

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

Sede Amministrativa: Università degli Studi di Padova

Dipartimento di Pediatria

SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN: MEDICINA DELLO

SVILUPPO E SCIENZE DELLA PROGRAMMAZIONE

INDIRIZZO: MALATTIE RARE

CICLO XX

Eziopatogenesi e terapia dell'acne:

**Studio epidemiologico delle caratteristiche
cliniche di una popolazione di pazienti affetti
da acne e analisi dei polimorfismi del gene
codificante per il recettore degli androgeni e del
gene codificante per il citocromo P-450 1A1**

Direttore: Ch.mo Prof. Giuseppe Basso

Supervisore: Dott.ssa Anna Belloni Fortina

Dottoranda: Dott.ssa Barbara Pigozzi

DATA CONSEGNA TESI

31 gennaio 2008

INDICE

ABBREVIAZIONI	pag. 5
RIASSUNTO	pag. 7
SUMMARY	pag. 13
Capitolo 1 INTRODUZIONE	pag. 17
1.1 Definizione	pag. 17
1.2 Nosologia	pag. 18
1.3 Epidemiologia	pag. 20
1.4 Eziopatogenesi	pag. 22
1.4.1 Fisiopatologia	pag. 22
1.4.2 Fattori genetici predisponenti	pag. 28
1.4.3 Fattori ambientali scatenanti	pag. 30
1.4.4 Fattori voluttuari	pag. 30
1.4.5 Fattori scatenanti endogeni	pag. 30
1.4.6 Dieta e acne	pag. 31
1.5 Clinica	pag. 33
1.5.1 Acne comedonica	pag. 37
1.5.2 Acne papulo-pustolosa	pag. 37
1.5.3 Acne nodulo-cistica	pag. 38
1.5.4 Acne conglobata	pag. 38
1.5.5 Acne late-onset	pag. 38
1.6 Grading	pag. 39
1.6.1 Acne lesion counting technique	pag. 39
1.6.2 Cunliffe score (Leeds technique)	pag. 39
1.6.3 Global Acne Grading System	pag. 40
1.6.4 Global Evaluation Scale	pag. 41
1.7 Terapia	pag. 41
1.7.1 Terapia topica	pag. 43
1.7.2 Terapia sistemica	pag. 44

1.7.3 Dermocosmetologia	pag. 50
Capitolo 2 SCOPO DELLO STUDIO	pag. 51
Capitolo 3 MATERIALI E METODI	pag. 53
3.1 Popolazione	pag. 53
3.2 Raccolta dati	pag. 53
3.3 Definizione del Grading di malattia	pag. 54
3.4 Analisi polimorfismi	pag. 55
3.4.1 Polimorfismo del gene per il recettore degli androgeni	pag. 55
3.4.2 Polimorfismo del gene per il citocromo P450 1A1	pag. 56
3.5 Analisi statistica	pag. 57
Capitolo 4 RISULTATI	pag. 59
4.1 Caratteristiche popolazione	pag. 59
4.2 Grading di severità	pag. 60
4.2.1 Al tempo 0 – I visita	pag. 60
4.2.2 A 3 mesi di follow-up	pag. 61
4.2.3 A 6 mesi di follow-up	pag. 63
4.2.4 A 12 mesi di follow-up	pag. 64
4.3 Validazione sistemi di grading	pag. 67
4.4 Relazioni tra le variabili in studio	pag. 67
4.5 Valutazione terapia	pag. 70
4.6 Analisi polimorfismi	pag. 71
4.6.1 Polimorfismo del gene per il recettore degli androgeni	pag. 71
4.6.2 Polimorfismo del gene per il cit P450 1A1	pag. 72
Capitolo 5 DISCUSSIONE	pag. 75
5.1 Analisi clinico-epidemiologica	pag. 75
5.2 Analisi polimorfismi	pag. 81
5.3 Conclusioni	pag. 83
BIBLIOGRAFIA	pag.95

ABBREVIAZIONI

BMI = body mass index

CYP-450 1A1 = citocromo P-450 isoenzima 1A1

CYP1A1 = gene codificante per l'isoenzima1A1 del citocromo P-450

DHEA = deidroepiandrosterone

DHEAS = deidroepiandrosterone solfato

DHT = diidrotosterone

F = femmine

GAGS = Global Acne Grading System

GES = Global Evaluation Scale

GS = Global score

M = maschi

Max = massimo

Min = minimo

PCR = polymerase chain reaction

RFLP = restriction fragment length polymorphism

RIASSUNTO

Introduzione

L'acne volgare è una malattia multifattoriale che colpisce il follicolo pilo-sebaceo, caratterizzata clinicamente dalla formazione di comedoni, papule, pustole e meno frequentemente da noduli e pseudocisti e, in alcuni casi, determina esiti cicatriziali. Sedi cutanee coinvolte sono le aree con maggiore concentrazione di ghiandole sebacee, soprattutto volto, regione scapolare e regione sternale. L'acne è la malattia cutanea più comune, ma non solo, è la condizione patologica con la più alta incidenza cumulativa nella popolazione generale.

La cheratinizzazione dell'infundibolo follicolare, la seborrea e la colonizzazione dell'unità pilo-sebacea da parte del *Propionibacterium acnes* con possibile conseguente risposta infiammatoria sembrano giocare un ruolo centrale nella patogenesi dell'acne. Alcuni studi hanno documentato come fattori genetici possano influenzare la suscettibilità all'acne, ma non è ancora chiaro il ruolo della familiarità nel determinismo della severità dell'acne e della risposta ai vari approcci terapeutici.

Condizione necessaria per lo sviluppo di acne è la presenza di ghiandole sebacee attivamente funzionanti sotto lo stimolo ormonale androgeno. L'azione degli androgeni a livello cellulare è mediata dal recettore per gli androgeni. Essenziale per l'attività trascrizionale di questo recettore è il dominio amino-terminale, il quale contiene una regione poliglutaminica codificata da ripetuti trinucleotidi CAG, il cui numero è polimorfo. Recentemente alcuni studi hanno dimostrato l'associazione di tali polimorfismi con acne e altre patologie "androgeno-dipendenti" come l'alopecia androgenetica e il cancro prostatico. In questi studi è stato dimostrato che il numero di CAG ripetuti è inversamente proporzionale all'attività del recettore androgenetico.

Altri studi di genetica hanno evidenziato la presenza nei pazienti acneici di un'alta frequenza di mutazioni a livello della regione regolatoria del gene codificante per il citocromo P-450 1A1, che è coinvolto nel metabolismo dei retinoidi naturali e sintetici. I retinoidi naturali sono coinvolti nel differenziamento dei sebociti e nel processo di cheratinizzazione del follicolo pilo-sebaceo e quindi possono avere un ruolo

nell'eziopatogenesi dell'acne. In particolare in uno studio recente è stata segnalata in pazienti acneici la transizione da timina a citosina in posizione 6235 del gene per il citocromo P-450 1A1.

Ancora molto resta da fare per capire l'eziopatogenesi dell'acne.

Un'altra problematica legata all'acne è la mancanza di un sistema di grading di severità universalmente accettato. I sistemi di grading attualmente più diffusi sono sicuramente validi, ma presentano alcuni limiti, per cui sarebbe necessario avere un nuovo sistema efficace e al tempo stesso semplice e utilizzabile anche nella comune pratica ambulatoriale.

Scopo dello studio

Lo scopo del nostro studio è di analizzare le caratteristiche cliniche, epidemiologiche di una popolazione di pazienti affetti da acne per verificarne il tipo di correlazione e loro peso relativo nella patogenesi e determinismo del tipo e della severità dell'acne. Secondo obiettivo è la validazione di un sistema di grading di severità di malattia accurato, riproducibile e al tempo stesso di facile applicabilità nella comune pratica ambulatoriale, facendo riferimento ai sistemi di grading attualmente più utilizzati. Terzo obiettivo è l'analisi della distribuzione dei polimorfismi sopra descritti del gene del recettore degli androgeni e del gene del citocromo P450 1A1 nella popolazione in studio, al fine di individuarne una possibile associazione con l'acne volgare in senso generico o con un particolare subset di tale patologia, individuato in base ai vari dati epidemiologici e anamnestici raccolti ed analizzati.

Materiali e Metodi

Studio prospettico con arruolamento dei pazienti afferenti all'ambulatorio acne del Servizio di Dermatologia Pediatrica del Dipartimento di Pediatria e all'ambulatorio acne della Clinica Dermatologica dell'Università di Padova, da Gennaio 2005 a Ottobre 2007, affetti da acne volgare di vario grado, da lieve a severa, previo consenso informato.

Per ognuno di tali pazienti è stata compilata una scheda epidemiologica-anamnestica-clinica contenente i seguenti dati:

- età
- sesso
- familiarità
- menarca e caratteri del ciclo mestruale
- associazione con altre malattie androgeno-sensibili
- altezza, peso, body mass index (BMI)
- archivio digitale delle foto delle lesioni
- eventuale dosaggio di una serie di ormoni plasmatici e per i soggetti di sesso femminile presenza/assenza di policistosi ovarica sulla base di ecografia ovarica
- esame obiettivo delle lesioni e *grading* della malattia
- terapie effettuate, risposta ad esse ed eventuali effetti collaterali riscontrati,

Per stabilire il grado di severità della malattia sono stati utilizzati il sistema fotografico di Burke et al. (Leeds technique), il Global Acne Grading System (GAGS), proposto da Doshi et al. e la Global Evaluation Scale proposta dalla FDA per la valutazione obiettiva di trials terapeutici. E' stato poi messo a punto un ulteriore sistema di *grading*, modificando il GAGS in primo luogo in modo da rapportare lo score globale ottenuto con quest'ultimo sistema al numero di aree coinvolte, affinché un paziente con lesioni minime, ma diffuse in varie sedi, non risulti avere uno score più severo di un paziente con lesioni gravi confinate in una o poche sedi. In secondo luogo si è ipotizzato un analogo sistema di *grading* differenziato, però, per il tronco e per il viso, per un più accurato confronto con la tecnica di Leeds.

L'analisi epidemiologica e lo studio delle correlazioni tra le variabili considerate sono state effettuate tramite il software per analisi statistica SPSS, utilizzando i test statistici t-student, Pearson e Rho di Spearman, considerando statisticamente significativa una $p < 0.05$.

A tutti i pazienti che hanno dato il loro consenso per lo studio dei polimorfismi genici sono stati prelevati circa 5 ml di sangue periferico in provetta con EDTA e da questo è

stato estratto il DNA mediante procedure standard, per l'analisi dei polimorfismi. Una volta estratto il DNA, la regione del gene per il recettore degli androgeni contenente i trinucleotidi CAG ripetuti è stata amplificata mediante reazione polimerasica a catena (PCR) e i prodotti di PCR sono poi stati sequenziati per verificare direttamente il numero di triplette CAG ripetute che presenta.

Per lo studio del polimorfismo del gene per il citocromo P-450 1A1 abbiamo utilizzato la reazione polimerasica a catena (PCR) ed analisi di restrizione (RFLP) utilizzando l'enzima *MspI*. Dopo digestione con l'enzima di restrizione *MspI* il frammento che contiene in posizione 6235 l'allele C viene diviso in due frammenti di 206 e 129 bp, mentre il frammento contenente l'allele T in posizione 6235 non viene diviso.

Le medesime analisi sono state condotte anche in un gruppo di soggetti di controllo che non siano mai stati affetti da acne. I dati epidemiologici e genotipici ottenuti, sono poi stati tra loro correlati e le frequenze alleliche dei pazienti e dei controlli confrontate secondo il test χ^2 .

Risultati e Conclusioni

Sono stati arruolati 210 pazienti, 122 femmine e 88 maschi, di età compresa tra 10 e 39 anni, affetti da acne di grado da lieve a severo.

Dall'analisi di tutte le variabili in studio, le evidenze più significative che si sono riscontrate, sono state le seguenti.

Le femmine hanno un'età di insorgenza tendenzialmente inferiore rispetto ai maschi. La familiarità e quindi dei fattori ereditari, giocano sicuramente un ruolo importante nel determinismo della acne giovanile. Inoltre anche se non vi è una correlazione con il grado di severità della malattia, la familiarità in particolare per entrambi i genitori, potrebbe incidere sulla "durata" della malattia.

L'acne late-onset presenta delle peculiarità che la differenziano dall'acne giovanile e che sottintendono perciò dei fattori eziopatogenetici diversi: è pressoché appannaggio solo delle femmine, la familiarità non ha una rilevanza significativa.

Gli ormoni maschili (considerando le differenze di espressione clinica della malattia nei due sessi) giocano un ruolo importante nel grado di severità della malattia, soprattutto per particolari aree corporee.

Per quanto riguarda le femmine l'acne nella maggior parte dei casi insorge dopo il menarca e nei casi in cui l'esordio è prima del menarca, questo può rappresentare un fattore prognostico negativo per la severità di coinvolgimento del tronco.

Risulta utile avere un sistema di grading che dia uno score di severità separato per il volto e per il tronco. Il GAGS differenziato, da noi messo a punto, ha dimostrato una significativa correlazione con la tecnica di Leeds.

Per quanto riguarda lo studio dei 2 fattori genetici presi in esame, in base all'analisi preliminare (considerato il piccolo numero di pazienti studiati) da noi condotta, il polimorfismo che sembra avere presumibilmente una rilevanza maggiore nella storia naturale dell'acne, è quello del gene del CYP450 1A1.

Per chiarire il ruolo comunque di quest'ultimo fattore sono comunque necessari ulteriori studi, condotti su una popolazione più ampia di soggetti.

SUMMARY

Background

Acne vulgaris is a chronic inflammatory disease of the pilosebaceous follicles, which are located on the face, neck, chest, upper back, and upper arms. It is a pleomorphic disorders with multifactorial pathogenesis. Typically, lesions range from open and closed comedones to inflammatory papules, pustules, cysts, nodules and scarring may result.

Acne vulgaris is the most common skin disorders.

The pathogenesis of acne centers on the interaction of sebaceous hyperplasia, follicular hyperkeratinization, proliferation of *Propionibacterium acnes*, inflammation and immune reaction. But the aetiology is already understand and the evolution, severity and response to treatment are subject to variations. Some studies have shown the importance of genetic factors in the pathogenesis of acne, but the role of heredity on acne severity and response to treatment remains unclear.

The role of androgens is well established and their action is mediated by the androgen receptor. The amino-terminal domain of this receptor, is required for transcriptional activation and contains a region of polyglutamine encoded by CAG trinucleotide repeats. In humans, the number of CAG repeats is polymorphic.

Recently some studies have shown an association between this polymorphism and acne and other androgens influence diseases, such as androgenetic alopecia, prostate cancer.

Other genetic studies have shown a relationship between polymorphisms in the Human cytochrome P-450 1A1 gene (CYP1A1) and acne. The cytochrome P-450 1A1 is one of the most active enzymes involved in retinoids metabolism. Retinoids are morphogenic for the sebaceous gland. In a recent study it has been signalled in acne patients a high frequency of the thymine-to-cytosine (T-to-C) transition situated at position 6235 creating an additional cleavage site for *MspI*.

In order to improve the treatment of patients, prognostic factors of acne severity and evolution must be studied.

Systematic assessment of the severity of acne continues to challenge the clinician. Acne is a pleomorphic disorder of variable course and anatomical distribution. For these reasons, no system has been accepted universally.

Aim

The aim of our study was to analyze some clinic and epidemiologic features of patients affected by acne vulgaris to try to understand what role they can play in the pathogenesis of acne and if they can be prognostic factors of acne severity.

Second goal is validation of a grading system of severity, which features are accuracy and reproducibility and that can be used also by practicing clinicians.

Third purpose of this study is to test for an association between acne and acne severity, and CAG repeat length in the androgen receptor gene, and CYP1A1 polymorphism.

Patients and Methods

A descriptive, prospective epidemiological study was conducted from January 2005 to October 2007 . It concerned patients with acne referred to Pediatrics Department and Dermatology Department for treatment of acne. We included patients with mild, moderate or severe acne. Epidemiological and clinical data, such as sex, age, age at onset, prepubertal or not, menarche age, family history of acne (father, mother, both parents, brother or others), body mass index, concomitant diseases (focusing on endocrine conditions), extension of lesion at onset, type and extension of lesions, grading of severity, therapy were collected in a data base.

The severity of acne was recorded using Global Acne Grading System (GAGS), (Doshi et al.), Leeds technique (Cunliffe score), Global Evaluation Scale (GES) at first visit and, for some patients, at 3, 6, 12 months.

We developed another grading system (“differentiated GAGS”), modifying GAGS in order to obtain a score for the face and a score for the trunk.

Epidemiologic analysis was made using t-student, Pearson e Rho di Spearman tests by software SPSS.

The polymorphisms were studied with the use of polymerase chain reaction and sequencing for the androgen receptor gene, and restriction fragment length polymorphism for CYP1A1.

Comparisons of allele and haplotype frequencies between cases and controls were analyzed by χ^2 -tests.

Results and conclusion

210 patients, 122 females and 88 males, aged 10-39 years, affected by mild to severe acne, were included in this study. Female showed a earlier onset compared to males. We found a role of hereditary factors. Presenting both parents affected by acne did not correlated with severity of the disease but seems with its duration.

Late onset acne appears to be different and to be caused by dissimilar pathogenetic mechanisms. It's almost exclusive of female subjects and it's not correlated with hereditary factors.

Male hormones are responsible of acne manifestation especially in particular body areas.

Female subjects usually develop acne after menarche. Patients developing acne before menarche are prone to more severe truncal involvement.

For many reasons it's important to have a separate severity index for face and trunk. We developed the "Differentiated GAGS" scoring index, that significantly correlated with the Cunliffe score index obtained with the Leeds technique. Concerning the analysis of the two genetic factors in our study population, we found a promising role of CYP450 1A1 polymorphisms. Further studies are required to clarify the role of these genetic factors in the pathogenesis of acne.

Capitolo 1

INTRODUZIONE

1.1 Definizione - Generalità

L'acne volgare è una patologia infiammatoria cronica dell'unità pilosebacea a patogenesi multifattoriale, che insorge abitualmente, ma non esclusivamente, nell'adolescenza e si caratterizza per la formazione di comedoni che possono associarsi ad altre lesioni infiammatorie, quali papule, pustole, noduli, che possono presentare un esito cicatriziale. Nella maggioranza dei casi tale dermatosi tende a risolvere spontaneamente.

Molti medici o gli stessi parenti del paziente acneico, spesso sottovalutano l'acne, considerandolo erroneamente un mero disturbo estetico, limitato al solo periodo dell'adolescenza. In realtà deve essere considerata una malattia a tutti gli effetti, gravata inoltre, da un grosso impatto psicologico per le particolari sedi cutanee coinvolte e la fascia di età interessata. L'acne colpisce infatti, soggetti in una fase critica della vita, quale quella dell'adolescenza, contraddistinta dal punto di vista psicologico da una maggiore sensibilità e vulnerabilità. Gli adolescenti affetti da acne possono quindi, presentare disagio psicologico, scarsa autostima, insicurezza, imbarazzo, timidezza ed, in casi estremi, profonde turbe emozionali, quali depressione, ansia, rabbia, frustrazione, immagine alterata del proprio corpo (dismorfofobia) ed isolamento dalla vita sociale, con calo del rendimento scolastico e peggioramento della qualità della vita. Tali problematiche in genere si riscontrano nelle forme più gravi di acne, ma in realtà bisogna tenere presente che la percezione che il paziente ha della gravità della propria malattia può non coincidere con la reale severità delle lesioni.

L'acne è stata per molto tempo poco considerata anche per quanto riguarda la ricerca, dagli stessi dermatologi, in realtà a tutt'oggi rappresenta ancora una sfida per i dermatologi per la sua prevalenza, complessità, polimorfismo di espressione clinica.

1.2 Nosologia

L'acne comincia la sua storia circa 2000 anni fa.

E' interessante notare come i primi autori hanno descritto l'acne, come una dermatopatia pleiomorfa e prevalentemente, come malattia infiammatoria, legata in qualche modo alla seborrea. L'ipotesi che vede l'acne come principalmente malattia infiammatoria, è l'indirizzo verso cui più si stanno ora muovendo i ricercatori, dopo varie altre ipotesi e teorie.

Gli autori che nel corso dei secoli hanno descritto in modo così mirabile i vari quadri clinici dell'acne erano medici, religiosi, filosofi, dotti, talvolta pittori ed artisti. Gli autori antichi, con gli scritti e le opere pittoriche, hanno mostrato, con grande attenzione e perizia, le diverse fasi evolutive dell'acne polimorfa. Queste descrizioni, anche con le più svariate terminologie che si sono susseguite nel tempo, possono aiutarci, ancora oggi, a comprendere alcuni aspetti di questa complessa affezione.

1.2.1 I primi autori

Ippocrate (460 a.C.) definiva la patologia a noi nota come acne, con il nome di *ιοιθοζ*, che indicava anche la lanugine o comunque i primi peli terminali della barba caratteristici della pubertà. Celso nel primo secolo D.C. nel "*De vitis singularum corporis partium*", fu uno dei primi a parlare di acne chiamandola "*steatmate*" ("*De meliceride et atheromate et steatmate*"), facendo intuire che già avevano capito che nella patogenesi dell'acne era coinvolto un disturbo della ghiandola sebacea.

Nel mondo latino veniva utilizzato il vocabolo *varus* (plurale *vari*) che indicava genericamente la presenza di pustole.

Aetius di Amida (una piccola città della Mesopotamia), medico dell'imperatore Giustiniano, nel 500 utilizza il termine "*ionthi*", da *ιοιθοι* e introduce nel linguaggio medico il vocabolo "*acne*" da *ακνη*, "*De varis faciei qui tum Ionthi, tum Acne Graecia vocantur*".

Nel 1610 Riolano in "*De deformitatibus*" descrive "*De varis seu ionthois*" e "*De facie flammea ficis conspurcata quibus infecti vulgo ficosi (Gallis copperose)*".

Farnelius nel 1656 nel *“De Partium Morbi et symptomatis pathologiae”* parla di acne come *“Ardentes pustulae e rubor faciei”*, confermando il fatto che gli antichi autori privilegiassero la componente infiammatoria dell’acne.

La parola acne trova la sua completa ufficializzazione nel trattato di R.A. Willam *On cutaneous diseases* nel 1808.

Thomas Bateman, allievo e collega di Willam, nel 1813 distingue i diversi quadri clinici di acne in: simplex, punctata, indurata, e rosacea che considera come una varietà a sé stante collegata ad alterazioni delle funzioni gastro-enteriche.

Bazin nel 1862 nel suo *“De l’acné...”*, scrive *“...est caractérisée par une lésion des glandes sébacées..”*.

Nel 1867 Erasmus Wilson usa con autorevolezza il termine di acne volgare, per indicare la forma di acne più comune e parla di: secrezione sebacea anormale = stearrhoea, ritenzione della secrezione con formazione di comedoni, ritenzione della secrezione con infiammazione, acne puntata, pustolosa, tuberculata, indurata. E. Wilson aveva quindi intuito che nella fisiopatologia dell’acne *primum movens* poteva essere l’ipercheratosi con la sequela dei noti eventi infiammatori.

L.A. Duhring nel 1877 nel suo *Trattato sulle malattie della pelle* formula la più completa definizione dell’acne: *“...un’affezione infiammatoria della ghiandola sebacea abitualmente cronica, non contagiosa, caratterizzata dal formarsi di papule, noduli e pustole che si sviluppano con maggiore frequenza al volto...”*.

1.2.2 Etimologia

Le parole chiave sono *varus*, *ionthos*, *acne* e *stearrhoea*.

Le parole *varus* e *ionthos* sono già presenti negli scritti degli Autori più antichi, mentre la parola *acne* compare ufficialmente solo nel sesto secolo negli scritti di Aetius, per poi perdersi e la si vede ricomparire all’inizio dell’800 nelle opere di Willam e Bateman.

Il termine *ionthos* deriva dal greco *“ιονθοζ”*, che significa primariamente la radice del pelo, ed in un secondo tempo era applicato al pelo sottile e lanuginoso e veniva

impiegato per definire le lesioni acneiche perché esordiscono e sviluppano alla pubertà, periodo di prima crescita della peluria.

Il vocabolo *varus* deriva dal latino *varus* disteso – stirato verso l'esterno – irregolare, si riferisce alle deformità (irregolarità), prodotte dalle lesioni di acne simplex ed indurata “*quia varum corpus facit et inaequale*” (Celsus). Secondo altri la parola *varus* deriverebbe dall'aggettivo *varius* che significa anche screziato, chiazzato, picchiettato, maculato. Tutti questi aggettivi richiamano in modo suggestivo l'aspetto del volto e del tronco nei pazienti con acne.

Il termine *acne* deriva dal greco “*ακνη*” che significa efflorescenza, “fioritura della vita”, periodo di massimo sviluppo, a sottolineare non tanto la morfologia delle lesioni cutanee, quanto la peculiare età di insorgenza.

Infine il termine *stearrhoea*, usato dagli antichi Autori greci, deriva dal greco *στέαρ* (sebo) e la parola *seborrea* deriverebbe dal latino *sebum* (grasso) e dal greco *ρρειν* (scorrere), ad indicare un flusso anomalo di materiale sebaceo.

1.3 Epidemiologia

E' la malattia cutanea più comune. Non solo: è la condizione patologica con la più alta incidenza cumulativa nella popolazione generale. L'incidenza di tale patologia varia a seconda dei lavori pubblicati in base alla popolazione analizzata (età, differenze razziali) e ai metodi di valutazione.

Secondo alcuni autori, l'incidenza sarebbe del 91% nei maschi e del 79% nelle femmine durante l'adolescenza, del 3% nei maschi e del 12% nelle femmine, in età adulta (1); altri autori riportano invece un'incidenza del 55% nei maschi e del 45% nelle femmine tra i 14 ed i 16 anni (2); altri lavori ancora riportano un'incidenza del 29% nei ragazzi e del 16% nelle ragazze di età compresa tra i 16 ed i 20 anni (3). Ancora White riporta un'incidenza pari a 85% degli adolescenti maschi, 80% adolescenti femmine; 8% tra 25-34 anni e 3% tra i 35-44 anni di età (4).

Sembra che in termini di incidenza non vi siano differenze razziali. Tuttavia sembra ci siano invece differenze significative nell'evoluzione delle lesioni e nelle sequele a lungo termine, in particolare tra popolazioni bianche e nere. Quest'ultime infatti presentano un maggior rischio di forme infiammatorie più gravi ed esiti pigmentari e cicatriziali a lungo termine.

Nel complesso dai vari studi si possono trarre le seguenti conclusioni:

- Esiste una stretta correlazione tra acne e pubertà con una prevalenza negli adolescenti pari al 70-87% (se si considerano le forme di acne non comedonica); il picco di massima incidenza della malattia è più precoce nelle femmine (intorno ai 17-18 anni) che nei maschi (19-21 anni);
- l'acne compare nei maschi (12-13 anni) qualche anno più tardi che nelle femmine (11 anni);
- è dimostrabile un progressivo aumento della prevalenza dell'acne dai 10 ai 18 anni;
- è generalmente dimostrabile una tendenza alla risoluzione dopo i 20 anni;
- negli adulti di età superiore ai 25 anni la prevalenza della malattia di una certa rilevanza clinica è del 12% nelle femmine e del 3% nei maschi; nel 7% dei pazienti l'acne persiste fino alla terza e quarta decade;
- l'acne nodulo-cistica presenta una netta prevalenza maschile (2,43% verso le femmine in cui ha una prevalenza dello 0,3%). La classe di età più frequentemente colpita nei maschi sarebbe quella dai 25 ai 34 anni. Ricerche su lunghi periodi di osservazione sembrerebbero indicare negli ultimi anni una riduzione delle forme di acne più gravi, probabilmente per la tendenza al trattamento nelle fasi più precoci della malattia;
- l'acne è frequentemente associata ad un'anamnesi familiare positiva (in circa il 40% dei soggetti) nei parenti di I grado;
- sono state documentate alcune differenze razziali, in particolare i soggetti caucasici sono più frequentemente colpiti da forme severe di acne dei neri ed entrambi presentano forme più gravi rispetto ai giapponesi.

Ancora sconosciuti sono i fattori di rischio associati alle forme più severe di acne e alla persistenza della malattia nell'adulto. Gli unici studi epidemiologici di una certa importanza hanno esaminato solo il fumo di sigaretta e hanno presentato risultati contrastanti (Mills et al. 1993; Schafer et al. 2001) (5,6). Il ruolo di altri fattori, come stress psico-fisico, dieta, igiene personale, non è ancora stato precisato da ricerche epidemiologiche attendibili.

1.4 Eziopatogenesi

(Vedi Schema 1).

1.4.1 Fisiopatologia

L'acne è una malattia geneticamente determinata, scatenata da una molteplicità di agenti eziologici che determinano le lesioni (specialmente quelle infiammatorie) attraverso la mediazione di numerosi meccanismi patogenetici. Quindi è un processo a patogenesi multifattoriale, in cui da un punto di vista fisiopatologico, si riconoscono 4 momenti eziopatogenetici fondamentali, noti da tempo:

1. disturbo di cheratinizzazione dell'epitelio follicolare caratterizzato da iperproliferazione dei cheratinociti dell'infrainfundibulo, evidenziata tramite studi di immunostochimica, utilizzando anticorpi monoclonali verso il marker nucleare Ki-67, espresso dalle cellule in replicazione, risultato espresso nei cheratinociti basali e soprabasali di microcomedoni e comedoni (7,8) e aumento della coesione cellulare e quindi mancata desquamazione dei corneociti (9) con conseguente ostruzione follicolare e formazione di microcomedoni o comedogenesi, processo che si verifica solo nei follicoli sebacei e non in quelli terminali o velli, per cause non ancora note;
2. iperseborrea da aumentata attività delle ghiandole sebacee. La produzione di sebo a livello delle ghiandole sebacee è controllata dagli ormoni androgeni. Tali ghiandole iniziano ad aumentare di volume, sotto lo stimolo androgenico,

approssimativamente all'età di 7-8 anni, con conseguente incremento della produzione di sebo. Infatti a conferma di questo, lo sviluppo di acne nel periodo prepuberale è strettamente associato ad innalzamento dei livelli sierici di deidroepiandrosterone solfato (DHEAS), precursore del testosterone (10,11); in secondo luogo i pazienti affetti da deficit di recettori per gli androgeni non sviluppano l'acne (12); infine l'iperplasia e il carcinoma dell'ovaio o del surrene, che comportano un eccesso di androgeni, sono spesso associati allo sviluppo dell'acne. A livello dell'unità pilo-sebacea è stata riscontrata la presenza di recettori androgenici in corrispondenza della papilla, della guaina epiteliale esterna ed interna e dei sebociti. Gli ormoni coinvolti nella regolazione dell'attività sebacea includono, in ordine crescente di potenza, il deidroepiandrosterone (DHEA), l'androstenedione, il testosterone ed il diidrotosterone (DHT) (13,14). Tali ormoni sono sintetizzati in parte a livello dei testicoli, come il testosterone (principale androgeno circolante) e l'androstenediolo ed in parte, a livello delle ghiandole surrenaliche, che rappresentano la fonte principale di DHEA e DHEAS oltre che di androstenedione ed androstenediolo. Nelle donne i surreni rappresentano la maggiore sorgente di androgeni, benché le ovaie siano in grado di produrre testosterone, androstenedione e DHEA. Il metabolismo periferico, o extraghiandolare, del testosterone prevede due vie: una è quella periferica dell'aromatizzazione degli estrogeni attraverso l'azione bidirezionale di un'aromatasi, che si svolge principalmente a livello muscolare e del tessuto adiposo. L'altra consiste invece nella conversione del testosterone in DHT da parte della 5 α -reduttasi negli organi bersaglio, tra i quali la cute e la prostata (14). Il metabolismo degli androgeni nei cheratinociti e nei sebociti dell'unità pilo-sebacea ha inizio con la trasformazione del DHEA in androstenedione quindi in testosterone tramite l'azione di due enzimi citoplasmatici, la 3 β -idrossisteroideidrogenasi e la 17 β -idrossisteroideidrogenasi (14). A questo punto il testosterone viene convertito in DHT ad opera della 5 α -reduttasi, e quest'ultimo

ormone rappresenta il prodotto finale e più importante del metabolismo androgenico coinvolto nella stimolazione dell'attività secretoria sebacea. Testosterone e DHT esplicano la loro azione legandosi a recettori citoplasmatici, formano un complesso che entra nel nucleo e legandosi ad alcuni siti specifici del DNA, facilita la trascrizione di alcuni geni che stimolano la proliferazione cellulare e la produzione di lipidi da parte delle cellule sebacee.

E' stato ipotizzato, inoltre, che anche gli estrogeni circolanti, sintetizzati dalle ovaie e localmente prodotti, abbiano un ruolo importante nel regolare la produzione di sebo, in quanto possono agire direttamente, con un effetto opposto a quello degli androgeni nel contesto della ghiandola sebacea, oppure indirettamente, inibendo la produzione degli androgeni a livello delle gonadi con un meccanismo di feed-back negativo sul rilascio di gonadotropine (14). Sembra invece che il progesterone a dosi molto elevate possieda un'attività sebotrofica, portando ad un aggravamento dell'acne in fase premenstruale e nel I trimestre di gravidanza (14). Altri progestinici, quali il ciproterone acetato, hanno un effetto inibitorio, "antiandrogeno", e possono, quindi, essere impiegati a scopo terapeutico (14).

3. colonizzazione e attività del *Propionibacterium acnes* (anaerobio Gram +, saprofita nell'infundibulo), che trova un pabulum favorevole nell'ambiente anaerobio e ricco di sebo del microcomedone. Tale batterio è dotato di proprietà immunostimolanti ed è in grado di produrre diverse sostanze in grado di giocare un ruolo nella patogenesi dell'acne: ialuronidasi, proteasi, lipasi e fattori chemiotattici per neutrofili, linfociti e macrofagi (15). In particolare è capace di produrre una lipasi extracellulare che idrolizza i trigliceridi del sebo a glicerolo, utilizzato come substrato per la crescita dei batteri, e ac. grassi liberi i quali possono contribuire alla formazione del comedone e indurre l'infiammazione, attraverso la stimolazione a produrre citochine pro-infiammatorie. Gli altri enzimi prodotti, agiscono alterando l'integrità dei cheratinociti e della parete follicolare con amplificazione del processo infiammatorio.

4. infiammazione e conseguentemente reazioni immunologiche follicolari e perifollicolari, la cui durata e entità sono variabili da soggetto a soggetto a seconda di:

a. fattori immunologici individuali:

- i. tipizzazione HLA
- ii. attività fagocitaria

b. risposta immunitaria individuale verso il *P. acnes*.

L'infiltrato è inizialmente mononucleato, costituito in prevalenza da linfociti T helper CD4+, in sede perivascolare e periduttale, associati a cellule di Langerhans (16). Questi dati, insieme alla segnalazione di titoli elevati di anticorpi anti *Propionibacterium acnes* rilevati in pazienti con acne severa, suggeriscono un coinvolgimento sia dell'immunità cellulo-mediata che di quella umorale nella patogenesi delle lesioni acneiche di tipo infiammatorio (15). Gli antigeni batterici stimolano infatti i linfociti B a produrre anticorpi, i quali sarebbero in grado di attivare il complemento. Questo, in realtà, può essere attivato anche direttamente, mediante la via alternativa, dai frammenti di peptidoglicani e polisaccaridi rilasciati dal *Propionibacterium acnes*. L'attivazione del complemento determina la formazione di C5a, potente fattore chemiotattico per i neutrofili (17). Questi sono richiamati nei siti di infiammazione anche dai fattori chemiotattici batterici e dalla Selectina E, la cui espressione da parte delle cellule endoteliali dei microvasi del derma è indotta dalle citochine (16). Inoltre risulta molto importante per la migrazione dei neutrofili, ma anche dei linfociti e dei monociti, l'espressione su tali cellule delle β 2-integrine LFA-1 e CR3, in grado di legarsi alle CAM endoteliali (ICAM-1 ed ICAM-2), espresse dall'endotelio vascolare. L'espressione di ICAM-1 a livello endoteliale normalmente bassa, può essere indotta dalle citochine liberate dai macrofagi sotto lo stimolo dei frammenti di membrana del *Propionibacterium acnes* (16).

Negli ultimi anni si sono compresi meglio i meccanismi fisiopatogenetici che portano all'estrinsecazione di questi 4 momenti e che sono quindi capaci di determinare sia la lesione ritenuta iniziale dell'acne, ossia il comedone, che le lesioni infiammatorie.

Ad esempio a proposito dell'ipercheratinizzazione follicolare si è visto che un ruolo importante lo gioca l'IL1 α . L'IL-1 α è una citochina proinfiammatoria proveniente da linfociti e cheratinociti, la quale potrebbe essere rilasciata in seguito a variazioni nel tasso di secrezione o composizione del sebo (tra cui diminuzione dell'acido linoleico con conseguente "irritazione" dei cheratinociti infundibulari) ed è in grado di indurre l'ipercheratinizzazione dei cheratinociti infundibulari, oltre che dare inizio ai processi infiammatori (18).

Un altro fattore che si ritiene coinvolto nel processo di cheratinizzazione del follicolo pilosebaceo è l'idratazione dell'epitelio pilosebaceo, un cambiamento della quale potrebbe ad esempio, giustificare il peggioramento premestruale.

Un altro ruolo importante nella regolazione della cheratinizzazione follicolare è ricoperto dalla stimolazione androgenica. Infatti le cellule del condotto pilosebaceo a livello dell'infundibolo, possiedono recettori androgenici e contengono gli enzimi coinvolti nel metabolismo androgenico, tra cui la 5 α reduttasi tipo I (enzima fondamentale nel metabolismo androgenico convertendo il testosterone in diidrotestosterone -DHT-, androgeno più potente) (14).

Un'iperattività della 5 α reduttasi tipo I presente nella ghiandola sebacea o comunque l'attività degli androgeni abbiamo già visto che può determinare anche la seborrea.

Recentemente si è anche riscoperto il ruolo dell'acido linoleico, messo in correlazione con l'acne per la prima volta nel 1976 quando furono evidenziati livelli più bassi di tale acido grasso essenziale nei lipidi cutanei di pazienti acneici. L'aumentata produzione di sebo è infatti caratterizzata da modificazioni anche qualitative ed in particolare, da una riduzione dell'acido linoleico (19). Infatti le cellule sebacee indifferenziate dello strato basale ricevono parte dei lipidi necessari alla sintesi del sebo, incluso l'acido linoleico, per diffusione dai vasi del derma. Quando nella cellula differenziata inizia la sintesi di sebo, cessa la possibilità di assumere altri lipidi dal circolo ematico. I sebociti hanno

quindi a disposizione la stessa quantità di acido linoleico sia che producano piccole quantità di sebo, sia che ne producano grosse quantità, come accade nei pazienti acneici. Questo spiega perché, in tali pazienti, la quantità di acido linoleico nel sebo è diminuita (19). L'acido linoleico è in grado di inibire l'enzima 5 α reduttasi tipo I, che quindi in caso di diminuzione dell'acido linoleico può avere un'attività maggiore. Inoltre nel 2002 Oberemok ha evidenziato che la composizione in lipidi con diminuzione dell'acido linoleico e aumento di acidi grassi liberi e squalene, può portare ad una aumentata adesione cellulare (20). Il deficit di acido linoleico comporta anche una ridotta disponibilità di acidi grassi essenziali per l'epitelio follicolare con conseguente alterazione dell'integrità della parete ed aumento della permeabilità. L'aumentata permeabilità della parete follicolare determina a sua volta un aumento del flusso di acqua dal derma verso il lume del follicolo con conseguente aumento della concentrazione di sostanze nutritive per i batteri (*Propionibacterium acnes*) e quindi aumento della loro proliferazione -terzo momento dell'acne- (17). Quindi la diminuzione dell'acido linoleico nel sebo, svolge un ruolo sia nell'ipercheratinizzazione dell'infrainfundibulo che nel favorire la proliferazione del *Propionibacterium acnes* e conseguentemente i processi infiammatori.

La riduzione della "funzione barriera" della parete del follicolo, da deficit di acido linoleico è inoltre responsabile di un aumento della tensione di ossigeno, che stimola il *Propionibacterium acnes* a produrre porfirina. Quest'ultima interagisce con l'ossigeno molecolare e determina la produzione di specie reattive dell'ossigeno e di radicali liberi che danneggiano i cheratinociti adiacenti (17).

Negli ultimi anni si è poi posta molta attenzione ai *Toll-like receptors* (TLR), proteine transmembranarie espresse sulla superficie di molte cellule tra cui i cheratinociti, capaci di riconoscere specifiche proteine di membrana di numerosi microrganismi con conseguente attivazione di una risposta immunitaria. In particolare ad esempio è stato evidenziato che il *Propionibacterium acnes* è in grado di attivare il Toll-like receptor 2 (TLR-2), espresso da cheratinociti e sebociti del follicolo pilosebaceo, nonché dalle cellule infiammatorie infiltranti il follicolo pilosebaceo in coloro affetti da acne, con

successiva attivazione di un fattore di trascrizione che *upregulates* la produzione e rilascio di citochine proinfiammatorie, come IL-12 e IL-8 (21).

Ma qual è il primo movens?

La lesione più precoce è il microcomedone, per cui si ritiene che primo movens sia l'ipercheratinizzazione follicolare, con l'instaurarsi poi di un circolo vizioso attraverso l'estrinsecazione di tutti e 4 i momenti eziopatogenetici. Lo stimolo inducente l'ipercheratinizzazione follicolare è però ancora sconosciuto (androgeni, livelli follicolari alterati di acido linoleico, IL-1 α ?).

Infatti nonostante tutti questi progressi nella comprensione dei meccanismi fisiopatologici dell'acne, ancora sconosciuta risulta l'eziologia vera, ossia ciò che sta alla base di questa patologia e dei suoi meccanismi fisiopatogenetici.

Attualmente si è convinti che l'acne sia determinata dalla combinazione di fattori genetici predisponenti e da una serie di fattori estrinseci scatenanti, che in quanto tali non possono essere considerati veri agenti eziologici, in quanto presi singolarmente non sono in grado di determinare la malattia e non sono per forza di cose necessari.

1.4.2 Fattori genetici predisponenti

Numerose ricerche hanno dimostrato l'importanza di fattori genetici determinanti una predisposizione all'acne e ad una diversa potenzialità evolutiva delle lesioni acneiche, secondo un'ereditarietà poligenica coinvolgente diversi meccanismi.

Ad esempio studi sui gemelli hanno evidenziato nei monozigoti una concordanza del 100% nei tassi di produzione di sebo rispetto ai dizigoti, che mostrano notevoli differenze (22). Studi non più recenti sui familiari di pazienti affetti da acne hanno dimostrato la significativa presenza di questa patologia in almeno un fratello e/o in uno o entrambi i genitori. Altri studi hanno rilevato una probabilità quattro volte superiore di sviluppare l'acne nei parenti di primo grado di soggetti acneici, rispetto ai parenti dei soggetti non affetti (23).

Sembra inoltre che fattori ereditari possano influenzare la gravità clinica della malattia (24).

Diversi ricercatori, considerando l'importanza degli ormoni androgeni nella fisiopatologia dell'acne, si sono rivolti allo studio dei geni di diverse molecole in qualche modo coinvolte nel metabolismo o nella mediazione dell'azione degli androgeni. In particolare alcune evidenze sembrano suggerire una possibile correlazione tra mutazioni e polimorfismi genici del gene per il recettore degli androgeni (25) o dei geni per enzimi coinvolti nel metabolismo degli androgeni (in particolare la 5 α -reduttasi tipo I) e sviluppo della malattia. Per quanto riguarda il recettore degli androgeni, essenziale per l'attività trascrizionale di questo recettore è il dominio amino-terminale, il quale contiene una regione poliglutaminica codificata da ripetuti trinucleotidi CAG, il cui numero è polimorfico. Recentemente alcuni studi hanno dimostrato l'associazione di tali polimorfismi con acne e altre patologie "androgeno-dipendenti" come l'alopecia androgenetica e il cancro prostatico (26,27). In questi studi è stato dimostrato che il numero di CAG ripetuti è inversamente proporzionale all'attività del recettore androgenico (25-27).

Di particolare interesse sono inoltre, le recenti dimostrazioni di mutazioni a carico dei geni capaci di intervenire nella regolazione del metabolismo della vitamina A e dei retinoidi naturali e sintetici. I retinoidi naturali sono coinvolti nel differenziamento dei sebociti e nel processo di cheratinizzazione del follicolo pilo-sebaceo e quindi possono avere un ruolo nell'eziopatogenesi dell'acne. Un aumentato metabolismo dei retinoidi endogeni potrebbe infatti essere responsabile di una ridotta azione regolatoria di queste sostanze sullo sviluppo delle ghiandole sebacee e sulla proliferazione cheratinocitaria, con conseguente abnorme differenziazione dei sebociti e aumentata proliferazione dei cheratinociti dell'acroinfundibolo. In studi di genetica è stata evidenziata la presenza nei pazienti acneici di un'alta frequenza di mutazioni a livello della regione regolatoria del gene CYP1A1, codificante per l'isoenzima 1A1 del citocromo P450, che è coinvolto direttamente nel metabolismo dei retinoidi e quindi potrebbe giocare un ruolo nello sviluppo di diverse forme di acne (28). In particolare in uno studio abbastanza recente è stata segnalata in pazienti acneici, la transizione da timina a citosina in posizione 6235 del gene CYP1A1 (28). Tale mutazione potrebbe rappresentare un marker di alterazione

dei siti regolatori di trascrizione di tale gene, con il risultato di una più rapida metabolizzazione dei retinoidi naturali, come la vitamina A.

1.4.3 Fattori ambientali scatenanti

Una serie di ricerche epidemiologiche hanno messo in luce una serie di fattori ambientali capaci di condizionare l'espressività clinica della malattia:

- Farmaci: ormoni (androgeni, anabolizzanti, corticosteroidi, gonadotropine), litio, vitamine del gruppo B, antidepressivi, anticonvulsivanti, farmaci contenenti alogeni (iodio e bromo).
- Cosmetici: (acne "ritenzionale") ruolo di alcuni eccipienti utilizzati nelle preparazioni cosmetiche, quali vasellina, paraffina semifluida, olii vegetali, prodotti oleosi occludenti.
- Olii e catrami.
- Fumi provenienti da grassi fritti.
- Agenti meccanici: pressione, frizione, massaggio, grattamento, strizzamento protratti e ripetuti nel tempo su definite aree cutanee (acne dei violinisti).
- Radiazioni elettromagnetiche (radiazioni UV) e umidità atmosferica.

1.4.4 Fattori voluttuari

Sembra che vi sia un'associazione tra prevalenza di acne e fumo di sigaretta ed una relazione lineare tra severità della malattia e numero di sigarette fumate al giorno.

1.4.5 Fattori scatenanti endogeni

- Fattori psichici: vi sono numerose segnalazioni della letteratura che documentano una stretta correlazione tra l'esacerbazione della malattia e il verificarsi di situazioni definibili "stressanti". In particolare i fattori psicosomatici sembrano giocare un ruolo determinante nell'acne persistente delle donne adulte e nell'acne escoriata.

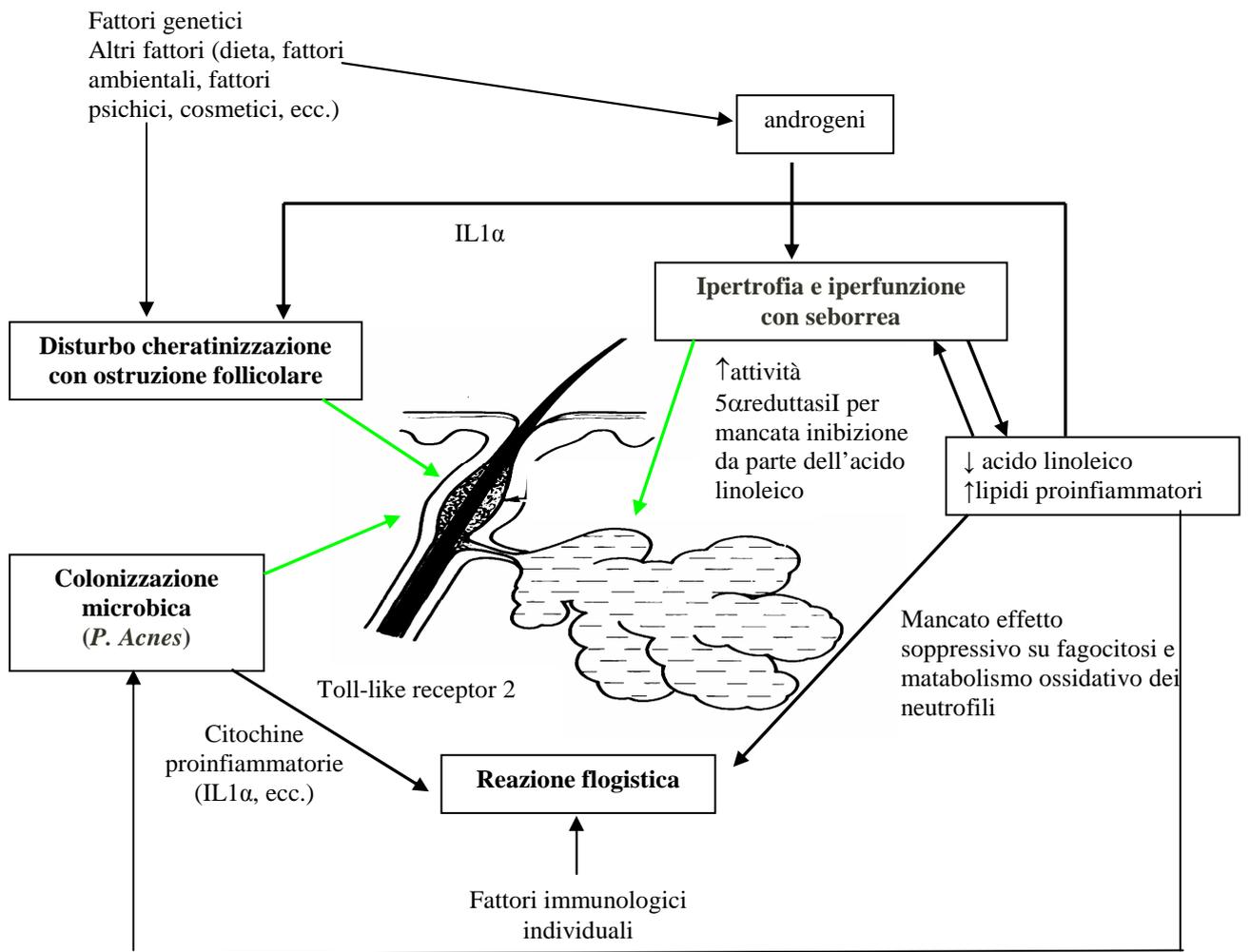
1.4.6 Dieta e acne

La dieta come fattore eziopatogenetico è argomento ancora molto dibattuto. Il primo vero studio a riguardo risale al 1959 e non dimostrò un ruolo causale della dieta. Il primo studio che supportò un ruolo della dieta nell'acne è del 1970. tale studio dimostrò un miglioramento dell'acne con una dieta ipocalorica. Studi pubblicati successivamente negarono un ruolo eziopatogenetico dell'alimentazione. Negli ultimi anni si è risvegliato l'interesse riguardo questa problematica, in particolare con lo studio di Cordain et al. del 2002, i cui autori sono giunti alla conclusione che una dieta iperglicemica, determinando iperglicemia, causa iperinsulinemia, che a sua volta stimola la sintesi e la liberazione di insulin-like growth factor-1, potente mitogeno dell'epitelio follicolare, nonché stimolatore della sintesi di sebo (29). Questo studio è stato però fortemente criticato.

Ancora più di recente è stato enfatizzato il ruolo eziopatogenetico del latte, probabilmente per la presenza di ormoni (30,31).

In conclusione fino ad oggi non vi sono dimostrazioni efficaci di un ruolo dell'alimentazione come fattore concausale nell'eziopatogenesi dell'acne, salvo che per il latte, il cui ruolo deve però ancora essere confermato.

Schema 1. Eziopatogenesi dell'acne.



1.5 Clinica

L'esordio della sintomatologia si ha generalmente in età prepubere e dopo circa 4-5 anni il quadro clinico raggiunge il massimo di grado di severità, per poi risolversi intorno ai 20 per i maschi e 25 anni per le femmine. In realtà da alcuni studi si evince che il 5 % delle femmine e l'1% dei maschi possono tuttavia presentare lesioni acneiche fino all'età di 40 anni (4) ed oltre.

Caratterizzata clinicamente da lesioni pleomorfe, da comedone aperto o chiuso a papule infiammatorie, pustole, noduli, pseudocisti che possono esitare in macule e cicatrici. Le sedi coinvolte sono: volto (aree con maggiore concentrazione di ghiandole sebacee) (nel 99% dei casi), dorso (regione scapolare) (nel 60% dei casi) e tronco (regione sternale) (nel 15% dei casi) (32). Non è raro il riscontro di lesioni acneiche anche a livello del meato acustico esterno e del collo.

Generalmente nelle fasi iniziali si hanno prevalentemente manifestazioni non infiammatorie, quali il comedone chiuso o aperto e, in un secondo tempo, lesioni infiammatorie, come papule, pustole e noduli, pseudocisti.

Vediamo in particolare tali lesioni elementari caratterizzanti l'acne.

- Lesioni non infiammatorie

- Comedone chiuso

Il comedone chiuso, definito anche punto bianco, è una formazione cistica rilevata, micropapula, di dimensioni variabili da 0,5 a 2mm di diametro, che appare come una piccola salienza biancastra, il cui sbocco in superficie non è clinicamente rilevabile. E' dovuta all'accumulo a livello dell'infundibolo follicolare ostruito, di sebo e cheratina (commisti a colonie batteriche) che ne determinano il progressivo allargamento. Tali lesioni possono aprirsi ed evolvere in comedoni aperti, ma spesso vanno incontro a rottura della parete, con conseguente innesco dei fenomeni infiammatori con formazione di papule o pustole.

- Comedone aperto

Il comedone aperto, o punto nero, si presenta come un piccolo rilievo centrato da una cavità corrispondente all'orifizio follicolare dilatato, riempita di materiale corneo di

colore bruno-nerastro, dovuto a processi ossidativi a carico del sebo e del materiale corneo. I comedoni aperti generalmente vengono spontaneamente eliminati, raramente vanno incontro a fenomeni infiammatori.

- Lesioni infiammatorie

- Papule

Le papule sono lesioni infiammatorie del diametro di solito inferiore a 5mm, rilevate, di colorito rosso-roseo, dure. Si formano da un microcomedone o rappresentano l'evoluzione infiammatoria di un comedone; sono caratterizzate da intensa reazione flogistica, con accumulo di granulociti neutrofili e linfociti. Possono andare incontro a riassorbimento nell'arco di alcuni giorni, ma più frequentemente, per un processo di suppurazione, si trasformano in pustole.

- Pustole

Le pustole sono raccolte di materiale purulento di colorito bianco-giallastro, durano qualche giorno e regrediscono con completa restitutio ad integrum, preceduta di regola da lesioni maculari.

- Noduli

I noduli si formano quando i fenomeni infiammatori perifollicolari sono particolarmente intensi ed il processo flogistico tende alla cicatrizzazione. Il nodulo è dolente, a cute tesa, di colorito rosso-violaceo, con successivo rammollimento centrale e può riassorbirsi gradualmente od evolvere verso l'ascessualizzazione con rottura ed emissione di materiale purulento; l'esito è quasi sempre una cicatrice. Quando i noduli evolvono in lesioni asessuali, spesso tendono alla coalescenza con formazione di tragitti fistolosi, lesioni caratteristiche dell'acne conglobata, che appaiono come rilievi allungati con orifizi talora multipli dai quali può fuoriuscire siero o pus.

- Cisti

La cisti è una lesione cavitaria, di consistenza duro elastica, di grandi dimensioni, di colorito roseo-giallastro, di solito non dolente. Possono essere infiammate, con cute sovrastante rosso-cianotica o non infiammate.

- Esiti

- Macule atrofiche

Lesioni di piccole dimensioni, di colorito rosso-violaceo o roseo, della durata di alcune settimane, conseguenza abituale di lesioni infiammatorie trattate.

- Iperpigmentazioni

Esiti post-infiammatori di colorito bruno, di varia grandezza, che appaiono particolarmente frequenti nei soggetti caucasici di fototipo scuro o nei pazienti di colore. La loro durata media è di 4-6 mesi.

- Cicatrici

Le cicatrici rappresentano esiti molto frequenti nell'acne di grado severo. Si possono presentare in forma atrofica, come aree depresse (lineari, a colpo di piccozza, a pozzetto, a scodella), oppure in forma ipertrofica fino a configurare cheloidi. Le cicatrici sono presenti in circa il 90% dei soggetti che si rivolgono al dermatologo e sono severe nel 22% dei casi.

Tipico dell'acne è quindi il polimorfismo eruttivo ed evolutivo del quadro clinico, sulla base del quale viene classificata considerando la gravità ed il tipo di lesione dominante, in acne lieve (fig. 1) o comedonica e papulo-pustolosa con pochi elementi, acne intermedia (fig. 2) o papulo-pustolosa con numerosi elementi e nodulare con poche lesioni e acne severa (fig. 3) o nodulare grave e conglobata. Nel caso delle forme moderate e severe possono poi permanere degli esiti pigmentari per un certo periodo di tempo e cicatrici atrofiche, ipertrofiche o cheloidee.

Figura 1. Acne lieve.



Figura 2. Acne moderata.



Figura 3. Acne severa.



1.5.1 Acne comedonica

Forma di acne giovanile caratterizzata da numerosi comedoni o da grande prevalenza di essi. Esordisce in età prepuberale con comedoni chiusi e comedoni aperti, disseminati sul volto, soprattutto sulla fronte, sul naso, sulle guance e sul mento. Può evolvere in una forma di acne più infiammatoria.

1.5.2 Acne papulo-pustolosa

L'acne papulo-pustolosa si caratterizza per la prevalenza di papule e pustole. Tali lesioni, isolate o in piccoli gruppi, si localizzano in corrispondenza del volto, con tendenza però ad interessare anche le porzioni superiori del tronco, nonché il collo.

Spesso si associa seborrea con aspetto spiccatamente lucido della cute del viso. E' la forma più comune di acne.

1.5.3 Acne nodulo-cistica

Tipo di acne caratterizzata dalla presenza di diversi noduli, oltre alle altre lesioni acneiche, risultato di un'intensa infiltrazione flogistica spesso granulomatosa e cisti. Più frequente negli uomini rispetto alle donne, può essere causa di gravi danni estetici. I noduli possono infatti regredire con esiti cicatriziali di tipo atrofico, ipertrofico o cheloideo. Fortunatamente tali quadri rappresentano non più del 10% dei casi.

1.5.4 Acne conglobata

L'acne conglobata è la forma più grave di acne nodulo-cistica ed insorge prevalentemente nell'adolescenza avanzata, in soggetti di razza Caucasica e di sesso maschile. Tende a diventare progressivamente più grave nella seconda e terza decade di vita. Clinicamente è caratterizzata da comedoni, lesioni infiammatorie multiple, noduli e cisti spesso associati a fistole, ascessi, flemmoni e seni di drenaggio. Queste lesioni possono interessare tutti i distretti cutanei, di solito più severe sul dorso, dove lasciano spesso cicatrici estese e deturpanti. Presenta un decorso cronico: la persistenza e la lenta evoluzione delle lesioni sono caratteri clinici significativi insieme ad un lento e progressivo interessamento di aree cutanee sempre più estese e alla formazione di lesioni cicatriziali spesso sfiguranti, tipici di questa forma di acne.

1.5.5 Acne late-onset

Un cenno a parte merita l'acne ad insorgenza in età adulta. Tale varietà di acne si presenta con due quadri clinici tipici della donna adulta, abbastanza rari (circa il 7% di tutte le forme di acne) e difficili da trattare: l'acne papulosa e/o nodulare della donna adulta e l'acne della donna adulta associata ad iperandrogenismo.

Acne papulosa della donna adulta

Questa forma di acne si caratterizza per l'assenza di lesioni comedoniche e per la mancata dimostrazione di endocrinopatie. Insorge dopo i 25 anni, in soggetti che in precedenza non avevano mai sofferto di acne. Aree preferenziali di coinvolgimento sono il mento e la mandibola. Ha un decorso cronico molto lungo con riacutizzazioni premestruali.

Acne della donna adulta associata ad iperandrogenismo

Forma di acne del volto che insorge dopo i 25 anni e può presentare tutte le lesioni morfologiche dell'acne; si associa a tipici segni di iperandrogenismo, quali irsutismo, oligomenorrea, aumento di peso, alopecia androgenetica.

1.6 Grading

Nel corso degli anni sono stati proposti numerosi sistemi per valutare la gravità dell'acne, per darne un indice di severità più obiettivo possibile. Sono stati proposti metodi clinici e fotografici. Vediamo in particolare i più significativi.

1.6.1 Acne lesion-counting technique (Witkowski JA et al., Arch Dermatol 1980) (33)

Si divide il volto in 5 regioni ed in ognuna di esse vengono contati il numero dei comedoni aperti e chiusi, le papule, le pustole e i noduli.

1.6.2 Cunliffe score (Leeds technique 1984) (34)

Si tratta di una scala fotonumerica.

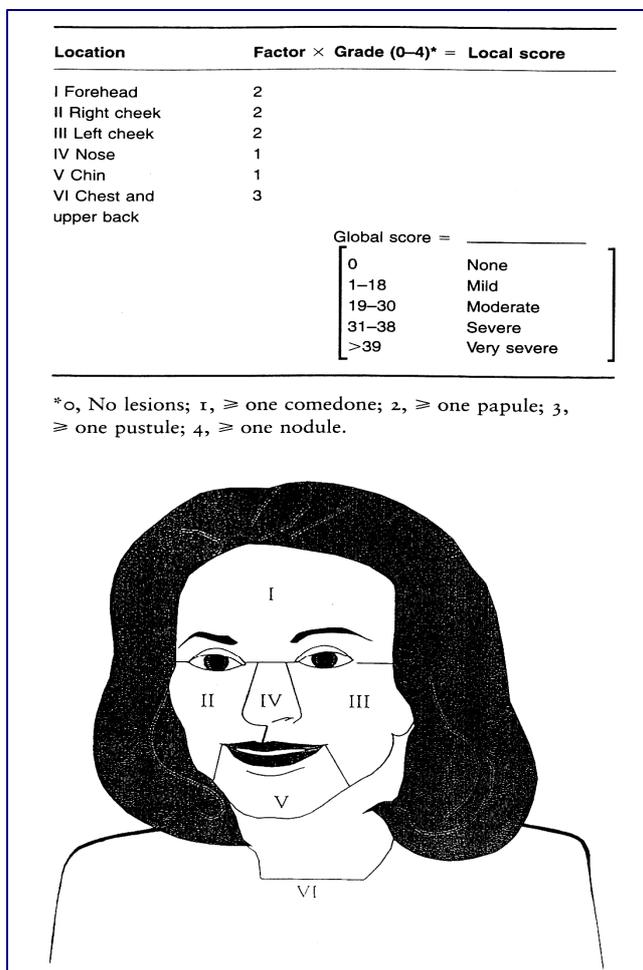
Questo sistema di grading si basa sul confronto tra le foto del paziente ed una scala fotografica standard per il volto e separatamente per il tronco, con possibilità di assegnare così uno score che può andare da un minimo di 1 ad un massimo di 12 per il volto e ad un massimo di 8 per il tronco.

1.6.3 Global Acne Grading System (Doshi A. et al., Int. J Dermatol 1997) (35)

Come si può rilevare dallo Schema 2, con questa metodica vengono prese in considerazione 6 aree anatomiche (5 riguardano il volto, 1 la parte superiore del tronco anteriormente e posteriormente) a ciascuna delle quali è stato attribuito un coefficiente di moltiplicazione (*factor*) che varia da 1 a 3 in rapporto all'estensione dell'area anatomica considerata e alla distribuzione e densità delle unità pilosebacee presenti. Per ciascuna area viene dato un punteggio alla lesione morfologica dell'acne più grave secondo questa scala: 1 → ≥ 1 comedone; 2 → ≥ 1 papula; 3 → ≥ 1 pustola; 4 → ≥ 1 nodulo. Questo punteggio moltiplicato per il coefficiente di moltiplicazione di quell'area determina il *local score*. La somma dei 6 *local score* ci dà il *global score* (GS).

Secondo tale sistema di *grading*, l'acne viene considerata di grado lieve se il GS è tra 1 e 18, moderata se il GS è tra 19 e 30, severa se il GS è tra 31 e 38 ed infine molto severa se il GS è superiore a 38.

Schema 2. GlobalAcne Grading System (GAGS). (Doshi et al. 1997).



1.6.4 Global Evaluation Scale

Sistema di grading proposto dalla FDA in occasione del *DODAC meeting* del novembre 2002, per la valutazione e il confronto obbiettivi di *trials* terapeutici.

Tale metodica prevede l'assegnazione di uno score da 0 a 5, a seconda del tipo e numerosità delle manifestazioni acneiche, in base alla scala riportata nello Schema 3.

Schema 3. Global Evaluation Scale. (FDA, 2002).

0=healthy clear skin with no evidence of acne vulgaris
1=almost clear; rare noninflammatory lesions present; rare noninflamed resolving papules (may be hyperpigmented but not pink-red)
2=some noninflammatory lesions present; few inflammatory lesions (papules/pustules only; no nodulocystic lesions)
3=noninflammatory lesions predominate; multiple inflammatory lesions present; several to many comedones and papules/pustules; one small nodulocystic lesion
4=inflammatory lesions predominate; many comedones and papules/pustules; may or may not be a few nodulocystic lesions
5=highly inflammatory lesions predominate; variable number of comedones; many papules/pustules and nodulocystic lesions

1.7 Terapia

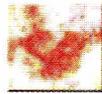
Ciascuno dei 4 momenti eziopatogenetici fondamentali dell'acne può rappresentare il target di un trattamento specifico. Attualmente sono in commercio una notevole quantità di presidi terapeutici sia per uso locale che generale con azioni diverse rivolte verso l'uno e/o l'altro dei fattori eziopatogenetici dell'acne. La terapia combinata rappresenta l'approccio terapeutico più indicato e più comunemente utilizzato. Nel 2003 la "Global Alliance to Improve Outcomes in Acne" ha elaborato e pubblicato un

algoritmo terapeutico che prevede un protocollo terapeutico diverso a seconda della forma clinica di acne e del grado di severità, utilizzando farmaci topici e/o sistemici di prima e di seconda scelta (Figura 4) (36).

Poco tempo dopo una seconda Consensus Conference (Siviglia 2003), tenuta dallo stesso gruppo di esperti, ha stabilito le linee guida per la terapia antibiotica sistemica dell'acne, considerando il meccanismo d'azione, l'efficacia e gli effetti collaterali di tutti gli antibiotici comunemente utilizzati per il trattamento dell'acne.

Una corretta impostazione del trattamento dell'acne richiede anche come prerequisito un atteggiamento empatico del medico al fine di stabilire un buon rapporto medico-paziente e di valutare non solo la varietà clinica e la sua gravità, ma anche i fattori scatenanti esterni, le precedenti terapie e il loro risultato, l'impatto della malattia sulla qualità della vita. E' infatti ormai chiaro, da numerose ricerche dedicate a questo specifico aspetto, che esiste una notevole discrepanza tra la gravità oggettiva delle manifestazioni cliniche e la percezione da parte del paziente e quindi in definitiva la sua personale sofferenza psichica.

Figura 4. Algoritmo terapeutico dell'acne. (Gollnick H, et al.; 2003).

ALGORITMO DELLA TERAPIA DELL'ACNE					
	LIEVE		MODERATA		SEVERA
					
	Comedonica	Papulo-pustolosa	Nodulare	Conglobata	
PRIMA SCELTA	Retinoidi topici	Retinoidi topici + antimicrobici topici	Antibiotici orali + retinoidi topici +/- BPO	Antibiotici orali + retinoidi topici + BPO	Isotretinoina orale
SECONDA SCELTA	Alt. retinoidi topici/ acido azelaico/ acido salicilico	Alt. retinoidi topici + alt. antimicrobici topici o acido azelaico	Alt. antibiotici orali + alt. retinoidi topici +/- BPO	Isotretinoina orale o alt. antibiotici orali + alt. retinoidi topici +/- BPO/ acido azelaico	Alto dosaggio di antibiotici orali + retinoidi topici + BPO
ALTERNATIVA PER DONNE	Vedi terapia di prima scelta	Vedi terapia di prima scelta	Antiandrogeni orali + ret. topici/ ac. azelaico +/- antimicrobici topici	Antiandrogeni orali + retinoidi topici +/- antibiotici orali +/- alt. antimicrobici	Antiandrogeni orali ad alto dosaggio + retinoidi topici +/- alt. antimicrobici topici
MANTENIMENTO	Retinoidi topici		Retinoidi topici +/- BPO		

Vediamo ora nei particolari quali sono i farmaci a nostra disposizione.

1.7.1 Terapia topica

I farmaci attualmente disponibili per la terapia locale dell'acne sono retinoidi, benzoil perossido, antibiotici (clindamicina, eritromicina), acido azelaico, acido salicilico.

Indicazione all'uso di questi farmaci è il trattamento delle forme di acne lieve e moderata e (in associazione alla terapia antibiotica orale) nei casi di acne moderata-severa con molte lesioni infiammatorie e tendenza alla formazione di cicatrici.

Seconda indicazione è come terapia di mantenimento per prevenire le recidive.

Retinoidi topici

Gruppo di composti che comprende la vitamina A e suoi derivati sintetici.

La vitamina A è essenziale per la proliferazione, la differenziazione e l'attività sintetica dei sebociti. I retinoidi sintetici hanno una potente azione cheratolitica, quindi loro target primario è l'ipercheratinizzazione. Alcuni di essi, in particolare l'adapalene, hanno anche una azione antinfiammatoria.

I retinoidi topici attualmente impiegati nel trattamento dell'acne sono la tretinoina, l'isotretinoina, l'adapalene, la retinaldeide e il tazarotene.

I loro effetti biologici sono mediati da due tipi di recettori: un recettore proteico citosolico e dei recettori nucleari, membri di una superfamiglia di recettori ormonali.

L'attività antinfiammatoria è correlata con l'interferenza di queste molecole con la migrazione dei leucociti, la *down-regulation* dei *Toll-like receptors* (in particolare TLR2), la liberazione di mediatori proinfiammatori da macrofagi e neutrofili, la trascrizione di geni per la sintesi di citochine, mediatori pro-infiammatori, metalloproteinasi.

Risultano molto utili usati in associazione alla terapia antibiotica.

Effetto collaterale di questi farmaci è l'irritazione della cute con eritema, desquamazione, secchezza.

Antimicrobici topici

Gli antibiotici topici trovano la loro indicazione nelle lesioni infiammatorie dell'acne e sono utilizzati proprio per il loro effetto antinfiammatorio diretto, piuttosto che per l'azione antimicrobica. Inoltre grazie al loro effetto batteriostatico sul P. acnes, svolgono anche un'azione antinfiammatoria indiretta.

L'attività antinfiammatoria diretta si esplica attraverso l'inibizione della chemiotassi neutrofila e la modulazione dell'attivazione complementare.

Gli antibiotici topici più usati sono la clindamicina e la eritromicina da sola o associata, in un'unica soluzione, con acetato di zinco, che ne potenzia enormemente l'efficacia e riduce il rischio di resistenze.

Benzoil perossido

Tale farmaco ha preminentemente una potente attività antimicrobica, ma anche un lieve azione anticomedogena ed antinfiammatoria.

Disponibile in diverse concentrazioni e formulazioni.

Si usa anche in associazione con gli antibiotici topici. Evita l'insorgenza di resistenze.

Può dare come effetti collaterali, dermatiti irritative, secchezza, depigmentazione.

1.7.2 Terapia sistemica

I farmaci utilizzabili per via sistemica per la terapia dell'acne sono soprattutto rappresentati dagli antibiotici orali, dall'isotretinoina orale, da una serie di ormoni.

Antibiotici orali

Farmaci di prima scelta nel trattamento sistemico delle forme di acne moderata, e di seconda scelta nel trattamento delle forme di acne severa.

Attualmente gli antibiotici più impiegati sono le tetracicline, seguono i macrolidi.

Tutte le tetracicline svolgono attività batteriostatica e battericida, ma soprattutto una importante attività antinfiammatoria. Le più efficaci sono doxiciclina, minociclina e limeciclina; quest'ultima è quella in genere meglio tollerata e meno gravata di effetti collaterali. In genere vengono usate per cicli terapeutici di circa 3 mesi con buona,

ottima efficacia. Gli effetti collaterali associati all'uso di questi antibiotici includono disturbi gastro-intestinali, fotosensibilità (soprattutto con doxiciclina e minociclina, che non vanno perciò prescritte nel periodo estivo), cefalea, vertigini. La minociclina può anche essere responsabile di pseudotumor cerebri, reazioni lupus-like, epatite autoimmune, sindrome da ipersensibilità, vasculite pANCA positiva. Le tetracicline possono causare alterazioni cromatiche dei denti e ritardo della crescita, per cui non dovrebbero essere prescritte ai bambini di età inferiore agli 8-12 anni. Sono inoltre controindicate in gravidanza a causa del loro effetto sulla crescita del tessuto osseo.

Tra i macrolidi, la molecola più utilizzata nel trattamento dell'acne è l'azitromicina, che ha il vantaggio di una schema posologico molto semplice e per questo con buona compliance alla terapia (1 capsula al giorno per 3 giorni alla settimana). Anche l'azitromicina, come le tetracicline, oltre all'azione antibatterica, ha anche quella antinfiammatoria, che è quella determinante per l'efficacia nel trattamento della patologia acneica. In genere per avere una buona risposta sono richiesti 4-6 cicli di trattamento. E' possibile prescriverla anche ai bambini con età inferiore ai 12 anni. I più comuni effetti collaterali sono soprattutto a carico del sistema gastrointestinale.

Secondo le linee guida della "Global Alliance to Improve Outcomes in Acne" i dosaggi adeguati per gli antibiotici raccomandati nel trattamento dell'acne sono rispettivamente di 300-600mg/die per la limeciclina, 100-200mg/die per la minociclina e la doxiciclina. Tale terapia antibiotica sistemica dovrebbe essere prescritta per almeno 3 mesi. Qualora si osservi un miglioramento costante delle lesioni nei primi tre mesi di terapia, è possibile protrarre l'assunzione del farmaco per un altro mese.

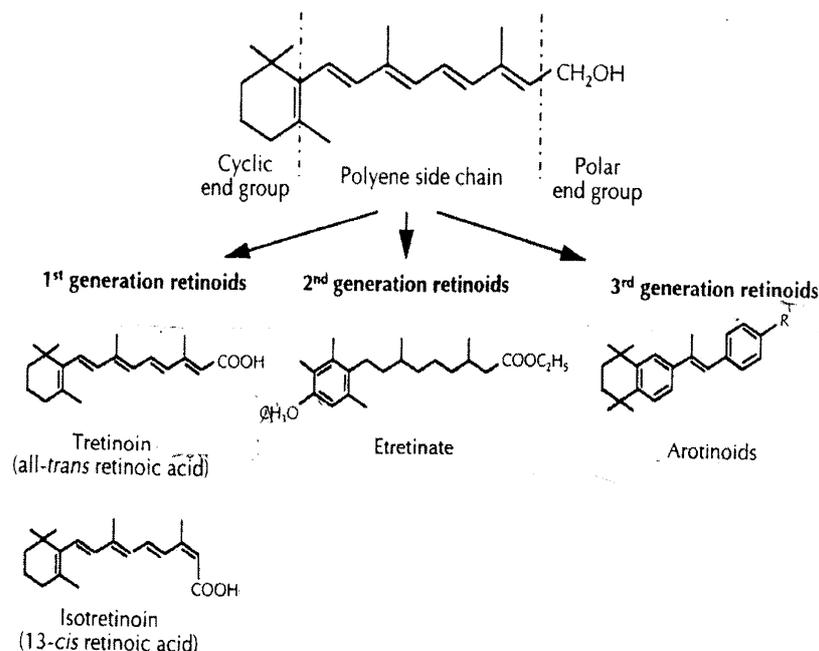
Gli antibiotici orali non dovrebbero mai essere usati in monoterapia, ma associati ai retinoidi topici. Tale combinazione permette infatti di agire su tre dei momenti eziopatogenetici dell'acne.

Terminato il ciclo terapeutico previsto, andrebbe consigliata una terapia di mantenimento per prevenire le recidive. La terapia di mantenimento dovrebbe durare dai 6 ai 12 mesi ed i retinoidi topici rappresentano i farmaci di prima scelta.

Isotretinoina orale

L'isotretinoina o acido 13-cis-retinoico è un farmaco appartenente alla classe dei retinoidi, derivati naturali o di sintesi della vitamina A (Figura 5).

Figura 5.



La Vit A e suoi derivati sono implicati nella regolazione di molte funzioni fisiologiche: difese immunitarie, ematopoiesi, programmazione morte cellulare, formazione ossea, vista. Sono inoltre importanti fattori di controllo dello sviluppo fetale.

In particolare regolano la proliferazione e differenziazione delle cellule epiteliali, diminuiscono l'infiammazione, aumentano la risposta immunitaria, inibiscono la carcinogenesi.

I retinoidi esplicano il loro effetto biologico legandosi a recettori nucleari e regolando la trascrizione genica. Sono così in grado di stimolare direttamente la trascrizione genica e quindi la differenziazione cellulare; e allo stesso tempo possono anche inibire la trascrizione genica indirettamente, tramite AP1, determinando così una ridotta proliferazione cellulare e infiammazione.

L'Isotretinoina è stata introdotta sul mercato USA nel Settembre 1982 per il trattamento dell'acne cistica recalcitrante ad altre terapie convenzionali con l'avvertenza della controindicazione in gravidanza.

Ha sempre dimostrato un'efficacia clinica incredibilmente elevata grazie al suo particolare meccanismo d'azione, che la porta ad agire su tutti e quattro i principali fattori eziopatogenetici dell'acne:

- 1) Causa una de-differenziazione delle cellule della ghiandola sebacea con arresto del ciclo cellulare e apoptosi nei sebociti → Riduce la produzione di sebo delle ghiandole sebacee
- 2) Determina distruzione dei desmosomi, stimolando lo sfaldamento dei cheratinociti infundibulari → Agisce sull'anomala cheratinizzazione infundibolare riducendo la comedogenesi
- 3) Inibisce la proliferazione del *Propionibacterium acnes*
- 4) Inibisce la cascata dell'acido arachidonico e la migrazione transdermica dei PMN stimolata dal LTB₄, potente mediatore dell'infiammazione, sopprimendo così l'infiammazione.

Indicazione ufficiale per l'uso di isotretinoina è l'acne severa (nodulo-cistica, conglobata o con rischio di cicatrici permanenti) non responsiva a cicli adeguati di terapia con antibatterici sistemici e terapia topica, rappresentando quindi una terapia di seconda linea. In realtà le indicazioni pratiche sono:

- Acne severa nodulo-cistica (terapia di 1^a linea)
- Acne moderata che non ha risposto alle terapie convenzionali o che ha risposto in modo insoddisfacente (mancata risposta clinica a 3 mesi)
- Acne con tendenza allo sviluppo di cicatrici
- Acne con frequenti recidive
- Pazienti con acne lieve, ma con effetti psicologici sproporzionati rispetto alla gravità delle lesioni cliniche (dismorfofobici).

La posologia consigliata è di 0.5-1.0mg/kg/die per 4-6mesi, in modo da raggiungere una dose cumulativa pari a 120-150mg/kg. L'isotretinoina orale dovrebbe essere impiegata in monoterapia.

E' generalmente controindicato l'uso in bambini di età inferiore ai 12 anni.

Purtroppo è un farmaco gravato da numerosi e frequenti effetti collaterali, spesso dose-dipendenti e che generalmente regrediscono comunque nell'arco delle prime 3 settimane dalla sospensione della terapia. Quelli più comuni sono legati alla tossicità muco-cutanea dell'isotretinoina e sono rappresentati da secchezza di cute e mucose, cheilite, secchezza nasale, eczema (superficie dorsale delle mani e braccia), xerosi congiuntivale, fotosensibilità. Solitamente queste condizioni si risolvono con una adeguata idratazione.

Gli effetti collaterali meno comuni sono rappresentati da epistassi, caduta dei capelli, artralgie, mialgie e cefalea. Queste ultime in genere si risolvono in corso di trattamento.

I pazienti con cefalea intensa, calo della vista al buio e disturbi psichiatrici dovrebbero sospendere immediatamente l'assunzione del farmaco.

Molti pazienti possono presentare nella fase iniziale del trattamento con isotretinoina orale un temporaneo aggravamento dell'acne oppure, in casi più rari, l'insorgenza di una vera e propria acne fulminante. In questi casi è consigliabile diminuire temporaneamente la dose di isotretinoina ed effettuare una breve terapia a base di corticosteroidi.

Tra gli effetti sistemici legati all'uso di isotretinoina, si evidenziano gli effetti sui lipidi del siero e sulla funzionalità epatica e la teratogenicità.

E' quindi necessario durante tutto il trattamento, eseguire ogni 4-8 settimane esami ematochimici di controllo.

Il rischio di teratogenicità non è dose-dipendente, per cui nel caso di prescrizione a pazienti femmine è necessaria un'adeguata contraccezione. Se il farmaco viene assunto in gravidanza si possono avere con elevata frequenza, aborto spontaneo o nascita di un bambino con malformazioni soprattutto a carico del SNC, sistema cardiovascolare e scheletrico.

Controindicazioni assolute all'uso di questo farmaco sono la gravidanza, un'epatopatia severa, un'insufficiente compliance; mentre le controindicazioni relative sono rappresentate da epatopatia moderata, aumento di colesterolo e trigliceridi, trattamento concomitante con tetracicline, concomitante uso di farmaci epatotossici.

Terapia ormonale

La terapia ormonale rappresenta una valida alternativa nelle donne che, pur presentando livelli sierici normali di androgeni, sono affette da forme di acne resistenti ai trattamenti convenzionali, con papule e noduli persistenti che spesso coinvolgono il volto (nella parte inferiore) ed il collo.

Il ricorso alla terapia ormonale è inoltre autorizzato in presenza di segni e sintomi di iperandrogenismo ovarico o surrenalico.

I farmaci utilizzati nella terapia ormonale dell'acne includono i contraccettivi orali, lo spironolattone ed in alternativa, il ciproterone acetato. In situazioni particolari possono essere utilizzati anche la flutamide ed i glucorticoidi.

I contraccettivi orali derivano dall'associazione di un estrogeno con un progestinico ed agiscono con un duplice meccanismo: prima di tutto sono in grado di inibire la produzione ovarica di androgeni, sopprimendo il rilascio di gonadotropine ipofisarie, in secondo luogo stimolano la sintesi epatica della proteina di trasporto del testosterone, la *sex hormone binding globulin*, riducendo la quota di testosterone libero e quindi biologicamente attivo. Nel trattamento dell'acne è preferibile utilizzare quelli contenenti come progestinico un antiandrogeno, quale il ciproterone acetato o il drospirenone. Il ciproterone acetato è dotato di una duplice azione: da una parte inibisce l'ovulazione, dall'altra blocca i recettori degli androgeni a livello follicolare. Lo spironolattone agisce sia bloccando i recettori androgenici sia inibendo la 5 α -reduttasi a livello del follicolo pilo-sebaceo.

1.7.3 Dermocosmetologia

Per un corretto e completo approccio terapeutico è importante considerare anche la cosmetologia nella terapia dell'acne per diversi motivi. Un buon cosmetico aiuta il dermatologo nella riuscita della terapia dell'acne. L'utilizzo appropriato del cosmetico evita o controlla la possibile comparsa di fenomeni irritativi della cute spesso secondari ai trattamenti farmacologici specifici. L'utilizzo di un buon cosmetico può favorire anche la penetrazione dei principi attivi che il dermatologo prescrive al paziente acneico.

Capitolo 2

SCOPO DELLO STUDIO

L'acne è dermatite cronica per troppo tempo sottovalutata nonostante il grosso impatto sociale e psicologico, per la quale c'è ancora molto da fare per capire a fondo l'eziologia e quindi per un approccio terapeutico più efficace.

Lo scopo del nostro studio è di analizzare le caratteristiche cliniche, epidemiologiche di una popolazione di pazienti affetti da acne per verificarne il tipo di correlazione e loro peso relativo nella patogenesi e determinismo del tipo e della severità dell'acne. Secondo obiettivo è la validazione di un sistema di grading di severità di malattia accurato, riproducibile e al tempo stesso di facile applicabilità nella comune pratica ambulatoriale, facendo riferimento ai sistemi di grading attualmente più utilizzati, ma che permetta di ovviare ai limiti di questi ultimi, e che possa quindi essere usato più diffusamente. Terzo obiettivo è l'analisi nella popolazione in studio della distribuzione dei polimorfismi sopra descritti del gene del recettore degli androgeni, i quali abbiamo visto essere implicati sia nel disturbo di cheratinizzazione che nella seborrea, e del gene del citocromo P-450 1A1, coinvolto nel metabolismo dei retinoidi naturali e sintetici, al fine di individuarne una possibile associazione con l'acne volgare in senso generico o con un particolare subset di tale patologia, individuato in base ai vari dati epidemiologici e anamnestici raccolti ed analizzati.

Capitolo 3

MATERIALI E METODI

3.1 Popolazione

Studio prospettico con arruolamento dei pazienti afferenti all'ambulatorio acne del Servizio di Dermatologia Pediatrica del Dipartimento di Pediatria e all'ambulatorio acne della Clinica Dermatologica dell'Università di Padova, da Gennaio 2005 a Ottobre 2007, affetti da acne volgare di vario grado, da lieve a severa, previo consenso informato.

Per l'analisi dei polimorfismi dei geni di interesse sono stati arruolati, oltre ai pazienti consenzienti, dei soggetti volontari sani (come controlli), che non abbiano mai sofferto di acne, di età maggiore di 18 anni e appaiati per sesso rispetto al gruppo dei pazienti, previo consenso informato. Tali soggetti sono stati selezionati tra il personale della clinica dermatologica di Padova e i loro familiari che non siano mai stati affetti da acne.

3.2 Raccolta dati

Per ognuno di tali pazienti è stata compilata una scheda epidemiologica-anamnestica-clinica (vedi Allegato 1 e 2) contenente i seguenti dati:

- età alla I visita;
- sesso;
- familiarità;
- menarca e caratteri del ciclo mestruale;
- associazione con altre malattie androgeno-sensibili;
- altezza, peso, *body mass index* (BMI);
- età all'esordio della malattia;
- sede di esordio della malattia;
- archivio digitale delle foto delle lesioni;
- presenza/assenza di policistosi ovarica sulla base di ecografia ovarica;

- esame obiettivo delle lesioni: sedi coinvolte, tipo di lesioni presenti e grading della malattia alla I visita e a 3 mesi, a 6 mesi e a 12 mesi (o 9 mesi in caso di recidiva più precoce) di follow-up;
- terapie prescritta, risposta ad essa ed eventuali effetti collaterali riscontrati.

3.3 Definizione del *Grading* di malattia

Per stabilire il grado di severità della malattia sono stati utilizzati il Global Acne Grading System (GAGS) (vedi Schema 2), proposto da Doshi et al. (35), il sistema fotografico di Burke et al. (Leeds technique) (34) e la Global Evaluation Scale (GES) (vedi Schema 3), proposta dalla FDA per la valutazione obiettiva di *trials* terapeutici. E' stato poi messo a punto un ulteriore sistema di *grading* (che abbiamo denominato "GAGS modificato"), modificando il GAGS in modo da rapportare lo score globale ottenuto con quest'ultimo sistema al numero di aree coinvolte, affinché un paziente con lesioni minime, ma diffuse in varie sedi, non risulti avere uno score più severo di un paziente con lesioni gravi confinate in una o poche sedi. Per ottenere questo abbiamo diviso lo score globale, calcolato con il GAGS, per il numero di aree coinvolte, in modo da dare maggior peso al tipo di lesione, piuttosto che all'estensione. In secondo luogo per avere uno *score* di severità paragonabile al Cunliffe score, cioè differenziato per il volto e per il tronco, si è ipotizzato un ulteriore sistema di *grading*, che abbiamo denominato "GAGS differenziato", sempre partendo dal GAGS. Abbiamo considerato come global score del volto, la somma degli score regionali delle 5 aree del volto, calcolati secondo il GAGS, diviso per il numero di aree coinvolte. Per quanto riguarda il tronco, in modo analogo a quanto fatto per il volto, abbiamo preso in considerazione 3 aree anatomiche (la regione presternale, la regione deltoidea e la parte posteriore del tronco), a ciascuna delle quali è stato attribuito un coefficiente di moltiplicazione variabile da 1 a 2.5 in rapporto all'estensione dell'area anatomica considerata e alla distribuzione e densità delle unità pilosebacee presenti: 1, per la regione presternale; 1, per la regione deltoidea; 2 per la parte superiore del dorso o 2,5 in caso di

coinvolgimento di tutta la parte posteriore del tronco. Per ciascuna area è stato dato quindi un punteggio in base alla lesione morfologica dell'acne più grave (esattamente come per il volto nel GAGS), e questo punteggio è stato moltiplicato per il coefficiente di moltiplicazione di quell'area determinando lo *score* regionale. Abbiamo poi sommato i 3 *score* regionali e il risultato l'abbiamo diviso per il numero di aree coinvolte per avere lo score globale del tronco.

3.4 Analisi polimorfismi

A tutti i pazienti che hanno dato il loro consenso per lo studio dei polimorfismi genici sono stati prelevati circa 5 ml di sangue periferico in provetta con EDTA. Tali provette sono state conservate a -80°C fino al momento dell'analisi.

Da tali campioni di sangue intero è stato estratto il DNA mediante procedure standard, utilizzando un kit commerciale per estrazione del DNA (Invitrogen). Una volta estratto il DNA, questo è stato quantificato tramite lettura allo spettrofotometro.

Si è poi proceduto diversamente per l'analisi dei due polimorfismi di interesse.

3.4.1 Polimorfismo del gene per il recettore degli androgeni

Lo studio di questo polimorfismo, determinato dal numero di trinucleotidi ripetuti CAG contenuti nella regione amino-terminale del gene e codificanti per una sequenza poliglutaminica essenziale per l'attività trascrizionale di questo recettore, è stato effettuato tramite *polymerase chain reaction* e successivo sequenziamento del gene amplificato per individuare il numero di triplette CAG ripetute.

500ng di DNA genomico sono stati sottoposti a reazione polimerasica a catena (PCR) in un volume di reazione di 50µl, contenente 200µM di desossiribonucleotidi e uno specifico buffer con 1 unità di DNA polimerasi termoresistente, utilizzando 0.1µM dei seguenti primers specifici per la regione genomica di interesse, disegnati sulla base di sequenze pubblicate: senso 5'-CCTGTTGAACTCTTCTGAG-3' e antisenso 5'-TCTGGGACGCAACCTCTCTC-3' (26). I cicli di PCR sono stati i seguenti: 94°C per 4

min, seguiti da 40 cicli di 94°C per 1 min, 60°C per 1 min e 72°C per 1 min, seguiti da una estensione finale a 72°C per 7 min.

I prodotti di PCR così ottenuti sono stati sottoposti a elettroforesi su gel di agarosio per verificare l'avvenuta amplificazione. Ciascun prodotto è stato quindi inviato ad un laboratorio di riferimento per il processo di sequenziamento (effettuato con l'utilizzo di kit della Applied Biosystems) per verificare direttamente il numero di triplette CAG ripetute che presentava.

3.4.2 Polimorfismo del gene per il citocromo P-450 1A1 (CYP1A1)

Il polimorfismo del gene CYP è determinato da una mutazione nella sua regione regolatoria, in posizione 6235, dovuta alla transizione da Timina a Citosina (transizione T/C). Tale mutazione introduce un sito di restrizione per l'enzima *MspI*, che è stato quindi utilizzato per la genotipizzazione mediante reazione polimerasica a catena (PCR) ed analisi di restrizione (RFLP). In particolare 500ng di DNA genomico sono stati sottoposti a reazione polimerasica a catena (PCR) in un volume di reazione di 50µl, contenente 200µM di desossiribonucleotidi in uno specifico buffer con 1 unità di DNA polimerasi termoresistente, utilizzando 0.1µM dei seguenti primers specifici per la regione genomica di interesse, disegnati sulla base di sequenze pubblicate: senso 5'-AAGAGGTGTAGCCGCTGCACT-3' e antisenso 5'-TAGGAGTCTTGTCTCATGCCT-3' (28). I cicli di PCR sono stati i seguenti: 94°C per 4 min, seguiti da 32 cicli di 94°C per 30 sec, 63°C per 1 min e 72°C per 1 min, seguiti da ulteriori 10 cicli di 94°C per 30 sec, 63°C per 40 sec e 72°C per 1 min, seguiti da una estensione finale a 72°C per 7 min. I prodotti di PCR così ottenuti sono stati sottoposti a elettroforesi su gel di agarosio per verificare l'avvenuta amplificazione del frammento di nostro interesse di 335bp. Dopodiché 20µl di ciascun prodotto di PCR sono stati digeriti con 5U di enzima endonucleasi *MspI* per tutta la notte a 37°C. I diversi alleli sono poi stati distinti attraverso l'analisi del pattern di migrazione in elettroforesi su gel di agarosio al 2%: l'allele con la T in posizione 6235 (allele selvatico, in quanto non ha la mutazione) non viene tagliato dall'enzima, in quanto non contiene il sito di restrizione e quindi genera un unico frammento di 335bp;

invece l'allele con la C (allele mutato), che determina la presenza di un sito di restrizione per *MspI*, viene diviso in due frammenti di 206bp e 129bp.

3.5 Analisi statistica

L'analisi epidemiologica e lo studio delle differenze e correlazioni tra le variabili considerate sono state effettuate tramite il software per analisi statistica SPSS, utilizzando i test statistici t-student, Mann-Whitney, Pearson e Rho di Spearman (a seconda della numerosità del campione di volta in volta analizzato), considerando in generale statisticamente significativa una $p < 0.05$.

I dati epidemiologici e quelli genotipici ottenuti dalla analisi dei polimorfismi, sono stati tra loro correlati e le frequenze alleliche dei pazienti e dei controlli confrontate secondo il test χ^2 .

Capitolo 4

RISULTATI

4.1 Caratteristiche popolazione

Sono stati arruolati complessivamente 210 pazienti, 122 (58.1%) femmine e 88 (41.9%) maschi, di età compresa tra 10 e 39 anni (età media di 18.4 ± 6.0 anni; mediana di 17.0 anni), affetti da acne di grado da lieve a severo. L'età di insorgenza di tale patologia andava da un minimo di 8 anni per le femmine e 10 anni per i maschi, ad un massimo di 35 anni per le femmine e 19 anni per i maschi, con una media di 14.2 ± 4.03 anni (media = 14.4 e mediana = 13 anni per le femmine; media = 13.8 e mediana = 14 anni per i maschi). Considerando solo le femmine con età di esordio <18 anni, quindi escludendo i casi di acne late-onset (17 pazienti), l'età media di esordio è risultata pari a 12.8 anni.

I pazienti in studio avevano un body mass index (BMI) compreso tra 13.8 e 38.2, con una media di 21.47 ± 3.87 (mediana = 20.76). Considerando i sessi separatamente, i maschi presentavano un BMI tra 15.6 e 38, con una media di 22.22 ± 3.56 (mediana = 21.73); le femmine avevano un BMI medio di 20.77 ± 4.04 , con un BMI minimo di 13.8 e BMI massimo di 38.2 (mediana = 20.07).

Osservando la variabile familiarità, si è visto che il 68.6% aveva una familiarità positiva per almeno un familiare di primo, secondo grado. Più precisamente il 32.6% aveva familiarità almeno per il padre, il 30.2% per la mamma, il 8.6% per entrambi i genitori, il 15.5% per un fratello e/o sorella e il 12.4% per altro parente. Considerando separatamente il gruppo di pazienti con acne late-onset, si è riscontrata in quest'ultimo una familiarità positiva per acne nel 27.8% dei pazienti (5 pazienti su un totale di 18); di questi solo una paziente aveva familiarità per uno dei due genitori, mentre gli altri per un fratello o parente di grado maggiore

Per quanto riguarda la sede di esordio delle lesioni acneiche, nel 69.1% dei pazienti l'acne ha esordito al volto; nel 5.9% al dorso; a volto e dorso contemporaneamente nel 19.6% dei pazienti; a volto e regione sternale nel 2.5% dei pazienti; a dorso e regione sternale nel 1.5% ; e contemporaneamente a volto, dorso e regione sternale nel 1.5% dei pazienti. In nessun paziente le prime lesioni acneiche sono comparse in regione sternale

unicamente. Dei pazienti con sede di esordio al volto, il 67.4% erano femmine e l'età di esordio era molto variabile andando da un minimo di 8 anni ad un massimo di 35 anni, con media 13.9 ± 3.93 anni (mediana = 13 anni). Mentre per quanto riguarda i pazienti con sede di esordio solo al dorso, il 58.3% erano maschi ed avevano un'età all'esordio compresa tra 11 e 18 anni, con età media di 14 anni (mediana = 13 anni). I pazienti con sede di esordio contemporaneamente a volto e dorso, avevano un'età media all'esordio di 14.6 anni (mediana = 14 anni), con un'età minima di 10 anni e massima di 31 anni. Di 88 pazienti è stato possibile registrare anche una valutazione a 3 mesi di follow up, di 53 a 6 mesi di follow up e di 38 pazienti a 12 mesi di follow up.

4.2 Grading di severità

4.2.1 Al tempo 0 – I visita

Alla I visita i pazienti avevano uno "score" di severità, secondo la tecnica di Leeds, da 0 a 9, media 4.07 ± 2.37 (mediana = 4) per il volto e da 0 a 6, media 1.31 ± 1.73 (mediana = 0) per il tronco. Considerando separatamente i due sessi, i maschi avevano uno score medio per il volto di 4.46 ± 2.62 (mediana = 5); ed uno score medio per il tronco di 2.17 ± 1.92 (mediana = 2). Mentre le femmine per il volto avevano uno score medio di 3.8 ± 2.17 (mediana = 3) e per il tronco, score medio di 0.74 ± 1.33 (mediana = 0).

Utilizzando il Global Acne Grading System lo score globale (GAGS) è risultato essere un valore da un minimo di 0 ad un massimo di 37, media 18.10 ± 7.01 (mediana = 18). In particolare in base a questo sistema di grading, il 1.5% dei pazienti, tutte femmine aveva uno score pari a 0, cioè non aveva lesioni attive; il 49.5% (16%M vs 33.5%F) aveva un'acne lieve; il 45.4% dei pazienti (22.7% M e 22.7% F) un'acne moderata ed il 3.6% dei pazienti, tutti maschi, un'acne severa (vedi grafico 1a). Se consideriamo invece solo il gruppo dei pazienti maschi, il 37.8% aveva un'acne lieve, il 53.7% un'acne moderata ed il 8.5% un'acne severa (vedi grafico 1b); mentre tra le femmine, il 2.7% non aveva lesioni attive, il 58.0% aveva un'acne lieve ed il 39.3% un'acne moderata (vedi grafico 1c). Nessuna femmina aveva un'acne di grado severo.

Secondo la GES, il 1.9% dei pazienti, (0.5% M vs 1.4% F) non aveva lesioni attive; il 4.9% (0.5% M vs 4.4% F), aveva un punteggio di 1; il 42.7% dei pazienti (16% M vs 26.7% F) aveva un punteggio di 2; il 26.2% (10.2% M vs 16% F) un punteggio di 3; il 21.8% (13.6% M vs 8.2% F) un punteggio di 4 e il 2.4% (1.4% M vs 1% F) aveva il punteggio più alto, cioè pari a 5. Considerando separatamente maschi e femmine, il 1.1% dei maschi e il 2.5% delle femmine avevano un punteggio di 0, il 1.1% dei maschi e il 7.6% delle femmine aveva un punteggio di 1, il 37.9% dei maschi e il 46.2% delle femmine aveva un punteggio di 2, il 24.1% dei maschi e il 27.7% delle femmine aveva un punteggio pari a 3, il 32.2% dei maschi e il 14.3% delle femmine, un punteggio di 4 e il 3.4% dei maschi e il 1.7% delle femmine aveva il punteggio massimo di 5.

Il GAGS modificato ha dato uno score da 0 a 12.0, con una media di 3.6 ± 1.31 (mediana = 3.75). Con il GAGS differenziato si è registrato uno score medio di 3.02 ± 1.18 (mediana = 3) per il volto, con un valore minimo di 0 e massimo di 8, mentre per il tronco si è registrato un valore medio di 2.18 ± 2.26 (mediana = 2) con uno score minimo di 0 e massimo di 8. Analizzando separatamente i maschi dalle femmine, si è osservato nei pazienti maschi un GAGS modificato medio di 4.08 ± 1.34 (min = 0, max = 12; mediana 4.0), mentre nelle femmine un GAGS modificato medio di 3.32 ± 1.20 (min = 0, max = 8; mediana 3.5). Considerando il GAGS differenziato, i maschi avevano un valore medio di 3.14 ± 1.16 (min = 0, max = 5.4; mediana = 3.2) per il volto ed un valore medio di 3.13 ± 2.39 (min = 0, max = 8; mediana = 4.0) per il tronco. Invece le femmine avevano un valore medio di 2.93 ± 1.19 (min = 0, max = 8; mediana = 2.8) per il volto ed un valore medio di 1.54 ± 1.95 (min = 0, max = 6; mediana = 0.0) per il tronco.

4.2.2 A 3 mesi di follow up

Dopo 3 mesi di follow up i pazienti avevano uno "score" medio di severità, secondo la tecnica di Leeds, di 2.63 ± 1.72 (min = 0, max = 7; mediana = 3.0) per il volto e di 0.97 ± 1.25 (min = 0, max = 3; mediana = 0) per il tronco. Considerando separatamente i due sessi, i maschi avevano uno score medio per il volto di 3.05 ± 1.64 (mediana = 3) ed uno score medio per il tronco di 1.35 ± 1.35 (mediana = 1). Mentre le femmine per il volto

avevano uno score medio di 2.26 ± 1.74 (mediana = 2) e per il tronco, score medio di 0.58 ± 1.02 (mediana = 0).

Utilizzando il Global Acne Grading System lo score globale (GAGS) è risultato essere un valore medio di 13.38 ± 7.54 (min = 0, max = 36; mediana = 13). In particolare i pazienti maschi in base a questo sistema di grading, avevano uno score medio di 16.05 ± 8.05 (min = 0, max = 36; mediana = 16), mentre le femmine avevano uno score medio pari a 10.94 ± 6.17 (min = 0, max = 26; mediana = 11).

Secondo la GES, il 8.9% dei pazienti (3.3% M vs 5.6% F) non aveva lesioni attive; il 31.1% (7.8% M vs 23.3% F) aveva un punteggio di 1; il 40.0% dei pazienti (23.3% M vs 16.7% F) aveva un punteggio di 2; il 13.3% (10.0% M vs 3.3% F) un punteggio di 3; e il 6.7% (4.5% M vs 2.2% F) un punteggio di 4. Nessun paziente aveva il punteggio massimo di 5. Considerando separatamente maschi e femmine, il 6.8% dei maschi e il 10.9% delle femmine avevano un punteggio di 0, il 15.9% dei maschi e il 45.7% delle femmine aveva un punteggio di 1, il 47.7% dei maschi e il 32.6% delle femmine aveva un punteggio di 2, il 20.5% dei maschi e il 6.5% delle femmine aveva un punteggio pari a 3, il 9.1% dei maschi e il 4.3% delle femmine, un punteggio di 4.

Secondo il GAGS modificato i pazienti hanno mantenuto dopo 3 mesi di follow-up uno score da 0 a 12.0, con un valore medio però, di 3.3 ± 1.82 (mediana = 3.2). Con il GAGS differenziato è stato registrato uno score medio di 2.43 ± 1.42 (mediana = 2.4) per il volto, con un valore minimo di 0 e massimo di 8, mentre per il tronco si è registrato un valore medio di 1.82 ± 2.31 (mediana = 0), con uno score minimo di 0 e massimo di 7.5. Analizzando separatamente i maschi dalle femmine, si è osservato nei pazienti maschi un GAGS modificato medio di 3.84 ± 2.15 (min = 0, max = 12; mediana = 3.5), mentre nelle femmine un GAGS modificato medio di 2.78 ± 1.25 (min = 0, max = 5.5; mediana = 2.66). Considerando il GAGS differenziato, i maschi avevano un valore medio di 2.66 ± 1.59 (min = 0, max = 8; mediana = 2.8) per il volto ed un valore medio di 2.43 ± 2.54 (min = 0, max = 7; mediana = 2.25) per il tronco. Invece le femmine avevano un valore medio di 2.21 ± 1.22 (min = 0, max = 4.6; mediana = 2.0) per il volto ed un valore medio di 1.29 ± 2.0 (min = 0, max = 7.5; mediana = 0.0) per il tronco.

4.2.3 A 6 mesi di follow up

Dopo 6 mesi di follow up i pazienti avevano uno "score" medio di severità, secondo la tecnica di Leeds, di 2.3 ± 1.84 (min = 0, max = 8; mediana 2.0) per il volto e di 0.96 ± 1.48 (min = 0, max = 5; mediana = 0) per il tronco. Considerando separatamente i due sessi, i maschi avevano uno score medio per il volto di 2.59 ± 2.21 (min = 0, max = 8; mediana 2); ed uno score medio per il tronco di 1.57 ± 1.83 (min = 0, max = 5; mediana = 1). Mentre le femmine per il volto avevano uno score medio di 2.0 ± 1.37 (min = 0, max = 4; mediana = 2) e per il tronco, score medio di 0.36 ± 0.63 (min = 0, max = 2; mediana = 0).

Utilizzando il Global Acne Grading System lo score globale (GAGS) è risultato essere un valore da un minimo di 0 ad un massimo di 39, media 13.70 ± 8.29 (mediana = 12). In particolare i pazienti maschi in base a questo sistema di grading, avevano uno score medio di 15.93 ± 9.37 (min = 0, max = 39; mediana = 12.5), mentre le femmine avevano uno score medio pari a 11.55 ± 6.57 (min = 0, max = 21; mediana = 12).

Secondo la GES, il 5.2% dei pazienti (1.7% M vs 3.5% F) non aveva lesioni attive; il 32.8%, (13.8% M vs 19% F) aveva un punteggio di 1; il 36.2% dei pazienti, (17.2% M vs 19% F) aveva un punteggio di 2; il 17.2% (10.3% M vs 6.9% F) un punteggio di 3; il 3.4%, tutte femmine, un punteggio di 4; e il 5.2%, tutti maschi, aveva il punteggio massimo di 5. Considerando separatamente maschi e femmine, il 3.6% dei maschi e il 6.7% delle femmine avevano un punteggio di 0, il 28.6% dei maschi e il 36.7% delle femmine aveva un punteggio di 1, il 35.7% dei maschi e il 36.7% delle femmine aveva un punteggio di 2, il 21.4% dei maschi e il 13.3% delle femmine aveva un punteggio pari a 3, il 6.7% delle femmine e nessun maschio, un punteggio di 4, e il 10.7% dei maschi e nessuna femmina, aveva il punteggio massimo di 5.

Secondo il GAGS modificato i pazienti dopo 6 mesi di follow up avevano uno score da 0 a 19.0, con una media di 3.91 ± 2.72 (mediana = 3.6). Con il GAGS differenziato è stato registrato uno score medio di 2.76 ± 1.44 (mediana = 2.58) per il volto, con un valore minimo di 0 e massimo di 8, mentre per il tronco è stato registrato un valore medio di 2.25 ± 2.01 (mediana = 2.5), con uno score minimo di 0 e massimo di 6.5. Analizzando separatamente i maschi dalle femmine, si è osservato nei pazienti maschi un GAGS

modificato medio di 4.04 ± 1.54 (min = 0, max = 8; mediana = 3.9), mentre nelle femmine un GAGS modificato medio di 3.78 ± 3.53 (min = 0, max = 19; mediana = 3). Considerando il GAGS differenziato, i maschi avevano un valore medio di 3.09 ± 1.71 (min = 0, max = 8; mediana = 3.0) per il volto ed un valore medio di 2.59 ± 2.03 (min = 0, max = 6.5; mediana = 2.75) per il tronco. Invece le femmine avevano un valore medio di 2.44 ± 1.05 (min = 0, max = 4.2; mediana = 2.45) per il volto ed un valore medio di 2.00 ± 2.01 (min = 0, max = 5.3; mediana = 2.5) per il tronco.

4.2.4 A 12 mesi di follow up

Per 36 pazienti è stato possibile anche registrare una valutazione dopo 12 mesi di follow-up, quando si è osservato uno "score" medio di severità, secondo la tecnica di Leeds, di 4.32 ± 2.81 (min = 0, max = 9; mediana = 4) per il volto e 1.79 ± 2.18 (min = 0, max = 6; mediana = 1) per il tronco. Considerando separatamente i due sessi, i maschi avevano uno score medio per il volto di 5.18 ± 3.31 (mediana = 6); ed uno score medio per il tronco di 2.75 ± 2.22 (mediana = 2.5). Mentre le femmine per il volto avevano uno score medio di 3.13 ± 1.36 (mediana = 3.5) e per il tronco, score medio di 0.14 ± 0.38 (mediana = 0).

Utilizzando il Global Acne Grading System si è riscontrato uno score globale (GAGS) medio di 17.08 ± 7.78 (min= 0, max = 31; mediana = 17). In particolare i pazienti maschi avevano un GAGS medio di 16.5 ± 9.69 (min= 0, max = 31; mediana = 16.5) mentre le femmine avevano un GAGS medio di 17.55 ± 6.06 (min= 8, max = 31; mediana = 17.0).

Secondo la GES, il 15.8% dei pazienti, (7.9% M e 7.9% F) aveva un punteggio di 1; il 21.1% (13.2% M vs 7.9% F) aveva un punteggio di 2; il 31.6% (5.3% M vs 26.3% F) un punteggio di 3; il 28.9% (15.8% M vs 13.1% F) un punteggio di 4 e il 2.6%, tutti maschi, aveva il punteggio più alto, cioè pari a 5. Considerando separatamente maschi e femmine, il 17.6% dei maschi e il 14.3% delle femmine avevano un punteggio di 1, il 29.4% dei maschi e il 14.3% delle femmine avevano un punteggio di 2, il 11.8% dei maschi e il 47.6% delle femmine avevano un punteggio pari a 3, il 35.3% dei maschi e il

23.8% delle femmine, un punteggio di 4 e il 5.9% dei maschi e nessuna femmina avevano il punteggio massimo di 5.

Il GAGS modificato ha dato uno score medio di 3.83 ± 2.02 (min = 0, max = 12; mediana = 3.5). Con il GAGS differenziato si è osservato uno score medio di 2.71 ± 1.21 (min = 0, max = 5; mediana = 2.8) per il volto, mentre per il tronco si è registrato un valore medio di 2.97 ± 2.58 (min = 0, max = 8; mediana = 3.67). Analizzando separatamente i maschi dalle femmine, si è osservato nei pazienti maschi un GAGS modificato medio di 4.38 ± 2.87 (min = 0, max = 12; mediana 4.0), mentre nelle femmine un GAGS modificato medio di 3.39 ± 0.73 (min = 2.4, max = 5.2; mediana 3.36). Considerando il GAGS differenziato, i maschi avevano un valore medio di 2.45 ± 1.61 (min = 0, max = 5.0; mediana = 2.8) per il volto ed un valore medio di 3.58 ± 2.31 (min = 0, max = 6; mediana = 4.5) per il tronco. Invece le femmine avevano un valore medio di 2.92 ± 0.75 (min = 1, max = 4.2; mediana = 2.8) per il volto ed un valore medio di 2.48 ± 2.75 (min = 0, max = 8; mediana = 2.0) per il tronco.

Grafico 1a. Global Score al tempo 0.

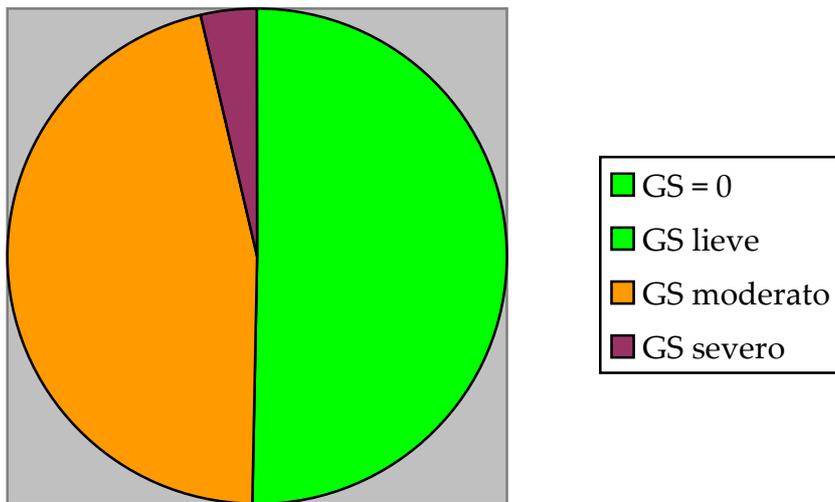


Grafico 1b. Global Score al tempo 0 nel gruppo dei maschi.

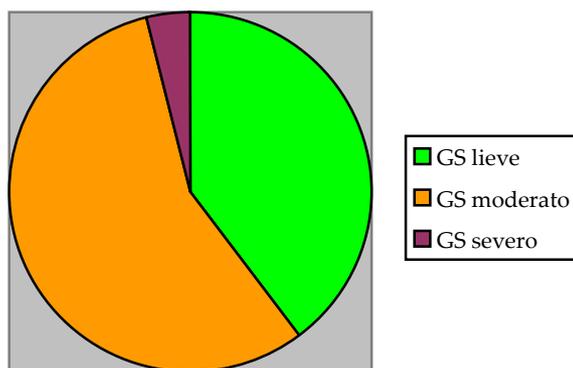
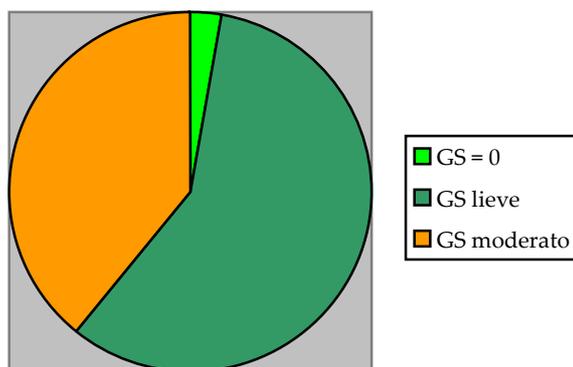


Grafico 1c. Global Score al tempo 0 nel gruppo delle femmine.



4.3 Validazione sistemi di grading

Il confronto tra i sistemi di grading ha evidenziato una correlazione positiva tra il GAGS e il GAGS modificato al tempo 0, con coefficiente di Pearson $r= 0.7$ ($p< 0.001$). Così pure sono risultati positivamente correlati il GAGS differenziato per volto e tronco con l'indice di severità calcolato secondo la scala fotografica (tecnica di Leeds): coefficiente di Pearson per gli indici di severità di interessamento del volto, $r= 0.77$ e per il tronco, $r= 0.83$ ($p< 0.001$).

Tali dati si sono riconfermati anche per gli indici di severità calcolati a 3 mesi di follow-up.

Il GAGS è risultato positivamente correlato anche con l'indice di severità definito sulla base della GES, con coefficiente di correlazione di Pearson $r= 0.71$ ($p< 0.001$), al tempo 0 e coefficiente di Pearson $r= 0.85$ ($p< 0.001$), a 3 mesi di follow up.

4.4 Relazioni tra le variabili in studio

Analizzando le possibili correlazioni esistenti tra le varie variabili in studio e i sistemi di grading della malattia si sono avute le seguenti risultanze.

Considerando la variabile sesso è stato osservato un GAGS maggiore, con una differenza statisticamente significativa ($p<0.001$), nei pazienti maschi rispetto alle femmine (GAGS medio M vs F = 20.65 vs 16.21) (Vedi Grafico 2). Analizzando separatamente l'interessamento del volto e del tronco, utilizzando il grado di severità definito secondo la tecnica di Leeds, si è trovata un'analogia differenza statisticamente significativa ($p<0.001$) nel caso del tronco (score medio M vs F = 2.17 vs 0.74) (Vedi Grafico 3). Invece considerando esclusivamente l'interessamento del volto, non si è trovata una differenza statisticamente significativa tra lo score di severità dei maschi e quello delle femmine.

L'età di insorgenza è risultata inversamente correlata con il GAGS in modo significativo (coefficiente di Pearson $r=-0.139$, $p<0.05$). Non è stata trovata alcuna correlazione invece,

tra l'età di insorgenza e il grado di severità della malattia misurata con la tecnica di Leeds, sia per il volto che per il tronco.

Non è stata osservata alcun tipo di correlazione tra il BMI e la severità di malattia calcolata con entrambi i sistemi di grading. Così pure non è stata trovata una differenza statisticamente significativa tra lo score di severità dei pazienti con BMI ≥ 25 (pazienti in sovrappeso o obesi) e quello dei pazienti con BMI < 25 (pazienti normopeso o sottopeso). Anche considerando la variabile familiarità, non si è osservata alcuna differenza statisticamente significativa tra gli indici di severità di malattia del gruppo di pazienti con familiarità positiva per almeno un parente di primo e/o secondo grado, rispetto al gruppo dei pazienti senza storia familiare di acne. Non si sono riscontrate differenze significative neanche considerando come familiarità positiva solo il caso di uno o entrambi i genitori affetti e non considerando gli altri familiari.

E' stata poi indagata nel gruppo delle femmine la relazione tra insorgenza e gravità dell'acne e il momento del menarca. Durante il periodo di osservazione si è visto che il 95.5% delle pazienti avevano avuto il menarca. L'età media del menarca è risultata essere 12.27 anni (min = 10, max = 16; mediana = 12 anni). Il 65.5% delle pazienti hanno avuto l'insorgenza dell'acne dopo il menarca e precisamente, considerando solo le pazienti con età di insorgenza della malattia < 20 anni per escludere i casi di acne late-onset, l'esordio di malattia si è avuto in media dopo 22.8 mesi dal momento del menarca (min = 6, max = 84; mediana = 24 mesi). Nel 34.5% delle pazienti invece, l'acne ha esordito in media 14.6 mesi prima del momento del menarca (min = 0, max = 36; mediana = 12 mesi). Non è stata riscontrata alcuna differenza statisticamente significativa tra la gravità dell'acne del gruppo di pazienti con esordio di malattia prima del menarca e quella delle pazienti con esordio di malattia dopo il menarca, salvo che per l'interessamento del tronco. In questo caso infatti, lo score medio per il tronco, calcolato secondo la tecnica di Leeds, nelle pazienti con acne ad esordio prima del menarca, è risultato pari a 1.55, significativamente ($p = 0.01$) maggiore dello score medio del tronco secondo Leeds, pari a 0.44, nelle pazienti con acne ad insorgenza post-menarca.

Grafico 2. Relazione Global Score – Sesso

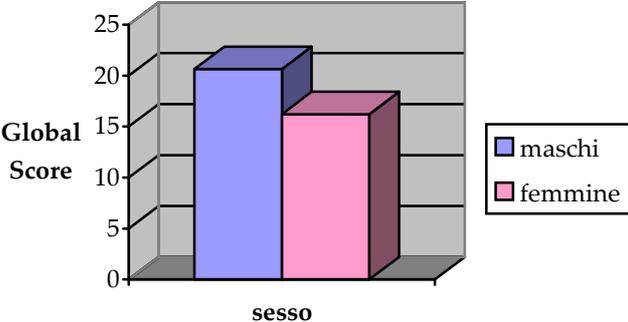
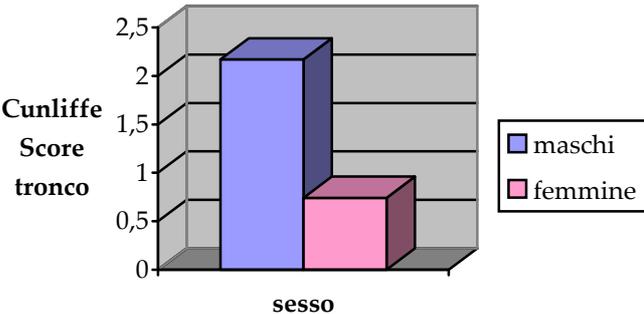


Grafico 3. Relazione Cunliffe Score Tronco – Sesso



4.5 Valutazione terapia

Alla I visita al 48.3% dei pazienti è stata consigliata una terapia topica; al 46.4% una terapia antibiotica sistemica, di cui nello 0.5% in associazione a terapia ormonale (estrogeno-progestinico); nel 4.9% dei casi è stata prescritta una terapia con retinoidi sistemici (di cui nell'1% in associazione a estrogeno-progestinico, in quanto si trattava di pazienti femmine) e nello 0.5% è stata consigliata unicamente una terapia ormonale.

In tutti i gruppi di pazienti dopo 3 mesi di follow-up vi è stata una diminuzione statisticamente significativa della severità di malattia: per quanto riguarda i pazienti con terapia topica si è passati da uno score medio di severità GAGS di 16.31 ± 5.76 a 12.86 ± 7.84 (differenza significativa con $p = 0.01$), mentre nel caso dei pazienti trattati con terapia sistemica si è passati da uno score medio di severità GAGS di 22.13 ± 6.24 a 14.26 ± 7.13 (differenza significativa con $p = 0.01$)

La maggior parte dei peggioramenti si è registrata nell'ambito dei pazienti trattati con la terapia topica.

Anche considerando la GES si è osservato un miglioramento statisticamente significativo ($p < 0.001$) della sintomatologia dopo 3 mesi di follow up.

In considerazione del risultato terapeutico raggiunto, al terzo mese di follow up l'approccio terapeutico è stato in parte modificato per cui al 43.2% dei pazienti veniva prescritta solo terapia topica e al 54.5% una terapia sistemica, di cui 50% antibiotica, 3.4% a base di retinoidi, 1.1% ormonale. Al 2.3% dei pazienti (ai quali era stata inizialmente prescritta una terapia topica) è stata sospesa la terapia.

Al sesto mese di follow up è stata registrata un'ulteriore diminuzione statisticamente significativa dell'indice di severità di malattia passando ad un valore medio di 11.83 ± 5.97 ($p < 0.05$) con la terapia topica e di 14.18 ± 9.29 ($p < 0.001$) con la terapia sistemica.

La prescrizione terapeutica a questo punto è stata modificata come di seguito descritto: al 58.5% dei pazienti è stata consigliata unicamente una terapia topica e al 39.6% dei pazienti è stata prescritta una terapia sistemica ed in particolare al 28.3% una terapia antibiotica, al 9.4% (5 pazienti maschi che in precedenza avevano fatto terapia

antibiotica con stazionarietà o peggioramento del quadro clinico) retinoidi, all'1.9% terapia ormonale. All'1.9% non è stata data alcuna terapia.

Per quanto riguarda i pazienti di cui si è potuto registrare una valutazione a 12 mesi di follow up, 3 di loro facevano parte del gruppo di 5 pazienti a cui erano stati consigliati i retinoidi per os 6 mesi prima, ed hanno avuto un netto miglioramento del loro quadro clinico, per cui si è sospesa la terapia. Per gli altri pazienti vi è stato un peggioramento con indice di severità non significativamente differente dalla prima visita, anche se tendenzialmente inferiore.

A 12 mesi di follow-up al 34.2% dei pazienti è stata data una terapia topica, al 44.7% una terapia antibiotica sistemica, al 10.5% retinoidi sistemici (4 pazienti, che in precedenza avevano fatto una terapia antibiotica con remissione parziale temporanea) e al 7.9% dei pazienti, una terapia ormonale.

4.6 Analisi polimorfismi

Per quanto riguarda l'analisi dei polimorfismi si è avuto il consenso da parte di 25 pazienti o loro genitori a loro volta affetti in precedenza da acne, e sono state quindi coinvolte 20 persone mai affette da acne, come controlli negativi. Per ciascuno di questi pazienti è stato ottenuto un campione di sangue dal quale è stato estratto il DNA che è stato in seguito sottoposto all'analisi dei polimorfismi dei geni di interesse tramite reazione polimerasica a catena (PCR) e successivo sequenziamento per il gene del recettore degli androgeni, e ad analisi di restrizione (RFLP) per lo studio del polimorfismo del gene per il CYP450 1A1.

Per un paziente non è stato possibile procedere all'analisi dei polimorfismi in quanto con la procedura di estrazione non si è ottenuto un DNA competente.

4.6.1 Polimorfismo del gene per il recettore degli androgeni

Nel gruppo dei pazienti il numero medio di triplette CAG ripetute è risultato pari a 19.2 ± 5.6 (min = 9, max = 34; mediana = 19); mentre nel gruppo dei controlli si è

riscontrato un numero medio di triplette CAG ripetute pari a 21.2 ± 3.4 (min = 13, max = 26; mediana = 21.5). La differenza tra i due gruppi non è risultata statisticamente significativa.

Inoltre analizzando in modo più approfondito il gruppo dei pazienti, non si è riscontrato alcun tipo di correlazione tra il numero di triplette ripetute e l'età di esordio di malattia. Così pure non è stata riscontrata alcuna correlazione con l'indice di severità di malattia calcolato sia secondo il GAGS che con la GES.

4.6.2 Polimorfismo del gene per il CYP450 1A1

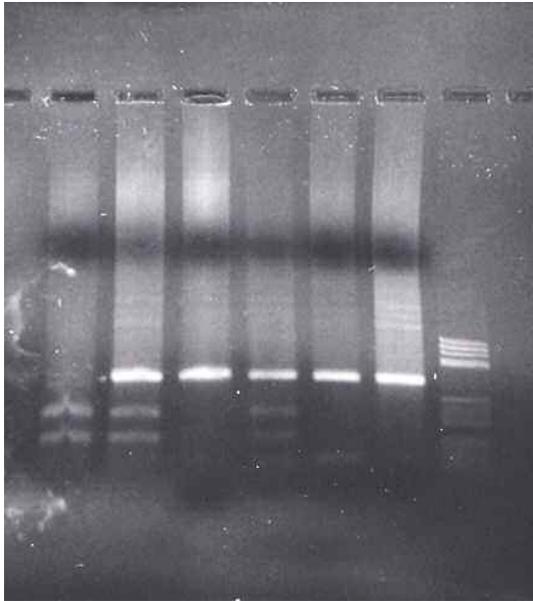
L'assenza del sito di restrizione per *MspI* in entrambi gli alleli rappresenta il genotipo omozigote *wild-type* (selvatico, *wt/wt*) ed è caratterizzato da un singolo frammento di 335bp. Gli individui con la mutazione presente in entrambi gli alleli e quindi omozigoti per l'allele mutato (*m/m*), presentano due frammenti di 206bp e 129bp. I soggetti eterozigoti con un allele *wild-type* e un allele mutato (*wt/m*), presentano sia il frammento di 335bp che i due frammenti di 206bp e 129bp (Vedi Figura 5).

Dall'analisi della nostra casistica, 17 pazienti sono risultati monozigoti per l'allele selvatico, 6 sono risultati eterozigoti e solo un soggetto affetto ha mostrato di avere la mutazione in monozigosi. Nel gruppo dei controlli, 11 persone sono risultate monozigoti per l'allele selvatico e 9 soggetti sono risultati eterozigoti; nessuno è risultato portatore della mutazione in monozigosi.

Non si è riscontrata alcuna differenza statisticamente significativa nella frequenza dell'allele mutato tra il gruppo dei pazienti e il gruppo dei controlli.

Osservando la possibile relazione con le altre variabili in studio, si è osservata un'età di esordio di malattia ed un indice di severità tendenzialmente maggiore nel gruppo di pazienti eterozigoti, ma tali differenze non sono risultate statisticamente significative.

Figura 5. Elettroforesi su gel di agarosio dei prodotti di PCR/RFLP di alcuni pazienti.



Capitolo 5

DISCUSSIONE

5.1 Analisi clinico-epidemiologica

L'acne è patologia a patogenesi multifattoriale, che colpisce il follicolo pilo-sebaceo e caratterizzata clinicamente dalla formazione di lesioni pleomorfe, comedoni, papule, pustole e meno frequentemente da noduli e pseudocisti che, in alcuni casi, possono determinare esiti cicatriziali. Sedi coinvolte sono quelle a maggior concentrazione di ghiandole sebacee, quali volto, dorso (regione scapolare) e tronco (regione sternale).

Tale patologia è stata per troppo tempo sottovalutata e snobbata nonostante la sua alta incidenza e notevole rilevanza sociale e con notevole impatto psicologico sui pazienti. Da studi epidemiologici si è osservato che è la malattia cutanea più comune, ma non solo è la condizione patologica con la più alta incidenza cumulativa nella popolazione generale. Colpisce soprattutto gli adolescenti, ma può continuare a rappresentare un problema clinico, o insorgere, oltre i vent'anni d'età e comporta un notevole disagio psicologico.

A tutt'oggi rappresenta ancora una sfida per i dermatologi per la sua prevalenza, complessità eziopatogenetica, polimorfismo di espressione clinica.

Al fine di migliorare la nostra comprensione di tale patologia per un più corretto approccio terapeutico è necessario perciò sviluppare degli studi per chiarire l'eziologia ed eziopatogenesi e per individuare dei fattori prognostici di severità e evoluzione dell'acne.

Nel nostro studio abbiamo quindi cercato di analizzare una serie di variabili clinico-epidemiologiche al fine di individuarne la possibile correlazione con i caratteri evolutivi o la severità dell'acne, definendo così dei possibili fattori prognostici di malattia.

Sono stati arruolati complessivamente 210 pazienti, 122 femmine e 88 maschi, con un'età compresa tra 10 e 39 anni, affetti da acne di grado da lieve a severo.

L'età di esordio della malattia nella nostra popolazione è risultata pari a un minimo di 8 anni per le femmine e 10 anni per i maschi e un massimo di 35 anni per le femmine e 19 anni per i maschi, con una media di 14.4 anni (mediana = 13 anni) per le femmine e 13.8

anni (mediana = 14 anni) per i maschi. Da questi dati sembrerebbe che le femmine abbiano un'età di esordio maggiore che nei maschi, al contrario di quanto riportato in letteratura. In realtà osservando in modo più approfondito i risultati, si vede che l'acne late-onset è pressochè appannaggio solo delle femmine (un solo maschio aveva età di esordio maggiore di 18 anni). Considerando quindi solo le femmine con età di esordio <18 anni, escludendo i casi di acne late-onset, l'età media di esordio di acne è pari a 12.8 anni, perciò inferiore a quella dei maschi, come confermato anche dal confronto delle mediane (F: 13 anni vs M: 14 anni).

Un'altra delle variabili oggetto di osservazione e il cui ruolo è ancora dibattuto nella letteratura, è l'ereditarietà (11,24,37,38). La maggior parte dei pazienti (68.6%) della nostra casistica presenta una familiarità positiva per acne per almeno un familiare di primo, secondo grado; in particolare dominante è la familiarità per uno dei due genitori (32.6% per il padre; 30.2% per la mamma). Da questo si deduce che dei fattori ereditari concorrono in qualche modo nel determinismo della malattia. Inoltre se consideriamo separatamente il gruppo di pazienti con acne late-onset, si osserva che in questo gruppo solo il 27.8% dei pazienti (5 pazienti su un totale di 18) ha una familiarità positiva per acne, e di questi solo una paziente aveva familiarità per uno dei due genitori, mentre gli altri per un fratello o parente di grado maggiore. Quindi nel gruppo di pazienti con la forma classica di acne giovanile, escludendo i casi di acne late-onset, la familiarità viene a pesare in modo maggiore (72.9% dei pazienti con acne giovanile ha familiarità positiva).

E' interessante notare ancora a proposito della variabile familiarità, che i pazienti con familiarità positiva per entrambi i genitori, hanno presentato delle forme di acne, esordita ad una età media di 12.3 anni, con storia naturale, evoluzione tendenzialmente lunga, con necessità di plurimi e molteplici schemi terapeutici per ottenere un buon controllo delle manifestazioni cliniche.

Per quanto riguarda la sede di esordio della malattia, a conferma di quanto riportato in letteratura, si è osservato che nella quasi totalità dei casi (92.7%), le prime lesioni acneiche hanno coinvolto il volto, nel 69.1% come unica sede di interessamento e nel

23.6% in associazione al dorso e/o alla regione sternale. Da sottolineare il fatto che dei pazienti con sede di esordio al dorso, la maggior parte (58.3%) sono maschi.

Un'altra problematica riguardante l'acne, legata principalmente al suo polimorfismo clinico ed evolutivo, è il fatto che ad oggi non esiste un sistema di *grading* della severità di malattia universalmente accettato. Un sistema di *grading* ideale dovrebbe essere accurato e riproducibile e al tempo stesso di facile applicazione anche nella comune pratica ambulatoriale.

Attualmente dall'analisi della letteratura risulta che i sistemi ritenuti più validi ed accettati sono la tecnica di Leeds basata sulla scala fotografica (Cunliffe score) e il Global Acne Grading System (GAGS) proposto da Doshi e coll. nel 1997. Qualche anno fa nel corso del *DODAC meeting* del Novembre 2002, la FDA ha proposto un sistema di *grading* semplificato, la Global Evaluation Scale, nel tentativo di avere un sistema utilizzabile da tutti, per un valido confronto tra i vari studi ed in particolare per una corretta analisi di trials clinico-terapeutici.

Nel nostro studio abbiamo perciò utilizzato questi 3 sistemi di *grading* e li abbiamo confrontati tra loro.

Tali sistemi presentano però dei limiti, per cui abbiamo cercato di mettere a punto un ulteriore sistema di *grading*, che possa essere maggiormente accurato e al tempo stesso comunque di facile applicabilità. In particolare la tecnica di Leeds è molto valida in quanto particolarmente accurata, distinguendo l'interessamento del volto da quello del tronco, e semplice da applicare; ha il limite però, di richiedere delle fotografie, fatto che può determinare delle difficoltà per qualcuno, anche se oggi, con l'avvento della fotografia digitale, comporta meno costi di qualche anno fa. Il GAGS dà uno score globale per volto e tronco, che può essere vantaggioso in alcuni casi, ma in altri può far perdere la rilevanza di alcuni fattori e ha il limite che un paziente con molte lesioni anche infiammatorie confinate in un'unica sede può risultare avere uno score minore di un paziente con lesioni minime, ma diffuse in varie sedi.

Sulla base di queste osservazioni abbiamo perciò pensato di modificare il GAGS, stabilendo così un ulteriore sistema di *grading*, che abbiamo chiamato GAGS modificato, semplicemente dividendo lo score globale, ottenuto con il GAGS, per il numero di aree coinvolte, in modo da dare maggior peso al tipo di lesione, piuttosto che all'estensione. In base ad un'analisi preliminare dei dati a nostra disposizione ci siamo resi conto che era comunque utile avere un sistema di *grading* che differenziasse lo score del volto da quello del tronco, come con la tecnica di Leeds. Abbiamo quindi messo a punto un'ulteriore sistema di *grading*, che abbiamo chiamato GAGS differenziato, sempre partendo dal GAGS e differenziando il global score delle 5 aree del volto, dal global score delle aree di coinvolgimento del tronco, come più dettagliatamente illustrato nella sezione "Materiali e Metodi".

L'indice di severità calcolato con il GAGS e quello calcolato con il GAGS modificato sono risultati positivamente correlati tra loro e anche con lo score definito sulla base della GES; così pure si è riscontrata una correlazione positiva tra il Cunliffe score del volto e quello del tronco con gli score calcolati utilizzando il GAGS differenziato. Tale correlazione si è evidenziata anche nel caso della valutazione a 3 mesi di follow-up. In tutti i casi il coefficiente di correlazione è risultato ≥ 0.7 ($p < 0.001$). Tali dati dimostrano la validità di questi ulteriori sistemi di *grading* sia in fase di attività della malattia che in corso di trattamento con il miglioramento delle manifestazioni cliniche.

Analizzando le possibili correlazioni esistenti tra le varie variabili in studio e i sistemi di *grading* della malattia, al fine di individuare dei fattori prognostici per la severità, gravità di malattia, abbiamo avuto le seguenti risultanze.

Innanzitutto per quanto riguarda la variabile sesso si è osservato, in accordo a quanto riportato in letteratura (39), che i maschi hanno un'acne più severa delle femmine, soprattutto nel caso di interessamento del tronco. Infatti è stato osservato un GAGS maggiore, con una differenza statisticamente significativa ($p < 0.001$), nei pazienti maschi rispetto alle femmine (GAGS medio M vs F = 20.65 vs 16.21) e analizzando separatamente l'interessamento del volto e del tronco, utilizzando il Cunliffe score, si è

trovata un'analogha differenza statisticamente significativa ($p < 0.001$) nel caso del tronco (score medio M vs F = 2.17 vs 0.74). Invece considerando esclusivamente l'interessamento del volto, non si è trovata una differenza statisticamente significativa tra lo score di severità dei maschi e quello delle femmine.

Che il sesso maschile rappresenti un fattore prognostico negativo, è confermato anche dall'osservazione della distribuzione delle forme di acne lieve, moderate e severe tra maschi e femmine, come illustrato nei grafici 1a, 1b, 1c e 2a, 2b, 2c riportati nella sezione dei risultati. Osservando tali grafici si nota infatti che le forme più lievi sono a prevalenza femminile, mentre quelle moderato-severe sono a prevalenza maschile.

Confrontando i sistemi di scoring sempre in relazione alla variabile sesso è interessante notare anche come ai 12 mesi utilizzando il GAGS, le femmine sembrano avere un acne più severa dei maschi, mentre con la tecnica di Leeds il contrario. Dato quest'ultimo confermato utilizzando il GAGS modificato, ma osservando l'indice di severità calcolato tramite il GAGS differenziato, che ci dà un maggior dettaglio, si nota una gravità più o meno uguale tra maschi e femmine per il volto, mentre è di gran lunga più grave l'interessamento del tronco per i maschi.

Da questi dati si può dedurre l'importanza di avere un sistema di grading che differenzi lo score del volto da quello del tronco.

Come altra variabile di interesse ai fini prognostici abbiamo considerato l'età di esordio della malattia, la quale è risultata inversamente correlata con il global score (coefficiente di Pearson $r = -0.139, p < 0.05$), ma non è stata riscontrata alcuna correlazione con il Cunliffe score, né per il volto, né per il tronco. Quindi risulta ancora discutibile la rilevanza di una precoce insorgenza della malattia come fattore prognostico di severità.

Alcuni studi hanno segnalato come possibile fattore prognostico negativo un BMI aumentato, che sarebbe correlato con uno stato di iperinsulinemia che favorirebbe l'acne. Inoltre gli adipociti producono IL-6, citochina pro-infiammatoria; quindi un BMI aumentato, potrebbe essere associato ad un'acne più infiammatoria e perciò più severa. Tuttavia analizzando la nostra popolazione non è stata osservata alcun tipo di correlazione tra il BMI e la severità di malattia calcolata con i vari sistemi di grading.

Anche suddividendo la popolazione in base al BMI \geq o $<$ 25, limite che definisce il sovrappeso, non è stata trovata una differenza statisticamente significativa tra lo score di severità dei pazienti con BMI \geq 25 (pazienti in sovrappeso o obesi) e quello dei pazienti con BMI $<$ 25 (pazienti normopeso o sottopeso).

Un'altra variabile analizzata è stata la familiarità. Prima abbiamo dimostrato come la familiarità sia importante nell'eziopatogenesi della malattia, ma nell'analisi della nostra casistica, non riveste alcun ruolo come fattore prognostico di severità, come invece affermato in alcuni studi della letteratura. Infatti non abbiamo osservata alcuna differenza statisticamente significativa tra gli indici di severità di malattia del gruppo di pazienti con familiarità positiva per almeno un parente di primo e/o secondo grado, rispetto al gruppo dei pazienti senza storia familiare di acne. Non si sono riscontrate differenze significative neanche considerando come familiarità positiva solo il caso di uno o entrambi i genitori affetti e non considerando gli altri familiari.

Ancora altri studi hanno preso in considerazione come variabile di studio per le pazienti femmine, l'età del menarca e la relazione temporale con il momento di esordio dell'acne e l'eventuale correlazione tra quest'ultima e la severità di malattia. Nella nostra popolazione l'età media del menarca è risultata pari a 12.3 anni. Questo dato è in linea con quanto riportato in letteratura (40). Il 65.5% delle pazienti con acne giovanile (quindi la maggior parte), ha avuto l'insorgenza dell'acne dopo il menarca, ed in particolare dopo un tempo medio di 22.8 mesi. Nelle altre pazienti invece, l'acne è esordita in media 14.6 mesi prima del menarca. Per quanto riguarda la relazione con la severità della malattia, dato contraddittorio in letteratura (40,41), nell'analisi della nostra casistica non è stata riscontrata alcuna differenza statisticamente significativa tra la gravità dell'acne del gruppo di pazienti con esordio di malattia prima del menarca e quella delle pazienti con esordio di malattia dopo il menarca, salvo che per l'interessamento del tronco. In questo caso infatti, il Cunliffe score medio per il tronco, nelle pazienti con acne ad esordio prima del menarca, è risultato pari a 1.55, significativamente ($p= 0.01$) maggiore del Cunliffe score medio del tronco, pari a 0.44, nelle pazienti con acne ad insorgenza post-menarca. Quindi l'esordio della malattia

prima del menarca risulta essere un fattore prognostico negativo per il coinvolgimento del tronco. Questo dato ci dimostra ancora una volta l'utilità di avere un sistema di grading differenziato tra volto e tronco, per una corretta interpretazione dei dati.

Analizzando la risposta alla terapia, si è osservata in generale un'efficacia della stessa, soprattutto con i farmaci sistemici, dimostrata dalla riduzione statisticamente significativa ($p \leq 0.01$), degli indici di severità alla valutazione a 3 mesi di follow-up. Il miglioramento delle manifestazioni cliniche è proseguito negli ulteriori 3 mesi di follow-up; ma alla valutazione ai 12 mesi di follow-up, dopo la necessaria sospensione della terapia per completamento dei protocolli terapeutici e/o per ragioni climatiche (periodo estivo), si è registrata una recidiva della malattia con gravità pressoché uguale o lievemente inferiore rispetto al momento della prima visita, tranne per i pazienti che avevano fatto una terapia con retinoidi per os per i quali è stata invece registrato una remissione di malattia più duratura o una recidiva molto più lieve. Evidenza questa confermata dai dati della letteratura.

5.2 Analisi polimorfismi

La cheratinizzazione dell'infundibolo follicolare, la seborrea e la colonizzazione dell'unità pilo-sebacea da parte del *Propionibacterium acnes* sembrano giocare un ruolo centrale nella patogenesi dell'acne. Condizione necessaria per lo sviluppo di acne è la presenza di ghiandole sebacee attivamente funzionanti sotto lo stimolo ormonale androgeno.

Alcuni studi hanno documentato come fattori genetici possano influenzare la suscettibilità all'acne. L'influenza della genetica è confermata da un'elevata concordanza per la malattia nei gemelli monozigoti. In tali gemelli, la gravità dell'acne e il grado di secrezione sebacea sono virtualmente identici.

L'azione degli androgeni a livello cellulare è mediata dal recettore per gli androgeni, membro della superfamiglia dei recettori nucleari. Essenziale per l'attività trascrizionale

di questo recettore è il dominio amino-terminale, il quale contiene una regione poliglutaminica codificata da ripetuti trinucleotidi CAG. Il numero di tali CAG ripetuti è polimorfico. Recentemente alcuni studi hanno dimostrato l'associazione di tali polimorfismi con acne e altre patologie "androgeno-dipendenti" come l'alopecia androgenetica e il cancro prostatico. In questi studi è stato dimostrato che il numero di CAG ripetuti è inversamente proporzionale all'attività del recettore androgenetico (25-27).

Nel nostro studio è stato possibile studiare tale polimorfismo in un gruppo di 24 pazienti, che abbiamo confrontato con un gruppo di 20 controlli. Dai nostri risultati, anche se molto limitati, considerata l'esigua numerosità del campione, il polimorfismo per il recettore degli androgeni non sembra coinvolto nel determinismo dell'acne, in quanto non è stata riscontrata una differenza statisticamente significativa nel numero medio di triplette CAG ripetute tra i due gruppi in esame. Inoltre sembra non rappresentare neanche un fattore prognostico, in quanto non si è osservata alcun tipo di correlazione tra il numero di triplette CAG ripetute e l'età di esordio della malattia o l'indice di severità calcolato sulla base del GAGS o della GES.

Altri studi di genetica hanno evidenziato la presenza nei pazienti acneici di un'alta frequenza di mutazioni a livello della regione regolatoria del gene codificante per il citocromo P-450 1A1, che è coinvolto nel metabolismo dei retinoidi naturali e sintetici. I retinoidi naturali sono coinvolti nel differenziamento dei sebociti e nel processo di cheratinizzazione del follicolo pilo-sebaceo. In particolare in uno studio recente è stata segnalata in pazienti acneici la transizione da timina a citosina in posizione 6235 del gene per il citocromo P-450 1A1 (28). Tale mutazione potrebbe rappresentare un marker di alterazione dei siti regolatori con il risultato di una più rapida metabolizzazione dei retinoidi naturali, come la vitamina A.

Sulla base di queste considerazioni abbiamo valutato l'eventuale presenza di tale mutazione nei nostri 24 pazienti che hanno consentito al prelievo ematico per l'indagine genetica e nel gruppo di 20 soggetti mai affetti da acne.

Analizzando i nostri risultati non si è riscontrata una differenza statisticamente significativa nella frequenza dell'allele mutato tra il gruppo dei pazienti e il gruppo dei controlli, anche se l'allele mutato risulta avere una frequenza maggiore tra i pazienti rispetto ai controlli (11.4% vs 8.6%).

Per quanto riguarda la relazione con le altre variabili in studio, si è osservata un'età di esordio di malattia ed un indice di severità tendenzialmente maggiore nel gruppo di pazienti eterozigoti, ma tali differenze non sono risultate statisticamente significative.

Sono quindi necessari ulteriori studi su gruppi di pazienti più ampi per stabilire il possibile ruolo della mutazione in studio del gene del CYP450 1A1, nell'eziopatogenesi dell'acne e come fattore prognostico.

5.3 Conclusioni

Concludendo, dall'analisi dei dati fin qui ottenuti, possiamo dire che le femmine hanno un'età di insorgenza tendenzialmente inferiore rispetto ai maschi. La familiarità e quindi dei fattori ereditari, giocano sicuramente un ruolo importante nel determinismo della acne giovanile. Inoltre anche se non vi è una correlazione con il grado di severità della malattia, la familiarità in particolare per entrambi i genitori, potrebbe incidere sulla "durata" della malattia.

Invece l'acne late-onset presenta delle peculiarità che la differenziano dall'acne giovanile e che sottintendono perciò dei fattori eziopatogenetici diversi: è pressoché appannaggio solo delle femmine, la familiarità non ha una rilevanza significativa.

Gli ormoni maschili (considerando le differenze di espressione clinica della malattia nei due sessi) giocano un ruolo importante nel grado di severità della malattia, soprattutto per particolari aree corporee.

Per quanto riguarda le femmine l'acne nella maggior parte dei casi insorge dopo il menarca e nei casi in cui l'esordio è prima del menarca, questo può rappresentare un fattore prognostico negativo per la severità di coinvolgimento del tronco.

Risulta utile avere un sistema di grading che dia uno score di severità separato per il volto e per il tronco.

Per quanto riguarda lo studio dei 2 fattori genetici presi in esame, in base all'analisi preliminare (considerato il piccolo numero di pazienti studiati) da noi condotta, il polimorfismo che sembra avere presumibilmente una rilevanza maggiore nella storia naturale dell'acne, è quello del gene del CYP450 1A1.

Per chiarire il ruolo comunque di quest'ultimo fattore sono comunque necessari ulteriori studi, condotti su una popolazione più ampia di soggetti.

Allegato 1

Scheda acne

I visita

Data _____

Cognome _____ Nome _____ sesso M F

Nato a _____ il ___/___/_____ (età: _____)

Residente a _____ via _____

N° telefono _____ Inviato da _____

Dati anamnestici

Età esordio (dei primi comedoni): _____; Sede: _____

Familiarità: NO SI: mamma papà entrambi altri

(_____)

Mamma

Altezza = _____ cm; peso = _____ kg

Altre malattie cutanee:

- irsutismo/ipertricosi
- _____

Altre malattie:

- policistosi ovarica
- obesità
- _____

Papà

Altezza = _____ cm; peso = _____ kg

Altre malattie cutanee:

- alopecia androgenetica
- _____

Altre malattie:

- obesità
- _____

Menarca: _____; Cicli: regolari irregolari R Q D; Pubarca: _____

Malattie cutanee associate:

- irsutismo/ipertricosi
- alopecia androgenetica
- _____
- _____

Altre malattie associate:

- policistosi ovarica
- _____
- obesità
- _____

Esame obiettivo

Altezza = _____ cm; Peso = _____ kg

Tipo lesioni: comedoni papule pustole noduli cisti cicatrici altro:

Sede: viso → fronte zigomi mento regione periorale

dorso

regione sternale

arti superiori → spalle braccia

Grado: n° comedoni → <5 5-15 16-25 26-35 >35

n° papule → <5 5-15 16-25 26-35 >35

n° noduli → <5 5-15 16-25 26-35 >35

Global Acne Grading System (Doshi A. et al., Int. J Dermatol 1997) *modificato*:

- Score regionale:

Grade: 0 no lesioni

1 ≥ 1 comedone

2 ≥ 1 papula

3 ≥ 1 pustola

4 ≥ 1 nodulo

- Fronte x2 =+
- Guancia dx x2 =+
- Guancia sin x2 =+
- Naso x1 =+
- Mento x1 =+
- Torace/dorso x3 ==

GS=

(GS = 1-18 acne lieve; 19-30 acne moderata; 31-38 acne severa; >39 acne molto severa)

- Global score modificato = somma degli scores regionali/n° delle regioni coinvolte
=...../.....=.....

Cunliffe score (Leeds technique 1984): scala fotonumerica

- Volto →
- Tronco →

Segni clinici associati: irsutismo/ipertricosi obesità alopecia androgenetica seborrea

Accertamenti

Dosaggi ormonali: (entro il 7° giorno del ciclo, ripetendo il progesterone il 20°-21° giorno)

- | | | |
|--|--------|-----------|
| <input type="checkbox"/> DHEA-S | =..... | (v.n. -) |
| <input type="checkbox"/> Testosterone totale | =..... | (v.n. -) |
| <input type="checkbox"/> Testosterone libero | =..... | (v.n. -) |
| <input type="checkbox"/> Diidrotestosterone | =..... | (v.n. -) |
| <input type="checkbox"/> Androstenedione | =..... | (v.n. -) |
| <input type="checkbox"/> Progesterone / 17-OH progesterone | =..... | (v.n. -) |
| <input type="checkbox"/> Estradiolo | =..... | (v.n. -) |
| <input type="checkbox"/> Androsterone glucoronide | =..... | (v.n. -) |
| <input type="checkbox"/> LH/FSH ratio | =..... | (v.n. -) |
| <input type="checkbox"/> Prolattina | =..... | (v.n. -) |
| <input type="checkbox"/> SHBG | =..... | (v.n. -) |
| <input type="checkbox"/> TSH / fT3 / fT4 | =..... | (v.n. -) |

ECO ovarica: (eseguita lontano dal periodo ovulatorio)

- Policistosi ovarica: NO SI

Terapie effettuate

Topiche:

	<i>Risposta</i>	invariata	sufficiente	discreta	buona	ottima
<input type="checkbox"/> Retinoide: _____						
<input type="checkbox"/> Antibiotico: _____						
<input type="checkbox"/> Benzoilperossido: _____						
<input type="checkbox"/> Spironolattone						
<input type="checkbox"/> Detergente: _____						
<input type="checkbox"/> Prodotti a base di zolfo						
<input type="checkbox"/> Creme cosmetiche: _____						

Sistemiche:

	<i>Risposta</i>	invariata	sufficiente	discreta	buona	ottima
<input type="checkbox"/> Antibiotico: _____						
<input type="checkbox"/> Retinoide: _____						
<input type="checkbox"/> Estroprogestinico: _____						
<input type="checkbox"/> Spironolattone						
<input type="checkbox"/> Ciproterone acetato						

Effetti collaterali in corso di terapia:

- Cute secca
- Eritema
- Irritazione
- Desquamazione
- Bruciore
- Altro:

Terapia in atto:

.....

.....

.....

Programma terapeutico:

.....

.....

.....

Allegato 2

Scheda acne
Follow up

Data _____

Cognome _____ Nome _____

Esame obiettivo

Tipo lesioni: comedoni papule pustole noduli cisti cicatrici altro:

Sede: viso → fronte zigomi mento regione periorale

dorso

regione sternale

arti superiori → spalle braccia

Grado: n° comedoni → <5 5-15 16-25 26-35 >35

n° papule → <5 5-15 16-25 26-35 >35

n° noduli → <5 5-15 16-25 26-35 >35

Foto: SI NO

Valutazione della risposta alla terapia

Giudizio del paziente:

- Invariata
- Sufficiente
- Discreta
- Buona
- Ottima

Giudizio del medico:

- Invariata
- Sufficiente
- Discreta
- Buona
- Ottima

Cunliffe score (Leeds technique 1984): scala fotonumerica

- Volto →
- Tronco →

Global Acne Grading System (Doshi A. et al., Int. J Dermatol 1997):

- Score regionale:

Grade: 0 no lesioni

1 \geq 1 comedone

2 \geq 1 papula

3 \geq 1 pustola

4 \geq 1 nodulo

- Frontex2 =+
 - Guancia dxx2 =+
 - Guancia sinx2 =+
 - Nasox1 =+
 - Mentox1 =+
 - Torace/dorsox3 ==
-

- Global score modificato = somma degli scores regionali/n° delle regioni coinvolte:

...../.....=.....

Effetti collaterali in corso di terapia:

- Cute secca
- Eritema
- Irritazione
- Desquamazione
- Bruciore
- Altro:

Programma terapeutico:

.....

.....

.....

.....

.....

BIBLIOGRAFIA

1. Tan JK, Vasey K, Fung KY. Beliefs and perceptions of patients with acne. *J Am Acad Dermatol* 2001; 44: 439-45.
2. 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: 274-9.
3. Aktan S, Ozmen E, Sanli B. Anxiety, depression, and nature of acne vulgaris in adolescents. *Int J Dermatol* 2000; 39: 354-7.
4. White MG. Recent findings in the epidemiologic evidence, classification, and subtypes of acne vulgaris. *J Am Acad Dermatol* 1998; 39: S34-7.
5. Mills CM, Peters TJ, Finlay AY. Does smoking influence acne? *Clin Exp Dermatol* 1993; 18: 100-1.
6. Schafer T, Nienhaus A, Vieluf D, Berger J, Ring J. Epidemiology of acne in the general population: the risk of smoking. *Br J Dermatol* 2001; 145: 100-4.
7. Knaggs HE, Holland DB, Morris C, Wood EJ, Cunliffe WJ. Quantification of cellular proliferation in acne using the monoclonal antibody Ki-67. *J Invest Dermatol* 1994; 102:89-92.
8. Cunliffe WJ, Holland DB, Clark SM, Stables GI. Comedogenesis: some new aetiological, clinical and therapeutic strategies. *Br J Dermatol* 2000; 142: 1084-91.

9. Leyden JJ. New understandings of the pathogenesis of acne. *J Am Acad Dermatol* 1995; 32: 15-25.
10. Stewart ME, Downing DT, Cook JS, Hansen JR, Strauss JS. Sebaceous gland activity and serum dehydroepiandrosterone sulphate levels in boys and girls. *Arch Dermatol* 1992; 128: 1345-8.
11. Herane MI, Ando I. Acne in infancy and acne genetics. *Dermatology* 2003; 206: 24-8.
12. Imperato-McGinley J, Gautier T, Cai LQ, Yee B, Epstein J, Pochi P. The androgen control of sebum production. Studies of subjects with dihydrotestosterone deficiency and complete androgen insensitivity. *J Clin Endocrinol Metabol* 1993; 76: 524-8.
13. Thiboutot D, Gilliland K, Light J, Lookingbill D. Androgen metabolism in sebaceous glands from subjects with and without acne. *Arch Dermatol* 1999; 135: 1041-5.
14. Thiboutot D. Hormones and acne: pathophysiology, clinical evaluation, and therapies. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery* 2001; 20: 144-53.
15. Burkhart CG, Burkhart CN, Lehmann PF. Acne: a review of immunologic and microbiologic factors. *Postgrad Med J* 1999; 75: 328-31.

16. Ingham E, Walters CE, Eady EA, Cove JH, Kearney JN, Cunliffe WJ. Inflammation in acne vulgaris: failure of skin micro-organisms to modulate keratinocyte interleukin 1 α production in vitro. *Dermatology* 1998; 196: 86-8.
17. Holland KT, Aldana O, Bojar RA, Cunliffe WJ, Eady EA, Holland DB, Ingham E, McGeown C, Till A, Walters C. *Propionibacterium acnes* and acne. *Dermatology* 1998; 196: 67-8.
18. Guy R, Kealey T. Modelling the infundibulum in acne. *Dermatology* 1998; 196: 32-7.
19. Downing DT, Stewart ME, Wertz PW, Strauss JS. Essential fatty acids and acne. *J Am Acad Dermatol* 1986; 14: 221-5.
20. Oberemok SS, Salita AR. Acne vulgaris, I: pathogenesis and diagnosis. *Cutis* 2002; 70:101-5.
21. Kim J, Ochoa MT, Krutzik SR, Takeuchi O, Uematsu S, Legaspi AJ, Brightbill HD, Holland D, Cunliffe WJ, Akira S, Sieling PA, Godowski PJ, Modlin RL. Activation of toll-like receptor 2 in acne triggers inflammatory cytokine responses. *J Immunol* 2002; 169: 1535-41.
22. Friedman GD. Twin studies of disease heritability based on medical records: application to acne vulgaris. *Acta Genet Med Gemellol (Roma)* 1984; 33: 487-95.

23. Goulden V, McGeown CH, Cunliffe WJ. The familial risk of adult acne: a comparison between first-degree relatives of affected and unaffected individuals. *Br J Dermatol* 1999; 141: 297-300.
24. Ballanger F, Baudry P, N'Guyen JM, Khammari A, Dréno B. Heredity: A Prognostic Factor for Acne. *Dermatology* 2006; 212: 145-9.
25. Sawaya ME, Salita AR. Androgen receptor polymorphism (CAG repeat lengths) in androgenetic alopecia, hirsutism, and acne. *J Cutan Med Surg* 1998; 3: 9-15.
26. Ellis JA, Stebbing M, Harrap SB. Polymorphism of the androgen receptor gene is associated with male pattern baldness. *J Invest Dermatol* 2001; 116: 452-5.
27. Shibata A, Garcia MI, Cheng I, Stamey TA, McNeal JE, Brooks JD, Henderson S, Yemoto CE, Peehl DM. Polymorphism in the androgen receptor and type II 5 α -reductase genes and prostate cancer prognosis. *The Prostate* 2002; 52: 269-78
28. Paraskevaïdis A, Drakoulis N, Roots I, Orfanos CE, Zouboulis ChC. Polymorphisms in the Human Cytochrome P-450 1A1 Gene (CYP1A1) as a Factor for Developing Acne. *Dermatology* 1998; 196: 171-5.
29. Cordain L, Lindeberg S, Hurtado M, Hill K, Eaton SB, Brand-Miller J. Acne vulgaris: a disease of Western civilization. *Arch Dermatol* 2002; 138: 1584-90.

30. Adebamowo CA, Spiegelman D, Danby FW, Frazier AL, Willet WC, Holmes MD. High school dietary daily intake and teenage acne. *J Am Acad Dermatol* 2005; 52:207-14.
31. Danby FW. Acne and milk, the diet myth, and beyond. *J Am Acad Dermatol* 2005; 52:360-2.
32. Shalita AR. Clinical aspects of acne. *Dermatology* 1998; 196: 93-4.
33. Witkowski JA, Parish LC, Guin JD. Acne grading methods. *Arch Dermatol* 1980; 116: 517-8.
34. Burke BM, Cunliffe WJ. The assessment of acne vulgaris - the Leeds technique. *Br J Dermatol* 1984; 111: 83-92.
35. Doshi A, Zaheer A, Stiller MJ. A comparison of current acne grading systems and proposal of a novel system. *Int. J Dermatol* 1997; 36: 416-8.
36. Gollnick H, Cunliffe W, Berson D, Dreno B, Finlay A, Leyden JJ et al. Management of acne. *J Am Acad Dermatol* 2003; 49 (Suppl 1): S1-37.
37. Walton S, Wyatt EH, Cunliffe WJ: Genetic control of sebum excretion and acne. A twin study. *Br J Dermatol* 1998; 118: 393-6.

38. Bataille V, Snieder H, MacGregor AJ, et al: The influence of genetics and environmental factors in the pathogenesis of acne: a twin study of acne in women. *J Invest Dermatol* 2002; 119: 1317-22.
39. Amado JM, Matos ME, Abreu AM, Loureiro L, Oliveira J, Verde A, Massa A. The prevalence of acne in the north of Portugal. *J European Academy of Dermatology and Venereology* 2006; 20: 1287-95.
40. Lucky AW, Biro FM, Simbarti LA, Morrison JA, Sorg NW. Predictors of severity of acne vulgaris in young adolescent girls: Results of a five-year longitudinal study. *The Journal of Pediatrics* 1997; 130: 30-9.
41. Burton JL, Cunliffe WJ, Stafford I, Shuster S. The prevalence of acne in adolescence. *Br J Dermatol* 1971; 85: 119-26.

Monografie

1. Innocenzi D. *Acne giovanile: problematiche attuali*. J. Medical Books Edizioni. 2004.
2. Fabbri P. *Acne*. Pacini editore. 2007.