



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E
INVESTIGACIÓN**

**FACULTAD DE MEDICINA
HOSPITAL REGIONAL**

LICENCIADO ADOLFO LOPEZ MATEOS



**INSTITUTO DE SEGURIDAD SOCIAL AL SERVICIO
DE LOS TRABAJADORES DEL ESTADO**

**UTILIDAD DEL INMUNOMARCADOR P16INK4a
EN LA NEOPLASIA INTRAEPITELIAL
DE VULVA (NIVU)**

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

QUE PRESENTA:

DR. MARCO MAURICIO BRINDIS ZAVALETA

**PARA OBTENER EL DIPLOMA DE LA ESPECIALIDAD DE
ANATOMIA PATOLÓGICA**

ASESOR DE TESIS:

DR. FERNANDO ENRIQUE DE LA TORRE RENDON

MÉXICO, D.F.

No. DE REGISTRO 190.2005

2005



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central

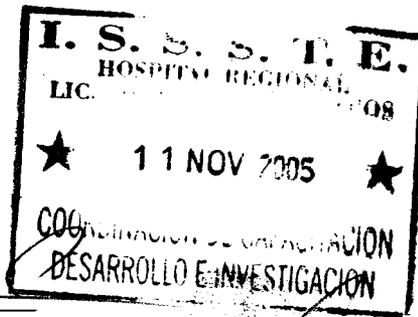


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

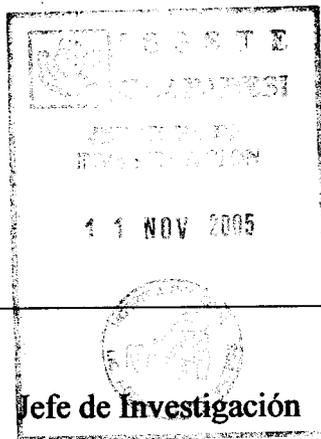
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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.

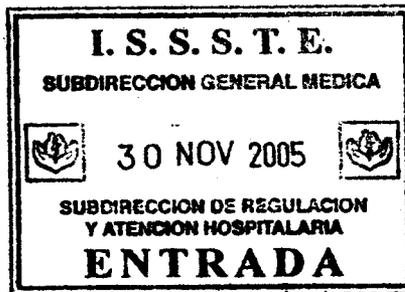


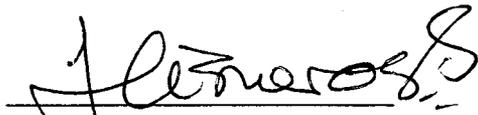
[Signature]
Dr. Sergio Baltasar Barragán Padilla
Coordinador de Capacitación
Desarrollo e Investigación

[Signature]
SUBDIRECCION
DIVISION DE
FACULTAD DE MEDICINA
U.N.A.M.

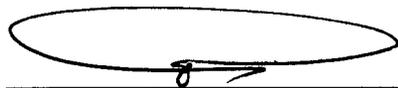


[Signature]
Dr. Sergio Pérez Arauz
Jefe de Enseñanza



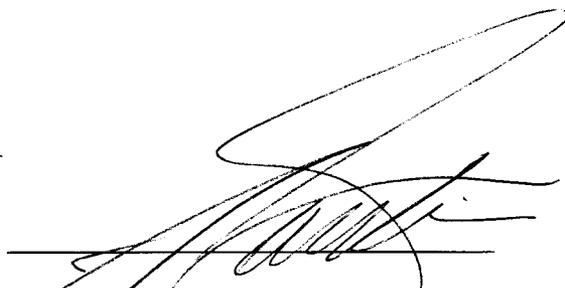


Dr. Luis Cisneros Sotelo
Profesor titular



DR. Fernando E. De la Torre Rendon

ASESOR DE TESIS



Dr. Aldo Fabricio Santini Sanchez

VOCAL DE INVESTIGACION

Este trabajo es el fruto de una investigación breve, modesta pero innovadora y pionera en el escenario de la patología Mexicana. De ninguna manera refleja el esfuerzo y los sacrificios hechos durante estos tres años de formación como Patólogo y otros tantos como Medico, pero simboliza una etapa de esfuerzos que termina y una vida de dedicación que inicia. Por ello quiero abusar de este texto y reconocer a quienes están detrás animándome a seguir.

En primer lugar dedico este trabajo y todos los aciertos por venir en mi vida a mi esposa **MONICA AGUILAR VALENZUELA** por amarme y aguantarme. Por darle sentido a mi vida y darme el mejor regalo que jamás imagine llegar a tener, mi hija **ANA SOFIA**, quien hace que todo ahora sea más fácil. Las amo con todo mi ser.

A mis padres **YOLANDA ZAVALA DE BRINDIS** y **CESAR BRINDIS RUIZ**, debo de hacerles saber que sin su apoyo y sin su amor, dedicación y ejemplo, jamás hubiera pensado en llegar a donde estoy ahora. A ellos les he costado más sangre y sacrificios que a nadie y por eso, lo que significa este trabajo es por completo de los dos. A ellos debo las obras buenas de mi vida.

También agradezco de forma infinita a mis suegros **VERONICA VALENZUELA DE AGUILAR** y **RODIMIRO AGUILAR CORTAZAR** por el apoyo, la paciencia y el amor que le demuestran a diario a esta pequeña familia. Espero no defraudarlos jamás.

A mis hermanos **BRAULIO BRINDIS ZAVALA**, **ROGER BRINDIS ZAVALA**, **JORGE IGNACIO ZAVALA GOMEZ** por permanecer siempre a mi lado, por que nunca han dejado que me sienta solo.

A **LETICIA BRINDIS DE COSS**, mi segunda Madre, el ser humano con mayor capacidad de dar amor que he conocido. A ella no solo quiero agradecer, también quiero dedicar este trabajo.

Al hombre que me enseñó que una cucharada de luna es el mejor remedio para el alma y otros males que no curan ni diagnostican los medicos, al héroe de todas las batallas que yo hubiera querido vivir. A mi abuelo **BRAULIO BRINDIS MICHELLI**.

A la mujer que le ha dado sentido a la palabra familia en mi vida, quiero que vea las dimensiones de sus rezos, a mi abuela **ZENAIDA GOMEZ DE COSS**.

A mi maestro **FERNANDO DE LA TORRE RENDON**, quien cuenta con una visión amplia acerca de lo que es y debe de ser la patología, quien ingenio este estudio y de quien espero seguir el ejemplo de integridad y honestidad que se necesita en la medicina. Lejos de la admiración enorme y el respeto que me merece como Patólogo debo de reconocer que en el encontré a un gran ser humano y amigo en quien he podido confiar y quien hizo mas agradable, valiosa y dio sentido a mi estancia en el hospital (aun que me niegue mil veces antes de que amanezca).

A **BLANCA LUZ RUIZ**, **ROGER BRINDIS RUIZ** (Wish you were here), **IGNACIO ZAVALA SERRANO**. A todos mis muertos.

A **DIOS** por mantener viva esta enfermedad.

MAURICIO BRINDIS ZAVALA,
Noviembre 2005

INDICE

INTRODUCCION	1-2
MARCO REFERENCIAL	3-5
MATERIAL Y METODOS	5
RESULTADOS	6-14
ANALISIS	15-17
COMENTARIOS	18
REFERENCIAS	19-20

INTRODUCCION.

Avances recientes en la patología como la inmunohistoquímica y la hibridación in situ han facilitado la diferenciación, conocimiento de la etiología y comprensión del comportamiento biológico de diferentes entidades patológicas. No solo nos ha permitido identificar la etiología de una lesión, también conocer el pronóstico, definir el tratamiento y desarrollar terapias específicas en base a las moléculas que expresan diferentes células, como los linfomas que expresan la molécula CD20 y que cuentan con un anticuerpo monoclonal específico para tratamiento. Ha permitido el mejor entendimiento del comportamiento molecular y el descubrimiento de nuevas moléculas. El virus del papiloma humano (VPH) es un agente infeccioso por transmisión sexual que afecta hombres y mujeres. Es en el tracto genital femenino donde la relación entre VPH y cáncer es más constante, especialmente con carcinoma cervicouterino. A la fecha es la causa más alta de mortalidad por cáncer en la mujer en México, la segunda causa de muerte en la mujer en América del Sur (fuente OMS), segunda en incidencia y quinta como causa de muerte en la población femenina mundial (fuente OMS). Los criterios histológicos que existen para clasificar las lesiones intraepiteliales en tracto genital femenino son semejantes, aunque después de la aparición del sistema Bethesda, probablemente la forma de clasificar las lesiones intraepiteliales no solo del tracto genital femenino, sino de otros sitios anatómicos tienden a sufrir cambios. Sin duda la morfología es aun el procedimiento más usado para el diagnóstico de la infección por VPH.

La inmunohistoquímica y la hibridación in situ han venido a revolucionar este campo. A partir de la hibridación in situ conocemos el genotipo viral. A partir de la inmunohistoquímica, en el caso concreto del anticuerpo contra la molécula p16 que se expresa en presencia de virus de alto riesgo para cáncer, tenemos un panorama recién explorado, especialmente en cérvix. Se ha propuesto que con estas técnicas se mejora la sensibilidad y concordancia diagnóstica para las lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado y se establece el riesgo de progresión basado en la relación entre p16 (p16INK4a) y los virus de riesgo alto en el cuello uterino (3). Si partimos desde el punto en que la experiencia en México con esta técnica es limitada en el cérvix, donde ocurren más frecuentemente las lesiones de grado alto. En pocas instituciones privadas y probablemente en ninguna del Sector Salud en México se utiliza esta técnica de manera rutinaria y hay pocas publicaciones a nivel mundial. La importancia de conocer la expresión de este anticuerpo en las lesiones intraepiteliales de vulva aumenta, ya que estas tienden a aumentar en la población en edad reproductiva y productiva así como la incidencia de cáncer de vulva que puede proseguirle. Las publicaciones sobre la utilidad de este anticuerpo en lesiones premalignas de la vulva son muy escasas (15).

Una de las asociaciones que se busca establecer en este trabajo es la morfológica y la inmunohistoquímica así como establecer criterios que puedan ayudarnos a predecir la malignidad en estas lesiones o como parámetro en lesiones que se encuentran en el umbral diagnóstico que no nos permiten con certeza calificarlas como benignas o malignas como se ha hecho con otros marcadores como Ki67, ciclina E y p53 en las lesiones intraepiteliales del tracto genital femenino. Por otra parte también es importante conocer la concordancia diagnóstica inter observador que existe para este tipo de lesiones.

El HOSPITAL REGIONAL LICENCIADO ADOLFO LOPEZ MATEOS es uno de los hospitales generales del **ISSSTE** con mayor población ginecológica y el servicio de Patología de este uno de los que mayor número de especímenes ginecológicos recibe. La neoplasia intraepitelial de vulva (NIVU) es poco común en la mayoría de los hospitales. En hospitales como el nuestro es posible reunir un número significativo de casos para análisis. El diagnóstico histológico es dependiente de la subjetividad, por lo cual es importante establecer criterios histológicos precisos y apoyados por otras técnicas. El uso del anticuerpo contra p16 nos permitiría diferenciar aquellas lesiones que están asociadas a VPH de alto riesgo para cáncer de aquellas que no lo están, independientes de la morfología. Hasta ahora la morfología y los antecedentes son las únicas armas con las que cuenta el patólogo para realizar el diagnóstico en lesiones intraepiteliales de vulva en nuestro hospital. Algunas lesiones son clasificadas como atípicas, lo que provoca incertidumbre para clínicos y pacientes. Aquí es donde encontraría su mayor justificación el uso del anticuerpo contra p16 permitiéndonos diferenciar cuáles de estas lesiones son de riesgo para carcinoma y tratar de aislar parámetros morfológicos de sospecha antes de recurrir al p16. Con esto, el manejo y la observación de las pacientes se enfocaría de manera más precisa por parte del ginecoobstetra.

MARCO REFERENCIAL.

La infección por el virus del papiloma humano en el cervix, vagina y vulva se asocia a cambios característicos en el epitelio escamoso, conocidos como coilocitos o atipia coilocítica. (21). Hasta hace algunos años el papel del VPH en la lesión intraepitelial de vulva era incierto aun mas en las lesiones de bajo grado (NIVU I) (I).

Los condilomas son lesiones verruciformes, papilares o sésiles que pueden verse rojas, con áreas granulares que se tornan blancas después de la aplicación de ácido acético. La presencia de coilocitos en el tercio superior del epitelio se considera la importante para el diagnóstico de esta entidad. Una cantidad considerable de estas lesiones pueden no presentarlos. La arquitectura suele ser papilar y compleja. Los coilocitos se caracterizan por alargamiento nuclear con irregularidad en los contornos nucleares y una cavitación nuclear. (21).

Los tumores malignos de la vulva constituyen aproximadamente el 5.8% de las neoplasias malignas ginecológicas. Diferentes sinónimos se han utilizado a través de los años: hiperplasia atípica, displasia, atipia, enfermedad de Bowen, eritroplasia de Queyrat, carcinoma in situ simple, carcinoma intraepitelial (22). La vulva es el sitio menos frecuente de lesiones metastásicas del aparato genital femenino, el 40% de las metástasis son de origen genital (14).

En el año de 1976 la **INTERNATIONAL SOCIETY FOR THE STUDY OF VULVAR DISEASE** (ISSVD por sus siglas en inglés) propuso el término de carcinoma in situ para todas las variantes del carcinoma intraepitelial y de atipia para los cambios menos severos. El término de NIVU se propuso después para la continuación morfológica de la atipia y el carcinoma in situ. El espectro morfológico inicia con lesiones que recuerdan condiloma atípico y se extiende a aquellos con células basales inmaduras en todo el espesor del epitelio. (22)

El comité para la terminología de la **ISSVD** y la **INTERNATIONAL SOCIETY OF GYNECOLOGICAL PATHOLOGISTS** en 1986 recomiendan que todas las anomalías intraepiteliales con potencial neoplásico se agrupen juntas de acuerdo al grado celular de desorganización, alteraciones de la maduración, actividad mitótica como: NIVU I, NIVU II, NIVU III (displasia leve, moderada, severa) (22).

A últimas fechas se ha manifestado de manera creciente la existencia de dos tipos distintos de NIVU los cuales difieren uno del otro en cuanto a su etiología, patogénesis y significado clínico: una forma indiferenciada, asociada a infección por VPH y otra, diferenciada no relacionada con infección viral. Esta separación entre estas dos entidades esta pobremente reflejada en la literatura. El NIVU asociado a VPH se presenta en población de menor edad y este tiende a aumentar en mujeres jóvenes siendo de hasta 307% el aumento de la lesión de alto grado en la población general y 394% en la población joven, en las mujeres menores de 50 años la enfermedad invasiva ha aumentado un 157% suelen ser multicéntricos y con mayor grado de recurrencia. La variante no asociada a VPH suele ser uní focal y presentarse en mujeres mayores de edad donde también se ha encontrado asociación con liquen escleroso, hiperplasia epitelial y carcinoma verrucoso (7, 8, 11, 13, 16, 18).

Clínicamente la NIVU se manifiesta por prurito, pápulas, dolor vulvar, exudado vulvar, decoloración, descarga vaginal, sangrado anormal o puede ser asintomático (5,7).

El diagnóstico colposcópico se basa en el cambio de coloración con el ácido acético y algunos autores refieren sensibilidad con el azul de toluidina hasta de un 92% (10). El diagnóstico de estas entidades ha ido en aumento, no se sabe si por la incidencia aumentada debido a la libertad sexual que se vive en la actualidad. Otro factor puede ser la alta prevalencia de infección por VPH en parejas de las pacientes portadoras del VPH en quienes se ha llegado a encontrar hasta un 64% de positividad mediante estudios de magnificación y ácido acético con biopsia por colposcopia. (2, 9).

Los sitios más comunes para NIVU son los labios menores y el peine. La región peri anal se afecta en un tercio de los casos y se puede extender hasta el ano. El 70% son multifocales. El aspecto clínico es variable de lesiones blancas, rojas, negras maculares o papulosas.

Hay tres tipos morfológicos conocidos para las neoplasias intraepiteliales de vulva: basaloide, condilomatosa (“warty”) y verrugoso. Las dos primeras asociadas a VPH con mayor frecuencia (19). La variante basaloide ha sido mayormente relacionada con enfermedad invasiva (1).

Características histológicas de la neoplasia intraepitelial de vulva (19):

- hiperqueratosis
- paraqueratosis
- proliferación de células inmaduras
- multinucleación
- atipia
- disqueratosis
- anomalías mitóticas.

La proteína p16 es una quinasa dependiente de ciclina inhibidora la cual frena el ciclo celular por inactivación de las quinasas dependientes de ciclina que fosforilan a la proteína del retinoblastoma (Rb). Estudios biológicos recientes revelan que la expresión de p16 está marcadamente influenciada por el estatus de la expresión de Rb, y la sobreexpresión de p16 se ha demostrado en cánceres cervicales por la inactivación funcional del Rb por la proteína E7 del VPH de alto riesgo para cáncer. Esto no solo ha sido válido para lesiones en cervix, también en vagina y vulva se sabe que la sobreexpresión del p16 se asocia a infección por virus de alto riesgo, publicaciones recientes hacen énfasis en la sobreexpresión de este inmunomarcador también en lesiones de epitelio escamoso de mucosa oral y piel (6, 4, 12, 17). La inmunoreactividad del p16 en lesiones intraepiteliales de vulva se ha estudiado poco, habiendo apenas escasos artículos publicados internacionalmente y aun más escasos son los trabajos presentados en diferentes foros a nivel nacional. Los estudios realizados han demostrado diferencia en la inmunoreactividad para p16 entre condilomas acuminados, NIVU I, NIVU II, NIVU III y carcinomas escamosos, concluyendo que este no es útil cuando se trata de diferenciar un condiloma acuminado de una NIVU I ya que ambas no son reactivas a p16, pero sí dejan en claro que puede auxiliar al diagnóstico entre lesiones premalignas y malignas. En las NIVU II, III la expresión llegó a ser hasta de un 92%, mientras que en el carcinoma escamoso hasta de un 100% (15).

MATERIAL Y METODOS

Se recopiló información de los archivos **DEL SERVICIO DE ANATOMIA PATOLOGICA del HOSPITAL ADOLFO LOPEZ MATEOS** de los últimos 24 años para tener una idea de las lesiones que afectan a la vulva, se seleccionaron todos aquellos casos diagnosticados previamente como **NEOPLASIA INTRAEPITELIAL DE VULVA (NIVU), CONDILOMA ATIPICO, CONDILOMA PLANO, LESIONES ESCAMOSAS LIMITROFES, LESIONES ESCAMOSAS REACTIVAS, LESIONES ESCAMOSAS INESPECIFICAS**. Se sometieron a revisión y revaloración bajo criterios estrictos de diagnóstico y clasificación (ver formato de clasificación), se seleccionaron las laminillas que se diagnosticaron como NIVU bajo los criterios estrictos de diagnóstico y clasificación y se recabaron los bloques de parafina existentes (últimos 8 años) para corte y tinción con anticuerpo contra p16.

Manejo del tejido en el laboratorio de patología.

- se fijo el tejido en formol al %.
- se realizaron cortes a 5 micras en bloques de parafina.
- se dejaron las rebanadas a 58°C 2 a 4 en vapor horas para recuperación de los antígenos.
- se aplicó el anticuerpo en un cuarto a temperatura ambiente por 60 minutos con dilución de 1 a 100.
- se aplicó el enlace por 10 minutos en cuartos temperatura ambiente.
- se aplicó la etiqueta por 10 minutos en cuarto a temperatura ambiente.
- se aplicó el contraste y se cubrieron las laminillas con el corte.

Una vez realizadas las tinciones se elaboró una tabla con los resultados obtenidos señalando la positividad o la negatividad a p16. Las tablas señalan el tercio que se afectó del epitelio, la intensidad con la que se tiñe en la zona de lesión y si es en zona de alto o bajo grado histológicamente.

Los resultados se compararon con los diagnósticos originales, los recientes y la tinción para p16. Se obtuvo el porcentaje de concordancia en los diferentes parámetros evaluados, se recopilaron los datos clínicos de importancia para el estudio de los expedientes existentes en el archivo clínico del hospital.

NUEVOS DIAGNOSTICOS (TABLA 2)

QX	HQ	PQ	HP			AT	M	S	MT			A	C	NV			C A N C E R						DX		
			1	2	3				1	2	3			1	2	3	PT	ESP	EX	V	B	S		W	
860-83					X			X					X			X			X	X					NIVU 3
2711-87			X				X			X		X	X		X					X					NIVU 2
419 D 88				X							X	X	X	X	X				X				X		NIVU 1, 2
1903-88	X			X				X		X		X	X		X				X				X		NIVU 2
513-89	X	X	X					X					X	X					X				X		NIVU 1, CONDILOMA ATIPICO
2460-89		X			X			X			X	X	X			X		X		X					NIVU 3
957-91		X	X				X					X	X						X				X		NIVU 1, CONDILOMA ATIPICO
1610-97	X			X				X			X		X		X							X	X		NIVU 2
5182-98		X		X				X		X		X		X		X									NIVU 2
742-99				X								X	X		X								X		NIVU 2
7128-00	X	X	X				X					X	X	X					X				X		NIVU 1
4795-01	X		X					X			X	X	X		X			X		X					NIVU 2
214-02	X	X			X			X			X		X			X	X					X			NIVU 3
5399-02				X		X						X	X	X										X	NIVU 1
7325-03		X	X				X				X	X	X		X								X		NIVU 2
TOTAL	6	7	6	6	3	1	4	8		3	7	10	15	4	8	3	3	2	6	6					15

HQ	HIPERQUERATOSIS	PT	PATRON TISULAR
PQ	PARAQUERATOSIS	V	VARIANTE
HP	HIPERPLASIA		
AT	ATIPIA		
MT	MITOSIS		
A	APOPTOSIS		
C	COILOCITOS		
NV	NIVU		

HQ HUPERQUERATOSIS PT PATRON TISULAR
PQ PARAQUERATOSIS V VARIANTE

QX	HQ	PQ	HP			AT L	M	S	MT			A	C	NV			PT P	A N C			E S	R W	DX		
			1	2	3				1	2	3			1	2	3		ESP	EX	V B					
8109-03						X						X	X	X								X	NIVU 1		
1561-04							X					X	X	X				X				X	NIVU 1		
1855-04	X						X					X		X			X					X	NIVU 1		
7057-05	x				x			x			x	x				x	x			x			NIVU 3		
5386-05	X			X				X			X	X			X		X		X				NIVU 2		
	3			1	1	1	2	2			1	2	5	2	3	1	1	1	2	1	2		3	5	
	6	7	6	6	3	1	4	8			3	7	10	15	4	8	3	3	2	6	6			15	
TOTAL	9	7	6	7	4	2	6	10			3	1	9	15	17	7	9	4	4	4	7	8		3	20

HP HIPERPLASIA
AT ATIPIA
MT MITOSIS
A APOPTOSIS
C COLOCITOS
NV NIVU

QX	DX PREVIO	DX ACTUAL	SI	NO	N	DX	1°	2 >	NE
860-83	Carcinoma epidermoide intraepitelial papilar	NIVU 3		X	X				
4998-83	Carcinoma epidermoide bien diferenciado con leucoplaquia tipo disqueratoide	Carcinoma invasor + liquen escleroso y atrófico		X					X
826-87	Hiperqueratosis con hiperplasia atípica	Condiloma ordinario		X		X			
1531 A 87	Melanosis e hiperplasia inespecífica con inflamación crónica.	Condiloma ordinario + carcinoma epidermoide invasor		X		X			
1798-87	Vulvitis crónica y aguda con cambios coilocíticos	Condiloma ordinario		X		X			
2711-87	Condiloma ordinario atípico	Condiloma ordinario		X			X		
2711-87	Condiloma ordinario	NIVU 2		X			X		
2762-88	Carcinoma epidermoide in situ	Condiloma ordinario		X				X	
419-88	Carcinoma epidermoide in situ	Condiloma ordinario		X				X	
419 D 88	Carcinoma epidermoide in situ	NIVU 1, NIVU 2		X			X	X	
1902-88	Condiloma atípico plano	Condiloma ordinario		X			X		
1903-88	Compatible con carcinoma epidermoide	NIVU 2		X				X	
2923-88	Displasia leve, NIVU 1	Condiloma ordinario		X	X				
3349-88	Displasia leve	Condiloma ordinario		X	X				
513-89	Condiloma acuminado con atipia	NIVU 1, condiloma atípico	X						
2460-89	NIVU 1	NIVU 3		X				X	
1232-90	Condiloma acuminado con displasia leve	Reactivo		X		X			
957-91	Condiloma atípico con patrón acuminado	NIVU 1, condiloma acuminado	X						
2019-94	Lesión escamosa intraepitelial limítrofe	Reactivo		X		X			
1455-95	Lesión escamosa intraepitelial limítrofe	Reactivo		X		X			
1864-95	Condiloma atípico y displasia moderada	AL		X				X	
1610-97	Displasia leve focal	Nivu 2		X				X	
6107-97	Vulvitis crónica y aguda focalmente ulcerada con displasia leve	Infección por Herpez		X		X			
5173-98	Condiloma acuminado con ligera displasia	Condiloma ordinario	X						
5182-98	NIVU 3	NIVU 2		X			X		
742-99	Lesión intraepitelial de alto grado	NIVU 2	X		X				
5795-00	Liquen escleroso y atrófico	Liquen escleroso y atrófico	X						
7128-00	Lesión escamosa intraepitelial	NIVU 1	X		X				X
4795-01	Neoplasia intraepitelial grado 3	NIVU 2		X			X		
214-02	Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado	NIVU 3		X				X	
5399-02	Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado	NIVU 1	X						
7325-03	Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado	NIVU 2		X			X		
8109-03	NIC 1	NIVU 1	X			X			
865-04	Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado NIC I focal.	Reactivo		X	X				
1561-04	Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado	NIVU 1	X			X			
1855-04	Lesión escamosa intraepitelial de vulva	NIVU 1	X			X			
5259-05	NIVU 1	CONDILOMA ACUMINADO	X		X		X		
5386-05	Displasia leve (lesión intraepitelial escamosa de bajo grado)	NIVU 2	X		X			X	
5709-05	Lesión intraepitelial vulvar escamosa de bajo grado (condiloma plano)	REACTIVO		X		X			
6097-05	Neoplasia intraepitelial vulvar de bajo grado (condiloma acuminado)	CONDILOMA ACUMINADO	X		X				
7057-05	NIVU 1	NIVU 3	X					X	
TOTAL	41	41	14	27	9	11	8	10	2

TABLA 3

RESULTADOS DE INMUNOHISTOQUIMICA PARA p16 (TABLA 5)

QX	REACCION A p16	TERCIO AFECTADO	GRADO DE POSITIVIDAD	GRADO DE LESION	COMENTARIOS
1610-97	+	DOS	++	ALTO GRADO	CONFIRMA (NIVU 2)
5182-98	+	UNO	+	ALTO GRADO	CONFIRMA (NIVU 2)
742-99	-				DESCARTA (REACTIVO).
4795 01	+	ESPESOR COMPLETO	+++	ALTO GRADO	CONFIRMA (NIVU 2)
214-02	+	ESPESOR COMPLETO	++	ALTO GRADO	CONFIRMA (NIVU 3)
5399-02	-				DESCARTA (REACTIVO)
7325-03	-				DESCARTA (VIRUS DE BAJO RIESGO)
8109-03	-				DESCARTA (VIRUS DE BAJO RIESGO)
1561-04	+	FOCAL	+	BAJO GRADO	CONFIRMA (ASOCIACION FOCAL A ALTO GRADO)
1855-04	-				DESCARTA (VIRUS DE BAJO GRADO)
5386-05	+	DOS	++	ALTO GRADO	CONFIRMA (NIVU 2)
7057-05	+	DOS	++	ALTO GRADO	CONFIRMA (NIVU 3)

TABLA COMPARATIVA DE PRIMER DIAGNOSTICO VS DIAGNOSTICO DE REVISION VS p16 (TABLA 6)

QX	DX PREVIO	DX NUEVO	P16
1610-97	DISPLASIA LEVE FOCAL	NIVU 2	++
5182-98	NIVU 3	NIVU 2	+
742-99	LESION INTRAEPITELIAL DE ALTO GRADO	NIVU 2	- REACTIVO
4795 01	NEOPLASIA INTRAEPITELIAL GRADO 3	NIVU 2	+++
214-02	LESION INTRAEPITELIAL DE BAJO GRADO	NIVU 3	++
5399-02	LESION INTRAEPITELIAL ESCAMOSA DE BAJO GRADO	NIVU 1	- REACTIVO
7325-03	LESION INTRAEPITELIAL ESCAMOSA DE BAJO GRADO	NIVU 2	-
8109-03	NIC 1	NIVU 1	-
1561-04	LESION INTRAEPITELIAL ESCAMOSA DE BAJO GRADO	NIVU 1	+
1855-04	LESION ESCAMOSA INTRAEPITELIAL DE VULVA	NIVU 1	-
5386-05	DISPLASIA LEVE (LESION INTRAEPITELIAL DE BAJO GRADO)	NIVU 2	++
7057-05	NIVU 1	NIVU 3	++

ANALISIS

De un total de 659 casos analizados desde enero de 1980 a diciembre del 2004 mas 5 casos añadidos del 2005 (TABLA 1), las NEOPLASIAS INTRAEPITELIALES DE VULVA (NIVU) sumaron un total de 31 casos, los cuales corresponden al 4.7 % de las lesiones de vulva comprendidas entre esas fechas. La incongruencia en el diagnostico y en la clasificación de las misma fue valorada de acuerdo a los parámetros previamente establecidos en la literatura consultada para fines de este trabajo. En primer lugar se valoro el porcentaje de congruencia entre el observador primario y los autores de esta tesis (TABLA 3) que en general fue de 34.1 %, la incongruencia en la nomenclatura fue de 21.9 %, en cuanto al diagnostico fue de 26.8 %, la incongruencia de 1° fue de 19.5 % y la de 2° o mas fue de 24.3 %, el 4.8% de los casos fueron poco específicos como para poderlos incluir en uno de los parámetros a evaluar y se calificaron como NO ESPECIFICOS.

La edad promedio de las pacientes fue de 36.8 años con un rango de edad que va de los 35 a los 97 años de edad. De los 7 expedientes que se obtuvieron del archivo clínico, 4 tuvieron un inicio de vida sexual activa antes de los 18 años, 4 casos con asociación a infección por VPH en cervix, dos casos pertenecieron a una misma paciente (TABLA 4).

Para valorar p16 como factor determinante entre lesiones con virus de bajo riesgo y las de alto riesgo, fueron tomadas en cuenta las lesiones con errores de nomenclatura como "lesión intraepitelial de bajo grado, neoplasia de bajo grado, displasia leve, NIC I" y encuadradas en el rubro de NIVU 1, las lesiones descritas como "lesión intraepitelial escamosa de alto grado, carcinoma in situ, carcinoma epidermoide in situ, o carcinoma epidermoide" y se equipararon con las lesiones que si están asociadas a infección por virus del papiloma humano de alto riesgo para cáncer (TABLA 3).

La concordancia encontrada entre los observadores primarios y la tinción de p16 fue del 50%, aunque la incongruencia por errores de nomenclatura fue de 21.9 %, esta no se tomo en cuenta para confrontar los resultados. La congruencia entre los autores y la encontrada con la tinción para p16 fue del 75 %. Después de volver a revisar los casos negativos para p16 se revaloro el diagnostico y se concluyo que uno de los casos era reactivo a infiltrado inflamatorio y a virus de bajo riesgo y otro caso fue reactivo y con orientación no adecuada del espécimen con lo cual solo se tenia una vista de las capas superficiales y con proceso reactivo (figura 1, figura 2) (TABLA 5 Y 6).

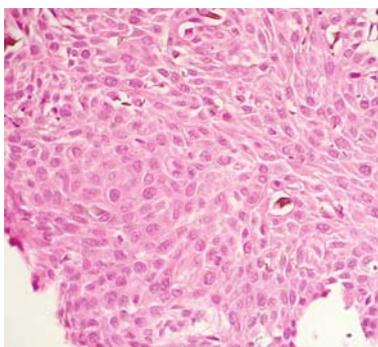


Figura 1. Displasia reactiva (HE).

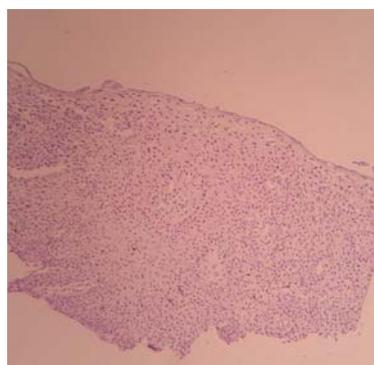


Figura 2. Tinción para p16 negativa

La positividad para p16 fue marcada en las lesiones de alto grado (NIVU II, NIVU III) con una intensidad que vario de 1 a 3 cruces (1 a 4), fue marcada en las áreas de alto grado histológico y en una de las laminillas revisadas fue positiva de manera focal en una lesión de bajo grado lo cual prueba que las lesiones de bajo grado también pueden asociarse a infección por virus de de alto riesgo en vulva (ver TABLA 5). En las lesiones francamente positivas la tinción se ubico en el primer tercio del epitelio (1 caso), los dos primeros tercios (3 casos), en todo el espesor (2 casos). (Figuras 3, 4, 5, 6)

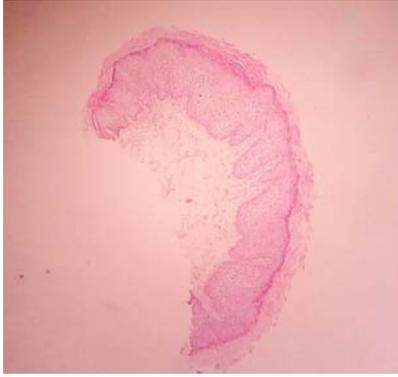


Figura 3. NIVU 3 (HE)



figura 4. NIVU 2 p16 positivo en Todo el espesor del epitelio.

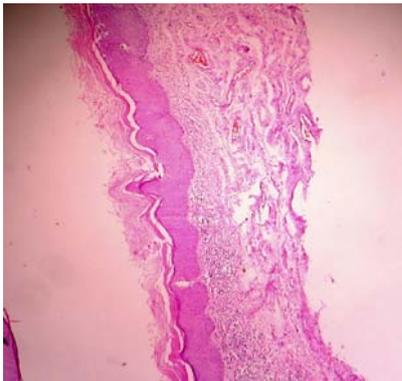


Figura 5. NIVU 2 (HE)

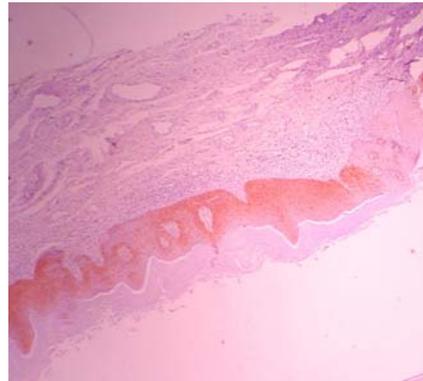


Figura 6. NIVU 2 p16 positivo en Dos tercios del epitelio.

COMENTARIOS

El anticuerpo contra p16 en una de las armas con que se cuenta en la actualidad para discriminar lesiones que tienen riesgo de progresión a cáncer asociado a infección por VPH en el tracto genital femenino. Su utilidad en la vulva ha sido poco explorada, en este trabajo se ha puesto énfasis en descartar cuales son las características de las lesiones a las que se les puede aplicar p16 así como los errores mas frecuentes en el diagnostico de las neoplasias intraepiteliales de la vulva.

Las lesiones de vulva corresponden a un porcentaje bajo respecto a las lesiones de cervix asociadas a infección por VPH, por eso ha sido frecuente recurrir a la nomenclatura empleada para cervix en el diagnostico de las lesiones intraepiteliales de la vulva en nuestro servicio. Esto no solo no se apega a lo ya establecido por las instancias que emiten las recomendaciones a nivel internacional para la nomenclatura de las lesiones de vulva, sino que no nos ayuda a unificar criterios que pueden repercutir en el manejo de las pacientes, en ocasiones, el diagnostico ha sido poco preciso, al grado de clasificar pero no gratificar las lesiones.

A falta de unificar criterios de diagnostico, las lesiones de vulva o se sobre diagnostican o se infra diagnostican, dejándonos solo un 34.1 % de congruencia ínter observador. Si los criterios no se unifican, tampoco habrá un criterio para las lesiones que se deben de discriminar con p16 (en caso de contar con este recurso en este servicio) con lo cual podría mal gastarse un recurso valioso.

El p16 es un recurso útil cuando la morfología no descubre toda la verdad en un caso en particular, tal como se demostró en uno de los casos el cual fue diagnosticado por el observador primario como lesión de alto grado y por los autores del presente trabajo como NIVU II, la tinción con p16 demostró que la lesión era reactiva, tal vez en su momento el uso de este marcador hubiera evitado el sobre tratamiento en la paciente.

P16 es un recurso útil para el diagnostico de lesiones que pueden evolucionar a cáncer. Debido a la población femenina con que cuenta el **HOSPITAL LICENCIADO ADOLFO LOPEZ MATEOS** es alta, la implementación de este recurso en el laboratorio de patología debe de considerarse, así como la unificación de criterios diagnósticos en el grupo de patólogos pertenecientes al servicio.

1. Belardi MG: Xv FIGO World Congress Of Gynecology and Obstetrics, Denmark, 1997. **vulvar intraepithelial neoplasia (VIN): Current Status.** *Fed Scand Societies Obst & Gynecol*, 76 (Supl No, 167): 2, 1997.
2. Buonaguidi A.; Borroni R., Frigerio A.; Mojana GC: **Prevalence of Genital HPV Infection among Mle Partners of Infected Women.** FIGO World Congress Of Gynecol and Obst; Copenhagen, Denmark, 3-8 Programme And Abstracts Presented On Wednesday 6 August 1997.
3. Fox H, Wells M: **recent Advance in the Pathology of the Vulva (review).** *Histopathol* 42(3), 209-216, 2003.
4. Gologan O, Barnes E, Hunt J: **Potencial Diagnostic Use of p16INK4a, a New Marker That Correlates With Dysplasia in Oral Squamoproliferative Lesions.** *Am J Surg Path*, 29(6), 792-796, 2005.
5. Herod J, Shafi M, Rollason T, Jordan J, Luesley D: **Vulvar Intraepithelial Neoplasia; Long-Term Follow-Up of Treated and Untreated Women.** *Obst & Gynecol Surv* 51(10): 597-599, 1996.
6. Jeffrey T, Aida C, Sabine R, Lutz R, Ellen E. Karl M, Christopher P: **Ki-67, Cyclin E, and p16INK4 are Complementary Surrogate Biomarkers for Human Papilloma Viruss-Related Cervical Neoplasia.** *Am J Surg Path* 25(7): 884-891, 2001.
7. Jones R, Rowan D. **Vulvar Intraepithelial Neoplasia III: A Clinical Study Of The Outcome in 113 Cases With Relation to the Later Development of Invasive Vulvar Carcinoma.** *Obst & Gynecol Surv*, 50(8), 593-595, 1995.
8. Jones R, Sadler L, Grant S, Whineray J, Exeter M, Rowan D: **Clinically identifying Women With Vulvar Lichen Sclerosus at Increased Risk of Squamous Cell Carcinoma;** *Obstet & Gynecol Surv*, 60(2), 98-99, 2005.
9. Joura E, Lösch A, Haider-Angeler MG, Leodolter S: **Trends in Vulvar Neoplasia::Increasing Incidence of Vulvar Intraepithelial Neoplasia And Squamous Cell Carcinoma Of the Vulva in Young Women.** *Obst Gynecol Surv* 56(1): 24-25, 2001.
10. Joura E, Zeisler H, Losch A, Sator M, Mullauer-Ertl S: **Diferentiating Vulvar intraepithelial Neoplasia From Nonneoplastic Epithelial disorders: The toluidine Blue Test.** *Obstet Gynecol Surv* 54(1): 28-29, 1999.
11. Modesitt S, Waters A, Walton L, Fowler W, Van Le L. **Vulvar Intraepithelial Neoplasia III: Occult Cancer and the impact of Margin Status on Recurrence.** *Obstet Gynecol Surv* 54(4): 240-241, 1999.
12. Murao K, Kubo Y, Takiwaki H, Arase S, Matsumoto K. **Bowen's disease on the sole: p16INK4a overexpression associated with human papillomavirus type 16.** *Brit J Dermatol*, 152(1): 170-173, 2005.

13. Nascimiento A, Granter S, Cviko A, Yuan L, Hecht J, Crum C. **Vulvar Acanthosis With Altered Differentiation: A Precursor to Verrucous Carcinoma?**, *Am J Surg Pathol* 28(5): 638-643, 2004.
14. Neto A, Deavers M, Silva A. **Metastatic tumors of the Vulva: A Clinicopathologic Study of 66 Cases**, *Am J Surg Pathol* 27(6): 799-804, 2003
15. Irina R, Edward W, Chen L, Haizhen Zh, Michael B, and Nicole M. **Human Papillomavirus Infection and p16INK4a Protein Expression in Vulvar Intraepithelial Neoplasia and Invasive Squamous Cell Carcinoma**. *J Colposcopy & Cervical Pathol Lower Genital Tract Dis* 9(2): 108-113, 2005
16. Salim, A.; Manek, S.; Wojnarowska, F. **Verrucous carcinoma of the vulva associated with lichen sclerosus: a report of two cases**. *Br J Dermatol* 147(62): 85, 2002
17. Takaaki Sano, Tetsunari Oyama, Kenji Kashiwabara, Toshio Fukuda, and Takashi Nakjima. **Expression status of p16 Protein Is Associated with Human Papillomavirus Oncogenic Potential in Cervical Genital Lesions**. *Am J Surg Pathol* 153(6): 1741-1748, 1998.
18. Van Beurden M, Ten K, Fiebo J, Smitts H. Berkhout M, de Craen A, Van der Vange N, Lammes B, Ter S. **Multifocal Vulvar Intraepithelial Neoplasia Grade III and Multicentric Lower Genital Tract Neoplasia Is Associated With Transcriptionally Active Human Papillomavirus**. *Obstet Gynecol Surv* 50(10): 723-724 1995.
19. Zaloudek C, Rabban, Joseph T. MD, MPH. **Differentiated Vulvar Intraepithelial Neoplasia (VIN) : An Underrecognized Form of High-grade VIN Associated With Keratinizing Squamous Cell Carcinoma Of the Vulva**. *Pathology Case Rev* 10(1):35-40, 2005.
20. Kurman, R. J. **Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract**. Fifth Edition, *Springer, New York, 2002*.
21. Kurman RJ., Norris H, Wilkinson E: **Tumors of The Cervix, Vagina, And Vulva, Atlas of Tumor Pathology**. *Armed Forces Institute of Pathology, Washington, D.C. 1992*
22. Yao S. Fu. **Pathology of the Uterine Cervix, Vagina, And Vulva**. *Saunders, 2nd edition, Philadelphia, PA, 2002*.