anti Age Cap, 3 granuli/mattino e sera;

Guna-Anti IL 1, da applicare sulle zone interessate 2 vv/die sino ad assorbimento (Fig. 2B).

Caso 2 - F, 29 aa.

Anamnesi. Prima visita, 10 febbraio 2021.

Madre e padre in buona salute.

Riferisce nonno materno con ca polmone e Alopecia.

Bisnonna materna affetta da Morbo di Sjögren.

Nata prematura di 7 mesi.

Cicli di antibioticoterapia nella prima infanzia.

Frattura del polso in quinta elementare.

Varicella manifestatasi in due occasioni.

Menarca a 14 anni con flussi abbondanti.

Eczema disidrosico.

Nel 2014, in seguito a periodo di stress per lo studio e a soggiorno all'estero per uno *stage*, inizia a perdere i capelli in maniera abbondante.

Nel dicembre 2014 l'Alopecia è totale.

Da febbraio 2015 terapia con Jakavi (NdR: Ruxolitinib) 20 mg (Jak inibitore - immunosoppressore) fino all'agosto 2015, con completa ricrescita dei capelli.

Alla sospensione del farmaco nuova completa caduta dei capelli.

Da ottobre 2015, fino a primavera 2019, inizia ciclo di cure con Xeljanz (NdR: Tofacitinib) 20 mg/die con ricrescita dei capelli; il farmaco viene sospeso per il rischio di immunosoppressione prolungata, i costi elevati e le difficoltà di reperimento.

Negli ultimi anni ha eseguito numerose valutazioni e tentato molti approcci per migliorare il problema [nel 2016 valutazione del microbiota intestinale, approccio di medicina metabolomica, cicli di bioterapia infusione, cicli di antivirali (Aciclovir) per riscontro di alto carico virale, Naltrexone a basso dosaggio (4.5 mg), citochine *low dose*, ecc.]. Lieve iporeattività del braccio Th1, scarsa risposta citotossica (NK e T8c ai limiti inferiori a fronte di riattivazione HV) (EBV e Varicella Zoster) (Tabb. 4, 5).

Terapia:

2LEBV[®], 1/die + **2LZONA**[®], 1/die x 6 mesi.

Alla visita riferisce ricrescita dei pochi peli, inizialmente sulle gambe e al pube, già dopo 2 mesi dall'inizio della terapia. Successivamente ricrescita di capelli bianchi che progressivamente si sono pigmentati su tutto il capo.

Il pannello effettuato ad 1 anno e 8 mesi (Tab. 6), in stabilizzazione della crescita, evidenzia buona cellularità pur presentando ancora uno squilibrio Th1/Th2; migliorata la capacità citotossica, aumento dei T4n con buon controllo dei Tregolatori.

Come si evince dalla sierologia (Tab. 7) gli anticorpi antivariella IgG si sono notevolmente ridotti.

Terapia:

2LEBV[®], 1/die x 6 mesi. ■