



ACADEMIA ESPAÑOLA  
DE DERMATOLOGÍA  
Y VENEREOLOGÍA

# ACTAS Dermo-Sifiliográficas

Full English text available at  
[www.actasdermo.org](http://www.actasdermo.org)



## ORIGINAL

# Análisis inmunohistológico de las células dendríticas dérmicas positivas para CD34 y de la densidad de microvasos en el liquen escleroso genital y extragenital

M.R.A. Hussein

Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario de Assuit Assuit, Egipto

Recibido el 10 de noviembre de 2020; aceptado el 10 de febrero de 2021

Disponible en Internet el 13 de marzo de 2021



### PALABRAS CLAVE

CD34;  
Células dendríticas;  
Liquen;  
Microvasos;  
Esclerosis

### Resumen

**Introducción:** El liquen escleroso (LiE) es una enfermedad crónica escleroatrófica que afectará generalmente el área anogenital y ocasionalmente a localizaciones extragenitales. Las células dendríticas dérmicas CD34 positivas (DDC) contribuyen al mantenimiento de la microarquitectura dérmica y a la modulación de la respuesta inmunitaria. El p53 es un gen supresor de tumores importante para la regulación del ciclo celular y de la apoptosis. De manera similar a lo que ocurre en la morfea (una condición escleroatrófica estrechamente relacionada con el LiE), la esclerosis dérmica, las alteraciones de las DDC y de la microvasculatura dérmica pueden ser mecanismos patogénicos subyacentes importantes en el LiE.

**Objetivos:** Examinar el perfil de las DDC positivas para el CD34, la densidad de microvasos (MVD) y la proteína p53 en el LiE.

**Materiales y métodos:** Se evaluaron los perfiles inmunohistológicos de las DDC, de la MVD y del p53 en 19 casos de LiE y en la piel normal de pacientes emparejados por edad y sexo (10 muestras), utilizando los anticuerpos contra el CD34 y el p53.

**Resultados:** Hubo una marcada disminución de los recuentos ( $1,7 \pm 0,5/\text{mm}^2$ ) o pérdida completa de DDC CD34+ en el LiE en comparación con su elevada expresión en la piel normal ( $23,4 \pm 2,1/\text{mm}^2$ ,  $p = 0,000$ ). La MVD estaba notablemente aumentada en las lesiones de LiE ( $20 \pm 0,47$ ) en comparación con la de la piel normal ( $5,50 \pm 0,20$ ,  $p = 0,000$ ). Se observó una tinción nuclear discontinua, de células aisladas, débilmente positiva para el p53, localizada en los queratinocitos de las capas basales epidérmicas de la piel sana y de la piel afectada por el LiE.

**Conclusiones:** Hasta donde tenemos conocimiento, este es el primer estudio que analiza los perfiles de las DDC, de la MVD y del p53 de manera simultánea en el LiE. Los hallazgos sugirieron que las alteraciones de las DDC y de la MVD tienen papeles en la patogénesis del LiE.

© 2021 AEDV. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Correo electrónico: [frcp17@gmail.com](mailto:frcp17@gmail.com)

<https://doi.org/10.1016/j.ad.2021.02.009>

0001-7310/© 2021 AEDV. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

**KEYWORDS**

CD34;  
Dendritic cells;  
Lichen;  
Microvessel;  
Sclerosis

## Immunohistological Analysis of CD34-Positive Dermal Dendritic Cells and Microvessel Density in the Genital and Extragenital Lichen Sclerosus

**Abstract**

**Background:** Lichen sclerosus (LiS) is a chronic scleroatrophic condition that usually affects the anogenital area and occasionally the extragenital sites. CD34-positive dermal dendritic cells (DDCs) contribute to the maintenance of the dermal microarchitecture and modulation of the immune response. p53 is a tumor suppressor gene important for the regulation of the cell cycle and apoptosis. Similar to morphea (a LiS-closely related scleroatrophic condition), dermal sclerosis, alterations of DDCs, and dermal microvasculature may be important underlying pathogenetic mechanisms in LiS.

**Objectives:** To examine the profile of CD34-positive DDCs, microvessel density (MVD), and p53 protein in LiS.

**Materials and methods:** The immunohistological profiles of DDCs, MVD, and p53 were examined in 19 cases of LiS and their age- and sex-matched normal skin (10 specimens), using antibodies against CD34 and p53.

**Results:** There was a markedly decreased counts ( $1.7 \pm 0.5/\text{mm}^2$ ) or complete loss of CD34-positive DDCs in LiS against their abundance in the normal skin ( $23.4 \pm 2.1/\text{mm}^2$ ,  $p=0.000$ ). MVD was markedly increased in LiS lesions ( $20 \pm 0.47$ ) as compared to normal skin ( $5.50 \pm 0.20$ ,  $p=0.000$ ). Discontinuous single-cell p53 weakly positive nuclear staining was seen in the epidermal basal cell keratinocytes in normal skin and LiS lesions.

**Conclusions:** To the best of this author's knowledge, this is the first study analyzing DDCs, MVD, and p53 profiles together in LiS. The findings suggest that alterations of DDCs and MVD have roles in the pathogenesis of LiS.

© 2021 AEDV. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

**Introducción**

El liquen escleroso (LiE) es una enfermedad inflamatoria escleroatrófica crónica de etiología desconocida. Afectará tanto al área anogenital como a la vulva (LiE vulvar), los genitales masculinos (LiE de los genitales masculinos o balanitis xerótica obliterante) y ocasionalmente a algunos sitios extragenitales, como son las nalgas, la cara interna del muslo y el área submamaria (LiE extragenital). El LiE de los genitales masculinos suele afectar al glande, al prepucio, a la uretra anterior y al meato, por lo general de los varones no circuncidados, lo que provocará una fimosis y estenosis del meato<sup>1</sup>. El carcinoma de células escamosas es la neoplasia maligna más común de la vulva. Dentro de las lesiones precursoras se incluyen los tipos habituales y diferenciados de neoplasia intraepitelial vulvar (VIN). La VIN diferenciada se asocia con dermatosis crónicas como el LiE y puede progresar a carcinoma de células escamosas invasivo. El ADN del virus del papiloma humano (VPH) estará ausente en estas lesiones. El tipo habitual de afectación del VIN se asocia con una infección por VPH de alto riesgo<sup>2</sup>.

En 1984, se descubrió por primera vez el antígeno CD34 en células madre y progenitoras hematopoyéticas. Es una fosfoglicoproteína transmembrana que se conforma de un dominio extracelular glicosilado unido a «O», intensamente sialilado, una hélice transmembrana única y de una cola citoplasmática. Las células dendríticas (DC) son células presentadoras de antígenos profesionales. En la piel, se encontrarán DC dérmicas (DDC) CD34 positivas en la dermis. El CD34 también se expresa en progenitores del endotelio vascular y en grupos de células endoteliales recién formadas

(microvasos) y, por lo tanto, la expresión de CD34 es un indicador de densidad de microvasos (MVD) y de vascularización tisular<sup>3,4</sup>.

El LiE está relacionado de manera estrecha con otras alteraciones escleroatróficas como son la morfea y la esclerodermia. Algunos textos consideran el LiE como una morfea superficial o subepidérmica, o como una esclerodermia de la dermis papilar<sup>5,6</sup>. Estos puntos de vista están respaldados por varias observaciones que incluyen la coexistencia de la morfea y del LiE en algunos pacientes, las características clínico-patológicas superpuestas y las posibles causas subyacentes comunes (infección por Borrelia y autoinmunidad)<sup>5,7</sup>. Histológicamente, tanto la morfea como el LiE se caracterizan por la atenuación de la epidermis, que se deberá a las secuelas causadas por los cambios del estroma dérmico que incluyen una hialinización dérmica, una esclerosis con vascularización disminuida y una perfusión tisular alterada<sup>5-7</sup>.

A pesar de que hasta la fecha actual se desconoce el papel exacto y el origen de las DDC, algunos estudios han sugerido que las DDC serán importantes para mantener la microarquitectura dérmica y la modulación de la respuesta inmunitaria y, como tales, contribuyen al desarrollo de alteraciones escleroatróficas como el LiE, la morfea y la esclerodermia<sup>8-11</sup>. En la morfea y en la esclerodermia, trabajos previos han demostrado una disminución de DDC CD34 positivas en la dermis<sup>8-12</sup>. Aiba et al. estudiaron las biopsias cutáneas provenientes de 27 casos con esclerodermia, así como las biopsias de piel normal de 17 individuos utilizando anticuerpos contra el CD34. En la piel afectada por la esclerodermia, las DDC positivas para el CD34 fueron escasas o estaban completamente ausentes. Los autores

sugirieron que las células CD34 positivas pueden representar células diana primarias en el fenómeno autorreactivo en la esclerodermia<sup>8</sup>. De manera similar, Gilmour et al. examinaron el número de DDC positivas para CD34 en 33 biopsias cutáneas de morfea y encontraron una disminución progresiva en el número de estas células con relación a su progresión, desde las etapas inflamatorias a las etapas más escleróticas de la morfea<sup>11</sup>. Además, hubo un aumento de la MVD, tanto en la morfea como en la esclerodermia<sup>13,14</sup>. En conjunto, las DDC positivas para CD34 parecen contribuir al desarrollo de la esclerodermia y de la morfea. Hasta la fecha actual, estudios similares en el LiE son limitados<sup>13,14</sup>.

El gen supresor de tumores p53 codifica para una proteína nuclear de 53 KD que desempeña un papel importante en la regulación del ciclo celular y de la apoptosis<sup>15</sup>. En la mayoría de las células benignas, incluidos los queratinocitos del prepucio del pene y la piel de la vulva<sup>16,17</sup>, la expresión de la proteína p53 está ausente o es débil. La sobreexpresión de la proteína p53 es frecuente en las células epiteliales escamosas malignas y displásicas<sup>18</sup>. En el LiE, la expresión de la proteína p53 es de débil a moderada, nuclear, discontinua, y se localiza en los queratinocitos de las células basales (patrón 0)<sup>17,19</sup>.

En la actualidad, el conocimiento que tenemos acerca de los perfiles de las DDC positivas para CD34, de la DMV y de la expresión de la proteína p53 en el LiE es limitado. En el presente estudio se utilizaron diversas técnicas de inmunohistoquímica para poder abordar estas cuestiones.

## Materiales y métodos

En el presente estudio se analizó una serie retrospectiva de casos, utilizando muestras de tejidos fijados en formol e incluidos en parafina de 19 casos de LiE (estadio esclerótico), provenientes del Servicio de Anatomía Patológica, de los Hospitales Universitarios de Assuit, así como de los archivos de consulta del autor del presente trabajo. Todas las muestras fueron codificadas (bloques de tejido incluidos en parafina, portaobjetos e informes de anatomía patológica). La información obtenida fue analizada y registrada de tal forma que se mantuvo el anonimato de los participantes. El presente estudio no incluyó ningún tipo de interacción o de intervención sobre los sujetos, así como tampoco se tuvo acceso a información privada identificable de los pacientes. Por este motivo, el estudio no requirió la aprobación por ningún comité de ética institucional<sup>20</sup>. Este estudio se realizó de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki. Se obtuvieron muestras de vulva (11 casos), LiE extragenital (2 casos) y LiE de los genitales masculinos (6 casos). El grupo control (piel normal) incluyó a 10 personas sanas con la misma edad y sexo, a quienes se les había extirpado piel por presentar alguna lesión benigna cutánea. Se realizaron cortes de los tejidos incluidos en parafina y tinciones histológicas de rutina (tinciones de hematoxilina y eosina), así como tinciones especiales (fibras elásticas, tinción de Verhoeff-van Gieson [VVG]). Las características que se estudiaron en los cortes histológicos fueron aquellas de los tipos usuales y diferenciados de VIN. Las tinciones de los cortes se hicieron siguiendo las pautas indicadas por otros grupos previamente<sup>3,18</sup>. Se utilizó una técnica de recuperación de epítipo antigénico inducida por calor (Dako Target Retrieval Solution, S1699; Dako, Carpintería, California, EE. UU.)

a 95 °C por 30 min, seguida posteriormente de un minuto de enfriamiento. La actividad de la peroxidasa endógena se bloqueó con el peróxido de hidrógeno al 10%. A cada corte se le aplicó el anticuerpo anti-CD34 (DakoCytomation [Glosttrup, Dinamarca; anticuerpo anti-CD34 humano]), diluido en solución salina tamponada con fosfato (PBS). De manera similar, se aplicaron anticuerpos anti-p53 (a una dilución de 1: 200, Thermo Scientific, Lab Vision Corporation, Fermt, Clon SP5, RM-9105-S1, EE. UU.) en cada corte. Estos se dejaron incubando, usando anticuerpos primarios a 4 °C durante toda la noche. Posteriormente, los cortes se trataron utilizando la técnica de la peroxidasa polimérica marcada (DAKO EnVisionTM + Peroxidase Kit, Dako, Carpintería, CA, EE. UU.) durante 60 min siguiendo las instrucciones del fabricante. Las proteínas se visualizaron utilizando un kit de sustrato de diaminobencidina líquido (Zymed Laboratories, San Francisco, CA, EE. UU.). Los cortes se contratiñeron con hematoxilina de Mayer. Muestras de hemangiomas y carcinomas de células escamosas se utilizaron como controles positivos para los anticuerpos anti-CD34 y anti-p53, respectivamente. Las secciones con PBS en sustitución del anticuerpo primario se utilizaron como controles negativos<sup>3</sup>. Todos los portaobjetos fueron codificados y posteriormente evaluados por 2 observadores ciegos tanto para los detalles clínicos como para la identidad de los pacientes<sup>21</sup>.

*Evaluación inmunohistoquímica de la MVD, de las DDC positivas para CD34 y de la expresión de la proteína p53.* Los cortes con tinciones inmunohistoquímicas fueron valoradas. Tanto en las muestras de piel sana como en las muestras de las lesiones, la tinción inmunohistoquímica de CD34 estaba ausente en la epidermis. Las DDC positivas para CD34 localizadas en la dermis fueron contadas en 3 campos elegidos al azar (1 mm<sup>2</sup>), siguiendo lo realizado por otros grupo<sup>21</sup>. La valoración de la MVD se realizó conforme a lo que se había hecho en estudios previos. Los cortes se examinaron a un bajo aumento ( $\times 40$ ) para identificar los «hot spots» de los microvasos en la dermis. Las células endoteliales individuales o las células endoteliales reactivas agrupadas (tinción de membrana/citoplasma) para CD34 en la membrana/citoplasma se contabilizaban como un microvaso único. El número de microvasos se contó a un mayor aumento ( $\times 400$ ). La luz del vaso y los glóbulos rojos, aunque con frecuencia están presentes, no fueron características indispensables para definir la presencia de un microvaso<sup>3,22</sup>. Los valores de expresión de la proteína p53 se calificaron y se recogieron de acuerdo con lo descrito por otros grupos<sup>18</sup>. Únicamente la tinción nuclear fue considerada como positiva. Inicialmente, la distribución de las células positivas para p53 se clasificó en basales y suprabasales. La intensidad de la tinción se puntuó de la siguiente forma: débil 1+, moderado 2+ o fuerte 3+. El porcentaje de células positivas se calculó determinando el número de células positivas por cada 100 células consecutivas (0-25%, 26-50%, 51-75% o >75%)<sup>17,18</sup>. Los perfiles de tinción del p53 incluían 3 patrones. El patrón 0 indicaba la presencia de una tinción de p53 nuclear discontinua, de débil a moderada, localizada predominantemente en los queratinocitos de células basales (en ausencia de una extensión suprabasal). El patrón 1 indicaba la presencia de una tinción de p53 nuclear moderada a fuerte, significativamente aumentada en la capa de células basales, pero en ausencia de una extensión suprabasal prominente. El patrón 2 indicaba la presencia de una

reactividad nuclear de p53 de moderada a fuerte, significativamente aumentada en la capa de células basales, y que se asociaba además a una extensión suprabasal prominente<sup>23</sup>.

**Análisis estadístico.** Las diferencias entre los grupos (piel normal versus LiE) se determinaron, como en estudios previos<sup>12,24</sup>, utilizando la prueba no paramétrica de Wilcoxon-Mann-Whitney. Valores de p menores de 0,05 fueron considerados como estadísticamente significativos. Los resultados se presentaron utilizando la media y el error estándar de la media (SEM). Las pruebas estadísticas se realizaron con el SPSS versión 23 (IBM Corp, Nueva York, EE. UU.).

## Resultados

**Hallazgos clínico-patológicos.** El estudio incluyó 19 casos con LiE, con una edad media de  $60,6 \pm 4,5$  años y 11 casos de LiE vulvar (media  $\pm$  SEM de edad:  $64,3 \pm 3,2$  años). Los sitios de las lesiones vulvares fueron: labios menores (9 casos), perineo y horquilla posterior (un caso cada uno). El estudio también incluyó 6 casos de LiE de genitales masculinos que afectaban al prepucio (media  $\pm$  SEM:  $53,7 \pm 13,1$  años) y 2 casos de LiE extragenital (mama derecha y región paraumbilical, un caso cada una, media  $\pm$  SEM:  $60,0 \pm 1,0$  años). Se examinaron los cortes histológicos para obtener el diagnóstico de LiE y descartar neoplasia escamosa. En un caso de LiE se observaron características diagnósticas de VIN de tipo diferenciado precoz/carcinoma de células escamosas diferenciado. Histológicamente, los cortes de LiE genital y extragenital mostraban un adelgazamiento de la epidermis asociado a la pérdida del patrón regular de las crestas. La capa granular estaba presente. No se objetivó atipia nuclear en el área basal y tampoco la presencia de acantosis. Se evidenció edema dérmico papilar y homogeneización del colágeno dérmico, fragmentación y disposición al azar (orientación horizontal, vertical y aleatoria) de las fibras elásticas dérmicas (tinción VVG). Así mismo, se encontró una condensación y ondulación de las fibras elásticas en la dermis circundante. No se detectaron elementos que hicieran sospechar de una infección fúngica (se usó ácido periódico-Schiff con y sin diastasa). En la dermis se observaron escasos linfocitos dispersos. En 18 de los casos no se pudo identificar evidencia de una neoplasia escamosa. En las figuras 1-4 se muestra un resumen de estos hallazgos.

Se encontró un número notablemente reducido o la pérdida completa de DCC positivas para CD34 en el LiE frente a su presencia en la piel normal. Las DCC positivas para CD34 muestran una tinción citoplásmica pardusca. La dermis de la piel afectada (LiE) mostró la ausencia completa de DCC positivas para CD34 o una presencia escasa de DCC positivas para CD34, si se compara con el grupo de piel sana. Los valores medios de la expresión de DCC fueron de  $1,7 \pm 0,5/\text{mm}^2$  frente a  $23,4 \pm 2,1/\text{mm}^2$  para el LiE (casos genitales y extragenitales) frente a la piel normal, respectivamente. Los valores medios de los recuentos de DCC positivos para CD34 fueron de  $2,0 \pm 0,7/\text{mm}^2$  (LiE vulvar),  $1,8 \pm 0,7/\text{mm}^2$  (LiE de los genitales masculinos) y de  $0,0 \pm 0,0/\text{mm}^2$  (LiE extragenital). Las diferencias entre la piel afectada (LiE) y la piel normal fueron estadísticamente significativas ( $p < 0,000$ ). En la tabla 1 y en las figuras 1-4 se muestra un resumen de estos hallazgos.

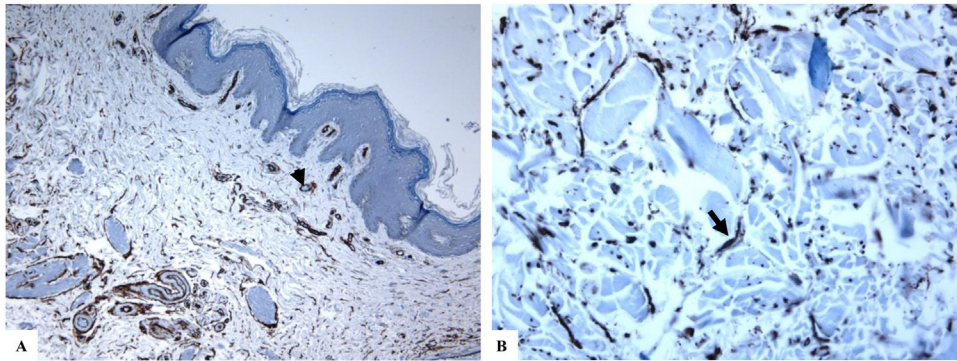
*Un aumento marcado de la MVD en la dermis del LiE en comparación con la de la piel normal.* La reactividad del marcador CD34 en los microvasos se observó como una coloración pardusca citoplásmica con o sin la presencia de la tinción de la membrana. Las áreas que tenían vasos con calibres superiores a 8 glóbulos rojos fueron excluidas. Así mismo, se excluyeron del recuento final aquellos vasos sanguíneos de gran y mediano tamaño con paredes musculares gruesas o aquellos vasos con un diámetro luminal superior a 50  $\mu\text{m}$ . Los valores de la MVD en la piel afectada por el LiE genital y extragenital ( $20,47 \pm 0,63$ ,  $p = 0,000$ ) presentaron una significación estadística elevada ( $p < 0,000$ ) en comparación con los valores en la piel normal ( $5,50 \pm 0,2$ ). Los valores medios de la MVD fueron de  $19,45 \pm 0,82$  (LiE vulvar), de  $23 \pm 0,44$  (LiE de los genitales masculinos) y de  $18,50 \pm 0,50$  (LiE extragenital). En la tabla 1 y en las figuras 1-4 se muestra un resumen de estos hallazgos.

*Patrones de tinción de la proteína p53 en la piel normal y en el LiE.* La piel afectada y la piel sana mostraron valores y patrones de tinción de la proteína p53 prácticamente similares. La reactividad se evidenció en forma de tinción nuclear p53+ de células aisladas de forma discontinua (intensidad de tinción débil a moderada) en los queratinocitos de las células basales de la epidermis (en menos del 10% de los queratinocitos basales). Una tinción basal lineal suprabasal o continua no se observó en todos los casos de LiE. Los valores de la expresión de la proteína p53 han sido resumidos en la tabla 1 y las figuras 1-4. La tinción con Ki67 se localizó en los queratinocitos de células basales tanto en el LiE como en la piel sana.

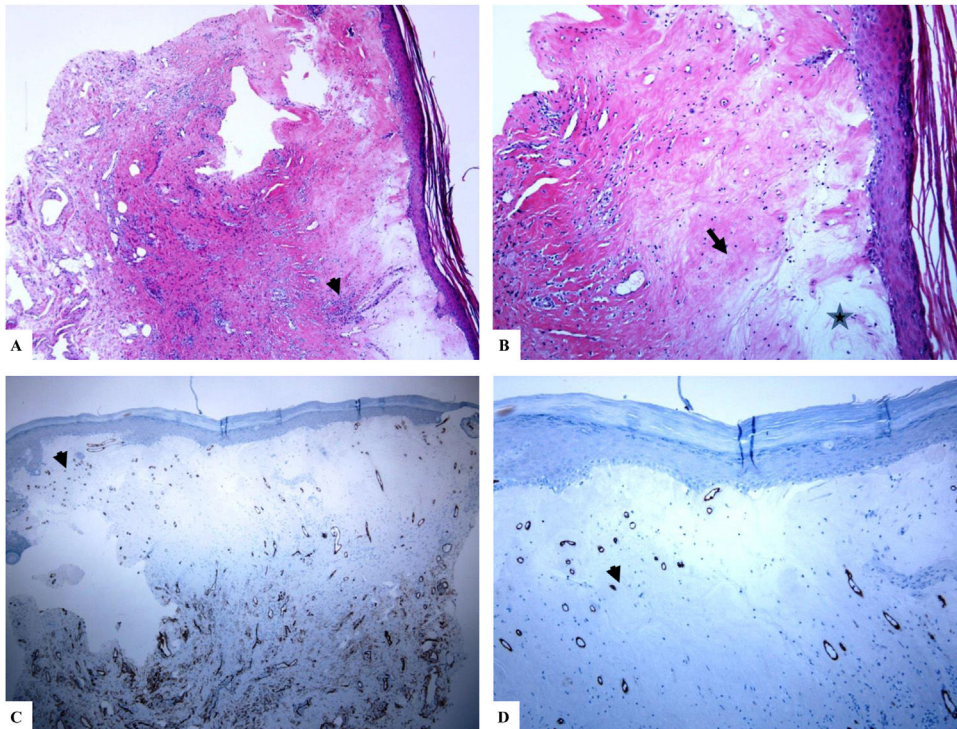
## Discusión

Hasta la fecha, los conocimientos acerca del recuento de las DCC positivas para CD34, de la MVD y de los patrones de expresión del p53 en el LiE son limitados. Este estudio tuvo como objetivo recoger información sobre estos puntos observándose los siguientes hallazgos: 1) un número marcadamente reducido o incluso la ausencia completa de las DCC CD34-positivas en la piel con el LiE en comparación con su presencia en la piel sana; 2) una MVD notablemente aumentada en la dermis del LiE en comparación con la de la piel sana, y 3) la falta de la acumulación de la proteína p53 en estas lesiones.

*Un número notablemente reducido o la pérdida completa de las DCC positivas para CD34 en el LiE frente a su presencia en la piel sana:* Las DCC positivas para CD34 están presentes en la dermis de la piel normal y desempeñan un papel en el desarrollo de las células mesenquimales y epiteliales circundantes y en la modulación de la respuesta inmunitaria<sup>21</sup>. De acuerdo con estudios previos realizados en piel con morfea<sup>8-12</sup> y cicatrices dérmicas<sup>21</sup>, el presente estudio ha demostrado una disminución marcada del número de DCC CD34 positivas o su pérdida completa en la dermis de piel afectada por LiE. Skobieranda y Helm examinaron la expresión de células progenitoras positivas para CD34 en 26 biopsias de piel con lesiones de morfea junto con 11 biopsias adicionales de piel sana. Estos encontraron una cantidad disminuida de células que expresaban CD34 en la piel afectada en comparación con las de piel sana. Los autores propusieron funciones reguladoras para las DCC CD34



**Figura 1** Inmunotinción de CD34 en la piel normal. A) Vasos sanguíneos dérmicos de tamaño variable revestidos por células endoteliales positivas para CD34 (punta de flecha). B) Dendrocitos dérmicos positivos para CD34 (flecha). (Ampliaciones originales. A:  $\times 200$ ; B:  $\times 400$ ).

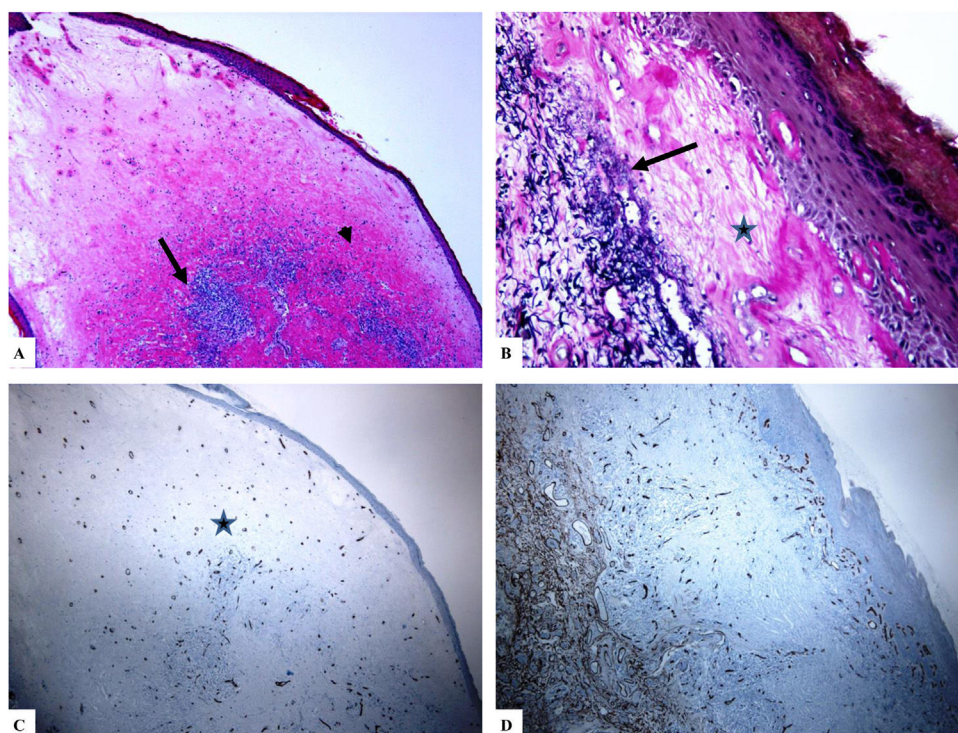


**Figura 2** Liquen escleroso genital (vulvar). A y B) Las características de LiE incluyen la epidermis notablemente atenuada con una transición de la dermis papilar edematosa (estrella) al colágeno dérmico hialinizado homogeneizado (flecha) y un infiltrado sutil de células inflamatorias (punta de flecha). C y D) La tinción de CD34 muestra la pérdida de células dendríticas dérmicas marcadas con CD34 y un aumento de la densidad de microvasos (puntas de flecha). (Ampliaciones originales. A:  $\times 40$ ; B:  $\times 100$ ; C:  $\times 40$ , y D:  $\times 100$ ).

positivas en la síntesis de colágeno y, por lo tanto, en el desarrollo de la morfea<sup>9</sup>. Lee et al. examinaron la distribución de las DDC CD34 positivas y de los miofibroblastos positivos para actina de músculo liso (SMA) tanto en biopsias cutáneas de pacientes con morfea como en individuos sanos (piel normal). Los miofibroblastos positivos para SMA estaban principalmente aumentados en aquellas localizaciones dérmicas donde las DDC positivas para CD34 estaban disminuidas o habían desaparecido<sup>12</sup>. Los autores propusieron que la falta de DDC positivas para CD34 en la morfea era compatible con hallazgos similares al proceso de cicatrización de las heridas<sup>12,25</sup>, ambos asociados a la diferenciación fenotípica de las DDC positivas para CD34 en miofibroblastos

positivos para SMA. Vistos en conjunto, estos hallazgos sugieren que las DDC contribuyen a la regulación de la producción de colágeno en la piel.

Los miofibroblastos son células positivas para la actina del músculo liso que pueden desempeñar un papel importante en la patogenia de la fibrosis. Estas células pueden desarrollarse a partir de los fibrocitos positivos para CD34 bajo la estimulación de citocinas fibrogénicas<sup>26,27</sup>. Lee et al. utilizaron métodos de tinción inmunohistoquímica para examinar el perfil de expresión de CD34, factor XIIIa, SMA, CD31 y molécula de adhesión de células vasculares-1 en la morfea. Estos autores encontraron una tinción estromal de CD34 disminuida en estas lesiones, mientras que la expresión del factor

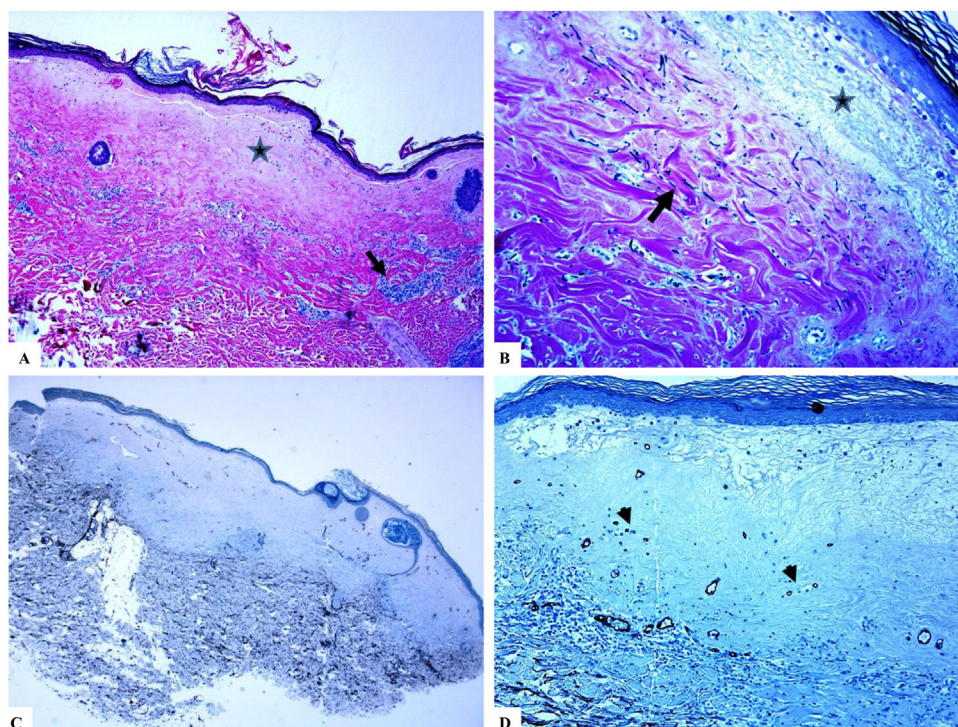


**Figura 3** Liquen escleroso genital (pene) (balanitis xerótica obliterans del prepucio). A) Las características del LiE peneano incluyen el adelgazamiento de la epidermis con pérdida del patrón normal de las crestas, amplia condensación del colágeno dérmico papilar homogéneo y hialinizado de manera masiva (punta de flecha) y el infiltrado linfocítico dérmico denso y parcheado (flecha). B) Edema, condensación y ondulación de las fibras elásticas (tinción de Verhoeff-van Gieson para fibras elásticas, flecha) en la base del colágeno homogeneizado (estrella). C y D) La tinción de CD34 muestra la pérdida de células dendríticas dérmicas CD34 y un aumento de la densidad de microvasos (estrella). (Ampliaciones originales. A:  $\times 20$ ; B:  $\times 200$ ; C:  $\times 20$ , y D:  $\times 100$ ).

**Tabla 1** Los hallazgos clínicos e inmunohistoquímicos en pacientes con LiE

Variables	Grupo de pacientes (19 casos)				Piel normal (10 casos) (Control)	Valor p (LiE versus grupo control)
	LiE vulvar	LiE pene	LiE extragenital	LiE (todos los casos)		
Edad (años), (media $\pm$ SEM)	64,3 $\pm$ 5,0	53,7 $\pm$ 13,1	61,0 $\pm$ 1,0	60,6 $\pm$ 4,5	56,20 $\pm$ 2,66	0,111
Sexo	Mujeres	Varones	Mujeres	Mujeres y varones	3 varones y 7 mujeres	0,000
DDC, (media $\pm$ SEM)	2,0 $\pm$ 0,7	1,8 $\pm$ 0,7	0,0 $\pm$ 0,0	1,7 $\pm$ 0,5	23,4 $\pm$ 2,1	0,000
MVD	19,45 $\pm$ 0,82	23 $\pm$ 0,44	18,5 $\pm$ 0,5	20,47 $\pm$ 0,63	5,50 $\pm$ 0,16	0,000
Valores de la tinción con P53						
SI (media $\pm$ SEM)	1,36 $\pm$ 0,15	1,66 $\pm$ 0,16	1,5 $\pm$ 0,5	1,31 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,10	NS
PP% (media $\pm$ SEM)	4,36 $\pm$ 0,5	4,33 $\pm$ 0,55	4,5 $\pm$ 0,5	4,36 $\pm$ 0,33	3,5 $\pm$ 0,44	NS
Patrón	0	0	0	0	0	NS

DDC CD34+: células dendríticas dérmicas positivas para CD34; LiE: liquen escleroso; MVD: densidad de microvasos; NS: no estadísticamente significativo; PP%: porcentaje de células positivas; SEM: error estándar de la media; SI: intensidad de tinción; VLIE: liquen escleroso vulvar, LiE peneano.



**Figura 4** Liquen escleroso extragenital (lesiones mamarias). A) Las características del LiE incluyen la presencia de hiperqueratosis focal, adelgazamiento de la epidermis, hialinización del colágeno dérmico papilar (estrella) y edema. B) Fragmentación y disposición al azar (orientación horizontal, vertical y aleatoria) de las fibras elásticas dérmicas (tinción de Verhoeff-van Gieson para fibras elásticas, flecha). C y D) La tinción CD34 muestra pérdida de células dendríticas dérmicas CD34– y un aumento de la densidad de microvasos (puntas de flecha). (Ampliaciones originales. A:  $\times 20$ ; B:  $\times 40$ ; C:  $\times 20$ , y D:  $\times 40$ ).

xiii), la actina del músculo liso y la molécula de adhesión de células vasculares-1 estaban incrementadas en comparación con las de la piel normal. Se objetivó una correlación inversa entre la tinción del estroma de CD34 y el patrón de expresión espacial con la tinción de actina del músculo liso. Los autores señalaron que los patrones de las tinciones del estroma con CD34 y SMA mutuamente excluyentes sugieren un cambio fenotípico de las DDC CD34+ hacia miofibroblastos positivos para la SMA evidenciados en la morfea<sup>12</sup>. Por lo tanto, resulta interesante realizar estudios futuros en los que se busque comparar el patrón de expresión de estas proteínas en el LiE.

*Una MVD marcadamente aumentada presente en la dermis del LiE en comparación con la de la piel sana.* En el presente estudio, los hallazgos de una MVD aumentada en el LiE apoyan los hallazgos evidenciados previamente en piel afectada por morfea y en la esclerodermia<sup>13,14,28</sup>. Olejek et al. examinaron la MVD (usando anticuerpos CD34) en biopsias cutáneas de LiE vulvar en 28 mujeres<sup>13</sup> y en 100 casos de LiE anogenital y encontraron un aumento significativo de la MVD después de realizar la terapia fotodinámica<sup>14</sup>. En 2009, Dziankowska-Bartkowiak et al. examinaron los cambios endoteliales vasculares de la esclerodermia (esclerosis sistémica y morfea). Se analizaron tanto el factor de crecimiento endotelial vascular sérico (VEGF) y su receptor soluble 2 (sVEGFR2) mediante el método ELISA, así como la expresión inmunohistoquímica del antígeno CD34 en la piel afectada. Se observó una proporción sérica media de VEGF/sVEGFR2 más elevada en aquellos pacientes con esclerodermia

en comparación con el grupo de control. Además, también se observaron algunas variaciones en la expresión del CD34 en las células endoteliales vasculares<sup>28</sup>. De manera general, el incremento de la MVD en el LiE podría deberse a la liberación de factores angiogénicos que buscan mejorar la neoangiogénesis<sup>28</sup>. Las células positivas para CD34 también pueden diferenciarse en células progenitoras que se incorporan a los vasos sanguíneos recientemente formados<sup>29</sup>.

*La expresión de la proteína p53 en el LiE.* De manera similar a lo descrito en estudios previos, en este también se evidenció que el LiE mostraba una tinción de la p53 de tipo nuclear, discontinua, de débil a moderada y localizada en los queratinocitos de las células basales, lo que indica la falta de acumulación de la proteína p53<sup>17,19</sup>. Este patrón nuclear de tinción de la p53 refleja una respuesta relacionada con el estrés secundario a la inflamación dérmica y a la isquemia, más que una mutación del gen p53 subyacente<sup>19</sup>. Yang y Hart examinaron el perfil de expresión de la p53 en 12 casos de VIN diferenciado utilizando métodos de tinción inmunohistoquímica<sup>19</sup>. En el VIN diferenciado, se observó una expresión de la proteína p53 en los queratinocitos de las células basales con una extensión suprabasal. Por el contrario, la tinción suprabasal de la p53 no se observó en los casos de LiE<sup>19</sup>. Hantschmann et al. examinaron la expresión de la proteína p53 en pacientes con carcinoma de células escamosas, VIN, LiE e hiperplasia escamosa. En el LiE y en la piel vulvar normal, la expresión de la proteína p53 se localizó en los queratinocitos de células basales. Los tipos habituales y diferenciados de VIN mostraron reactividad nuclear de p53

basal y suprabasal. La mayoría de los carcinomas de células escamosas mostraron una tinción de p53 nuclear difusa de moderada a intensa<sup>17</sup>.

En conclusión, este es el primer estudio que analiza los perfiles de las DDC, de la MVD y del p53 de manera simultánea en LiE. En el se ha mostrado que los recuentos de DDC positivas para CD34 fueron significativamente más bajos en el LiE que en la piel normal (controles), mientras que la MVD fue significativamente más alta en los pacientes que en los controles. Estos hallazgos sugieren que las alteraciones de las DDC y de la MVD pueden jugar un papel en la patogénesis de la fibrosis en estas lesiones. Se necesitan investigaciones futuras no solo para comprender los mecanismos subyacentes a estas alteraciones sino también para analizar la correlación entre la expresión del CD34, el factor XIIIa, la SMA, CD31 y la molécula de adhesión celular vascular-1 en la morfea.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Bibliografía

- Wong YW, Powell J, Oxon MA. Lichen sclerosis. A review. *Minerva Med.* 2002;93:95–9.
- Chiesa-Vottero A, Dvoretzky PM, Hart WR. Histopathologic study of thin vulvar squamous cell carcinomas and associated cutaneous lesions: A correlative study of 48 tumors in 44 patients with analysis of adjacent vulvar intraepithelial neoplasia types and lichen sclerosis. *Am J Surg Pathol.* 2006;30:310–8.
- Hussein MR. Evaluation of angiogenesis in normal and lichen planus skin by CD34 protein immunohistochemistry: Preliminary findings. *Cell Biol Int.* 2007;31:1292–5.
- Sidney LE, Branch MJ, Dunphy SE, Dua HS, Hopkinson A. Concise review: Evidence for CD34 as a common marker for diverse progenitors. *Stem Cells.* 2014;32:1380–9.
- Uitto J, Santa Cruz DJ, Bauer EA, Eisen AZ. Morphea and lichen sclerosis et atrophicus. Clinical and histopathologic studies in patients with combined features. *J Am Acad Dermatol.* 1980;3:271–9.
- Connelly MG, Winkelmann RK. Coexistence of lichen sclerosis, morphea, and lichen planus. Report of four cases and review of the literature. *J Am Acad Dermatol.* 1985;12 5 Pt 1:844–51.
- Zollinger T, Mertz KD, Schmid M, Schmitt A, Pfaltz M, Kempf W. Borrelia in granuloma annulare, morphea and lichen sclerosis: A PCR-based study and review of the literature. *J Cutan Pathol.* 2010;37:571–7.
- Aiba S, Tabata N, Ohtani H, Tagami H. CD34+ spindle-shaped cells selectively disappear from the skin lesion of scleroderma. *Arch Dermatol.* 1994;130:593–7.
- Skobieranda K, Helm KF. Decreased expression of the human progenitor cell antigen (CD34) in morphea. *Am J Dermatopathol.* 1995;17:471–5.
- McNiff JM, Glusac EJ, Lazova RZ, Carroll CB. Morphea limited to the superficial reticular dermis: An underrecognized histologic phenomenon. *Am J Dermatopathol.* 1999;21:315–9.
- Gilmour TK, Wilkinson B, Breit SN, Kossard S. Analysis of dendritic cell populations using a revised histological staging of morphea. *Br J Dermatol.* 2000;143:1183–92.
- Lee JS, Park HS, Yoon HS, Chung JH, Cho S. CD34 stromal expression is inversely proportional to smooth muscle actin expression and extent of morphea. *J Eur Acad Dermatol Venerol.* 2018;32:2208–16.
- Olejek A, Kozak-Darmas I, Kellas-Slecicka S, Steplewska K, Biniszkiwicz T, Birkner B, et al. Effectiveness of photodynamic therapy in the treatment of lichen sclerosis: Cell changes in immunohistochemistry. *Neuro Endocrinol Lett.* 2009;30:547–51.
- Olejek A, Steplewska K, Gabriel A, Kozak-Darmas I, Jarek A, Kellas-Slecicka S, et al. Efficacy of photodynamic therapy in vulvar lichen sclerosis treatment based on immunohistochemical analysis of CD34, CD44, myelin basic protein, and Ki67 antibodies. *Int J Gynecol Cancer.* 2010;20:879–87.
- Hussein MR. The TP53 tumor suppressor gene and melanoma tumorigenesis: Is there a relationship? *Tumour Biol.* 2004;25:200–7.
- Soini Y, Paakko P, Vahakangas K, Vuopala S, Lehto VP. Expression of p53 and proliferating cell nuclear antigen in lichen sclerosis et atrophicus with different histological features. *Int J Gynecol Pathol.* 1994;13:199–204.
- Hantschmann P, Sterzer S, Jeschke U, Friese K. P53 expression in vulvar carcinoma, vulvar intraepithelial neoplasia, squamous cell hyperplasia and lichen sclerosis. *Anticancer Res.* 2005;25(3A):1739–45.
- Hussein MR, Al-Badaiwy ZH, Guirguis MN. Analysis of p53 and bcl-2 protein expression in the non-tumorigenic, pretumorigenic, and tumorigenic keratinocytic hyperproliferative lesions. *J Cutan Pathol.* 2004;31:643–51.
- Yang B, Hart WR. Vulvar intraepithelial neoplasia of the simplex (differentiated) type: A clinicopathologic study including analysis of HPV and p53 expression. *Am J Surg Pathol.* 2000;24:429–41.
- Walch-Patterson A. Exemptions and limited institutional review board review: A practical look at the 2018 common rule requirements for exempt research. *Ochsner J.* 2020;20:87–94.
- Erdag G, Qureshi HS, Patterson JW, Wick MR. CD34-positive dendritic cells disappear from scars but are increased in pericatricial tissue. *J Cutan Pathol.* 2008;35:752–6.
- Rajan PT, Suresh TN, Rajashekar TS. Expression of vascular endothelial growth factor and microvessel density in psoriatic skin lesions. *Indian Dermatol Online J.* 2018;9:418–21.
- Goyal A, Zhang G, Yang B. Differential expression patterns of GATA3 in usual and differentiated types of vulvar intraepithelial neoplasia: Potential diagnostic implications. *Mod Pathol.* 2018;31:1131–40.
- Campaner AB, Nadais RF, Galvao MA, Santos RE, Aoki T. Evaluation of density of Langerhans cells in human cervical intraepithelial neoplasia. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2007;86:361–6.
- Bucala R, Spiegel LA, Chesney J, Hogan M, Cerami A. Circulating fibrocytes define a new leukocyte subpopulation that mediates tissue repair. *Mol Med.* 1994;1:71–81.
- Schmidt M, Sun G, Stacey MA, Mori L, Mattoli S. Identification of circulating fibrocytes as precursors of bronchial myofibroblasts in asthma. *J Immunol.* 2003;171:380–9.
- Limandjaja GC, Belien JM, Scheper RJ, Niessen FB, Gibbs S. Hypertrophic and keloid scars fail to progress from the CD34(-)/alpha-smooth muscle actin (alpha-SMA)(+) immature scar phenotype and show gradient differences in alpha-SMA and p16 expression. *Br J Dermatol.* 2020;182:974–86.
- Dziankowska-Bartkowiak B, Zebrowska A, Wagrowska-Danielewicz M, Kobos J, Waszczykowska E. Systemic sclerosis and scleroderma circumscripta-disturbances of selected serum parameters which are responsible for vascular changes and CD34 expression in involved skin. *Przegl Lek.* 2009;66:1040–5.
- Sivan-Loukianova E, Awad OA, Stepanovic V, Bickenbach J, Schatteman GC. CD34+ blood cells accelerate vascularization and healing of diabetic mouse skin wounds. *J Vasc Res.* 2003;40:368–77.