



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DERMATOLOGÍA

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

DETERMINACIÓN Y TIPIFICACIÓN DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO POR PCR EN TEJIDO DE ENFERMEDAD DE BOWEN EXTRAGENITAL EN PACIENTES DEL CENTRO DERMATOLÓGICO “DR. LADISLAO DE LA PASCUA”

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN DERMATOLOGÍA

PRESENTA:

DRA. NILDA ELIANA MARÍA GÓMEZ BERNAL

TUTORES PRINCIPALES:

DR. DANIEL ALCALÁ PÉREZ

DRA. EVA RAMÓN GALLEGOS

DRA. MARÍA LUISA PERALTA PEDRERO

DRA. MARTHA ALEJANDRA MORALES SÁNCHEZ

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

MÉXICO D.F. JULIO DE 2015



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.

**DETERMINACIÓN Y TIPIFICACIÓN DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO POR PCR EN
TEJIDO DE ENFERMEDAD DE BOWEN EXTRAGENITAL EN PACIENTES DEL CENTRO
DERMATOLÓGICO “DR. LADISLAO DE LA PASCUA”**

Dra. Nilda Eliana María Gómez Bernal

Vo.Bo.

Dr. Fermín Jurado Santa Cruz

Director del Centro Dermatológico Dr. Ladislao de la Pascua

Vo.Bo.

Dr. Antonio Fraga Mouret

Director de Educación e Investigación

Vo.Bo.

Dr. Daniel Alcalá Pérez

Asesor Clínico de Investigación. Dermatólogo con especialidad en Cirugía y Oncología
Adscrito a la Clínica de Dermato-Oncología del Centro Dermatológico Dr. Ladislao de la
Pascua

Vo.Bo.

Dra. Eva Ramón Gallegos

Asesora de investigación. Doctora en Ciencias Químico-biológicas con especialidad en
Biomedicina. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores nivel I. Profesora e
investigadora en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico
Nacional

Vo.Bo.

Dra. María Luisa Peralta Pedrero

Asesor Metodológicas

Vo.Bo.

Dra. Martha Alejandra Morales Sánchez

Asesor metodológico y

Jefa de Enseñanza del Centro Dermatológico Dr. Ladislao de la Pascua

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a quienes hicieron posible este trabajo.

Al Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua”, sus residentes y médicos adscritos.

A la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, especialmente a la Dra. Eva Ramón y la Maestra Elizabeth Maldonado.

Al Laboratorio de Genética en el Instituto de Oftalmología “Fundación de Asistencia Privada Conde de Valenciana IAP”, en especial al Dr. Juan Carlos Centeno, Dr. Víctor Bautista y la técnica Mariana Ortiz.

Este logro lo dedico a Gabriel Domínguez por todo su apoyo y comprensión,

porque no hay fuerza más grande que la del amor.

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	8
2. MARCO TEÓRICO.....	9
2.1. Cáncer de piel.....	9
2.2. Enfermedad de Bowen.....	10
2.2.1. Epidemiología.....	10
2.2.2. Etiopatogenia.....	11
2.2.3. Manifestaciones clínicas.....	12
2.2.4. Dermatoscopía.....	13
2.2.5. Histopatología.....	14
2.2.6. Patologías asociadas.....	16
2.2.7. Tratamiento.....	16
2.2.8. Recurrencia.....	18
2.3. Virus del papiloma humano.....	19
2.3.1. Virus del papiloma humano y cáncer	21
2.3.2. Virus del Papiloma Humano y enfermedad de Bowen.....	21
2.4. Vacunación contra el Virus del Papiloma Humano.....	22
2.5. Análisis y detección de ácidos nucleicos.....	22
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	24
4. JUSTIFICACIÓN	25
5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	26
6. OBJETIVOS.....	27
6.1. objetivos generales.....	27
6.2. objetivos secundarios	27
7. HIPÓTESIS.....	27
8. MATERIAL Y MÉTODOS	

8.1. Tiempo y lugar.....	27
8.2. Diseño del estudio.....	27
8.3. Población.....	27
8.3.1. Criterios de selección	
8.3.1.1. Criterios de inclusión.....	28
8.3.1.2. Criterios de exclusión.....	28
8.3.1.3. Criterios de eliminación.....	28
8.4. Tipo de muestreo.....	29
8.5. Definición de variables.....	31
8.6. Descripción del protocolo.....	31
8.7. Análisis estadístico.....	33
8.8. Aspectos éticos.....	33
8.9. Recursos	34
9. RESULTADOS.....	35
9.1. Características demográficas.....	35
9.2. Características clínicas.....	38
9.3. Características principales.....	43
10. DISCUSIÓN.....	45
11. CONCLUSIÓN.....	47
12. BIBLIOGRAFÍA.....	48
13. ANEXOS.....	52
13.1. Cuadro de datos bibliográficos.....	52
13.2. Forma de recolección de datos.....	53
13.3. Consentimiento informado.....	54
13.4. Tabla de cronograma de actividades.....	55

1. RESUMEN

La Enfermedad de Bowen es un carcinoma epidermoide insitu en cuya etiología contribuye la radiación ultravioleta y la inmunosupresión, en cuanto al papel del virus del papiloma humano, es indudable su participación en el carcinoma epidermoide genital, sin embargo en la presentación extragenital los estudios reportan cifras variables, las cuales no están ratificadas en México.

El presente es un estudio observacional, transversal, prolectivo y descriptivo realizado en el Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de La Pascua” entre octubre de 2012 y junio de 2014, donde se captaron pacientes con diagnóstico histológico de enfermedad de Bowen extragenital a cuyas muestras de tejido se les realizó PCR para VPH. En un periodo de captura de 14 meses, se incluyeron 16 pacientes, de los que se excluyeron dos por falta de amplificación del gen constitutivo por PCR. Una muestra, que corresponde al 7.1%, resultó positiva para VPH, la identificación del serotipo por secuenciación no fue posible debido a un cuantificado bajo de ADN. Se concluye que la frecuencia encontrada de VPH en enfermedad de Bowen extragenital es inferior a la reportada en otros países.

DETERMINACIÓN Y TIPIFICACIÓN DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO POR PCR EN TEJIDO DE ENFERMEDAD DE BOWEN EXTRAGENITAL EN PACIENTES DEL CENTRO DERMATOLÓGICO “DR. LADISLAO DE LA PASCUA”

2. MARCO TEÓRICO

2.1. CÁNCER DE PIEL

El cáncer de piel es la neoplasia maligna más frecuente a nivel mundial. En México no contamos con datos de incidencia fiables. En el Instituto Nacional de Cancerología ocupa el primer lugar como motivo de consulta en hombres y el cuarto en mujeres.¹ En un estudio epidemiológico multicéntrico que incluyó las tres ciudades más grandes del país, se encontró una prevalencia del 1.8% de la población, sin embargo la muestra no era significativa.²

El Carcinoma Epidermoide (CEC), también conocido como epitelioma espinocelular o carcinoma de células espinosas, es el segundo cáncer de piel en frecuencia, solo superado por el Carcinoma Basocelular y tiende a aumentar su incidencia a través del tiempo en raza hispana y no hispana.³ En el Centro Dermatológico Dr. Ladislao de la Pascua de la Ciudad de México corresponde al 17% de los cánceres de piel.⁴ En los Estados Unidos se calcula una incidencia de alrededor de 300.000 casos nuevos anualmente con cerca de 6000 muertes en el año 2012.³

2.2. ENFERMEDAD DE BOWEN

La enfermedad de Bowen (EB), sinónimo de Carcinoma Epidermoide insitu, fue descrita por primera vez en 1912 por John Templeton Bowen.⁵ Presenta un riesgo de 3% a 8% de progresión a carcinoma invasor.^{6,7} Si un CEC tiene el antecedente de EB, aproximadamente el 13% de los casos va a presentar metástasis y hasta un 10% de los pacientes morirá a causa de la diseminación.⁸

En el caso de la presentación en genitales se puede llegar a encontrar en la literatura, erróneamente, como Enfermedad de Bowen genital. Se prefieren las nuevas denominaciones debido a que su etiología, pronóstico y tratamiento difieren. La presentación en piel de genitales multicéntrica con aspecto de pápulas y placas hiperpigmentadas se denomina papulosis bowenoide y su curso es variable; desde remisión espontánea hasta la progresión a carcinoma invasor. En glándula se llama eritroplasia de Queyrat, y el riesgo de invasión y recurrencia es mayor.⁹ La presentación en vulva se conoce como neoplasia vulvar intraepitelial diferenciada y su tasa de progresión a carcinoma invasor es del 32.8%.^{10,11} En todos los casos de presentación genital la asociación al virus del papiloma humano está ampliamente demostrada.¹²

2.2.1. EPIDEMIOLOGIA

En Inglaterra la incidencia anual estimada es de 15 por 100.000 habitantes.¹² En la población caucásica de Hawái se calcula de 142 por 100.000 habitantes.¹³ En el Centro Dermatológico Dr. Ladislao de la Pascua corresponde al 23% de los casos de carcinoma epidermoide. Presenta un pico de incidencia en la séptima década de la

vida.³ La relación de prevalencia en hombres y mujeres varia en las diferentes series.^{7,12,13}

2.2.2. ETIOPATOGENIA

La radiación ultravioleta es uno de los factores más fuertemente asociados a la patogenia de la enfermedad de Bowen, específicamente la longitud de onda en el rango de los UVB (290-320 nm), debido a que disminuye el número y la función de las células de Langerhans, alterando la vigilancia inmunológica y a que está implicada en la expansión de mutaciones de p53. También se ha implicado a distintas fuentes de radiación como la fototerapia y la radioterapia.^{14,15}

Otros factores de riesgo son: epidermodisplasia verruciforme, exposición prolongada a arsénico, daño térmico, dermatitis crónica, infección por el VPH y trastornos de la inmunidad como pacientes con trasplante renal donde la EB representa hasta 23% de los cánceres de piel que desarrollan estos pacientes.¹⁶⁻¹⁷

2.2.3. MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La topografía más frecuente es extremidades y cabeza, seguido de cuello y tronco. En mujeres es más frecuente en mejillas y cara anterior de muslos y pierna; en hombres es más frecuente en piel cabelluda.^{13,17,18} Se presume que esta variabilidad se debe a los patrones de exposición solar.⁷ También se puede presentar en región periungueal y subungueal.¹⁶

La presentación extragenital se constituye por eritema de color rosa claro a salmón brillante o gris-marrón, y escama blanquecina o amarillenta fácilmente removible o

bien adherida, que confluyen en una placa firme y aplanada con bordes regulares o irregulares, de superficie lisa o irregular que con el tiempo se puede volver de aspecto nodular o verrugoso, asintomática, de crecimiento lento. Su tamaño se relaciona con el tiempo de evolución.¹⁴ *Ver Imagen 1.*



Imagen 1: Piel de la región escapular izquierda con neoformación eritematosa, con escama en su superficie, diámetro mayor: 37 mm. En mujer de 83 años con 5 años de evolución.

Presentaciones inusuales son la verrugosa, hiperqueratósica y la pigmentada.¹⁹⁻²⁰

Clínicamente el diagnóstico diferencial incluye patologías benignas y malignas como: eccema numular, psoriasis, tiña del cuerpo, queratosis liquenoide benigna, queratosis actínicas, carcinoma basocelular superficial no pigmentado y melanoma amelánico.¹⁵

2.2.4. DERMATOSCOPIA

La dermatoscopia es una técnica *in vivo* no invasiva, que mejora la precisión diagnóstica de lesiones pigmentadas y no pigmentadas.

Bugatti y colaboradores reportaron el siguiente patrón dermatoscópico en 14 pacientes con EB: un patrón multi-componente con patrón vascular prominente de vasos moteados o puntiformes agrupados y superficie escamosa, concluyendo que no existen criterios específicos para la EB.²¹ Sin embargo Zalaudek y colaboradores encontraron en 21 pacientes la presencia de vasos glomerulares y superficie escamosa de forma repetitiva concluyendo que estos hallazgos son específicos y son una clave para el diagnóstico de la EB.²² *Ver Imagen 2.* Mun y colaboradores estudiaron a 26 pacientes asiáticos describiendo las siguientes características: el 96% de los casos presentó estructuras vasculares y superficie escamosa. Dentro de las estructuras vasculares los vasos glomerulares fueron los más frecuentemente asociados (77%). Otras estructuras vasculares observadas fueron vasos puntiformes (12%), vasos atípicos o polimorfos (8%) y vasos arborizantes (4%). Sin embargo los vasos glomerulares también se pueden encontrar en otras lesiones como melanoma, dermatosis secundarias a estasis, psoriasis, queratosis seborreicas y carcinoma epidermoide.⁸

Otros hallazgos dermatoscópicos de la enfermedad de Bowen son: áreas hipopigmentadas o del color de la piel y áreas eritematosas. Respecto a la EB pigmentada se reportan además de las estructuras vasculares y áreas sin estructuras, la presencia de pigmentación difusa marrón y puntos de pigmento

marrón o gris los cuales pueden seguir un patrón lineal. Hasta 10% de los casos de EB pueden no tener hallazgos dermatoscópicos claves.²³



Imagen 2: Dermatoscopia de la imagen 1, donde se observa eritema, escama y vasos glomerulares agrupados.

2.2.5. HISTOPATOLOGÍA

La confirmación del diagnóstico de enfermedad de Bowen es histológica, con la presencia a nivel de epidermis de displasia celular en todo su espesor incluyendo la porción intraepidérmica de los anexos. *Ver Imagen 3*. Estos cambios deben estar confinados a la epidermis y no invadir dermis, de lo contrario se trataría de un carcinoma epidermoide invasor.¹⁴ En la capa córnea es frecuente observar ortoqueratosis paraqueratósica; inferior a esta se presenta acantosis con desorganización de la arquitectura epidérmica, las células se encuentran con alteración de la maduración y polaridad, con núcleos grandes, irregulares e hiper cromáticos. Con frecuencia se observan mitosis en todas las capas de la

epidermis incluyendo formas anormales y disqueratosis. Es poco frecuente la presencia de acantolisis y focos de hiperqueratosis epidermolítica. En la inmunohistoquímica vamos a encontrar pankeratina positiva, EMA variable y negatividad para: CAM 5.2, CEA, S-100 y HMB-45.²⁴

Puede ser PAS positiva debido al depósito de glucógeno en los queratinocitos. Los coilocitos se presentan con mayor frecuencia en la topografía genital.²⁴

Debajo de la proliferación de las células bowenoides que llenan el espesor total de la epidermis, se forman células columnares con núcleos pequeños uniformes en forma de empalizada sobre la membrana basal. La distribución de estos agrupamientos celulares celulares varía de un empalizado completo a uno interrumpido por focos de células basales atenuadas, incluso a zonas donde la capa basal es empalizada finalmente desaparece dejando únicamente las células Bowenoides.²⁵

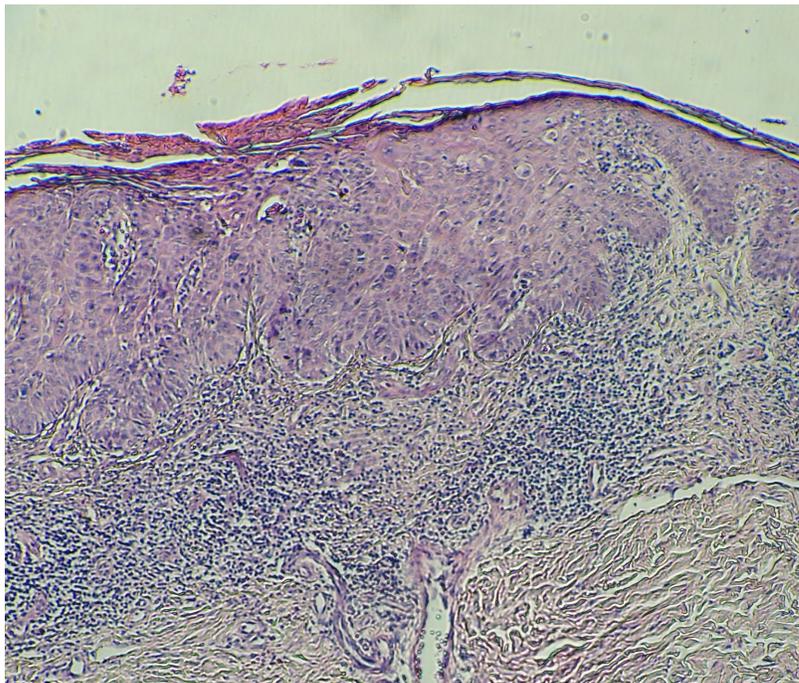


Imagen 3: estudio histológica de la imagen 1. Se observa epidermis con hiperqueratosis paraqueratósica, acantosis regular, numerosos queratinocitos atípicos. En dermis superficial moderada reacción inflamatoria.

2.2.6. PATOLOGÍAS ASOCIADAS

Entre un 30% a 50% de los pacientes con Enfermedad de Bowen tuvieron o tendrán un cáncer de piel no melanoma, principalmente carcinoma basocelular. Se cree que esto se debe a que tienen una etiología común que es la exposición solar.¹² Sin embargo no presentan mayor riesgo, comparado con pacientes de su edad, de presentar carcinomas internos como pulmonar, gastrointestinal, mama, leucemias y linfomas.²⁶

2.2.7. TRATAMIENTO

Existen múltiples opciones terapéuticas en la actualidad y la elección de una en particular va a depender de la topografía y el tamaño, así como los recursos disponibles y la preferencia del paciente.

La evidencia más fuerte debido al número de estudios realizados recientemente, se tiene para la terapia fotodinámica, el 5-Fluorouracilo, el imiquimod y la crioterapia. Los tratamientos tópicos deben considerarse en lesiones de gran tamaño y cuando el paciente rechace la cirugía, y deben evitarse en lesiones hiperqueratósicas donde disminuye su efectividad. Las técnicas quirúrgicas son ampliamente aceptadas sin embargo la calidad de la evidencia disponible es baja.²⁷ A continuación revisamos brevemente las opciones terapéuticas:

5- Fluorouracilo (5-FU): es un análogo de la timidina que actúa como antimetabolito interfiriendo con la síntesis del ADN. Se aplica una o dos veces al día por 4 semanas y el esquema se repite de ser necesario. La tasa de curación es del 67% a 83%.²⁸⁻²⁹

Imiquimod: es una amina imidazoquinolina sintética que estimula la respuesta inmune innata y adquirida, tiene actividad antitumoral y antiviral, se aplica una vez al día por 8 a 16 semanas. La tasa de curación es del 57% a 93%.²⁹⁻³⁰

Crioterapia: se aplica de uno a tres ciclos de 20 a 30 segundos, con intervalo de varias semanas. Presenta el riesgo de ulceración principalmente en las piernas. La tasa de curación reportada es del 50% al 100%.²⁷

Curetaje y electrocauterio: limita el adecuado control histológico. La tasa de curación es del 80% al 98%.²⁷

Cirugía: permite el estudio histológico, sin embargo solo estudia el 0.2% de los márgenes. La tasa de curación es de 80% a 97%.³¹

Cirugía micrográfica de Mohs: en esta técnica quirúrgica se examinan en teoría 100% de los márgenes laterales y profundos, se prefiere para zona periungueal, periorificial y lesiones recurrentes. La tasa de curación es del 91% al 100%.³¹

Terapia fotodinámica: se aplica un fotosensibilizante (puede ser ácido aminolevulinico ó ácido metil-aminolevulínico) y posteriormente se expone a una Luz LED roja, se repite a la semana y a los 3 meses si se requiere. Muy buenos resultados cosméticos. La tasa de curación es del 86% a 100%.³²⁻³³

Radioterapia: existen diferentes esquemas terapéuticos. Se prefiere para casos de lesiones grandes, múltiples o recurrentes y en piel cabelluda; debe evitarse en las extremidades inferiores por la dificultad en el cierre de las heridas. La tasa de curación se reporta del 100%.³⁴

Laser CO2: los estudios son pequeños pero con resultados prometedores, tiene la limitante de que no llega al epitelio folicular profundo por lo cual se ha combinado con laser diodo de 810 nm.²⁷

Otras terapias: diclofenaco 3% tópico, retinoides tópicos, laser ablativo previo a 5-FU ó imiquimod.^{27,35}

2.2.8. RECURRENCIA

La recurrencia estimada a 5 años se relaciona con el tratamiento recibido: cirugía convencional 7%, cirugía de Mohs 6%, crioterapia 13%, curetaje y electrofulguración 7%, 5-FU 9%.²⁰

2.3. VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

El virus del papiloma hace parte de la familia *papillomaviridae* con 37 géneros encontrados en diferentes vertebrados como mamíferos, aves y reptiles, siendo específico de una especie sin presentar transmisión cruzada.³⁶ En cuanto al Virus del Papiloma Humano (VPH), se han secuenciado más de 200 serotipos; algunos de estos se encuentran agrupados geográficamente en relación a ciertas etnias y poblaciones.³⁷ Se trata de un virus ADN de doble cadena, sin envoltura, con capsido icosaédrico, 72 pentámeros y transcripción unidireccional que se caracteriza por ser epidermotropo, con la capacidad de infectar exclusivamente piel y mucosas.³⁸⁻³⁹

El genoma del VPH se divide en tres regiones: la primera controla la replicación del ADN y la transcripción de los marcos de lectura, la segunda contiene las proteínas E y la tercera región incluye las proteínas estructurales de capsido mayor o L1 y menor o L2. Las proteínas E se numeran del 1 al 7 y participan en la regulación de la replicación, transcripción, transformación, adaptación y oncogénesis viral.⁴⁰

Los diferentes genotipos están determinados por la variabilidad de la secuencia genómica mayor al 10% en la serie de nucleótidos de las proteínas L1, E6 y E7.⁴⁰

E6 y E7 son oncogenes debido a que retrasan la diferenciación, estimulan la proliferación celular e inhiben la apoptosis. E6 participa en la regulación de numerosos genes y proteínas celulares formando complejos como el E6/E6AP, el cual marca la proteína supresora de tumores p53 para ser degradada por proteosomas. La pérdida de p53 lleva a inestabilidad genética y progresión a malignidad. E7 actúa sobre diferentes proteínas implicadas en el ciclo celular, como las p21 y p27 que son reguladas a la baja. Por otra parte consigue aumentar la

expresión de p16^{INK4A} a través de la proteína pRb y el factor de transcripción E2F.⁴¹⁻

43

La infección por el VPH comienza con la exposición de las células basales del epitelio cutáneo o mucoso al virus tras una abrasión o microtrauma. Una vez infectadas las células existe un periodo de latencia de 3 semanas a 8 meses cuyo resultado puede ser la infección clínica, subclínica o la infección latente. Inicialmente se desarrollan lesiones benignas, sin tratamiento pueden tener remisión espontánea, persistir en el tiempo o tener un crecimiento progresivo. Después de años o décadas de una infección es posible la transformación maligna.^{42,44}

En cavidad oral el VPH es causa de la Hiperplasia epitelial focal (Enfermedad de Heck), papilomatosis oral florida, condilomas orales, leucoplasia oral y eritroplasia. A nivel de vías aéreas superiores la manifestación se denomina papilomatosis laríngea. A nivel genital se desarrollan lesiones exofíticas llamadas verrugas cuando comprometen la piel, y condilomas cuando se localizan en mucosas, ambas causadas en el 90% de los casos por los serotipos 6 y 11 (también llamados de bajo riesgo). La displasia cervicouterina y los carcinomas genitales se asocian en 70% de los casos a los serotipos 16 y 18 (también llamados de alto riesgo). La infección por estos serotipos aumenta en 200 veces el riesgo de padecer carcinoma cervicouterino.⁴⁵

La epidermodisplasia verruciforme es una genodermatosis infrecuente con herencia autosómica dominante, autosómica recesiva o recesiva ligada al X, en la que se ha demostrado una susceptibilidad genética al VPH y un riesgo de 50% de desarrollar carcinomas epidermoides.⁴⁶⁻⁴⁷

En cuanto a la patogénesis de malignidad a partir del VPH, las investigaciones se han centrado en las mucosas de genitales, uñas y en piel de pacientes inmunosuprimidos siendo su rol en los carcinomas de piel en pacientes inmunocompetentes motivo de estudio.^{43,48}

2.3.1. VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO Y CÁNCER

Se estima que el 4.8% de todos los cánceres a nivel mundial son secundarios a la infección por virus del papiloma humano, esta cifra varía de 1.2% en Australia a 15% en India; estos datos se obtienen tomando en cuenta los seis tipos de cáncer en los que se considera al VPH un carcinógeno definitivo: cáncer cervical, penéneo, vulvar, vaginal, anal y orofaríngeo.⁴⁹ En lo que respecta al cáncer de piel, se han hecho diversos esfuerzos por determinar qué relación existe entre el VPH y el Cáncer de Piel No Melanoma (CPNM), encontrándose la mayor asociación en zona genital así como en pacientes inmunosuprimidos.⁵⁰

2.3.2. VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO Y ENFERMEDAD DE BOWEN

En cuanto a la enfermedad de Bowen extragenital en pacientes inmunocompetentes y el VPH, los hallazgos de prevalencia reportados en los estudios son muy disímiles yendo del 12% a 66%. Esto en parte puede estar explicado por la heterogeneidad de los estudios.⁵¹⁻⁵⁵ Shimizu y colaboradores encontraron 12% de las muestras positivas en las que incluyeron además de piel, lesiones genitales y únicamente buscaron serotipos mucosos y serotipo 56, no buscaron los cutáneos lo cual puede explicar una prevalencia baja reportada con respecto a otros estudios.⁵⁴ Mutsuishi y colaboradores reportan 66% de positividad en un estudio en el que todos los

pacientes incluidos presentaban lesiones acrales.⁵⁵ Los mismos autores en un estudio posterior reportan 65% de prevalencia del VPH, sin embargo incluyeron pacientes con inmunosupresión y lesiones genitales, a lo cual atribuimos el reporte por encima de la media.⁵⁶ Kvilividze y colaboradores obtuvieron una prevalencia del 60%, tomando lesiones de queratosis actínicas además de Bowen, de los cuales no se especificó su localización.⁵⁷

2.4. VACUNACIÓN CONTRA EL VPH

Estas vacunas consisten en partículas similares al virus a partir de proteínas recombinantes de la capsida L1, que inducen respuesta principalmente humoral pero también celular. Existen dos vacunas aprobadas en los Estados Unidos, mismas que están disponibles en México. La primera aprobada por la FDA en 2006 fue la Cuadrivalente (Gardasil) que contiene partículas de los serotipos 6, 11, 16 y 18, actualmente indicada para prevención de lesiones premalignas y malignas en cuello uterino, vulva y ano, así como de condilomas y verrugas genitales. En 2009 la FDA aprobó la vacuna bivalente (Cervarix) que protege de los serotipos oncogénicos 16 y 18. Se encuentran en desarrollo las vacunas de segunda generación que tendrán cobertura de un mayor número de serotipos.⁵⁸

2.5. ANÁLISIS Y DETECCIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS

Las técnicas de biología molecular permiten amplificar fragmentos de ácidos nucleicos. En la actualidad los dos ensayos moleculares más utilizados para el diagnóstico y tipificación del VPH son: el test de captura de híbridos y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Esta última es un método directo que detecta la

presencia de ácidos nucleicos virales, es altamente sensible y específica. Se ha desarrollado utilizando varios oligos iniciadores y debe acompañarse de otra técnica de análisis que permita la tipificación del virus como la hibridización con sondas específicas, el análisis de secuencia o análisis de restricción.⁵⁹

PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El virus del papiloma humano es uno de los 5 virus con potencial oncogénico reconocido en humanos. Su participación se ha descrito principalmente a nivel de mucosas.

Existe evidencia en algunos estudios clínicos de presencia del virus del papiloma en lesiones premalignas y malignas a nivel cutáneo.

El carcinoma epidermoide corresponde al 14% de los cánceres de piel, ubicándose en un 97% de los casos a nivel extragenital en la consulta del Centro Dermatológico Dr. Ladislado de la Pascua.

4. JUSTIFICACIÓN

El carcinoma epidermoide es el segundo cáncer en frecuencia en la piel con un importante potencial de morbimortalidad, sin embargo existen vacíos en el conocimiento de su patogenia.

Se estima que el 17% de los sujetos con enfermedad de Bowen extragenital poseen aislamiento de VPH, sin embargo no existen estudios donde se evidencie la frecuencia y genotipos del VPH en pacientes mexicanos con enfermedad de Bowen extragenital.

El conocimiento de la prevalencia de los diferentes genotipos del virus del papiloma humano sería útil dentro de las consideraciones de la patogenia, así como de tratamiento y prevención de la enfermedad de Bowen.

5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

En pacientes del Centro Dermatológico Dr. Ladislao de la Pascua, con diagnóstico de enfermedad de Bowen extragenital

- ¿Cuál es la frecuencia de aislamiento del virus del papiloma humano en biopsias de piel?
- ¿Cuáles son los serotipos más frecuentes?

6. OBJETIVOS

6.1. OBJETIVOS GENERALES

En pacientes del Centro Dermatológico Dr. Ladislao de la Pascua, con diagnóstico de enfermedad de Bowen extragenital.

- Determinar la frecuencia del aislamiento del virus del papiloma humano en biopsias de piel.
- Describir los serotipos más frecuentes de virus del papiloma humano.

6.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

Describir las características sociodemográficas y clínicas de los pacientes con enfermedad de Bowen extragenital.

7. HIPÓTESIS

El virus del papiloma humano se encuentra en cerca del 17% de lesiones de enfermedad de Bowen extragenital.

8. MATERIAL Y MÉTODOS

8.1. TIEMPO Y LUGAR

El estudio se realizó a partir de octubre de 2012 y hasta junio de 2014 en el Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua” ubicado en la avenida Dr. Vértiz 464, colonia Buenos Aires en la Ciudad de México, perteneciente a los Servicios de Salud del Departamento del Distrito Federal.

8.2. DISEÑO DE ESTUDIO

Por la maniobra del investigador: Observacional.

Por el número de mediciones: Transversal.

Por la recolección de datos: Prolectivo.

Por el tipo de análisis: Descriptivo.

8.3. POBLACIÓN

Pacientes con enfermedad de Bowen extragenital confirmada por estudio histológico.

8.3.1. CRITERIOS DE SELECCIÓN

8.3.1.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Sujetos con edad de 18 años y más.
- Con diagnóstico confirmado de enfermedad de Bowen mediante histopatología.
- Inmunocompetentes.

- Que acepten participar en el estudio.
- Que brinden su consentimiento informado por escrito.

8.3.1.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Que hayan recibido tratamiento tópico.
- Que tengan alguna vacuna contra el virus del papiloma humano.

8.3.1.3. CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

- Muestra donde no amplifica el gen constitutivo por PCR.

8.4. TIPO DE MUESTREO

El muestreo será no probabilístico de casos consecutivos donde se incluirán a todos los pacientes que acudan al Centro y presenten Enfermedad de Bowen extragenital en un lapso de 15 meses.

8.5. DEFINICIÓN DE VARIABLES

Variables demográficas

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDICIÓN
Edad	Tiempo transcurrido desde su nacimiento hasta la inclusión en el estudio	Se pregunta la edad al paciente	Cuantitativa continua	Razón	Años
Género	Característica sexual	Se basa en el examen físico del paciente	Cualitativa	Nominal	Dicotómica: Femenino Masculino
Estado civil	Condición del individuo en la sociedad derivada de sus relaciones familiares	Se pregunta al paciente su situación legal de pareja	Cualitativa	Nominal	Dicotómica: Casado Soltero
Escolaridad	Máximo nivel de estudios	Se pregunta al paciente su máximo nivel de estudios	Cualitativa	Nominal	Tricotómica: Primaria Secundaria Superior
Ocupación	Principal actividad durante el día	Se pregunta al paciente a que se ha dedicado la mayor parte de su vida	Cualitativa	Nominal	Descriptiva
Lugar de origen	Lugar geográfico donde nació	Se pregunta al paciente en que lugar geográfico nació	Cualitativa	Nominal	Descriptiva
Lugar de residencia	Lugar geográfico donde reside	Se pregunta al paciente en que lugar geográfico reside	Cualitativa	Nominal	Descriptiva

Variables clínicas

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPOS DE VARIABLES	ESCALA DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDICIÓN
Fototipo	Tipo de piel según la clasificación de Fitzpatrick	Se pregunta al paciente reacción de eritema y bronceado ante la exposición solar	Cualitativa	Nominal	I-VI
Comorbilidades	Patologías diagnosticadas por un médico	Se pregunta al paciente sus antecedentes médicos	Cualitativa	Nominal	Descriptiva
Verrugas virales	Patologías diagnosticadas por un médico	Se pregunta al paciente sus antecedentes médicos	Cualitativa	Nominal	Dicotómica: Presentes Ausentes
Otras lesiones malignas o premalignas en piel	Lesiones malignas y premalignas en piel actuales o previas	Se busca intencionadamente en el examen físico y en el expediente la presencia actual o el antecedente de lesiones malignas y premalignas en piel	Cualitativa	Nominal	Descriptiva
Tiempo de evolución	Tiempo transcurrido desde el inicio de la lesión hasta su ingreso al estudio	Se pregunta al paciente cuando apareció la lesión	Cuantitativa continua	Razón	En meses
Topografía	Localización de la lesión	Se realiza exploración clínica de la lesión a estudio	Cualitativa	Nominal	Cabeza, tronco ó extremidades
Tamaño de lesión	Tamaño de la lesión	Se mide la lesión con un tumorímetro	Cuantitativa continua	Razón	En milímetros
Morfología	Descripción clínica de la lesión	Se describe la lesión a estudio	Cualitativa	Nominal	Descripción
Dermatoscopia	Descripción dermatoscópica de la lesión	Se describen los hallazgos dermatoscópicos	Cualitativa	Nominal	Descripción

Variables principales

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPOS DE VARIABLES	ESCALA DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDICIÓN
Presencia de VPH en biopsia de piel	Reporte presencia o ausencia de VPH en la muestra de tejido	Se registra el reporte de PCR para VPH realizado en el Instituto Politécnico Nacional	Cualitativa	Nominal	Dicotómica: Positiva Negativa
Serotipo de VPH	Reporte de la secuenciación del producto de PCR	Se registra el reporte de secuenciación del purificado y su traducción	Cuantitativa no continua	nominal	Serotipo

8.6. DESCRIPCIÓN DEL PROTOCOLO

En la clínica de Dermato-Oncología del Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua”, se captaron todos los pacientes con diagnóstico de Enfermedad de Bowen extragenital con confirmación histopatológica y se solicitó su autorización verbal y por escrito para participar en el estudio.

A los sujetos se les realizó un cuestionario y se envió una muestra del tejido de biopsia tomado previamente y que hace parte del estudio que se realiza en todos los pacientes de la clínica con cáncer de piel.

La muestra de tejido fue trasladada en un buffer al laboratorio de citopatología ambiental de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, donde se realizó la extracción del ADN para PCR mediante una lisis con proteinasa K durante 2h a 55°C, y luego se emplea la técnica de fenol – cloroformo – isoamílico. Posteriormente la determinación del virus del papiloma se realiza por PCR utilizando los oligonucleotidos universales MY09: de secuencia 5' CGTCCMA RRGGAWACTGATC 3' y MY11: de secuencia 5' GCMCAGGGWCATAAYAATGG 3'; donde: M = A o C; R = A o G; W = A o T; Y = C o T, que amplifican una región del gen L1 del VPH. El procedimiento general de la PCR consiste en la extracción del DNA como se describió antes. La mezcla de reacción es de 25 mL de reacción que contenga 2,5 mM de MgCl₂, 10 mM de Tris HCl, 50 mM de KCl, 2 mM de dNTP, 1 mM de d-UTP-digoxigenina (DIG), 25 pmol de cada cebador y 1 U de enzima TaqDNA Polimerasa. La amplificación se lleva a cabo durante 40 ciclos de 95°C/30s, 55°C/30s y 72°C/30s. El producto amplificado se separa en un gel de agarosa al 1% y se tiñe con bromuro de etidio para la foto documentación del resultado. Se utilizan los oligos PC04/GH20 para la amplificación del gen humano de la beta globina como control interno de integridad de DNA y ausencia de inhibidores de la PCR. La

amplificación se lleva a cabo durante 40 ciclos de 95°C/30s, 62.3°C/30s y 72°C/30s. Como control de integridad del ADN se usó b-globina, previo a su amplificación. En la electroforesis de ácidos nucleicos se utilizó control negativo y control positivo, este último con células HeLa.

A los productos que resultan positivos se les realiza secuenciación en el Laboratorio de Genética en el Instituto de Oftalmología “Fundación de Asistencia Privada Conde de Valenciana IAP”. El gel de agarosa con ADN se le realiza el proceso de purificación usando el Kit de Quiagen. El purificado se introduce al secuenciador donde los nucleótidos tienen fluorocromos y cada base un color. La secuencia obtenida se interpreta en una base de datos para determinar a que serotipo corresponde.

8.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis descriptivo de los datos utilizando frecuencias simples y porcentajes para variables categóricas.

Las variables numéricas fueron expresadas como promedio con mínimo o máximo, o bien mediante mediana y rango intercuartilar.

Se construyeron gráficos de la distribución de las variables.

8.8. ASPECTOS ÉTICOS

El presente protocolo siguió la normatividad nacional vigente en materia de investigación en salud.

Fue aprobado por el Comité en el Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua” con el número 78/4/15.

De acuerdo al artículo 17 de la Ley General de Salud de México, se clasifica como investigación sin riesgo.

Todos los participantes brindaron su consentimiento verbal y por escrito.

No se realizó ninguna intervención adicional a la atención clínica habitual de los sujetos dado que la muestra para la determinación de PCR y secuenciación fue tomada de la biopsia incisional que es requerida por protocolo en todos los pacientes para su diagnóstico y plan terapéutico.

8.9. RECURSOS

- Investigador responsable: Dra. Nilda Eliana María Gómez Bernal

▪ Actividad: Revisión bibliográfica, elaboración del protocolo, aplicación de cuestionarios, obtención y transporte de las muestras.

- Investigadores adjuntos: Dra. Eva Ramón Gallegos

▪ Actividad: Revisión de protocolo y técnica de procesamiento de muestras.

- Tutor: Dr. Daniel Alcalá Pérez

▪ Actividad: Revisión y autorización del protocolo de investigación, supervisión de la intervención.

- Asesor metodológico: Dra. María Luisa Peralta Pedrero, Dra. Martha Alejandra Morales Sánchez

▪ Actividad: Valoración de la validez del protocolo, asesoría en la obtención y captura de los datos, orientación en la obtención de resultados e interpretación de los mismos.

9. RESULTADOS

En un periodo de 14 meses, que comprende de abril de 2013 a mayo de 2014, en el Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua” se realizaron 39 intervenciones quirúrgicas (incluye biopsias incisionales y excisionales) con resultado histopatológico de enfermedad de Bowen. 16 de estas se incluyeron en el estudio, 13 muestras no se incluyeron debido a que pertenecían al grupo de pacientes ya incluido, 2 debido a que eran producto de una reintervención donde predominaba el tejido fibroso, un paciente fue excluido debido a que había recibido imiquimod tópico, un paciente debido a que su lesión se trataba de un carcinoma epidermoide desarrollado a partir de enfermedad de Bowen y una muestra por tratarse de un tumor de colisión de carcinoma basocelular superficial junto a enfermedad de Bowen. En dos casos el diagnóstico de sospecha clínica fue carcinoma epidermoide invasor.

De las 16 muestras del grupo de estudio, se eliminaron 2 debido a que su muestra no fue apropiada para el análisis virológico, con lo cual el número de análisis se redujo a 14 pacientes (87.5%).

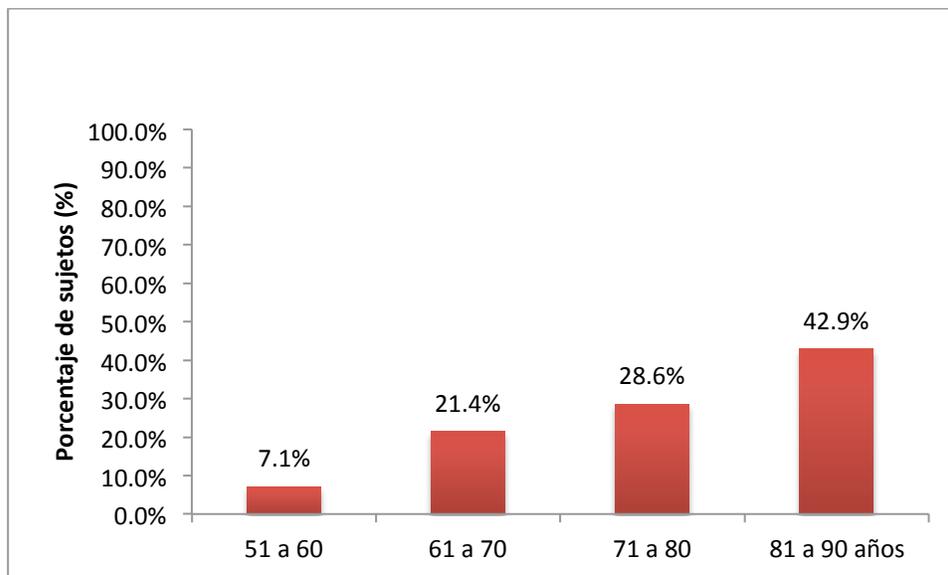
9.1. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS

Género

El porcentaje de pacientes de género femenino fue igual que el de género masculino (50%).

Edad

El promedio de edad fue de 76 ± 11.6 años (mínimo 53 años, máximo 89 años). El 71.5% de los sujetos presentaron una edad de más de 70 años. Ver Gráfica 2



Gráfica 2. Distribución de la edad en los pacientes.

Estado civil

9 pacientes (64.3%) eran casados y 5 (35.7%) eran solteros.

Escolaridad

9 pacientes (64.3%) tenían escolaridad primaria, 2 (14.3%) secundaria y 3 (21.4%) tenían nivel superior.

Ocupación

La ocupación de los pacientes se clasificó de acuerdo a si su actividad se realizaba en su mayoría en el medio ambiente exterior o en interiores. En el 21.4% la ocupación era en exteriores y en el 78.6% en interiores.

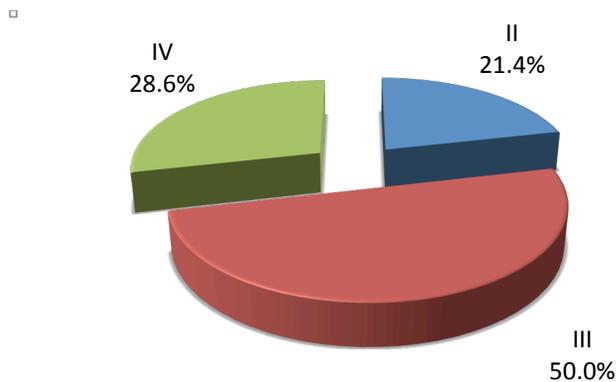
Lugar de Origen y Residencia

Todos los pacientes fueron mexicanos de nacimiento. 57.1% originarios de provincia y 42.9% del Distrito Federal. En cuanto a la ciudad de residencia, el 92.9% pertenecían al Distrito Federal y el 7.1% procedían de otras ciudades.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

Fototipo

Los pacientes de la muestra fueron de fototipos II a IV de Fitzpatrick, con predominio del fototipo III. Ver Gráfica 3.



Gráfica 3. Distribución de fototipos en los sujetos.

Comorbilidades

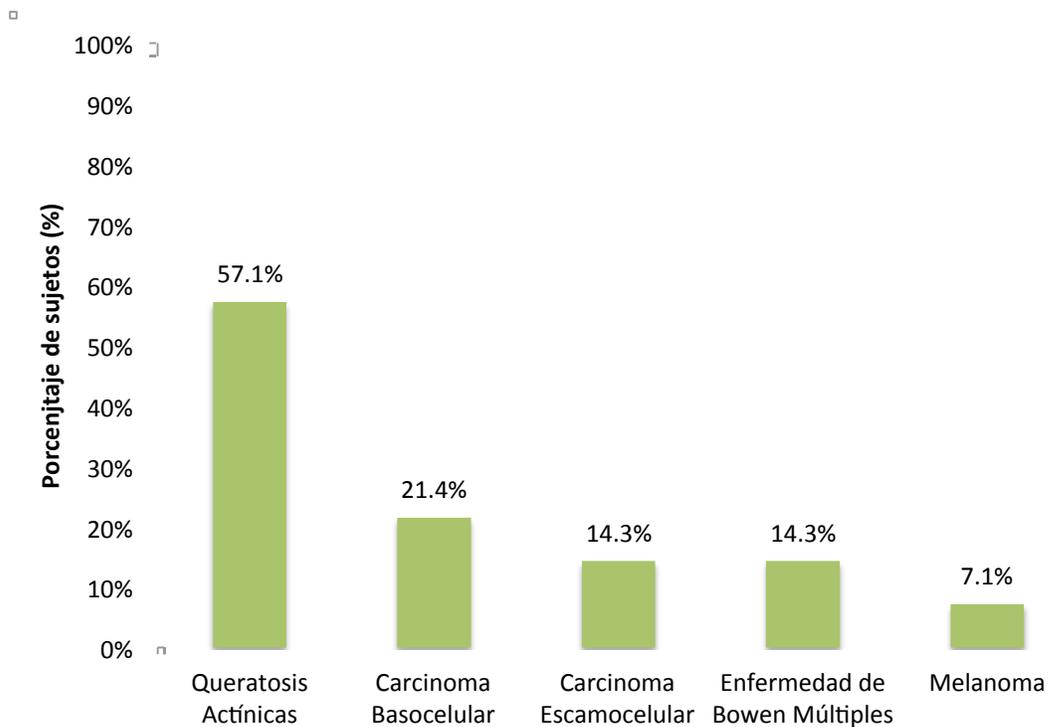
El 78.6% de los pacientes presentaban al menos una comorbilidad. Dentro de estas se destacan la hipertensión arterial sistémica en el 21.4%, la diabetes mellitus 2 que se presentó en 14.3%, y el antecedente de neoplasias internas: carcinoma cervicouterino en 1 paciente y carcinoma pulmonar en 1 paciente. Ningún paciente había recibido radioterapia.

Presencia de verrugas virales

En ningún paciente se documentó la presencia de verrugas virales luego del interrogatorio dirigido y la búsqueda en la exploración física intencionada.

Otras lesiones malignas o premalignas

10 pacientes (71.4%) presentaron al menos otra lesión cancerosa o precancerosa en piel. Predominó la queratosis actínica, seguida de carcinoma basocelular y enfermedad de Bowen múltiple. Ver Gráfica 4.



Gráfica 4. Distribución de lesiones malignas y premalignas en los pacientes.

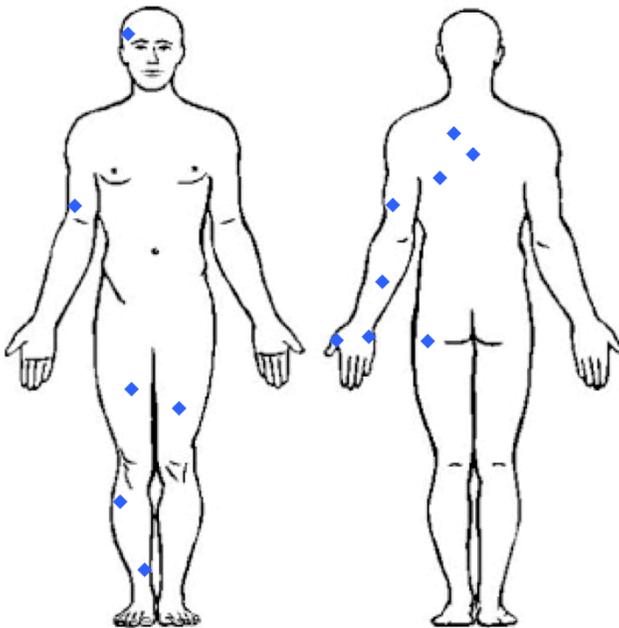
Tiempo de evolución

El tiempo de evolución tuvo un promedio de 3 años (percentiles 25 y 75: 1.6, 4.5 años; mínimo 0.5 años, máximo 8 años).

Topografía

La localización más frecuente fue en las extremidades inferiores con un 35.7% de los casos, y en las extremidades superiores con mismo porcentaje. En el dorso del tronco se encontraban el 21.4%, y en la cara un solo caso correspondiente al 7.1%.

Ver Gráfica 5.



Gráfica 5. Distribución topográfica de la enfermedad de Bowen en los 14 sujetos, representada con puntos azules.

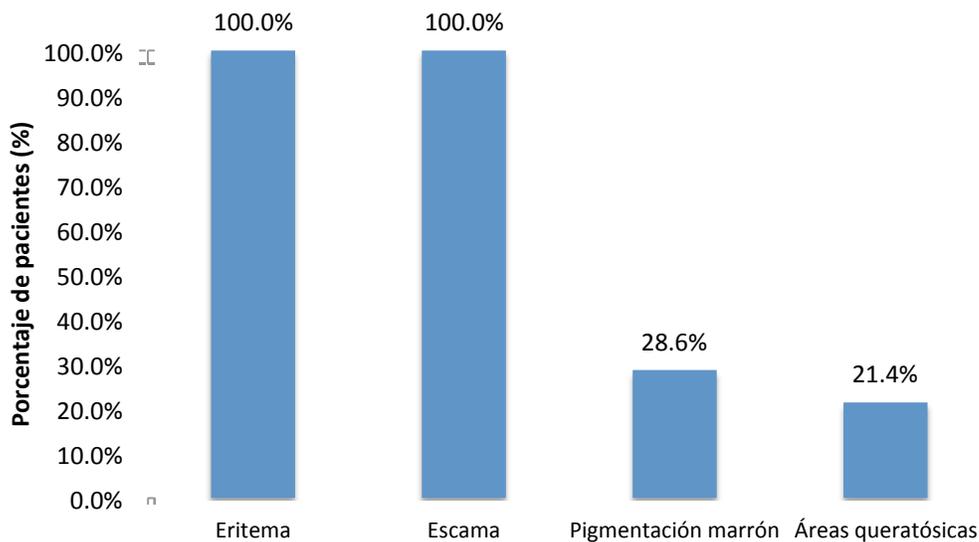
Tamaño de la lesión

El diámetro mayor iba de 9 a 40 mm de longitud, con un rango intercuartilar de 17.5 a 32.5 mm. Con base en la longitud del diámetro mayor y perpendicular a este, nuevamente el diámetro mayor, se calculó el área de superficie de la lesión cuyo rango fue de 63 a 900 mm², con un rango intercuartilar de 175 a 650 mm².

Morfología

Las lesiones elementales que componían las neoformaciones fueron eritema y escama en diferentes grados en todos los pacientes (100%), pigmentación marrón claro clínicamente evidente en 4 pacientes (28.6%), áreas queratósicas en 3 pacientes (21.4%). Ver Gráfica 6.

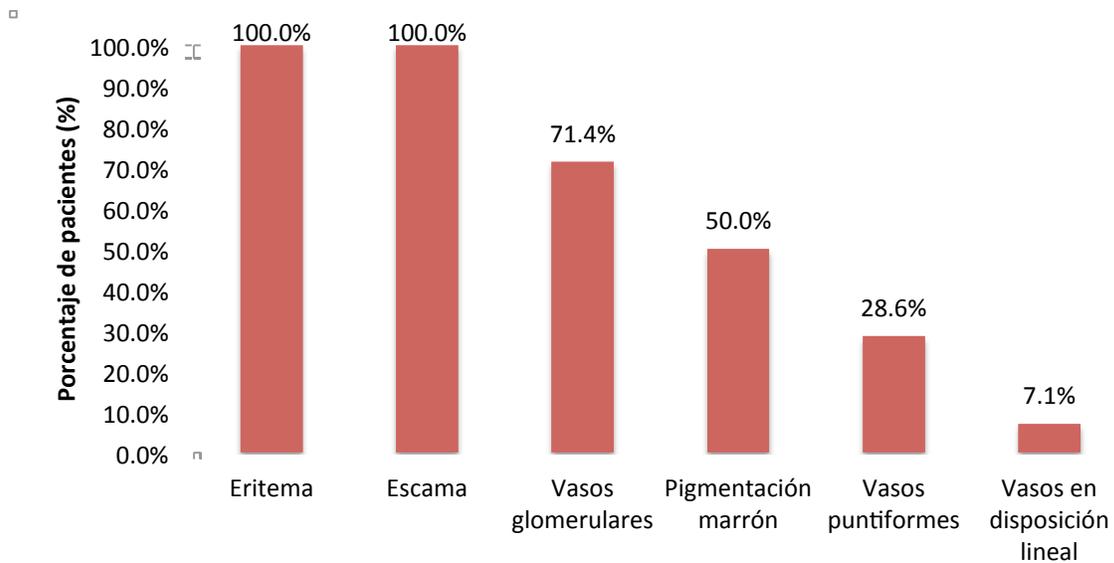
□



Gráfica 6. Características morfológicas de las lesiones.

Dermatoscopia

Los hallazgos dermatoscópicos más relevantes fueron: Eritema (100%), escama (100%), vasos glomerulares en 10 (71.4%), vasos puntiformes en 4 (28.6%), vasos en disposición lineal en 1 (7.1%), pigmento marrón en 7 (50.0%), pigmento gris en 1 (7.1%). Ver Gráfica 7.

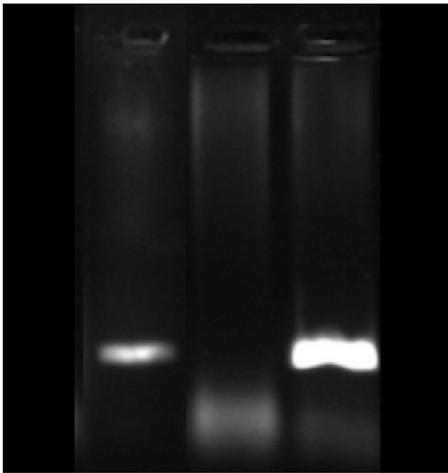


Gráfica 7. Características dermatoscópicas de las lesiones

CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES

Virus del Papiloma Humano

La muestra número 8 resultó positiva con la técnica de PCR para VPH. Ver foto 1.

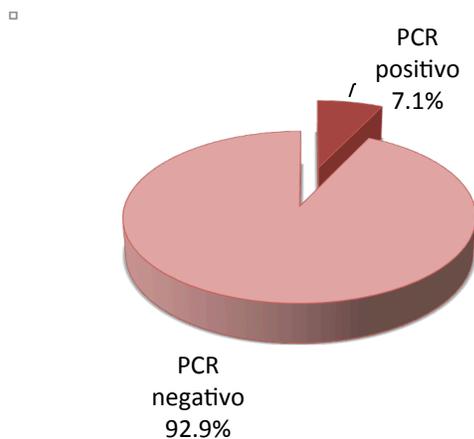


Muestra positiva Control negativo Control positivo

Foto 1: Gel de electroforesis. El rango de pares de bases es de 100 a 1000, la banda de la muestra se marca cerca de los 450 pb

Un paciente, que corresponde al 7.1% de los casos, presentó positividad para VPH.

Ver Gráfica 8.



Gráfica 8. Resultado de PCR para VPH

Serotipos

No se obtuvo resultado de secuenciación del purificado de ADN de la muestra positiva por un problema técnico debido a un cuantificado bajo de ADN, por lo anterior no fue posible la identificación del serotipo en la muestra positiva.

DISCUSIÓN

En el presente estudio se captaron los pacientes con enfermedad de Bowen extragenital en el Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua”, donde corresponde al 23% de los casos de carcinoma epidermoide. Tomando los 14 casos que entraron al análisis, encontramos la misma proporción de hombres y mujeres, con predominio en la octava y novena década de la vida, mientras algunas series en caucásicos encuentran mayor prevalencia en la séptima década. La presentación clínica es similar a la reportada como una neoplasia plana eritematosa de crecimiento lento con localización principalmente en extremidades. Encontramos una elevada proporción de pacientes con pigmento marrón muy superior a lo reportado previamente en un estudio en población australiana. La mayoría de los pacientes presentaron al menos otro carcinoma o precarcinoma en piel, lo cual concuerda con la literatura y se considera es debido a los factores de riesgo compartidos; principalmente la exposición a la radiación ultravioleta. Clínicamente simula varios diagnósticos diferenciales dentro de los que se destacan: queratosis actínica y carcinoma basocelular superficial. La dermatoscopia es una técnica complementaria para el diagnóstico.

Este es el primer estudio que busca la prevalencia del Virus del Papiloma Humano en Enfermedad de Bowen extragenital en pacientes mexicanos. En el mismo se evitaron factores de confusión como son la presentación genital, periunueal y el antecedente de inmunosupresión.

Nuestra muestra fue relativamente pequeña, aunque representativa de nuestra población. Encontramos una prevalencia del 7.1% de virus del papiloma humano en

el tejido de Enfermedad de Bowen extragenital. Las limitaciones técnicas impidieron la identificación del serotipo asociado. Estudios previos realizados en otros países reportan tasas más altas que van del 12 al 66%, con una alta frecuencia de serotipos mucosos que en ocasiones se consideran secundarios a infección genital.

CONCLUSIÓN

En este estudio se encontró una prevalencia del virus del papiloma humano detectada por PCR, del 7.1% en Enfermedad de Bowen extragenital en pacientes del Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua”, lo cual corresponde a una cifra inferior al promedio de lo reportado en otros estudios.

BIBLIOGRAFIA

1. Rizoo P, Sierra MI, Vázquez G, Cano M, Meneses A, Mohar A Registro Hospitalario de Cáncer: Compendio de Cáncer 2000 – 2004. *Cancerología*. 2007;2:203-287
2. Jurado-Santa Cruz F, Medina-Bojórquez A, Gutiérrez-Vidrio RM, Ruiz-Rosillo JM. Prevalencia del cáncer de piel en tres ciudades de México. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2011;49:253-258
3. Karia PS, Han J, Schmults CD. Cutaneous squamous cell carcinoma: Estimate incidence of disease, nodal metástasis, and deaths from disease in the Unites States, 2012. *J Am Acad Dermatol*. 2013;68:957-966
4. Gutiérrez RM. Cáncer de piel. *Rev Fac Med UNAM*. 2003;46:166-171
5. Weyers W. The centennial of Bowen's disease—a critical review on the occasion of the 100th anniversary of its original description. *Dermatol Pract Conc*. 2012;4:3-7
6. Arlette JP, Trotter MJ. Squamous cell carcinoma *in situ* of the skin: History, presentation, biology and treatment. *Aus J Dermatol*. 2004;45:1-11
7. Hansen JP, Drake AL, Walling HW. Bowen's Disease: a four-year retrospective review of epidemiology and treatment at a university center. *Dermatol Surg*. 2008;7:878-83
8. Mun JH, Kim SH, Jung DS, Ko HC, Kwon KS, Kim MB. Dermoscopic features of Bowen's disease in Asians. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2010;7:805-10
9. Baudet JS, Castro V, Díaz-Bethencourt D, Morales S y Avilés J. Papulomatosis bowenoide. Una neoplasia intraepitelial anal. *Rev Esp Enferm Dig* 2009;101:439-451
10. Villalba A, García S, Álvarez L, Trujillo JL, De la Torre FJ. Enfermedad de Bowen vulvar. Relación con el virus del papiloma humano. *Prog Obstet Ginecol*. 2010;53:240-243
11. Vences-Carranza M, González-González M, Rodríguez-Cruz AT. Neoplasia intraepitelial vulvar usual (papulosis bowenoide). *Dermatol Rev Mex* 2014;58:84-90
12. Cox NH, Eedy DJ, Morton CA. Guidelines for management of Bowen's disease: 2006 update. *Br J Dermatol*. 2007;156:11-21.
13. Reizner GT, Chuang TY, Elpern DJ, et al. Bowen's disease (squamous cell carcinoma *in situ*) in Kauai, Hawaii: a population-based incidence report. *J Am Acad Dermatol*. 1994;31:596–600
14. Corbalán-Vélez R, Ruiz-Macia JA, Brufau C, Oviedo-Ramírez I, Martínez-Barba E, López-Lozano JM, Carapeto FJ. Solar Elastosis in Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. *Actas Dermosifiliogr*. 2010;6:517-523
15. Singh S, Khaitan BK, Sharma MC, Seenu V, Kumawat M, Chatterjee P. Bowen's disease on finger: A diagnostic and therapeutic challenge. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2013;79:227-30
16. Hawrot A, Alam M, Ratner D. Squamous cell carcinoma. *Current Problems in Dermatology* 2003;15:91-133

- 17.30. Drake AL, Walling HW. Variations in presentation of squamous cell carcinoma in situ (Bowen's disease) in immunocompromised patients. *J Am Acad Dermatol* 2008;59:68-71
18. Kossard S, Rosen R. Cutaneous Bowen's disease. An analysis of 1001 cases according to age, sex, and site. *J Am Acad Dermatol*. 1992;27:406-10
19. Bernstein EF, Schwartz M, Viehmeyer R, et al. Measurement of protection afforded by ultraviolet-absorbing window film using an in vitro model of photodamage. *Lasers Surg Med* 2006;38:337-42
20. Rondina A, Watson A. Verrucous Bowen disease in an African American man. *J Am Acad Dermatol*. 2010;62:AB105
21. Bugatti L, Filosa G, De Angelis R. Dermoscopic observation of Bowen's disease. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2004; 18: 572-574
22. Zalaudek I, Argenziano G, Leinweber B et al. Dermoscopy of Bowen's disease. *Br J Dermatol* 2004; 150: 1112-1116
23. Cameron A, Rosendahl C, Tschandl P, Riedl E, Kittler H. Dermatoscopy of pigmented Bowen's disease. *J Am Acad Dermatol* 2010;62:597-604
24. Calonje E, Brenn T, Lazar A, McKee P. McKee's Pathology of the skin with clinical correlation. 4th edition Oxford: Elsevier Saunders; 2012;pp.1110-1116
25. Ozlen S, Mohamed S, Frederick M. Immunohistochemical staining of palisading basal cells in Bowen's disease and basal involvement in actinic keratosis: Contrasting staining patterns suggest different cells of origin. *AJ Dermatopathol* 2008;30:123-126
26. Joeger AB, Gramkow A, Hjalgrim H, Melbye M, Frisch M. Bowen Disease and Risk of Subsequent Malignant Neoplasms. *Arch Dermatol*. 1999;135:790-793
27. Morton CA, Birnie AJ, Eedy DJ. British Association of Dermatologists' guidelines for the management of squamous cell carcinoma in situ (Bowen's disease) 2014. *British Journal of Dermatology* 2014;170:245-260
28. Micali G, Lacarrubba F, Nasca MR, Schwartz RA. Topical pharmacotherapy for skin cancer Part I. Pharmacology. *J Am Acad Dermatol* 2014;70:965.e1-12
29. Micali G, Lacarrubba F, Nasca MR, Schwartz RA. Topical pharmacotherapy for skin cancer Part II. Clinical applications. *J Am Acad Dermatol* 2014;70:979.e1-12
30. Patel GK, Goodwin R, Chawla M et al. Imiquimod 5% cream monotherapy for cutaneous squamous cell carcinoma in situ (Bowen's disease): a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Am Acad Dermatol* 2006; 54:1025-32
31. Leibovitch I, Huilgol SC, Selva D, Richards S, Paver R. Cutaneous squamous carcinoma in situ (Bowen's disease): Treatment with Mohs micrographic surgery. *J Am Acad Dermatol* 2005;52:997-1002
32. Morton C, Horn M, Leman J et al. Comparison of topical methyl aminolevulinate photodynamic therapy with cryotherapy or fluoro-uracil for treatment of squamous cell

- carcinoma in situ: results of a multicenter randomized trial. *Arch Dermatol* 2006; 142:729–35
33. Serra-Guillén C, Nagore E, Guillén C. Terapia fotodinámica versus imiquimod. *Actas Dermosifiliogr*. 2012;103:488-501
 34. Dupree MT, Kiteley RA, Weismantle K, Panos R, Johnstone PA. Radiation therapy for Bowen's disease: Lessons for lesions of the lower extremity. *J Am Acad Dermatol* 2001;45:401-4
 35. Bath-Hextall FJ, Matin RN, Wilkinson D, Leonardi-Bee J. Interventions for cutaneous Bowen's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; 6:CD007281
 36. Van Doorslaer K. Evolution of the Papillomaviridae. *Virology* 2013;445:11–20
 37. Zuckerman AJ, Banatvala JE, Schoub BD, Griffiths PD, Mortimer P. Principles and practice of clinical virology. Edición 6, John Wiley & Sons Ltd. 2009; pp. 807-822
 38. Fields BN, Knipe DM, Howley PM. *Virology*. Edición 5. John Wiley & Sons Ltd. Estados Unidos, Filadelfia. 2007; pp. 2300-2337
 39. Lizano M, Berumen J, Garcia-Carranca A. HPV-related Carcinogenesis: Basic Concepts, Viral Types and Variants. *Arch Med Res*. 2009; 40: 428-434
 40. Mammas IN, Spandidos DA, Sourvinos G. Genomic diversity of human papillomaviruses (HPV) and clinical implications: An overview in adulthood and childhood. *Infection, Genetics and Evolution* 2014;21:220–226
 41. Collier L, Oxford JS. *Virología humana*. Edición 3, Mac Graw Hill. España. 2008; pp. 119-126
 42. Vande Pol SB, Klingelutz AJ. Papillomavirus E6 oncoproteins *Virology* 2013;445:115–137
 43. Zur Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers — a brief historical account. *Virology*. 2009; 384: 260–265
 44. Ljubojevic S, Skerlev M. HPV-associated diseases. *Clinics in Dermatology* 2014; 32:227–234
 45. Grce M, Mravak-Stipetić M. Human papillomavirus-associated diseases. *Clinics in Dermatol*. 2014;32:253–258
 46. Sánchez-García VP, Sanzb A, Eloyb C, Vera A, Martina T y Sánchez-Fajardo F. Epidermodisplasia verruciforme. *Actas Dermosifiliogr* 2005;96:531-3
 47. Harwood CA, Suretheran T, Sasieni P, Proby CM, Bordea C, Leigh IM, et al. Increased risk of skin cancer associated with the presence of epidermodysplasia verruciformis human papillomavirus types in normal skin. *Br J Dermatol*. 2004;150:949-57
 48. Ohishi K, Nakamura Y, Ohishi Y, Yokomizo E, Ohara K, Takasaki M y cols. Bowen's disease of the nail apparatus and association with various high-risk human papillomavirus types. *Journal of Dermatological Science* 2011;63:62–72

49. Forman D, de Martel C, Lacey CJ, et al. Global burden of human papillomavirus and related diseases. *Vaccine*. 2012;30:12-23
50. Bernat-García J, Morales Suárez-Varela M, Vilata-Corell JJ, Marquina-Vila A. Detección del virus del papiloma humano en muestras de cáncer cutáneo no melanoma y piel sana perilesional en pacientes trasplantados renales y pacientes inmunocompetentes. *Actas Dermosifiliogr*. 2014;105:286-294.
51. Derancourt C, Mougín C, Chopard Lallier M, Coumes-Marquet S, Drobacheff C, Laurent R. Oncogenic human papillomaviruses in extra-genital Bowen disease revealed by in situ hybridization. *Ann Dermatol Venereol*. 2001;128:715-8
52. Zheng S, Adachi A, Shimizu M, Shibata SI, Yasue S, Sakakibara A. Human papillomaviruses of the mucosal type are present in some cases of extragenital Bowen's disease. *Br J Dermatol*. 2005;6:1243-7
53. Lampert A, Pauwels C, Duboucher C, Morel G, Poveda JD, Périé G. Detection of human papillomavirus in cutaneous extragenital Bowen's disease in immunocompetent patients. *Dermatol Venereol*. 2000;1:40-5
54. Shimizu A, Tamura A, Abe M, Amano H, Motegi S, Nakatani Y, et al. Human papillomavirus type 56-associated Bowen's disease. *Br J Dermatol*. 2012;167:1161-1164
55. Mitsuishi T, Sata T, Matsukura T, Iwasaki T, Kawashima M. The presence of mucosal human papillomavirus in Bowen's disease of the hands. *Cancer*. 1997; 10: 1911-7
56. Mitsuishi T, Kawana S, Kato T, Kawashima M. Human Papillomavirus Infection in Actinic Keratosis and Bowen's Disease: Comparative Study With Expression of Cell-Cycle Regulatory Proteins p21Waf1/Cip1, p53, PCNA, Ki-67, and Bcl-2 in Positive and Negative Lesions. *Hum Pathol*. 2003;9:886-92
57. Kvlividze O, Gogiashvili L, Burkadze G. The characteristics of human papillomavirus expression and cell proliferation in actinic keratosis and Bowen's disease of the skin. *Georgian Med News*. 2006; 136:108-12
58. Erickson BK, Landers EE, Huh WK. Update on Vaccination Clinical Trials for HPV-Related Disease. *Clin Ther* 2014;36: 8-16
59. Quintero M, Cruz JF, Bastidas M, Márquez L, Puig J. Detección y tipificación de virus del papiloma humano (VPH) mediante PCR- RFLP. *Rev Obstet Ginecol Venez* 2008;68:25-31

ANEXOS

CUADRO DE DATOS BIBLIOGRÁFICOS

AUTORES	REFERENCIA	LOCALIDAD	CARACTERÍSTICAS	CASOS	MÉTODO	PORCENTAJE ASOCIADO A VPH
1 Shimizu A, Tamura A, Abe M, Amano H, Motegi S, Nakatani Y, Et al	Br J Dermatol. 2012; 167: 1161-1164	Maebashi, Japón	Bowen ungueal, genital y extragenital	68	PCR	12%
2 Mitsuishi T, Kawana S, Kato T, Kawashima M.	Hum Pathol. 2003; 9: 886-92	Tokyo, Japón	Bowen genital y extragenital, postransplante renal y no postransplante	62	PCR RFLP	65%
3 Derancourt C, Mougin C, Chopard Lallier M, Coumes-Marquet S, Drobacheff C, Laurent R.	Ann Dermatol Venereol. 2001; 128: 715-8	Cedex, Francia	Bowen extragenital	28	Hibridización in situ	28%
4 Zheng S, Adachi A, Shimizu M, Shibata SI, Yasue S, Sakakibara A	Br J Dermatol. 2005 Jun; 6: 1243-7	Nagoya, Japón	Bowen extragenital	41	PCR	12%
5 Lampert A, Pauwels C, Duboucher C, Morel G, Poveda JD, Périé G	Ann Dermatol Venereol. 2000; 1:40-5	Francia	Bowen extragenital	12	PCR	25%
6 Mitsuishi T, Sata T, Matsukura T, Iwasaki T, Kawashima M.	Cancer. 1997; 10:1911-7	Tokyo, Japón	Bowen en manos	12	PCR RFLP Hibridización	66%
7 Kvividze O, Gogiashvili L, Burkadze G	Georgian Med News. 2006; 136: 108-12	Georgia, Tbilisi	Bowen no especificado	10	inmunohisto química	60%



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA	
Lugar y Fecha	MEXICO DF
Por medio de la presente acepto participar en el protocolo de investigación titulado: DETERMINACION Y TIPIFICACION DEL VIRUS DE PAPILOMA HUMANO POR PCR EN TEJIDO EN CARCINOMA ESPINOCELULAR EXTRAGENITAL EN PACIENTES DEL CENTRO DERMATOLOGICO DR. LADISLAO DE LA PASCUA	
Registrado ante el Comité Local de Investigación	
El objetivo del estudio es: DETERMINAR LA PREVALENCIA DE VIRUS DE PAPILOMA HUMANO Y SU TIPIFICACION EN CARCINOMA ESPINOCELULAR EXTRAGENITAL	
Se me ha explicado que mi participación consistirá en: ASISTIR A UNA CONSULTA, REVISIÓN DE MI EXPEDIENTE, REVISIÓN DE MI DE PIEL Y USO DE UNA SECCION DE MI BIOPSIA DE PIEL PARA ESTUDIO POR BIOLOGIA MOLECULAR	
Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, molestias y beneficios derivados de mi participación en el estudio, que son los siguientes: NO ME SOMETO A NINGUN RIESGO QUE NO SEA INHERENTE A MI PADECIMIENTO BENEFICIOS: INFORMACION DE MI PADECIMIENTO Y ORIENTACION DE TRATAMIENTO Y PRONOSTICO	
El Investigador Responsable se ha comprometido a darme información oportuna sobre cualquier procedimiento alternativo adecuado que pudiera ser ventajoso para mi tratamiento, así como a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o con mi tratamiento. Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo en el Centro. El Investigador Responsable me ha dado seguridades de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial. También se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio, aunque esta pudiera cambiar de parecer respecto a mi permanencia en el mismo.	
_____ Nombre y firma del paciente	
_____ Nombre, firma y matrícula del Investigador Responsable.	
Números telefónicos a los cuales puede comunicarse en caso de emergencia, dudas o preguntas relacionadas con el estudio: 55196351. Investigador: (044) 5533073136	
Testigos _____ _____ Este documento no debe contener tachaduras o enmendaduras.	



CENTRO DERMATOLOGICO DR. LADISLAO DE LA PASCUA DE LA SECRETARIA DE SALUD
DEL DISTRITO FEDERAL
ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DEL INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL



CUESTIONARIO PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

DETERMINACION Y TIPIFICACION DEL VIRUS DE PAPILOMA HUMANO POR PCR EN TEJIDO EN CARCINOMA
ESPINOCELULAR EXTRAGENITAL EN PACIENTES DEL CENTRO DERMATOLOGICO DR. LADISLAO DE LA PASCUA

FECHA _____

1. Nombre _____ Tel _____
2. Número de expediente _____
3. Edad _____ Género _____
4. Ocupación _____
5. Ciudad de origen/ residencia _____
6. Fototipo (I/VI) _____
7. Comorbilidades _____

8. Antecedente de verrugas virales (fecha de inicio y remisión, localización) _____

9. Tiempo de evolución de la dermatosis (fecha de inicio, meses de evolución) _____
10. Topografía de la dermatosis _____

11. Morfología de la dermatosis (con tamaño en mm) _____

12. Dermatoscopia _____

13. Numero y reporte de biopsia (_____/_____) _____

14. Reporte de PCR _____
15. Reporte de secuenciación _____



CRONOGRAMA DEL PROTOCOLO:

DETERMINACION Y TIPIFICACION DEL VIRUS DE PAPILOMA HUMANO POR PCR EN TEJIDO EN CARCINOMA ESPINOCELULAR EXTRAGENITAL EN PACIENTES DEL CENTRO DERMATOLOGICO DR. LADISLAO DE LA PASCUA

	Oct-12	Nov-12	Dic-12	Ene-13	Feb-13	Mar-13	Abril-13	May-13	Jun-13	Jul-13	Ago-13	Sept-13	Oct-13	Nov-13	Dic-13	Ene-14	Feb-14	Mar-14	Abril-14	May-14	Jun-14	
Búsqueda bibliográfica	■	■	■																		■	
Redacción del proyecto	■	■	■																			
Revisión por asesor metodológico, de investigación y dirección CDP		■	■																			
Reunión de investigadores y colaboradores			■	■	■																	
Captura de pacientes y Procesamiento de muestras							■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
Reunión de investigadores y revisión parcial de resultados										■										■	■	■
Análisis de datos																				■	■	■
Redacción de resultados, conclusiones y publicación																				■	■	■

■ Planeado
 ■ Ejecutado