



## COMUNICACIÓN CORTA

# Estudio de la expresión de receptores de andrógenos, estrógenos y progesterona mediante inmunohistoquímica en pacientes con alopecia frontal fibrosante

*Expression study of androgen, estrogen and progesterone receptors by immunohistochemistry in patients with frontal fibrosing alopecia*

Néstor Carreño-Orellana<sup>a</sup>, Daniela Alfaro-Sepúlveda<sup>b</sup>✉, María Paz Traipe<sup>a</sup>, Verónica Vial-Letelier<sup>a</sup>.

<sup>a</sup> Departamento de Dermatología, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.

<sup>b</sup> Centro de Salud Familiar N°5, Servicio de Salud Metropolitano Central. Santiago, Chile.

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

#### Historia del Artículo:

Recibido: 28 11 2022

Aceptado: 09 02 2023

#### Key words:

Alopecia; Alopecia Cicatricial; Lichen Planopilaris; Androgens; 5-alpha Reductase Inhibitors.

#### Palabras clave:

Alopecia Frontal Fibrosante; Alopecia Cicatricial; Líquen Plano Pilaris; Andrógenos; Inhibidores 5-alfa Reductasa.

### RESUMEN

*Introducción:* La alopecia frontal fibrosante (AFF) es una alopecia linfocítica primaria cicatricial, cuya patogenia se desconoce. Se han desarrollado distintos regímenes de tratamientos farmacológicos, siendo el finasteride por sí sólo o en combinación con corticoides, un tratamiento efectivo.

*Objetivo:* Evaluar si en pacientes con AFF la expresión de receptores de andrógenos en las células del folículo piloso es diferente en comparación a los controles sanos.

*Métodos:* Se confeccionaron micromatrices de biopsias de cuero cabelludo de muestras seleccionadas de pacientes con diagnóstico clínico de AFF e histopatológico de AFF/líquen plano pilaris; y muestras de cuero cabelludo sano con características epidemiológicas similares a la de los pacientes seleccionados. Se realizó un estudio inmunohistoquímico para evaluar la expresión de receptores de andrógenos, estrógenos y progesterona en todas las muestras

*Resultados:* Se incluyeron 27 pacientes con AFF diagnosticada clínica e histológicamente, y 26 controles. El 48% de los pacientes con AFF presentaba receptores de andrógenos en cuero cabelludo, en comparación con un 27% de los pacientes sin AFF, diferencias estadísticamente no significativas (valor  $p > 0,05$ ). Los receptores de estrógenos y progesterona fueron negativos en todas las muestras de casos y controles.

*Conclusión:* Existe una tendencia a que los pacientes con AFF presenten una mayor expresión de receptores de andrógenos que pacientes sanos. Se requieren estudios con diseños prospectivos y mayores tamaños muestrales para validar estos resultados, los que además podrían evaluar la correlación entre la presencia de receptores de andrógenos y la respuesta a tratamiento antiandrogénico.

### ABSTRACT

*Introduction:* Frontal fibrosing alopecia (FFA) is a lymphocytic primary cicatricial alopecia, which etiology is unknown. Multiple pharmacological therapies have been developed, being finasteride alone or in

✉ Autor para correspondencia

Correo electrónico: [dalfarosep@gmail.com](mailto:dalfarosep@gmail.com)

<https://doi.org/10.1016/j.rmcl.2023.02.006>

e-ISSN: 2531-0186/ ISSN: 0716-8640/© 2023 Revista Médica Clínica Las Condes.

Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



*combination with corticosteroids an effective treatment.*

*Objectives: To evaluate if the expression of androgen, progesterone and estrogen receptors in the hair follicle of patients with FFA differs from healthy controls.*

*Methods: Microarrays were constructed from scalp biopsies taken from patients with a clinical diagnosis of FFA, and histopathological diagnosis of FFA/lichen planopilaris; and from healthy scalp samples from patients with similar demographic characteristics to those of the case group. Immunohistochemical staining was performed to determine the expression of androgen, estrogen and progesterone receptors in all samples.*

*Results: This study included 27 patients with clinical and biopsy-proven FFA and 26 controls. 48% of scalp samples from patients with FFA presented androgen receptors, in contrast to 27% of samples from patients without FFA, although this difference was not statistically significant ( $p$  value  $>0.05$ ). Estrogen and progesterone receptors were negative in all samples.*

*Discussion: There is a tendency for patients with FFA to have a higher concentration of androgen receptors than healthy patients. Studies with prospective designs and larger sample sizes are required to validate these results, which could also evaluate the correlation between the presence of androgen receptors and the response to antiandrogen treatment.*

## INTRODUCCIÓN

La alopecia frontal fibrosante (AFF) es una variante del líquen plano pilaris (LPP) caracterizada por una alopecia cicatricial progresiva del cuero cabelludo en la zona fronto-temporal<sup>1,2</sup>. Su patogénesis no está del todo esclarecida. Sería una enfermedad autoinmune, donde el evento clave es la destrucción de las células madres epiteliales del folículo piloso, mediado por una respuesta inflamatoria linfocítica de tipo Th1<sup>3</sup>.

Se han propuesto una variedad de factores relacionados al inicio de la enfermedad, incluyendo una predisposición genética, influencias hormonales y factores ambientales. La sospecha de una contribución hormonal proviene del alto porcentaje de pacientes con AFF que corresponden a mujeres postmenopáusicas (83%)<sup>1</sup>, período de la vida en el que disminuyen los niveles de estrógenos y la producción de dehidroepiandrosterona (DHEA). Es posible que la reducción de la actividad local de DHEA sea responsable del proceso folicular fibrogénico de esta alopecia. En esta misma línea, se cree que los beneficios obtenidos por la administración de inhibidores de la enzima 5 $\alpha$ -reductasa en la AFF, son secundarios al impedimento de la conversión final de DHEA a dihidrotestosterona. Además, estudios recientes muestran que los pacientes con AFF presentan menores niveles de andrógenos (DHEAS, androstenodiona, testosterona total y libre) en sangre, en comparación a pacientes con LPP<sup>4</sup>.

Clínicamente, la AFF se presenta como un retroceso progresivo de la línea de implantación frontotemporal del cabello, con ausencia de ostium foliculares producto de la fibrosis cicatricial. Existe una pérdida parcial o total de las cejas en el 40 - 95% de los pacientes<sup>2</sup>, mientras que la afectación del vello de las extremidades, pubis y axilas ocurre en la mitad de los casos<sup>1</sup>. Algunos pacientes refieren prurito y/o tricodinia<sup>5</sup>.

El diagnóstico de AFF es clínico e histopatológico. Los hallazgos histopatológicos durante la etapa de actividad de la placa inclu-

yen fibrosis perifolicular y un infiltrado linfocítico con patrón liquenoide que afecta a la zona del istmo y la región infundibular<sup>5</sup>. Esta histología es idéntica a la del LPP<sup>6</sup>.

Respecto al tratamiento, son múltiples las opciones disponibles, ninguna completamente efectiva. Una comúnmente utilizada son los agentes antiandrogénicos, como finasteride (inhibidor de la enzima 5-alfa reductasa), que produce una respuesta parcial, pero satisfactoria<sup>7</sup>.

El objetivo de este estudio fue determinar la expresión de receptores de andrógenos, progesterona y estrógenos en las células del folículo piloso de pacientes con AFF, en comparación a controles sanos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio caso control, retrospectivo. Se utilizaron biopsias cutáneas archivadas en el Departamento de Anatomía Patológica de la Red de Salud UC Christus, entre los años 2011 y 2018.

Los criterios de inclusión fueron: tener una biopsia de cuero cabelludo con histopatología informada, e información clínica y epidemiológica del paciente. El criterio de exclusión fue haber recibido algún tratamiento previamente. Los casos correspondieron a biopsias de pacientes con diagnóstico histopatológico de AFF/LPP y clínico de AFF. Los controles fueron biopsias de pacientes sin enfermedad al examen histopatológico, con características epidemiológicas (sexo y edad) similares a la de los controles.

Se revisaron las láminas para confirmar el diagnóstico informado. Se seleccionaron áreas representativas del tejido con folículos pilosos, y se construyeron micromatrices de tejido (Tissue Microarrays, TMA). Posteriormente, se realizó una tinción inmunohistoquímica (IHQ) para evaluar la expresión de receptores de

andrógenos, estrógenos y progesterona en todas las muestras. Los TMA se ensamblaron utilizando la máquina Manual Tissue Microarray de Beecher Instruments®, modelo MTA-1, con un punch de 2 mm de diámetro (N°cat AP20). Se obtuvieron cilindros del tejido previamente seleccionado y se incluyeron en una micromatriz. Se cortaron secciones de 6 micrones de espesor y luego se realizaron las tinciones mediante IHQ.

Para la IHQ se utilizaron los siguientes anticuerpos monoclonales de Ventana Inc. (Tucson, AZ, EE. UU.): anti-receptor de andrógeno (RA) (Clon SP107), anti-receptor de estrógeno (RE) (Clon SP1) y anti-receptor de progesterona (RP) (Clon 1E2). Las células del folículo piloso se consideraron positivas para los receptores si presentaban un precipitado nuclear color rojo. La intensidad de la tinción fue evaluada semicuantitativamente por tres evaluadores en forma independiente que desconocían el diagnóstico de la muestra.

El porcentaje de células foliculares inmunorreactivas que expresaron receptores de andrógenos, estrógenos o progesterona se clasificaron según la siguiente escala: 0 (<10% de células con tinción positiva); 1 (10-30% de células con tinción positiva); 2 (31-70% de células con tinción positiva); 3 (>70% de células con tinción positiva) (Figura 1).

Se realizaron un total de ocho TMA, de las cuales cuatro pertenecían a los casos y cuatro a los controles. Se realizaron para cada grupo tinciones con hematoxilina-eosina, IHQ para receptores de andrógenos, IHQ para receptores de estrógenos e IHQ para receptores de progesterona. En cada TMA se incluyó un control interno de tinción positivo y negativo (Figura 2).

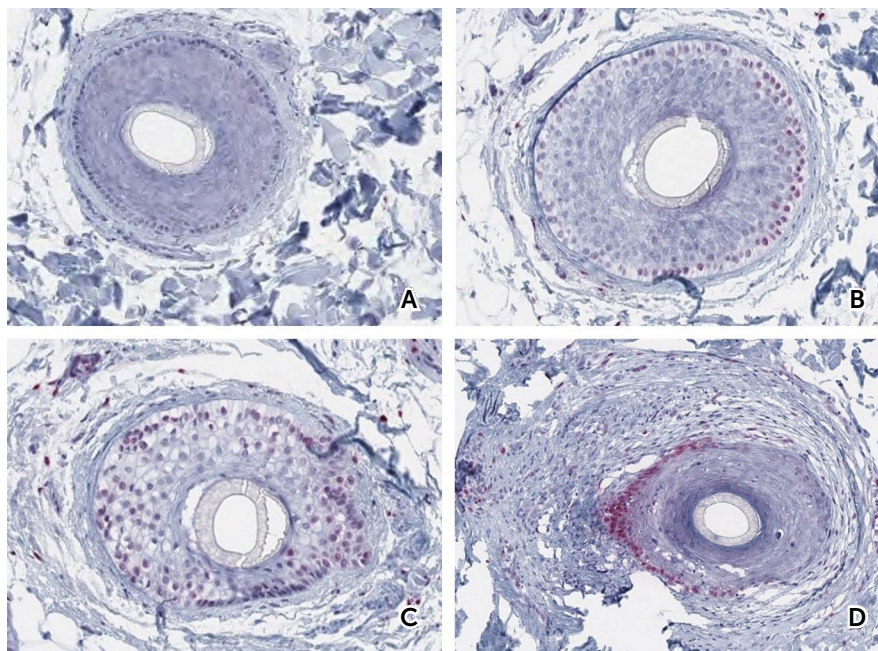
Se realizó un análisis estadístico descriptivo de la muestra. Para determinar la asociación entre dos variables categóricas se utilizó el test  $\chi^2$ , y para la asociación entre variables numéricas y categóricas el test t de Student. Se consideró significativo todo valor-p inferior o igual a 0,05. Los análisis se realizaron utilizando el programa estadístico IBM® SPSS® Statistics V21.0.

## RESULTADOS

Se identificaron 29 casos y 26 controles. Se excluyeron 2 casos, cuyas biopsias fueron destruidas tras las tinciones con IHQ, por lo que para el análisis estadístico se incluyeron 27 casos y 26 controles.

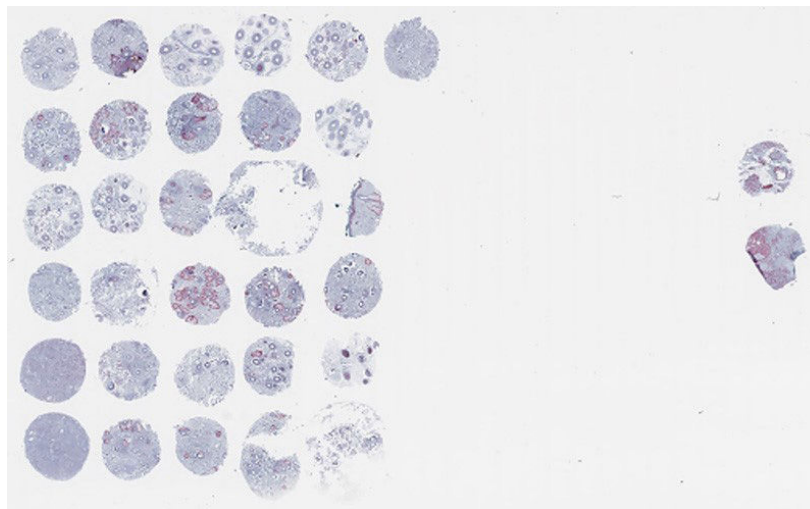
La edad media de todos los participantes (n = 53) fue  $55 \pm 17$  años (rango 23 - 60 años), siendo 92% de ellos mujeres. Las características demográficas de los casos y controles se resumen

**Figura 1. Expresión del receptor de andrógenos mediante inmunohistoquímica. en el folículo piloso (biopsia de cuero cabelludo)**



Se construyó una escala de acuerdo al porcentaje de células foliculares que expresaron receptores de andrógenos. A, puntuación = 0 (menos del 10% de células inmunorreactivas). B, puntuación = 1 (10-30% de células inmunorreactivas). C, puntuación = 2 (31-70% de células inmunorreactivas). D, puntuación = 3 (>70% de células inmunorreactivas).

**Figura 2. Micromatrices de tejido de cuero cabelludo de pacientes con alopecia frontal fibrosante clínica e histopatología de alopecia frontal fibrosante/líquen plano pilar**



Tinción H&E. Se incluyeron controles positivo y negativo, ubicados en la esquina inferior izquierda.

en la Tabla 1. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en cuanto a edad y sexo.

Los receptores de estrógeno y progesterona fueron negativos en todas las muestras de los casos y los controles. Respecto a los receptores de andrógeno, en el grupo de los casos 14 muestras (52%) no exhibieron receptores. Diez muestras (37%) demostraron una tinción positiva para el receptor de andrógenos, con una puntuación = 1, mientras que 3 muestras (11%) tuvieron una puntuación = 2 (Tabla 2).

En el grupo control, 19 muestras (73%) no exhibieron receptores de andrógenos. Seis muestras (23%) tuvieron una tinción positiva para el receptor de andrógenos, con una puntuación = 1, y solo

una muestra (4%) tuvo una puntuación = 2. Utilizando esta escala, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Tabla 2).

Al analizar la expresión de los receptores de andrógenos como variable dicotómica (presencia o ausencia de receptores), el 48% de los casos presentaban receptores de andrógenos en el cuero cabelludo, frente al 27% de los controles. Sin embargo, esta diferencia no fue estadísticamente significativa (Tabla 3). El análisis de potencia post-hoc fue 40%.

**Tabla 2. Frecuencia de células foliculares que expresaron receptores de andrógenos en los casos y controles, según el porcentaje de células foliculares inmunoreactivas**

| Escala de intensidad de expresión de receptores de andrógenos * | Casos (N = 27) | Controles (n = 26) | Valor p ** |
|---|----------------|--------------------|------------|
| 0 (<10%)  | 14 (51,9%)     | 19 (73,1%)         | 0,254      |
| 1 (10-30%)  | 10 (37%)       | 6 (23%)            |            |
| 2 (31-70%)  | 3 (11,1%)      | 1 (3,9%)           |            |
| 3 (>70%)  | -              | -                  |            |

\* Se construyó una escala para clasificar cada muestra según el porcentaje de células foliculares que expresaban receptores de andrógenos (células inmunoreactivas). Se formularon cuatro categorías (0,1,2,3), donde 0 = menos del 10% de células inmunoreactivas; 1 = 10-30% de células inmunoreactivas; 2 = 31-70% de células inmunoreactivas; y 3 = >70% de células inmunoreactivas.

\*\* El valor p fue obtenido utilizando el test  $\chi^2$ .

**Tabla 1. Características demográficas de los pacientes**

|                         | Casos (N = 27) | Controles (N = 26) | Valor p * |
|-------------------------|----------------|--------------------|-----------|
| <b>Sexo</b>             |                |                    | 0,969     |
| <b>Femenino</b>         | 25 (92,6%)     | 24 (92,3%)         |           |
| <b>Masculino</b>        | 2 (7,4%)       | 2 (7,7%)           |           |
| <b>Edad (años) ± DS</b> | 53,4 (± 14,1)  | 56,7 (± 21,5)      | 0,503     |

Características demográficas de los pacientes con diagnóstico clínico e histopatológico de alopecia frontal fibrosante (casos), y los pacientes libres de enfermedad según la histopatología del cuero cabelludo (controles).

\* Los valores p fueron obtenidos a través del test  $\chi^2$  (variables categóricas) y test T de Student (variables continuas). DS: desviación estándar.

**Tabla 3. Frecuencia de células foliculares que expresaron receptores de andrógenos en los casos y controles**

| Receptores de andrógenos | Casos (N = 27) | Controles (N = 26) | Valor p * |
|--------------------------|----------------|--------------------|-----------|
| Presentes                | 13 (48,1%)     | 7 (26,9%)          | 0,111     |
| Ausentes                 | 14 (51,9%)     | 19 (73,1%)         |           |

\* El valor p fue obtenido utilizando el test  $\chi^2$ .

## DISCUSIÓN

Las opciones de tratamientos de la AFF son múltiples, incluyendo corticoides, antipalúdicos, antiandrógenos, entre otros. A menudo se utiliza una combinación de ellos, sin embargo, la respuesta al tratamiento es variable<sup>8</sup>. Con el conocimiento actual es difícil establecer con precisión su eficacia, debido a la falta de ensayos clínicos bien diseñados y a la frecuente inclusión de pacientes que utilizaron simultáneamente más de una terapia. Además, dado el conocimiento limitado sobre la fisiopatología de la AFF, es complejo entender cómo funciona cada fármaco.

Los antiandrógenos finasteride y dutasteride son algunos de los medicamentos utilizados, que poseen mayor evidencia<sup>9</sup>. Dutasteride inhibe la 5-alfa-reductasa tipo 1 y 2. En cambio, finasteride solo inhibe la enzima tipo 2. Pese a eso, no se ha demostrado una mayor eficacia de dutasteride para el tratamiento de AFF, en comparación a finasteride. De ellos, el más utilizado es finasteride, sólo o asociado a minoxidil al 5%. En el estudio de Vañó-Galván et al. (2014)<sup>1</sup>, 102 pacientes con AFF fueron tratados con finasteride (2,5-5 mg/día), de los cuales el 47% experimentó crecimiento del cabello y el 53% estabilización de la alopecia. Dos series de casos concluyeron que el tratamiento combinado con finasteride 2,5 mg/día podía detener o retrasar la progresión de la AFF<sup>10,11</sup>.

Por otro lado, Pindado-Ortega et al. (2021)<sup>12</sup> realizaron un estudio retrospectivo, observacional, para determinar la efectividad de dutasteride en AFF, en comparación a otras terapias sistémicas (finasteride, hidroxycloquina, isotretinoína; n=20), o no recibir tratamiento sistémico (n=56). Se incluyeron a 224 pacientes (222 mujeres) con una media de edad de 61,2 años (rango 34 - 85). Todos los participantes recibieron tratamiento tópico. Se evaluó la respuesta según la estabilización de la línea de receso capilar con una mediana de seguimiento de 24 meses (rango 12 - 108). La estabilización de la alopecia en las regiones frontal, temporal derecha y temporal izquierda a los 12 meses de tratamiento fueron respectivamente, para el grupo con dutasteride (n=148), 62%, 64% y 62%. Mientras, con otras terapias sistémicas, 60%, 35% y 35%, y sin tratamiento 30%, 41% y 38% (valor p=0,000, 0,006 and 0,006, respectivamente). Una limitación de este estudio es el bajo número de participantes que recibieron otros tipos de terapia. Además, todos recibieron algún tratamiento tópico y por lo tanto no se evaluó la efectividad del medicamento aislado. Ranasinghe et al. (2017)<sup>4</sup> realizaron un estudio retrospectivo de 53 pacientes, mostró deficiencia de andrógenos en 32% (n=17) de los casos. Sin embargo, los niveles de hormonas séricas pueden no necesariamente reflejar sus efectos locales en el pelo terminal andrógeno-dependiente<sup>13</sup>, y no existen estudios que muestren la actividad ni concentraciones hormonales a nivel del folículo.

Nuestro estudio muestra negatividad para la presencia de receptores de estrógenos y progesterona en todas las muestras de piel de cuero cabelludo (tanto en casos como controles), pero mayor cantidad de receptores de andrógenos en muestras con AFF, comparado con los controles 48,15% vs 26,93% (p = 0,254). Sin embargo, este estudio no tiene el poder estadístico suficiente para determinar si esta diferencia es realmente estadísticamente significativa. Se necesitan nuevos estudios, con tamaños de muestra más grandes, para aclarar si la expresión de receptores de andrógenos en el folículo piloso es mayor en pacientes con AFF, y si existe una correlación entre el número de receptores y la efectividad de las terapias antiandrogénicas.

### Consideraciones éticas

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Pontificia Universidad Católica de Chile.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vañó-Galván S, Molina-Ruiz AM, Serrano-Falcón C, Arias-Santiago S, Rodríguez-Barata AR, Garnacho-Saucedo G, et al. Frontal fibrosing alopecia: a multicenter review of 355 patients. *J Am Acad Dermatol*. 2014;70(4):670-678. doi: 10.1016/j.jaad.2013.12.003.
2. Starace M, Brandi N, Alessandrini A, Bruni F, Piraccini BM. Frontal fibrosing alopecia: a case series of 65 patients seen in a single Italian centre. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2019;33(2):433-438. doi: 10.1111/jdv.15372.

3. Harries MJ, Meyer K, Chaudhry I, E Kloeppe J, Poblet E, Griffiths CE, et al. Lichen planopilaris is characterized by immune privilege collapse of the hair follicle's epithelial stem cell niche. *J Pathol.* 2013;231(2):236-247. doi: 10.1002/path.4233.
4. Ransinghe GC, Piliang MP, Bergfeld WF. Prevalence of hormonal and endocrine dysfunction in patients with lichen planopilaris (LPP): A retrospective data analysis of 168 patients. *J Am Acad Dermatol.* 2017;76(2):314-320. doi: 10.1016/j.jaad.2016.05.038.
5. Ormaechea-Pérez N, López-Pestaña A, Zubizarreta-Salvador J, Jaka-Moreno A, Panés-Rodríguez A, Tuneu-Valls A. Frontal Fibrosing Alopecia in Men: Presentations in 12 Cases and a Review of the Literature. *Actas Dermosifiliogr.* 2016;107(10):836-844. English, Spanish. doi: 10.1016/j.ad.2016.07.004.
6. Gálvez-Canseco A, Sperling L. Lichen planopilaris and frontal fibrosing alopecia cannot be differentiated by histopathology. *J Cutan Pathol.* 2018;45(5):313-317. doi: 10.1111/cup.13112.
7. Rác E, Gho C, Moorman PW, Noordhoek Hegt V, Neumann HA. Treatment of frontal fibrosing alopecia and lichen planopilaris: a systematic review. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2013;27(12):1461-1470. doi: 10.1111/jdv.12139.
8. Rubegni P, Mandato F, Fimiani M. Frontal Fibrosing Alopecia: Role of Dermoscopy in Differential Diagnosis. *Case Rep Dermatol.* 2010;2(1):40-45. doi: 10.1159/000298283.
9. Gamret AC, Potluri VS, Krishnamurthy K, Fertig RM. Frontal fibrosing alopecia: efficacy of treatment modalities. *Int J Womens Health.* 2019;11:273-285. doi: 10.2147/IJWH.S177308
10. Tosti A, Piraccini BM, Iorizzo M, Misciali C. Frontal fibrosing alopecia in postmenopausal women. *J Am Acad Dermatol.* 2005;52(1):55-60. doi: 10.1016/j.jaad.2004.05.014.
11. Moreno-Ramírez D, Ferrándiz L, Camacho FM. Alopecia frontal fibrosante. Valoración diagnóstica y terapéutica [Diagnostic and therapeutic assessment of frontal fibrosing alopecia]. *Actas Dermosifiliogr.* 2007;98(9):594-602. Spanish.
12. Pindado-Ortega C, Saceda-Corralo D, Moreno-Arrones ÓM, Rodrigues-Barata AR, Hermosa-Gelbard Á, Jaén-Olasolo P, et al. Effectiveness of dutasteride in a large series of patients with frontal fibrosing alopecia in real clinical practice. *J Am Acad Dermatol.* 2021;84(5):1285-1294. doi: 10.1016/j.jaad.2020.09.093.
13. Murad A, Bergfeld W. 5-alpha-reductase inhibitor treatment for frontal fibrosing alopecia: an evidence-based treatment update. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2018;32(8):1385-1390. doi: 10.1111/jdv.14930.