



11201
17

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACION
HOSPITAL REGIONAL " LIC. ADOLFO LOPEZ MATEOS ".
I.S.S.S.T.E.

CARCINOMA EPIDERMÓIDE DE PENE. CORRELACION CLINICO
PATOLOGICA CON LA EXPRESION DEL VIRUS DEL PAPILOMA
HUMANO, PROTEINA p53 Y ANTIGENO DE PROLIFERACION CELULAR
Ki-67.

T E S I S

PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA ESPECIALIDAD DE:
ANATOMIA PATOLOGICA.

QUE PRESENTA EL C.: DR. ROMAN MORALES SANCHEZ

ASESOR: DRA. ALICIA GEORGINA SIORDIA REYES

COLABORADORES: DR. JUAN MANUEL MEJIA ARANGURE

Q.F.B. CELEDONIO GOMEZ RUIZ.

RESIDENTE DE 3ER AÑO DE ANATOMIA PATOLOGICA
MEDICO ADSCRITO DEL DEPTO DE PATOLOGIA. HALM. ISSSTE.
MEDICO ADSCRITO DEL DPTO. DE EPIDEMIOLOGIA. HP. CMN. SXXI.
QUIMICO ADSCRITO AL DPTO. DE INVESTIGACION CLINICA. INCAN. SSA.



ISSSTE

283149
MEXICO, D.F. A 9 DE ABRIL DE 1999.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

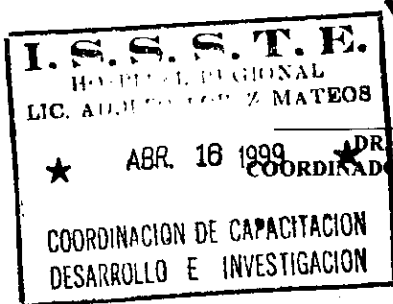
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

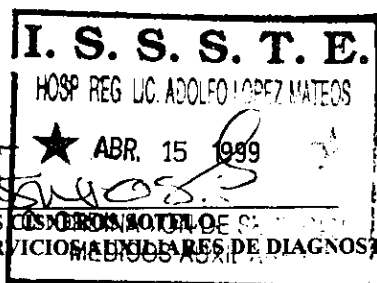
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



DR. OSCAR TREJO SOLORZANO.
COORDINADOR DE CAPACITACION Y DESARROLLO
E INVESTIGACIÓN.



DR. LUIS CISNEROS SOTELO
COORDINADOR DE LOS SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNOSTICO.

DR. LUIS CISNEROS SOTELO.
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ANATOMIA PATOLOGICA.

**CARCINOMA EPIDERMÓIDE DE EPENEA UNA CORRELACION CLINICO PATOLOGICA
CON LA EXPRESIÓN DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO, PROTEINA p53 Y
ANTIGENO DE PROLIFERACION CELULAR Ki-67.**

AUTOR. DR. ROMAN MORALES SANCHEZ.

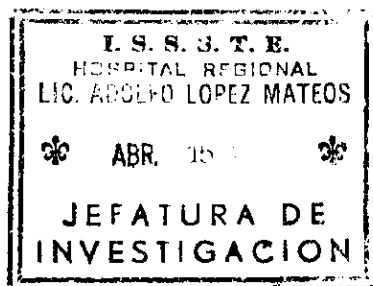
**Domicilio: Av. Universidad No. 1321
Col. Florida.
Delegación Alvaro Obregón
C.P. 01220, México, D.F.**

**ASESOR: DRA. ALICIA GEORGINA STORDIA REYES
MEDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE ANATOMIA PATOLOGICA**

**DR. FERNANDO E. DE LA TORRE RENDÓN
VOCAL DE INVESTIGACIÓN.**

**M. en C. DRA. HILDA RODRIGUEZ ORTIZ.
JEFE DE INVESTIGACIÓN.**

**DR. JULIO CESAR DIAZ BECERRA
JEFE DE CAPACITACIÓN Y DESARROLLO**



Dedicado A:

**Mi Madre De Quien Heredé Su Constancia Y Tenacidad Cuyo Gen Espero Guardarlo En
Algún Locus De Mi Genoma Humano.**

A Mi Hermano Del Cual Estoy Lleno De Admiración Y Orgullo.

Toda Mi Familia Por Su Apoyo Incondicional.

A la Dra. Alicia Georgina Siordia Reyes por su destacada labor en la enseñanza y apoyo.

Y A Los Patólogos Que De Alguna Manera Me Brindaron Su Experiencia.

Muy Especialmente A...

**Mi Esposa María Guadalupe Que Me Brindó Apoyo Confianza Y Cariño.
Te Amo mi Amor.**

**Mi Hijo Ramsés Daniel Que Considero el Regalo mas preciado De La Naturaleza y un
estimulo mas para convertir retos en triunfos.**

MEMORIAS NOSTALGICAS DE UN RESIDENTE ...

Aquí estoy en esta gran ciudad que todo lo devora.
Lejos de mi tierra y de los seres más queridos.
Sintiéndome insignificante ante la incertidumbre que me embarga.
Espero somnoliento que amanezca...

El concierto de ruidos y el smog nublan mi mente
Mientras que el tiempo parece detenerse,
Ante mis noches más negras y sombrías;
Sin nada que cambie el pesar del alma mía.

Me entrevisto con un patólogo famoso.
Para ingresar a su casa legendaria,
Donde ser residente implica ser esclavo
Y creerse el hijo predilecto de esculapio.

Ahora solo la angustia me acompaña
Después de saber tan nefasto resultado,
Mis pasos se dirigen hacia otra dirección;
Fatigado pero lleno de ilusión.

Encuentro un lugar donde la esperanza tiene un apgar adecuado,
Donde el terreno es fértil para la amistad sincera,
Donde comparto a los amigos mis alegrías...
Y en especial con una; mis tristezas.

Entre necropsias, discusiones, farras y noches de desvelo.
Llega diciembre plagado ya de arrugas y de senil demencia.
Agoniza, mientras sus pupilas delustradas afable nos observa,
Porque sabe que con ello renace la esperanza de un feliz año nuevo.

Paseo por las tranquilas calles de coyoacán
En marcadas por casas coloniales y su plaza.
Tan lleno de cultura, algarabías y de fina artesanía
Veo sorprendido los contrastes cotidianos de la vida.

Aquí en esta plaza donde la luz de las tardes mortecinas,
Le dan un toque especial a la gente y a sus casas.
Donde da lo mismo tropezarse con el rico que con el mendigo.
Donde la alegría y la tristeza, la cultura y la ignorancia,
La caridad y la indiferencia tienen cabida.

Mientras tanto; espero con paciencia, transcurrir los días
Con el ansiado anhelo de regresar triunfal a casa.

DR. ROMAN MORALES SANCHEZ

INDICE

	Página
Introducción -----	1
Objetivos -----	6
Planteamiento del Problema -----	7
Hipótesis -----	8
Justificación -----	9
Variables -----	10
Material y Métodos -----	12
Resultados -----	14
Discusión y Conclusiones -----	16
Tablas -----	19
Figuras -----	21
Bibliografía -----	25

RESUMEN

INTRODUCCION: El Carcinoma Epidermoide de Pene (CEP) es una neoplasia poco frecuente que ocupa del 0.4 al 0.6% de las neoplasias malignas del hombre en E U., sin embargo existen reportes que en algunos países como Asia, Africa y América del Sur su incidencia alcanza hasta el 40%. En México, al menos en el D.F ocupa el 34vo. lugar y comprende el 0.3% de las neoplasias malignas.

MATERIAL Y METODOS: Se realizó una revisión de 27 años en los archivos de Patología Quirúrgica del Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos, ISSSTE donde se obtuvo 32 quirúrgicos de 17 pacientes con diagnóstico de CEP de 132,275 especímenes registrados. Se evaluó; la edad, circuncisión, tabaquismo, tamaño del tumor, localización, estadio clínico de acuerdo a la clasificación de Jackson y tratamiento. Todas las laminillas fueron teñidas con HyE y un Patólogo estableció el grado histológico de acuerdo a la clasificación de Broder además de los cambios citológicos por VPH. Se realizó estudio de inmunohistoquímica en 8 casos que contaban con bloques de parafina, empleando inmunosueros para proteína p53, Ki-67 y VPH.

RESULTADOS: El 0.01% de los quirúrgicos registrados en 27 años de revisión corresponde al CEP, el rango de edad fue de 35 a 91 años (57^a). El 75% de los pacientes tuvo antecedentes de tabaquismo. El 93.7% (15/16) de los pacientes tuvieron antecedentes de no circuncisión, el tamaño del tumor fue de 1 a 5.5cm (3cm), el 62.5% de los CEP se localizó en glándula y prepucio. El estadio clínico de los pacientes fue en EI (5 casos), EII (6 casos), EIII (3 pacientes) y EIV (2 casos). El grado histológico fue de G-I (43.7%), G-II (25%) y G-III (18.7%). El tratamiento empleado fue la amputación parcial o total del pene con linfadenectomía uni o bilateral, los marcadores de inmunohistoquímica para p53 y Ki-67 correlacionaron con el grado y etapa clínica mientras que el anticuerpo policlonal para VPH fue negativo en todos los casos.

CONCLUSION: El tamaño del tumor fue directamente proporcional al grado histológico y estadio clínico. Observamos que mostraron la misma expresividad la p53 y Ki-67 en los tejidos, correlacionando su intensidad con el grado histológico y estadio clínico.

Palabras clave: Carcinoma epidermoide de pene, proteína p53, antígeno de proliferación celular Ki-67 y virus del papiloma humano.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Epidermoid Carcinoma of Penis (ECP) is an infrequent neoplasia that occupies 0.4 to 0.6 percent of neoplasias in the U.S.A. Nevertheless in some countries like Asia, Africa and South America, reaches to the forty percent. In Mexico City ranks 34th place among the malignant neoplasms and constitutes 0.3 percent of the malignant neoplasias.

MATERIALS AND METHODS: We made a revision of the surgical pathology archives of the Regional Hospital Lic. Adolfo López Mateos, since March 1971; 32 biopsies in 17 patients were studied with the diagnostic of ECP evaluating age, circumcision, tabaquism, tumor localization size and clinical stage with the Jackson classification system and establishing the histologic grade with the Broder's classification system and cytologic changes with HPV. Only 8 cases were studied with immunohistochemistry using antibodies for p53, Ki-67 and HPV.

RESULTS: 0.01 percent of the registered quirsurgic specimens revised in 27 years was positive for ECP the mean and median age of these patients was 57 years, 75 percent had positive tabaquism, 93.7 percent of the patients was don't had circumcision antecedents, the tumor size was of 1 a 5.5 cm, rate was 3.0 cm and 62.5% of de carcinomas localization was in glands an preputium. The clinic stage was in E-I (5 cases), E-II (6 cases), E-III (3 cases) and E-IV (2 cases). The histologic grade was G-I (43.7%), G-II (25%), and GIII (18.7%). The treatment for all the cases was partial or total amputation of the penis with unilateral or bilateral limphadenectomy. The immunohistochemical markers for 53 and Ki-67 proteins correlate with the histologic grade and the clinical stage, the HPV was negative for all the cases.

CONCLUSIONS: The tumor size was proportional to the histologic grade and clinical stage. We observed the same conduct for the p53 and Ki-67 in the tissue with high correlation of histologic grade and clinical stage.

Key Words: Epidermoid carcinoma of the penis, protein p53, proliferation antigen Ki-67 and VPH.

INTRODUCCION

Los tumores malignos del pene son lesiones poco frecuentes que ocupan de 0.4% al 0.6% de la frecuencia de tumores en los Estados Unidos; sin embargo en algunos países de Asia, Africa y América del Sur su incidencia alcanza hasta el 40%. En nuestro país no existen estadísticas que expresen la incidencia real del Carcinoma Escamoso del Pene (CEP) a nivel Nacional, pero existen reportes que al menos en el Distrito Federal ocupa el 34vo. lugar y comprende el 0.3% de las neoplasias malignas (1, 2).

Su presentación es en la cuarta y quinta década de la vida y en grupos de nivel socioeconómico bajo. Sin embargo Reynoso-Garcia y col. (3) reporto un caso de carcinoma epidermoide bien diferenciado invasor con metástasis a ganglio linfático en un niño de 15 años sin antecedentes de vida sexual activa y negativo para VPH tipos 8,11,16 y 32 con técnica de PCR.

Como en muchos tumores sólidos, la etiología no está clara, pero la circuncisión parece ser un factor importante en su prevención basados en estadísticas donde la incidencia es baja en judíos y musulmanes en los que la circuncisión es practicada con motivos religiosos. El factor involucrado en la carcinogénesis, es el esmegma acumulado bajo el prepucio que actúa como agente irritativo para el desarrollo del tumor, esta hipótesis es sustentada por la mayor incidencia de cáncer en pacientes con fimosis (4).

Se han documentado casos de CEP en hombres jóvenes circuncidados asociados a una exposición frecuente a diferentes químicos (insecticidas y fertilizantes) durante muchos años, por lo que la práctica de una higiene deficiente y prolongada exposición de irritantes químicos podrían contribuir al desarrollo de estas neoplasias (5).

A partir de un estudio realizado por Christopher Maden y col. (6), en el que evaluó una serie de factores de riesgo, entre éstos, el tabaquismo, la fimosis y el virus del papiloma humano en un estudio de casos y controles; demostró que el tabaquismo fue un hallazgo común para el carcinoma escamoso de la región anogenital. Se ha especulado acerca de los constituyentes del humo del cigarro que pueden ocasionar transformación maligna en presencia de infección por virus del papiloma humano, e informando en su estudio una asociación constante entre el tabaquismo y condilomas genitales.

Desde que el virus de papiloma humano fue propuesto como agente etiológico de neoplasias malignas del tracto genital transmitido sexualmente, la infección por VPH ha sido estudiado desde el punto de vista epidemiológico y biológico, clasificándose más de 60 genotipos, de estos, 24 están asociados al tracto genital y son los más prevalentes los tipos 6, 11, 16 y 18.

El VPH 16 y 18 muestran asociación con el cáncer invasor ya que los genomas de éstos tipos virales casi siempre se encuentran integrados al DNA de las células del tumor y los estudios de transfección han demostrado la capacidad de ambos virus para inducir transformación maligna en fibroblastos humanos. Por esta razón se ha desarrollado una gran variedad de tecnologías de hibridización para detectar la presencia del virus del papiloma humano, especialmente en CEP. Harald Zur Hausen (7), reportó la frecuencia de los tipos virales encontrados en las biopsias de cáncer de pene, vulva y cervix cerca del 90 %, el HPV 16 en el 50 %, HPV 18 en el 20 %, y HPV 33 en el 10 %. John S. Wiener y col. (8) publicó sobre la prevalencia del VPH tipo 16 y 18 en los CEP, analizando las lesiones primarias y metastásicas con la técnica de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), e identificó una prevalencia de los mismos con predominio del tipo 16 demostrado en diferentes etapas de progresión de la enfermedad, tanto primarios como metastásicos. Estos datos sostienen la hipótesis de que el VPH tipo 16 puede jugar un papel importante en la etiología (9,10).

Además el análisis mostró que la presencia del VPH tipo 16 no tiene relación con la edad del paciente, origen étnico, grado de malignidad, metástasis ganglionares, recurrencia o sobrevida del paciente.

Solo dos estudios en el ámbito mundial han sido analizados substancialmente, ambos reportes fueron de pacientes brasileños de una zona geográfica donde la incidencia del CEP es alta, en ambos hubo una prevalencia del virus tipos 16 y 18 en un 48% de los pacientes (11).

Renzo Barrasso y col. (12), demostró una mayor prevalencia de mujeres con condiloma plano o neoplasia intraepitelial cervical (NIC) asociadas a lesiones del pene, estas lesiones tuvieron una gran diversidad de características morfológicas e histológicas, 61 de 65 hombres con NIPE fueron parejas sexuales regulares de mujeres con NIC. Estos datos sugieren fuertemente la transmisión sexual de papilomavirus potencialmente oncogénicos y la existencia de un reservorio masculino de tales virus. En estudios realizados Reza S. Malek (13), considero igualmente al carcinoma cervical como una enfermedad sexualmente transmisible, debido a que parejas de hombres con carcinoma epidermoide de pene tienen 2.8 a 6.7 veces de incrementar el riesgo para carcinoma cervicouterino invasor y viceversa. Sin embargo un análisis de 117 casos de CEP realizados por Lucie Gregoire y col. (14), observó que la frecuencia de HPV en tumores es menor comparados con otros estudios basados en P.C.R. y que éstos resultados no fueron debido a fallas de los métodos empleados, ya que el 90 % de los casos de cáncer cervical fueron positivos y que los tumores asociados al DNA-HPV analizados tendieron a ser más agresivos que los tumores HPV negativos.

Actualmente se han encontrado más de 100 genes relacionados con el cáncer, uno de los más estudiados es el gen supresor de tumor p53 localizado en el cromosoma 17p descubierto en la década de los setenta, como una fosfoproteína nuclear de 53 Kilodaltons. Esta proteína ha

sido implicada en el control del ciclo celular, síntesis y reparación del DNA, diferenciación celular y apoptosis (15).

Estudios experimentales han demostrado que la proteína E6 del HPV 16 y HPV 18 pueden estar asociadas con un tipo agresivo de p53 llamado Hu-p53 in vitro, además de que las proteínas E6 y E7 contribuyen a la proliferación de células basales del epitelio escamoso infectado por estos virus. El supuesto papel de las proteínas p53 y pRB en la regulación del ciclo celular sugiere que la inactivación o modulación de las actividades de éstas proteínas pueden resultar en una proliferación celular y diferenciación alterada, sin embargo la consecuencia de la interacción de E6 con p53 parece ser diferente (16,17). Hay pocos estudios realizados en relación con el VPH y la p53 en carcinomas epidermoides si embargo Walts y col. (18) reportaron 48 casos que incluyen lesiones escamosas benignas, displásicas y malignas del epitelio escamoso anogenital, donde la proteína p53 fue detectado en 83% de lesiones benignas y de bajo grado, en el 73% de lesiones de alto grado y en el 86% de los carcinomas infiltrantes, también se observó que no hubo correlación entre la positividad de la proteína p53 y los subtipos de VPH por lo que concluyó que la expresión de la proteína p53 no es necesariamente indicativa de malignidad.

Lesi y col. (19) sugieren que la pérdida de la función de la proteína p53 secundaria a la infección de HPV 18, por sí sola puede ser suficiente para inducir progresión hacia la malignidad y que otras alteraciones genéticas tales como la activación de c-ras Ha, están implicados como un evento relativamente tardío, concluyendo que la interacción E6 - p53 no debe ser considerada como el único mecanismo para la transformación mediada por HPV y sostiene que los carcinomas de pene parecen tener dos diferentes etiologías. Levi y col. (20) consideró que un grupo de CEP pueden originarse de la progresión de lesiones intraepiteliales precursoras por VPH de alto riesgo y otros casos pueden originarse por un

mecanismo independiente de la infección por VPH. La alteración de la función de la proteína supresora de tumor por mutaciones genéticas o mecanismos epigenéticos pueden contribuir para la carcinogénesis en el grupo de los CEP no asociado a VPH (20).

En cuanto al antígeno Ki-67 es un marcador de crecimiento tumoral y del ciclo celular detectado por un anticuerpo monoclonal en estudio de inmunohistoquímica. Numerosos estudios han indicado que este marcador es de relevancia pronóstica única en el estudio de tumores humanos. Al-Saleh y col (21) reportó positividad del antígeno Ki-67 exclusivamente en la capa basal y parabasal del cervix, hallando un incremento significativo en la densidad de células positivas en lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado comparado con el epitelio normal o metaplásico y en lesiones de alto grado. También informó una significativa asociación de intensidad de positividad entre lesiones intraepiteliales de bajo y alto grado, HPV 16/18 y HPV 6/11 (21).

OBJETIVO GENERAL:

Identificar la prevalencia de pacientes con carcinoma epidermoide de pene correlacionando su grado histológico con la expresión del virus del papiloma humano, del gen supresor p53 y su proliferación celular con antígeno Ki-67.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

1. - Identificar los casos nuevos de carcinoma epidermoide de pene en el Hospital Regional "Lic. Adolfo López Mateos".
2. - Correlacionar comportamiento clínico ante la expresión inmunohistoquímica del VPH, p53 y Ki-67.
3. - Correlacionar el grado histológico con la expresión del virus del papiloma humano, proteína p53 y antígeno de proliferación celular Ki-67.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

El CEP es una neoplasia poco frecuente en nuestro país y poco o nada se sabe de su comportamiento, según estadísticas Nacionales ocupa el 34vo. lugar. A el CEP se le ha demostrado su asociación al VPH como un evento etiológico en coexistencia con otros factores de riesgo como son el tabaquismo, la no circuncisión, parejas sexuales con infección del VPH, etc.

Es a partir de los setentas cuando los diferentes antígenos como p53 y Ki-67 toman auge como factores pronóstico y aunque hay múltiples estudio en una gran variedad de neoplasia, nosotros no encontramos ningún informe en la literatura correlacionando su comportamiento de estos 3 antígenos y su conducta biológica, por lo que sería interesante contestar las siguientes preguntas.

- ¿Cual es la frecuencia de Ca. Epidermoide en un Hospital de 3er nivel como es el Hospital Lic. Adolfo López Mateos?
- ¿ Cómo es su comportamiento clínico cuando expresan positividad al VPH, a la p53 y al antígeno de proliferación Ki-67?
- ¿La expresión del VPH, p53 y Ki-67 condicionan un mayor grado histológico y por lo tanto su comportamiento es más agresivo?

HIPÓTESIS.

- En el CEP, su patogénia está estrechamente relacionado con el virus del papiloma humano.
- La expresión asociada de la proteína p53 y Ki-67 juega un papel importante en el comportamiento biológico y grado histológico, considerándose más agresivo

JUSTIFICACIÓN.

La presencia del virus del papiloma humano (VPH) es de gran importancia en el carcinoma genital. en particular con el CEP, algunos estudios sugieren eventos genéticos que están relacionados con la inactivación de genes supresores, específicamente la proteína p53 por la acción del virus del papiloma humano 16 y 18. En las ocasiones cuando coexisten con el genoma celular ambos DNA (virus del papiloma humano y la mutación de la proteína p53), juegan un papel preponderante en la conducta biológica del carcinoma epidermoide de pene. El interés del trabajo centra en conocer la incidencia del CEP y su comportamiento clínico e histológico ante la expresividad viral, genes supresores de tumores y antígeno de proliferación. Hay múltiples reportes internacionales del comportamiento de este tumor pero nacionalmente son aislados los informes de casos.

TIPO DE INVESTIGACION:

Para el problema No. 1 : Observacional, descriptivo, retrospectivo.

Para el problema No. 2 y 3: Observacional, descriptivo y transversal.

Población de estudios:

Todos los pacientes con biopsias o penectomias secundarias a CEP que fueron registrados en el Servicio de Patología del Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos durante el periodo de Marzo de 1971 a Diciembre de 1998.

Criterios de Inclusión:

- Todos los pacientes con Carcinoma Epidermoide de Pene diagnosticados y tratados en el Hospital Reg. "Lic. Adolfo López Mateos", I.S.S.S.T.E
- Pacientes con registro histopatológico en el Servicio de Anatomía Patológica e identificación de las laminillas para su interpretación

Criterios de Eliminación:

- Ninguno.

Criterios de Exclusión:

- Pacientes con falta o pérdida del expediente clínico y/ o de laminillas.

VARIABLES.

VARIABLE	DEFINICION OPERACIONAL	ESCALA
Edad	Edad al momento del diagnostico	Nominal
Tabaquismo	Pacientes con antecedentes de fumar minimo por 5 año.	Intervalo
Circuncisión	Técnica qx eliminando prepucio redundante	Nominal
Clasificación. Clínica	Estadio clinico emitido después de valorar la infiltración local y diseminación a distancia.	Ordinaria.
Localización	Determina el lugar en donde se inicia el carcinoma epidermoide de pene.	Nominal
Tamaño del tumor	Medida tridimensional en cm. De la neoplasia.	Intervalo.
Clasif. Histologica.	Grado de desdiferenciación a partir de la célula que le da origen.	Ordinaria.
VPH	Cambios citopáticos secundarios a la infección por VPH, evaluados en microscopio de luz.	Nominal
VPH	Inmunorreactividad positiva para el virus del papiloma humano evaluado por inmunohistoquímica	Nominal
Proteína p53	Inmunorreactividad positiva para el p53 gen supresor evaluado por inmunohistoquímica.	Intervalo
Antígeno Ki-67	Inmunorreactividad positiva para el antígeno de proliferación celular, evaluado por inmunohistoquímica.	Intervalo.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Se realizó una revisión de los archivos de laminillas y bloques de parafina de las piezas quirúrgicas del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Regional "Lic. Adolfo López Mateos". I.S.S.S.T.E con el fin de detectar todos los casos nuevos de CEP a partir del mes de Marzo de 1971 a Diciembre de 1998. Se obtuvieron un total de 32 quirúrgicos de 17 pacientes de 132,275 biopsias y piezas quirúrgicas. Se investigó en el expediente clínico de cada paciente su edad, antecedente de circuncisión, tabaquismo que se evaluó como: a). - no fumador. b). - ocasional cuando fumaba <5 cigarrillos a la semana y c).- continuo cuando fumaba >1 cajetilla a la semana. Su estadio clínico se evaluó de acuerdo a la clasificación de Jackson como Etapa I.- tumor confinado al glande y/o prepucio. Etapa II - extensión a uretra o cuerpos cavernosos. Etapa III.- con metástasis inguinales móviles. Etapa IV.- extensión a órganos vecinos, ganglios fijos y metástasis a distancia. Así como su localización y tamaño del tumor que se evaluó en la pieza quirúrgica como de 1 a 2 cm. , 3 a 5 cm y > de 5 cm. Los hallazgos en microscopia de luz de infección por papiloma virus en las células neoplásicas fueron evaluados ante la presencia de cambios nucleares como hiperchromatismo, regularidad nuclear, la presencia de halos perinucleares, binucleaciones y células disqueratóicas. Su grado histológico fue en base a la clasificación de Broder Modificada. Los criterios de exclusión fueron aquellos pacientes con pérdida del expediente clínico o inexistencia de laminillas y bloques. La revisión fue realizada por un patólogo ignorando datos clínicos, a solo 8 casos se les realizó estudio de inmunohistoquímica por contar con los bloques de parafina para su estudio.

Inmunohistoquímica. Se realizaron en 8 casos, cortes de 5 micras en bloques de parafina para su estudio con los inmunosueros de VPH, p53 y antígeno de proliferación celular Ki-67. Se desparafinaron y rehidrataron. Se realizó recuperación de antígenos exclusivamente con el inmunosero p53 con citrato de sodio a pH de 6 a 0.1 molar, en horno de microondas durante 10 minutos en 2 tiempos de 5'. Se bloquearon peroxidasas con H2O2 durante 5', se lavó y posteriormente se bloquearon sitios inespecíficos con suero normal de caballo, se quitó el exceso y se procedió a aplicar los anticuerpos primarios: Virus del Papiloma Humano, policlonal (DAKO, Carpintería 1:150), p53, monoclonal (DAKO, Carpintería, clona D0-7, 1:75) y antígeno de proliferación celular Ki-67 monoclonal (DAKO, Carpintería clona Ki-67, 1:37), se incubó durante 40'. Se realizó baños con Tris buffer y se aplicó el primer puente biotinilado durante 20' y posteriormente se aplicó el complejo avidin-biotina para sistema peroxidasa- antiperoxidasa previo y posterior lavado con solución Tris buffer, finalmente se aplicó diaminobenzidina como cromógeno durante 5', se lavó, deshidrató y se procedió a su montaje.

Su evaluación se realizó con la presencia o ausencia de expresividad del papiloma virus humano. El p53 y Ki-67 se evaluó como leve < 20%, moderado 20 a 40% e intenso más del 40% de expresividad nuclear, cuantificándose en 10 campos a 40X.

RESULTADOS

Se registraron 32 quirúrgicos de 17 pacientes de un total de 132,275 especímenes quirúrgicos que corresponde al 0.01% de los especímenes recibidos al Servicio de Patología del Hospital Regional Lic. "Adolfo López Mateos". I.S.S.S.T.E., durante un periodo de 26 años que comprendió del 1º Marzo de 1971 al 31 Diciembre de 1998. Las biopsias estuvieron fijados en formol al 10 % e incluidos en parafina, todas las laminillas fueron teñidas con hematoxilina-eosina. De los 17 casos solo 16 contaron con laminillas para su revisión, un caso fue excluido por falta de expediente clínico, bloques y laminillas; 8/16 de éstos casos tenían bloques que fueron utilizados para estudio de inmunohistoquímica. El rango de edad de los pacientes fue de 35 a 91 años con una media de 57años (mediana de 60*). En cuanto al antecedente de tabaquismo, en 3 pacientes (18.7%) se ignoraron por omisión en la historia clínica, 1 caso (6.2%) nunca fumó, 5 pacientes (31.5%) fumaron ocasionalmente y 7 casos (43.7%) fumaron continuamente. En 15/16 pacientes no se realizó circuncisión y uno se ignora por omisión en la historia clínica. En cuanto al estadio clínico de acuerdo a la clasificación de Jackson en: Etapa I; 5 casos (31.2%), Etapa II; 6 casos (37.5%), Etapa III; 3 casos (18.7%), y en Etapa IV; 2 casos(12.5%). El grado histológico de acuerdo a la clasificación de Broder Modificada fue. Grado I correspondió a 7 pacientes (43.7%), Grado II; 4 pacientes (25%), Grado III; 5 casos (31.2%). La localización fue en Glande 4 casos (25%), 10 casos (62.5%) en Glande y Prepucio y 2 casos (12.5%) en surco balano-prepucial. Los tamaños del tumor fueron los siguientes: 1-2 cm 8 casos (50%), 3-5 cm., 7 casos (43.7%) y más de 5 cm. en solo un caso (6.2%), con un rango de 1 a 5.5 cm (media de 3 cm). Así mismo se observó que el tratamiento empleado en éstos pacientes, fue la amputación parcial o total del pene con linfadenectomía uni ó bilateral. En 8 pacientes (50%)

fueron tratados solo con penectomía parcial, 3 casos (18.7%) con penectomía parcial y linfadenectomía bilateral, 3 pacientes (18.7%) se les realizó penectomía total y linfadenectomía bilateral, en 2 pacientes de 35 y 90 años respectivamente no se obtuvo el dato por omisión en el expediente clínico (Tabla No. 1). En cuanto a la expresividad inmunohistoquímica del virus del papiloma humano (VPH) fue negativo en todos los casos a pesar de los cambios citopáticos evidentes en los ocho casos que se realizó la inmunohistoquímica. La positividad de la proteína p53 en los estadios clínicos fue en 6/8 casos(75%), de éstos 1 caso fue <20% con distribución focal, en un caso se expresó del 20 al 40% de las células neoplásicas y en 4 casos su positividad fue intensa. Así mismo la positividad del antígeno de proliferación celular Ki-67 ocurrió en 7/8 casos (87.5%), de los cuales 2 casos fueron del 20 al 40% y en 5 casos fueron intensamente positivos (>40%).

Se observó una correlación del estadio clínico y el grado histológico con los 8 casos que se realizó inmunohistoquímica, el tamaño del tumor fue directamente proporcional con una media de 0.7 cm entre los diferentes intervalos y su porcentaje de tabaquismo continuo con una media de 59.4, la expresividad de la p53 que mostró intensa positividad en 4 casos fue en los grados III y en los estadios II,III, y IV (1,2 y 1 respectivamente) así como el Ki-67 en los que 4/5 casos con intensa positividad fue en grado III y su expresividad por estadio fue Estadio I; 1 caso, Estadio II: 1 caso, Estadio: III, 2 casos y Estadio: IV, 1 caso. (Tabla 2 y 3).

DISCUSION

El Carcinoma Epidermoide de Pene (CEP) es una neoplasia rara de acuerdo con estadísticas Anglosajonas y su incidencia es de 0.4 al 0.6% de todas las neoplasias malignas del hombre (8). Aunque existen áreas geográficas como Asia, Africa y América del Sur donde su incidencia alcanza el 45% (1). En México el Registro Nacional del Cáncer mostró la casuística en 34 Unidades Medicas ubicadas en la Ciudad de México donde el CEP ocupó el 34º lugar en 32,612 casos de cáncer en general y corresponde al 0.3% (2).

En el Hospital Lic. "Adolfo López Mateos", ISSSTE, de un total de 132,275 reportes histopatológicos el 0.01% corresponde al CEP, con un rango de edad de 35 a 91 años (media de 57ª.), coincidiendo con otros autores donde la edad de presentación es entre la 4ª y 5ª de la vida, sin embargo Reynoso Garcia y col (3) reportó un caso en un adolescente mexicano de 15 años, mencionando que es el caso de menor edad informado en la literatura Latinoamericana.

Nosotros observamos que el 43.7% de los pacientes fumaron continuamente (>20 cigarrillos a la semana) y el 93.7% no fueron circuncidados, éstos factores de riesgo ya han sido reportados por Maden y col. (6), donde analizaron una serie de factores de riesgo y observaron que el riesgo de desarrollar CEP es 2.8 veces mas, comparados con los que nunca fuman, 3.2 veces mas para los pacientes no circuncidados al nacimiento y 5.9 veces mas para aquellos que tuvieron condilomas genitales.

Aunque se han reportado en series más numerosas que el sitio más frecuente de aparición es en el glande. en nuestro estudio fue el prepucio y glande la localización mas frecuente (43.7%). Cuando se hizo correlación del estadio clínico y grado histológico con el tamaño del

tumor en 8 de los casos en los que se realizó estudio de inmunohistoquímica se observó que este fue directamente proporcional al grado y/o estadio clínico, hallazgo que era esperado. Se ha demostrado por diferentes técnicas la detección del VPH, principalmente por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) e hibridización in situ con un porcentaje del 93% en los tipos de bajo grado (6, 11) y en más del 90% en los tipos de alto grado (16,18) identificados tanto en lesiones intraepiteliales como carcinomas invasores del cervix, vulva y pene (7). Nosotros empleamos para su detección el estudio de inmunohistoquímica con anticuerpo policlonal por su accesibilidad en nuestro hospital, sin dejar de admitir que es evidente la baja sensibilidad de la técnica de inmunohistoquímica comparados con estudios más sensibles y específicos como son la hibridización in situ y PCR, en los cuales diferentes informes con aplicación de estas técnicas han mostrado sensibilidad desde el 28% al 95% (20). La proteína p53 ha sido detectada inmunohistoquímicamente en lesiones escamosas positivas y negativas al VPH. Esta observación es compatible con el concepto de que p53 juega un papel en la proliferación celular con VPH positivo y negativos. Por alguna razón las mutaciones de la proteína p53 son mas frecuentes en las formas VPH negativo que en un alto porcentaje de tumores positivos a VPH (18). De nuestros resultados obtenidos en los 8 casos sometidos a estudios de inmunohistoquímica, 6 fueron positivos en forma intensa mostrando una correlación significativa de acuerdo al estadio clínico y grado histológico en la que se observó mayormente expresado en estadio III y IV así como en el grado III de Broder. Esta correlación entre la expresividad de la p53 y el incremento del grado del carcinoma ya ha sido previamente reportada en carcinoma de próstata y de tiroides (22,23); pero no ha sido informado en los CEP. Walts y col. (18) en un estudio de lesiones escamosas en diferentes localizaciones (cervix, ano, vulva, pene y vagina) que comprendieron eventos metaplásicos, cambios atípicos de origen indeterminado, lesiones de bajo y alto grado y carcinomas

invasores, demostraron que no hubo correlación con la localización ni con el número de células positivas.

El interés de la expresividad del antígeno Ki-67 fué con el fin de ver su comportamiento en los CEP, basándonos en un estudio que realizó Al-Saleh (21) en biopsias de cervix demostró un incremento marcado de la tinción en las capas basales, parabasales e intermedias en las lesiones de bajo grado y en las de alto grado una expresividad en todo el espesor de la capa epitelial, no habiendo incluido en su estudio lesiones invasoras. Nuestros hallazgos mostraron una correlación del antígeno Ki-67 con el estadio clínico y grado histológico en las que se observó que los tumores bien diferenciados tenían positividad en las capas basales y los tumores moderadamente y poco diferenciados se expresaron en todo el espesor del tumor, con la misma intensidad de positividad y localización a la p53 (Fig. 5 Ay B)

CONCLUSIONES

Con lo anterior nosotros concluimos que el Carcinoma Epidermoide de Pene es una neoplasia muy rara en la población recibida en el Hospital Regional "Lic. Adolfo López Mateos", I.S.S.S.T.E, con una presentación de casos nuevos de 0.01% en la que no influye la edad del paciente para su presentación pero sí el antecedente de no circuncisión y el hábito de tabaquismo continuo, de tal manera que nuestra población tiene los mismos riesgos que zonas con alta incidencia de CEP. Que el tamaño del tumor es directamente proporcional al grado o estadio clínico con una diferencia de 0.75 cm (Rango de 0.35 a 1.4 cm), entre cada intervalo. La p53 es un oncogen supresor que juega un papel en la proliferación celular con una detección en los tejidos semejantes al del antígeno Ki-67 en ubicación e intensidad demostrando que cualesquiera de los 2 antígenos pueden ser utilizado como un marcador de comportamiento neoplasico, por haber una correlación de la positividad a mayor grado histológico y/o estadio clínico.

**TABLA NO. 1: CORRELACION CLINICO PATOLOGICA EN LOS 16 PACIENTES CON CA.
EPIDERMOIDE DE PENE**

Caso	Circuncisión	Tabaquismo	Gdo. Histolog.	Tamaño (cm.)	Localización	Estadio Clínico	Tratamiento
1	No	Continuo	I	2.5	Glande	IV	P.T.+L.B.
2	No	Ocasional	III	4	Glande y prepuccio	II	Pen. Parcial
3	Ignora	No	II	1	Prepuccio	I	Ignora
4	No	Ignora	I	2.8	Prepuccio	I	Pen. Parcial
5	No	Ignora	II	3	Glande y Prepuccio	II	Pen. Parcial
6	No	Continuo	III	5	Glande y prepuccio	III	Pen. T.+L.B.
7	No	Continuo	I	5.5	Surco balano	I	Pen. Parcial
8	No	Continuo	II	3	Glande	III	P.P+L.B.
9	No	Ignora	III	4.5	Prepuccio	IV	P.P+L.B.
10	No	Ocasional	I	3.2	Glande y prepuccio	II	Pen. Parcial
11	No	Ocasional	III	2.7	Glande	II	Pen. Parcial
12	No	Continuo	III	2.5	Glande	II	Pen Parcial
13	No	Continuo	II	1.5	Glande y prepuccio	II	Ignora
14	No	Ocasional	I	2	Glande y prepuccio	I	Pen. Parcial
15	No	Continuo	I	2.5	Surco balano	I	Pen. Parcial
16	No	Ocasional	III	4	Glande y prepuccio	III	P.T.+L.B.

TABLA 2: CORRELACION DEL ESTADIO CLÍNICO CON LA EDAD, TAMAÑO DEL TUMOR, TABAQUISMO Y EXPRESIVIDAD DEL p53 Y Ki-67 EN 8 CASOS DE CARCINOMA EPIDERMÓIDE DE PENE.

ESTADIO CLÍNICO	EDAD X	TAMAÑO DEL TUMOR (cm.) X	TABAQUISMO (%) [*]	P53 ^{**}	Ki-67 ^{**}
I (2 casos)	46 ^a	2.25	50	0/2	1/2
II (2 casos)	65.5 ^a	2.6	50	1/2	1/2
III (3 casos)	60.3 ^a	4	66.6	2/3	2/3
IV (1 caso)	35 ^a	4.5	Se ignora	1/1	1/1

^{*} Se evaluaron solamente los casos con tabaquismo continuo

^{**} Solo los que expresaron positividad intensa

TABLA 3. CORRELACION DEL GRADO HISTOLOGICO CON LA EDAD, TAMAÑO DEL TUMOR, TABAQUISMO Y POSITIVIDAD A LA p53 Y Ki-67, EN 8 CASOS DE CARCINOMA EPIDERMÓIDE DE PENE.

GRADO HISTOLOGICO	EDAD X	TAMAÑO DEL TUMOR (cm) X	TABAQUISMO (%) [*]	P53 ^{**}	Ki-67 ^{**}
I (2 casos)	46 ^a	2.2	50	0/2	1/2
II (1 Caso)	45 ^a	3	100	0/1	0/1
III (5 Casos)	59.2 ^a	3.7	40	4/5	4/5

^{*} Se evaluaron solamente los casos con tabaquismo continuo

^{**} Solo los que expresaron positividad intensa.



Fig. 1 A.- Aspecto macroscópico de una penectomía total que muestra aumento de volumen de la región del glande y prepucio por neoplasia verrugosa con múltiples zonas ulceradas. **B.-** Espécimen al corte en la que se identifica neoplasia compacta, blanco-grisácea que infiltra glándula y tejido celular subcutáneo.

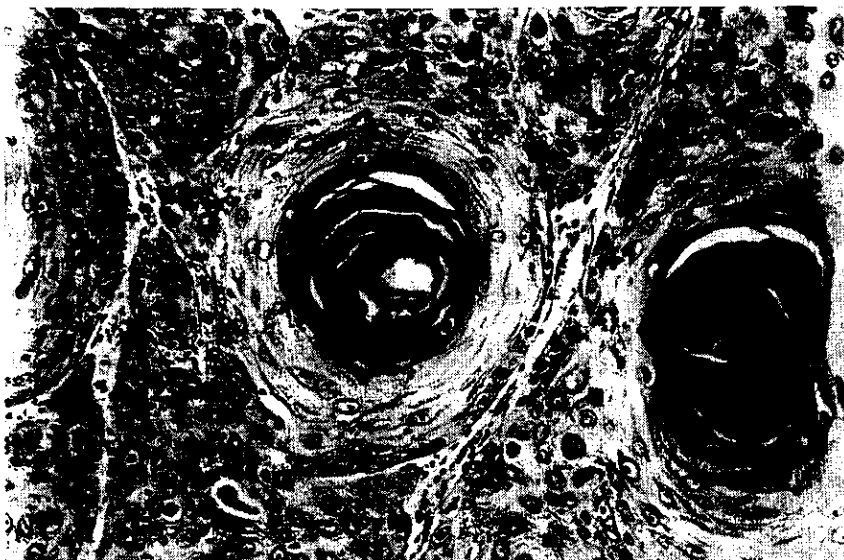


Fig. No. 2: Fotomicrografía que muestra Carcinoma Epidermoide bien Diferenciado formando perlas corneas. (H y E).



Fig. 3: Fotomicrografía que muestra células epidermoides con moderada diferenciación, algunas células tienen mayor pleomorfismo y aisladas células disqueratósicas con cambios sugestivos de infección por virus del papiloma humano.



Fig. 4. - Intensa postividad a la proteína p53 en la capa basal de un carcinoma bien diferenciado.



Fig. 5 A. Carcinoma Moderadamente diferenciado que muestra intensa positividad nuclear a la proteína p53 en <20% de las células neoplásicas.

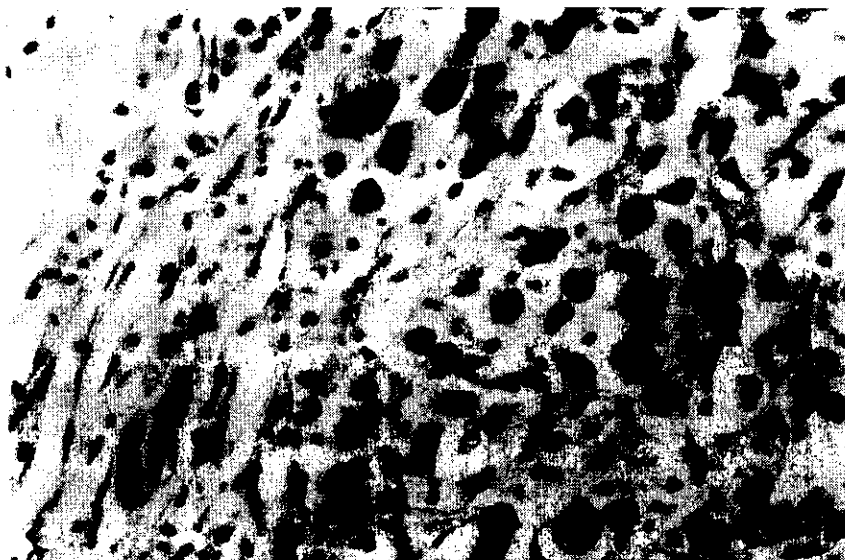


Fig. 5B. Carcinoma poco diferenciado con intensa positividad nuclear a la p53 en >40% de las células neoplásicas.

BIBLIOGRAFIA.

1. - Riveres Manuel Md. , F.A.C.S. and F. Lebron Rafael Md. , Geographical Pathology of Cancer of the Penis, Cancer, Vol 16: 798-811, June 1963.
2. - Dr. Barroso Eduardo. Dr. Rendón Jorge. Dr. Medina Rolando. Enf. Mora Teresa y De la Mora Susana. Registro Nacional del Cáncer, Rev. Del I.N.C, Vol. 32: No. 3 y 4, 190-203 Sep- Diciembre 1985.
3. - Reynoso Garcia M., Cabrera Muñoz M.L, Vázquez Langle J.R., Rivera Márquez H, Santa Cruz E., Velázquez González E. Carcinoma Epidermoide en un adolescente. Informe de un caso. Bol. Med. Hosp. Infant. México Vol. 51: No. 9, 608- 611 Sept. 1994.
4. - Merrin Claude E. MD., Cancer of the Penis. Cancer, 45: 1973-1979; 1980.
5. - Rogus Bernard J., Squamous cell carcinoma in a young circumcsed man. The Journal of Urology, Vol. 138. 861-862; October 1987.
6. - Maden Christopher, Sherman K.J. Beckmann A.N., Hislop G.T., Chong-Ze T., Ashley R.L, and Daling R.J., : History of circumcision, medical conditions and sexual activity and risk of penile cancer. Journal of the National Cancer Institute, Vol. 85: No. 1; 19-24 January , 1993.
7. - Harald Zur Hausen. Papillomaviruses in Anogenital Cancer as a Model to Understand the Role of Viruses in Human Cancers. Cancer Research 49:4677-4681; September 1 1989.
8. - Wiener John S., Effert Peter J., Humphrey Peter A., Yu Li and Walther J.P.: Prevalence of human papilomavirus types 16 and 18 in Squamous-cell carcinoma of the penis. A retrospective analysis of primary and metastatic lesions by differential polymerase chyn reaction. Int. J. Cancer 50: 694-701; 1992.
9. - Scinicariello Franeo Md., Rady Peter Md. Ph D., Saltztein Dan Md.: Human papilomavirus 16 Exhibits 9 Similar Integration Pettern in primary Squamous Cell Carcinoma of the penis and in ITS Metastasis. Cancer, Vol. 70: No. 8; 853-855, October 1992.
10. - Boon Mathilde E., MD, PhD., Susanti, Inne MD, Tasche Marjolein J. A., MD and Kok L. P., PhD. Human Papillomavirus (HPV) – Associated Male and Female Genital Carcinomas in a Hindu Population. Cancer 64: 559-565; 1989.
11. - Villa Luisa L. Md. And López Ademar Md.: Human Papilomavirus DNA sequences en Penile Carcinomas in Brazil. Int J. Cancer: 37: 853-855; 1986.

12. - Barroso Renzo Md., De Brux Jean Md., Croissant Odile ph.D., and Orth Gerard, DVM
High prevalence of papillomavirus-associated penile intraepithelial neoplasia in sexual
partners of women with cervical intraepithelial neoplasia The New England Journal of
Medicine Vol. 317: No. 15; 916-23 October 8, 1987.
13. - Malek Reza S. MD, Goellner John R., Smith Thomas F. Ph. D., Espy Mark J., M.S.
Cupp R. Michael M.D., Human Papillomavirus Infection and Intraepithelial, In situ, an
Invasive carcinoma of penis. Urology, Vol. 42: No. 2, 159-170, August 1993.
14. - Gregoire L., Cubilla A.L, Reuter V.E., Haas G.P., and Lancaster WD. Preferential
Association of Human Papillomavirus With High-Grade Histologic Variants of Penile –
Invasive Squamous Cell Carcinoma. Journal of the National Cancer Institute, Vol 87: No.
22, 1705-1709, Nov. 15 1995.
15. - Harris Curtis C. Md. And Hollstein Monica ph. D., Review articles: clinical implications
of the p53 tumor suppressor gene. The New England Journal of Medicine. Vol. 329: No. 18,
Oct., 1318-1325, 1993.
16. - Werness Bruce A., Levine A. J. and Howley P.M.: Association of Human
Papillomavirus Types 16 and E6 Proteins with p53. Science, Vol. 248: 76-79 April 1990.
17. - Scheffner Martin., Werness B. A., Huibregtse J.M., Levine A.J., and Howley P.M. The
E6 Oncoprotein Encoded by Human Papillomavirus Types 16 and 18 Promotes the
Degredation of p53. Cell, Vol. 63: 1129-1136; December 1990.
18. - Walts Ann E. MD., Koeffler H. Phillip MD. and Said Jonathan W. MD.: Localization of
protein p53 and papillomavirus in anogenital squamous lesions. Human Pathology, Vol. 24:
No. 11; 1238-1242, November 1993.
19. - Leis Paula F. M.D, Stevens Kristin R. Ph.D. Baer Susan C., M.D., Kadmon Dov, M.D.
Goldberg L. H., M.D. and Wang Xiao-Jing, M.D, Ph. D., A c-ras-Ha mutation in the
metastasis of a Human Papillomavirus(HPV)-18 positive Penile Squamous Cell Carcinoma
suggests a cooperative effect between HPV-18 and c-ras-Ha activation in malignant
progression. CANCER Vol. 83: No. 1; 122-128 July 1998.
20. - Levi J.E, Rahal P. Sarkis A.S., and Villa Luisa L. Human papillomavirus DNA and
p53 status in penile carcinomas. Int. J. Cancer 76,779-783 1998.
21. - Al-Saleh W., MD, Delvenne Philippe, MD, PHD., Greimers R., PHD., Fridman V., MD,
Doyen Yean, MD, and Bonever J.MD, PHD. Assessment of Ki-67 Antigen Immunostaining

in Squamous Intraepithelial Lesions of the Uterine Cervix .Am. J. Clinical Path. Vol. 104: No. 2, 154-160 August 1995.

22. - Samaan S, Butler J, Morale B, et al: p53 Over accumulation correlates with high tumor grade in prostatic carcinoma. Am. J. Clin. Pathol. 99: 336 A, 1993.

23. - Dobashi Y, Sakamoto A, Sigimura H et al: Overexpression of p53 as a possible prognostic factor in human thyroid carcinoma. Am. J. Surg. Pathol. 17: 375-381, 1993.