



EDIZIONI TricoItalia (Firenze)

Direttore scientifico: Andrea Marliani

Giornale Italiano di Tricologia

anno 24 - n° 46 - Novembre 2020

Proprietà letteraria ed artistica riservata.©

Giornale Italiano di Tricologia

anno 24- n° 46 - Novembre 2020

SOMMARIO

- La tricologia nell'invecchiamento. - pag. 5
- Il microbiota del cuoio capelluto - pag. 18
- La lattoferrina in tricologia - pag. 24
- Determinazione analitica
del contenuto di squalene
nel follicolo del capello - pag. 32
- Advanced Tricology
Rubrica a cura di Markeuticals - pag. 39



Edizio del
REGOLAMENTO DELLA
"SOCIETÀ ITALIANA DI TRICOLOGIA"
S.I.Ti.®
-Tricologia®-

art. 1 La Società Italiana di Tricologia si costituisce come Associazione Scientifica, apolitica e senza fini di lucro in data 4 maggio 1996 ed ha come scopo di fare della Tricologia una Branch Scientifica della Medicina Polispécialitica e, più in generale, della Cultura Umànica.

art. 2 Questo fine verrà perseguito attraverso tutte le iniziative che risu via saranno individuali e fra le quali indichiamo prioritariamente le seguenti:

- 1) promuovere la ricerca scientifica della patologia e della fisiologia del pelo, del capello e del cuoio capelluto,
- 2) promuovere il progresso della "TRICOLOGIA" anche tramite l'insegnamento,
- 3) definire protocolli di riferimento per ricerche, diinde e di laboratorio, nella terapia dei defetti, degli effetti e nelle malattie del cuoio capelluto,
- 4) verificare l'efficacia e la razionalità delle terapie tricologiche proposte dall'industria farmaceutica e farmaco-cosmetica,
- 5) verificare la qualità, la razionalità e l'innocuità dei prodotti offerti dall'industria trico-cosmetica,
- 6) cercare un coordinamento con l'industria farmaceutica e farmacocosmetica per una razionalizzazione scientifica di tutto il settore,
- 7) affiancare e contrastare, in campo biologico, con l'attività scientifica delle Società culturalmente affini,
- 8) dare ai Soci un punto di riferimento ricco ed un supporto scientifico nella loro attività quotidiana,
- 9) pubblicare quanto di nuovo, attuale e scientifico viene fatto in Italia e nel Mondo in campo biologico per tenere alta l'informazione e la Coscienza dei Soci, Cultori della Tricologia e dei pazienti,
- 10) denunciare ai Soci, ai Pazienti ed alla Pubblica Opinione le frodi in campo tricologico.

art. 3 S.I.Ti.® (oppure SITi®) è la sigla ufficiale che indica la "Società Italiana di Tricologia".

art. 4 Tricologia ® è il nome (registrato) del settore didattico-scientifico della Società (S.I.Ti.), a cui si associano anche "Cultori non laureati" ed "Operatori Esteti" della Tricologia.

art. 5 La Società, nei limiti imposti dalla Statuto, è aperta a tutti i Cultori della Tricologia di qualsiasi nazionalità, religione e credo politico.

Direzione

Direttore Responsabile:
Guido Vito Ischer (Firenze)
Direttore Scientifica:
Andrea Mariani (Firenze)
Vice Direttore
Paolo Gigli (Perugia)

Copertina

Leonardo da Vinci:
testa di vecchio (1805 circa)
Leonardo da Vinci:
testa di guerriero (1804 circa)

in Redazione

Capo Redattore: Daniele Campo (RM)
Supervisore: Fiorella Bini (FI)

Società Italiana di Tricologia®

Segretario: Dr. Andrea Vanni +39 333 8349750
segreteria@sitri.it / info@sitri.it / vanni.andrea@gmail.com

Sito internet - <http://www.SITRI.it>

Giornale Italiano di Tricologia

(Registrato presso il Tribunale di Firenze)
1 10/04/1997 al n.4684)

NOTA:

Nel rispetto della legge n° 615 del 31/01/1996 (detta "della Privacy"), l'Editore del Giornale Italiano di Tricologia (S.I.Ti.) desidera informarla che il trattamento dei dati personali che la riguardano, nella medesima elaborazione automatizzata, è finalizzato esclusivamente alla gestione della spedizione della Rivista.

Il Volume del trattamento dei suoi dati è iscritto C/O la Redazione del G.I.Ti. con sede:

Firenze, via San Domenico 107/3 - cap 50133

Qualora Lei volesse essere eliminata dalla banca dati di spedizione può inviare all'indirizzo sopra riportato oppure telefonare al numero +39 333 8349750

EDIZIONI TricoItalia
(Firenze)

Giornale Italiano di Tricologia

anno 24 - n° 46 - Novembre 2020

Direttore Responsabile: *Guido Vido Trotter*

Direttore Scientifico: *Andrea Marliani*

Tutti i diritti riservati[©]

Collaboratori:

*Paolo Gigli
Torello Lotti
Fiorella Bini
Piero Tesauro
Andrea Vanni
Nicolò Rivetti
Marco Toscani
Daniele Campo
Renzo Schiavon
Michele Roberto
Roberto d'Ovidio
Bianchi Elisabetta
Vincenzo Gambino
Giulia Buonacucina
Elisabetta Torrigiani
Gianluigi Antognini
Agostinacchio Gaetano
Diego Romano Perinelli*



SOMMARIO:

La tricologia nell'invecchiamento.	- pag. 5
Il microbiota del cuoio capelluto	- pag. 18
La lattoferrina in tricologia	- pag. 24
Determinazione analitica del contenuto di squalene nel follicolo del capello	- pag. 32
Advanced Tricology Rubrica a cura di Markeuticals	- pag. 39

Perché sei
diventato così
vecchio?

Perché invecchiare
fa parte del nostro
ciclo vitale, mio
piccolo Anagen.



@trikho



La tricologia nell'invecchiamento: un approccio clinico diversificato nei pazienti in età matura

Renzo Schiavon
(Verona)

Introduzione

L'età media della popolazione è in aumento e così pure i casi di affezioni croniche associate all'invecchiamento per cui è necessario vigilare che questo processo sia mantenuto nello stato fisiologico. Non fa eccezione la condizione del cuoio capelluto, che negli anni va incontro ad evidenti cambiamenti che apportano disagio personale. Oltre a ciò questi cambiamenti documentano il grado dell'invecchiamento e mettono in rilievo come i follicoli piliferi possano essere considerati micro-organismi rappresentativi dello stato di senescenza dell'individuo. Già negli anni '80 venne descritta un'alopecia specifica della senescenza⁽¹⁻²⁾ che nella pratica attuale merita di essere distinta da alopecie preesistenti che si rendono più evidenti da una certa età in poi, come le forme androgenetiche o da alopecie più frequenti nell'età matura, prevalentemente nel postmenopausa, come l'alopecia fibrosante frontale (FFA) oltre all'alopecia a pattern femminile (FPHL). Per tale motivo prenderemo in rassegna le conoscenze fisiopatologiche dell'invecchiamento del follicolo del capello (HF) per meglio distinguere l'alopecia senescente da altre alopecie e dall'effetto delle comorbidità e dei farmaci assunti.

Accenneremo infine alle attenzioni da porre durante la visita dei pazienti in età matura e alle possibilità terapeutiche per prevenire o rendere parzialmente reversibile l'alopecia senescente.

Stress ossidativo e senescenza del follicolo del capello

L'eccessiva produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) in assoluto o in relazione a ridotte capacità antiossidanti induce il fenomeno dello stress ossidativo, che costituisce il processo alla base della senescenza cellulare⁽³⁾. Lo stress ossidativo porta danno a DNA, proteine e lipidi e quindi a strutture fondamentali per le funzioni biologiche. Data la stretta vicinanza con il proprio sito di formazione di ROS, i mitocondri sono particolarmente suscettibili al danno al DNA con conseguente perdita della capacità di codificare i geni per gli enzimi della catena di trasporto degli elettroni. Il danno è facilitato dall'assenza degli istoni e dalla ridotta capacità di riparazione del DNA e ad esso si oppone un gruppo di proteine mitocondriali, le sirtuine⁽⁴⁾. Nei follicoli dei capelli (HF) in anagen l'attività mitocondriale e la produzione di ROS sono elevate nelle cellule epiteliali della matrice e si riducono nei cheratinociti dello stelo⁽⁵⁾. Lo stress ossidativo è anche responsabile del fenomeno di accorciamento dei telomeri dei cromosomi che conduce a senescenza e morte cellulare. Nelle cellule staminali del follicolo del capello (HFSC) l'accorciamento dei telomeri porta a riduzione della differenziazione cellulare e di conseguenza ad atrofia del follicolo del capello⁽⁶⁾. Il processo della senescenza è contrastato dall'autofagia, che è un meccanismo cellulare di autodigestione di molecole o organuli danneggiati tramite invio di materiale citoplasmatico ai lisosomi per l'abbattimento⁽⁷⁾. L'autofagia è essenziale durante la proliferazione e la differenziazione dei cheratinociti del bulbo e la sua inibizione porta a regressione del follicolo del capello con perdita progressiva di follicoli terminali, cioè alla senescenza⁽⁸⁾. L'autofagia è pure importante nelle cellule mesenchimali perché contribuisce alla segnalazione cellulare e se attivata

induce il passaggio da telogen e anagen⁽⁹⁾.

I danni dello stress ossidativo sono a carico di tutte le cellule del follicolo del capello, dai cheratinociti ai sebociti, melanociti e cellule mesenchimali, ma le ripercussioni maggiori si hanno quando il danno riguarda le cellule staminali, che di conseguenza riducono le capacità di mantenersi e differenziarsi con conseguente atrofia del follicolo del capello (fig. 1).

Le cellule staminali sono rappresentate dalle cellule pluripotenti (HAP) del bulge, le cellule progenitrici dei cheratinociti, dei melanociti e delle cellule della papilla dermica.

Le cellule staminali alloggiavano in una nicchia che costituisce il microambiente per il loro mantenimento e, in condizioni normali, nella loro vita danno origine a 10-30 cicli follicolari.

All'inizio dell'anagen la maggior parte delle SC rimane quiescente per inibizione paracrina da parte della via Wnt e solo una sottopopolazione è attivata a proliferare per espressione di Actin2⁽¹⁰⁾. Le cellule germinali secondarie sono progenie delle cellule staminali del follicolo del capello che in telogen sono adiacenti al bulge e all'inizio dell'anagen sono stimolate alla crescita da parte della papilla dermica (DP), per produrre lo stelo del capello tramite proliferazione in cellule progenitrici dei cheratinociti, cellule della matrice, della guaina interna ed esterna; in anagen III, a seguito di un secondo segnale dalla papilla dermica, le cellule staminali rimpiazzano le cellule andate perse nell'anagen iniziale⁽¹¹⁾. Inoltre, le cellule staminali melanocitarie (MSC) situate nella porzione permanente inferiore del follicolo del capello proliferano e si differenziano accoppiate al ciclo del follicolo del capello e le cellule staminali pluripotenti (HAP) danno origine alle cellule dei vasi sanguigni.

La papilla dermica rappresenta il centro della

regolazione della crescita del capello ed è un'altra nicchia che alloggia le cellule staminali mesenchimali (DSC). La segnalazione estrinseca, proveniente dalla papilla dermica, regola l'omeostasi delle cellule staminali del follicolo del capello, cioè autorinnovamento e differenziazione, tramite attivatori e inibitori: l'entrata in anagen è determinata dalla retroregolazione di inibitori e iperregolazione del segnale attivante, mentre il segnale Notch mantiene il follicolo del capello, inducendo nelle cellule staminali del follicolo del capello l'espressione di proteine che le fanno differenziare nei tessuti del capello, sopprimendone il destino epidermico⁽¹²⁾. Le cellule staminali del follicolo del capello possono andare incontro ad esaurimento a causa di un'abnorme attivazione continua da parte di stimoli dal micro e macroambiente della nicchia, oppure perché presentano una ridotta capacità di entrare in fase crescita, come nel caso della senescenza.

Anche la composizione della matrice della nicchia è importante per l'omeostasi delle cellule staminali del follicolo del capello e in particolare il collagene di tipo XVII α 1 (Col17 α 1) è richiesto per mantenerne l'autorinnovamento; tuttavia, in risposta al danno al DNA aumenta nel follicolo la produzione di elastasi neutrofila che degrada il Col17 α 1, con conseguente perdita di autorinnovamento delle cellule staminali del follicolo del capello e loro eliminazione per differenziazione nella linea epidermica⁽¹³⁾. Con l'invecchiamento si riduce anche l'espressione di un proteoglicano della matrice della nicchia, la decorina, pure importante per il mantenimento delle cellule staminali del follicolo del capello⁽¹⁴⁾. Il processo della divisione asimmetrica tipico delle cellule staminali, che consente loro di generare cellule figlie che si rinnovano da sole o di commissionarsi nella differenziazione, è alla base dell'omeostasi tissutale, che

tuttavia viene compromessa nell'invecchiamento ad opera di fattori intracellulari, come accumulo di DNA danneggiato, alterata regolazione epigenetica, interruzione delle vie di segnale oppure da fattori estrinseci, come l'ambiente della nicchia delle cellule staminali e l'ambiente sistemico che forniscono segnali per via paracrina o juxtacrina⁽¹⁵⁾ (fig. 1). Per una maggiore comprensione del fenomeno dell'invecchiamento lo studio istologico del follicolo del capello si è recentemente arricchito dell'uso di marcatori epigenetici

come 5-idrossimetilcitosina, che possono identificare le fasi precoci dell'attivazione del bulge e i loro difetti⁽¹⁶⁾.

Alopecia senescente

Negli anni '80 venne riconosciuta la condizione di alopecia senescente, caratterizzata da riduzione del diametro dei capelli con l'età, associata ad aspetti istologici differenti da quelli dell'alopecia androgenetica (AGA)⁽¹⁻²⁾.

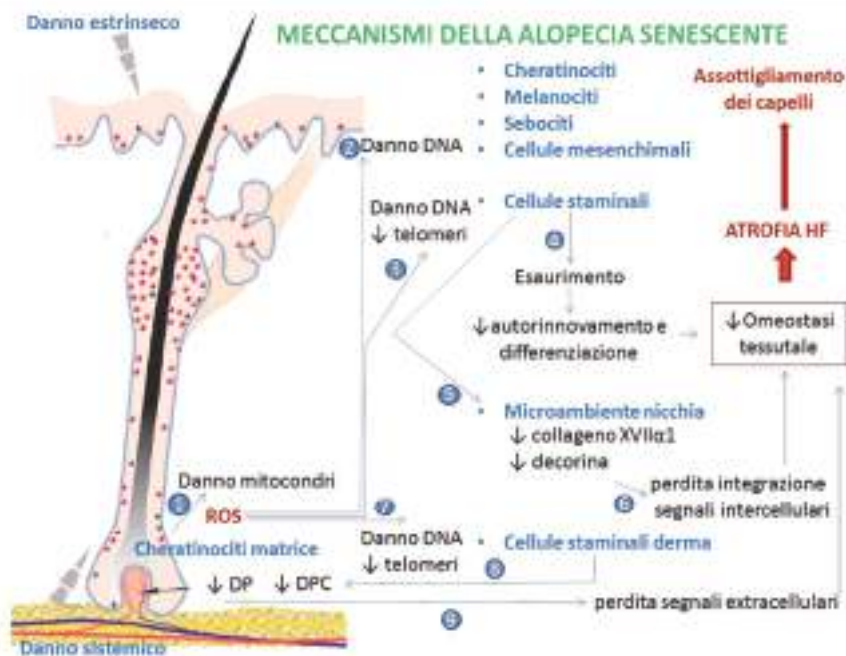


Figura 1. Meccanismi dell'alopecia senescente. (1) ROS da metabolismo attivo di cheratinociti della matrice del bulbo o da danno intrinseco o sistemico (2) danneggiano il DNA delle cellule del HF e (3) delle cellule staminali che (4) perdono la capacità di mantenersi e differenziarsi e che (5) danneggiano la nicchia con conseguente (6) perdita d'integrazione dei segnali intercellulari che portano a (7) atrofia del HF. (8) Le DSC subiscono danno da ROS e quindi (9) si riducono DPC e DP con conseguente (10) atrofia del HF con evidenza di assottigliamento dei capelli.

Le caratteristiche dell'alopecia senescente possono essere così riassunte:

- (a) ridotta dimensione del follicolo del capello peraltro normale con ridotto diametro dello stelo;
- (b) allungamento della fase telogen con conseguente riduzione della fase di crescita e quindi riduzione della lunghezza del capello e apparente perdita di densità follicolare;
- (c) perdita follicolare irrilevante dell'entità del 2.2% ogni dieci anni;
- (d) variazioni delle caratteristiche dello stelo per aumento della curvatura e incanutimento, oltre alla riduzione del diametro;
- (e) decorso irregolare con periodi di stabilità o remissione parziale alternati a periodi di involuzione marcata⁽¹⁷⁻¹⁸⁾.

Date queste caratteristiche tornerebbe utile obiettivamente la percezione di qualità della capigliatura tramite una metrica relativa alla copertura del cuoio capelluto.

Sono stati individuati fattori sfavorevoli che accelerano o peggiorano l'alopecia senescente sia nella fase precedente l'emergenza del capello, come la radiazione UV, infiammazione da alterato microbiota e lipoperossidi, che nella fase successiva all'emergenza del capello, quali la radiazione UV, l'inquinamento atmosferico e gli agenti ossidanti contenuti nelle tinte⁽¹⁷⁾.

È dimostrato che il perossido d'idrogeno a concentrazioni fisiologiche induce segnale attraverso la β -catenina dalle cellule della papilla dermica per la crescita del capello mentre a concentrazioni tossiche, quali quelle presenti nelle tinte, riduce i livelli di β -catenina e, parallelamente, la lunghezza del capello⁽¹⁹⁾.

I principali fattori confondenti nell'individuare l'alopecia senescente sono l'associazione con alopecia androgenetica e alopecia climaterica, assai prevalenti nell'età matura.

L'AGA, che si manifesta con miniaturizzazione terminale-vellus con aspetto vertex negli uomini e diffuso (fronto-temporale) nelle donne, si riscontra nell'uomo con una prevalenza del 31% tra 40-55 anni e del 53% tra 65-69 anni⁽²⁰⁾.

In attesa dello sviluppo di future terapie anti-invecchiamento topiche o sistemiche, il trattamento attuale dell'alopecia senescente è diretto verso l'AGA se coesistente, verso condizioni dermatologiche del cuoio capelluto, come forfora e dermatite seborroica e verso condizioni sistemiche nutrizionali, ormonali, fumo, farmaci assunti e comorbidità associate all'età⁽¹⁷⁾.

Con la senescenza cala l'attività della 5 α -reduktasi e quindi sopra i 60 anni si riduce l'efficacia dei farmaci inibitori nella terapia dell'AGA, mentre il minoxidil funziona bene nell'alopecia senescente negli individui che hanno ancora abbastanza capelli e anche nelle donne, indipendentemente dai livelli di estrogeni ed è quindi utile dopo la menopausa⁽¹⁷⁾.

Esistono concordanze e divergenze nei profili trascrizionali delle cellule staminali del follicolo del capello dell'alopecia senescente rispetto all'AGA. Nell'alopecia senescente si riduce l'espressione dei fattori di trascrizione per la crescita, mentre sono espressi solo i geni associati alla differenziazione⁽²¹⁾. Infatti, con l'avanzare dell'età incrementa l'espressione di un gruppo di fattori di trascrizione che sopprimono l'attivazione delle cellule staminali del follicolo del capello per controllarne la quiescenza, primeggiato dal Foxc1 per il quale i geni codificanti fattori inibenti l'anagen come BMP (Bone Morphogenetic Protein) e Nfatc1 (fattore di trascrizione c1 delle cellule T attivate) presentano siti di legame. Parallelamente si riducono con l'età i fattori attivanti le cellule staminali del follicolo del capello come il collagene tipo

XVII α 1⁽²²⁾ (fig. 2). All'opposto, nell'AGA è ridotta l'espressione di un gruppo di geni associati a sviluppo e ciclizzazione, con il risultato di una difettosa attivazione delle cellule staminali del follicolo del capello per generare cellule germinali che formeranno il capello. La concordanza tra alopecia senescente e AGA sta nel fatto che i fattori intrinseci ed estrinseci che colpiscono le cellule staminali del follicolo del capello portano entrambi al risultato di un aumento significativo della fase telogen⁽¹²⁾.

Esiste anche una condizione che mette in relazione l'alopecia senescente all'effetto androgenico e che consiste nel fatto che le cellule della papilla dermica (DPC) con maggiore espressione di recettori degli androgeni (AR) sono più sensibili al danno ossidativo del

DNA e quindi a senescenza prematura del follicolo del capello⁽²³⁾. In particolare, lo stress ossidativo sulla papilla dermica induce le DPC a secernere IL-6 e TGF β 1, che inibiscono la proliferazione delle cellule della matrice e, nel tempo, induce senescenza e riduzione del diametro della papilla dermica con conseguente comunicazione sregolata tra cellule della papilla dermica e cellule staminali del follicolo del capello⁽²⁴⁾.

Alopecia climaterica

La menopausa è la comparsa della condizione di declino della funzione follicolare definita da un periodo di amenorrea da 12 mesi, preceduto da un periodo di 4 anni definito come

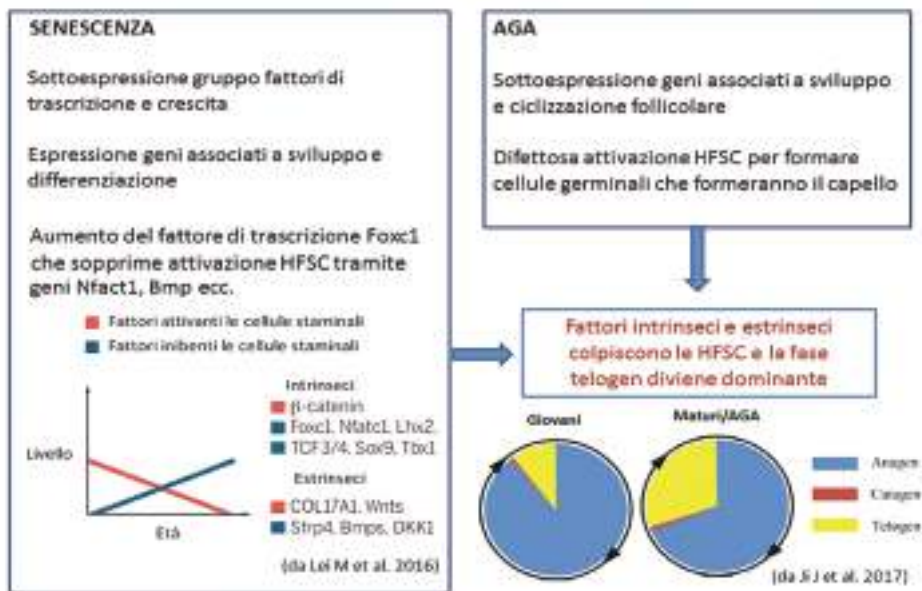


Figura 2. Cellule staminali (HFSC) in senescenza e AGA: concordanze e divergenze. In entrambe le condizioni fattori intrinseci ed estrinseci colpiscono le HFSC e la fase telogen diventa dominante ma con meccanismi diversi.

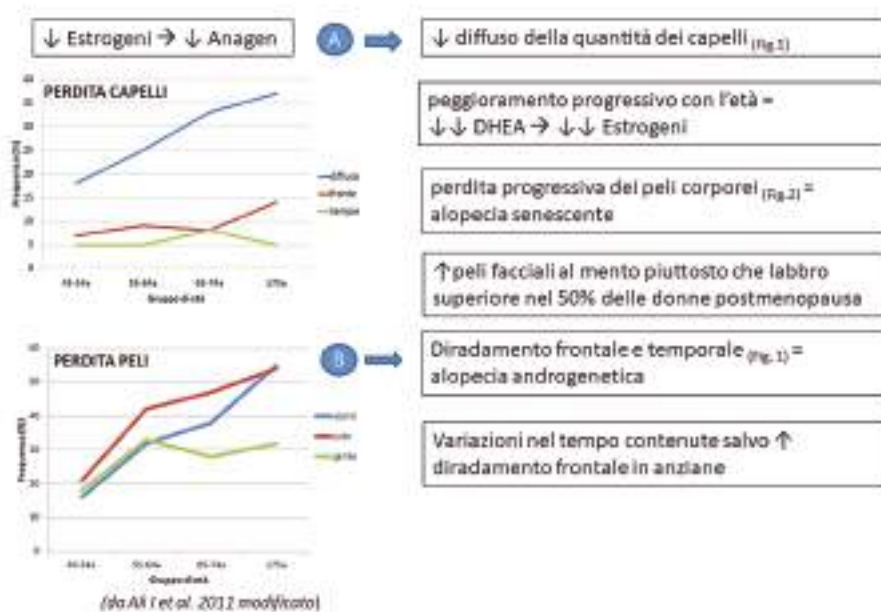


Figura 3. Alopecia nel climaterio. Le caratteristiche dei due aspetti dell'alopecia diffusa-generalizzata (A) e alopecia pattern femminile (B). Sulla sinistra i due grafici rappresentano le frequenze delle tipologie di perdita di capelli (in alto) e dei peli corporei (in basso) in funzione dell'età.

premenopausa, caratterizzato da cambiamenti endocrini, biologici e clinici. L'età media di comparsa della menopausa è 51 anni, mentre la premenopausa inizia a 35-45 anni. Il difetto della funzione ovarica si manifesta con calo dei livelli di inibina B, ormone antimulleriano e estrogeni e conseguente crollo del feedback negativo ipotalamico con aumento di FSH e con invecchiamento ipotalamico che porta a rilascio non sincronizzato di GnRH e LH⁽²⁵⁾. Gli estrogeni esercitano funzioni in entrambi i sessi e in una pletera di tessuti. Il deidroepiandrosterone (DHEA) diviene la principale fonte di estrogeni dopo la menopausa, tuttavia la sua sintesi cala marcatamente con l'invecchiamento, scendendo sino al 10-20% delle concentrazioni di picco e così cala parallelamente la biosintesi di estrogeni

nei tessuti periferici⁽²⁶⁾. Gli estrogeni danno segnali sfaccettati, si impegnano con diversi recettori, espletano vie genomiche e non-genomiche e danno azioni indipendenti, sinergiche o opposte, al punto che cofattori cellulari e ligandi con azione estrogena in alcune cellule portano paradossalmente ad azione anti-estrogena in altre. La segnalazione genomica avviene tramite i recettori ER α e ER β tessuto dipendenti, che sono fattori di trascrizione nucleare. La segnalazione non-genomica è invece iniziata da recettori di membrana accoppiati a proteine di trasduzione di segnale citosolico tramite secondi messaggeri (cAMP, adenilato ciclasi, fosfolipasi C, proteine chinasi)⁽²⁶⁾. La biosintesi di estrogeni prolunga l'anagen e durante la menopausa l'estrone solfato è il più abbondante precursore

re di estrogeni che, per azione dell'enzima steroide-solfatasi della papilla dermica, produce estrone e 17β -estradiolo⁽²⁷⁾. Nel valutare gli aspetti clinici dell'alopecia climaterica s'invoca la necessità di riferirsi ad un intervallo di riferimento normale delle variabili tricologiche. Lo studio di Ali⁽²⁸⁾, condotto tramite l'invio ad un'ampia coorte di un questionario relativo all'avvertimento soggettivo di variazione di capelli, peli facciali e corporei in postmenopausa, evidenzia l'esistenza di due 2 tipi di variazioni: perdita diffusa-generalizzata e alopecia a pattern femminile (FPHL) (fig. 3). La perdita diffusa-generalizzata è a maggiore prevalenza (26%), si tratta della sensazione di un calo diffuso della quantità di capelli ed è presente ad un'età media di 64 anni verso i 59 anni di una non perdita, riconducibile quindi all'aging e non a telogen effluvio da calo di estrogeni. Questa condizione si associa alla perdita dei peli corporei che è caratteristica della senescenza, alla cui base si suggerisce un calo di GH, di androgeni surrenalici o di testosterone. L'aumento dei peli facciali al mento piuttosto che al labbro superiore si riscontra nel 50% circa delle donne in postmenopausa. La alopecia a pattern femminile con una prevalenza del 9% è caratterizzata da assottigliamento in regione frontale correlato a perdita temporale e peggiora in premenopausa con regressione a vellus per effetto androgenico da attivazione di recettore (AR), dato che gli androgeni non aumentano. Le variazioni nel tempo sono contenute, salvo un aumento del diradamento frontale nelle donne più anziane. La crisi dei capelli delle donne di mezza età, le quali riferiscono che "da qualche tempo i miei capelli non sono più come prima, coprono inadeguatamente il cuoio capelluto, non raggiungono la loro lunghezza e anche la consistenza è cambiata" è stato argomento dello studio di Mirmirani⁽²⁹⁾, condotto tramite l'utilizzo del fototricogram-

ma modificato per valutare la velocità di crescita del capello e l'analisi del diametro del capello con fibra ottica. Valutando le differenze nella regione frontale verso quella occipitale, si è riscontrato nel periodo menopausale un calo della crescita e quindi una riduzione dell'anagen, in quello postmenopausale una riduzione del diametro frontale indipendentemente dall'età ed in modo bi o trimodale e infine nell'invecchiamento un calo della densità. Successivamente Robbins⁽³⁰⁾ ha esteso la popolazione campione a 1100 donne caucasiche di 18-66 anni d'età con percezione di perdita di capelli verso un gruppo di controllo di 315 donne di 17-86 anni senza tale percezione. La densità dei capelli sale sino a un picco a 20-30 anni e poi cala costantemente, mentre il loro diametro in regione parietale aumenta sino a 40-45 anni e poi cala rapidamente. Il volume o quantità dei capelli (calcolata come il prodotto del quadrato del raggio medio con la densità) e la copertura relativa del cuoio capelluto (calcolata come la sommatoria delle sezioni dei capelli per unità di superficie di cuoio capelluto) aumentano sino a 40-45 anni e poi calano rapidamente (fig. 4).

Alopecia fibrosante frontale

L'alopecia fibrosante frontale (FFA) colpisce le donne caucasiche in età postmenopausale in modo asintomatico ed è caratterizzata da arretramento della linea frontale con segni di cicatrizzazione (perdita di osti, atrofia e pallore), estesa anche alle aree temporali-occipitali e alle sopracciglia sino al 96% e tra 50-95% dei casi, rispettivamente⁽³¹⁾. Secondo uno studio retrospettivo multicentrico, la menopausa precoce è un fattore di rischio per lo sviluppo di alopecia fibrosante frontale mentre perdita delle ciglia, presenza di papule facciali e coinvolgimento peli corporei sono fattori indipen-

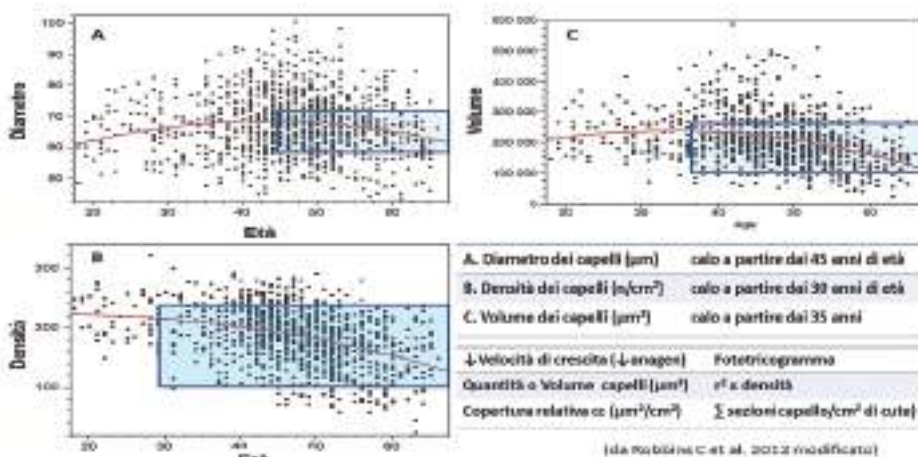


Figura 4. Variazioni con l'età dei parametri tricologici misurati con tecniche computerizzate. I parametri derivano dalle misure eseguite con fototricogramma per la velocità di crescita e analisi del diametro dei capelli con fibra ottica.

denti associati alla forma grave. Inoltre il trattamento con finasteride o dutasteride seguito dal 31% delle pazienti aveva portato miglioramento e stabilizzazione clinica nel 47% e nel 53% dei casi, rispettivamente⁽³²⁾. Attualmente non si conoscono i meccanismi fisiopatologici specifici alla base della alopecia fibrosante frontale e sono state formulate due ipotesi contrastanti. La prima ipotesi è che la alopecia fibrosante frontale sia una variante cicatriziale dell'AGA, dato che nelle pazienti con alopecia fibrosante frontale un approfondimento diagnostico su base clinica, dermatoscopica e istologica ha evidenziato la presenza di AGA nel 57% dei casi e data anche l'efficacia degli antiandrogeni⁽³³⁾. La seconda ipotesi è che si tratti di una malattia autoimmune dovuta invece ad una condizione di ipoandrogenismo, data la bassissima prevalenza negli uomini, peraltro tutti affetti da ipoandrogenismo, e dai bassi livelli di DHEA⁽³¹⁾. Con l'ipoandrogenismo si spegne la via endocrino-mediata del PPy che normalmente sopprime

la risposta infiammatoria mediata da NF- κ B e si riduce l'effetto protettivo degli androgeni contro la perdita di tolleranza degli antigeni-self. L'ipotesi autoimmune è supportata da un possibile autoantigene nei melanociti, dall'ipoandrogenismo in postmenopausa e dalla associazione con poliautoimmunità; a tale riguardo nelle pazienti con alopecia fibrosante frontale è raccomandato indagare la presenza di malattie autoimmuni, quali ipotiroidismo, sindrome di Sjogren, vitiligo, LED ecc. Nello studio della alopecia fibrosante frontale è stato identificato il ruolo dei micro-RNA (miRNA), che sono piccoli RNA non codificanti che influenzano funzioni biologiche e che ricoprono un interesse fisiopatologico, diagnostico e terapeutico per le malattie infiammatorie croniche, fibrotiche ed autoimmuni. Sono stati identificati specifici miRNA circolanti predittivi dello stato di malattia della alopecia fibrosante frontale confrontati con un dataset di mappatura molecolare convalidante⁽³⁴⁾.



Effetto dell'acido acetilsalicilico (ASA)

L'aspirina per os a basse dosi è usata quotidianamente da milioni di persone per prevenire eventi cardiovascolari. È stato recentemente riportato che l'ASA inibirebbe l'enzima sulfotransferasi del follicolo del capello, che normalmente converte minoxidil a minoxidil solfato, la forma attiva. In una coorte di 24 soggetti in cui il 50% era responder al minoxidil topico in base all'attività follicolare di sulfotransferasi, solo il 27% rimaneva responder dopo 14 giorni di terapia con aspirina a basse dosi⁽³⁵⁾. Date le importanti implicazioni lo studio necessiterebbe di una ulteriore conferma.

Effetto degli ace-inibitori

Gli ACE inibitori inducono un effluvio reversibile con meccanismo non noto⁽³⁶⁾. I componenti del sistema renina angiotensina aldosterone sono presenti nel follicolo del capello e si sa inoltre che l'invecchiamento si associa a iperattivazione incontrastata del recettore dell'angiotensina II di tipo I (AT1R) determinando vasocostrizione, infiammazione e malnutrizione cutanea⁽³⁷⁾. Anche l'aldosterone con il recettore dei mineralcorticoidi (MR) avrebbe un ruolo potenziale nell'indurre microinfiammazione cutanea⁽³⁸⁾ e merita anche ricordare che i livelli nel plasma di aldosterone sono significativamente aumentati negli individui con AGA⁽³⁹⁾.

Discussione

Il presente lavoro conferma la consistenza del legame tra le basi fisiopatologiche dell'invecchiamento del follicolo del capello e lo svilup-

po di un tipo di alopecia definita come alopecia senescente. Lo stress ossidativo cronico assume un ruolo fondamentale nell'indurre danno alle cellule del follicolo del capello e soprattutto alle cellule staminali che perdono di conseguenza la capacità a mantenersi e differenziarsi con conseguente atrofia del follicolo del capello⁽⁶⁾ (fig. 1). Inoltre, per effetto dello stress ossidativo viene danneggiato il microambiente della nicchia delle cellule staminali tramite degradazione del Col17 α 1 (13) e ridotta sintesi di decorina⁽¹⁴⁾ con risultante perdita dell'integrazione dei segnali intercellulari che portano le cellule staminali a ridurre la capacità di autorinnovamento. Il danno da stress ossidativo non è solo a carico delle cellule staminali del follicolo del capello ma anche delle cellule staminali melanocitarie (MSC) e delle cellule staminali della papilla dermica (DPSC), che, in quest'ultimo caso, porta ad un loro ridotto afflusso dalla guaina connettivale prossimale per riempire la papilla dermica con conseguente miniaturizzazione della papilla dermica. Il risultato di questi fenomeni è lo sviluppo di atrofia follicolare che porta alla produzione di capelli con diametro ridotto e che clinicamente si manifesta come alopecia senescente⁽⁴⁰⁾. La presenza di AGA altera l'aspetto dell'alopecia senescente. Le due forme di alopecia hanno come caratteristica condivisa la presenza di cellule della papilla dermica con maggiore espressione di AR che le rendono più sensibili a senescenza prematura con sviluppo di miniaturizzazione follicolare, allungamento della fase telogen e accorciamento. La caratteristica che le differenzia è rappresentata nella forma senescente dal calo dell'espressione dei fattori di trascrizione per la crescita nelle cellule staminali del follicolo del capello, mentre sono mantenuti solo quelli per la differenziazione; al contrario nella forma androgenetica cala l'espressione dei geni per lo sviluppo e la ciclizzazio-



ne. Da queste differenze nel follicolo del capello risultano i seguenti quadri clinici:

- a) alopecia pattern con miniaturizzazione progressiva al vertice nell'uomo e diffusa nella donna;
- b) alopecia senescente con assottigliamento dei capelli a partire da 50 anni senza storia di AGA;
- c) associazione di alopecia senescente con AGA che risulta molto prevalente nell'età matura e che nelle donne con assottigliamento diffuso e pattern insieme rende difficile la loro distinzione.

La forma di alopecia nel periodo postmenopausale o alopecia climaterica è attribuita al calo degli estrogeni che normalmente mantengono la fase anagen⁽²⁶⁾. Il precursore chiave per la sintesi di estrogeni diviene allora il deidroepiandrosterone (DHEA), la cui sintesi però con il tempo si riduce marcatamente. Il difetto estrogenico porta a una riduzione diffusa della quantità dei capelli che aumenta negli anni successivi alla menopausa in modo indipendente oppure peggiorato dall'alopecia senescente⁽²⁸⁾. Contemporaneamente il diradamento frontale e temporale tipici dell'AGA subiscono variazioni più contenute, salvo un raddoppio della prevalenza del diradamento frontale nelle donne anziane. Importante valutare i peli corporei che aumentano sino alla menopausa e poi diminuiscono progressivamente con l'età, segno di alopecia senescente.

Misure tricologiche computerizzate hanno dimostrato che la crisi dei capelli delle donne di mezza età è dovuta al calo del volume dei capelli determinato dalla combinazione della diminuzione della densità follicolare con la riduzione del diametro dei capelli⁽³⁰⁾. Sebbene si noti comunque un'ampia dispersione dei valori delle misure, sarebbero forse utili per le pazienti in climaterio parametri tricoscopici più semplici per valutare diame-

tro del fusto e densità follicolare in regioni specifiche del cuoio capelluto. Gli effetti collaterali dei farmaci assunti più frequentemente nell'età matura sono attualmente limitati agli ACE-inibitori⁽³⁶⁾ nell'indurre effluvio e all'effetto dell'aspirina nel ridurre l'azione del minoxidil⁽³⁵⁾. Nonostante la presenza del sistema RAA nel follicolo del capello non si conosce quale sia il suo ruolo⁽³⁸⁾. Nei pazienti di età matura merita sempre ricercare un deficit di vitamina D, data l'elevata prevalenza di questa condizione⁽⁴¹⁾ nel proteggere i telomeri⁽⁴²⁾ e le relative implicazioni sul follicolo del capello⁽⁴³⁾. In aiuto della diagnostica istologica delle alopecie in genere e dell'età matura è la possibile evoluzione dalla colorazione classica con ematosilina-eosina alla messa in evidenza delle cellule staminali del buldge e le cellule progenitrici della matrice con marcatori epigenetici come per es. i pattern della 5 idrossimetileitosina, realizzando la fotografia del momento dinamico del ciclo follicolo del capello e dei suoi disturbi. Infine, in attesa di terapie di ringiovanimento dei follicoli attualmente ancora sperimentali, la condotta terapeutica nei pazienti in età matura è rivolta ad intervenire sui fattori associati all'invecchiamento come la menopausa o potenziati dall'invecchiamento come l'AGA che peggiorano il quadro clinico. Ne conseguono implicazioni terapeutiche nell'agire sui fattori di alopecie specifiche e nell'agire sulle condizioni che possono accelerare o aggravare la senescenza, quali la malattia cardiovascolare, il diabete tipo 2 e le malattie infiammatorie croniche. In conclusione, il messaggio forse più importante che riceviamo è che il follicolo del capello è un mini-organo e, come tutti gli organi, va valutato sotto l'aspetto morfologico e funzionale per un'appropriata diagnosi, terapia e monitoraggio e nel caso della senescenza rappresenta anche l'occasione per valutare l'individuo dal punto di vista sistemico.



Riferimenti

1. Pinkus H.: "Alopecia. Clinicopathologic correlations" *Int J Dermatol.* 1980; 19: 245-53.
2. Kligman A.M.: "The comparative histopathology of male-pattern baldness and senescent baldness" *Clin Dermatol.* 1988; 6: 108-18.
3. Luo J., Mills K., Le Cessie S., Noordman R., van Heemst D.: "Ageing, Age-Related Diseases and Oxidative Stress: What to Do Next?" *Ageing Res Rev.* 2020; 57, 100982. doi: 10.1016/j. arr. 2019. 100982.
4. Singh C.K., Chhabra G., Ndiaye M.A., Garcia-Peterson L.M., Mack N.J., Ahmad N.: "The Role of Sirtuins in Antioxidant and Redox Signaling" *Antioxid Redox Signal.* 2018; 28(8): 643-661.
5. Lemasters J.J., Ramshesh V.K., Lovelace G.L., Lim J., Wright G.D., Harland D., Dawson T.L.: "Compartmentation of Mitochondrial and Oxidative Metabolism in Growing Hair Follicles: A Ring of Fire" *J. Investig. Dermatol.* 2017; 137: 1434-1444.
6. Liu N., Yin Y., Wang H., Zhou Z., Sheng X., Fu H., et al.: "Telomere dysfunction impairs epidermal stem cell specification and differentiation by disrupting BMP/pSmad/P63 signaling" *PLoS Genet* 2019; 15 (9): e1008368.
7. Eckhart L., Tschachler E. and Gruber F.: "Autophagic control of skin aging" *Front. Cell. Dev. Biol.* 2019; 7: 143. doi: 10.3389 / fcell. 2019. 00143.
8. Parodi C., Hardman J.A., Allavena G., Marotta R., Catelani T., Bertolini M., Paus R., Grimaldi B.: "Autophagy is essential for maintaining the growth of a human (mini)-organ: Evidence from scalp hair follicle organ culture" *PLoS Biol.* 2018; 16(3): e2002864. doi: 10.1371 / journal. pbio. 2002864.
9. Chai M., Jiang M., Vergnes L., Fu X., de Barros S.C., Doan N.B., Huang W., Chu J., Jiao J., Herschman H., Crooks G.M., Reue K., Huang J.: "Stimulation of Hair Growth by Small Molecules that Activate Autophagy" *Cell Rep.* 2019; 27: 3413-3421.
10. Amoh Y., Hoffman R.M.: "Hair follicle-associated-pluripotent (HAP) stem cells" *Cell Cycle.* 2017; 16: 2169-2175.
11. Blanpain C., Lowry W.E., Geoghegan A., Polak L., Fuchs E.: "Self-renewal, multipotency, and the existence of two cell populations within an epithelial stem cell niche" *Cell.* 2004; 118: 635-48.
12. Ji J., Ho B.S., Qian G., Xie X.M., Bigliardi P.L., Bigliardi-Qi M.: "Aging in hair follicle stem cells and niche microenvironment" *J Dermatol.* 2017; 44: 1097-1104.
13. Matsumura H., Mohri Y., Binh N.T., Morinaga H., Fukuda M., Ito M., Kurata S., Hoeijmakers J., Nishimura E.K.: "Hair follicle aging is driven by transepidermal elimination of stem cells via COL17A1 proteolysis" *Science.* 2016; 351(6273): aad 4395. doi: 10.1126 / science. aad4395.
14. Miyachi K., Yamada T., Kawagishi-Hotta M., Hasebe Y., Date Y., Hasegawa S., Arima M., Iwata Y., Kobayashi T., Numata S., Yamamoto N., Nakata S., Sugiura K., Akamatsu H.: "Extracellular proteoglycan decorin maintains human hair follicle stem cells" *J Dermatol.* 2018; 45: 1403-1410.
15. Wang M.J., Chen J., Chen F., Liu Q., Sun Y., Yan C., Yang T., Bao Y., Hu Y.P.: "Rejuvenating Strategies of Tissue-specific Stem Cells for Healthy Aging" *Aging Dis.* 2019; 10: 871-882
16. Leavitt D., Wells M., Abarzua P., Murphy G.F., Lian C.G.: "Differential distribution of the epigenetic marker 5-hydroxymethylcytosine occurs in hair follicle stem cells during bulge activation" *Cutan Pathol.* 2019; 1-8. DOI: 10.1111/cup. 13434.
17. Trüeb R.M., Rezende H.D., Dias M.F.R.G.: "A Comment on the Science of Hair Aging" *Int J. Trichology.* 2018; 10: 245-254.



18. Fernandez-Flores A., Saeb-Lima M., Cassarino D.S.: "Histopathology of aging of the hair follicle" *J Cutan Pathol.* 2019; 46: 508-519.

19. Ohn J., Kim S.J., Choi S.J., Choe Y.S., Kwon O., Kim K.H.: "Hydrogen peroxide (H₂O₂) suppresses hair growth through downregulation of β -catenin" *J Dermatol Sci.* 2018;89:91-94.

20. Shankar D.K., Chakravarthi M., Shilpakar R.: "Male androgenetic alopecia: population-based study in 1,005 subjects" *Int J Trichol* 2009; 1: 131-133.

21. Karnik P., Shah S., Dvorkin-Wininger Y., Oshtry S., Mirmirani P.: "Microarray analysis of androgenic and senescent alopecia: comparison of gene expression shows two distinct profiles" *J Dermatol Sci.* 2013; 72: 183-6.

22. Lei M., Chuong C.M.: "Aging, alopecia, and stem cells" *Science.* 2016; 351: 559-560.

23. Yang Y.C., Fu H.C., Wu C.Y., Wei K.T., Huang K.E., Kang H.Y.: "Androgen receptor accelerates premature senescence of human dermal papilla cells in association with DNA damage" *PLoS One.* 2013; 8(11): e79434. doi: 10.1371/journal.pone.0079434.

24. Kumtornrut C., Yamauchi T., Koibe S., Aiba S., Yamasaki K.: "Androgens modulate keratinocyte differentiation indirectly through enhancing growth factor production from dermal fibroblasts" *J Dermatol Sci.* 2019; 93: 150-158.

25. Reus T.L., Brohem C.A., Schuck D.C., Lorencini M.: "Revisiting the effects of menopause on the skin: Functional changes, clinical studies, in vitro models and therapeutic alternatives" *Mech Ageing Dev.* 2020; 185: 111193. doi: 10.1016/j.mad.2019.111193.

26. Thornton M.J.: "Estrogens and aging skin" *Dermato-Endocrinology* 2013; 5: 264-270.

27. Lephart E.D.: "Human scalp hair: Modulation

by various factors and hormones do estrogens inhibit or stimulate – A perplexing perspective" *J Cosmt Dermatol.* 2019; 18: 1860-1865.

28. Ali I., Wojnarowska F.: "Physiological changes in scalp, facial and body hair after the menopause: a cross-sectional population-based study of subjective changes" *Br J Dermatol.* 2011; 164: 508-13.

29. Mirmirani P.: "Hormonal changes in menopause: do they contribute to a 'midlife hair crisis' in women?" *Br J Dermatol.* 2011; 165 Suppl 3: 7-11.

30. Robbins C., Mirmirani P., Messenger A.G., Birch M.P., Youngquist R.S., Tamura M., Filloon T., Luo F., Dawson T.L. Jr.: "What women want – quantifying the perception of hair amount: an analysis of hair diameter and density changes with age in caucasian women" *Br J Dermatol.* 2012; 167: 324-32.

31. Garcia-Robledo J.E., Aragón C.C., Nieto-Aristizábal I., Vázquez S., Montoya C., Tobón G.J.: "Frontal fibrosing alopecia: A new autoimmune entity?" *Med Hypotheses.* 2019; 124: 13-16.

32. Vañó-Galvan S., Molina-Ruiz A.M., Serrano-Falcón C., Arias-Santiago S., Rodriguea-Barata A.R., Garnacho-Saucedo G., Martorell-Calatayud A., Fernandez-Crehuet P., Grimalt R., Aranegui B., Grillo E., Diaz-Lei B., Salido R., Pérez-Gala S., Serrano S., Moreno J.C., Jaén P., Camacho F.M.: "Frontal fibrosing alopecia: a multicenter review of 355 patients" *J Am Acad Dermatol.* 2014; 70(4): 670-678.

33. Katoulis A.C., Diamanti K., Sgouros D., Liakou A.I., Bozi E., Avgerinou G., Panayiotides I., Rigopoulos D.: "Is there a pathogenic link between frontal fibrosing alopecia, androgenic alopecia and fibrosing alopecia in a pattern distribution?" *J EADV* 2018; 32: e218-e219.

34. Tziotziou C., Ainali C., Holmes S., Cunningham F., Lwin S.M., Palamaras I., Bhargava K., Rymer J., Stefanato C.M., Kirkpatrick N., Vano-Galvan S., Petridis C., Fenton D.A., Simpson M.A., Onoufriadis A., McGrath J.A.: "Tissue and

Circulating MicroRNA Co-expression Analysis Shows Potential Involvement of miRNAs in the Pathobiology of Frontal Fibrosing Alopecia” *Journal of Investigative Dermatology*. 2017; 137: 2440e2443.

35. Goren A., Sharma A., Dhurat R., Shapiro J., Sinclair R., Situm M., Kovacevic M., Lukinovic Skudar V., Goldust M., Lotti T., McCoy J.: “Low-dose daily aspirin reduces topical minoxidil efficacy in androgenetic alopecia patients” *Dermatol Ther.*2018; 31(6): e12741. doi: 10.1111/dth. 12741.

36. Kataria V., Wang H., Wald J.W., Phan Y.L.: “Lisinopril-induced alopecia: a case report” *J Pharm Pract* 2017; 30: 562-566.

37. Lang J.A., Krajek A.C.: “Age-related differences in the cutaneous vascular response to exogenous angiotensin II” *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2019; 316: H516-H521.

38. Aleksiejczuk M., Gromotowicz-Poplawska A., Marcinczyk N., Przyłipiak A., Chabielska E.: “The expression of the renin-angiotensin-aldosterone system in the skin and its effects on skin physiology and pathophysiology” *J Physiol Pharmacol*. 2019; 70. doi: 10.26402/jpp.2019. 3. 01.

39. Arias-Santiago S., Gutierrez-Salmeron M.T., Castellote-Caballero L., Buendia-Eisman A., Naranjo Sintes R.: “Androgenetic alopecia and cardiovascular risk factors in men and women: a comparative study” *J Am Acad Dermatol* 2010; 63: 420-429.

40. Pantelireis N., Higgins C.A.: “A bald statement - Current approaches to manipulate miniaturisation focus only on promoting hair growth” *Experimental Dermatology*. 2018; 27: 959-965.

41. De Jongh R.T., Van Schoor N.M., Lips P.: “Changes in vitamin D endocrinology during aging in adults” *Mol Cell Endocrinol*. 2017; 453: 144-150.

42. Liu J.J., Prescott J., Giovannucci E., Hankinson S.E., Rosner B., Han J., De Vivo I.

“Plasma Vitamin D biomarkers and leukocyte telomere length” *Am J Epidemiol*. 2013; 177: 1411-1417.

43. Gerkowicz A., Chyl-Surdacka K., Krasowska D., Chodorowska G.: “The Role of Vitamin D in Non Scarring Alopecia” *Int J Mol Sci*. 2017; 18. pii: E2653. doi: 10.3390 / ijms1812265



Il microbiota del cuoio capelluto

Nicolò Rivetti
(Milano - Vigevano)

Glossario

Microbiota: Il totale dei microrganismi che vivono sul/nel nostro corpo.

Microbiota cutaneo: Il totale dei microrganismi che vivono sulla/nella nostra pelle.

Microbioma: Il genoma dei microrganismi che compongono il microbiota.

Disbiosi: Condizione di squilibrio del microbiota.

Eubiosi: Condizione di equilibrio del microbiota.

Probiotici: Microrganismi viventi che, se somministrati in adeguate dosi, conferiscono un beneficio al microbiota dell'ospite.

Prebiotici: Componenti alimentari non viventi che conferiscono all'ospite un beneficio associato ad una modulazione del microbiota.

Antibiotici: Gli antibiotici hanno la capacità, in soluzioni diluite, di inibire la crescita o distruggere batteri o altri microrganismi.

Introduzione

L'interesse nei confronti dei microrganismi che colonizzano la pelle nasce dalla prima osservazione microscopica di Antoni van Leeuwenhoek nel 1683.

Successivamente, negli anni '50 del secolo scorso, Kligman compie i primi studi riguardanti il microbiota in ambito dermatologico. Nel 2000 Joshua Lederberg (premio Nobel) introduce per la prima volta il termine microbioma per descrivere il genoma collettivo dei microrganismi indigeni (microflora) che colonizzano il corpo umano.

A differenza del microbiota intestinale, studiato e descritto da diversi anni, l'interesse nei confronti del microbiota cutaneo e di quello del cuoio capelluto è assai più recente.

Ogni singolo centimetro quadrato della nostra pelle, inclusi gli annessi cutanei, è abitato da circa un miliardo di microrganismi (soprattutto batteri e funghi, ma anche acari e virus), formando una complessa comunità nota con il nome di "microbiota cutaneo". La sua composizione varia nettamente nelle diverse regioni della pelle a seconda del pH, della temperatura, dell'umidità e del contenuto di sebo.

Una vasta gamma di fattori esterni, quali il parto vaginale o cesareo, l'ambiente in cui viviamo (esposizione alla luce solare, temperatura dell'aria, umidità), lo stile di vita, i cosmetici utilizzati, associati a probabili predisposizioni genetiche, modellano il microbiota cutaneo, provocandone elevate variabilità interpersonali.

Il microbiota del cuoio capelluto

Il cuoio capelluto è ricco di ghiandole che producono sebo (ghiandole sebacee) rilasciato attraverso i dotti sebacei nell'infundibolo e sulla superficie della pelle. Anche se il sebo ha proprietà antimicrobiche, diversi microrganismi riescono tranquillamente a proliferare. L'esame colturale di tamponi del cuoio capelluto è il metodo più rapido e più diffuso per l'analisi del microbiota del cuoio capelluto. I batteri più abbondanti riscontrati nei soggetti sani sono *Cutibacterium species* (in particolare di *Cutibacterium acnes*, denominato in passato *Propionibacterium acnes*) e *Staphylococcus species* (con la predominanza di *S. epidermidis* e *S. aureus*). Altre specie rappresentate, ma meno numerose, sono *Corynebacterium spp.*, *Streptococcus species*, *Acinetobacter species* e *Prevotella species*.

I follicoli piliferi, che si estendono dalla superficie della pelle fino al derma e al tessuto sottocutaneo, connessi alla ghiandola sebacea a costituire "l'unità pilosebacea", creano una nicchia idrofobica in cui sono presenti diversi microrganismi, a formare una specifica sottocategoria del microbiota del cuoio capelluto, il "microbiota del capello". Se il microambiente della parte superiore del follicolo è probabilmente influenzato principalmente dalle proprietà del sebo e dalle variazioni della tensione dell'ossigeno, poco si sa riguardo alle condizioni ambientali al di sotto dell'infundibolo. Di fronte a numerosi studi che hanno confermato l'abbondante presenza di batteri e funghi all'interno dell'ostio follicolare e nella parte superiore dei follicoli piliferi (quella sopra all'infundibolo), solo una minoranza di lavori hanno analizzato i microrganismi localizzati nella parte più profonda del follicolo, quella localizzata al di sotto dell'infundibolo. Nel 2019 Watanabe et al hanno condotto uno studio per definire il numero e le tipologie di comunità batteriche

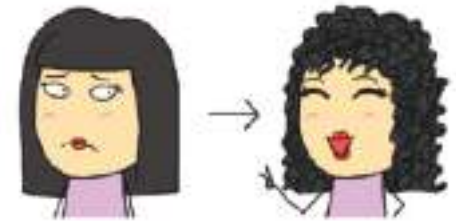
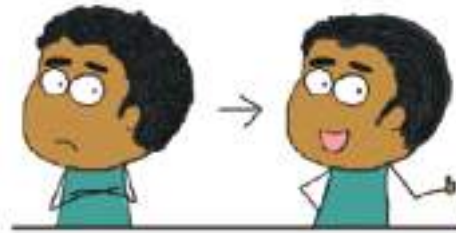
presenti lungo i capelli (dalla radice alle punte) utilizzando un microscopio elettronico a scansione, la Polymerase Chain Reaction (PCR) quantitativa ed una metodica di sequenziamento denominata "16S amplicon". Questo studio ha permesso di identificare alte densità batteriche, dell'ordine di circa 107 cellule per cm² a livello follicolare e 106 cellule per cm² lungo i fusti, paragonabili alla densità batterica salivare. Le specie batteriche maggiormente rappresentate, riscontrabili lungo tutto il capello, includono *Pseudomonas alcalophila* e *Pseudomonas caricapapayae* (phylum Proteobacteria), *Cutibacterium acnes* e *Lawsonella clevelandensis* (phylum Actinobacteria) e *Staphylococcus argenteus* (phylum Firmicutes), quest'ultimo più rappresentato a livello follicolare. Degno di nota anche il fatto che il numero di batteri sull'intero fusto del capello non sia cambiato in modo significativo dopo lavaggio con shampoo, ad indicare come i batteri siano strettamente attaccati al fusto. Questa osservazione ha permesso di ipotizzare che i principali batteri presenti sui capelli non provengano solo dall'ambiente circostante, ma siano perlopiù indigeni e derivanti dalla regione follicolare.

Shibagaki et al. hanno studiato anche i cambiamenti nella composizione del microbiota del cuoio capelluto che avvengono con l'invecchiamento, identificando una maggiore ricchezza di specie ed un marcato aumento del numero di specie minori in donne di età compresa tra 60 e 70 anni, rispetto al gruppo più giovane (21-37 anni).

Per quanto riguarda i funghi costituenti il microbiota del cuoio capelluto umano, *Malassezia species*, in particolare *Malassezia globosa* e *Malassezia restricta*, sono le specie più abbondanti, seguite da Ascomycota (*Acremonium spp.*, *Didymella bryoniae*), Basidiomycota (*Cryptococcus liquefaciens* e

Cryptococcus diffluens), *Coniochaeta species* e *Rhodotorula species*. Mediante microscopia confocale è stato inoltre possibile identificare la presenza di lieviti a livello dell'infundibolo. Il microbiota dei bambini di età inferiore ai 14 anni è risultato più diversificato, e con una presenza relativamente più bassa di *Malassezia species* rispetto agli adulti. Ciò è probabilmente dovuto al fatto che le ghiandole sebacee mostrano una minore attività e una diversa composizione di sebo prima della pubertà. Non solo batteri e funghi, ma anche altri microrganismi come acari o virus colonizzano il cuoio capelluto umano. Tra gli acari ritroviamo *Demodex folliculorum*, che si trova di solito nell'infundibolo follicolare, *Demodex brevis*, localizzato nelle ghiandole sebacee, ma anche *Dermatophagoides species* e *Euroglyphus species*. Infine, sia sui capelli che nella forfora di volontari sani è stato identificato anche il virus del papilloma umano, il cui ruolo rimane tuttavia da chiarire.

Alcuni autori sostengono che il microbiota sia importante nel determinare la forma dei capelli: gli enterobatteri sono presenti in una percentuale significativamente differente nei soggetti con capelli lisci rispetto a quelli con capelli ricci. In uno studio randomizzato, in doppio cieco, campioni di microbioma di soggetti con capelli ricci sono stati trapiantati sul cuoio capelluto di soggetti con capelli lisci, e viceversa: nel 73% dei casi, i capelli lisci sono divenuti ricci e viceversa. All'analisi quantitativa del microbiota, dopo 6 settimane dal trapianto, è stata osservata una presenza di enterobatteri significativamente più alta nei soggetti con capelli ricci rispetto ai soggetti con capelli lisci. La produzione della proteina "curly" da parte degli enterobatteri, una varietà di fimbrie che facilita l'adesione alle superfici, e la sua interazione con la cheratina del pelo, sembrerebbe essere responsabile



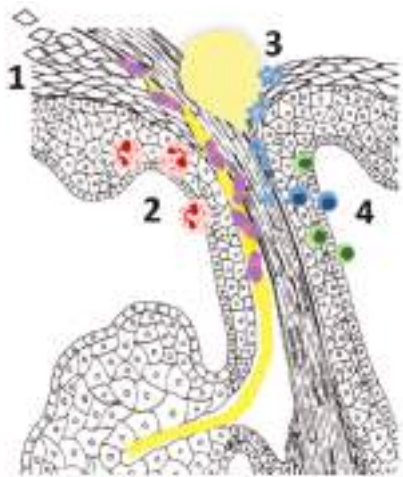
Il microbiota del cuoio capelluto influenza la forma dei nostri capelli.
Figura tratta dal riferimento bibliografico 6.

della comparsa di capelli ricci in soggetti con un microbiota del cuoio capelluto ricco di enterobatteri. Questo studio preliminare ha gettato le basi per lo sviluppo futuro di cosmetici in grado di modificare la forma dei capelli. Se si pensa che gran parte delle donne con capelli ricci spendono una gran quantità di tempo e di denaro per renderli lisci, e se si considera che la popolazione globale è di 7,5 miliardi, anche prendendo in esame la sola fascia di età compresa tra i 20 e i 50 anni, il mercato per i trattamenti volti a modificare il microbiota dei capelli sarebbe assai considerevole.

Microbiota del cuoio capelluto e malattie di interesse tricologico

Negli ultimi anni è stato ipotizzato un ruolo della disbiosi del microbiota del cuoio capelluto nell'insorgenza di malattie di interesse tricologico.

Nel cuoio capelluto dei pazienti con alopecia areata è stato osservato un aumento di C.



Microbiota e malattie del cuoio capelluto.

La figura illustra il coinvolgimento del microbiota nella patogenesi di alcune malattie del cuoio capelluto. Ad esempio nella dermatite seborroica è stato descritto l'effetto pro-infiammatorio dei lieviti (in viola) attraverso il rilascio di acidi grassi liberi ottenuti dall'idrolisi di trigliceridi presenti nella ghiandola sebacea. In particolare gli acidi grassi liberi inattivi stimolano l'infiammazione e l'iperproliferazione dei cheratinociti dell'epidermide (1). I lieviti possono anche stimolare l'insorgenza di placche psoriasiche attraverso il rilascio di citochine, l'attivazione del complemento ed il reclutamento dei neutrofili (2). *S. aureus* (in blu) è spesso incontrato nelle pustole ed erosioni caratteristiche della follicolite decano (3), ma può anche contribuire all'insorgenza di altre malattie, ad esempio elicando una risposta immunitaria Th17, come avviene nella psoriasi (4). Figura tratta dal riferimento bibliografico 2.

acnes e una diminuzione di *Staphylococcus* species, in particolare *S. epidermidis*, suggerendo un ruolo patogenetico nel bilanciamento *Propionibacterium/Staphylococcus*. *P. acnes* è in grado di sintetizzare molti enzimi coinvolti nel metabolismo delle porfirine che, una volta attivati, possono contribuire all'ossidazione e all'infiammazione follicolare, e questo potrebbe giocare un ruolo nell'insorgenza dell'alopecia areata.

Anche una disbiosi del microbiota intestinale può concorrere all'insorgenza di malattie infiammatorie croniche intestinali (morbo di Chron e rettocolite ulcerosa), le quali a loro volta possono manifestarsi con sintomi extraintestinali, tra cui l'alopecia areata. Sono sempre più numerosi gli studi che dimostrano l'esistenza di un asse microbiota inte-

stinale-cervello in grado di regolare numerose risposte immuni del nostro organismo, anche a livello cutaneo. In particolare si stanno cercando di chiarire i meccanismi attraverso cui un quadro di disbiosi intestinale possa determinare la comparsa di malattie autoimmuni di interesse dermatologico e tricologico. Il microbiota intestinale e il sistema immunitario sono strettamente interconnessi: una dieta scorretta può determinare la comparsa di infiammazione intestinale, disbiosi, aumento della permeabilità intestinale, e comparsa di risposte autoimmuni in diverse parti del nostro organismo, tra cui il follicolo pilifero, con conseguente perdita del suo "privilegio immunologico" e comparsa di alopecia areata. A sostegno di questa ipotesi esistono in letteratura dei bellissimi case reports in cui si è



Ricrescita dei capelli in un paziente di 20 anni dopo trapianto di microbiota fecale. Cuoio capelluto del paziente quando ha iniziato a perdere i capelli per la prima volta all'età di 16 anni (A). Cuoio capelluto dopo alcuni mesi (B) e 1,5 anni (C) dopo il trapianto di microbiota fecale. Figura tratta dal riferimento bibliografico 10.

osservata una completa remissione di alopecia areata di vecchia data in pazienti sottoposti a trapianto di feci per trattare infezioni intestinali ricorrenti da *Clostridium difficile*. Il passaggio da una condizione di disbiosi ad una di eubiosi, nei soggetti trattati con trapianto di feci, è stato in grado di determinare una remissione dei sintomi intestinali ed extraintestinali.

Anche nell'alopecia androgenetica (AGA) è possibile osservare delle modificazioni del microbiota del cuoio capelluto nei soggetti affetti confrontati con controlli sani. Nei pazienti che soffrono di AGA è stato osservato un aumento di *Malassezia globosa* e *Malassezia restricta*, specialmente nelle zone di cuoio capelluto interessate dal diradamento. Questa disbiosi determina una maggior produzione di citochine pro-infiammatorie con comparsa della classica infiammazione perifollicolare che caratterizza l'AGA.

In un altro studio è stato osservato un aumento significativo di *C. acnes* a livello dei capelli miniaturizzati. Anche in questo caso la produzione di citochine pro-infiammatorie da parte di *C. acnes* potrebbe giocare un ruolo nell'insorgenza dell'AGA, ma rimane da chiarire come questo batterio possa essere rilevante nella patogenesi dell'AGA.

Sul cuoio capelluto di pazienti che soffrono di dermatite seborroica vi è una significativa presenza di *Malassezia restricta* e *Staphylococcus species* rispetto alla popolazione sana. Negli ultimi anni l'utilizzo topico e sistemico di antifungini per abbassare la carica di *Malassezia species* ha rappresentato la terapia cardine nella dermatite seborroica, tuttavia anche i batteri hanno un ruolo importante nel determinare la gravità di questa patologia.

Gli ultimi studi condotti sul microbiota del cuoio capelluto hanno illustrato come sia più

importante ristabilire un equilibrio tra *M. restricta* e gli altri microrganismi presenti sul cuoio capelluto, ossia ripristinare l'eubiosi, senza soffermarsi sul ruolo patogenetico di uno specifico batterio o fungo.

Solo da uno studio approfondito del microbiota e delle relazioni che esistono tra i vari microrganismi che popolano il cuoio capelluto, sarà possibile comprendere con maggior chiarezza i meccanismi patogenetici alla base delle varie patologie tricologiche, al fine di sviluppare terapie sempre più mirate ed efficaci.

Riferimenti

1. Dréno B., Araviiskaia E., Berardesca E., et al.: "Microbiome in healthy skin, update for dermatologists" *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2016 Dec; 30(12): 2038-2047.
2. Polak-Witka K., Rudnicka L., Blume-Peytavi U., Vogt A.: "The role of the microbiome in scalp hair follicle biology and disease" *Exp Dermatol.* 2020 Mar; 29(3): 286-294.
3. Watanabe K., Nishi E., Tashiro Y., Sakai K.: "Mode and Structure of the Bacterial Community on Human Scalp Hair" *Microbes Environ.* 2019 Sep 25; 34(3): 252-259.
4. Shibagaki N., Suda W., Clavaud C., et al.: "Aging-related changes in the diversity of women's skin microbiomes associated with oral bacteria" *Sci Rep.* 2017 Sep 5; 7(1): 10567.
5. Polak-Witka K., Rudnicka L., Blume-Peytavi U., Vogt A.: "The role of the microbiome in scalp hair follicle biology and disease" *Exp Dermatol.* 2020



Mar; 29(3): 286-294.

6. Timmis K., Jebok F., Rigat F., M de Vos W., Timmis J.K.: "Microbiome yarns: microbiology of curly and straight hair" *Microb Biotechnol.* 2017 Mar; 10(2): 231-237.

7. Pinto D., Sorbellini E., Marzani B., et al.: "Scalp bacterial shift in Alopecia areata" *PLoS One.* 2019 Apr 11; 14(4): e0215206.

8. Sobolewska-Włodarczyk A., Włodarczyk M., Fichna J., et al.: "Alopecia areata in patients with inflammatory bowel disease: an overview" *Folia Med Cracov.* 2016; 56(1): 5-12.

9. Borde A., Åstrand A.: "Alopecia areata and the gut-the link opens up for novel therapeutic interventions" *Expert Opin Ther Targets.* 2018 Jun; 22(6): 503-511.

10. Xie W.R., Yang X.Y., Xia H.H., et al.: "Hair regrowth following fecal microbiota transplantation in an elderly patient with alopecia areata: A case report and review of the literature" *World J Clin Cases.* 2019 Oct 6; 7(19): 3074-3081.

11. Rebello D., Wang E., Yen E., et al.: "Hair Growth in Two Alopecia Patients after Fecal Microbiota Transplant" *ACG Case Rep J.* 2017 Sep 13; 4:e107.

12. Huang J., Ran Y., Pradhan S., et al.: "Investigation on Microecology of Hair Root Fungi in Androgenetic Alopecia Patients" *Mycopathologia.* 2019 Aug; 184(4): 505-515.

13. Ho B.S., Ho E.X.P., Chu C.W., et al.: "Microbiome in the hair follicle of androgenetic alopecia patients" *PLoS One.* 2019 May 3; 14(5): e0216330.

14. Lin Q., Panchamukhi A., Li P., et al.: "Malassezia and Staphylococcus dominate scalp microbiome for seborrheic dermatitis" *Bioprocess Biosyst Eng.* 2020 Mar 26.

15. Grimshaw S.G., Smith .AM., Arnold D.S., et al.:

"The diversity and abundance of fungi and bacteria on the healthy and dandruff affected human scalp" *PLoS One.* 2019 Dec 18;14(12):e0225796.

16. Park T., Kim H.J., Myeong N.R., et al.: "Collapse of human scalp microbiome network in dandruff and seborrheic dermatitis" *Exp Dermatol.* 2017 Sep; 26(9): 835-838.

17. Xu L., Wang Z., Yuan C., et al.: "Dandruff is associated with the conjoined interactions between host and microorganisms" *Sci Rep.* 2016 May 12 ;6: 24877



La lattoferrina in tricologia: (una review)

Fiorella Bini
Firenze

Come ben sappiamo, tutte le forme di anemia, qualunque ne sia l'origine, possono provocare, innescare o mantenere un telogen effluvio cronico.

Fra le anemie, quelle da carenza di ferro sono fra le cause più frequenti, soprattutto nelle donne in età fertile a causa delle perdite mestruali e dell'aumentato fabbisogno gravidico, ma anche per carenze alimentari, emorragie acute o croniche, situazioni infettive croniche o tossiche.

Il ferro, presente in quantità di 4-5 gr nel corpo umano, è utilizzato per la maggior parte (3/4) per la formazione di emoglobina, ma è presente anche nella composizione chimica del capello ed è fondamentale alla vita del cheratinocita, non solo perché l'emoglobina trasporta l'ossigeno, indispensabile al funzionamento della catena respiratoria mitocondriale e quindi per le sintesi proteiche, ma anche perché è il costituente di molti metalloenzimi: catalasi (che protegge dal perossido di idrogeno H_2O_2), aldeidossidasi (necessarie per la ossidazione aerobica degli zuccheri), citocromi (che trasferiscono gli elettroni nella catena respiratoria).

L'organismo trae la quota necessaria di Fe dagli alimenti, che ne devono contenere giornalmente almeno 20-50 mg; inoltre riutilizza il metallo contenuto nei globuli rossi andati incontro a distruzione.

Il controllo del metabolismo del Fe è regolato da molteplici meccanismi sia a livello sistemico che cellulare: il Fe alimentare, sottoposto all'azione dell'HCl gastrico, è trasformato in ione ferrico, che si lega alla gastroferrina e viene assorbito, in presenza di vit C, nel duodeno e nel digiuno prossimale.

La somministrazione di Fe è ovviamente indispensabile per correggere questi stati carenziali, come integrazione dell'apporto alimentare. Spesso però la supplementazione di questo metallo è resa difficoltosa dalla sua scarsa tollerabilità gastroenterica (costipazione, diarrea, nausea, vomito), parzialmente compensata da assunzioni intervallate e associate a vitamine (specialmente la C). Altre volte sembra che ci sia una sorta di refrattarietà all'assorbimento dell'oligoelemento, nonostante una corretta somministrazione. In questi casi possiamo far ricorso alla lattoferrina.

Si tratta di una glicoproteina che appartiene alla famiglia delle siderofilline, o proteine deputate al trasporto del ferro, di cui fa parte anche la transferrina. È costituita da una singola catena di peptidi avvolta in due lobi (lobo N e lobo C) con peso molecolare di circa 80 Kda (fig 1). In ciascun lobo, all'interno di una tasca idrofila, vi è un sito di legame per lo ione ferrico Fe^{+++} . La sequenza aminoacidica della lattoferrina varia a seconda della specie: quella umana e bovina sono simili per struttura (77% di omologia aminoacidica) e funzioni e sono entrambe in grado di legare il Fe. Rispetto alla transferrina, che è in grado di legare il Fe solo a pH neutro, la lattoferrina può chelare il metallo anche a pH acido, fino



Fig 1- la struttura della Lattoferrina.
Si notano i due lobi, N e C, e i due ioni Fe
rappresentati dalle sfere rosse

a pH 4 e questa peculiarità le conferisce molte altre funzioni oltre a quella di trasporto. La lattoferrina insatura, libera cioè da legami con lo ione ferrico, è denominata Apolattoferrina. Quando la lattoferrina ha chelato il metallo, cambia conformazione e diventa molto resistente agli enzimi come le proteasi. Infatti la lattoferrina è molto stabile per la presenza di numerosi legami disolfuro ed è resistente alla denaturazione chimica, termica e alla proteolisi enzimatica. Somministrata per os, sembra resistere alla degradazione proteolitica durante il transito intestinale mantenendo integre le sue proprietà.

È una proteina cationica, con molte cariche positive rappresentate da residui aminoacidici basici. Ha un punto isoelettrico alcalino, che favorisce le interazioni con molecole acide e con le superfici cellulari.

La lattoferrina è stata scoperta nel 1939, ma solo nel 1960 è stata isolata dal latte bovino e umano, dove è contenuto maggiormente, soprattutto nel colostro. È presente anche in molti fluidi esocri di mammiferi: lacrime, saliva, essudato nasale, muco bronchiale, cervicovaginale, liquido seminale e amniotico, fluidi intestinali, plasma e infine nei granulociti neutrofili. È interessante notare come in corso di processi infiammatori o infettivi i livelli di lattoferrina aumentano grazie al reclutamento dei neutrofili. La lattoferrina assolve a molte importanti funzioni biologiche:

1) *Assorbimento del ferro*

La lattoferrina facilita l'assorbimento intestinale di Fe; grazie alla sua capacità di legare il metallo, lo trasporta al duodeno e legandosi agli enterociti lo porta all'interno della cellula.

Si suppone vi sia uno specifico recettore nel piccolo intestino, sulla membrana dell'orletto

a spazzola, deputato al legame con la lattoferrina e che facilita il suo assorbimento. È stato confermato con l'immunoistochimica che la lattoferrina è trasportata per endocitosi attraverso le cellule epiteliali ed assorbita nel sangue. È stata inoltre ritrovata nella bile.

Da vari studi condotti su neonati alimentati con latte artificiale supplementato di lattoferrina, essa sembra in grado di facilitare, se assunta per os, l'assorbimento intestinale del ferro. Per confermare questa ipotesi, sono stati fatti numerosi studi clinici somministrando lattoferrina per almeno 2 mesi a un campione di donne in gravidanza, di cui un gruppo era affetto da anemia sideropenica. Al termine si è riscontrato un miglioramento dei parametri ematologici (aumento del numero dei globuli rossi, emoglobina, ferritina e una diminuzione della transferrina) sia nelle donne normali che, in maniera più evidente, in quelle con anemia, con effetto dose dipendente.

Pertanto in base a questi risultati possiamo dire che la lattoferrina sembra essere in grado da sola, anche senza integrazioni farmacologiche di ferro, di prevenire e curare l'anemia; inoltre sembra che l'effetto sia maggiore aumentando la dose di lattoferrina.

Un altro studio è stato condotto su pazienti sottoposti a gastrectomia totale per adenocarcinoma gastrico. I risultati hanno evidenziato un incremento significativamente maggiore dell'Hb nei pazienti trattati con lattoferrina rispetto ai pazienti di controllo, sottoposti anch'essi a gastrectomia totale per adenocarcinoma gastrico ma non trattati con lattoferrina. Tale incremento è stato fortemente significativo già nei primi 3 mesi postoperatori, che rappresentano un periodo molto delicato per il recupero del paziente.

Come precedentemente ricordato, una causa di anemia ferro-carenziale è rappresentata dalle malattie croniche, caratterizzate da iper-



ferritinemia. In queste gioca un ruolo di primo piano l'epcidina. Questa è una piccola proteina cationica (25 aminoacidi), prodotta dal fegato, ad attività ormonale (porta un messaggio in tessuti e organi diversi da quelli in cui viene prodotta). La presenza di epcidina è regolata dalla quantità di Fe nei depositi, stimolata da citochine proinfiammatorie (IL-6, IL-1 α e IL-1 β). È un regolatore chiave della ferro-omeostasi nell'organismo in quanto blocca le due principali vie attraverso cui il ferro entra in circolo: l'assorbimento intestinale ed il rilascio dai macrofagi (che riciclano il Fe contenuto nei globuli rossi distrutti).

L'epcidina regola la disponibilità di Fe in base alle necessità: in caso di carenza marziale, il basso livello di epcidina determina un maggior assorbimento intestinale e un maggior rilascio dai sistemi di deposito, viceversa in caso di eccesso. L'epcidina svolge la sua azione modulatrice legandosi ad un'altra proteina chiamata ferroportina, che regola l'uscita di ferro dalle cellule della mucosa intestinale e dalle cellule di deposito (soprattutto il macrofago) al sangue. Quando l'epcidina è presente, si lega alla ferroportina, ne limita la funzione e blocca quindi l'uscita di ferro nel sangue. Quando l'epcidina è assente, succede l'inverso. Vi sono due condizioni patologiche in cui la produzione di epcidina è speculare: l'emocromatosi e l'anemia nelle malattie croniche. Nell'emocromatosi la produzione di epcidina è bassa (alterazioni del gene dell'epcidina?) e quindi aumentano l'assorbimento intestinale ed il rilascio di ferro dai macrofagi, conseguentemente si sviluppa un progressivo accumulo di Fe con danno d'organo.

Nelle malattie croniche si ha una elevata produzione di citochine proinfiammatorie, in particolare IL-6, che incrementa il livello di epcidina con conseguente blocco dell'assorbimento intestinale e della dismissione di Fe dai macrofagi. L'anemia ipocromica che ne deri-

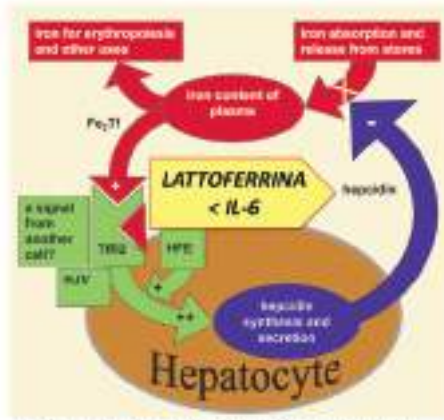


Fig 2- La LF, riducendo i livelli di IL-6, abbassa l'epcidina favorendo l'assorbimento intestinale e la dismissione dai depositi del Fe.

va è caratterizzata da bassa saturazione della transferrina (indicativa della scarsità del ferro circolante) ed elevata ferritina (il ferro è bloccato nei depositi).

In questo caso l'unica possibilità di ripristinare i livelli fisiologici di Fe è data dallo sblocco del sistema, possibile unicamente abbassando il livello di epcidina. La lattoferrina è in grado di ridurre la produzione di IL-6 e quindi di modulare la sintesi di epcidina, contrastando in questo modo l'anemia.

2) Azione antibatterica

Attraverso la chelazione degli ioni ferrici, indispensabili alla vita di molti patogeni, la lattoferrina inibisce la crescita batterica: in particolare ha azione batteriostatica su germi come lo stafilococco aureo, anche in presenza di resistenza agli ATB, e quindi rappresenta una possibile arma di difesa aggiuntiva in caso di germi con ridotta suscettibilità ai chemioterapici disponibili.

Tuttavia la lattoferrina possiede anche un potere antimicrobico ferro-indipendente e con effetto battericida. Infatti è in grado di



legarsi direttamente a strutture della cellula batterica, come i LPS (lipopolisaccaridi) di membrana dei batteri Gram -, o all'acido lipoteicoico dei Gram +, creando un danno strutturale irreversibile con lisi del microrganismo (figg. 3 e 4).

L'azione battericida della lattoferrina è imputabile a una sua regione precisa, presente alla estremità N1 del lobo, denominata lattoferricina, a carica positiva e altissima affinità per i LPS, da cui la notevole attività battericida. Grazie alle sue piccole dimensioni, il peptide riesce a penetrare nella parete batterica, danneggiando in modo irreversibile la membrana cellulare.

Un altro meccanismo con cui la lattoferrina svolge azione antimicrobica è l'attività antiadesiva, impedendo così la colonizzazione batterica sia nelle cellule dell'ospite, sia su devices (come cateteri e protesi), sia verso altri batteri con formazione del biofilm.

Questa azione è stata dimostrata nei confronti di:

- *Helicobacter pilori*: vi è una sicura sinergia della lattoferrina associata alle classiche tera-

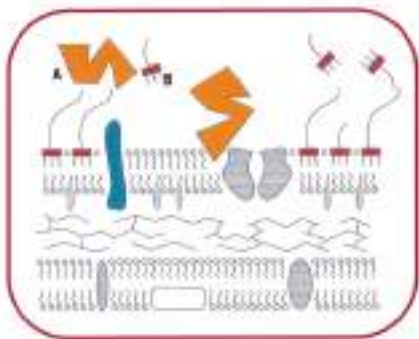


Fig 3 La lattoferrina (strutture grandi arancioni-A) si lega alla membrana esterna, provocando il distacco delle molecole di LPS (rettangoli rossi-B). Le molecole di LPS vengono sostituite con fosfolipidi neutri, alterando la permeabilità della membrana batterica. □

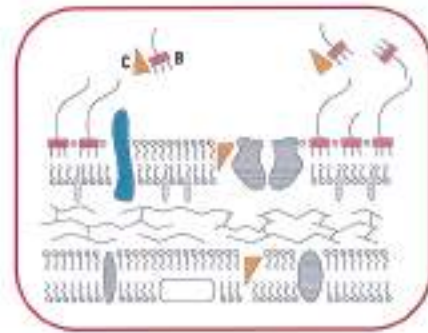


Fig 4 Le molecole di lattoferrina (triangoli arancioni-C) si legano alla membrana esterna, provocando il distacco delle molecole di LPS (rettangoli rossi-B) e alterandone la permeabilità. Per le loro piccole dimensioni riescono a penetrare, danneggiando in modo irreversibile la membrana citoplasmatica batterica. □

pie per la sua eradicazione, con una eradicazione rate 92,2 / 95,9% vs 71,2/ 72,5 % senza lattoferrina.

- *E.Coli*: Si deduce un effetto protettivo sulle enteriti nella prima infanzia per i bambini allattati al seno.
- *Hemophilus influenzae*: responsabile di otiti medie nel bambino
- *Pseudomonas aeruginosa*: nella fibrosi cistica
- *Streptococcus mutans*: impossibilità di adesione alla idrossiapatite

Molti batteri hanno anche la capacità di penetrare all'interno delle cellule sfuggendo ai meccanismi di difesa dell'ospite e trovando anche una efficace protezione nei confronti degli antibiotici: la lattoferrina è capace di inibire l'ingresso di batteri Gram+ e Gram-, facoltativi intracellulari.

3) **Azione antimicotica** è nota fin dal 1971 e si esplica anche in questo caso sia con meccanismo ferro-dipendente sia ferro-indipendente. Presenta azione citopatica diretta su *Candida albicans* e *Krusei* in quanto ne modifica la permeabilità della superficie cellulare. Ha

inoltre effetto sinergico con alcuni farmaci antimicotici (fluconazolo e clotrimazolo) diminuendone la concentrazione minima efficace (Kuipers e coll.). Quindi la lattoferrina rappresenta un trattamento complementare alle tradizionali cure antimicotiche soprattutto nei casi difficili da trattare sia per resistenza alla terapia o per numero di recidive sia per la condizione di immunosoppressione in cui versano spesso i pazienti affetti da micosi (es HIV).

4) **Azione antivirale**, ben dimostrata in vitro, si esplica con due meccanismi:

- Nel caso dei virus con envelope, impedisce la penetrazione del virus nella cellula bersaglio (HSV, CMV, HIV, ADENOVIRUS). Questi virus penetrano nella cellula utilizzando i glicosaminoglicani, che sono i siti preferenziali di legame per la lattoferrina. Quindi la lattoferrina interviene nelle prime fasi di infezione (nel caso di HSV, aciclovir interviene successivamente, sulla replicazione virale).

Risultati incoraggianti sono stati ottenuti anche nella infezione da HCV: la lattoferrina ha rappresentato un adiuvante efficace nella terapia con interferone e ribavirina, indipendentemente dal genotipo virale:

- Per i virus privi di envelope, inibisce la replicazione virale legandosi direttamente al virus, come nel caso dei Rotavirus. È ben nota del resto l'azione protettiva del latte materno nei confronti della bronchiolite da VRS.

5) **Azione immunomodulante**: la lattoferrina modula la risposta immunitaria agendo sulla componente cellulare e sulla attività delle citochine.

La lattoferrina è sintetizzata anche da cellule immunocompetenti quali i granulociti neutrofili e pertanto può essere considerata a

pieno titolo un fattore della immunità naturale innata. I monociti e i macrofagi non producono lattoferrina ma la acquisiscono dall'ambiente circostante per mezzo di recettori di superficie.

Modula la crescita e la differenziazione dei linfociti T helper che stimolano

la risposta anticorpale dei linfociti B, e la liberazione di alcune citochine (IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18; TNF- α); incrementa i linfociti CD4+, CD8+ e NK e la produzione di INF- γ . Questi dati pongono la lattoferrina fra gli agenti naturali contro le infezioni gastroenteriche, respiratorie e cutanee (Herpes virus, acne).

L'azione immunomodulante della lattoferrina si esplica durante la fase acuta della infezione sia incrementando il rilascio di IL-8 da parte dei PMN, potenziando l'azione NK e la fagocitosi da parte dei macrofagi, sia sopprimendo la espressione di IL-1, IL-2, IL-6, TNF-alfa da parte dei leucociti. L'attivazione macrofagica avverrebbe grazie ad un incremento di produzione di IL-18, che amplifica a sua volta l'attività fagocitaria attraverso l'INF- γ . A livello intestinale, oltre a modulare le suddette citochine infiammatorie, stimola la produzione di citochine anti-infiammatorie IL-4 e IL-10.

La lattoferrina sarebbe anche in grado di regolare l'attività del complemento.

Infine, il suo effetto immunomodulante si esprime indirettamente anche con un'**azione probiotica**, cioè a favore di una microflora intestinale a prevalenza di Lattobacilli e Bifidobatteri, inibendo lo sviluppo di una flora patogena. Favorisce lo sviluppo di una popolazione microbica fisiologica che impedisce la colonizzazione e la proliferazione di patogeni, incrementando la crescita e la maturazione delle cellule intestinali. Bilanciando la risposta pro e anti infiammatoria, la lattoferrina garantisce l'omeostasi intestinale: è ormai noto che il microbiota enteri-

co può modulare il sistema immune sia a livello mucosale locale che sistemico. Quindi la supplementazione con lattoferrina può avere effetti benefici sul microbiota intestinale e sul sistema immunitario.

6) **Azione antineoplastica**

Alcune frazioni di lattoferrina presentano attività enzimatiche: DN-asi, RN-asi, ATP-asi, fosfatasi e idrolisi di oligosaccaridi.

Da studi recenti è emersa anche una azione anti-neoplastica della lattoferrina, sia preventiva che anti-tumorale e anti-metastatica; è in grado di modulare i meccanismi immunologici e di apoptosi cellulare (importanti nella crescita tumorale incontrollata e nella resistenza tumorale ai farmaci e alla radioterapia), riduce i danni da RUV indotti in vitro su cellule neoplastiche di colon. Risulterebbe inoltre un carrier ideale per alcuni chemioterapici, anche per il trattamento di tumori cerebrali grazie alla sua capacità di attraversare la barriera emato-encefalica.

7) **Azione antiradicalica**

La lattoferrina è un agente antiradicalico in quanto lega il ferro libero che, reagendo con l'ossigeno, formerebbe radicali altamente reattivi.

I vantaggi dell'utilizzo della lattoferrina sono la sua efficacia e la rapidità di azione: nelle anemie da carenza di ferro si assiste ad una rapida risalita dei valori di Hb, di ferritina e del numero degli eritrociti. La dose giornaliera è di 200 mg da assumere per alcuni mesi, lontano dai pasti. La lattoferrina è una molecola sicura, può essere utilizzata in gravidanza e in allattamento, nei primi anni di vita oltre che in situazioni patologiche particolar-

mente delicate.

L'unica controindicazione è rappresentata dalla concomitante allergia alle proteine del latte vaccino (da cui viene estratta). Fra gli effetti collaterali, una (rara) gastralgia con la somministrazione in compresse da deglutire integre.

Alla luce di queste conoscenze, la lattoferrina ha molteplici possibilità di utilizzo: anemie ferropive e affezioni correlate, situazioni di apparente resistenza alla supplementazione marziale, patologie connesse con gli stati di dismicrobismo intestinale, affezioni cutanee e del cuoio capelluto (da germi, miceti o virus...), alterazioni immunologiche.

La sua utilità in tricologia non è soltanto in relazione al metabolismo del ferro ma anche al miglioramento di molteplici quadri morbosi del cuoio capelluto e sistemici: alla luce delle recenti conoscenze appare sempre più stretto il legame fra patologie dei capelli e squilibri o malattie di altri organi o apparati, apparentemente lontani, in particolar modo l'intestino ed emerge sempre più frequente e pressante l'esigenza di riconsiderare l'individuo come una entità unica, un corpo e una mente con continui scambi intercellulari di messaggi citochinici.

Riferimenti

- 1) Valenti P., Berlutti F., Conte M.P. et al.: "Lactoferrin functions: current status and perspectives" *J Clin Gastroenterol* 2004 Jul; 38(6 suppl): 127-9.
- 2) Jurado R.L.: "Iron, infections and anemia of inflammation" *Clin Infect Dis* 1997, oct; 25 (4): 888-95.



- 3) Valenti P., Enrica Pacifici E., Pietropaoli M., Paesano R.: "La lattoferrina per os, un'importante alternativa priva di effetti indesiderati, nella prevenzione e trattamento dell'ipoferrinemia ed anemia da carenza di ferro in gravidanza" Riv. t. Ost. Gin. 2008 - 17, 783-90.
- 4) Ellison R.T.: "The effect of lactoferrin on gram-negative bacteria - Lactoferrin: structure and function" Edited by Hutchens et al. Plenum Press New York, 1994.
- 5) Petschow B.W., Talbott R.D., Batema R.P.: "Ability of lactoferrin to promote the growth of bifidobacterium spp. in vitro is dependent of receptor binding capacity and iron saturation level" J Med Microbiol 1999 Jun; 48(6): 541-9.
- 6) Orsi N.: "The antimicrobial activity of lactoferrin: current status and perspectives" Bio Metals 2004; 17: 189-96.
- 7) Harmsen M.C., Swart P.J et al.: "Antiviral effects of plasma and milk protein: Lactoferrin shows potent activity against both human immunodeficiency virus and human cytomegalovirus replication in vitro" J infect Diseases, 1995; 172:380-8.
- 8) Baveye S., Ellass E. et al.: "Lactoferrin: a multifunctional glycoprotein involved in the modulation of the inflammatory process" Clin. Chem. Lab. Med 1999; 37(3): 281-6.
- 9) Hoek K.S., Milne J.M., et al.: "Antibacterial activity of bovine lactoferrin-derived peptides" Antimicrob Ag and Chemother 1997 Jan; 54-59.
- 10) Samaranyake Y.H., Samaranyake L.P. et al.: "The antifungal effect of lactoferrin and lysozyme on *Candida Krusei* and *Candida Albicans*" APMIS 1997, Nov; 105(11) 875-83.
- 11) Marchetti M. Pisani S. et al.: "Metal complexes of bovine lactoferrin inhibit in vitro replication of herpes simplex virus type 1 and 2" Bio Metals 1998; 11: 98-94.
- 12) Paesano R., Torcia F et al.: "Oral administration of lactoferrin increases hemoglobin and total serum iron in pregnant women" Biochem Cell Biol 2006; 84: 3677-80.
- 13) Guaraldi C, Costantino D.: "Lattoferrina e anemia in gravidanza" Riv Ital Med Per vol 7 n 3.
- 14) Bini F.: "La lattoferrina: utilizzo nel telogen effluvio" XXXIII congresso Nazionale Società Italiana di Medicina Estetica, Roma 18-19-20 Maggio 2012.
- 15) Marliani et al.: "Tricologia 2011" Tricoitalia, Firenze; 2012.
- 16) Zaklad T.D.: "The role of lactoferrin in the iron metabolism" Part I. Effect of lactoferrin on intake, transport and iron storage" Postepy Hig Med Dosw 2008; 62
- 17) Arlet J.B., Hermine O., Darnige L. et al: "Iron-deficiency in Castleman disease: implication of the interleukin 6/hepcidin pathway" Pediatrics 2010 Dec; 126(6):e1608-12.
- 18) Song S.N., Tomosugi N. et al: "Down regulation of hepcidin resulting from long-term treatment with an anti-IL-6 receptor antibody improves anemia of inflammation in multicentric Castle disease" Blood, 4 November 2010 volume 116, number 18.
- 19) Pagani A., Nai A. et al: "Low hepcidin accounts for the proinflammatory status associated with iron deficiency" Blood (2011) 118 (3): 736-746.
- 20) Zheng Y., Chen P., Guo X., Ma J, Li G.: "New function of lactoferrin: protection against cancer development and metastasis" 2012 Dec; 37(12): 1284-9.
- 21) Deng M., Zhang W. et al.: "Lactotransferrin acts as a tumor suppressor in nasopharyngeal carcinoma by repressing AKT through multiple mechanisms" Oncogene. 2012 Oct 15.
- 22) Kanwar R.K., Kanwar J.R.: "Immunomodulatory Lactoferrin in the





Regulation of Apoptosis Modulatory Proteins in Cancer” *Protein Pept Lett.* 2012 Sep 13.

23) Freiburghaus C. et al.: “Reduction of ultraviolet light-induced DNA damage in human colon cancer cells treated with a lactoferrin-derived peptide” *J Dairy Sci.* 2012 Oct; 95(10): 5552-60.

24) Dong H.L., Yang Y., Gao C., Sun H., Wang H., Hong C., Wang J., Gong F., Gao X.: “Lactoferrin-containing immunocomplex mediates antitumor effects by resetting tumor-associated macrophages to M1 phenotype” *J Immunother Cancer.* 2020 Mar;8(1). pii: e000339.

25) Rosa L., Lepanto M.S., Cutone A., Ianiro G., Pernarella S., Sangermano R., Musci G., Ottolenghi L., Valenti P.: “Lactoferrin and oral pathologies: a therapeutic treatment” *Biochem Cell Biol.* 2020 Mar 26. doi: 10.1139.

26) Rosa L., Cutone A., Lepanto M.S., Paesano R., Valenti P.: “Lactoferrin: A Natural Glycoprotein Involved in Iron and Inflammatory Homeostasis” *Int J Mol Sci.* 2017 Sep; 18(9): 1985.

27) Cutone A, Rosa L, Ianiro G, Lepanto MS, Bonaccorsi di Patti MC, Valenti P, Musci G. Lactoferrin’s Anti-Cancer Properties: Safety, Selectivity, and Wide Range of Action. *Biomolecules.* 2020 Mar 15;10(3). pii: E456

28) Bertuccini L, Costanzo M, Iosi F, Tinari A, Terruzzi F, Stronati L, Aloï M, Cucchiara S, Superti F. Lactoferrin prevents invasion and inflammatory response following E. coli strain latoferrina82 infection in experimental model of Crohn’s disease. *Dig Liver Dis.* 2014 Jun;46(6):496-504. doi: 10.1016/j.dld.2014.02.009. Epub 2014 Mar 13.

29) Vega-Bautista A., de la Garza M., Carrero J.C., Campos-Rodríguez R., Godínez-Victoria M., and Drago-Serrano M.E.: “The Impact of Lactoferrin on the Growth of Intestinal Inhabitant Bacteria” *Int J Mol Sci.* 2019 Oct; 20(19): 4707



INNOVATION NEWS INNOVATION NEWS INNOVATION NEWS INNOVATION NEWS INNOVATION NEWS INNOVATION NEWS INNOVATION NEWS INNOVATION NEWS INNOVATION NEWS



MARKEUTICALS
ALL'AVANGUARDIA DELL'INNOVAZIONE

Innovation News

All'avanguardia dell'innovazione

Rubrica a cura di
Markeuticals

Le Poliammine
La continua ricerca di nuovi prodotti in grado di fornire un contributo alla cura della calvizie, ci porta a valutare l'azione delle Poliammine, sostanze dalle ben note proprietà tricologiche, in relazione all'azione dei Canali del Potassio, la cui esistenza all'interno del Follicolo Pilifero è stata recentemente dimostrata e la cui operatività è stata valutata.

Cosa sono le Poliammine
Le poliammine sono composti organici costituiti da due o più gruppi amminici. La loro sintesi di laboratorio e la scoperta della loro struttura chimica risale al 1924 grazie agli studi di Rosenheim, anche se, grazie alle sue osservazioni microscopiche, fu Van Leeuwenhoen, agli inizi del XVII Secolo, a rilevare la presenza di composti cristallini nel liquido seminale umano. Le poliammine sono ammine cationiche multifunzionali, e, come tali, sono sostanze fondamentali nel ciclo di proliferazione cellulare. Le più comuni Poliammine (spermidina, spermina, putresceina, cadaverina), svolgono un ruolo di regolazione del ciclo cellulare e ricoprono una funzione fon-

damentale nel superavvolgimento delle catene del DNA nel nucleo cellulare. In particolare, i tessuti a rapida proliferazione, contenuti in organi come il Follicolo Pilifero, hanno la necessità della sintesi delle poliammine per un efficiente ciclo cellulare.

Come agiscono le poliammine
Uno studio condotto dal Department of Dermatology, Hadassah-Hebrew University Medical Center, Jerusalem, Israel, ha fornito una valida evidenza scientifica del ruolo delle Poliammine quali potenti stimolatori della crescita dei capelli e quali modulatori delle cellule staminali epiteliali umane. Gli effetti delle Poliammine sui follicoli piliferi e sulle cellule staminali epiteliali del follicolo pilifero umano sono stati studiati in colture organiche prive di siero. In queste condizioni, le Poliammine hanno causato un sensibile allungamento del fusto del capello ed hanno favorito il prolungamento della fase Anagen. Le Poliammine hanno anche mostrato di sovraregolare l'espressione della cheratina da parte delle cellule staminali epiteliali. Inoltre, risultano anche evidenti le interazioni fra le Poliammine ed alcuni canali ionici; uno studio condotto di K. Williams, dalla Facoltà di Farmacia della University of Pennsylvania, ha evidenziato una marcata modulazione di alcuni recettori, in particolare del canale del

INNOVATION NEWS INNOVATION NEWS INNOVATION NEWS INNOVATION NEWS INNOVATION NEWS INNOVATION NEWS INNOVATION NEWS INNOVATION NEWS INNOVATION NEWS

Potassio K(+), e di alcuni recettori del Glutammato ad opera delle Poliammine.

Ricadute sul follicolo pilifero delle interazioni fra le poliammine ed i canali del Potassio K(+)

I canali del Potassio K (+) giocano un ruolo molto importante nella regolazione del ciclo cellulare, sebbene meno conosciuto rispetto a quello delle Poliammine; detti canali, difatti, svolgono una funzione determinante nella modulazione del campo elettrico (iperpolarizzazione o depolarizzazione) della membrana. La interazione fra Poliammine e canali K+ è di grande rilevanza, poiché la modulazione a livello chimico operata dalle Poliammine, influenza il potenziale elettrico di alcuni canali, fra i quali quelli del Potassio, e questo a sua volta ha una notevole influenza sulla regolazione del potenziale della membrana durante il ciclo cellulare. Difatti, lo sblocco dei canali del Potassio è causa di iperpolarizzazione, che consente alle forze elettrochimiche di mettersi in movimento. Per converso, il blocco dei canali K(+) può causare la depolarizzazione, con conseguente blocco del passaggio del Potassio attraverso la membrana cellulare. È quindi evidente che sia un arresto della sintesi delle poliammine che un blocco dei canali del Potassio K (+) possono bloccare o fortemente inibire il ciclo di proliferazione cellulare, con un effetto negativo anche sul ciclo del capello. Sperimentalmente si è dimostrato che l'Ornitina, un noto bloccante dei canali K(+), diminuisce la

concentrazione di Poliammine, con un effetto di arresto sull'enzima Ornitina Decarbossilasi (ODC) ed una conseguente inibizione del ciclo di proliferazione cellulare. Risulta quindi evidente la funzione essenziale svolta dai canali K(+), nel consentire alle Poliammine di compiere correttamente la loro funzione, con importanti ricadute sul ciclo delle cellule, fra le quali quelle del follicolo pilifero (HF).

Canali del Potassio, Follicoli Piliferi (HF) e la loro reattività al Minoxidil

Nonostante l'uso ormai diffuso e consolidato del Minoxidil come terapia per la calvizie, il suo meccanismo di funzionamento non è stato ancora del tutto chiarito; le teorie più accreditate fanno riferimento ad una azione sulla vascolarizzazione del bulbo pilifero ed un effetto sulle cellule del follicolo. Per meglio chiarirne il meccanismo di funzionamento, è stato sperimentalmente dimostrato come alcuni farmaci come il Minoxidil ed il Diazoxide stimolino la crescita in vitro dei follicoli piliferi attraverso un meccanismo che coinvolge i canali di potassio sensibili all'ATP (K (ATP)), mentre sostanze bloccanti i medesimi canali, come il Tolbutamide e il Glibenclamide la bloccano. Per dimostrare il meccanismo di funzionamento, è stato inoltre dimostrato

- 1) che i canali K(ATP) sono presenti all'interno dei follicoli piliferi (HF),
- 2) che risiedono in parti diverse del follicolo e che reagiscono in modo diverso fra loro quando stimolati dal

Minoxidil Sono stati utilizzati sia il Minoxidil, del quale si conoscono le proprietà in campo tricologico, che la Tolbutamide, una sostanza nota come bloccante dei canali K (ATP); a seguito dell'impiego di dette sostanze, si sono valutati gli effetti contrapposti sulla fase Anagen dei follicoli (HF) coltivati in vitro, con e senza insulina. I risultati ottenuti registrano una marcata reattività sia alle sostanze stimolanti come il Minoxidil che inibenti come il Tolbutamide, con effetti rilevanti sulla fase anagen, a dimostrazione dell'esistenza e del coinvolgimento attivo dei canali K(ATP) nel meccanismo di funzionamento del Minoxidil all'interno dei follicoli piliferi. Inoltre, una reazione a catena della trascrittasi-polimerasi inversa ha individuato, all'interno del follicolo (HF) l'espressione genica caratteristica dei due componenti dei canali del potassio K (ATP), suddivisa nelle sue componenti principali la struttura caratteristica: i ricettori della Sulfonilurea SUR (SUR 1 e SUR 2A), e i regolatori K(+) Kir.6x (Kir 6.1 e Kir 6.2) Più precisamente, a livello di matrice epiteliale, si sono rinvenuti i canali Kir 6.2 /SUR1, mentre a livello di papilla dermica si sono rilevati i canali Kir 6.1/SUR2B. Questi risultati indicano non solo che i follicoli umani (HF) rispondono alle sostanze regolatrici dei canali del potassio K(ATP), ma che all'interno dei follicoli umani vengono espressi alcuni degli elementi caratteristici della struttura di detti canali. È altresì confermato che i canali K(ATP) rispondono bene al

Minoxidil, attraverso un'azione positiva sulla fase Anagen, che viene sensibilmente prolungata. Lo studio in oggetto, però, ha anche dimostrato che il Minoxidil agisce solo sui ricettori SUR2B, presenti unicamente nella papilla dermica, mentre i recettori SUR1, presenti nella matrice, non reagiscono alla somministrazione di Minoxidil.

Opportunità di sviluppo per la Tricologia

Questi risultati rappresentano una valida prospettiva di sviluppo per nuovi farmaci che agiscano tramite i canali SUR1 K(ATP), che sono stati rinvenuti nelle cellule della matrice. L'utilizzo di questi farmaci nell'ambito di terapie che già prevedano l'uso del minoxidil, che agisce attraverso i canali SUR2B, sarebbe di grande interesse per la terapia della calvizie, poiché questi farmaci andrebbero ad agire, in maniera coordinata, su diverse parti del follicolo pilifero, con un effetto combinato mai sperimentato in passato. Vale dunque la pena seguire con molta attenzione gli sviluppi in questa direzione, poiché il potenziamento attraverso un'azione sinergica delle poliammine con altri farmaci specifici, può portare risultati importanti nella terapia della calvizie.

È stato dimostrato che i follicoli rispondono biologicamente in coltura ai regolatori dei canali del Potassio K_{atp}, che esprimono geni e proteine per 2 tipologie di canali (i ricettori SUR 1 e SUR 2B ed i pore-forming units Kir6.2/SUR1 e



Kir6.1/SUR2); emerge così che la papilla dermica contiene i canali Katp, come provato dalla reattività a sostanze stimolanti come il Minoxidil, ed inibenti come il Tolbutamide. Il fatto che il Minoxidil stimoli solo i canali SUR2, apre scenari di sviluppo interessanti per la ricerca scientifica e farmacologica.

Riferimenti:

Yuval Ramot , Stephan Tiede, Tamás Bíró, Mohd Hilmi Abu Bakar, Koji Sugawara, Michael P Philpott, Wesley Harrison, Marko Pietilä, Ralf Paus "Spermidine Promotes Human Hair Growth and Is a Novel Modulator of Human Epithelial Stem Cell Functions" PLoS One. 2011;6(7):e22564. doi: 10.1371/journal.pone.0022564. Epub 2011 Jul 27.

Yuval Ramot , Marko Pietilä, Giammaria Giuliani, Fabio Rinaldi, Leena Alhonen, Ralf Paus "Polyamines and Hair: A Couple in Search of Perfection " Exp Dermatol. 2010 Sep;19(9):784-90. doi: 10.1111/j.1600-0625.2010.01111.x. Epub 2010 Jul 14.

Yuval Ramot 1 , Marko Pietilä, Giammaria Giuliani, Fabio Rinaldi, Leena Alhonen, Ralf Paus "Polyamines and Hair: A Couple in Search of Perfection" Exp Dermatol. 2010 Sep;19(9):784-90. doi: 10.1111/j.1600-0625.2010.01111.x. Epub 2010 Jul 14.

Keith WILLIAMS "Interactions of polyamines with ion channels" Biochem J (1997) 325 (2): 289-297.



*Ricerca***Determinazione analitica del contenuto di squalene nel follicolo del capello**

Diego Romano Perinelli, Elisabetta Torrigiani, Giulia Buonacucina, Gianluigi Antognini, Gaetano Agostinaccio e Andrea Marliani

Metodi di campionamento

L'esame tricologico in microscopia in luce polarizzata prevede l'estrazione di una piccola quantità di capelli (dai 15 ai 20), tramite una pinza emostatica, in un punto del vertice della testa. Il punto di estrazione sul cuoio capelluto è l'incontro di una linea immaginaria tracciata dal naso fino alla protuberanza occipitale esterna e una seconda linea che passa da orecchio a orecchio sul frontale. A seguito dell'estrazione i campioni sono tagliati a 3 mm dall'estremità. Viene allestito un vetrino con dell'olio da immersione su cui vengono appoggiati e allineati i capelli estratti, dalla parte dei bulbi, e il tutto viene coperto da un vetrino copri oggetti e successivamente osservato al microscopio ottico a luce polarizzata (ingrandimento 10X).

Metodo HPLC*Preparazione del campione*

7 campioni della lunghezza di 3 mm sono sottoposti ad idrolisi in 4 ml di NaOH 0,5 M ad 80 °C per 90 minuti in un bagno ad olio. Trascorso il tempo indicato, dopo raffreddamento, si neutralizza la soluzione con HCl e successivamente la si trasferisce in un imbuto separatore. Si eseguono poi 5 estrazioni consecutive utilizzando ogni volta 5 ml di esano. Nell'imbuto separatore, dopo aver dibattuto energicamente per favorire il contatto tra i due liquidi immiscibili (fase acquosa e solven-

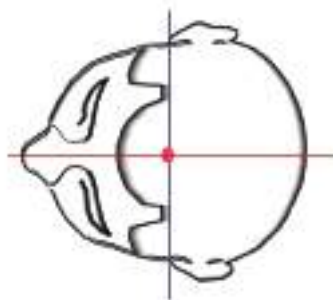


Figura 1
Punto di inserzione delle linee immaginarie

te esano) e aver fatto sfiatare per eliminare i gas formati, la fase acquosa si stratificherà in basso avendo una maggior densità. Quest'ultima è fatta uscire da sotto in una beuta e da sopra invece si fa uscire l'esano che sarà raccolto in un pallone da 50 ml.

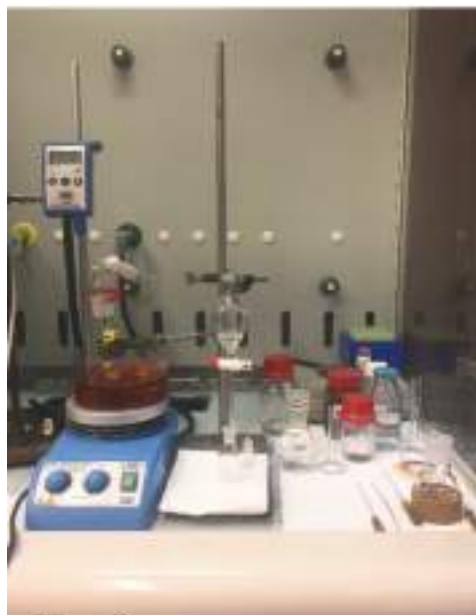


Figura 2
Apparato impiegato per l'estrazione dello squalene

L'esano raccolto dalle 5 estrazioni consecutive viene poi fatto evaporare tramite il rotavapor così da ottenere un residuo solido contenente lo squalene, che verrà poi quantificato tramite HPLC.

Analisi HPLC

L'estratto secco, ottenuto mediante evaporazione del solvente esano con rotavapor, viene solubilizzato in 1 ml di CH₃CN sotto sonicazione. Successivamente il campione viene filtrato su filtro in PTFE da 0,45 micron ed il campione è pronto per essere iniettato in HPLC.

Condizioni sperimentali:

- Colonna: Purospher RP18 come fase inversa di 5 µm (dimensione delle particelle) e di 4,6 (diametro interno) x 100 mm (lunghezza);
- Fase mobile: 100% CH₃CN;
- Temperatura: 40 °C;
- Volume di iniezione: 1 µl;
- Flusso: 1 µl/min;
- DAD: 195 nm, 210 nm, 230 nm, con λ di acquisizione a 195 nm

Risultati

Sono riportati in letteratura diversi metodi per l'estrazione dello squalene da campioni a carattere fibroso e sono state effettuate alcune prove preliminari per stabilire quale tipologia di estrazione fosse ottimale. Una metodica prevede l'utilizzo di una miscela 2:1 di metanolo/cloroformio con successiva sonicazione, evaporazione del solvente e ripresa dell'estratto con cloroformio e metanolo [1]. Un'altra metodica prevede invece l'idrolisi alcalina del bulbo del capello seguita da estrazione con esano, successiva evaporazione del solvente e ripresa dell'estratto con acetonitrile [2].

Validazione del metodo analitico

Il metodo utilizzato è stato ripreso da un articolo riportato in letteratura [2], tuttavia per una corretta determinazione è necessario effettuare la validazione del metodo analitico nello strumento HPLC da noi utilizzato. La validazione del metodo prevede differenti fasi quali: la valutazione della linearità, la ripetibilità, il calcolo del limite di rilevazione (LOD) e del limite di quantificazione (LOQ) ed infine il recupero. A tale scopo sono state iniettate in HPLC, nelle stesse condizioni sperimentali e insieme ai campioni, alcune miscele standard a concentrazioni differenti, con il duplice scopo di controllare la linearità di risposta della strumentazione e di disporre di dati analitici con cui eseguire l'analisi quantitativa dei campioni incogniti.

Nella seguente figura è riportato il cromatogramma dello standard a 10 ppm di concentrazione di squalene in HPLC, avente un tempo di ritenzione di 8,7 minuti.

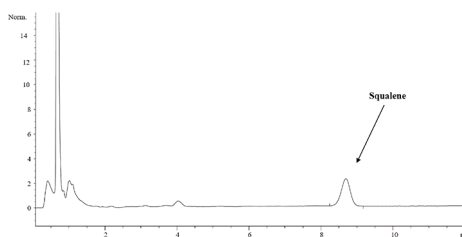


Figura 3
Standard a 10 ppm
di concentrazione di squalene

Linearità

La linearità del metodo analitico viene valutata iniettando nello strumento delle miscele standard a concentrazione crescenti.

Dapprima è stata preparata una soluzione madre a 1000 ppm di standard di squalene e da essa sono state poi preparate soluzioni a 5, 10, 50, 100 e 250 ppm diluendo la soluzione madre con CH₃CN. Questi campioni sono stati successivamente iniettati in HPLC e, con i valori delle aree ottenuti prendendo come lunghezza d'onda di acquisizione 195 nm è stato poi possibile calcolare la retta di calibrazione ed il range di linearità R². La linearità viene espressa come quadrato del coefficiente di correlazione con $R^2 \geq 0,9999$.

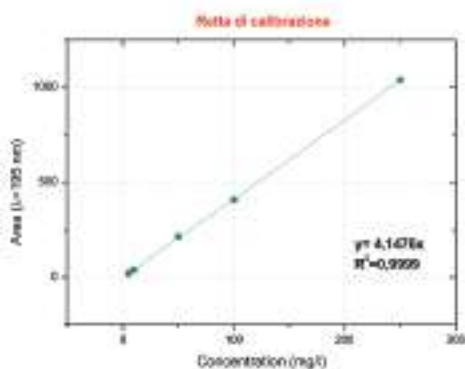


Figura 4
Retta di calibrazione dello squalene

Ripetibilità

Un altro parametro valutato è stato quello della ripetibilità, ovvero la concordanza fra le misure ottenute iniettando, nella stessa giornata ed in giorni diversi, soluzioni di campione contenenti ciascuna concentrazioni diverse di squalene. Poiché i dati siano significativi vanno mantenuti immutati:

- ✓ l'operatore,
- ✓ il luogo,
- ✓ lo strumento di misura,

- ✓ le condizioni di utilizzo dello strumento ed i parametri ad esso applicati,
- ✓ il metodo di misurazione

Inoltre le analisi devono essere effettuate in un breve lasso di tempo. La ripetibilità è stata determinata effettuando delle analisi ripetute del campione contenente lo standard di squalene a 10 ppm nello stesso giorno (intraday) ed in giorni diversi (interday). È stata poi anche calcolata la media dei valori delle aree alla lunghezza d'onda di acquisizione di 195 nm, le deviazioni standard e le deviazioni standard percentuali.

I dati riportati in Tabella 1 sono riferiti alla ripetibilità Intraday (n=4) e Interday (n=3) di campioni contenenti ciascuno una concentrazione di 10 ppm di squalene. Questi sono stati ottenuti analizzando in HPLC in uno stesso giorno 4 campioni ed in giorni diversi 3 campioni rispettivamente.

Le letture dei valori della miscela di standard vengono utilizzate anche per determinare il limite di rivelazione o rilevabilità (LOD), cioè il limite sotto al quale non è possibile accertare la presenza o assenza dell'analita ed il limite di quantificazione (LOQ), cioè il limite sotto al quale l'analita non può essere quantificato. Il calcolo di questi valori, ottenuti sperimentalmente, è necessario per verificare il buon andamento della determinazione e della procedura analitica nel suo insieme.

Il valore del limite di rivelazione (LOD) si ottiene quando il rapporto altezza del segnale/altezza del rumore di fondo (Signal to Noise Ratio) è 3 a 1 e quindi è stato calcolato andando a quantificare la concentrazione alla quale si ottiene un rapporto segnale/rumore pari a 3.

Il valore del limite di quantificazione (LOQ) si ottiene invece quando il rapporto altezza del

segnale/altezza del rumore di fondo è 10 a 1 è stato calcolato andando a quantificare la concentrazione alla quale si ottiene un rapporto segnale/rumore pari a 10.

Alla concentrazione di 10 ppm è stato registrato un rapporto segnale/rumore pari a 31 e quindi il valore del LOQ, essendo la terza parte di 10, è di 3 ppm. Invece il valore del LOD, essendo la terza parte del LOQ, è di 1 ppm.

È stata inoltre valutata la Ripetibilità sullo stesso campione confrontando diverse metodiche di estrazione (con esano, con CHCl₃ e con una miscela di CHCl₃ + MeOH 2:1) ed anche la stessa metodica di estrazione (con esano) su diversi bulbi della stessa persona per valutare la variabilità biologica.

	AREA	MEDIA	DEV. ST.	REV. ST. (%)
PRECISIONE Intraday (n=3)	38,9 37,3 35,3	27	1,6	4,2
PRECISIONE Interday (n=3)	38,9 38,2			
VARIABILITÀ BIOLOGICA (n=9)	8 5,9 5,7	1,4	1,0277	20,0110

Tabella 1

Dati riguardanti la validazione del metodo analitico in termini di Precisione (Intraday e Interday) e Variabilità Biologica

Prove di recupero (recovery)

Per verificare l'applicabilità del metodo sono state effettuate delle prove di recupero. Campioni cosiddetti "bianchi" sono stati analizzati in parallelo a campioni della stessa tipologia fortificati con una miscela standard. Le prove di recupero sono state effettuate a due livelli di concentrazione (15 e 50 µg/l) ed i recuperi sono stati calcolati per confronto

diretto tra le aree nei campioni fortificati e le aree degli stessi campioni non fortificati: l'incremento dovrebbe corrispondere al livello di fortificazione in esame.

Per poter valutare il recupero un bulbo è stato quindi idrolizzato e neutralizzato, dopodiché il risultante è stato diviso in tre aliquote da 1,5 ml ciascuna. Una è stata estratta tal quale con esano, le altre due dopo arricchimento con 15 e 50 µg di squalene rispettivamente.

Inoltre sono stati sottoposti ad idrolisi e successiva estrazione con esano 30 µg di standard di squalene ed il campione è stato analizzato in HPLC per poter valutare l'eventuale degradazione dello squalene durante il processo di estrazione.

	% Rec. 1	% Rec. 2	% Rec. 3	% Rec. 4	MEDIA	DEV. ST.	DEV. ST. (%)
Recovery	91,6	91,3	90,3	91,2	90,6	4,0794	4,5046

Tabella 2

Percentuali di recupero nello squalene fortificando il campione a 15 e 50 µg/mL

Quantificazione dello squalene nei soggetti analizzati

Nel seguente istogramma sono riportate le quantità di squalene, normalizzate per singolo follicolo, relative all'analisi HPLC effettuata su 10 soggetti selezionati dai tricologi sulla base dell'esame clinico dei pazienti e dell'analisi effettuata mediante microscopia ottica a luce polarizzata. Le quantità di squalene determinate variano da 73 a 763 ng/follicolo. Pertanto è stata osservata una variabilità di squalene nei soggetti analizzati di un ordine di grandezza.

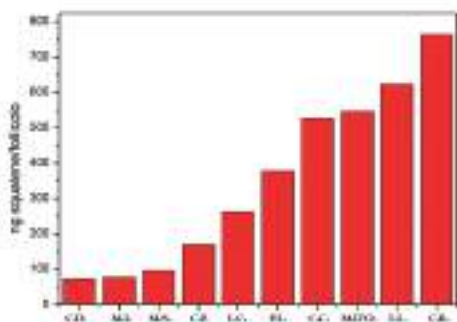


Figura 5
Istogramma relativo alle quantità di squalene determinate mediante HPLC e normalizzate per singolo follicolo nei soggetti analizzati (n=10)

È stata inoltre osservata una correlazione tra il danneggiamento delle guaine, come osservato dalle immagini di microscopio ottica a luce polarizzata e le relative quantità di squalene determinate tramite HPLC e normalizzate per follicolo.

Infatti per il soggetto "C.D.", per la quale è stata determinata tramite HPLC la quantità più bassa di squalene (73 ng/follicolo), si possono osservare degli anagen fisiologicamente corretti e presenza di guaina intera ed esterna (Figura 6).



Figura 6
Immagini al microscopio a luce polarizzata dei capelli anagen del soggetto "C.D." per il quale è stata determinata la più bassa quantità di squalene tramite HPLC

Per soggetti con quantità di squalene intermedie (200-500 ng/follicolo), come determinato tramite HPLC, le immagini di microscopia ottica a luce polarizzata mostrano una parziale presenza della guaina epiteliale intera ed esterna e formazioni caratteristiche che potrebbero essere legate alla presenza dello squalene. (Figura 7 e Figura 8).

Per i soggetti con le più alte quantità di squalene determinato tramite HPLC (>500 ng/follicolo), si osserva parziale o completa assenza delle guaine, potenzialmente legata all'elevata quantità di squalene prodotto.

CONCLUSIONI

Le evidenze apportate in questo studio confermano la presenza di squalene nel follicolo del capello.

La tecnica analitica quantitativa HPLC associata ad un detector DAD ha permesso di quantificare nei soggetti analizzati (n=10) una quantità di squalene compresa tra 73 e 763

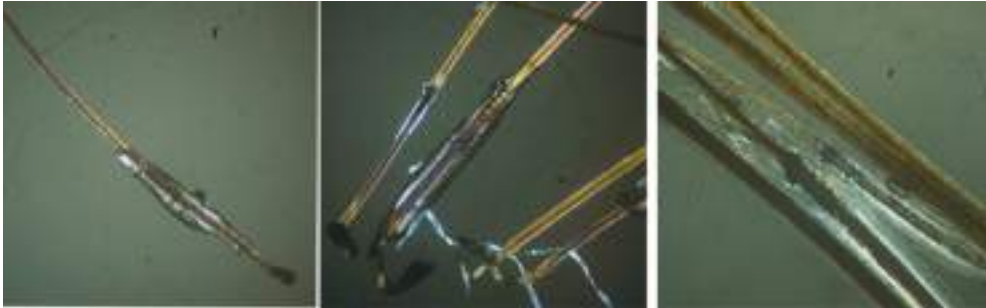


Figura 7

Immagini al microscopio a luce polarizzata degli anagen del soggetto "L.C." per il quale è stata determinata una quantità intermedia di squalene (263 ng/follicolo) tramite HPLC.



Figura 8

Immagini al microscopio a luce polarizzata degli anagen del soggetto "P.L." per il quale è stata determinata una quantità intermedia di squalene (378 ng/follicolo) tramite HPLC.



Figura 9

Immagini al microscopio a luce polarizzata degli anagen del soggetto "C.R." per il quale è stata determinata la più alta quantità di squalene (763 ng/follicolo) tramite HPLC.



ng/follicolo.

La variabilità di squalene determinata tramite HPLC è ben correlata con il danneggiamento alle guaine osservato mediante microscopia ottica a luce polarizzata. Infatti, soggetti con basse quantità di squalene (<100 ng/follicolo) presentano guaine integre e assenza di formazioni riconducibili a deposito di squalene. I soggetti con quantità di squalene intermedia (200-500 ng/follicolo) presentano un parziale danneggiamento delle guaine e presenza di evidenti depositi di materiale non birifrangente potenzialmente riconducibile allo squalene. Infine, i soggetti con quantità di squalene elevata (>500 ng/follicolo) mostrano una parziale o completa assenza delle guaine e fasi di crescita del capello con caratteristiche distrofiche. L'analisi di un maggiore numero di soggetti è tuttavia necessaria per confermare e corroborare tali risultati.

Riferimenti

(1) Yan Wu, Guoqiang Chen, Chengdong Ji, Michael Hoptroff, Andrew Jones, Luisa Z. Collins, Hans- Gerd Janssen Gas chromatography-mass spectrometry and Raman imaging measurement of squalene content and distribution in human hair *Anal Bioanal Chem* DOI 10.1007/s00216-016-9335-0

(2) Hai-Tao Lu, Yue Jiang, Feng Chen Determination of Squalene Using High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection *Chromatographia* 2004, 59, March (No. 5/6).

MARKEUTICALS



Integratore alimentare a base di Ajuga Reptans, Ortica, Filianto ed Epilobio, fitocomplessi altamente efficaci nell'inibizione dell'alfa 5 reduttasi

PERCHÉ SCEGLIERE FOCAL SYNERGY ANTI DHT?

- Per la sua formulazione a base di fitocomplessi dall'azione focalizzata e sinergica contro il DHT
- Perché ha la più alta titolazione di principi attivi
- Perché il suo impiego è privo di controindicazioni
- Perché Ortica e Epilobio hanno il DNA certificato, garanzia di una precisa identificazione molecolare



FORMULAZIONE

INGREDIENTI	Per 1 compressa da 500 mg
Ajuga reptans estratto secco	125 mg
Ortica estratto secco DNA certified	120 mg
Phyllanthus niruri estratto secco	80 mg
Epilobio parviflora estratto secco DNA certified	80 mg



MARKEUTICALS
ALL'AVANGUARDIA DELL'INNOVAZIONE



Edizioni TricoItalia

