



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE MEDICINA
COORDINACION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
PROGRAMA DE ESPECIALIZACION EN DERMATOLOGIA Y SIFILOGRAFIA
INSTITUTO DE BIOMEDICINA DR JACINTO CONVIT. HOSPITAL VARGAS DE CARACAS

**CELULAS DENDRITICAS EN PIEL DE PACIENTES CON ACNE INFLAMATORIO DE
LA ESPALDA**

Trabajo Especial de Grado que se presenta para optar al título de Especialista en Dermatología y
Sifilografía

Lucibel del Carmen Crespo Lessmann

Tutor: Félix J Tapia

Caracas, noviembre 2018

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
VICERRECTORADO ACADÉMICO
SISTEMA DE INFORMACIÓN CIENTÍFICA, HUMANÍSTICA Y TECNOLÓGICA (SICHT)
FECHA: 29-11-2018

**AUTORIZACIÓN PARA LA DIFUSIÓN ELECTRÓNICA DE LOS TRABAJOS DE
LICENCIATURA, TRABAJO ESPECIAL DE GRADO, TRABAJO DE GRADO Y TESIS
DOCTORAL DE LA
UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA.**

Yo, Lucibel del Carmen Crespo Lessmann, autor de la tesis: Células dendríticas en piel de pacientes con acné inflamatorio de la espalda

Presentado para optar: al título de Especialista en Dermatología y Sifilografía

Autorizo a la Universidad Central de Venezuela, a difundir la versión electrónica de este trabajo, a través de los servicios de información que ofrece la Institución, sólo con fines de académicos y de investigación, de acuerdo a lo previsto en la Ley sobre Derecho de Autor, Artículo 18, 23 y 42 (Gaceta Oficial N° 4.638 Extraordinaria, 01-10-1993).

Si autorizo X

Autorizo después de 1 año

No autorizo

Autorizo difundir sólo algunas partes del trabajo

Indique:

Firma autor



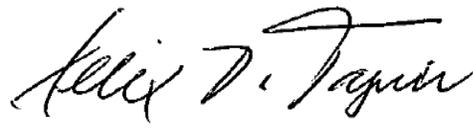
C.I. ° 11313105

e-mail: lucibelcrespo@gmail.com

En Caracas, a los 29 días del mes de Noviembre de 2018

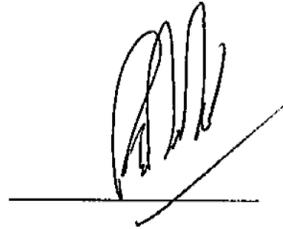
Nota: En caso de no autorizarse la Escuela o Comisión de Estudios de Postgrado, publicará: la referencia bibliográfica, tabla de contenido (índice) y un resumen descriptivo, palabras clave y se indicará que el autor decidió no autorizar el acceso al documento a texto completo.

La cesión de derechos de difusión electrónica, no es cesión de los derechos de autor, porque este es intransferible.



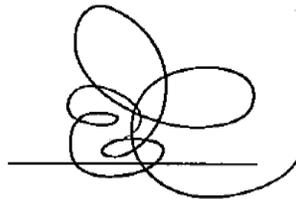
Félix J Tapia.

Tutor



Ricardo Pérez-Alfonzo.

Director del Curso de Dermatología y Sifilografía



Elsy Cavallera

Coordinador del Curso de Dermatología y Sifilografía

INDICE:

	Página
RESUMEN	1
INTRODUCCION	3
METODOS	12
RESULTADOS	15
DISCUSION	19
REFERENCIAS	26
ANEXOS	30

CÉLULAS DENDRÍTICAS EN PIEL DE PACIENTES CON ACNÉ INFLAMATORIO DE LA ESPALDA

Lucibel Crespo C.I. 11313105 Sexo: Femenino. Email: lucibelcrespo@gmail.com .
Telf 04142635761. Dirección: Instituto de Biomedicina Dr Jacinto Convit. Especialización
en Dermatología y Sifilografía.

Tutor: Félix J Tapia. C.I.3661973 Sexo: Masculino. Email:
felix.tapia@gmail.com. Telf 04141548931 Dirección: Instituto de Biomedicina
Dr Jacinto Convit. Especialista en: Biólogo MPhil Inmunología.

RESUMEN

El acné es una enfermedad inflamatoria cutánea de consulta frecuente en dermatología. En su patogenia se han involucrado factores genéticos, hormonales y propios de la unidad pilosebácea. Objetivo: Caracterizar los diferentes tipos de células dendríticas presentes en piel de pacientes con acné inflamatorio de la espalda. Métodos: Dos biopsias fueron tomadas por punch 4 mm (de lesión inflamada y zona sana) en 15 pacientes con acné inflamatorio de la espalda. Se obtuvieron cortes congelados para posterior inmunotinción utilizando anticuerpos monoclonales CD1a, CD209/DCSIGN, BDCA-2/IL3R y CD207/langerina. La densidad de células por mm², fue cuantificada en objetivo 40x con observación por monitor. Se aplicó la prueba de Mann-Whitney para análisis estadístico. Resultados: Las células de Langerhans CD1a+ (516±13), dendrocitos dérmicos CD209/DCSIGN+ (238±37) y células dendríticas plasmocitoides BDCA-2/IL3R+ (259±43) fueron evidenciadas con baja expresión de CD207/langerina y diferencias significativa con respecto a zonas sin lesiones. Discusión: Las células dendríticas juegan un papel fundamental en la patogenia del acné inflamatorio de la espalda. Se demostró presencia de los tres tipos de células dendríticas con predominio de las de Langerhans y con distribución a predominio folicular, sugiriendo la relación de este grupo celular con la microbiota y el *Propionibacterium acnés* en el inicio de la respuesta inmunitaria. La interacción con las células dendríticas plasmocitoides puede influir en la cronificación de la enfermedad. Las investigaciones se deben ampliar en el estudio de los mediadores de las vías Th1, Th2 y Th17 que puedan estar relacionados con estos grupos celulares.

Palabras clave: células dendríticas, acné inflamatorio , espalda.

ABSTRAC

DENDRITIC CELLS IN PATIENTS WITH INFLAMMATORY ACNE OF THE BACK

Acne is a cutaneous inflammatory disease of frequent consultation in dermatology. In its pathogenesis have been involved genetic factors, hormonal and own pilosebaceous unit. Objective: Characterize the different types of dendritic cells present in skin of patients with inflammatory acne of the back. Methods: We proceeded to take 2 biopsies by punch 4 mm (of inflamed lesion and healthy area) in 15 patients with inflammatory acne of the back. Frozen sections were obtained for subsequent immunostaining using monoclonal antibodies CD1a, CD209 / DCSIGN, BDCA-2 / IL3R and CD207 / langerin. The cell density was quantified per mm², in 40x objective with observation by monitor. The Mann-Whitney test was applied for statistical analysis. Results: Langerhans CD1a + cells (516 ± 13), CD209 / DCSIGN + dermal dendrocytes (238 ± 37) and BDCA-2 / IL3R + plasma cells (259 ± 43) with low expression of CD207 / langerin and significant differences with respect to areas without lesions. Discussion: Dendritic cells play a fundamental role in the pathogenesis of inflammatory acne of the back. The presence of the three types of dendritic cells was demonstrated, predominantly those of Langerhans and with predominantly follicular distribution, suggesting the relationship of this cell group with the microbiota and *Propionibacterium acnes* at the beginning of the immune response. The interaction with the plasmacytoids dendritic cells may influence the chronification of the disease. Research should be expanded in the study of mediators of the Th1, Th2 and Th17 pathways that may be related to these cell groups.

Key words: dendritic cells, inflammatory acne, back.

INTRODUCCION

La inflamación es aquella respuesta frente a las agresiones del medio que surge con el fin defensivo de aislar y destruir al agente dañino, así como reparar el tejido u órgano afectado⁽¹⁾. Muchas de las enfermedades dermatológicas que se manejan diariamente tienen como denominador común el fenómeno inflamatorio como factor involucrado en su patogenia; es así como el acné vulgar es una enfermedad inflamatoria crónica común que afecta la unidad pilosebácea, caracterizada por la presencia de comedones, pápulas, pústulas, nódulos inflamados que comprometen más comúnmente la cara, pero que pueden afectar el pecho y la espalda. ^(2,3,4)

Planteamiento y delimitación del problema:

El acné constituye la patología dermatológica más frecuente de la adolescencia con una prevalencia entre los 13-25 años de casi el 80%, con un alto compromiso de la calidad de vida, así como de la autoestima del individuo, pasando a ser causa de depresión y ansiedad en este grupo etario.^(4,5,6,7) Cerca del 30% de los pacientes requieren tratamiento médico ^(8,9,10), y el número de adultos con acné, incluyendo personas por encima de los 25 años se ha ido incrementando recientemente por razones todavía inciertas, pasando a ser una de las cinco dermatosis atendidas con mayor frecuencia tanto en la consulta pública como en la privada en Caracas. ⁽¹¹⁾

En varias condiciones inmunopatológicas, la flora bacteriana induce una respuesta inmune que resulta en manifestaciones inflamatorias ^(12,13,14,15,16). A pesar de ello, el rol de las distintas células inflamatorias y de las citocinas no está totalmente comprendido ^(16,17). En dichos casos, las células dendríticas juegan un papel principal en la organización de la respuesta inmune específica.

Estudios previos sugieren que las células dendríticas juegan un rol crítico en la presentación antigénica in vivo siendo un elemento fundamental en el proceso inflamatorio cutáneo.^(13,17)

Siendo entonces el acné una enfermedad crónica de gran importancia en la práctica diaria dermatológica en donde la inflamación juega un papel fundamental en la patogénesis de la enfermedad, y las células dendríticas un componente fundamental como células presentadoras de antígeno dentro de la respuesta inflamatoria, nos proponemos investigar la participación de los distintos subtipos de células dendríticas en piel de pacientes con acné inflamatorio de la espalda.

Justificación e importancia.

Poco se sabe actualmente sobre las subpoblaciones de células dendríticas en enfermedades como el acné inflamatorio y en pacientes con acné de la espalda, es por ello que el objetivo del presente trabajo es determinar la participación de los distintos subtipos de células dendríticas en la

respuesta inmunológica del acné inflamatorio de la espalda para así acercarnos más al conocimiento de la respuesta inmune que se lleva a cabo en estos pacientes, considerando a la célula dendrítica como elemento fundamental en la respuesta inflamatoria y a la inflamación como factor esencial en la patogénesis del acné.

Antecedentes:

Los primeros autores involucrados en la descripción de los eventos fisiopatológicos en el acné fueron : Plewig (1971) quien estudió el: incremento del sebo y las alteraciones de la queratinización ⁽⁴⁾;Holland y colaboradores (1981) quienes asociaron la proliferación de *Propionibacterium acnes* a esta patología y Cunliffe (1988) quien abordó el fenómeno inflamatorio en las lesiones de acné, evidenciando la presencia de polimorfonucleares en las lesiones agudas y linfocitos en las crónicas ⁽⁴⁾ :

Desde el punto de vista clínico, la lesión semiológica fundamental en el acné es el comedón. A partir del comedón comienzan a aparecer lesiones subsecuentes inflamatorias, con posterior componente cicatricial clasificándose al acné acorde a su forma de presentación (según la clasificación propuesta en 1990 en la Academia Americana de Dermatología) en: acné no inflamatorio , acné inflamatorio , y variantes como el acné excoriado, neonatal, infantil, prepuberal, del adulto, cosmético, mecánico, ocupacional e inducido por fármacos. ⁽¹²⁾

El acné inflamatorio está caracterizado por la presencia de pápulas, de 1 a 5 mm. de diámetro, rojas, sensibles ; pústulas, que se observan como conos blancos, que se asientan sobre una base dura , o nódulos. De acuerdo a su severidad puede ser:

Leve: pocas o varias pápulas y pústulas, ningún nódulo

Moderado: varias o muchas pápulas y pústulas con pocos nódulos

Severo: Numerosas y extensas pápulas o pústulas con presencia de muchos nódulos ⁽¹²⁾.

Según esta clasificación se incluyen dentro de la forma severa al acné conglobata y fulminans ⁽¹²⁾.

El acné no inflamatorio se caracteriza por la presencia de comedones abiertos, (clásicos puntos negros) que corresponden a una dilatación del folículo sebáceo. Se observan también comedones cerrados con un orificio apenas perceptible, que son elementos de 1 a 3 mm. de diámetro, superficie blanca, cubierto por epidermis sin signos clínicos de inflamación ^(12,18,19).

En el 2012 el Grupo Latinoamericano de Estudio del Acné (GILEA , antes GLEA) actualizó la clasificación del acné , tomando en cuenta criterios basados en franjas etarias, lesión

predominante y severidad del cuadro . También se consideró que la categoría variantes, dejó de tener sentido, puesto que hoy en día se incluyen en formas de acné por edad como neonatal, del lactante, prepuberal y del adulto. Además se excluyeron otros cuadros tales como acné cosmético, acné excoriado, acné mecánico que pasaron a la categoría de las erupciones acneiformes. Esta clasificación se ratificó en el 2014 ⁽²⁰⁾.

En el año 2018, "the Global Alliance" realiza una publicación de consenso internacional, en donde se incluyen a las formas conglobata y quística como formas muy severas de la enfermedad, que requieren isotretinoína para su manejo inicial ⁽²¹⁾.

A pesar de las múltiples clasificaciones existentes, en todas las formas inflamatorias se han involucrado mecanismos de respuesta inmune innata y adquirida en la enfermedad.

Tapia y colaboradores ⁽¹³⁾ en su trabajo titulado "Las células dendríticas de la piel: de Paul Langerhans al concepto de los inmunocitos viajeros" nos resume el papel que tienen las células dendríticas en las fases del fenómeno inflamatorio cutáneo. Así mismo Yotsumoto y colaboradores ⁽¹⁴⁾ nos describen el papel de este grupo celular en cuadros inflamatorios cutáneos como la dermatitis estrogénica.

Sabatte y colaboradores ⁽¹⁵⁾ nos relacionan a las células dendríticas con agentes externos como los patógenos y otros como el stress. Describen de esta manera el papel de los patrones moleculares asociados a patógenos en la activación de las células dendríticas, quienes juegan un rol crucial en la inducción de la inmunidad innata y adquirida.

Jeremy ⁽¹⁷⁾ y Holland ⁽¹⁹⁾, abordan el problema inflamatorio en el acné reportando que en dichos pacientes existe un mayor número de linfocitos T CD3 + y CD4+ en la dermis perifolicular, así como un incremento de las células de Langerhans en pacientes no propensos a desarrollar cicatrices como complicación.

Matti promueve en su trabajo evidencia de que los sebocitos participan activamente en el proceso inflamatorio de la piel, interactuando con el *Propionibacterium acnes* e induciendo a la maduración de las células dendríticas, lo cual promueve en las células presentadoras de antígenos a estimular la vía Th17⁽²²⁾.

A pesar de estos antecedentes, si bien se conoce el papel fundamental de la inflamación en el acné, y de las células dendríticas en la inflamación, no se tiene claro hasta el momento el papel de los subtipos de células dendríticas en la patogénesis del acné inflamatorio.

Marco teórico

La etiopatogenia del acné ha sido muy estudiada, pero existen todavía aspectos no bien conocidos. Los principales factores involucrados son: incremento en la producción de sebo, queratinización anormal del epitelio folicular (demostrada por inmunohistoquímica en el año 1994 por Knaggs y col), proliferación de *Propionibacterium acnes* y el mecanismo inflamatorio-inmune (4,9,12)

El fenómeno inflamatorio ha pasado a ser considerado un elemento fundamental en la patogenia de esta enfermedad. Se considera que existen otros factores que lo exacerban: neuroendocrinos, emocionales, uso de cremas oclusivas, genéticos, clima, dieta, drogas, ocupación. (12,23,24,25)

Existe una relación entre el componente neuroendocrino e inmune de la piel. Estudios previos han demostrado que el stress exagera el acné, afectando la función de la glándula sebácea, queratinocitos y células de Langerhans (26,27)

Es así como la piel pasa a ser un órgano encargado de la homeostasis, con potencial proinflamatorio, en donde los sebocitos, queratinocitos y las células dendríticas juegan un papel fundamental como guías del fenómeno inflamatorio.

Mecanismo inflamatorio – inmune cutáneo (dibujo 1):

La piel dispone de toda la maquinaria necesaria para ser un órgano de inmunovigilancia con potencial para generar una respuesta inflamatoria e inmunitaria innata y adaptativa; es por ello que es considerada actualmente como un sistema denominado “inmunitario-cutáneo”. (13,28)

El fenómeno inflamatorio cutáneo tiene varias fases:

1.- Iniciación: involucra las etapas de desafío, activación, captación y procesamiento de antígenos. Esta fase va desde el reconocimiento del agente agresor por los receptores de reconocimiento de patrones (PRR) ,entre ellos los Toll-like receptor, hasta la captación y procesamiento de antígenos por células presentadoras de antígenos como las células dendríticas. (13)

Los PRR se encuentran en los queratinocitos, y células dendríticas entre otras células, y son considerados receptores de señales de peligro, cuya activación conlleva al inicio de la respuesta inflamatoria, con liberación de péptidos antimicrobianos, neuropéptidos y sobrerregulación de factores de transcripción nuclear como el NF-kB aumentando la producción de citocinas proinflamatorias como IL-1 y TNF- α . (29)

2.- Inmunoestimulación: involucra la migración de las células dendríticas de la piel a los ganglios linfáticos regionales, la presentación de antígenos a los linfocitos T dando origen a una respuesta inmune de tipo Th1, Th2 o Th17, y el reclutamiento de linfocitos T y otras células inflamatorias como neutrófilos hacia la piel ⁽¹³⁾.

3.- Retención y supresión: fase final del fenómeno inflamatorio que conlleva a la resolución de la inflamación o a su perpetuación en el tiempo dando origen a la inflamación crónica. ⁽¹³⁾

Mecanismo inflamatorio – inmune en el acné.

Los componentes del sistema inmunitario-cutáneo, a través de una respuesta inmunológica innata están involucrados en el inicio de las lesiones del acné, tanto inflamatorias como no inflamatorias, a pesar de que la extensión de esta respuesta y los mecanismos precisos que gobiernan la iniciación y exacerbación de la inflamación todavía no son bien conocidos. ⁽³⁰⁾

En la piel de un paciente con acné, existen diferentes tipos de células con diferentes funciones inmunológicas, tal es el caso de los queratinocitos, que en respuesta a una agresión externa pueden actuar como iniciadores de la respuesta inflamatoria gracias a la liberación de diferentes citocinas y factores proinflamatorios como la IL-1 α y el TNF- α , que inducen en las células endoteliales expresión de moléculas de adhesión como E-selectina y VCAM-1 las cuales permiten el reclutamiento tanto de linfocitos como neutrófilos a la piel inflamada, así como mediante la producción de péptidos antimicrobianos y neuropéptidos que juegan un papel importante en la inflamación cutánea. Además tenemos a las células dendríticas que actúan como células presentadoras de antígenos para los linfocitos T y a los sebocitos que actúan como células del sistema neuroinmunoendocrino participando de manera activa en el metabolismo de hormonas involucradas en el acné. ^(17,22)

En lesiones de acné, se activa el factor de transcripción NF-kB, involucrado en la respuesta inflamatoria y en la sobrerregulación de IL-1 β , TNF α , IL-8 e IL-10, que producen hipercornificación del infundíbulo (uno de los procesos de formación del comedón). ⁽¹⁷⁾

En la piel de un paciente con esta patología, la lesión más temprana es el microcomedón. En el inicio de la inflamación, entre las 6 a 24 horas se detectan células mononucleares perivasculares que rodean al folículo; son de tipo T CD 4 +. ^(18,19)

El mecanismo de salida de los infiltrados inflamatorios desde los vasos sanguíneos y la activación de los queratinocitos del conducto folicular se evidencian en las lesiones inflamadas de 6

horas de evolución, detectándose altos niveles de HLA-DR en los queratinocitos y células endoteliales que también expresan moléculas de adhesión V-CAM además de E-selectina ^(17,18,19,31)

Entre las 24 y 48 horas aparecen neutrófilos en la periferia de la unidad pilosebácea que luego migran a su interior. Guy et al (1996); Guy y Kealey (1998), Aldana et al (1998) demostraron en muestras histológicas que citocinas proinflamatorias como la IL 1 serían la primera señal inflamatoria para las células endoteliales. La piel es el mayor reservorio de esta citocina y la cantidad hallada en los comedones es suficiente para promover el proceso inflamatorio. Posteriormente ocurre la llegada de las células T. ⁽¹⁷⁾

Más recientemente, se encontraron evidencias que involucran al *Propionibacterium acnes* en el inicio de una respuesta inmune de tipo Th1 y Th17⁽²²⁾, jugando un rol importante en la liberación de varias citocinas proinflamatorias como CXCL8(antes IL 8), IL 12 y TNF α , a través de la estimulación y unión a PRR de tipo Toll-Like 2 (TLR2), de monocitos y neutrófilos que rodean la unidad pilosebácea acnéica. Existe una respuesta específica al antígeno, confirmada por la presencia de un perfil de mRNA para citocinas Th1 en lesiones muy tempranas. También en los macrófagos, el *P. acnes* se une por estos receptores y la cascada de señales que se genera en el interior celular conduce a la síntesis de IL -12 y CXCL 8 e IL 6 ^(12,25,26,27,28). Otro agente involucrado ha sido la *Malassezia sp*, que se ha visto incrementada en los pacientes con acné. A pesar de lo antes mencionado poco se sabe acerca de la participación de las células dendríticas en este proceso de presentación antigénica. ^(12,32,33,34)

Citocinas de los tipos Th1, Th2 y Th17 han sido identificadas en lesiones inflamadas de distintos pacientes con acné, lo cual sugiere que el acné no es una enfermedad homogénea y los pacientes pueden generar diferentes tipos de respuesta inmunitaria. ^(12,18,19,22)

Con respecto a la inmunidad innata: los diferentes tipos de acné, leve a severo, parecen estar relacionados con el grado de reacción de hipersensibilidad retardada del paciente. Los linfocitos de pacientes con acné muestran hiperreactividad contra los antígenos del *P.acnes*. ^(18,19)

Inmunidad adquirida y activación del complemento: por inmunofluorescencia se comprueban depósitos de complemento e inmunoglobulinas en los vasos de la dermis cercanos a las lesiones de acné. Tanto el contenido de los comedones como el mismo *P.acnes* pueden activar el complemento por vía clásica o alterna. La presencia de complemento es necesaria para la iniciación de liberación de hidrolasas por el neutrófilo. El nivel de anticuerpos anti *P.acnes* se correlaciona con el grado de inflamación del acné. ⁽¹⁸⁾

Defensinas: son péptidos antimicrobianos (PAM). Forman parte del sistema inmune innato de la piel. Los localizados en la capa córnea contribuyen con la resistencia de la piel normal a la infección. En el epitelio lesional y perilesional de pacientes con acné hay una sobreexpresión de defensina β 2, y ésto se debe a la interrelación entre queratinocitos, células dendríticas y flora bacteriana que estimulan su producción. ^(12,35,36).

Células dendríticas y su papel en enfermedades infecciosas e inflamatorias como el acné: las células dendríticas existen en dos estadios de maduración, acorde a su capacidad de estimular a las células T :como no activadas (inmaduras) y activadas (maduras). Las células inmaduras se localizan en órganos no-linfoideos, y están especializadas en la captura y procesamiento de antígenos. Las células dendríticas activadas migran a los ganglios linfáticos de drenaje y son capaces de estimular a los linfocitos T, promoviendo el desarrollo de un particular tipo de respuesta inmune (Th1, Th2,Th17, mixta o T reguladora) ⁽¹³⁾. El *P acnes* a través de las células dendríticas induce diferenciación de los linfocitos T, en células con expresión de CD25^(15,27).

En condiciones normales, las células dendríticas se caracterizan por una tasa de recambio relativamente baja. En procesos infecciosos e inflamatorios, los epitelios son capaces de producir un sinnúmero de citocinas. Esta activación epidérmica induce tanto a los queratinocitos como a las células dendríticas a proveer de mediadores y señales de la respuesta inflamatoria. Es así como en el acné se pueden ver involucradas estas células en el inicio de la respuesta inflamatoria. ⁽²⁷⁾

Hasta hace poco, las células de Langerhans, eran consideradas como las únicas células dendríticas presentes en la epidermis. Actualmente se reconoce que las células dendríticas son una familia de células especializadas en la captura y procesamiento de antígenos a los linfocitos T y como tal, forman un componente esencial a estudiar en todo el fenómeno inflamatorio.

En la piel, existen 2 subpoblaciones de células dendríticas. Las células de origen mielóide (Langerhans, células epidérmicas inflamatorias y dendrocitos dérmicos) y las plasmocitoides. ⁽¹³⁾

Las células de Langerhans (CD207⁺⁺⁺,CD1a⁺⁺⁺,CD11b⁻) están presentes en la piel normal e inflamada, incrementándose ante el estímulo de agentes infecciosos principalmente bacterianos⁽¹³⁾. Las células inflamatorias dendríticas epidérmicas (IDEC) (CD1a⁺, CD11b⁺⁺⁺) están presentes sólo durante fenómenos inflamatorios (sobreexpresan el receptor Fc ϵ R1 que une IgE) y se han relacionado con fenómenos alérgicos e inflamatorios como la dermatitis atópica. En la dermis existen los dendrocitos dérmicos los cuales expresan CD209/DC-SIGN, y otro tipo de células dendríticas que entran en la piel bajo ciertas circunstancias son las células plasmocitoides (pDC)

(BDCA-2/IL3R- α +++), que corresponden a células dendríticas presentes sólo en escasa cantidad en piel normal y que reaccionan principalmente frente a los virus donde producen IFN α , β y γ promoviendo una respuesta Th1. Las células plasmocitoides se han visto disminuidas en enfermedades como la dermatitis atópica, incrementando el riesgo de infecciones virales en estos pacientes, así como se han visto incrementadas en pacientes con enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico y en la psoriasis. ^(37,38)

En lesiones de acné, las células de Langerhans CD1a+ se encuentran principalmente en la epidermis y pared del folículo, pero algunas están localizadas en el infiltrado periductal o en la dermis papilar. En pacientes con poca tendencia a desarrollar cicatrices, las células de Langerhans muestran alta densidad en la dermis perifolicular, en contraste con los pacientes con propensión a cicatrices, en los cuales se ubican por igual en la dermis y epidermis ⁽¹⁹⁾.

A pesar de estos resultados inmunológicos, poco se ha descrito con respecto al papel de los subtipos de células dendríticas en la patogénesis del acné.

Objetivo general:

Caracterizar los diferentes tipos de células dendríticas presentes en pacientes con acné inflamatorio de la espalda.

Objetivos específicos:

1. Determinar la densidad de células de Langerhans en muestras de pacientes con acné inflamatorio de la espalda, mediante la detección de CD1a, CD207/langerina por la técnica de inmunohistoquímica
2. Determinar mediante técnicas de inmunohistoquímica la densidad de células dendríticas CD209/DC-SIGN+ (dendrocitos dérmicos) en muestras de pacientes con acné inflamatorio de la espalda.
3. Identificar y cuantificar las células dendríticas plasmocitoides BDCA-2/IL3R- α + mediante técnicas de inmunohistoquímica en lesiones de pacientes con acné inflamatorio de la espalda.

Hipótesis:

El acné es una enfermedad inflamatoria crónica. Por ende en muestras de piel de pacientes con acné inflamatorio de la espalda debemos encontrar expresión de células dendríticas de distintos subtipos involucradas en los fenómenos inflamatorios: células de Langerhans, y dendrocitos

dérmicos con escasa o nula cantidad de células plasmocitoides. Se evidenciará un incremento de estas células en las lesiones en comparación con la piel sana.

Aspectos éticos

Este trabajo fue evaluado por la comisión de Bioética del Servicio autónomo del Instituto de Biomedicina “Dr. Jacinto Convit” y llevado a cabo según los acuerdos y principios de ética internacional de la declaración de Helsinki. Se anexa modelo de consentimiento informado firmado por los pacientes involucrados. La confidencialidad de los pacientes participantes fue preservada y ninguno de ellos fue identificado por su nombre en la publicación de los resultados derivados de este estudio o en el manejo de las muestras.

METODOS:

Tipo de Estudio: se realizó un estudio descriptivo transversal.

Población: pacientes con acné inflamatorio de la espalda.

Criterios de inclusión y exclusión:

Inclusión:

Pacientes de 14-40 años con acné inflamatorio de la espalda que estuvieron de acuerdo en participar en el estudio habiendo llenado previamente la hoja de consentimiento informado.

Exclusión:

Embarazo

Consumo actual de medicamentos: (4 semanas previas a biopsia)

Hormonales: Anticonceptivos

Antibióticos.

Isotretinoína

Trastornos de la coagulación.

Presencia de queloides en el tronco.

Muestra: En este estudio se incluyeron 15 pacientes con acné inflamatorio en la espalda que acudieron a la consulta de Dermatología del Instituto de Biomedicina en el período de Marzo a Junio 2008.

En el tamaño muestral influyó la disponibilidad de reactivos para realizar el trabajo.

Procedimientos:

Previo llenado de la hoja de consentimiento informado por cada paciente, se procedió a tomar 2 biopsias incisionales por punch 4 mm La primera en una lesión tipo pústula o nódulo de acné inflamatorio en la espalda ,y la segunda en piel no lesionada de la espalda de los mismos pacientes.

Las biopsias se enviaron en solución fisiológica al Laboratorio de Biología Molecular, en donde se incluyeron en el medio de criopreservación (Cryomatrix®, Shandon. EEUU), y se almacenaron en nitrógeno líquido hasta su posterior utilización para el estudio inmunohistológico.

Estudio inmunohistológico:

Se obtuvieron cortes congelados longitudinales(5µm) en un criostato (Shandon, EEUU), los cuales se dejaron secar toda una noche antes de la inmunotinción y se fijaron con acetona

durante 10 min. La inmunotinción comenzó con una hidratación de los cortes en PBS y la incubación por 90 min. con el anticuerpo primario. Luego la incubación durante 30 min. con el anticuerpo secundario biotinado policlonal de caballo, cabra u otro animal (50µg/ml) (Vector Labs Inc., EEUU); dirigido a reconocer los anticuerpos primarios. Seguido de la incubación con al complejo Avidita-biotina-peroxidasa (Vector Labs Inc., EEUU). Lavados de 5 min con PBS fueron realizados entre cada una de las incubaciones. La reacción fue revelada por 3 min. con el sustrato para peroxidasa NovaRED (Vector Labs Inc., EEUU) Los cortes fueron lavados y contrastados con hematoxilina de Mayer. Los controles de la técnica consistieron en la omisión del anticuerpo primario o el uso de un anticuerpo de especificidad irrelevante a la misma concentración.

Anticuerpos:

Se utilizaron como anticuerpos primarios los anticuerpos monoclonales con las siguientes especificidades: CD1a (Biosesing internacional, en una dilución 1:100), CD207/langerina (con especificaciones del fabricante), CD209/DCSIGN (con especificaciones del fabricante), BDCA-2/IL3R (Santa Cruz Biotechnology, USA, 1:200). Como anticuerpo secundario se utilizó anticuerpo policlonal anti IgG de ratón biotinado (Vector, USA, 1:100). Todos diluidos en buffer fosfato salino (PBS).

Cuantificación celular:

La cuantificación de las células se realizó mediante su visualización en un microscopio de luz (Leica, Wetzlar, Alemania) conectado a un monitor de video de color (Panasonic, Japón), calibrado para determinar el número de células/mm² presentes en los cortes. Aquellas células que tuvieron un núcleo visible con tinción roja fueron marcadas como positivas. Para obtener una muestra representativa se contaron 20 campos por cada corte con un aumento de 40x.

Análisis estadístico:

Los resultados de la caracterización inmunocitoquímica fueron expresados como media ± SEM (error estándar de la media). Las medias fueron calculadas en base a los valores individuales para cada paciente. La comparación entre grupos se realizó aplicando el análisis de varianza no paramétrico de Mann-Whitney. Cualquier valor de *P* menor a 0,05 fue considerado significativo. Se utilizó el programa estadístico GraphPad InStat3

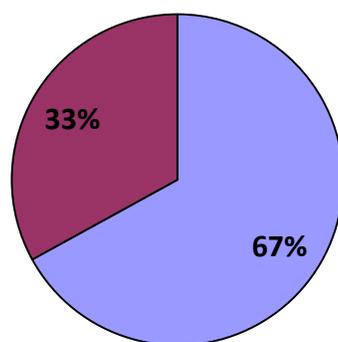
Aspectos administrativos:

Se emplearon los recursos humanos y materiales facilitados por el Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Biomedicina Dr Jacinto Convit, Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela y financiado por los proyectos adjudicados a dicha unidad.

RESULTADOS

La muestra estuvo constituida por femeninos y masculinos con edades comprendidas entre 16 y 23 años con una media de 19,9 años.

Gráfico n 1: Distribución de los pacientes con acné inflamatorio por sexo. Instituto de Biomedicina Dr Jacinto Convit 2008.



■ Maculino ■ Femenino

Fuente SAIB

El promedio de lesiones por paciente fue de $12,2 \pm 1,87$

Gráfico n 2: Número de lesiones inflamadas en pacientes con acné inflamatorio de la espalda. Instituto de Biomedicina Dr Jacinto Convit 2008.

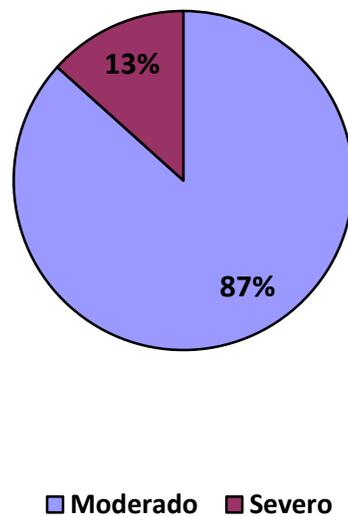


Fuente SAIB

El 87% de las lesiones evaluadas correspondían a pústulas y solo se tomaron 2 biopsias de nódulos (13%).

El 87% de los pacientes fueron catalogados como acné inflamatorio moderado y el 13% como acné inflamatorio severo. Todas las lesiones de acné tenían más de 1 semana de evolución, por lo que fueron consideradas crónicas.

Gráfico n 3: Clasificación de los pacientes con acné inflamatorio de la espalda según severidad. Instituto de Biomedicina Dr Jacinto Convit 2008



Fuente SAIB

Tabla n 1: Densidad de células dendríticas por inmunofenotipos en lesiones inflamadas de acné de la espalda y zona no comprometida de la espalda. Instituto de Biomedicina Dr Jacinto Convit 2008.

Anticuerpo	Lesión n=15	Sana n=15	p
CD1a	516±13	264±19	p<0,0001
BDCA2/IL3R	259±43	111±21	p 0,0051
CD209/DCSIGN	238±37	101±16	p 0,0062
CD207/langerina	130±47	46±19	p 0,29

Fuente SAIB

En 5 pacientes se pudo visualizar el comedón en la biopsia con tendencia a mayor distribución de las células dendríticas Cd1a+ alrededor del folículo, en la zona más superficial, pero sin diferencias estadísticamente significativas frente a aquellos pacientes en cuyos cortes no fue visualizado el comedón (p 0,59)

Tabla n 2: Densidad de células dendríticas CD1a+ en cortes de piel de acné inflamatorio de la espalda con visualización del comedón vs sin visualización del mismo. Instituto de Biomedicina Dr Jacinto Convit 2008.

Anticuerpo	Sin visualización del comedón n=10	Con visualización del comedón n=5	p
CD1a	510±19	526±12	P 0,59

Fuente SAIB

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la densidad de células dendríticas CD1a+, BDCA2/IL3R+, CD209/DCSIGN+ y CD207/langerina+ entre lesiones inflamadas tipo pústulas y nódulos, ni entre los pacientes con acné inflamatorio moderado y severo.

Tabla n 3: Densidad de células dendríticas por inmunofenotipos en lesiones inflamadas tipo pústulas y nódulos en pacientes con acné inflamatorio moderado y severo de la espalda . Instituto de Biomedicina Dr Jacinto Convit 2008.

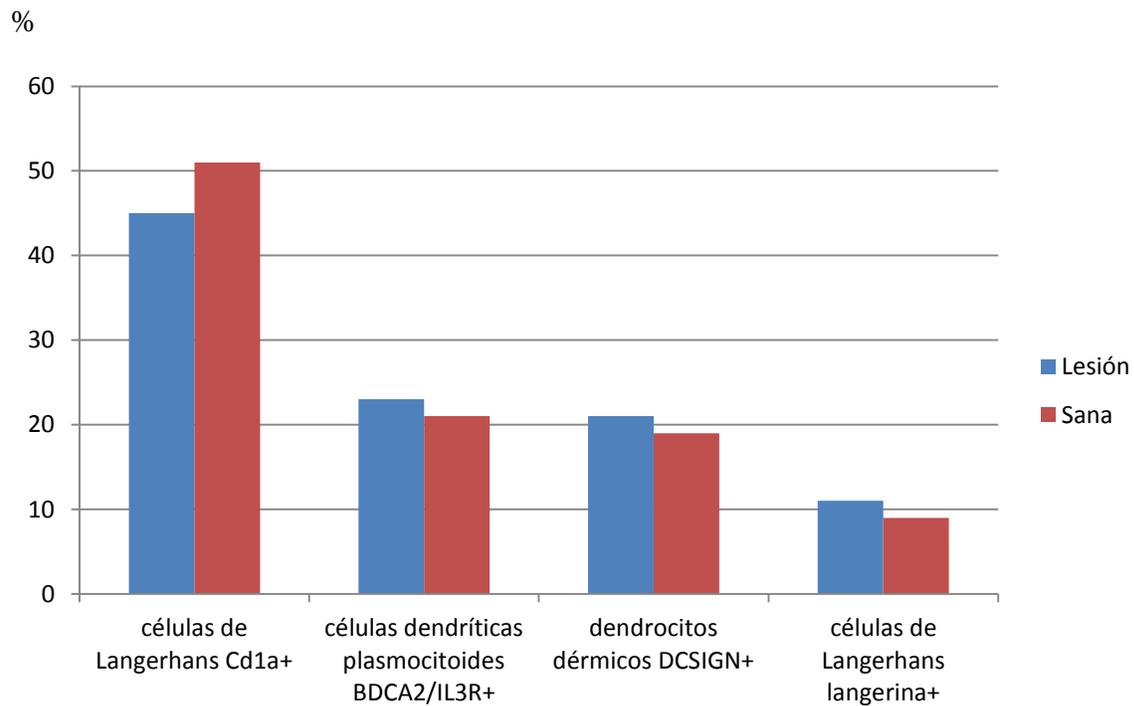
Anticuerpo	Pústulas/acné inflamatorio moderado n=13	Nódulos/acné inflamatorio severo n=2	p
CD1a	509±14	561±1	P 0,18
BDCA2/IL3R	262±50	239±10	p 0,86
CD209/DCSIGN	230±42	291±41	p 0,6
CD207/langerina	142±53	50±50	p 0,52

Fuente SAIB

La distribución porcentual de células dendríticas por inmunofenotipo fue de 45% células de Langerhans CD1a+ , células dendríticas plasmocitoides BDCA2/IL3R+ 23%, dendrocitos dérmicos CD209/DCSIGN+ 21% , células de Langerhans CD207/langerina+ 11% para las muestras lesionales.

En muestras de piel sana la distribución de células dendríticas porcentual por inmunofenotipo fue de 51% células de Langerhans CD1a+ , células dendríticas plasmocitoides BDCA2/IL3R+ 21%, dendrocitos dérmicos CD209/DCSIGN+ 19% y células de Langerhans CD207/langerina+ 9% sin diferencias estadísticamente significativas con respecto a piel lesional (p 1)

Gráfico n 4: Distribución porcentual de células dendríticas por inmunofenotipo en lesiones inflamadas de acné de la espalda y zona no comprometida de la espalda. Instituto de Biomedicina Dr Jacinto Convit 2008.



Fuente SAIB

DISCUSIÓN

El acné es una enfermedad inflamatoria que afecta a la unidad pilosebácea. Se han involucrado múltiples factores en la etiopatogenia de esta enfermedad, pero poco se ha investigado acerca de la participación de los distintos subtipos de células dendríticas en la misma.

Afecta a individuos de distintos grupos etarios, siendo el acné juvenil su presentación más frecuente, y las lesiones se localizan principalmente en rostro y espalda. Nuestro estudio fue realizado en población joven entre 16 y 23 años con una media de 19,9 años, que corresponde a uno de los grupos etarios más afectados, por lo que nuestra muestra es representativa de la población general con esta patología. El 67% era del género masculino, ya que la población femenina tenía mayores objeciones para la toma de la biopsia. El número de lesiones estaba entre $12,2 \pm 1,87$ predominando las lesiones pustulosas caracterizándose al acné como moderado (87%) y severo (13%).

Se decidieron realizar las biopsias para el estudio de inmunotinción de la espalda, por ser un área anatómica poco estudiada y con menos repercusiones estéticas que la cara al momento de tomar las biopsias. Existen precedentes en la literatura que avalan la realización de estudios experimentales en acné inflamatorio utilizando modelos animales (ratón), cultivos celulares y biopsias de áreas anatómicas diferentes a la cara⁽³⁹⁾, basándose en sus similitudes con respecto a la densidad de los folículos y microbiota.

Chu y colaboradores⁽⁴⁰⁾ realizaron una revisión en donde se refieren a las especializaciones funcionales de los subtipos de células dendríticas de la piel en diversos procesos inflamatorios cutáneos. Además de generar inmunidad innata y adquirida contra patógenos, las células dendríticas cutáneas participan en mecanismos tolerogénicos para garantizar el mantenimiento de la homeostasis inmunológica, así como en la patogénesis de la inflamación crónica en la piel cuando se inician y no se restringen las respuestas inmunitarias excesivas.

Las células de Langerhans son el principal subtipo de células dendríticas en piel sana. Ellas se ubican preferentemente en la epidermis ; están caracterizadas fenotípicamente

principalmente por la expresión de CD1a y CD207/Langerina. Es por ello que en nuestro estudio se utilizaron los anticuerpos contra estas proteínas para identificar este subtipo de células dendríticas en piel. Como una de las primeras células que entran en contacto con los patógenos o antígenos, ellas desarrollan la capacidad de capturar antígenos y presentarlos, actuando como un enlace entre la inmunidad innata y adquirida ⁽⁴⁰⁾. Se han visto incrementadas ante el estímulo de agentes infecciosos principalmente bacterianos ⁽¹³⁾.

En la etiopatogenia del acné se han involucrado agentes tales como el *Propionibacterium acnés* y la *Malassezia sp* ^(12,39). Además se ha demostrado previamente un incremento de células de Langerhans en estadios iniciales del acné inflamatorio de la cara ⁽¹⁹⁾. A pesar de esto, existen pocos estudios que aborden este grupo celular en el área anatómica de la espalda. En nuestro trabajo se evidenció un incremento de las células CD1a + (Langerhans) en epidermis de pacientes con esta patología (gráfico 5, Fig 1,2,4), en valores similares a los reportados por Díaz y colaboradores ⁽⁴¹⁾ en Leishmaniasis cutánea localizada, la cual es una enfermedad infecciosa inflamatoria que ha sido ampliamente estudiada en nuestra institución y en donde se ha descrito una relación entre la densidad de células de Langerhans y las formas clínicas de la enfermedad. De esta manera se demuestra el carácter inflamatorio del acné de la espalda, en donde encontramos mayor densidad de células de Langerhans Cd1a+ en piel lesional con respecto a la piel sin lesiones ($p < 0,0001$, Tabla 1, Gráfico 5, Fig 5).

Un hecho resaltante es que encontramos una tendencia a la ubicación de las células de Langerhans alrededor del folículo, de manera superficial cercano al área queratinizada (Fig 3). Es en esta zona en donde se ubican principalmente los agentes infecciosos relacionados con la enfermedad. A pesar de ello, no existen diferencias estadísticamente significativas entre la densidad de células de Langerhans CD1a+, en los cortes de lesiones con y sin visualización del comedón. (Tabla n 2). La falta de significancia estadística puede ser explicada debido al escaso número de lesiones en donde fue visualizado el comedón (n=5). El tipo de corte aplicado a las biopsias fue longitudinal, lo cual dificulta la visualización directa del folículo, para lo cual es mejor el uso de cortes transversales en las muestras.

Nuevos hallazgos revelan que existen distintos tipos de *P acnés*, surgiendo una nueva clasificación taxonómica que involucra al *Cutibacterium acnés* como bacteria patógena productora de acné. Además se plantea que la pérdida del equilibrio entre los filotipos de *Propionibacterium* y el resto de la flora cutánea (principalmente *Staphilococcus epidermidis*)

puede jugar un rol crítico en el inicio del acné ⁽⁴²⁾. Esto podría explicar la razón por la cual existen diferencias en la densidad de células dendríticas dentro de un mismo paciente, si comparamos la piel lesional inflamada con la piel sana. Esta diferencia podría ir acompañada con una variedad de microbiota en el folículo, cuyo desbalance puede activar a las células dendríticas y desencadenar la inflamación. La baja diversidad microbiana, aunado a la oclusión folicular, puede generar un ambiente anaeróbico que favorezca el crecimiento de *Cutibacterium acnés* en algunas zonas de la espalda induciendo a la cronicidad en el evento inflamatorio cutáneo.

A pesar del alto nivel de células CD1a+ en las lesiones de nuestros pacientes con acné inflamatorio de la espalda, encontramos poca correlación con los niveles de CD207/langerina que también se encuentran en las células de Langerhans (Tabla 1, Gráfico 8, Fig 6). Esto podría explicarse ya que el CD1a es una glicoproteína que está estructuralmente relacionada con el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) y media la presentación de antígenos, primariamente lipídicos principalmente microbianos a las células T. Dentro de la interacción microbiota- *P acné* - células dendríticas, el CD1a se podría ver incrementado, en cambio el CD207/langerina, a pesar de ser expresado también por las células de Langerhans, éste se encuentra principalmente en formas inmaduras de la epidermis y mucosa, se ve involucrado en la internalización de los antígenos, y provee acceso a la vía no clásica de procesamiento antigénico, que puede no ser visualizada en formas más crónicas de la enfermedad, como eran nuestros pacientes.

El segundo grupo celular evaluado en nuestro estudio fue el de los dendrocitos dérmicos (CD209/DC-SIGN+) que pertenecen a un subtipo de células dendríticas dérmicas que expresan CD14⁽³⁹⁾. Los dendrocitos dérmicos CD14 + son eficientes en la captación de antígenos, potencialmente a través de lectinas de tipo C como el receptor de manosa (CD206) y la no integrina (DC-SIGN / CD209) expresada en la superficie de las células. Klechevsky y col ⁽⁴³⁾ reportaron que los dendrocitos dérmicos CD14 + son capaces de polarizar células T CD4 + en células T foliculares ayudadoras, que luego promueven la diferenciación de células B. Estos hallazgos sugieren una función de los dendrocitos dérmicos CD14 + en la activación de la inmunidad humoral.

En nuestro estudio se evidenciaron células dendríticas dérmicas DC-SIGN / CD209+, en número menor a las células de Langerhans CD1a+, pero en mayor proporción a

las muestras provenientes de zonas no afectadas de la espalda (p 0,0062, Tabla 1, Gráfico 6, Fig 8). Esto demuestra que la respuesta inflamatoria en acné es compleja y puede involucrar citocinas Th1, Th2 con estimulación de la respuesta inmune innata y adquirida.

El último grupo celular estudiado correspondió a las células dendríticas plasmocitoides (BDCA2/IL3R +). Este grupo celular se ubica en la dermis. Normalmente están ausentes en la piel y otros tejidos no linfoides. Sin embargo, pueden encontrarse en la dermis de la piel inflamada bajo varias condiciones patógenas, como la psoriasis , el lupus eritematoso sistémico y ciertos tumores de la piel ⁽⁴⁰⁾, entre otras .

En psoriasis se pueden ubicar neutrófilos y células T CD8+ en la epidermis, así como células dendríticas plasmocitoides , dendrocitos dérmicos y linfocitos T CD4 +, principalmente Th1 y Th17 en la dermis.El IFN- α liberado por las células dendríticas plasmocitoides activadas, así como las citoquinas proinflamatorias derivadas de queratinocitos, TNF, IL-6 e IL-1 β , conducen a la activación de los dendrocitos dérmicos, quienes migran a los ganglios linfáticos que drenan la piel donde promueven la diferenciación de las células T en células Th1 y / o Th17. En las lesiones psoriásicas los dendrocitos dérmicos y las células dendríticas inflamatorias producen IL-12, TNF, IL-20, radicales de óxido nítrico (NO) e IL-23 que activan a las células T residentes en la piel para producir citocinas proinflamatorias. Las citocinas Th1 y Th17 proinflamatorias actúan sobre los queratinocitos y retroalimentan a los dendrocitos dérmicos, lo que lleva a un estado inflamatorio sostenido y amplificado que finalmente conduce a la formación de una placa psoriásica.

En el infiltrado dérmico de las lesiones de nuestros pacientes con acné de la espalda también están presentes las células plasmocitoides, en número mayor que en piel no afectada, representando el segundo subtipo de células dendríticas desde el punto de vista porcentual (Tabla 1 ,gráfica n 4, 7, Fig 7). Las células dendríticas plasmocitoides activan la vía Th17 y pueden actuar ejerciendo una retroalimentación positiva sobre los dendrocitos dérmicos, con un efecto proinflamatorio. Esto indica nuevamente un proceso inflamatorio con activación de vías Th1, Th2, Th17 y con interacción entre subtipos de células dendríticas de los pacientes con acné inflamatorio de la espalda, lo que podría explicar como en la psoriasis y otros desórdenes cutáneos, la cronificación del proceso. ^(43,44,45,46)

Es por todos estos hallazgos que se fortalece la evidencia del papel de la inflamación en el acné de la espalda y la participación de los distintos tipos de células dendríticas, con

predominio de las células de Langerhans, en el fenómeno inflamatorio, manteniendo una cascada con retroalimentación positiva que cronifica la enfermedad (dibujo 2).

Estos resultados pueden justificar el uso de medicamentos y medidas anti-inflamatorias en el manejo del acné en población joven, así como abre una nueva ventana terapéutica con la modulación de los receptores BDCA2/IL3R, para disminuir la cascada de retroalimentación positiva en la que participan las células dendríticas plasmocitoides.

CONCLUSIONES

El acné es una enfermedad inflamatoria crónica en donde participan las células dendríticas cutáneas, jugando un papel fundamental en la activación y cronificación de la enfermedad.

La respuesta inmune en acné inflamatorio es compleja e involucra la vía Th1, Th2 y Th17.

En pacientes con acné inflamatorio de la espalda existe un aumento en la población de células dendríticas de Langerhans, así como de dendrocitos dérmicos y células dendríticas plasmocitoides.

El predominio de células dendríticas de Langerhans en el epitelio folicular, a nivel superficial, puede reflejar la respuesta de este grupo celular frente a patógenos que habitan el folículo y que están involucrados en la patogénesis del acné.

Es papel de las futuras investigaciones aclarar la interacción *Propionibacterium acnés*- células dendríticas y las concentraciones de citocinas involucradas en la respuesta inmune para ubicar potenciales blancos terapéuticos en esta enfermedad.

RECOMENDACIONES

Posterior a este estudio, se sugiere ampliar la muestra, y utilizar otros anticuerpos para la identificación del resto de los subtipos de células dendríticas dérmicas y células dendríticas inflamatorias en el acné, que no pudieron ser abordadas en este trabajo. Además, tras la observación microscópica de las biopsias pudimos identificar dificultades en la visualización directa del comedón y folículo, para lo cual, sugerimos para futuros estudios el uso de cortes transversales para mejor visualización del mismo, ya que constituye un área fundamental de estudio, en donde se puede llevar la interacción entre la microbiota y las células dendríticas.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo no pudiese haberse realizado sin la contribución del Dr Jaime Piquero Martin, dermatólogo experto en acné, quien aportó sus conocimientos e interrogantes en la patogénesis del acné que motivaron esta tesis.

Así mismo se agradece la contribución prestada por la Dra Nilka Díaz y Yisis López, personal del laboratorio de Biología Molecular, cuya ayuda en la parte experimental fue fundamental para la culminación del trabajo.

REFERENCIAS

- 1.-Wellen K, Hotamisligil G. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest* 2005; 115:1111-1119
- 2.-Piquero-Martin J. Introducción En:Piquero-Martin J. Acné. Manejo Racional. 3ª Ed.Corpográfica. Caracas; 2000.p2-74
- 3.-Healy E, Simpson N. Acne vulgaris. *BMJ* 1994;308:831–833.
- 4.-Chu TC. Acne and other facial eruptions. *Medicine* 1997;25:30–33.
- 5.-Mallon E, Newton JN, Klassen A, et al. The quality of life in acne: a comparison with general medical conditions using generic questionnaires. *Br J Dermatol* 1999;140:672–676.
- 6.-Smithard A, Glazebrook C, Williams HC. Acne prevalence, knowledge about acne and psychological morbidity in mid-adolescence: a community-based study. *Br J Dermatol* 2001;145:274–279.
- 7.-Pearl A, Arroll B, Lello J, et al. The impact of acne: a study of adolescents' attitudes, perception and knowledge. *N Z Med J* 1998;111:269–271.
- 8.-Garner S. Acne vulgaris. En: Williams H. Evidence-based dermatology. *BMJ*.London; 2003.p 8.
- 9.-Brown SK, Shalita AR. Acne vulgaris. *Lancet* 1998;351:1871–1876.
- 10.-Purdy S, Langston J, Tait L. Presentation and management of acne in primary care: a retrospective cohort study. *Br J Gen Pract* 2003;53:525–529.
- 11.-Piquero-Martin, Amini S. Primeras causas de consulta de las enfermedades de la piel en Caracas. *Derm Venez* 1986;24:21
- 12.-Piquero-Martín J. Capítulo 20. Acné. En: Heralde M, Piquero-Martín J. Rosácea y afecciones relacionadas. Edit Copyright. Venezuela; 2007.p247-272.
- 13.-Tapia FJ, Fermín Z, et al. Las células dendríticas de la piel: de Paul Langerhans al concepto de los inmunocitos viajeros. *Piel* 2000; 15:419-427.
- 14.-Yotsumoto S, Shimomai K, Hashiguchi T, Uchimiya H, Usuki K, Nishi M, Kanekura T, Kanzaki T. Estrogen Dermatitis: A Dendritic-Cell-Mediated Allergic Condition. *Dermatol* 2003;207:265-268

- 15.-Sabatte J, Maggini J, Nahmod K, Amaral M, Martínez D, Salamone G, Ceballos A, Giordiano M, Vermeulen M, Geffner J. Interplay of pathogens, cytokines and other stress signals in the regulation of dendritic cell function. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 2007; 18: 5–17
- 16.-Kim J, Ochoa M, Krutzik S, Takeuchi O, Uematsu S, Legaspi, A, Brightbill A, Holland D, Cunliffe W, Akira S, Sieling P, Godowski P, and Modlin R. Activation of Toll-Like Receptor 2 in Acne Triggers Inflammatory Cytokine Responses. *The Journal of Immunology* 2002; 169: 1535–1541.
- 17.-Jeremy AH, Holland DB, Roberts SG, Thomson KF, Cunliffe WJ. Inflammatory events are involved in acne lesion initiation. *J Invest Dermatol* 2003 ;121:20-7.
- 18.-Webster GF. Acne vulgaris: state of the science. *Arch Dermatol* 1999;135:1101–1102.
- 19.-Holland DB, Jeremy AH, Roberts SG, Seukeran DC, Layton AM, Cunliffe WJ. Inflammation in acne scarring: a comparison of the responses in lesions from patients prone and not prone to scar. *Br J Dermatol* 2004 ;150:72-81.
- 20 Kaminsky A, Florez-White M, Arias M, Bagatin E. Clasificación del acné: Consenso Ibero-Latinoamericano, 2014 *Med Cutan Iber Lat Am* 2015; 43 : 18-23
- 21 Thiboutot D, Dréno B, Abanmi A et al. Practical management of acne for clinicians: An international consensus from the Global Alliance to Improve Outcomes in Acne. *JAAD* 2018;78: S1-S23
- 22 Matti M, Lovaszi M, Garzorz N et al. Sebocytes contribute to skin inflammation by promoting the differentiation of T helper 17 cells. *Br J Dermatol* 2018;178:722-730.
- 23.-Escalante-Jibaja E, Saettone-León A. Acné y dieta. *Dermatol. Per* 2006; 16 : 61-65.
- 24.-Steinhoff M et al: Modern aspects of cutaneous Neurogenic Inflammation. *Arch Dermatol* 2003,139 :1479-1488.
- 25.-Zegarska B et al : Clinical and experimental aspects of cutaneous neurogenic inflammation. *Pharmacological Reports* 2006; 58:13-21.
- 26.-Peters E . Neuropeptide Control Mechanisms in Cutaneous Biology: Physiological and Clinical Significance. *J Invest Dermatol* 2006 ;126: 1937-1947.
- 27.-Seiffert K and Granstein R. Neuroendocrine Regulation of Skin Dendritic Cells. Neuroendocrine and Immune Crosstalk . *Ann NY Acad Sci* 2006; 1088: 195-206.
- 28.-Sánchez M, Cáceres-Dittmar G, Tapia FJ. Células dendríticas epidérmicas thy-1 positivas un nuevo grupo celular asociado con inmunovigilancia cutánea. *Derm Venez* 1990 ; 28: 43

- 29.-Pivarcsi A, Nagy Y and Kemenyl L. Innate Immunity in the Skin: How Keratinocytes Fight Against Pathogens. *Current Immunology Reviews* 2005; 1: 29-42
- 30.-Toyoda M, Morohashi M. Pathogenesis of acne. *Med Electron Microsc* 2001 ;34:29-40 .
- 31.-Layton AM, Morris C, Cunliffe WJ, Ingham E. Immunohistochemical investigation of evolving inflammation in lesions of acne vulgaris. *Exp Dermatol* 1998 ;7:191-7.
- 32.-McInturff JE, Kim J. The role of toll-like receptors in the pathophysiology of acne. *Semin Cutan Med Surg* 2005 ;24:73-8.
- 33.-Heymann W. Toll-like receptors in acne vulgaris. *JAAD* 2006; 55 :691-692.
- 34.-Kim J. Review of the innate immune response in acne vulgaris: activation of Toll-like receptor 2 in acne triggers inflammatory cytokine responses. *Dermatol* 2005;211:193-8.
- 35.-Burkhart CG, Burkhart CN. Expanding the microcomedone theory and acne therapeutics: *Propionibacterium acnes* biofilm produces biological glue that holds corneocytes together to form plug. *JAAD* 2007 ;57:722-4.
- 36.-Oono T, Huh W, Shirafuji Y, Akiyama H, Iwatsuki K. Localization of human β -defensin-2 and human neutrophil peptides in superficial folliculitis. *Br J Dermatol* 2003;148 : 188–191.
- 37.-Novak N, Valenta R, Bohle B, Laffer S, Haberstock J, Kraft S and Bieber T. Fc ϵ RI engagement of Langerhans cell-like dendritic cells and inflammatory dendritic epidermal cell-like dendritic cells induces chemotactic signals and different T-cell phenotypes in vitro. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:949-57.
- 38.-Novak N, Kraft S, Haberstock J, Geiger E, Allam P and Bieber T. A Reducing Microenvironment Leads to the Generation of Fc ϵ RI^{high} Inflammatory Dendritic Epidermal Cells (IDEC). *J Invest Dermatol* 2002; 119:842- 849.
- 39.- Kumar B, Pathak R, Mary PB, Jha D, Sardana K, Gautam H. New insights into acné pathogenesis: Exploring the role of acne-associated microbial populations. *Dermatologica Sinica* 2016;34:67-73
- 40.-Chu Ch, Di Meglio P, Nestle F. Harnessing dendritic cells in inflammatory skin diseases. *Semin Immunol* 2011 ; 23: 28–41.
- 41.- Díaz NL, Zerpa O, Ponce LV, Convit J, Rondón AJ, Tapia FJ. Intermediate or chronic cutaneous leishmaniasis: leukocyte immunophenotypes and cytokine characterisation of the lesión. *Exp Dermatol* 2002; 11:34-41.
- 42.- Dréno B, Pécastaings S, Corvec S, Veraldi S, Khammari A, Roques C. *Cutibacterium acnes* (*Propionibacterium acnes*) and acne vulgaris: a brief look at the latest updates. *J EADV* 2018; 32:5-14.

43.- Klechevsky E., Morita R., Liu M., Cao Y., Coquery S., Thompson-Snipes L. Functional specializations of human epidermal Langerhans cells and CD14⁺ dermal dendritic cells. *Immunity* 2008;29:497–510

44.- Denadai R. The Role of Plasmacytoid Dendritic Cells and Interferon-Alpha in the Immunopathogenesis of Psoriasis. *Indian J Dermatol* 2013;58:247.

45.- Vermi W, Vescovi R, Facchetti F. Plasmacytoid Dendritic Cells in Cutaneous Disorders. *Current Dermatology Reports* 2013; 2:1-10.

46.- Li S, Wu J, Zhu S, Liu Y, Chen J . Disease-Associated Plasmacytoid Dendritic Cells. *Immunol* 2017;8:1268

ANEXOS:

Anexo 1:

Consentimiento Informado

Formulario para la recolección de datos

CONSENTIMIENTO INFORMADO:

Buenos días. El acné es una de las enfermedades dermatológicas más frecuentes en la población en general, y es uno de los principales motivos de consulta en la práctica diaria. A pesar de ello, todavía no se conocen los mecanismos por los cuales se produce esta enfermedad. El presente estudio tiene como finalidad evaluar algunos de los factores involucrados en la respuesta inflamatoria del acné de la espalda, y para ello solicitamos su valiosa colaboración al permitirnos la toma de 2 pequeñas biopsias en la espalda, que serán evaluadas mediante estudios de inmunohistoquímica para poder determinar la participación de un varios subtipos de células dendríticas en la respuesta inflamatoria. La identidad de los individuos que participan en este estudio será mantenida en secreto y sólo se usarán los resultados, que podrán ser divulgados individualmente a los participantes y no podrán ser usados con fines económicos, genéticos ni de otra índole investigativa sin la autorización de los participantes. Agradeciendo su valioso aporte para el avance en la investigación en dicho campo, y colaborando de alguna manera en el tratamiento de su patología, se despide:

Atentamente

Dra Lucibel Crespo.

CONSENTIMIENTO INFORMADO MENORES

Mediante la presente, yo _____ titular de la C.I. _____
, representante de _____ C.I. _____ autorizo
a la Dra. Lucibel Crespo C.I. 11313105 a tomar dos biopsias por punch 4mm en la piel de la
espalda de mi representado para ser incluidas en el protocolo de estudio de células dendríticas
en pacientes con acné.

Se me ha explicado la finalidad de dicho estudio y permito la inclusión de la muestra en dicho
trabajo.

Caracas. Fecha:

Médico encargado investigación: _____

Testigo: _____

Testigo: _____

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Mediante la presente, yo _____ titular de la C.I. _____, autorizo a la Dra. Lucibel Crespo C.I. 11313105 a tomar dos biopsias por punch 4mm en la piel de mi espalda para ser incluidas en el protocolo de estudio de células dendríticas en pacientes con acné.

Se me ha explicado la finalidad de dicho estudio y permito la inclusión de mi muestra en dicho trabajo.

Caracas. Fecha:

Médico encargado investigación: _____

Testigo: _____

Testigo: _____

Anexo 2: Copia de certificación por el Comité de Bioética. Instituto de Biomedicina

 **Gobierno Bolivariano de Venezuela** | **Ministerio del Poder Popular para la Salud**   **INSTITUTO de Biomedicina**

San Nicolás a Providencia, Altamira - Apartado 4043, Caracas 1010A, Venezuela
☎ 58-212-8625326 - Fax 58-212-8611258

Caracas, 17 de Marzo de 2008 **Comité de Bioética**
Instituto de Biomedicina

CERTIFICACIÓN ÉTICA

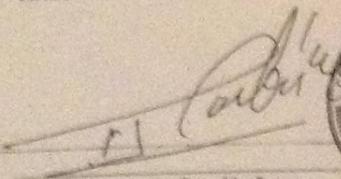
La Dra Lucibel Crespo han hecho entrega ante esta comisión, para su revisión y evaluación, de un proyecto especial de grado para optar al título de **Especialista en Dermatología y Sifitografía titulado: Células Dendríticas en Piel de Pacientes con Acne Inflamatorio de la Espalda**.

La Dra. Crespo presentó un resumen del proyecto al Comité y respondió a algunas preguntas relacionadas fundamentalmente con la metodología, la naturaleza de la data a emplear la conservación y recolección de las muestras, los criterios de inclusión y exclusión de los pacientes con Acne Inflamatorio, el tipo de análisis estadístico a aplicar y el número de pacientes a incluir.

Se hicieron Observaciones referentes al numero de pacientes a incluir y la pertinencia del uso de piel sana como control interno se sugirió la utilización de un test estadístico para datos apareados como T de Student. Se solicitó aclarar el beneficio directo a los pacientes en la hoja de información (tratamiento inicial gratuito) así como la inclusión en el Consentimiento Informado a los pacientes el carácter de participación voluntaria para este estudio.

A todas las preguntas y sugerencias la **Dra. Crespo** respondió satisfactoriamente, por lo que una vez demostrado que la metodología, y data recolectada no representa ningún riesgo para los pacientes que perjudique su salud o condición social moral o económica, y demostrada la validez científica y pertinencia del estudio, los miembros del Comité aprueban la realización de este protocolo en relación a las consideraciones éticas del mismo.

El Comité Ético asume la responsabilidad del seguimiento de la ejecución del Protocolo desde el punto de vista ético. Por cuanto los pacientes son pertenecientes a esta institución. El proponente ha sido avisado de su responsabilidad de informar sobre cualquier cambio en el Protocolo o de cualquier observación durante su ejecución que pudiera tener implicaciones éticas.



Dr. Antonio Rondón Lugo
Coordinador del Comité de Bioética

MS/ms

Anexo 3: Operacionalización de Variables .

Cuantitativas:

1.Densidad de células dendríticas CD1a+, CD207/langerina + , CD209/DC-SIGN+, BDCA2/IL3R- α . Todas expresadas como células / mm²

2.-Edad

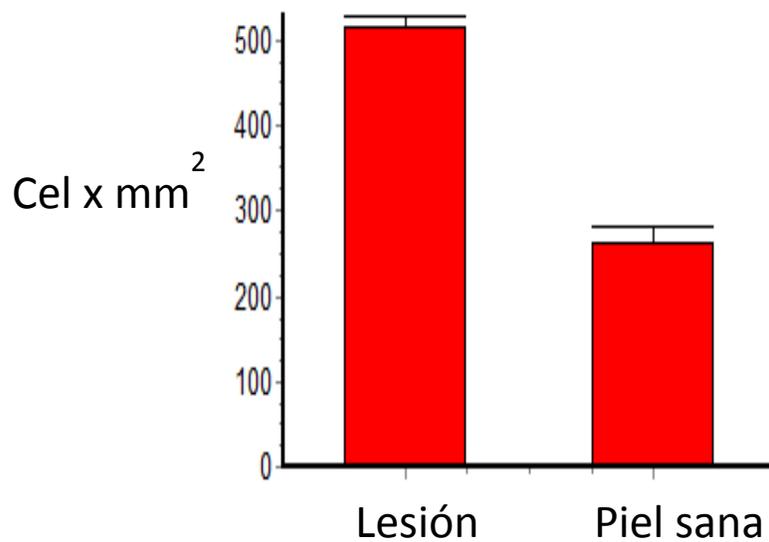
3.-Número de lesiones. Evolución

Cualitativas: sexo, tipo de lesiones.

Anexo 4:

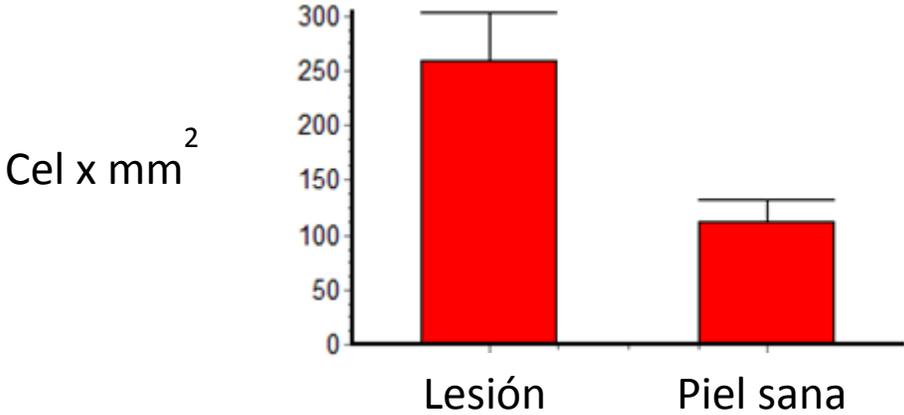
Gráficos: y Figuras

Gráfico 5: Densidad de células CD1a+ en piel lesional y sana de pacientes con acné inflamatorio se la espalda. Instituto de Biomedicina 2008.



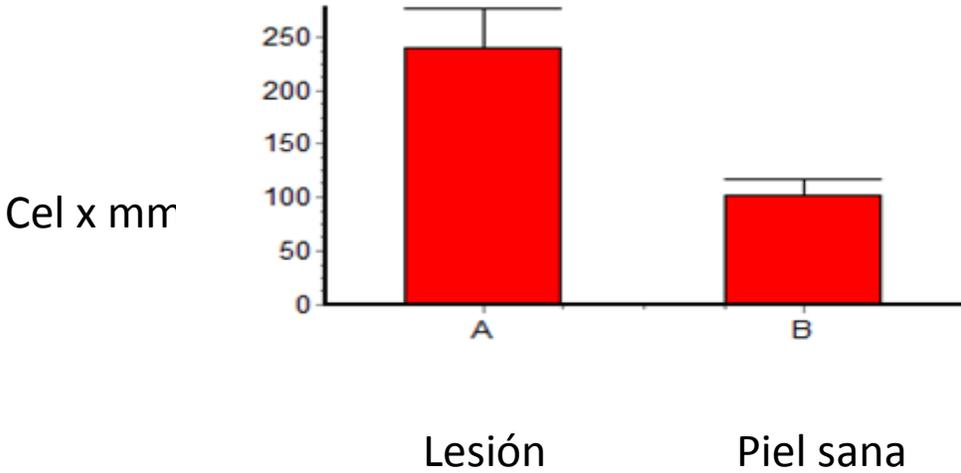
Fte SAIB

Gráfico 6: Densidad de células CD209/DC-SIGN+ (dendrocitos dérmicos) en piel lesional y sana de pacientes con acné inflamatorio se la espalda. Instituto de Biomedicina 2008.



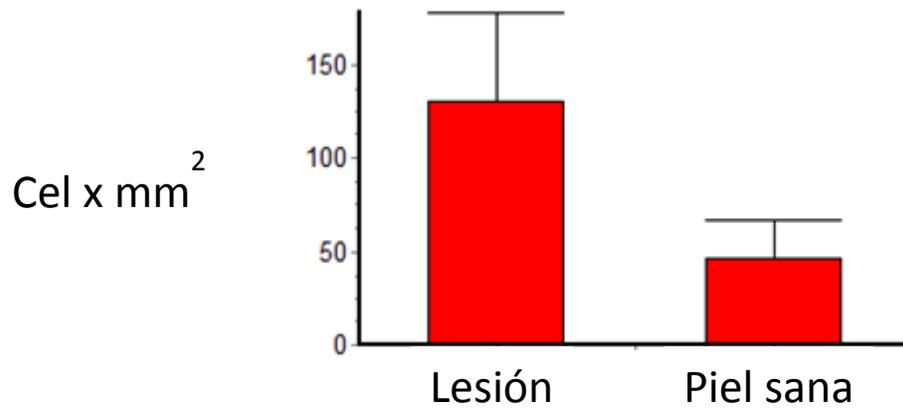
Fte SAIB

Gráfico 7: Densidad de células BDCA-2/IL3R + (plasmocitoides) en piel lesional y sana de pacientes con acné inflamatorio se la espalda. Instituto de Biomedicina 2008.



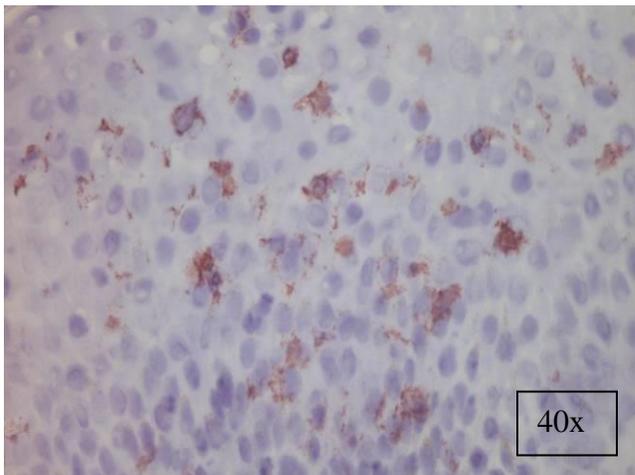
Fte SAIB

Gráfico 8: Densidad de células CD207/langerina + en piel lesional y sana de pacientes con acné inflamatorio se la espalda. Instituto de Biomedicina 2008.



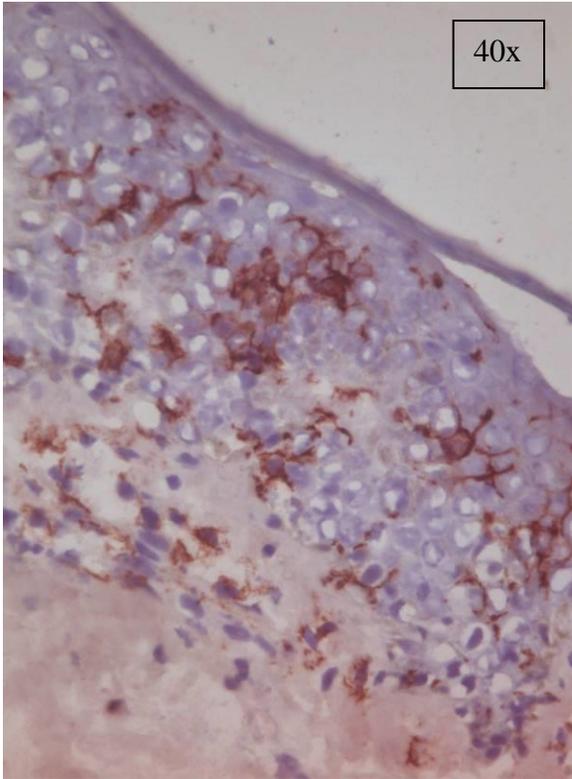
Fte SAIB

Figura 1: Células CD1a+ en piel lesional de pacientes con acné inflamatorio de la espalda por inmunohistoquímica. Instituto de Biomedicina 2008.



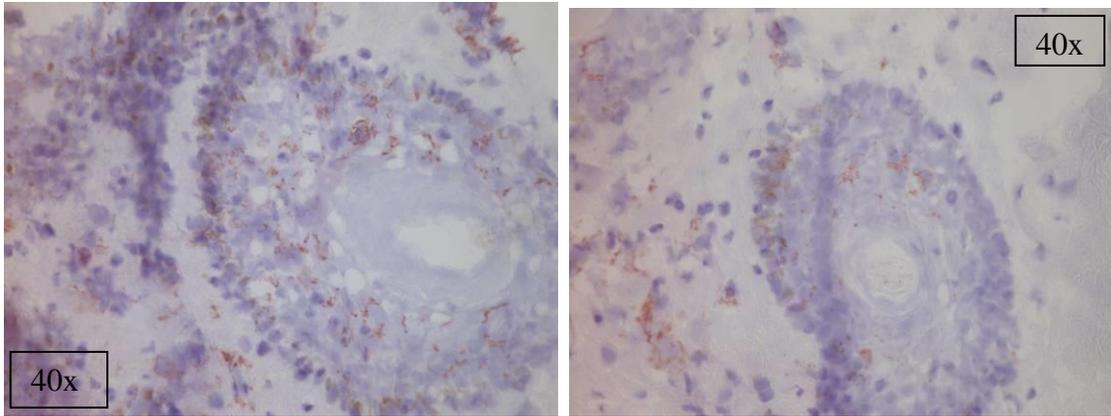
Fte SAIB

Figura 2: Células CD1a+ en piel lesional de pacientes con acné inflamatorio de la espalda por inmunohistoquímica. Instituto de Biomedicina 2008.



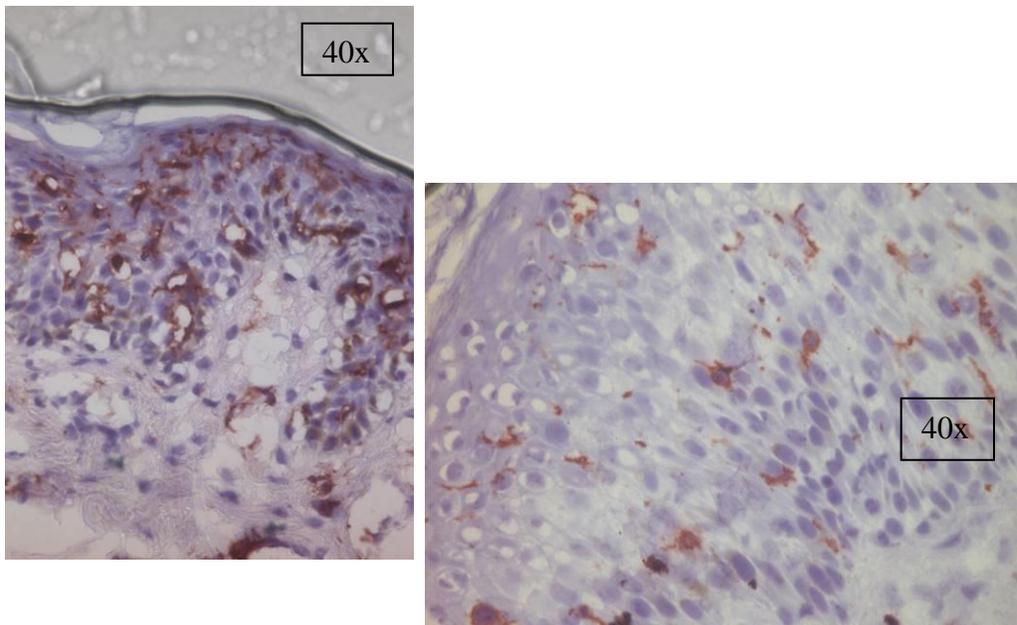
Fte SAIB

Figura 3: Células CD1a+ en piel lesional de pacientes con acné inflamatorio de la espalda por inmunohistoquímica. Las células se distribuyen alrededor del folículo en la zona superficial cerca del área de queratinización. Instituto de Biomedicina 2008.



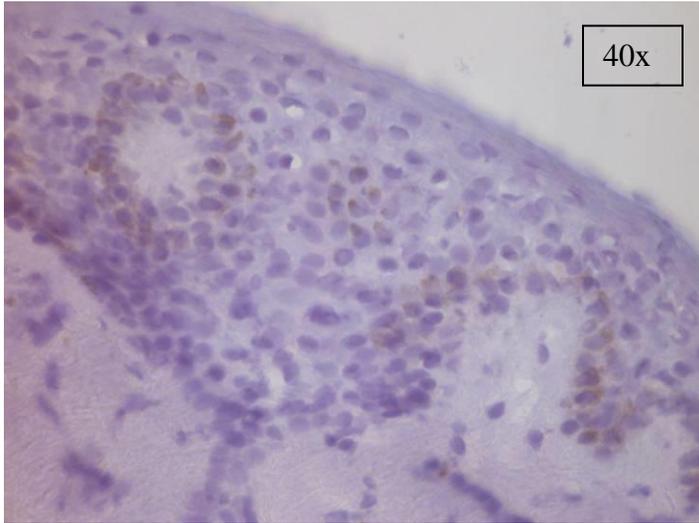
Fte SAIB

Figura 4: Células CD1a+ en piel lesional de pacientes con acné inflamatorio de la espalda por inmunohistoquímica. Instituto de Biomedicina 2008.



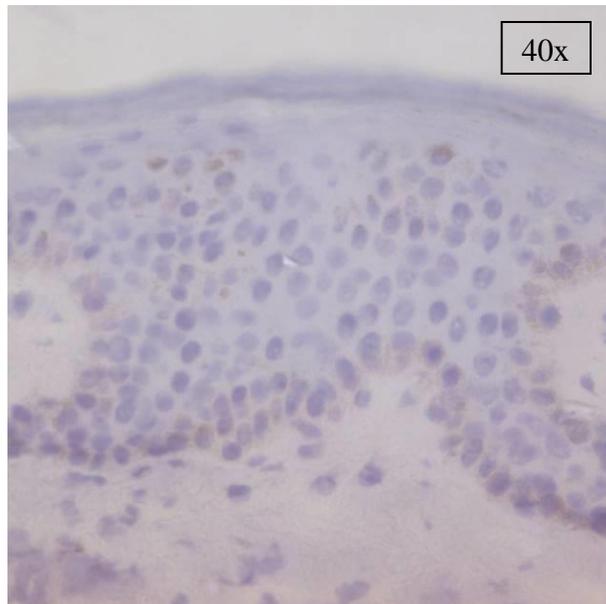
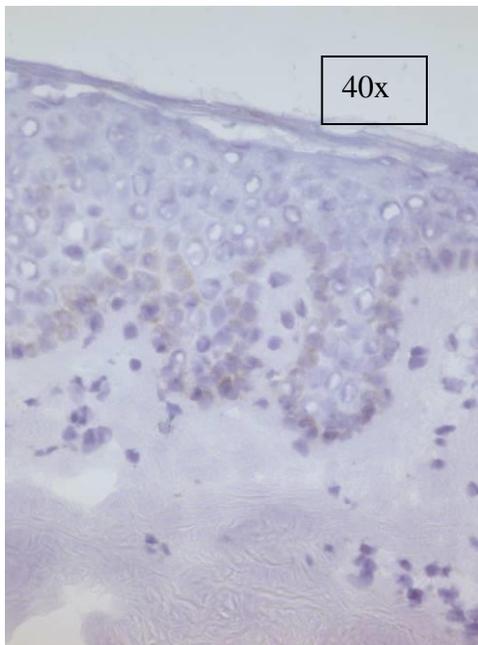
Fte SAIB

Figura 5: Células CD1a+ en piel sana de pacientes con acné inflamatorio de la espalda por inmunohistoquímica. Instituto de Biomedicina 2008.



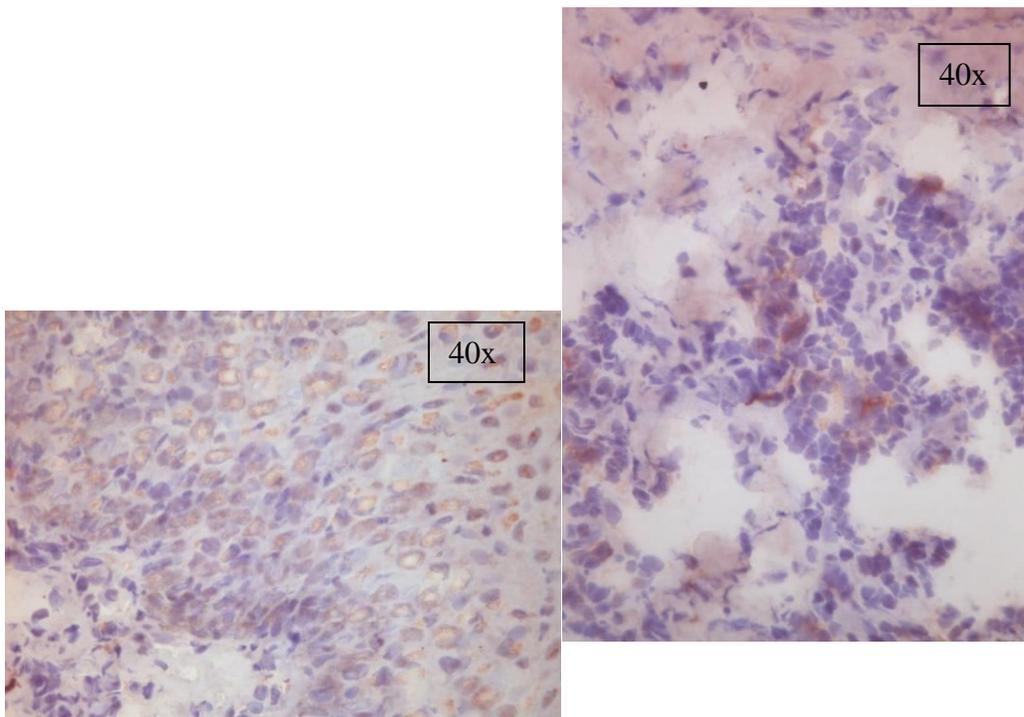
Fte SAIB

Figura 6: Células CD207/langerina + en piel lesional de pacientes con acné inflamatorio de la espalda por inmunohistoquímica. Instituto de Biomedicina 2008.



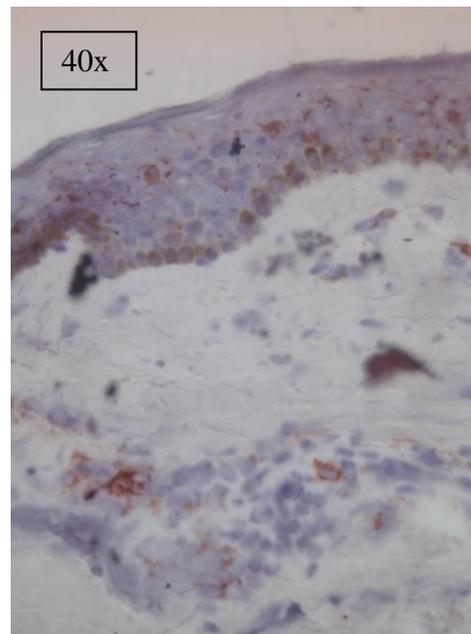
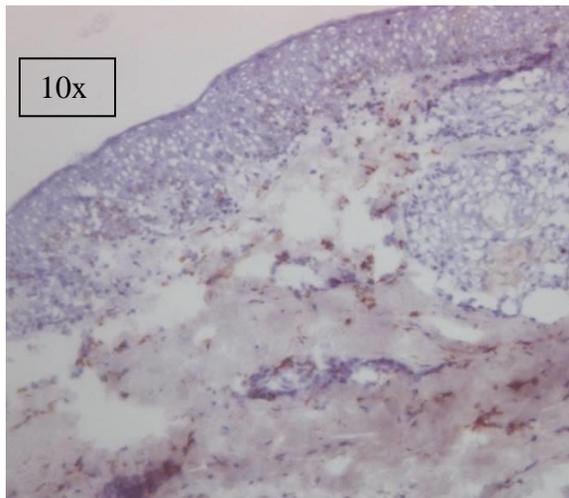
Fte SAIB

Figura 7: Células BDCA2/IL3R + en piel lesional de pacientes con acné inflamatorio de la espalda por inmunohistoquímica. Instituto de Biomedicina 2008.



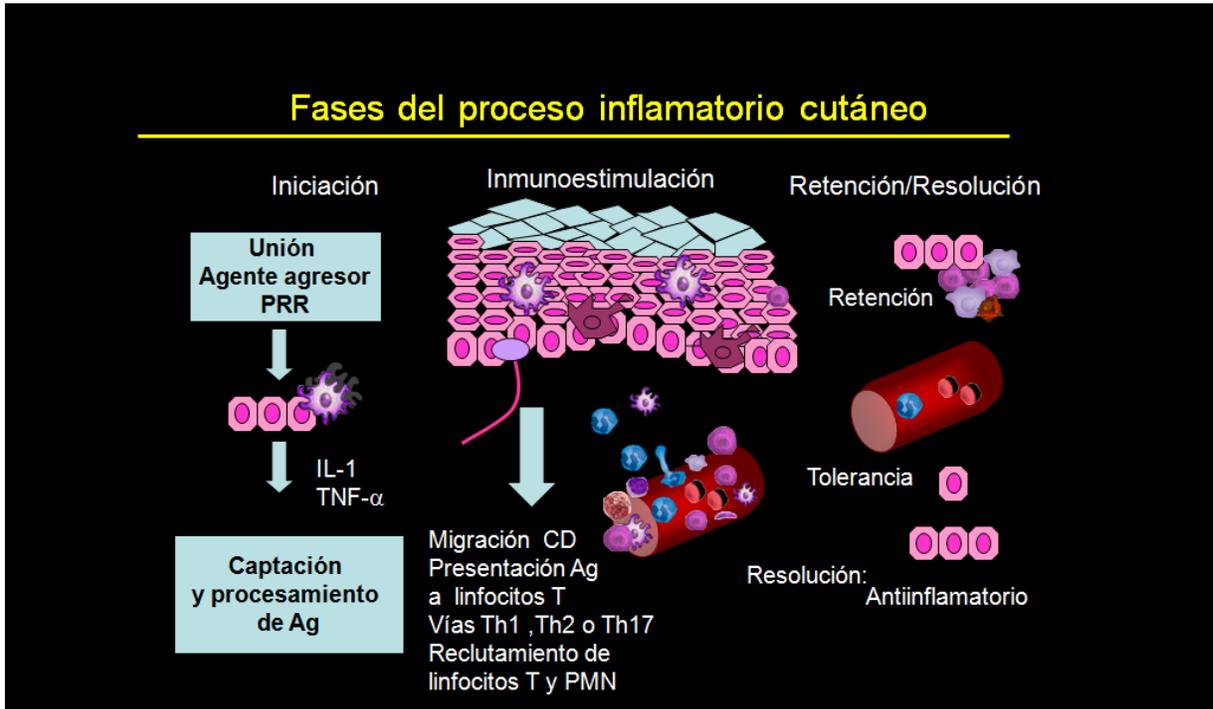
Fte SAIB

Figura 8: Células CD209/DC-SIGN+ (dendrocitos dérmicos) en piel lesional de pacientes con acné inflamatorio de la espalda por inmunohistoquímica. Instituto de Biomedicina 2008.



Fte SAIB

Dibujo n 1 Fases del proceso Inmune inflamatorio cutáneo



Dibujo 2: Papel de los subtipos de células dendríticas en el acné

