

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
SERVICIO DE DERMATOLOGÍA, HOSPITAL GENERAL
“DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ”

**EXPRESIÓN DE SINDECAN-1 Y P53 EN CORTES DE PIEL
CON CROMOBLASTOMICOSIS E HIPERPLASIA
PSEUDOEPITELIOMATOSA, CARCINOMA EPIDERMÓIDE
Y PIEL NORMAL**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:

DERMATOLOGÍA

PRESENTA:

MARIANA CATALINA DE ANDA JUÁREZ

TUTOR:

DR. RAMÓN FELIPE FERNÁNDEZ MARTÍNEZ

MÉXICO, D.F.

2011



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.

Este trabajo fue realizado en la Secretaría de Salud, Hospital General Dr. Manuel Gea González; División de Dermatología: Secciones de Micología y Dermatopatología; En colaboración con el Departamento de Investigación de la Escuela de Odontología de la Universidad Juárez del estado de Durango, por la Dra. Mariana Catalina De Anda Juárez con la dirección y supervisión de el Dr. Ramón Felipe Fernández Martínez y la Dra. María Elisa Vega Memije.

Este trabajo de Tesis con No. PROT 06-26-2011 presentado por el alumno Mariana Catalina De Anda Juárez se presenta en forma con visto bueno por el Tutor principal de la Tesis Dr. Ramón Felipe Fernández Martínez, y la División de Enseñanza e Investigación a cargo del Dr. Octavio Sierra Martínez con fecha del 26 de junio del 2011 para su impresión final.

Dirección de Enseñanza e Investigación

Tutor principal

Dr. Octavio Sierra Martínez

Dr. Ramón Felipe Fernández Martínez

Autorizaciones

Dr. Octavio Sierra Martínez

Dirección de Enseñanza e Investigación

Hospital General “Dr. Manuel Gea González”

Dra. María Elisa Vega Memije

Subdirección de Investigación Biomédica

Hospital General “Dr. Manuel Gea González”

Dr. Luciano Domínguez Soto

Jefatura de la División de Dermatología

Hospital General “Dr. Manuel Gea González”

EXPRESIÓN DE SINDECAN-1 Y P53 EN CORTES DE PIEL CON
CROMOBLASTOMICOSIS E HIPERPLASIA PSEUDOEPITELIOMATOSA,
CARCINOMA EPIDERMOIDE Y PIEL NORMAL

Colaboradores:

Dra. Mariana Catalina De Anda Juárez

Dr. Ramón Felipe Fernández Martínez

Dra. María Elisa Vega Memije

Dra. Alma Angélica Rodríguez Carreón

Dr. Ronell Bologna Molina



AGRADECIMIENTOS

A mi familia, en especial a mis padres por su cariño y apoyo.

A todos mis maestros en Dermatología, a todos los que compartieron sus conocimientos y me enseñaron con paciencia.

A mis buenos compañeros Gisela, Ramiro, Antonio y Claudia con los que recorrí este camino, por su amistad.

A Eduardo que me enseña a resolver los problemas con calma.

A mi Universidad por todas las oportunidades y las puertas que me abrió.

INDICE

| | |
|--------------------------------------------|----|
| GLOSARIO..... | 9 |
| RELACIÓN DE TABLAS Y FIGURAS..... | 10 |
| RESUMEN..... | 13 |
| ABSTRACT..... | 15 |
| INTRODUCCIÓN..... | 17 |
| 1. ANTECEDENTES..... | 17 |
| 1.1 SINDECAN-1..... | 17 |
| 1.2 CROMOBLASTOMICOSIS..... | 18 |
| 1.3 CARCINOMA EPIDERMOIDE..... | 22 |
| 1.4 CEC ASOCIADO A CROMOBLASTOMICOSIS..... | 25 |
| 1.5 HIPERPLASIA PSEUDOEPITELIOMATOSA..... | 26 |
| 1.6 PROTEÍNA P53..... | 26 |
| 2. MARCO TEORICO..... | 29 |
| 3. JUSTIFICACION..... | 31 |
| 4. HIPOTESIS..... | 34 |
| 5. OBJETIVOS..... | 35 |
| 6. MATERIAL Y METODOS..... | 35 |
| 6.1. UNIVERSO DE ESTUDIO..... | 35 |
| 6.2. TAMAÑO DE LA MUESTRA..... | 36 |
| 6.3. CRITERIOS DE SELECCIÓN..... | 36 |
| 6.4. DEFINICIÓN DE VARIABLES..... | 37 |
| 6.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO..... | 38 |
| 6.6. DESCRIPCIÓN DE PROCEDIMIENTOS..... | 39 |

| | |
|-------------------------------------|----|
| 7. RESULTADOS..... | 42 |
| 8. DISCUSION..... | 56 |
| 9. CONCLUSIONES..... | 57 |
| 10. PERSPECTIVAS..... | 58 |
| 11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 58 |
| 12. ANEXOS..... | 63 |

GLOSARIO

ADN: Ácido desoxirribonucleico

CBC: Carcinoma basocelular

CEC: Carcinoma escamocelular

Cromoblastomicosis: micosis subcutánea causada por hongos negros, de evolución crónica, endémica en México

HGMGG: Hospital General Dr. Manuel Gea González

Hiperplasia pseudoepiteliomatosa: proceso reactivo de la epidermis caracterizada por hiperplasia de la epidermis que en algunos casos puede simular carcinoma epidermoide

HP: Hiperplasia pseudoepiteliomatosa

PH: pseudoepitheliomatous hyperplasia

p-53: factor de transcripción nuclear, supresor tumoral que regula apoptosis y detiene el ciclo celular cuando hay daño al material genético celular

SCC: squamous cell carcinoma

Sindecan-1: proteoglicano de membrana expresado en epitelio escamosos diferenciados

Úlcera de Marjolin: carcinoma epidermoide en sitios de inflamación crónica

RELACIÓN DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1: Diagnósticos y distribución por sexo.

Tabla 2: Cuantificación de expresión de membrana por inmunohistoquímica de sindecan-1.

Tabla 3: Cuantificación de expresión nuclear por inmunohistoquímica de p53.

Tabla 4: Expresión de Sindecan-1 en hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a cromoblastomycosis.

Tabla 5: Expresión de Sindecan-1 en en hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a cromoblastomycosis.

Tabla 6: Expresión de Sindecan-1 en carcinoma epidermoide.

Tabla 7: Expresión de Sindecan-1 en carcinoma epidermoide.

Tabla 8: Expresión de Sindecan-1 en piel normal.

Tabla 9: Expresión de Sindecan-1 en piel normal.

Tabla 10: Expresión de p53 en hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a cromoblastomycosis.

Tabla 11: Expresión de p53 en hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a cromoblastomycosis.

Tabla 12: Expresión de p53 en carcinoma epidermoide invasor.

Tabla 13: Expresión de p53 en carcinoma epidermoide invasor.

Tabla 14: Expresión de p53 en piel normal.

Tabla 15: Expresión de p53 en piel normal.

Figura 1: 2+ de expresión de Sindecan-1 en hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a carcinoma epidermoide. Se observan las células fumagoides.

Figura 2: 2+ de expresión de Sindecán-1 en un caso de cromoblastomiosis con marcada hiperplasia pseudoepiteliomatosa con atipia.

Figura 3: 3+ de expresión de sindecán-1 en hiperplasia pseudoepiteliomatosa marcada asociada a cromomiosis.

Figura 4: 1+ de expresión de Sindecán-1 en carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado.

Figura 5: 0+ de expresión de Sindecán-1 en carcinoma epidermoide mal diferenciado.

Figura 6: 3+ de expresión de Sindecán-1 en una biopsia de piel normal.

Figura 7: Gráfica de expresión de Sindecán-1 en los 3 grupos comparados: cromoblastomiosis con hiperplasia pseudoepiteliomatosa, carcinoma epidermoide y piel normal.

Figura 8: Gráfica de media de expresión de Sindecán-1 en los 3 grupos.

(CEC: carcinoma epidermoide)

Figura 9: Porcentaje de positividad de Sindecán-1 en los 3 grupos estudiados.

Figura 10: Hiperplasia pseudoepiteliomatosa sin expresión de p53.

Figura 11: 1+ expresión nuclear de p53 en hiperplasia pseudoepiteliomatosa

Figura 12: 2+ de expresión de p53 en CEC moderadamente diferenciado.

Figura 13: 3+ expresión de p53 en CEC invasor mal diferenciado.

Figura 14: 0+ de expresión de p53 en piel normal.

Figura 15: Expresión de p53 en los 3 grupos comparados: hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a cromoblastomiosis, carcinoma epidermoide y piel normal.

Figura 16: Media de expresión de p53 en los 3 grupos: piel normal, hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a cromoblastomicosis y carcinoma epidermoide

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: La hiperplasia pseudoepiteliomatosa es un proceso reactivo asociado a infecciones, neoplasias, inflamación crónica. El principal diagnóstico diferencial es el carcinoma epidermoide. La cromoblastomycosis es una micosis subcutánea endémica en México de evolución crónica asociada a marcada hiperplasia pseudoepiteliomatosa. En sitios de inflamación crónica se puede desarrollar un carcinoma epidermoide: Úlcera de Marjolin, que se comporta de manera más agresiva con alta tasa de metástasis. El sindecan-1 es un proteoglicano de membrana específico de epitelios escamosos diferenciados y la pérdida de su expresión se asocia con transformación maligna, estadios más avanzados de tumor, mayor invasión y metástasis. La proteína p53 se expresa en todos los tejidos y se encarga de activar enzimas de reparación del ADN y de inducir apoptosis en casos en los que el daño celular no pueda ser reparado.

OBJETIVO: Comparar la expresión por inmunohistoquímica de sindecan-1 y p53 en muestras de piel incluidas en parafina de pacientes con cromoblastomycosis e hiperplasia pseudoepiteliomatosa con carcinoma epidermoide.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se incluyeron en el estudio todas las biopsias de piel en bloques de parafina de hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a cromoblastomycosis del servicio de dermatología del HGMGG y se comparó la expresión de sindecan-1 y p53 por técnica de inmunohistoquímica con igual número de carcinomas epidermoides invasores y piel normal como control.

RESULTADOS: Se obtuvieron 21 biopsias de cromoblastomycosis con hiperplasia pseudoepiteliomatosa de 11 pacientes y 22 casos de carcinoma epidermoide invasor de 21 pacientes.

La expresión de Sindecán-1 fue más positiva en los casos de HP asociada a cromoblastomiosis cuando se comparó con carcinomas epidermoides, con una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.001$). La pérdida de diferenciación en los casos de CEC se correlacionó con una menor expresión de Sindecán-1.

La mayor parte de los casos de CEC invasor presentaron pérdida de la expresión de Sindecán-1 y todas las muestras de piel normal conservaron 3+ de expresión de este proteoglicano de membrana. La expresión con patrón nuclear por inmunohistoquímica de p53 fue mayor en los casos de carcinoma epidermoide en comparación con los casos de hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a cromomiosis con diferencia estadísticamente significativa ($p=.001$). La expresión nuclear por inmunohistoquímica de p53 se correlacionó con la pérdida de expresión de membrana de Sindecán-1 y esto se correlacionó con el grado de pérdida de diferenciación y el grado de invasión.

CONCLUSIONES: La pérdida de la expresión de sindecán-1 se relaciona con transformación maligna de epitelios escamosos y se correlaciona con el aumento en la expresión de p53, con el grado de pérdida de diferenciación y el grado de invasión tumoral. La expresión de sindecán-1 se encuentra conservada, con diferencia significativa en HP en comparación con CEC. El sindecán-1, en correlación con la expresión de p53, pueden servir como marcadores de transformación maligna en casos de hiperplasia pseudoepiteliomatosa y ser de utilidad en el diagnóstico diferencial entre HP y CEC. El tamaño de la muestra es limitado por la rareza de la cromoblastomiosis. Se requiera evaluar la expresión de sindecán-1 y p53 en casos de HP asociada a otras causas.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Pseudoepitheliomatous hyperplasia is a reactive process associated with chronic infections, neoplasms, chronic inflammation. The main differential diagnosis is squamous cell carcinoma. Chromoblastomycosis is a chronic subcutaneous micosis, endemic in Mexico associated with marked pseudoepitheliomatous hyperplasia. At sites of chronic inflammation squamous cell carcinoma can develop, and it is called Marjolin ulcer. This type of squamous cell carcinoma behaves more aggressively with high rate of metastasis. Syndecan-1 is a membrane-proteoglycan specific of differentiated squamous epithelium and the loss of its expression is associated with malignant transformation, advanced tumor stages, increased invasion and metastasis. p53 protein is expressed in all tissues and is responsible for activating DNA repair enzymes and inducing apoptosis in cases in which cell damage can not be repaired.

OBJECTIVE: Compare the expression by immunohistochemistry of syndecan-1 and p53 in skin samples embedded in paraffin from patients with chromoblastomycosis and pseudoepitheliomatous hyperplasia with squamous cell carcinoma.

MATERIAL AND METHODS: All skin biopsies in paraffin blocks with pseudoepitheliomatous hyperplasia associated with chromoblastomycosis from the department of dermatology of the HGMGG were included in the study; and the expression of syndecan-1 and p53 by immunohistochemistry compared with an equal number of invasive squamous cell carcinoma and normal skin as controls.

RESULTS: 21 biopsies were obtained with pseudoepitheliomatous hyperplasia associated to chromoblastomycosis from 11 patients and 22 cases of invasive squamous cell carcinoma from 21 patients.

CONCLUSIONS: The loss of syndecan-1 expression is associated with malignant transformation of squamous epithelium and correlates with increased expression of p53, with the degree of loss of differentiation and degree of tumor invasion. The expression of syndecan-1 is preserved, with significant difference in HP compared with squamous cell carcinoma. The expression of syndecan-1 in correlation with the expression of p53, can be used as markers of malignant transformation in cases of pseudoepitheliomatous hyperplasia; and it can be useful in the differential diagnosis between PH and SCC. The sample size is limited by the rarity of chromoblastomycosis. The expression of syndecan-1 and p53 needs to be evaluated in cases of PH associated with other causes.

INTRODUCCIÓN

1. ANTECEDENTES

1.1 SINDECAN-1

Los proteoglicanos son moléculas conformadas por una estructura proteica central rodeada por cadenas de azúcares sulfatados o glucosaminoglicanos. Los sindecans son moléculas de adhesión celular que pertenecen a la familia de los proteoglicanos. Existen cuatro miembros en la familia de los sindecans.⁽¹⁾

El sindecán-1 se encuentra de manera característica en los epitelios bien diferenciados; el sindecán-2 o fibroglicano se encuentra en tejido conectivo, el sindecán-3 es el sindecán de tipo neural y el sindecán-4 es ubicuo.⁽¹⁾

El gen que codifica el sindecán-1 se encuentra en el cromosoma 2 (2p23-24-2p24.1). La proteína constitutiva central del sindecán-1 se glucosila en el aparato de Golgi con un patrón de glicosilación específico para cada tejido. La principal isoforma presente en las células del epitelio escamoso es de ~100 kDa. Las funciones de estas moléculas están determinadas por el dominio extracelular y su unión con los diferentes ligandos.⁽¹⁾

Los principales glucosaminoglicanos de la familia de los sindecans son el heparán sulfato y parcialmente el condroitín sulfato. Son estas cadenas de azúcares sulfatadas de los proteoglicanos las responsables de su actividad funcional y se encuentran en el dominio extracelular que interactúa, mediante sitios específicos, con una gran cantidad de moléculas como factores de crecimiento, componentes de la matriz extracelular, proteasas o inhibidores de proteasas.⁽¹⁾

El sindecán-1 se une a componentes de la matriz extracelular tales como las colágenas I, III y V, la fibronectina, la trombospondina, la tenascina, la amfoterina,

y la laminina, de tal forma que actúa como una molécula de adhesión entre la matriz extracelular y las células. (1, 2, 5, 6, 35)

También es receptor de factores solubles unidos a heparina, como citocinas y factores de crecimiento, durante el desarrollo y la diferenciación celular, y puede funcionar como receptor de membrana para ciertas bacterias, parásitos y virus, incrementando así su adhesión a las células blanco. (1)

El dominio extracelular del sidecan-1 puede ser liberado por proteólisis; esto disminuye el anclaje de las células a la matriz extracelular, promueve la motilidad celular e inhibe la proliferación de las células tumorales. (1)

En las células epiteliales normales el sindecán-1 se encuentra altamente expresado, y la pérdida de su expresión en epitelios escamosos se asocia con transformación maligna. El grado de dicha pérdida de expresión se relaciona directamente con estadios más avanzados del tumor, mayor invasión y metástasis, así como disminución en la supervivencia de los pacientes. (2, 5, 6)

1.2 CROMOBLASTOMICOSIS

ASPECTOS GENERALES Y EPIDEMIOLOGÍA

La cromoblastomycosis es una micosis subcutánea que se adquiere por inoculación traumática. Fue descrita inicialmente por Pedroso y Gómez en 1911 en la ciudad de São Paulo, Brasil y por Lane y Medlar en los E.U. de Norteamérica en 1915. (7, 8) Su distribución es mundial, con mayor prevalencia en climas tropicales y subtropicales como Brasil, México, Cuba y República Dominicana; Siendo el Amazonas la principal área endémica. Afecta predominantemente hombres de población rural. (7)

Los organismos causantes de esta micosis se aíslan de suelos o madera en descomposición y son termosensibles entre 40 y 42°C.^{8, 9} Los hongos más frecuentemente aislados son: *Fonsecae pedrosoi*, *Phialophora verrucosa*, *Cladosporium carrioni* y menos frecuentemente *Rhinocladiella aquaspersa*; Con predominio de *F. pedrosoi*, y en climas más secos, y *Cladosporium carrioni*, con mayor incidencia en mujeres.⁽⁸⁾

Los hongos causantes de cromoblastomicosis producen melanina de alto peso molecular, ácido aspártico, glutámico, leucina, glicina y alanina, en asociación con ramnosa, manosa y galactosa, lo que les confiere mayor virulencia y resistencia a algunos antifúngicos y a la fagocitosis.⁽⁸⁾

La susceptibilidad a la infección se ha relacionado con inmunosupresión y el antígeno de histocompatibilidad HLA-A29.⁽⁹⁾

La cromoblastomicosis se adquiere por inoculación traumática y la lesiones cutáneas se observan en el sitio de inoculación, el cual ocurre con mayor frecuencia en extremidades inferiores, y en áreas que normalmente no están protegidas por ropa; Por lo que también puede observarse en extremidades superiores, tronco, cara y glúteos.⁽⁹⁾ Dicha afección ocurre a nivel de piel y tejido celular subcutáneo, observándose clínicamente una pápula eritematosa en el sitio de inoculación (chancro de inoculación), la cual se expande y evoluciona a un nódulo superficial. Con el tiempo, la afección se extiende localmente hasta formar placas verrugosas, dejando áreas con fibrosis cicatrizal y lesiones satélites. La evolución es lenta y crónica, siendo extremadamente rara la extensión a órganos distantes por vía hematógica.^(8, 9)

Carrioni describió cinco tipos de lesiones: nódulos, lesiones tumorales, placas verrucosas y lesiones cicatrizales.⁽⁸⁾ En la actualidad se conocen 6 variedades clínicas, una variedad psoriasiforme y las cinco descritas por Carrioni.^(8, 9)

Esta dermatosis suele ser asintomática, aunque ocasionalmente hay dolor leve, y no hay síntomas sistémicos.⁽⁹⁾ En la mayoría de los casos el diagnóstico se hace después de varios años del inicio de la dermatosis y muchos de los pacientes no recuerdan el antecedente de trauma, tal vez porque éste fue un trauma menor.⁽⁸⁾

La presencia del hongo en los tejidos ocasiona una respuesta inflamatoria con reacción granulomatosa tipo cuerpo extraño y remodelación tisular.^(7,8) Puede complicarse con sobreinfección bacteriana, linfedema, elefantiasis y, en lesiones de larga evolución, puede desarrollarse carcinoma escamocelular o melanoma posiblemente por la inflamación crónica y el desarrollo de fibrosis cicatrizal.^(8,9)

DIAGNÓSTICO

Para establecer el diagnóstico de cromoblastomicosis se requiere realizar un examen directo con cultivo y estudio histológico. El examen directo se observa al microscopio con hidróxido de potasio al 10 o al 20%, donde es posible identificar hifas y esclerotes de Medlar pigmentados.^(7,8) En el cultivo, cuando se trata de *F. pedrosoi*, se observa una colonia aterciopelada de color verde-negro que crece lentamente y que vista al microscopio es posible identificar tres distintas formaciones de conidios: *Phialophora* con fiálides en forma de florero y conidios que emergen de una depresión central, *Cladosporium* con conidios en múltiples cadenas y *Rhinocladiella* con formación lineal de conidios con conidióforos centrales.⁽⁸⁾

En el estudio histológico de piel se observa una marcada hiperplasia pseudoepiteliomatosa con hiperqueratosis, un infiltrado inflamatorio crónico con reacción tanto granulomatosa como supurativa en la dermis, y la presencia de los esclerotes de Medlar, los cuales son ovalados, pigmentados y de paredes gruesas, semejando monedas de cobre.⁽⁷⁾ Estos esclerotes se ven directamente en las tinciones de hematoxilina y eosina, y pueden encontrarse tanto dentro como fuera de las células. Pocas veces se observa también la fuente de inoculación cutánea: pedazos de madera o material vegetal, rodeada por una reacción granulomatosa a cuerpo extraño, así como eliminación transepidérmica de estructuras fúngicas.⁽⁸⁾

TRATAMIENTO

Existen distintas modalidades terapéuticas (físicas, farmacológicas y quirúrgicas), pero ningún tratamiento es completamente efectivo, por lo que deben combinarse.^(8, 9) La lista de modalidades físicas es amplia, e incluye el uso local de calor, crioterapia, electrocirugía y radiación, siendo más eficaz el calor local. 8 Se ha utilizado un gran número antifúngicos y la respuesta varía dependiendo del agente causal. Está reportada buena respuesta a anfotericina B, 5-fluorocitocina y derivados triazólicos como el itraconazol y el tiabendazol, siendo el itraconazol, sólo o combinado con 5-fluorocitocina, el tratamiento de primera línea.⁽⁸⁾

En la modalidad de tratamiento quirúrgico, se requiere una extirpación quirúrgica amplia con margen perilesional amplio para evitar recidivas, ya que puede ocurrir extensión subclínica de la infección y las recidivas se presentan incluso con tratamientos quirúrgicos radicales; por lo que es prudente considerar añadir

tratamiento farmacológico. En general, la terapia combinada es la que ofrece mejores resultados. ⁽⁸⁾

1.3 CARCINOMA EPIDERMOIDE

ASPECTOS GENERALES

El cáncer de piel no melanoma es la primera causa de cáncer en el mundo y el carcinoma epidermoide o carcinoma de células espinosas (CEC) o epiteloma espinocelular ocupa el segundo lugar después del carcinoma baso celular con un 25% de los casos. ^(14, 15-17) La incidencia de cáncer de piel se incrementa con la edad, tanto en hombres como en mujeres, especialmente en personas de fototipo claro y con antecedente exposición prolongada a la radiación ultravioleta. ^(14, 18-21)

La incidencia de cáncer de piel tiene relación directa con la práctica de actividades al aire libre, y la dosis acumulada de radiación ultravioleta recibida a lo largo de la vida. ^(14, 18-21) La mayoría ocurren en sitios expuestos al sol como la cabeza, el cuello y las manos. ⁽¹⁸⁻²⁰⁾

El CEC primario ocurre en personas con historia de exposición prolongada a la luz solar, que es la principal fuente de radiación ultravioleta; Es más frecuente en varones, especialmente mayores de 55 años de edad, aunque puede presentarse en adolescentes y niños con padecimientos genéticos o inmunosupresión que condicionan mayor susceptibilidad al desarrollo de este cáncer y neoplasias de comportamiento más agresivo. ^(18, 22-25)

Otro factor de riesgo para desarrollar carcinoma espinocelular es la inflamación crónica, ya sea en heridas o cicatrices crónicas de múltiples etiologías. ⁽²⁶⁾ La exposición a carcinógenos como el arsénico y la radiación ionizante también

incrementan el riesgo de desarrollarlo.^(15, 22-25, 27) Las infecciones genitales y periungueales por el virus de papiloma humano (serotipos 16, 18, 31 y 33), son la etiología de la mayoría de los carcinomas epidermoides que se desarrollan en las mucosas y en el aparato ungueal.^(15, 22, 25, 29)

DIAGNÓSTICO

El estudio histopatológico es el estándar de oro para establecer el diagnóstico de cáncer de piel. Debe realizarse estudio histológico de las lesiones sospechosas antes de establecer un tratamiento definitivo, de tal forma que sea posible conocer el patrón histológico, el grado de invasión y de diferenciación, y reportar factores pronósticos. Independientemente de la técnica para obtener tejido, la muestra debe ser lo suficientemente profunda para determinar el grado de invasión.^(26,27, 29)

En el estudio histológico de carcinomas epidermoides se observa hiperqueratosis con paraqueratosis, hiperplasia epidérmica con proliferación irregular y anárquica de células espinosas atípicas dispuestas en mantos mal delimitados, los cuales emanan de la epidermis y pueden invadir la dermis. Las células atípicas tienen núcleos grandes y pleomórficos con mitosis atípicas, perlas córneas, y células disqueratósicas con diferentes grados de diferenciación, puede presentar invasión perineural y vascular.³⁰ Existen cuatro variedades histológicas de CEC: convencional, de células fusiformes, acantolítico y verrugoso.⁽³⁰⁾

TRATAMIENTO

El objetivo del tratamiento es la remoción completa de la neoplasia con destrucción de tumor primario, prevención de metástasis con la conservación de la función y la cosmesis en los casos que es posible.^(30, 31) Para establecer el tratamiento de un carcinoma espinocelular, primero se debe establecer si es de

alto o bajo riesgo: lo que depende de la localización, el tamaño, el grado de diferenciación, el subtipo histológico, la presencia de invasión perineural, si se trata de un tumor recurrente y si el paciente es inmunodeprimido.⁽³¹⁾ Es importante individualizar el tratamiento considerando dichos factores de riesgo, además de la edad, las comorbilidades y las preferencias del paciente.^(30, 31)

El tratamiento estándar es la resección quirúrgica convencional con márgenes, de 4 a 6mm en tumores de bajo riesgo y de 1 cm en tumores de alto riesgo, con evaluación de los márgenes por un dermatopatólogo. La reconstrucción del sitio anatómico se programa hasta tener la evidencia de que los márgenes extirpados están libres de tumor.^(27, 29, 31, 32) La electrodesecación y el curetaje tienen buena tasa de éxito en pacientes con CEC de bajo riesgo y realizados por médicos experimentados en estas técnicas, ya que no hay control histológico de los márgenes de la lesión.⁽²⁷⁾ En todos los casos se envía el material obtenido a estudio histopatológico para confirmar el diagnóstico e identificar factores de mal pronóstico.^(27, 31, 32)

Otra modalidad de tratamiento es la cirugía micrográfica de Mohs con estudio histológico trans-operatorio, la cual es ideal en tumores de alto riesgo, recidivantes o en sitios cosméticos importantes en los que se requiere preservar la mayor cantidad de tejido posible.^(27, 29, 32) La radioterapia es otra opción terapéutica, que se reserva para pacientes que no son candidatos a cirugía convencional, como los pacientes de edad avanzada, o bien como terapia adyuvante ante lesiones de alto riesgo, con márgenes postoperatorios positivos o con invasión perineural; Sin embargo, el uso de radioterapia está contraindicado en genitales, carcinoma verrucoso, pacientes con condiciones genéticas que condicionen defectos en la

reparación del DNA o pacientes muy jóvenes, debido al riesgo relativo de desarrollar un carcinoma años después.^(27, 29, 32)

1.4 CARCINOMA EPIDERMOIDE ASOCIADO A CROMOBLASTOMICOSIS

Existen reportes de desarrollo de neoplasias malignas en sitios de inflamación crónica como úlceras crónicas: por insuficiencia venosa, presión, trauma o neuropatía, así como en quemaduras y úlceras infecciosas. Independientemente de la etiología, al desarrollo de carcinoma epidermoide en sitios de inflamación crónica se le denomina úlcera de Marjolin.⁽²⁶⁾ Los carcinomas epidermoides que se desarrollan en estos sitios presentan una tasa muy alta de metástasis (14-58%) y un comportamiento muy agresivo.⁽⁹⁾

No se conoce con claridad el mecanismo por el cual se desarrollan carcinomas epidermoides en estas lesiones; Al parecer el proceso cicatricial actúa como promotor tumoral y puede estar implicada la presencia de mutaciones en el gen Fas que es un mediador de apoptosis.^(9, 10, 11) Probablemente las mutaciones del gen Fas evitan que las células mutadas por inflamación crónica sufran apoptosis, aunque la fisiopatología del desarrollo de cáncer en estos sitios aún no está muy clara.^(9, 10, 11)

Existen pocos reportes de pacientes con cromoblastomicosis que desarrollan CEC. En Brasil, 2 de 100 pacientes con cromoblastomicosis verrugosa desarrollaron CEC de alto grado y enfermedad metastásica, los cuales tenían en promedio 14 años de evolución.⁽¹²⁾ Otro estudio en Madagascar reportó transformación maligna en 1 de 1400 casos; 11 y en México Bonifaz reportó solo

un caso de CEC en una serie 51 pacientes con cromoblastomicosis que tenían en promedio 8 años de evolución.⁽¹³⁾

1.5 HIPERPLASIA PSEUDOEPITELIOMATOSA

La hiperplasia pseudoepiteliomatosa es un proceso reactivo de la epidermis caracterizada por hiperplasia de la epidermis que en algunos casos puede simular carcinoma epidermoide.⁽³³⁾ Este proceso reactivo puede ser secundario a infecciones micóticas como la cromoblastomicosis, blastomicosis; infecciones por bacterias como tuberculosis, espiroquetas como sífilis, bromoderma e incluso a lesiones melanocíticas, particularmente el nevo de Spitz y melanoma maligno, así como en sitios de trauma, irritación o úlceras crónicas.⁽³³⁾

En el estudio histológico se observa una epidermis con acantosis irregular por proliferación epitelial, procesos interpapilares delgados y anastomosados, un denso infiltrado inflamatorio, cambios fibróticos en la dermis y proliferación vascular.⁽³³⁾ El diagnóstico diferencial más importante es el carcinoma epidermoide, donde los procesos interpapilares generalmente son más gruesos y hay más atipia y pleomorfismo celular, aunque frecuentemente es difícil diferenciar entre ambos.⁽³³⁾

1.6 PROTEÍNA P53

El gen p53, se encuentra en el brazo corto del cromosoma 17 (17p13) y codifica un factor de transcripción nuclear de 43.7 KDa.³⁶ Su nombre hace referencia a su masa molecular aparente: ya que corre como una proteína de 53 KDa en electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato sódico. Esta diferencia

se debe a la gran cantidad de residuos de prolina que contiene, lo que la hace migrar más lentamente, haciendo que parezca de peso molecular más alto.⁽³⁶⁾

Es un gen supresor tumoral que desempeña un papel importante en apoptosis y control del ciclo celular. Ante daño al material genético de la célula (ADN), p53 detiene el ciclo celular. Las mutaciones de p53 pueden permitir que las células anormales proliferen.⁽³⁶⁾

La proteína p53 es una fosfoproteína formada por 393 aminoácidos y 3 dominios: un dominio de activación de factores de transcripción, otro que reconoce la secuencia específica de DNA y un dominio carboxilo terminal. El 80% de las mutaciones puntuales de p53 que se detectan en los cánceres humanos están localizadas en el dominio de unión a ADN de la proteína.⁽³⁷⁾

La proteína p53 es ubicua: se expresa en todos los tejidos. En células normales, el nivel de la proteína p53 es bajo porque se encuentra asociada a Mdm2, lo que induce su ubiquitinación y destrucción por el proteosoma. Los daños del ADN y otras señales de estrés celular pueden hacer que p53 se separe de Mdm2 e incrementa su concentración, para realizar su función como factor de transcripción del inhibidor de CDKs (cinasa dependientes de ciclinas) denominada CDKN1A/p21. La transcripción de este inhibidor inhibe la fosforilación de pRb (proteína del retinoblastoma), de manera que el factor de transcripción E2F permanece inactivo, y se impide la progresión de la célula hacia la fase síntesis; y así se detiene el ciclo celular en G1/S.⁽³⁷⁾

Además p53 activa las enzimas de reparación del ADN. Uno de sus genes diana transcripcionales, p53R2, codifica para una reductasa de ribonucleótidos, que es importante en la replicación y reparación del ADN. p53 interacciona directamente

con la endonucleasa AP y la ADN polimerasa que están implicados en la reparación por escisión e induce proteínas, como GADD45 (growth arrest and DNA damage) que colaboran en la reparación del ADN. Si el daño se repara correctamente, p53 estimula la síntesis de Mdm2, activando su autodestrucción y la progresión en el ciclo celular. Si el daño no puede ser reparado, la célula puede entrar en apoptosis inducida por p53 mediante la activación de expresión de genes BAX / PUMA. ^(36,37)

Si una célula pierde la función de p53, el daño en el ADN no se repara, se acumula y las células entran directamente en la ruta hacia la tumorigénesis. ⁽³⁷⁾

Por el contrario niveles excesivamente altos de p53 puede acelerar el proceso de envejecimiento por apoptosis excesiva. El regulador principal de p53 es Mdm2, que puede activar su degradación por el sistema de ubiquitinación. La expresión de Mdm2, a su vez, está regulada por p53 de forma que se mantengan niveles bajos de p53 una vez se ha reparado el daño celular. ^(36, 37)

Cuando se detectan alteraciones en el ADN p53 se fosforila y es liberada de su unión a Mdm2, y su vida media aumenta. ⁽³⁷⁾

En el 60% de los casos de CEC se detectan mutaciones de p53. Como consecuencia de una exposición repetida y crónica a la radiación ultravioleta ocurren modificaciones en el DNA que de forma natural son reparadas por los mecanismos celulares de escisión de nucleótidos (NER, nucleotide-excision repair) y de escisión de bases (BER, base-excision repair). ⁽³⁸⁾

El efecto acumulativo de modificaciones no reparadas puede desencadenar la aparición de mutaciones puntuales en el gen supresor de tumores p53, consistentes en transiciones que ocurren en sitios dipirimidina, las transiciones C-

T son las más frecuentes y aparecen concretamente en secuencias de trinucleótidos 5'-PyCG-3' (Py, pirimidina) del gen p53.⁽³⁸⁾ En los tumores espinocelulares la mutación en el codón 278 parece ser muy específica.⁽³⁸⁾

La exposición solar prolongada ocasiona además la pérdida de la interacción Fas-L/Fas como consecuencia de la acumulación de mutaciones en p53.⁽³⁸⁾

En los carcinomas escamocelulares la inmunomarcación por método de inmunoperoxidasa para p53 es mucho más positiva que en piel normal con diferencia estadística.⁽³⁹⁾

2. MARCO TEORICO

La cromomicosis es una micosis endémica en México, especialmente en la región de la Huasteca donde el agente causal más frecuente es *Fonsecaea pedrosoi*.⁽³⁴⁾

El diagnóstico de esta micosis se hace con examen directo, cultivo y biopsia de piel afectada en la que se observa marcada hiperplasia pseudoepiteliomatosa de la epidermis con hiperqueratosis. En la dermis un infiltrado inflamatorio crónico con reacción granulomatosa y supurativa y los esclerotes pigmentados, ovalados de paredes gruesas.⁽⁷⁾

Es una enfermedad crónica de tratamiento difícil ya que ninguno de los tratamientos actualmente utilizados es completamente efectivo.^(8, 34)

Una de las complicaciones más graves y en la mayoría de los casos mortal es el desarrollo de carcinoma epidermoide en pacientes con lesiones crónicas de cromoblastomicosis: conocida como úlcera de Marjolin, cuando se desarrolla esta neoplasia en sitios de inflamación crónica.

Aunque hay pocos reportes de desarrollo de carcinoma epidermoide en pacientes con esta micosis, y la tasa de presentación de esta complicación es baja, es fundamental hacer el diagnóstico de manera temprana ya que las neoplasias que se desarrollan en estos sitios presentan un comportamiento mucho más agresivo, con enfermedad metastásica en un alto porcentaje (14-58%).⁽⁹⁻¹³⁾

En las biopsias de cromoblastomicosis es característico observar marcada hiperplasia pseudoepiteliomatosa, por lo que el diagnóstico de carcinoma epidermoide que se hace con criterios histológicos en ocasiones es muy difícil y controvertido. Resulta difícil entonces separar histológicamente la hiperplasia pseudoepiteliomatosa del desarrollo de carcinoma epidermoide en estos pacientes.^(7, 30, 33)

El sindecan-1 pertenece a la familia de los sindecans, que son moléculas de adhesión celular de la familia de los proteoglicanos.^(1, 35) Es el miembro de la familia que se encuentra de manera característica en los epitelios bien diferenciados.⁽¹⁾

Sus principales funciones biológicas son adhesión intercelular, interacción con la matriz extracelular y su unión a factores solubles que regulan la diferenciación, crecimiento, desarrollo, morfología y migración celular.^(1, 35)

En células epiteliales normales el sindecan-1 se encuentra altamente expresado, y la pérdida de su expresión se ha asociado a transformación maligna de epitelios escamosos y el grado de pérdida de este proteoglicano se ha correlacionado con estadios más avanzados de tumor, mayor grado de invasión, metástasis y disminución en la supervivencia.^(2, 5, 6, 36)

P53 es un factor de transcripción que funciona como supresor tumoral. Ante daño al material genético de la célula (ADN), p53 detiene el ciclo celular. Las mutaciones de p53 pueden permitir que las células anormales proliferen. 36 En células normales, el nivel de la proteína p53 es bajo porque se encuentra asociada a Mdm2, lo que induce su ubiquitinación y destrucción por el proteosoma. Los daños del ADN y otras señales de estrés celular hacen que p53 se separe de Mdm2 e incremente su concentración.^(37, 38)

El sindecan-1 al ser una proteína de adhesión celular y encontrarse disminuida en células escamosas con diferenciación maligna debe disminuir o perder su expresión en carcinomas espinocelulares asociados a cromomicosis y debe mantenerse conservada en biopsias de piel con hiperplasia pseudoepiteliomatosa que no presentan transformación maligna y en piel normal.^(3,4)

P53 al ser un supresor tumoral debe encontrarse sobre-expresado en carcinomas espinocelulares asociados a cromomicosis y no debe expresarse en biopsias de piel con hiperplasia pseudoepiteliomatosa que no presentan transformación maligna.⁽³⁷⁻³⁹⁾

3. JUSTIFICACION

El diagnóstico diferencial de carcinoma epidermoide en pacientes con cromomicosis es difícil.

En las biopsias de pacientes con cromoblastomicosis de larga evolución es característico encontrar marcada hiperplasia pseudoepiteliomatosa reactiva.

La hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a procesos inflamatorios crónicos tiene como diagnóstico diferencial el carcinoma epidermoide y en algunos casos hacer el diagnóstico histológico diferencial es difícil.

El carcinoma epidermoide asociado a procesos inflamatorios crónicos se conoce con el nombre de úlcera de Marjolin y presenta un comportamiento mucho más agresivo, con elevado porcentaje de enfermedad metastásica y el tratamiento es quirúrgico con márgenes amplios libres, resección ganglionar, y quimioterapia.

El sindecan-1 es un proteoglicano y una molécula de adhesión que se expresa en los epitelios diferenciados. Múltiples estudios demuestran que su expresión se pierde en carcinomas espinocelulares y que la pérdida de su expresión en los epitelios es directamente proporcional a la pérdida de diferenciación de los tumores; Además de que la pérdida de su expresión en carcinomas está relacionada con mayor tasa de metástasis y menor sobrevida. P53 es un factor de transcripción que funciona como gen supresor tumoral y se encuentra sobre-expresado en carcinomas epidermoides.

El diagnóstico adecuado y la diferenciación entre hiperplasia pseudoepiteliomatosa y el desarrollo de carcinoma epidermoide es crucial para la elección del tratamiento y la sobrevida de los pacientes con esta micosis de larga evolución.

La pérdida de sindecan-1 y la sobre-expresión de p53 como marcadores de malignidad en carcinomas epidermoides pueden ser una herramienta muy útil en la diferenciación de hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a comoblastomiosis y el desarrollo de carcinoma epidermoide en estos pacientes.

La expresión de sindecán-1 debe estar conservada y la no debe haber expresión de p53 o debe ser mínima en las biopsias de piel con cromoblastomicosis e hiperplasia pseudoepiteliomatosa.

En México la cromoblastomicosis ocupa el 3° lugar entre las micosis profundas con un 60%. México es considerado zona endémica de cromoblastomicosis, en especial la zona de la Huasteca. Es una micosis crónica que predomina en el medio rural. ⁽³⁴⁾

La complicación más grave asociada a la evolución crónica del padecimiento es el desarrollo de carcinoma epidermoide. El carcinoma epidermoide que se asocia a sitios de inflamación crónica se conoce como úlcera de Marjolin. ^(12, 13)

El desarrollo de úlcera de Marjolin en pacientes con cromoblastomicosis se ha reportado en México con una frecuencia de 1.9 x cada 100 casos en 8 años. ¹³

Sin embargo la mortalidad asociada a esta complicación es muy alta ya que el comportamiento de estos tumores es mucho más agresivo, con enfermedad metastásica hasta del 60%. ⁽⁹⁻¹³⁾

El diagnóstico histológico de carcinoma epidermoide asociado a cromoblastomicosis es complicado ya que característicamente en las biopsias de pacientes con procesos inflamatorios crónicos como la cromoblastomicosis se observa marcada hiperplasia pseudoepiteliomatosa o pseudocarcinomatosa. Hacer la diferencia histológica entre simple hiperplasia reactiva del epitelio y el desarrollo de carcinoma epidermoide es difícil y en algunos casos los dermatopatólogos no pueden llegar a un diagnóstico definitivo con certeza y puede haber disparidad y controversia entre diferentes especialistas en patología de piel. Hacer el diagnóstico de certeza y descartar la presencia de carcinoma

epidermoide en los pacientes con cromoblastomicosis de evolución crónica es de vital importancia para el pronóstico y el tratamiento del paciente.

Además existen otras patologías crónicas inflamatorias e infecciosas que se asocian a hiperplasia pseudoepiteliomatosa y al posible desarrollo de carcinoma epidermoide como úlceras venosas crónicas, úlceras por quemaduras, úlceras por presión, úlceras neuropáticas, úlceras tropicales y nevo de Spitz. Este proceso reactivo en estos pacientes también es difícil de distinguir de carcinoma epidermoide. La medición de sindecán-1 y p53 en estos casos puede ser también muy útil en el diagnóstico de esta complicación.

4. HIPOTESIS

Sí el Sindecán-1 es una molécula de adhesión y juega un papel importante en adhesión y diferenciación celular **y** disminuye o pierde su expresión en células escamosas con diferenciación maligna, **entonces** debe disminuir o perder su expresión en carcinomas epidermoides, carcinomas epidermoides asociados a cromoblastomicosis y debe mantenerse conservada en biopsias de piel con hiperplasia pseudoepiteliomatosa que no presentan transformación maligna.

Sí p53 es un factor de transcripción supresor tumoral **y** aumenta su expresión en células escamosas con diferenciación maligna, **entonces** debe aumentar su expresión en carcinomas epidermoides, carcinomas epidermoides asociados a cromoblastomicosis y no debe expresarse en biopsias de piel con hiperplasia pseudoepiteliomatosa que no presentan transformación maligna.

5. OBJETIVOS

Comparar la expresión por inmunohistoquímica de sindecán-1 y p53 en muestras de piel incluidas en parafina de pacientes con cromoblastomicosis e hiperplasia pseudoepiteliomatosa con carcinoma epidermoide.

6. MATERIAL Y METODOS

6.1. UNIVERSO DE ESTUDIO

- Bloques de parafina de las muestras de piel de pacientes con diagnóstico de cromoblastomicosis e hiperplasia pseudoepiteliomatosa:

Hiperplasia pseudoepiteliomatosa con hiperqueratosis. Dermatitis nodular y difusa con infiltrado inflamatorio granulomatoso crónico con la presencia de esclerotes de Medlar o células fumagoides.

- Bloques de parafina de las muestras de piel de pacientes con diagnóstico de carcinoma epidermoide:

Neoformación epitelial con diferenciación escamosa con proliferación irregular y anárquica de células espinosas atípicas dispuestas en nidos y cordones que emanan de la epidermis y pueden invadir la dermis. Compuesto por células displásicas con núcleos grandes y pleomórficos, mitosis atípicas, perlas córneas, y células disqueratósicas.

- Bloques de parafina de las muestras de piel normal como control de la técnica de inmunohistoquímica.

6.2. TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se incluirán todos los casos de cromomicosis con hiperplasia pseudoepiteliomatosa del archivo de Dermatopatología y Micología de la división de Dermartología del Hospital Dr. Manuel Gea González y se incluirán igual número de casos de carcinoma epidermoide y piel normal.

6.3. CRITERIOS DE SELECCIÓN

6.3.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Grupo 1: Bloques de tejido embebidos en parafina de las muestras de piel obtenidas por biopsia con diagnóstico de cromoblastomicosis con hiperplasia pseudoepiteliomatosa.

El diagnóstico histológico se realizó por dos dermatopatólogos expertos con la identificación de células fumagoides en tinción de hematoxilina-eosina y confirmación con examen directo y cultivo positivos.

Grupo 2: Bloques de tejido embebidos en parafina de pacientes con diagnóstico histológico de carcinoma epidermoide. El diagnóstico histológico se realizó por dos dermatopatólogos expertos.

Grupo 3: Bloques de tejido embebidos en parafina de muestras de piel normal.

6.3.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

No existen criterios de exclusión.

6.3.3. CRITERIOS DE ELIMINACIÓN:

Bloques de tejido embebidos en parafina en los que la cantidad de tejido sea insuficiente para realizar la inmunotinción correspondiente.

6.4. DEFINICIÓN DE VARIABLES

| VARIABLE | CATEGORÍA | VALORES QUE ADQUIERE |
|--------------------------------------------------------|--------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Diagnóstico de la muestra de piel embebida en parafina | Categórica nominal | <ul style="list-style-type: none"> • Cromomicosis con hiperplasia pseudoepiteliomatosa (codificada como 0) • Carcinoma epidermoide (codificada como 2) • Piel normal (codificada como 3) |

| VARIABLE | CATEGORÍA | VALORES QUE ADQUIERE |
|------------------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Expresión por inmunohistoquímica de Sindecán-1 | Categórica nominal politómica | <p>0+ < 10% de las células (negativo)</p> <p>1+ Débil incompleto de membrana >10% de las células (negativo)</p> <p>2+ Moderada completa de membrana >30% (positivo)</p> <p>3 + Intenso completo de membrana (positivo)</p> |

| VARIABLE | CATEGORÍA | VALORES QUE ADQUIERE |
|-----------------------------------------|------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Expresión por inmunohistoquímica de p53 | Categoría nominal politómica | 0+ < 25% (negativo) 1+ 25-50% (negativo) 2+ 50-75% (positivo) 3+ >75% (positivo) |

6.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los valores observados de las variables categóricas nominales politómicas: expresión de Sindecán-1 y de p53 para cada uno de los grupos- se resumirán en frecuencias absolutas, así como en frecuencias relativas (porcentajes y proporciones). Las frecuencias absolutas observadas se presentarán en tablas de contingencia de 2x2 y se calcularán las frecuencias esperadas para poder comparar las frecuencias entre los 3 grupos mediante la prueba de Kruskal-Wallis. De encontrarse diferencias, estas se considerarán estadísticamente significativas si se obtiene una p menor o igual a 0.05.

6.6. DESCRIPCIÓN DE PROCEDIMIENTOS

6.6.1. Selección de los bloques de parafina bajo los criterios de inclusión ya comentados; por el investigador principal con ayuda de dos dermatopatólogos expertos colaboradores del estudio.

6.6.2. Envío de los bloques de piel embebidos en parafina a proceso de inmunohistoquímica al Departamento de Investigación de la Escuela de

Odontología de la Universidad Juárez del estado de Durango y proceso de técnica de inmucohistoquímica por el investigador principal, la Dra. Mariana Catalina De Anda Juárez en colaboración con el investigador asociado, Dr. Ronell Bologna, capacitado en inmunomarcación de proteínas a partir de biopsias embebidas en bloques de parafina mediante inmunohistoquímica:

Los bloques de parafina fueron seccionados en 2µm de grosor y montados en portaobjetos de vidrio recubierto con poli-lisina y secados con aire ambiental por una noche a temperatura ambiente. Después de des-parafinar y rehidratar las secciones de tejido fueron tratadas con citrato de sodio al 0.1 M (pH 6.2) y Tween 20 para desentrañar los epítopes. Las peroxidasas endógenas fueron bloqueadas con peróxido de hidrógeno al 0.9% después de ser incubadas en albumina de suero bovino al 1% en tampón de fosfato salino por 5 minutos para eliminar las uniones no específicas. Se usaron anticuerpos monoclonales contra sindecan-1 (CD138) (clona M115, dilución 1:100, Dako, Carpinteria, CA) y p53. Las muestras de tejido fueron incubadas con los anticuerpos primarios por 45 minutos. Después de los anticuerpos primarios, las muestras fueron incubadas con un anticuerpo anti-ratón/conejo biotinilado y con un complejo streptavidina/peroxidasa, por 30 min cada uno (SLAB + labeled streptavidin-biotin, Dako). Para visualizar la reacción se utilizó un substrato 3,3'-deaminobencidina-H₂O (Dako). Posteriormente las secciones de tejido fueron contra-teñidas con solución hematoxilina de Mayer. Para los controles negativos el anticuerpo primario fue sustituido por tampón de fosfato salino.

6.6.3. Captura de datos

La lectura de todas las laminillas obtenidas mediante la técnica de inmunohistoquímica fue realizada de manera ciega y conjunta por parte del investigador principal, Dra. Mariana Catalina De Anda Juárez y un experto en lectura de inmunohistoquímica e investigador asociado, Dra. María Elisa Vega Memije. Se realizaron controles en piel normal, en donde está descrito que se expresa sindecan-1 y no hay expresión de p53. La expresión de sindecan-1 se calculó usando objetivos de 10x, que corresponde a un área de 5.3 mm². Con la ayuda de una cámara digital (Olympus C-7070) se tomaron microfotografías de las secciones de tejido teñidas con inmunohistoquímica de manera aleatoria y se usaron para cuantificar la positividad de la expresión de sindecan-1. La intensidad de la inmunohistoquímica fue cuantificada como **0+**: si menos del 10% de las células presentaban tinción de membrana y era incompleta y se codificó como negativo; **1+**: si la tinción era positiva débil e incompleta de membrana en menos del 10% de las células y se codificó como negativo; **2+**: si la inmunotinción era moderada completa de membrana en más del 30% de las células 30% y se codificó como valor positivo y **3+** si la tinción era intensa y completa de membrana en más del 30% de las células y se codificó como positivo. La intensidad de la inmunotinción para p53 se evaluó en áreas con alto contenido de células epiteliales se calculó usando objetivos de 40x y evaluando 5 campos por cada caso. Con la ayuda de una cámara digital (Olympus C-7070) se tomaron microfotografías de las secciones de tejido teñidas con inmunohistoquímica y se usaron para cuantificar la positividad de la expresión de p53. La intensidad de la inmunohistoquímica fue cuantificada como **0+**: si menos del 25% de las células era

positivo y se codificó como negativo; **1+**: si la tinción era positiva nuclear en el 25-50% de la población celular y se codificó como negativo; **2+**: si la inmunotinción nuclear era positiva en el 50% a 75% de las células y se codificó como valor positivo y **3+** si más del 75% de las células era positivo en patrón nuclear y se codificó como positivo. Las imágenes obtenidas fueron transcritas a una cuadrícula para facilitar el conteo. El índice de positividad se calculó dividiendo el número de células positivas entre el número de células totales expresado en porcentaje.

Se determinó el índice de concordancia kappa inter e intra-observador con una concordancia mayor o igual al 80% antes de iniciar la lectura de la inmunohistoquímica en las muestras del estudio.

Este índice de concordancia se constituye mediante el cociente de la diferencia entre la sumatoria de las concordancias observadas y la sumatoria de las concordancias atribuibles al azar; dividido entre la diferencia entre el total de observaciones y la sumatoria de las concordancias atribuibles al azar.

$$K = \frac{[(\Sigma \text{ concordancias observadas}) - (\Sigma \text{ concordancias atribuibles al azar})]}{[(\text{total de observaciones}) - (\Sigma \text{ concordancias atribuibles al azar})]}$$

7. RESULTADOS

Desde 1997 hasta el 2011 se encontraron 11 pacientes con diagnóstico confirmado de cromoblastomicosis en departamento de dermatología del Hospital Dr. Manuel Gea González; Con identificación en muestras de piel teñidas con hematoxilina y eosina de células fumagoides, cultivo y/o exámen directo positivo. El tiempo de evolución de la micosis fue de 4 hasta 50 años (media: 19.8 años). De los 11 casos 10 eran hombres y 1 mujer con edades entre 42 y 72 años (media: 63.6 años); y se obtuvieron 21 biopsias con hiperplasia pseudoepiteliamatosa marcada.

Se obtuvieron 22 casos de carcinoma epidermoide invasor de 21 pacientes. La edad de los pacientes fue de 50 a 84 años (media: 74.59). El tiempo de evolución desde 1 mes hasta 70 años (media: 5.45 años). De los 22 casos 12 fueron clasificados como carcinoma epidermoide invasor bien diferenciado, 7 como carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado y 2 casos de carcinoma epidermoide mal diferenciado.

Obtuvimos 20 muestras de piel normal de 13 pacientes: 7 mujeres y 6 hombres.

| Diagnóstico | Pacientes | Biopsias | Mujeres | Hombres |
|----------------------------|------------------|-----------------|----------------|----------------|
| Cromomicosis | 11 | 21 | 1 | 10 |
| CEC invasor | 21 | 22 | 9 | 12 |
| Bien diferenciado | 12 | 13 | | |
| Moderadamente diferenciado | 7 | 7 | | |
| Mal diferenciado | 2 | 2 | | |
| Piel normal | 13 | 20 | 7 | 6 |
| Total | 45 | 63 | 17 | 28 |

Tabla 1: Diagnóstico y distribución por sexo (CEC: carcinoma epidermoide)

Se evaluó en cada muestra de tejido la expresión de sindecán-1, considerada como positiva cuando la inmunomarcación fuera en de membrana celular y p53 cuando fuera con patrón nuclear.

| EXPRESIÓN DE SINDECAN-1 | | |
|--------------------------------|---------------------------------------------------|----------|
| 0+ | <10% de las células | Negativo |
| 1+ | Débil incompleta de membrana >10% de las células | Negativo |
| 2+ | Moderada completa de membrana >30% de las células | Positivo |
| 3+ | Intenso completa de membrana >30% de las células | Positivo |

Tabla 2: Cuantificación de expresión de membrana por inmunohistoquímica de sindecán-1

| EXPRESIÓN DE p53 | | |
|-------------------------|---------|----------|
| 0+ | <25% | Negativo |
| 1+ | 25-50% | Negativo |
| 2+ | 50%-75% | Positivo |
| 3+ | >75% | Positivo |

Tabla 3: Cuantificación de expresión nuclear por inmunohistoquímica de p53

De las 21 muestras con cromoblastomycosis e hiperplasia pseudoepiteliomatosa 6 marcaron 1+, 10 marcaron 2+ y 5 marcaron con 3+ para la tinción por inmunohistoquímica de membrana de sindecan-1. Ninguna de las muestras estudiadas fue negativa para la inmunotinción de membrana sindecan-1.

| Expresión | 0+ | 1+ | 2+ | 3+ |
|------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| # de muestras | 0 | 6 | 10 | 5 |

Tabla 4: Expresión de Sindecan-1 en hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a cromoblastomycosis

| Expresión | POSITIVO | NEGATIVO |
|------------------|-----------------|-----------------|
| # de muestras | 15 | 6 |

Tabla 5: Expresión de Sindecan-1 en hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a cromoblastomycosis

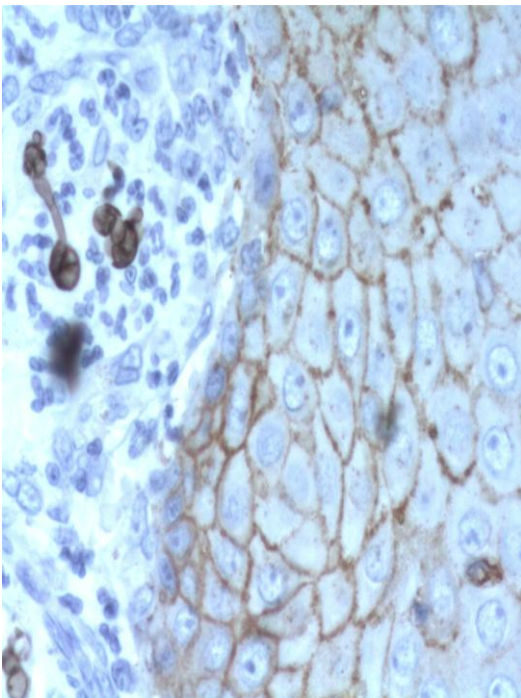


Figura 1: 2+ de expresión de Sindecan-1 en hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a carcinoma epidermoide. Se observan las células fumagoides

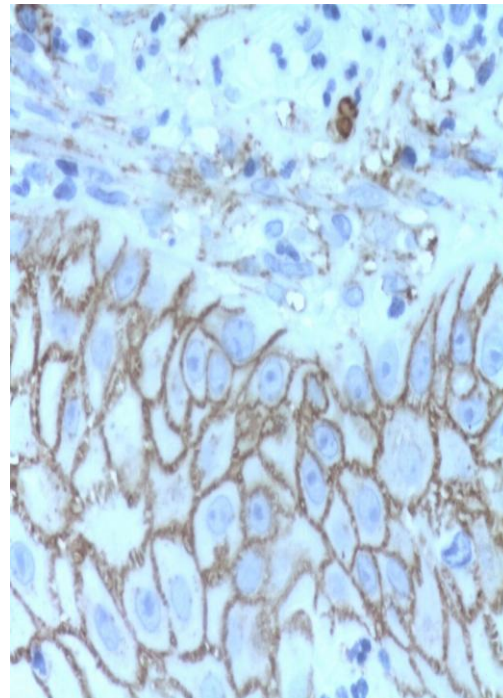


Figura 2: 2+ de expresión de Sindecan-1 en un caso de cromoblastomycosis con marcada hiperplasia pseudoepiteliomatosa con atipia

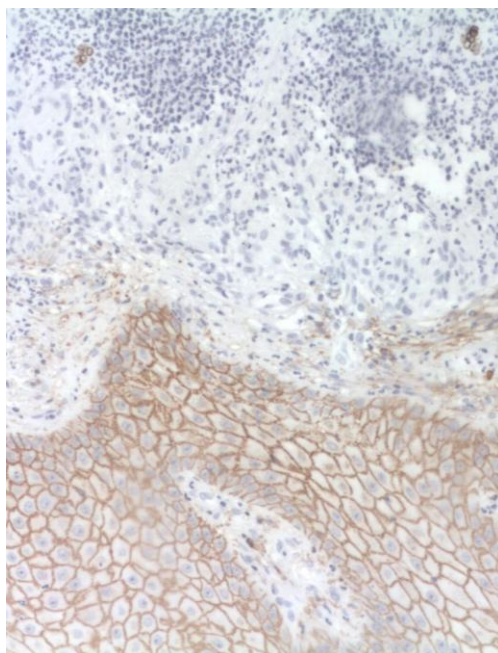


Figura 3: 3+ de expresión de syndecan-1 en hiperplasia pseudoepiteliomatosa marcada asociada a cromomicosis

De las 22 muestras estudiadas con diagnóstico de carcinoma epidermoide invasor: en 12 muestras no se encontró expresión de membrana de Syndecan-1, 7 muestras expresaron 1+, 3 muestras expresaron 2+ y en ninguno de los casos estudiados se encontró 3+ de expresión de Syndecan-1. La pérdida de la expresión de Syndecan-1 en la membrana celular se correlacionó con la pérdida de diferenciación de los carcinomas epidermoides estudiados. Con menor grado de diferenciación mayor pérdida de expresión por inmunohistoquímica de Syndecan-1. En el análisis de positividad 3 carcinomas epidermoides invasores fueron positivos y 19 negativos.

| Expresión | 0+ | 1+ | 2+ | 3+ |
|------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| # de muestras | 12 | 7 | 3 | 0 |

Tabla 6: Expresión de Syndecan-1 en carcinoma epidermoide

| Expresión | POSITIVO | NEGATIVO |
|------------------|-----------------|-----------------|
| # de muestras | 3 | 19 |

Tabla 7: Expresión de Sindecán-1 en carcinoma epidermoide

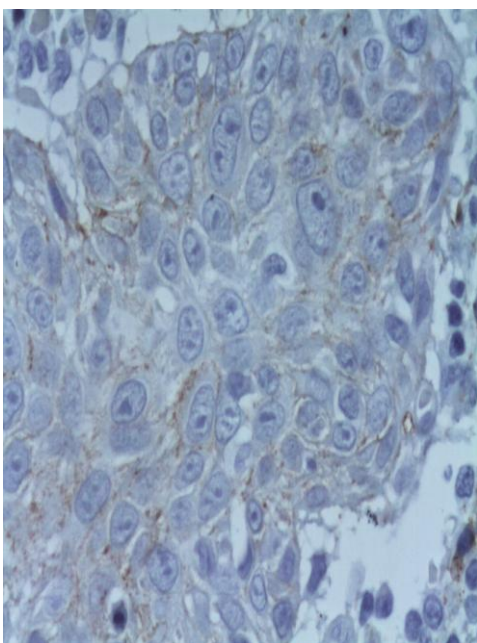


Figura 4: 1+ de expresión de Sindecán-1 en carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado

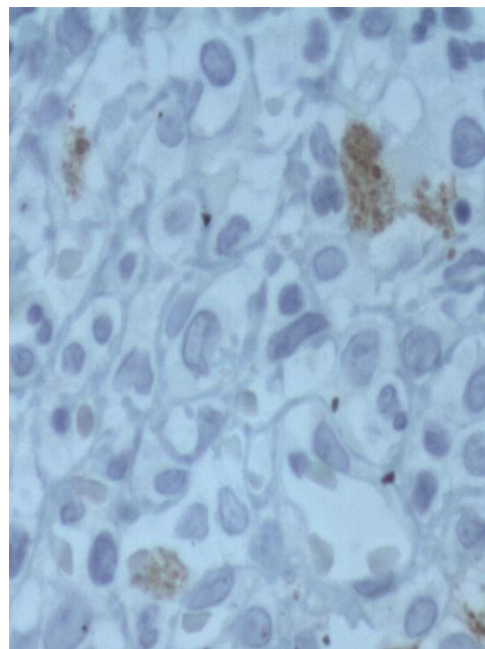


Figura 5: 0+ de expresión de Sindecán-1 en carcinoma epidermoide mal diferenciado

De las 20 muestra de piel normal estudiadas como control de expresión de membrana de sindecán-1 todas expresaron 3+ por inmunohistoquímica.

| Expresión | 0+ | 1+ | 2+ | 3+ |
|------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| # de muestras | 0 | 0 | 0 | 20 |

Tabla 8: Expresión de Sindecán-1 en piel normal

| Expresión | POSITIVO | NEGATIVO |
|------------------|-----------------|-----------------|
| # de muestras | 20 | 0 |

Tabla 9: Expresión de Sindecán-1 en piel normal

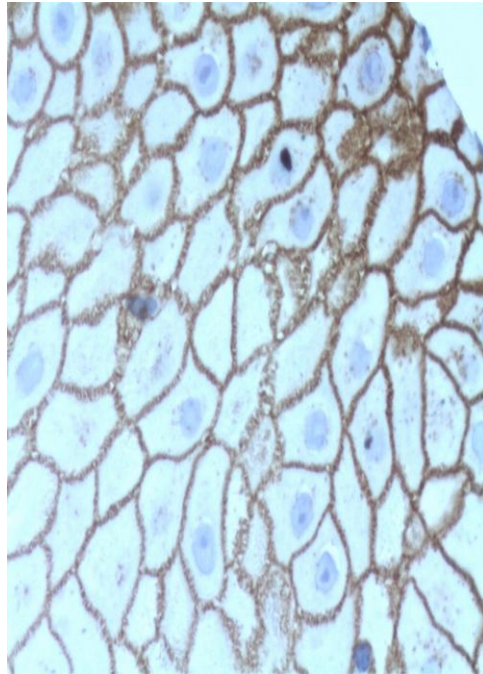


Figura 6: 3+ de expresión de Syndecan-1 en una biopsia de piel normal

La expresión de Syndecan-1 fue mayor y más positiva en los casos de hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a cromoblastomicosis cuando se comparó con carcinoma epidermoide, con una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.001$). La pérdida de diferenciación en los casos de CEC se correlacionó con una menor expresión de Syndecan-1.

La mayor parte de los casos de carcinoma epidermoide invasor presentaron pérdida de la expresión de Syndecan-1 y todas las muestras de piel normal conservaron 3+ de expresión de este proteoglicano de membrana.

En la mayor parte de los casos de hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociado a cromoblastomicosis se conserva la expresión de syndecan-1.

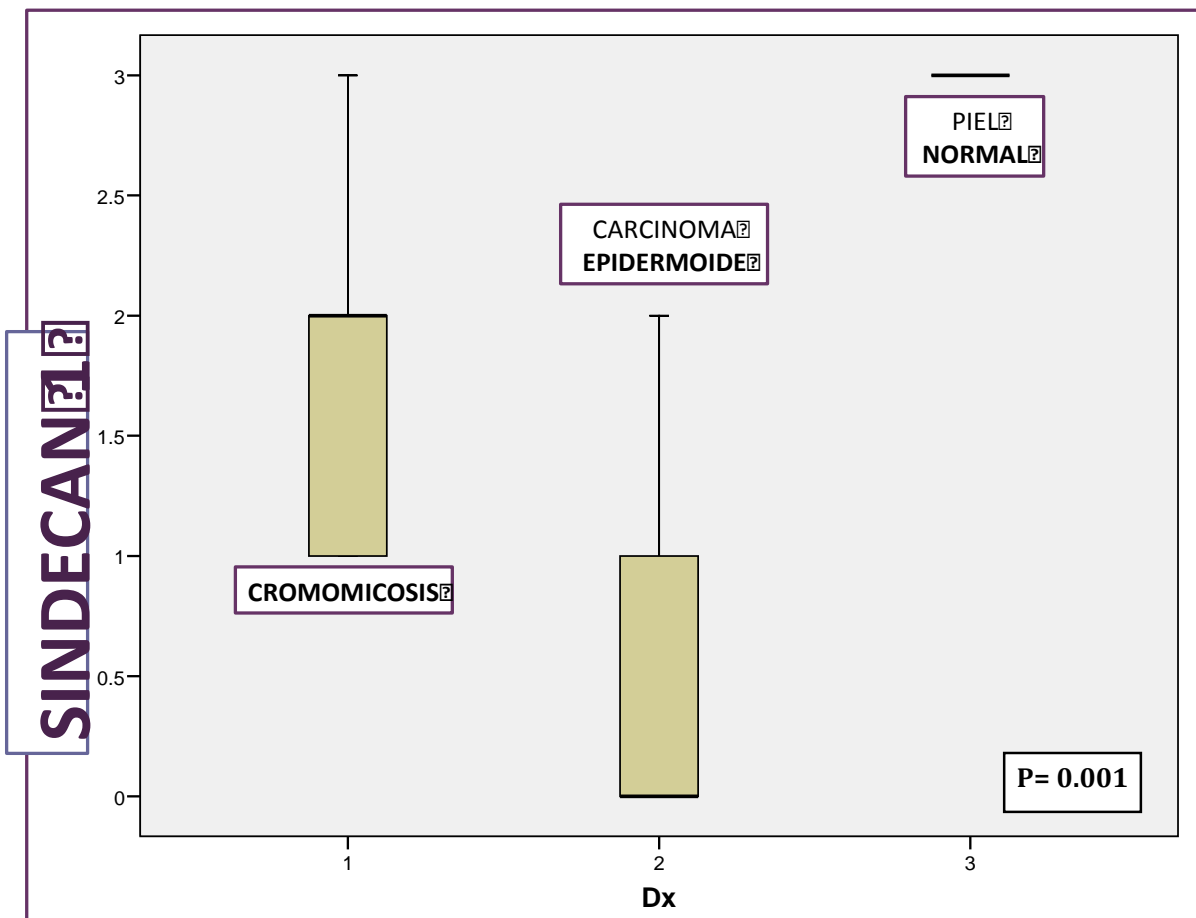


Figura 7: Gráfica de expresión de Sindecán-1 en los 3 grupos comparados: cromoblastomycosis con hiperplasia pseudoepiteliomatosa, carcinoma epidermoide y piel normal.

La media de expresión de sindecan-1 en piel normal fue de 3+, en hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a cromoblastomicosis de 1.95 con Intervalo de Confianza de: 95% (1.63-2.27) y de 0.52 en carcinoma epidermoide IC 95% (0.21-0.83).

SINDECAN 1

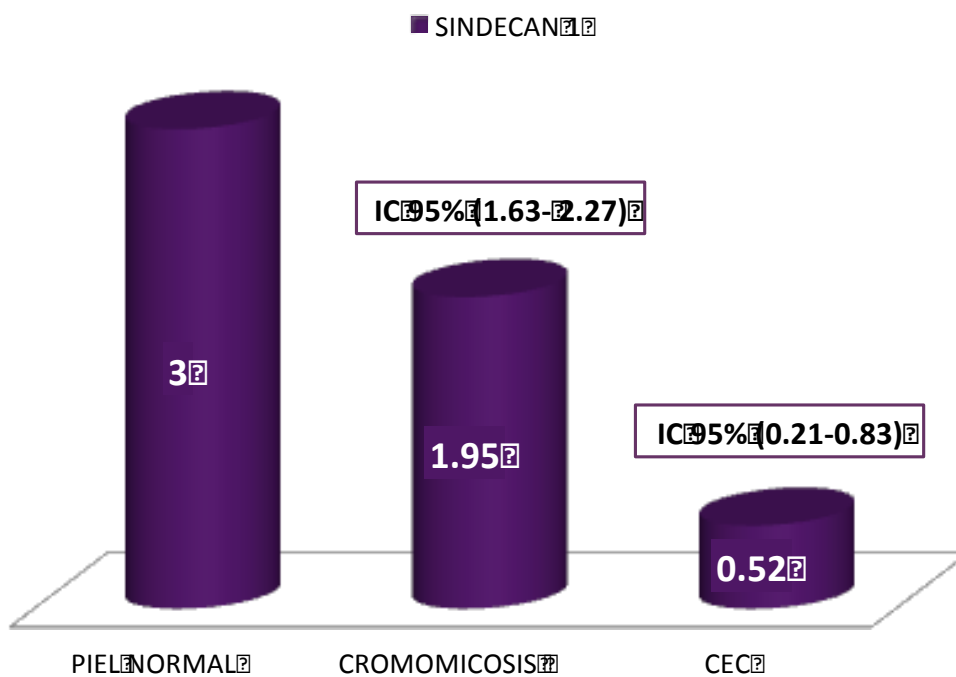


Figura 8: Gráfica de media de expresión de Sindecan-1 en los 3 grupos. (CEC: carcinoma epidermoide)

El porcentaje de positividad (2+ y 3+) de expresión de membrana de Sindecán-1 por inmunohistoquímica en hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a cromomiosis fue de 71.4% en comparación con 13.6% en carcinoma epidermoide.

+ SINDECAN % POSITIVIDAD

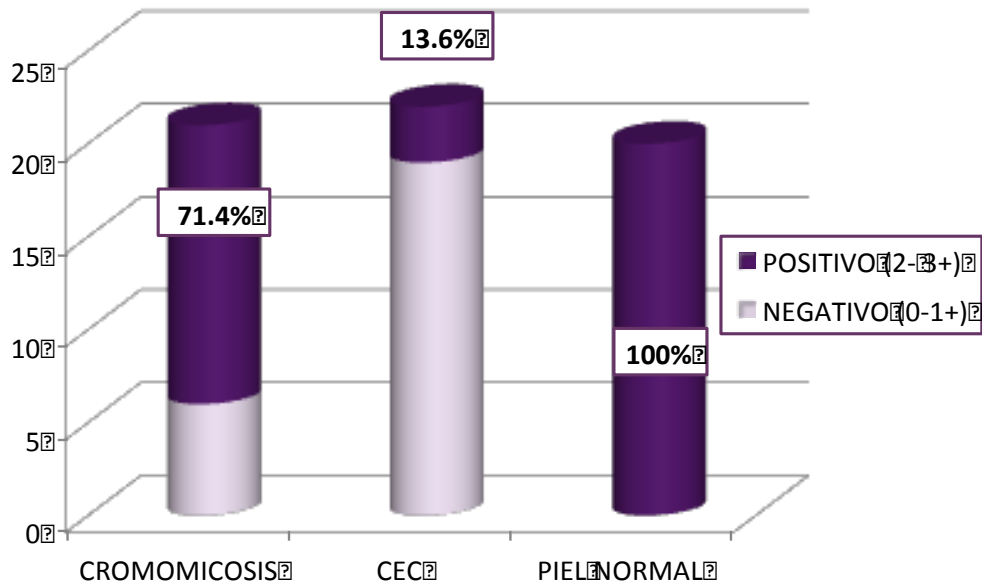


Figura 9: Porcentaje de positividad de Sindecán-1 en los 3 grupos estudiados

Comparamos la expresión por inmunohistoquímica con patrón nuclear de p53 entre los 3 grupos.

De las 21 muestras con cromoblastomiosis e hiperplasia pseudoepiteliomatosa 13 fueron negativas por inmunohistoquímica para la expresión nuclear de p53, en 6 casos de hiperplasia pseudoepiteliomatosa se marcó p53 como 1+ y en 2 casos fue positivo nuclear 2+. En ninguno de los casos estudiados de hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a cromoblastomiosis se encontró 3+ por

inmunomarcación de expresión de p53. La pérdida en la expresión de sindecan-1 se correlacionó con incremento en la expresión nuclear de la proteína p53.

| Expresión | 0+ | 1+ | 2+ | 3+ |
|------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| # de muestras | 13 | 6 | 2 | 0 |

Tabla 10: Expresión de p53 en hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a cromoblastomiosis

| Expresión | POSITIVO | NEGATIVO |
|------------------|-----------------|-----------------|
| # de muestras | 2 | 19 |

Tabla 11: Expresión de p53 en hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a cromoblastomiosis

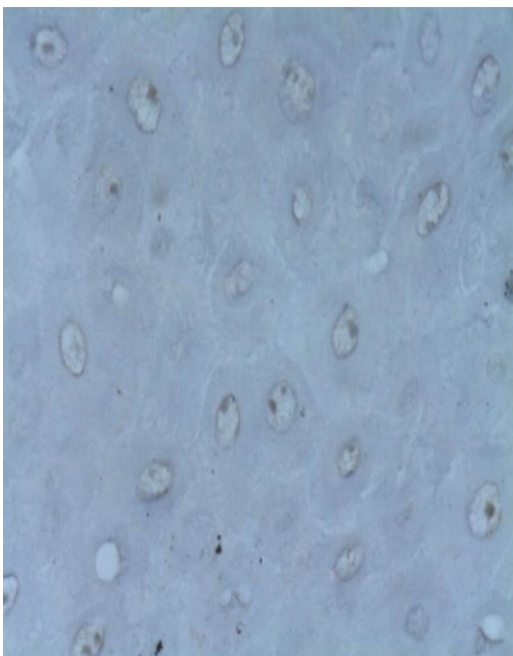


Figura 10: Hiperplasia pseudoepiteliomatosa sin expresión de p53

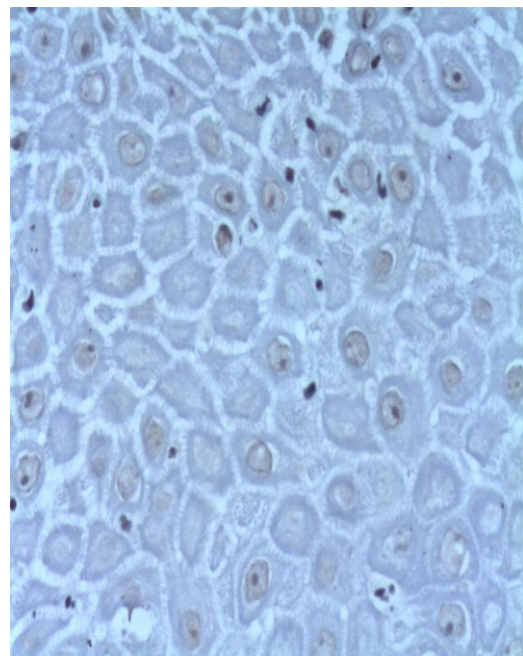


Figura 11: 1+ expresión nuclear de p53 en hiperplasia pseudoepiteliomatosa

De las 22 muestras estudiadas con diagnóstico de carcinoma epidermoide invasor 5 fueron negativas por inmunohistoquímica para expresión nuclear de p53, 2 casos marcaron 1+, 5 casos 2+ y 10 de las biopsias estudiadas 3+. 15 de los caos se

consideraron positivos por técnica de inmunohistoquímica para la expresión de p53 y 7 se consideraron negativas. La positividad se correlacionó con el grado de pérdida de diferenciación y el grado de invasión. La expresión de p53 en patrón nuclear por inmunohistoquímica se correlacionó con la pérdida en la expresión de Sindecin-1 de membrana por inmunohistoquímica.

| Expresión | 0+ | 1+ | 2+ | 3+ |
|------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| # de muestras | 5 | 2 | 5 | 10 |

Tabla 12: Expresión de p53 en carcinoma epidermoide invasor

| Expresión | POSITIVO | NEGATIVO |
|------------------|-----------------|-----------------|
| # de muestras | 15 | 7 |

Tabla 13: Expresión de p53 en carcinoma epidermoide invasor

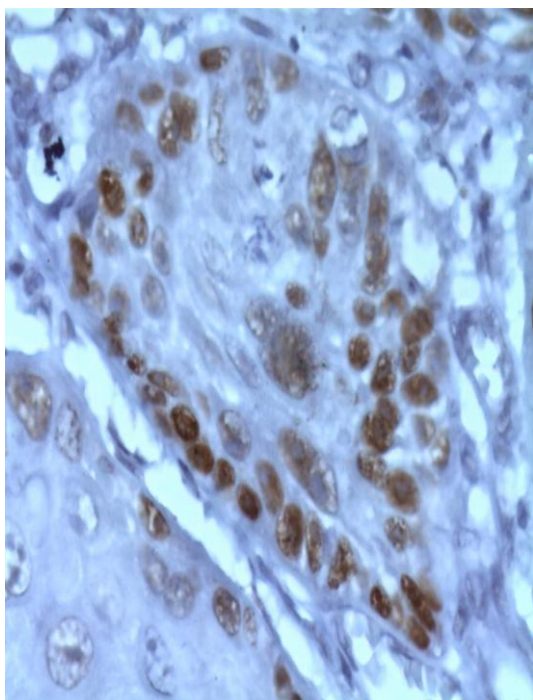


Figura 12: 2+ de expresión de p53 en CEC moderadamente diferenciado

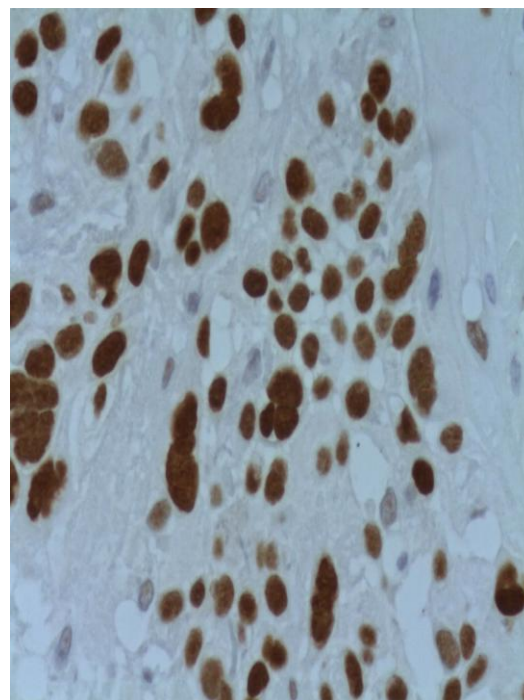


Figura 13: 3+ expresión de p53 en CEC invasor mal diferenciado

En las biopsias estudiadas de piel normal como control, 8 de los 20 casos estudiados expresaron por técnica de inmunohistoquímica 1+ con patrón nuclear de p53 y los 12 restantes no expresaron p53 por inmunomarcación. Los 20 casos de piel normal se consideraron como negativos en cuanto a expresión nuclear de p53 por inmunotinción.

| Expresión | 0+ | 1+ | 2+ | 3+ |
|------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| # de muestras | 12 | 8 | 0 | 0 |

Tabla 14: Expresión de p53 en piel normal

| Expresión | POSITIVO | NEGATIVO |
|------------------|-----------------|-----------------|
| # de muestras | 0 | 20 |

Tabla 15: Expresión de p53 en piel normal

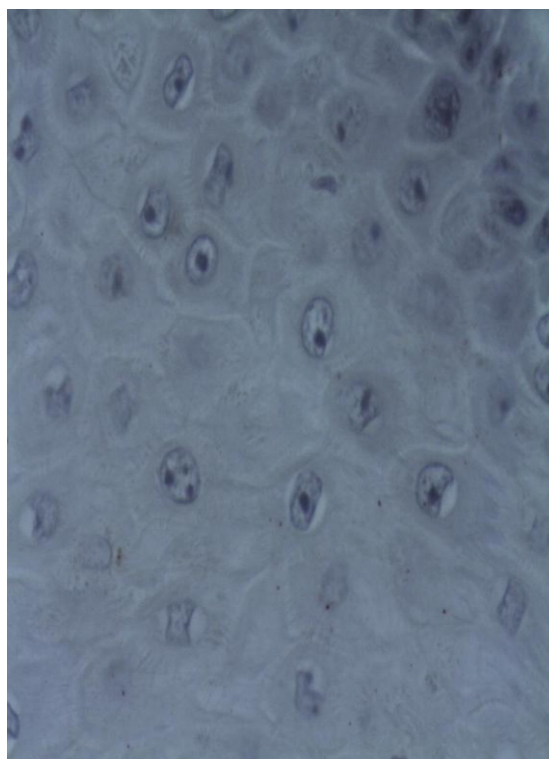


Figura 14: 0+ de expresión de p53 en piel normal

La expresión con patrón nuclear por inmunohistoquímica de p53 fue mayor en los casos de carcinoma epidermoide en comparación con los casos de hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a cromomicosis con diferencia estadísticamente significativa ($p=0.001$). La expresión nuclear por inmunohistoquímica de p53 se correlacionó con la pérdida de expresión de membrana por inmunohistoquímica de Sindecán-1 y esto se correlacionó con el grado de pérdida de diferenciación y el grado de invasión reportados por técnicas de microscopía electrónica y tinciones convencionales.

+ p53 +

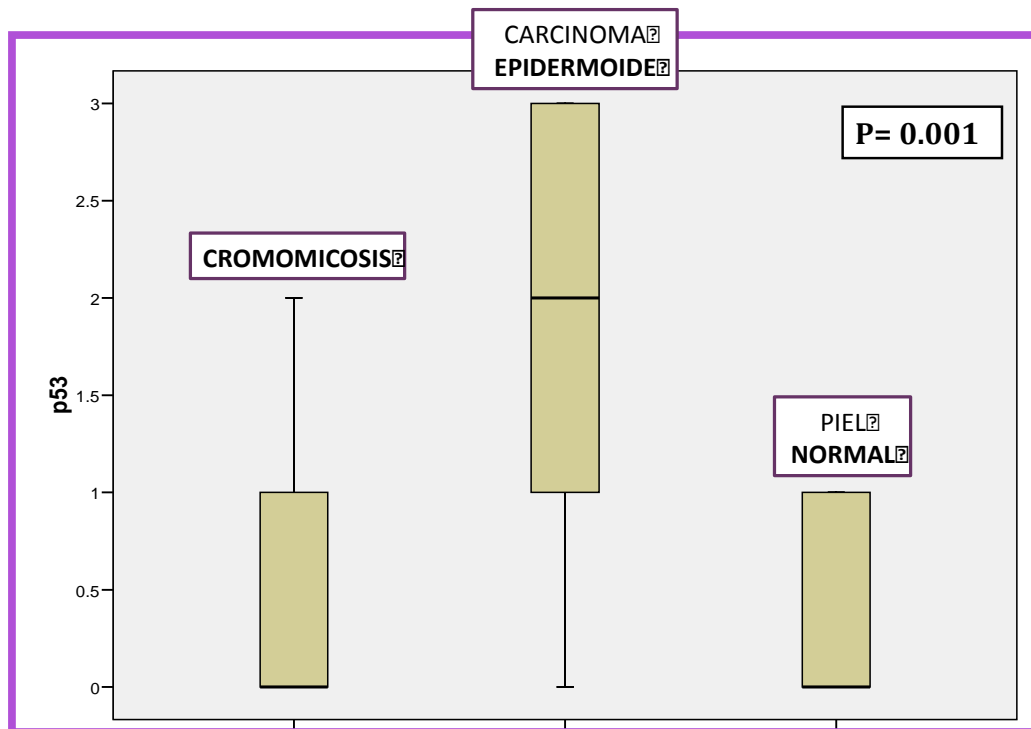


Figura 15: Expresión de p53 en los 3 grupos comparados: hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a cromoblastomosis, carcinoma epidermoide y piel normal

La media de expresión de p53 en los casos estudiados de piel normal fue de 0.4 IC 95% (0.16-0.64). En los casos de hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a cromoblastomiosis la media fue de 0.55 IC 95% (0.22-0.87). En los casos de carcinoma epidermoide la media de expresión de p53 por inmunohistoquímica fue de 1.9 IC 95% (1.33-2.48).

+p53

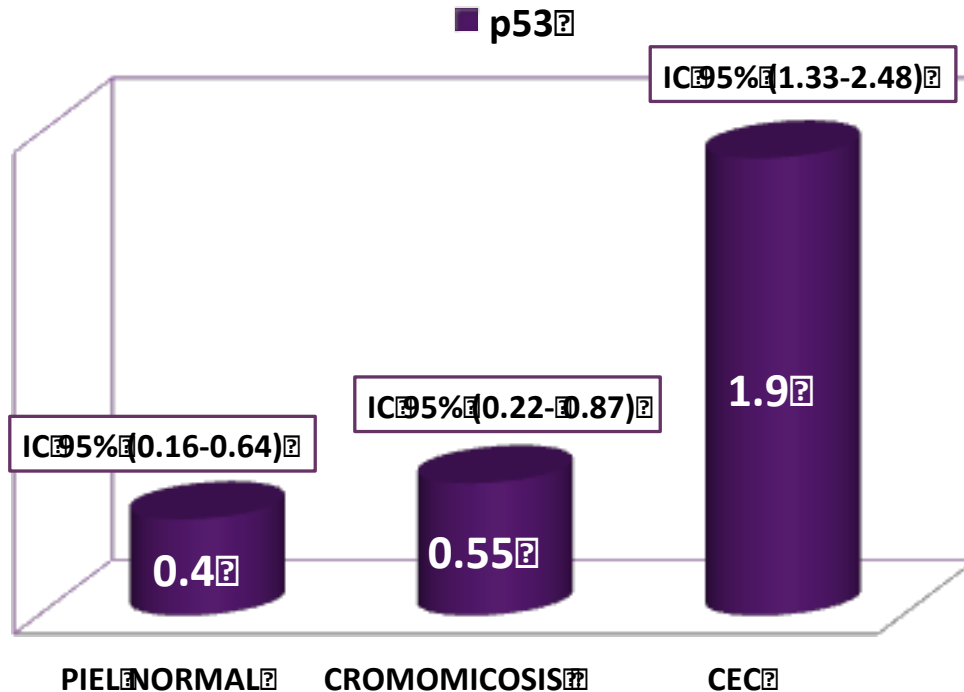


Figura 16: Media de expresión de p53 en los 3 grupos: piel normal, hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a cromoblastomiosis y carcinoma epidermoide.

8. DISCUSION

La cromoblastomicosis es una micosis subcutánea endémica de México que afecta principalmente hombres de población rural.⁽⁷⁾ La evolución de la micosis es crónica, con formación de placas verrugosas y fibrosis cicatrizal. Esta micosis como muchos otros procesos inflamatorios crónicos está relacionada a marcada hiperplasia pseudoepiteliomatosa. El principal diagnóstico diferencial de la hiperplasia pseudoepiteliomatosa es el carcinoma epidermoide.⁽³³⁾ Una de las complicaciones más graves de los procesos inflamatorios crónicos es el desarrollo de carcinoma epidermoide; Aunque el mecanismo de desarrollo de neoplasias en sitios de inflamación crónica no se conoce por completo, probablemente el proceso cicatrizal actúa como promotor tumoral y condiciona mutaciones en el gen Fas, evitando que las células mutadas sufran apoptosis. ^(9, 10, 11)

El diagnóstico diferencial entre la hiperplasia pseudoepiteliomatosa y el desarrollo de carcinoma epidermoide es de vital importancia para el tratamiento y pronóstico en procesos inflamatorios crónicos. Hacer la diferencia entre estas dos entidades es difícil y se ha basado en criterios morfológicos, así como algunos marcadores de proliferación celular y expresión de metaloproteinasas con resultados variables.⁽³³⁾

El sindecan-1 es un proteoglicano que se encuentra de manera característica en epitelios bien diferenciados.⁽¹⁾ La pérdida de expresión de sindecan-1 en epitelios escamosos se asocia a transformación maligna y se relaciona directamente con estadios más avanzados del tumor, mayor invasión y metástasis, así como disminución en la supervivencia. ^(2, 5, 6)

La proteína p53 se expresa en todos los tejidos.⁽³⁶⁾ Esta proteína se encarga de activar enzimas de reparación del ADN y de inducir apoptosis en casos en los que el daño celular no pueda ser reparado.^(36, 37)

En este estudio, analizamos la expresión por inmunohistoquímica de sindecan-1 y su relación con la expresión de p53 en hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a cromoblastomicosis, comparada con carcinoma epidermoide invasor. En los casos de carcinoma epidermoide invasor hay una disminución en la expresión de sindecan-1 en correlación con aumento en la expresión nuclear de p53 en comparación con los casos estudiados de hiperplasia pseudoepiteliomatosa, con una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.001$).

La disminución en la expresión de sindecan-1 se correlacionó de manera proporcional con un aumento en la expresión de p53, con el grado de pérdida de diferenciación y grado de invasión en los casos estudiados de carcinoma epidermoide.

9. CONCLUSIONES

La pérdida de la expresión de sindecan-1 se relaciona con transformación maligna de epitelios escamosos. La pérdida de la expresión de sindecan-1 se correlaciona con el aumento en la expresión de p53, con el grado de pérdida de diferenciación y el grado de invasión tumoral.

La expresión de sindecan-1 se encuentra conservada, con diferencia significativa en hiperplasia pseudoepiteliomatosa en comparación con carcinoma epidermoide.

El sindecan-1, en correlación con la expresión de p53, pueden servir como marcadores de transformación maligna en casos de hiperplasia

pseudoepiteliomatosa y ser de utilidad en el diagnóstico diferencial entre hiperplasia pseudoepiteliomatosa y carcinoma epidermoide.

El tamaño de la muestra es limitado por la rareza de la cromoblastomicosis. Hay que evaluar la expresión de sindecan-1 y p53 en casos de hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a otras causas.

10. PERSPECTIVAS

La pérdida de expresión de sindecan-1 en correlación con un aumento en la expresión de p53 pueden ser de utilidad en el diagnóstico diferencial de hiperplasia pseudoepiteliomatosa y carcinoma epidermoide. La expresión de sindecan-1 y p53 pueden ser de utilidad en el diagnóstico diferencial de otros casos de hiperplasia pseudoepiteliomatosa asociada a otros procesos infeccioso y no infecciosos de hiperplasia pseudoepiteliomatosa.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Kopper L, Sebestyén A, Galla M. Syndecan1 - A New piece in B-cell Puzzle. Pathology Oncology Research Vol 3, No 3, 83-191, 1997.
- (2) Hashimoto Y, Skacel M, Adams JC. Association of loss of epithelial syndecan-1 with stage and local metastasis of colorectal adenocarcinomas: An immunohistochemical study of clinically annotated tumors. BMC Cancer 2008, 8:185.
- (3) Bayer-garner IB, Smoller BR. The Expression of Syndecan-1 is preferentially reduced compared with that of E-cadherin in acantholytic squamous cell carcinoma. J Cutan Pathol 2001;28: 83-89.

- (4) Mukunyadzi P, Ralph DS, Fan ChY, Smoller B, The level of Syndecan-1 Expression is a Distinguishing Feature in Behavior between Keratoacantoma and Invasive Cutaneous Squamous Cell carcinoma. *Mod Pathol* 2002;15 (1):45-49.
- (5) Chu YQ, Ye ZY, Tao HQ, Wang YY, Zhao ZS. Relationship between cell adhesion molecules expression and the biological behavior of gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14(13): 1990-1996.
- (6) Bologna R, Mosqueda A, Lopez E, Almeida OP, Carrasco D, García F, Farfan JE, Irigoyen M, Damián P. Syndecan-1 (CD138) and Ki-67 expression in different subtypes of ameloblastomas. *Oral Oncol.* 2007.
- (7) Marinho R, Valente N, Criado P, Da Costa JE. Chromoblastomycosis: study of 27 cases and review of medical literature. *An Bras Dermatol* 2010; 85 (4):448-54.
- (8) Elgart GW. Chromoblastomycosis. *Dermatologic Clinics.* Vol 14 issue 1. 1996.
- (9) Torres E, Beristain J, Lievanos Z, Arenas R. Chromoblastomycosis associated with letal squamous cell carcinoma. *An Bras Dermatol.* 2010; 85 (2): 267-70.
- (10) García I, Pérez-Gil A, Cmacho FM. Marjolin´s ulcer: burn scar carcinoma. *Actas Dermosifilogr.* 2006; 97: 529-32.
- (11) Esterre P, Pecarrère JL, Raharisolo C, HuerreM, Squamous cell carcinoma arising from chromoblastomycosis. Report of two cases. *Ann Pathol.* 1999; 19: 516-20.

- (12) Minnotto R, Bernardi CD, Mallman LF, Edelweiss MI, Scrofeneker ML. Cromoblastomycosis. A Review of 100 cases in the State of Río Grande do Sul, Brazil. *J Am Acad Dermatol*. 2001; 44: 585-92.
- (13) Bonifaz A. Cromoblastomycosis: Clinical and mycologic experience of 51 cases. *Mycoses*. 2001; 44:1-7.
- (14) Sachs DL, Marghoob AA, Halpern A. Skin cancer in the elderly. *Clin Geriatr Med* 2001 Nov; 17(4):715-38, vii.
- (15) Arenas.R. Carcinoma espinocelular. *Dermatología ATLAS, diagnóstico y tratamiento. Segunda Edición.* ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 2007. p. 141-3.
- (16) Thomas B.Fitzpatrick RAJKW. Management of basal and squamous cell carcinoma. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine.* 6th ed. ed. McGraw-Hill; 2007.
- (17) Thomas P.Habif. Premalignant and Malignant Nonmelanoma Skin Tumors. *Clinical Dermatology: A Color Guide to Diagnosis and Therapy.* 4th ed. Philadelphia, Pennsylvania: Mosby; 2004.
- (18) Armstrong BK, Kricger A. Epidemiology of sun exposure and skin cancer. *Cancer Surv* 1996; 26:133-53.
- (19) English DR, Armstrong BK, Kricger A, Fleming C. Sunlight and cancer. *Cancer Causes Control* 1997 May;8(3):271-83.
- (20) Sunderkotter C, Kalden H, Luger TA. Aging and the skin immune system. *Arch Dermatol* 1997 Oct; 133(10):1256-62.
- (21) Gallagher RP, Hill GB, Bajdik CD, Coldman AJ, Fincham S, McLean DI, et al. Sunlight exposure, pigmentation factors, and risk of

- nonmelanocytic skin cancer. II. Squamous cell carcinoma. Arch Dermatol 1995 Feb; 131(2):164-9.
- (22) Ubry F, MacGibbon B. Risk factors of squamous cell carcinoma of the skin. A case-control study in the Montreal region. Cancer 1985 Feb 15;55(4):907-11.
- (23) Hartley BE, Searle AE, Breach NM, Rhys-Evans PH, Henk JM. Aggressive cutaneous squamous cell carcinoma of the head and neck in patients with chronic lymphocytic leukaemia. J Laryngol Otol 1996 Jul; 110(7):694-5.
- (24) Johnson TM, Rowe DE, Nelson BR, Swanson NA. Squamous cell carcinoma of the skin (excluding lip and oral mucosa). J Am Acad Dermatol 1992 Mar; 26(3 Pt 2):467-84.
- (25) Rowe DE, Carroll RJ, Day CL, Jr. Prognostic factors for local recurrence, metastasis, and survival rates in squamous cell carcinoma of the skin, ear, and lip. Implications for treatment modality selection. J Am Acad Dermatol 1992 Jun; 26(6):976-90.
- (26) Bernstein SC, Lim KK, Brodland DG, Heidelberg KA. The many faces of squamous cell carcinoma. Dermatol Surg 1996 Mar; 22(3):243-54.
- (27) Madan V, Lear JT, Szeimies RM. Non-melanoma skin cancer. Lancet 2010 Feb 20; 375(9715):673-85.
- (28) Ahmed A, Madkan V, Tyring SK. Human papillomaviruses and genital disease. Dermatol Clin 2006 Apr; 24(2):157-65, vi.
- (29) Rudolph R, Zelac DE. Squamous cell carcinoma of the skin. Plast Reconstr Surg 2004 Nov; 114(6):82e-94e.

- (30) Barnhill. Tumours of the epidermis. Textbook of dermatopathology. 2nd ed. Mc Graw Hill; 2004. p. 575-633.
- (31) Basal Cell and Squamous Cell Skin Cancers. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology 2009. Available from: URL: www.nccn.org
- (32) Motley R, Kersey P, Lawrence C. Multiprofessional guidelines for the management of the patient with primary cutaneous squamous cell carcinoma. Br J Plast Surg 2003 Mar; 56(2):85-91.
- (33) Civatte J. Pseudo-carcinomatous hyperplasia. J Cutan Pathol. 1985;12:214–223.
- (34) Arenas R. Micología médica ilustrada. 2ed. México: Interamericana McGraw-Hill; 2003 p.140-7.
- (35) Mukunyadzi P, Liu K, Hanna EY, Suen JY Fan CY. Induced Expression of Syndecan-1 in the Stroma of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. Mod Pathol 2003; 16 (8): 796-801.
- (36) Levine A, Finlay C, Hinds P. P53 is a tumor suppressor gene. Cell. 2004 Jan 23; 116(2 Suppl):S67-9.
- (37) Kumar V, Abul K, Nelson F. Molecular basis of cancer. Robbins and Coltran Pathologic Basis of Disease. Saunders, Elsevier. 8th edition.
- (38) Cabrera M, López-Nevot M. Efectos de la radiación ultravioleta (UV) en la inducción de mutaciones de p53 en tumores de piel. Oncología, 2006; 29 (7):291-298.
- (39) Hussein M, Al-Badaiwy Z, Guirguis M. Analysis of p53 and bcl-2 protein expression in the non-tumorigenic, pretumorigenic, and tumorigenic

keratinocytic hyperproliferative lesions. J Cutan Pathol. 2004 Nov; 31(10):

643-51.

12. ANEXOS

12.1 TABLA DE CAPTURA DE DATOS

| DIAGNÓSTICO | BIOPSIA | EDAD | GÉNERO | TIEMPO EVOLUCIÓN | SINDECAN-1 | P53 |
|----------------------|---------|------|--------|------------------|------------|-----|
| CROMOMICOSIS | 171-97 | 68 | 0 | 27.00 | 3 | 0 |
| CROMOMICOSIS | 294-97 | 72 | 0 | 27.00 | 2 | 0 |
| CROMOMICOSIS | 412-97 | 68 | 0 | 27.00 | 3 | 0 |
| CROMOMICOSIS | 23-99 | 60 | 0 | 4.00 | 3 | 0 |
| CROMOMICOSIS | 88-99 | 60 | 0 | 4.00 | 2 | 0 |
| CROMOMICOSIS | 253-05 | 60 | 0 | 15.00 | 3 | 0 |
| CROMOMICOSIS | 471-07 | 71 | 0 | 31.00 | 2 | 2 |
| CROMOMICOSIS | 547-07 | 72 | 0 | 31.00 | 2 | 1 |
| CROMOMICOSIS | 678-09 | 67 | 0 | 50.00 | 2 | 0 |
| CROMOMICOSIS | 96 | 53 | 0 | 12.00 | 2 | 1 |
| CROMOMICOSIS | 97 | 53 | 0 | 12.00 | 1 | 2 |
| CROMOMICOSIS | 478 (1) | 60 | 0 | 20.00 | 2 | 0 |
| CROMOMICOSIS | 478 (2) | 60 | 0 | 20.00 | 1 | 0 |
| CROMOMICOSIS | 154 (1) | 66 | 0 | 10.00 | 1 | 1 |
| CROMOMICOSIS | 154 (2) | 66 | 0 | 10.00 | 2 | 1 |
| CROMOMICOSIS | 155 (1) | 66 | 0 | 10.00 | 2 | 0 |
| CROMOMICOSIS | 155 (2) | 66 | 0 | 10.00 | 1 | 0 |
| CROMOMICOSIS | 155 (3) | 66 | 0 | 10.00 | 1 | 0 |
| CROMOMICOSIS | 567 | 69 | 0 | 25.00 | 1 | 0 |
| CROMOMICOSIS | 566-05 | 42 | 1 | 9.00 | 2 | 1 |
| CROMOMICOSIS | 567-05 | 42 | 1 | 9.00 | 3 | 1 |
| CEC Verrugoso | 404-11 | 80 | 1 | 70.00 | 2 | 2 |
| CEC Invasor Bien Dif | 173-09 | 76 | 1 | 0.83 | 2 | 2 |
| CEC Invasor Mod Dif | 249-09 | 80 | 1 | 0.66 | 0 | 1 |
| CEC Invasor Mod Dif | 284-09 | 81 | 0 | 0.33 | 0 | 3 |
| CEC Invasor Bien | 385-09 | 72 | 0 | 0.25 | 1 | 2 |

| | | | | | | |
|---------------------------|------------|----|---|-------|---|---|
| Dif | | | | | | |
| CEC Invasor Mod Dif | 109-10 | 67 | 0 | 0.125 | 1 | 3 |
| CEC Invasor Mal Dif | 259-10 | 84 | 1 | 8.00 | 2 | 1 |
| CEC Invasor Bien Dif | 335-10 (1) | 78 | 0 | 10.00 | 0 | 0 |
| CEC Invasor Bien Dif | 335-10 (2) | 78 | 0 | 10.00 | 1 | 0 |
| CEC Invasor Bien Dif | 354-10 | 50 | 0 | 3.00 | 0 | 2 |
| CEC Invasor Bien Dif | 363-10 | 93 | 1 | 0.06 | 0 | 3 |
| CEC Invasor Bien Dif | 384-10 | 70 | 0 | 5.00 | 0 | 2 |
| CEC Invasor Bien Dif | 414-10 | 67 | 0 | 0.16 | 0 | 0 |
| CEC Invasor Mal Dif | 415-10 | 67 | 0 | 0.16 | 0 | 3 |
| CEC Invasor Mod Dif | 471-10 | 82 | 1 | 1.5 | 1 | 0 |
| CEC Invasor Mod Dif | 563-10 | 78 | 1 | 5.00 | 0 | 0 |
| CEC Invasor Mod Dif | 644-10 | 74 | 0 | 0.25 | 1 | 3 |
| CEC Microinvasor Bien Dif | 13--11 | 79 | 1 | 0.25 | 1 | 3 |
| CEC Microinvasor Bien Dif | 70-11 | 85 | 1 | 5.00 | 0 | 3 |
| CEC Invasor Bien Dif | 184-11 | 55 | 0 | 0.5 | 0 | 3 |
| CEC Invasor Mod Dif | 207-11 | 53 | 0 | 2.00 | 1 | 3 |
| CEC Invasor Bien Dif | 257-11 | 85 | 1 | 2.00 | 0 | 3 |
| Normal | 415-09 | 18 | 0 | | 3 | 1 |
| Normal | 872-09 | 48 | 0 | | 3 | 1 |
| Normal | 873-09 | 48 | 0 | | 3 | 0 |
| Normal | 542-10 | 25 | 1 | | 3 | 1 |
| Normal | 948-10 | 27 | 1 | | 3 | 0 |
| Normal | 1018-10 | 50 | 1 | | 3 | 1 |
| Normal | 1117-10 | 55 | 1 | | 3 | 1 |
| Normal | 1118-10 | 60 | 1 | | 3 | 1 |
| Normal | 1119-10 | 76 | 1 | | 3 | 0 |
| Normal | 1172-10 | 46 | 1 | | 3 | 0 |

| | | | | | | |
|--------|---------|----|-----------|--|---|---|
| Normal | 1149-10 | 20 | 1 | | 3 | 0 |
| Normal | 23--11 | 38 | 0 | | 3 | 1 |
| Normal | 24--11 | 38 | 0 | | 3 | 0 |
| Normal | 90-11 | 25 | 0 | | 3 | 1 |
| Normal | 91-11 | 25 | 0 | | 3 | 0 |
| Normal | 137-11 | 50 | 0 | | 3 | 0 |
| Normal | 216-11 | 60 | 1 | | 3 | 0 |
| Normal | 217-11 | 60 | 1 | | 3 | 0 |
| Normal | 218-11 | 60 | 1 | | 3 | 0 |
| Normal | 219-11 | 60 | 1 | | 3 | 0 |
| | | | 0= hombre | | | |
| | | | 1= mujer | | | |