

# Acne Therapy with a Topical Retinoid and Antibacterial Evaluation of Treatment Efficacy using Confocal Laser Microscopy

Authors: Marco Manfredini<sup>1</sup>, Giovanna Mazzaglia<sup>1</sup>, Francesca Farnetani<sup>1</sup>, Victor Desmond Mendel<sup>1</sup>, Stefania Zauli<sup>2</sup>, Vincenzo Bettoli<sup>2</sup>, Annarosa Virgili<sup>2</sup>, Giovanni Pellacani<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dermatology Clinic, University of Modena and Reggio Emilia, Italy

<sup>2</sup> Dermatology Clinic, University of Ferrara, Italy

*Reflectance confocal microscopy can document increasing improvement in infundibular morphology of pilosebaceous units in patients with acne as a consequence of treatment with topical retinoids known for their comedolytic, anti-comedogenic, anti-inflammatory and keratinization-normalising properties, in association with an antibacterial agent.*

## Introduction

*Acne vulgaris* is a very common dermatological pathology with a polymorphic clinical aspect which primarily affects adolescents. Its pathogenesis is the result of various factors, the most important being: the alteration of the keratinisation process of the pilosebaceous structure which leads to the formation of comedones, the alteration of sebum production, and follicular colonisation by *P. Acnes* with the resulting inflammatory pathway<sup>1</sup>. The alteration of the pilosebaceous structure and its hyperkeratinisation is the earliest anatomical sign of acne which cannot be observed by clinical examination only<sup>2,3</sup>.

Various topical and systemic therapies can be undertaken depending on the gravity of the acne and individual patient characteristics. Topical retinoids are well-known drugs used for their effectiveness in treating mild to moderate acne due to their comedolytic, anti-comedolytic and anti-inflammatory properties, and normalization of keratinization processes<sup>4,5</sup>. The effectiveness of anti-acne therapies can be evaluated by clinical analysis, although this not able to identify microscopic alterations in acneic skin or the presence of subclinical lesions. Although histopathological analysis is the ideal method for studying alterations to the piliferous follicle associated with acne pathology, the invasiveness of biopsies and their aesthetic consequences do not make it feasible for regular use.

Reflectance confocal microscopy has been used to study numerous skin pathologies as it enables specialists to explore the epidermis and superficial dermis in a non-invasive way with similar resolution to that of histologies<sup>6</sup>. In addition, as confocal microscopy can be repeated on the same skin area over time, it is ideal for monitoring and measuring the therapeutic efficacy of a drug, or monitoring melanocytic lesions<sup>7</sup>.

## Materials & Methods

Fifteen patients with mild-moderate acne were enrolled in the study, 10 were treated with a topical formulation containing Retinsphere + Biopep-15 (BiRetix Gel Ultra®), 5 were treated with placebo. Patient age ranged from 14-22 years with 12 females and 3 males.

All patients applied the product daily, with clinical visits at the start of the therapy (T0), after 15 days (T1), after 30 (T2) and after 45 days (T3). At each visit clinical photographs were taken of the face and skin areas affected by acne (Canfield Imaging Systems, Fairfield, NJ, USA); these were analyzed according to two clinical scores: Total Lesion Count (TLC), which is the count of total number of lesions and of inflammatory lesions, and the Physician Global Assessment (PhGA), which is a rating of the severity of the condition based on a 0 – 100 graduated scale<sup>8,9</sup>.

Upon enrollment, a 16mm<sup>2</sup> skin area was selected on the face of each patient which was analyzed by Vivascope 1500® confocal microscopy (Caliber I.D., Rochester, NY, USA) at the beginning (T0) and end (T3) of the therapy. All confocal microscopy images were analyzed according to the following parameters: number of normal follicles, number of follicles with shiny dilated infundibular edges (follicles with infundibular hyperkeratinisation, often containing amorphous keratinic material), number of circular structures containing amorphous material (comedones), number of inflammatory papules and number of pustules. Averages and standard deviation were calculated for each parameter at each evaluation. Average values were included in graphs.

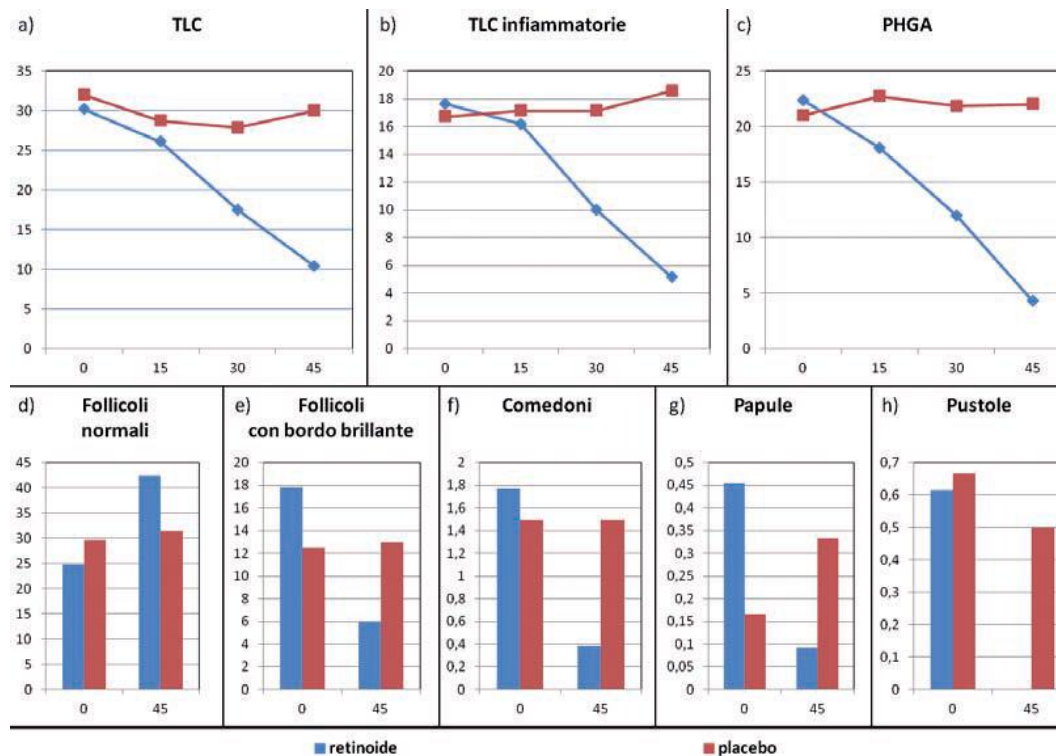
## Results

Before beginning the therapy, patients in the Retinsphere + Biopep-15 test group and the placebo group had similar average number of total lesions, 30.1 (SD 17.5) and 32.0 (SD 22.5) respectively, and inflammatory acne lesions, 17.6 (SD 16.5) and 16.7 (SD 13.6), and similar PhGA, 22.3 (SD 15.3) and 21.0 (SD 11.8).

Parameters measured by Reflectance Confocal Microscopy (RCM) for the group treated with Retinsphere + Biopep-15 and the group treated with placebo evidenced 24.7 (SD 8.5) and 29.6 (SD 10.1) normal pilosebaceous units respectively, 17.8 (SD 8.1) and 12.5 (SD 4.2) follicles with shiny and dilated infundibular edges (piliferous follicles with infundibular keratinization containing amorphous keratinic material) respectively, 1.7 (SD 1.3) and 1.5 (SD 1.1) comedones respectively, 0.4 (SD 0.5) and 0.2 (SD 0.4) papules, and 0.6 (SD 0.6) and 0.6 (SD 0.5) pustules.

After 45 days treatment with Retinsphere + Biopep-15, there was a 70.8% reduction in the total number of acne lesions, a 65.4% clinical reduction in inflammatory lesions, and a 80.8% visual reduction in severity (PhGA). After 45 days treatment with Retinsphere + Biopep-15, the 16 mm<sup>2</sup> sample skin area showed an average reduction in RCM-measured parameters equivalent to 66.3% for the number of follicles with shiny and dilated infundibular edge (follicles with infundibular hyperkeratinisation, often containing amorphous keratinic material), 78.2 % for the number of comedones, 80% for the number of papules and 100% for the number of pustules.

On the other hand, the number of follicles with normal infundibula increased by 71.1%. In the group treated with placebo, the clinical and confocal microscopy measurements showed no significant variations over time with the exception of a small increase in the number of papules compensated for by a corresponding decrease in the number of pustules (**Figure 1**).



**Fig. 1 – Treatment with Retinsphere and BIOPEP•15 significantly reduces all clinical parameters evaluated: TLC (a), number of inflammatory lesions (b), and clinical evaluation of acne severity PhGA (c). The 16mm<sup>2</sup> sample area analysed using confocal microscopy showed an increase in the number of normal infundibula (d) and a corresponding decrease in the number of follicles with shiny, dilated infundibular edges (with infundibular hyperkeratinisation) (e). At the same time the confocal images showed a decrease in the number of comedones (f), papules (g) and pustules (h).**

**In the placebo group the clinical scores and confocal microscopy findings did not significantly vary over time.**

## Discussion

The clinical evaluation using TLC and PhGA confirmed the efficacy of combined Retinsphere + Biopep-15 in the treatment of mild-moderate inflammatory acne.

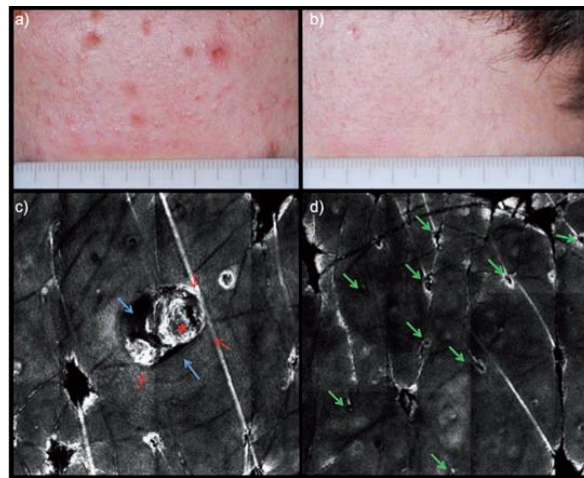
RetinSphere, an innovative complex with retinoidal activity formulated with Glycosphere technology, contrasts the obstruction of pilo-sebaceous follicles.

Biopep-15, a peptide of vegetal origin with important antimicrobial activity, is useful in products for the treatment of symptoms of acne.

The purpose of this study was to further investigate the product using a non-invasive diagnostic technique, reflectance confocal microscopy, to evaluate its activity on acne lesions and follicular alterations not visible to the naked eye. Recent experimentation has demonstrated the bacteriostatic efficacy of BIOPEP•15 in contrasting various strains of *Propionibacterium acnes*, both in agar and broth dilutions<sup>10</sup>.

The use of confocal microscopy allowed evaluation of the entity of morpho-structural alterations of the pilo-sebaceous unit before, during and after topical treatment with an accuracy which would not have been possible with a clinical examination alone (Fig. 2). Confocal microscopy detects the presence of some of the “pathogenetic alterations” associated with acne in a non-invasive manner and with an almost histological resolution, such as infundibular hyperkeratinisation, epidermal

inflammation (exocytosis), dermal inflammation and the visualization of comedones and small or large inflammatory groupings (papules/pustules).



**Fig. 2: Clinical image of a patient with mild-moderate acne before starting therapy. Acne lesions including closed comedones and scraped papules can be observed (a). After applying the topical retinoid for 45 days, the same skin area shows few comedones and no erythematic lesions (b). A close-up image of the area studied by confocal microscopy (1.5 x 1.5 mm) before starting therapy (c) showed some follicles with infundibular hyperkeratinisation. In addition, at the centre of the image there is a lesion characterized by infundibular hyperkeratinisation of a dilated, elliptic, pilo-sebaceous unit with hyporefecting (blue arrow) and hyper-reflecting areas (red arrow) corresponding to a conglomeration of keratinic material (asterisk). After 45 days treatment the same area showed the disappearance of the infundibular dilation and hyperkeratinisation (d). In addition, in the image some infundibula without hyperkeratinisation are visible (green arrows).**

The critical role of infundibular hyperkeratinisation in comedogenesis<sup>11</sup> is documented by confocal microscopy images which reveal infundibular alterations which are initially limited to hyper-reflectance of the infundibular edge. It is hypothesized that this stage is followed by dilation of the infundibular edge and accumulation of amorphous keratinic material, leading to the formation of comedones which can elicit inflammatory infiltration of varying entity and develop into inflammatory lesions or spontaneously regress with a return to the original integral pilo-sabaceous units. Thus a thorough therapy which restores and maintains physiological conditions could be effective in preventing/limiting the number of new lesions and their progression towards more clinically evident and destructive inflammatory forms.

Our data show that with Retinsphere + Biopep-15 treatment, pilo-sebaceous units affected by hyperkeratinisation, the main basis for comedogenetic processes, can return to their original physiological state: there was a 66.3% reduction in the number of follicles with shiny-dilated infundibular edges and a simultaneous 71.1% increase in the number of follicles which appeared normal under confocal microscopy.

After 45 days treatment with Retinsphere + Biopep-15, there is also a reduction in all acne lesions: in fact, the 16 mm<sup>2</sup> sample area showed an average reduction of more than 80% in the number of acne lesions (comedones, papules and pustules). These improvements were strictly correlated to clinical observations regarding the total lesion count reduction (-70.8%).

Further evidence of efficacy was demonstrated by the absence of change in clinical and confocal microscopy parameters in the placebo group where there was no significant variation over time for any of the study criteria. Thus, although initial lesions can eventually disappear, untreated acneic skin tends to produce new lesions, generating an overall stable clinical condition over brief periods

of time. On the other hand, topical treatment with BiRetix Gel Ultra® improves the clinical condition by carrying out both a direct activity on the active lesions, as well as an activity on the underlying acne conditions, promoting the regression of incipient lesions which are visible only by confocal microscopy.

In conclusion, confocal microscopy provides important information for evaluating patients affected by *Acne vulgaris*, making it possible to detect the presence of subclinical infundibular modifications.

Therapy with Retinsphere + Biopep-15 (BiRetix Gel Ultra®) can lead to normalization of the altered pilo-sebaceous units over time. It can thus be hypothesized that the appearance and detection of follicles with shiny-dilated infundibular edges can be an important predictive factor in identifying those patients who will best respond to topical retinoid therapy.

## **Bibliography**

1. Williams HC, Dellavalle RP, Garner S, Acne vulgaris, Lancet, 2012 Jan 28;379:361-72
2. Van Scott EJ, Maccardle RC, Keratinisation of the duct of the sebaceous gland and growth cycle of the hair follicle in the histogenesis of acne in human skin, J Invest dermatol, 1956;27:405-29
3. Holmes RL, Williams M, Cunliffe WJ, Pilo-sebaceous duct obstruction and acne, Br J dermatol, 1972;87:327-32
4. Thielitz A, Sidou F, Gollnick H, Control of microcomedone formation throughout a maintenance treatment with adapalene gel, 0.1%, J Eur Acad Dermatol Venereol 2007;21: 747-53. 95.
5. Leyden JJ, A review of the use of combination therapies for the treatment of acne vulgaris, J Am Acad Dermatol 2003; 49(Suppl):S200-10
6. Longo C, Zalaudek I, Argenziano G, Pellacani G, New directions in dermatopathology: in vivo confocal microscopy in clinical practice, Dermatol Clin, 2012;30:799-814
7. Ardigò M, Agozzino M, Longo C, Conti A, Di Lernia V, Berardesca E, Pellacani G. Psoriasis plaque test with confocal microscopy: evaluation of different microscopic response pathways in NSAID and steroid treated lesions. Skin Res Technol. 2013 Mar 22
8. GibsonJR, Harvey SG, Barth J, Darley CR, Reshad H, Burke CA, assessing inflammatory acne vulgaris-correlation between clinical and photographic methods, Br J Dermatol, 1984;111 Suppl 27:168-70
9. Tabolli S, Sampogna F, Pagliarello C, Paradisi A, Abeni D, Disease severity evaluation among dermatological out-patients: a comparison between the assessments of patients and physicians, J eur acad Dermatol Venereol, 2012;26:213-8
10. R. Bojar, D. J. Fitzgerald, In vitro investigations into the activity of Biopep-15 against 24 clinical isolates of *Propionibacterium acnes*. Evocutis plc, EVO-0406 Oct 2012
11. Cunliffe WJ, Holland DB, Clark SM, Stables GI, Comedogenesis: some aetiological, clinical and therapeutic strategies, Dermatology, 2003;206:11-6

## **Abstract**

### **Topical retinoid and anti-bacterial combined therapy for acne**

Topical retinoid therapy combined with a topical antibacterial (Retinsphere + Biopep-15) induces a clinical improvement in patients with acne which increases with continued use of the product. Reflectance confocal microscopy shows a progressive reduction in hyper-keratinization of hair follicles and a gradual normalization of pilosebaceous units altered during comedogenesis.

## **Keywords**

reflectance confocal microscopy, acne, topical antibacterial

# Terapia dell'acne con retinoide topico e antibatterico

Valutazione dell'efficacia del trattamento con microscopia laser confocale

Marco Manfredini<sup>1</sup>  
Giovanna Mazzaglia<sup>1</sup>  
Francesca Farnetani<sup>1</sup>  
Victor Desmond Mandel<sup>1</sup>  
Stefania Zauli<sup>2</sup>  
Vincenzo Bettoli<sup>2</sup>  
Annarosa Virgili<sup>2</sup>  
Giovanni Pellacani<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Clinica dermatologica  
Università di Modena e Reggio Emilia

<sup>2</sup>Clinica dermatologica  
Università di Ferrara

## Introduzione

L'acne volgare è una patologia molto comune, che colpisce prevalentemente gli adolescenti e ha una presentazione clinica polimorfa. La sua patogenesi è legata a svariati fattori, tra cui i principali sono: l'alterazione del processo di cheratinizzazione dell'unità pilo-sebacea che induce la formazione del comedone, l'alterazione della produzione di sebo, la colonizzazione follicolare da parte di *Propionibacterium acnes* e la cascata di segnali infiammatori che ne deriva (1). L'alterazione delle unità pilo-sebacee e la loro ipercheratinizzazione rappresenta il substrato anatomico più precoce evidenziabile nell'acne, non identificabile attraverso il solo esame clinico (2, 3).

A seconda della gravità dell'acne e delle caratteristiche individuali del paziente possono essere intraprese diverse terapie topiche o sistemiche. I retinoidi topici sono farmaci notoriamente efficaci nella terapia dell'acne lieve e moderata per le loro proprietà comedolitiche, anti-comedogeniche, antinfiammatorie e normalizzanti il processo di cheratinizzazione (4, 5). La valutazione dell'efficacia della terapia dell'acne può essere intrapresa attraverso una valutazione clinica, che però non riesce a identificare le alterazioni microscopiche della cute acneica e la presenza di lesioni subcliniche. Anche se l'istopatologia rappresenta la metodica ottimale per lo studio delle alterazioni del follicolo pilifero associate alla patologia, a causa dell'invasività del prelievo biotico e delle conseguenze estetiche di tale procedura essa non può essere utilizzata quotidianamente.

La microscopia laser confocale è stata impiegata nello studio di molte patologie cutanee in quanto permette di esplorare l'epidermide e il derma superficiale in modo non invasivo e a una risoluzione

*Attraverso lo studio in microscopia confocale è possibile dimostrare un progressivo miglioramento della morfologia infundibolare delle unità pilo-sebacee della cute del paziente acneico grazie al trattamento con retinoidi topici, noti per le proprietà comedolitiche, anti-comedogeniche, antinfiammatorie e normalizzanti del processo di cheratinizzazione, associati ad antibatterici*

simile a quella dell'istologia (6). Inoltre la microscopia confocale è una tecnica che, essendo ripetibile nel tempo sulla stessa area cutanea, risulta ideale per il monitoraggio e la valutazione dell'efficacia terapeutica di un farmaco o per il monitoraggio delle lesioni melanocitarie (7).

### Materiali e metodi

Quindici pazienti affetti da acne lieve-moderata sono stati arruolati nello studio: dieci sono stati trattati con un prodotto formulato con tecnologia Retinsphere e BIOPEP·15 (BiRetix Gel Ultra), mentre cinque sono stati trattati con placebo. I pazienti arruolati avevano un'età compresa tra 14 e 22 anni, comprendendo 12 femmine e 3 maschi.

Tutti i volontari hanno applicato il prodotto con frequenza giornaliera, eseguendo controlli clinici all'inizio della terapia (T0), dopo 15 (T1), 30 (T2) e 45 giorni (T3). A ogni controllo successivo sono state acquisite fotografie cliniche del volto e delle aree affette da acne (Canfield Imaging Systems, Fairfield, NJ, USA) e sono stati valutati due score clinici: il Total Lesion Count (TLC), che consiste nel conteggio delle lesioni totali e delle lesioni infiammatorie, e il Physician Global Assessment (PhGA), che consiste in una valutazione di gravità di malattia attraverso un punteggio da 0 a 100 su scala graduata (8, 9).

Per ogni volontario, al momento dell'arruolamento, è stata individuata un'area cutanea del volto di 16 mm<sup>2</sup>, che è stata registrata all'inizio (T0) e alla fine (T3) della terapia attraverso il microscopio confocale Vivascope 1500 (Caliber I.D., Rochester,

NY, USA). Tutte le immagini di microscopia confocale sono state valutate registrando i seguenti parametri precedentemente descritti (dati in preparazione): numero di follicoli normali, numero di follicoli con bordo infundibolare brillante dilatato (corrispondente a follicoli con ipercheratinizzazione dell'infundibolo talora contenenti materiale cheratinico amorfo), numero di strutture circolari contenenti materiale amorfo (corrispondenti a comedoni), numero di papule infiammatorie e numero di pustole. Medie e deviazioni standard sono state calcolate per ogni parametro a ogni tempo. I valori medi sono stati riportati in grafici.

### Risultati

Prima di iniziare la terapia nel gruppo trattato con Retinsphere e BIOPEP·15 e nel gruppo placebo, i pazienti presentavano in media un numero di lesioni acneiche totali simile, rispettivamente pari a 30,1 (SD 17,5) e 32,0 (SD 22,5), un numero di lesioni acneiche infiammatorie pari a 17,6 (SD 16,5) e 16,7 (SD 13,6) e un PhGA pari a 22,3 (SD 15,3) e 21,0 (SD 11,8).

I valori dei parametri misurati con RCM, nel gruppo trattato con Retinsphere e BIOPEP·15 e nel gruppo trattato con placebo, dimostravano la presenza di un numero di unità pilo-sebacee normali rispettivamente pari a 24,7 (SD 8,5) e 29,6 (SD 10,1), un numero di follicoli con bordo infundibolare brillante e dilatato (corrispondenti a follicoli piliferi con aree di cheratinizzazione dell'infundibolo, contenenti materiale cheratinico amorfo) pari a 17,8 (SD 8,1) e 12,5 (SD 4,2),

un numero di comedoni pari a 1,7 (SD 1,3) e 1,5 (SD 1,1), un numero di papule pari a 0,4 (SD 0,5) e 0,2 (SD 0,4) e un numero di pustole pari a 0,6 (SD 0,6) e 0,6 (SD 0,5).

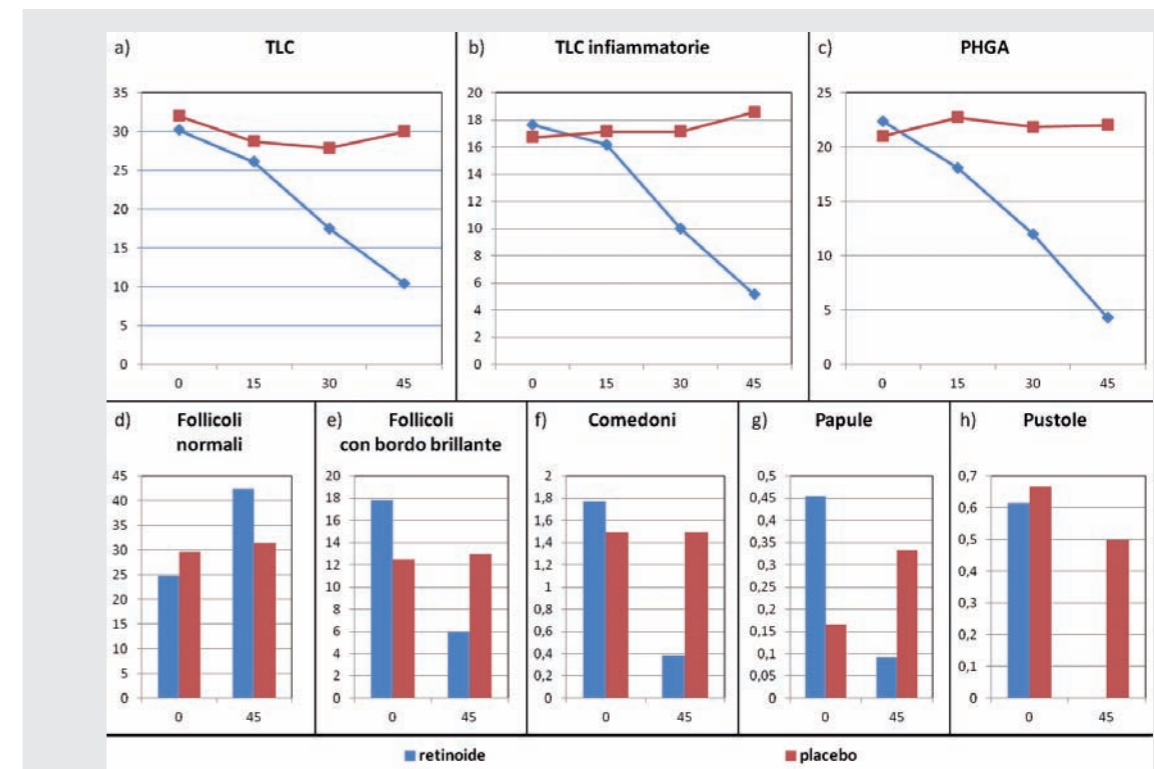
Dopo 45 giorni di terapia con Retinsphere e BIOPEP·15 è stato possibile osservare una diminuzione delle lesioni acneiche totali del 70,8%, una riduzione clinica delle lesioni infiammatorie del 65,4% e una riduzione della severità di malattia su scala visuale (PhGA) dell'80,8%. L'area campione di 16 mm<sup>2</sup> dopo 45 giorni di terapia Retinsphere e BIOPEP·15 presentava una riduzione media dei parametri RCM pari a: 66,3% per il numero di follicoli con bordo infundibolare brillante e dilatato (corrispondente a follicoli con ipercheratinizzazione dell'infundibolo talora contenenti materiale cheratinico amorfo), 78,2% per il numero di comedoni, 80% per il numero di papule e 100% per il numero di pustole.

Al contrario, il numero di follicoli con infundibolo normale aumentava del 71,1% dopo 45 giorni di trattamento con Retinsphere e BIOPEP·15.

Nel gruppo trattato con placebo i valori clinici e microscopia confocale non subivano variazioni significative nel corso del tempo, fatta eccezione per un leggero incremento del numero di papule compensato da un corrispondente decremento nel numero di pustole (fig. 1).

### Discussione

Le valutazioni cliniche ottenute attraverso gli score TLC e PhGA confermano l'efficacia del complesso Retinsphere e BIOPEP·15 nella terapia dell'acne infiamma-

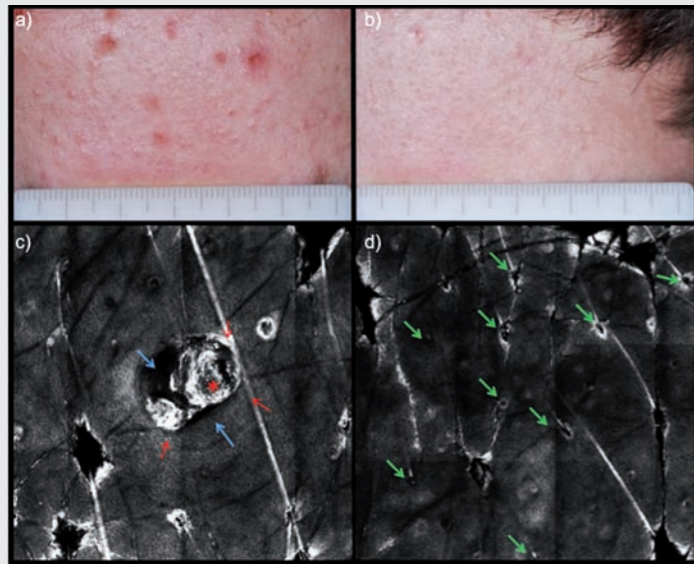


■ Fig. 1: Il trattamento con Retinsphere e BIOPEP·15 riduce in modo significativo tutti gli score clinici esaminati: il TLC (a), il numero di lesioni infiammatorie (b) e la valutazione clinica di gravità dell'acne PhGA (c). L'area campione di 16 mm<sup>2</sup> analizzata con microscopia confocale dimostra un aumento del numero di follicoli con infundibolo normale (d) e una concomitante riduzione del numero di follicoli con bordo infundibolare brillante e dilatato (con ipercheratinizzazione dell'infundibolo) (e). Allo stesso tempo le immagini al confocale dimostrano un decremento del numero dei comedoni (f), delle papule (g) e delle pustole (h). Nel gruppo trattato con placebo invece i valori clinici e di microscopia confocale non subiscono variazioni significative nel corso del tempo.

toria lieve e moderata. RetinSphere è un innovativo complesso ad azione retinoidea di ultima generazione formulato con tecnologia in glicosfere che, ad elevata concentrazione, contrasta l'ostruzione dei follicoli pilosebacei. BIOPEP·15 è un peptide di origine vegetale di ultimissima generazione con sensibile attività antimicrobica e pertanto utile in prodotti per il trattamento dell'acne. Una recente sperimentazione ha

dimostrato l'efficacia batteriostatica di BIOPEP·15 nel contrastare i vari ceppi del batterio *Propionibacterium acnes*, sia in agar che in brodo di coltura (10). In questo studio abbiamo voluto approfondire la valutazione dell'efficacia del prodotto attraverso l'impiego di una metodica di diagnostica non invasiva, quale la microscopia confocale, per valutare l'azione a livello delle lesioni acneiche e delle alterazioni del follicolo non visibili a occhio

nudo. L'impiego della microscopia confocale permette infatti di valutare, con una precisione non raggiungibile attraverso il solo esame clinico, l'entità delle alterazioni morfostrutturali delle unità pilo-sebacee prima, dopo e durante il trattamento topico (fig. 2). La microscopia confocale evidenzia in modo non invasivo e con una risoluzione quasi istologica la presenza di alcune delle "alterazioni patogenetiche" dell'acne, come l'ipercheratinizza-



■ Fig. 2: immagine clinica di paziente con acne lieve-moderata prima dell'inizio della terapia. Si osservano lesioni acneiche comprendenti comedoni chiusi e papule escoriate (a). Dopo 45 giorni di applicazione del retinoide topico nella stessa area cutanea si osservano pochi comedoni, in assenza di lesioni eritematose (b). Il dettaglio (1,5 x 1,5 mm) dell'immagine al confocale dell'area di studio prima dell'inizio della terapia (c) mostra alcuni follicoli con ipercheratinizzazione dell'infundibulo. Inoltre al centro dell'immagine si osserva una lesione caratterizzata da ipercheratinizzazione infundibolare di un'unità pilo-sebacea dilatata, di forma ellittica, presentante alcune porzioni iporiflettanti (freccia blu) e alcune porzioni iperriflettanti (freccia rossa) corrispondenti a un conglomerato di materiale cheratinico (asterisco). Dopo 45 giorni di terapia l'analisi dell'area di interesse con microscopia confocale mostra la scomparsa della dilatazione e dell'ipercheratinizzazione infundibolare (d). Nella figura sono visibili inoltre alcuni infundiboli privi di ipercheratinizzazione (freccie verde).

zione infundibolare, l'infiammazione epidermica (esocitosi), l'infiammazione dermica e la visualizzazione di comedoni e di piccole o grandi raccolte infiammatorie (papule/pustole). L'importanza dei fenomeni di ipercheratinizzazione infundibolare nel processo di comedogenesi (11) viene rilevata dalle immagini di microscopia confocale

attraverso l'identificazione di alterazioni infundibolari che inizialmente si limitano a un'iperriflettanza del bordo infundibolare. A questa fase si ipotizza che possa seguire una dilatazione del bordo infundibolare e l'accumulo di materiale cheratinico amorfo, fino allo sviluppo di un comedone, il quale può richiamare un infiltrato infiammatorio di entità

variabile ed evolvere verso una lesione infiammatoria, oppure regredire spontaneamente con una *restitutio ad integrum* dell'unità pilo-sebacea originaria. Pertanto, una terapia di fondo che possa ripristinare e mantenere condizioni fisiologiche risulterà efficace nell'impedire/limitare il numero di nuove lesioni e la loro progressione verso le forme infiammatorie, clinicamente più evidenti e destruenti.

I nostri dati dimostrano come la *restitutio ad integrum* delle unità pilo-sebacee affette dall'ipercheratinizzazione, alla base del processo comedogenetico, venga indotta dalla terapia Retinsphere e BIOPEP-15, grazie alla quale si osserva una riduzione del 66,3% del numero di follicoli con bordo infundibolare brillante-dilatato e un concomitante aumento del 71,1% del numero di follicoli con aspetto normale al confocale.

Dopo 45 giorni di terapia Retinsphere e BIOPEP-15 inoltre si assiste a una diminuzione di tutte le lesioni acneiche. Infatti nelle aree campione di 16 mm<sup>2</sup> avviene una riduzione media oltre l'80% del numero di lesioni acneiche (comedoni, papule e pustole). Tali miglioramenti risultano strettamente correlati con l'osservazione clinica della diminuzione pari al 70,8% del numero totale delle lesioni (TLC).

Un'ulteriore dimostrazione dell'efficacia del prodotto viene fornita dalla stabilità dei parametri clinici e di microscopia confocale nel gruppo placebo, dove non avvengono variazioni significative nel tempo per nessun descrittore. Pertanto, seppure la lesione iniziale abbia un potenziale di autorisoluzione, la cute acneica non trattata tende alla formazione di nuove lesioni, generando una situazione complessiva stabile

nell'arco di un breve periodo di tempo. Viceversa, il trattamento topico a base di BiRetix Gel Ultra ha determinato un miglioramento della situazione clinica sia per un effetto diretto sulle lesioni attive sia per un'azione sulle alterazioni di fondo della cute acneica, inducendo la regressione delle lesioni incipienti, visibili solo mediante microscopia confocale. In conclusione, la microscopia confocale fornisce delle informazioni importanti nella valutazione del paziente affetto da acne volgare, permettendo di identificare la presenza di modificazioni infundibolari subcliniche.

Grazie alla terapia con Retinsphere e BIOPEP-15 (BiRetix Gel Ultra) si può osservare la normalizzazione nel tempo delle unità pilo-sebacee alterate. Si può ipotizzare pertanto che il riscontro di follicoli con bordo infundibolare brillante-dilatato rappresenti un importante fattore predittivo nell'identificazione dei pazienti maggiormente responsivi alla terapia con retinoidi topici.

Riferimento per contatti

■ Giovanni Pellacani  
pellacani.giovanni@unimore.it

#### CONFLITTI D'INTERESSE DICHIARATI

Lo studio è stato parzialmente supportato da IFC-Difa Cooper SpA Italia.

#### Bibliografia

- Williams HC, Dellavalle RP, Garner S. Acne vulgaris. *Lancet*. 2012 Jan 28;379:361-72.
- Van Scott EJ, Maccardle RC. Keratinization of the duct of the sebaceous gland and growth cycle of the hair follicle in the histogenesis of acne in human skin. *J Invest Dermatol*.

1956;27:405-29.

3. Holmes RL, Williams M, Cunliffe WJ. Pilo-sebaceous duct obstruction and acne. *Br J Dermatol*. 1972;87:327-32.

4. Thielitz A, Sidou F, Gollnick H. Control of microcomedone formation throughout a maintenance treatment with adapalene gel, 0.1%. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2007;21:747-53.

5. Leyden JJ. A review of the use of combination therapies for the treatment of acne vulgaris. *J Am Acad Dermatol*. 2003;49(3 Suppl):S200-10.

6. Longo C, Zalaudek I, Argenziano G, Pellacani G. New directions in dermatopathology: in vivo confocal microscopy in clinical practice. *Dermatol Clin*. 2012;30:799-814.

7. Ardigo M, Agazzino M, Longo C, Conti A, Di Lernia V, Berardesca E, Pellacani G. Psoriasis plaque test with confocal microscopy: evaluation of different microscopic response pathways in NSAID and steroid treated lesions. *Skin Res Technol*. 2013; E-Pub Mar 22

8. Gibson JR, Harvey SG, Barth J, Darley CR, Reshad H, Burke CA. Assessing inflammatory acne vulgaris--correlation between clinical and photographic methods. *Br J Dermatol*. 1984;111 Suppl 27:168-70.

9. Tabolli S, Sampogna F, Pagliarello C, Paradisi A, Spagnoli A, Abeni D. Disease severity evaluation among dermatological out-patients: a comparison between the assessments of patients and physicians. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2012;26:213-8.

10. Bojar R, Fitzgerald DJ. Efficacia antimicrobica di BIOPEP-15 valutata su 24 ceppi di *Propionibacterium acnes*. *Evocutis plc, EVO-0406 Oct 2012*

11. Cunliffe WJ, Holland DB, Clark SM, Stables GI. Comedogenesis: some aetiological, clinical and therapeutic strategies. *Dermatology*. 2003;206:11-6.

#### RIASSUNTO

#### Terapia dell'acne con retinoide topico e antibatterico

L'applicazione di un complesso costituito da un retinoide topico associato a un antibatterico (Retinsphere e BIOPEP-15) produce un miglioramento clinico nei pazienti acneici, che incrementa con il tempo di utilizzo del gel. La microscopia laser confocale permette di dimostrare una progressiva riduzione dei pattern associati all'ipercheratinizzazione follicolare e una graduale normalizzazione delle unità pilo-sebacee alterate dal processo di comedogenesi.

#### PAROLE CHIAVE

Microscopia confocale, acne, retinoidi topici

#### ABSTRACT

#### Topical retinoid and antibacterial combined therapy for acne

Topical retinoid therapy combined with a topical antibacterial (Retinsphere and BIOPEP-15) induces a clinical improvement in patients with acne that increases with the persistent usage of the product. Reflectance confocal microscopy demonstrates a progressive reduction of the hyper-keratinization of hair follicles and a gradual normalization of the pilosebaceous units altered during the process of comedogenesis.

#### KEY WORDS

Reflectance confocal microscopy, acne, topical antibacterial