



UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA,
PEDIATRÍA Y QUÍMICA ORGÁNICA



**ESTUDIO DE LA DIFERENCIACIÓN SEBÁCEA EN
LA ENFERMEDAD DE BOWEN Y EN EL
CARCINOMA EPIDERMOIDE INVASOR.**

Irene Ballester Nortes

Alicante, 2015



UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA, PEDIATRÍA Y QUÍMICA ORGÁNICA

TESIS DOCTORAL

ESTUDIO DE LA DIFERENCIACIÓN SEBÁCEA EN LA ENFERMEDAD DE BOWEN Y
EN EL CARCINOMA EPIDERMÓIDE INVASOR

MEMORIA DE DOCTORADO

Irene Ballester Nortes

DIRECTORES DE LA TESIS

José Bañuls Roca

Ernesto Cortés Castell

Raúl Corbalán Vélez

ALICANTE 2015

José Bañuls Roca, Profesor Asociado de Ciencias de la Salud del Área de Dermatología perteneciente al Departamento de Medicina Clínica de la Universidad Miguel Hernández CERTIFICA QUE:

D^a IRENE BALLESTER NORTES ha realizado el trabajo encaminado a la consecución del título de Doctora, titulado: "**ESTUDIO DE LA DIFERENCIACIÓN SEBÁCEA EN LA ENFERMEDAD DE BOWEN Y EN EL CARCINOMA EPIDERMÓIDE INVASOR**"

bajo mi codirección.

De lo cual doy fe, en San Joan D'Alacant, a 10 de septiembre de 2015



Fdo. Dr. José Bañuls Roca



UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ
Depto. de Farmacología, Pediatría y
Química Orgánica

Ernesto Cortés Castell, Profesor Secretario del Departamento de Farmacología, Pediatría y Química Orgánica de la Universidad Miguel Hernández

CERTIFICA QUE:

D^a IRENE BALLESTER NORTES ha realizado el trabajo encaminado a la consecución del título de Doctora, titulado:

"ESTUDIO DE LA DIFERENCIACIÓN SEBÁCEA EN LA ENFERMEDAD DE BOWEN Y EN EL CARCINOMA EPIDERMOIDE INVASOR"

bajo mi codirección.

De lo cual doy fe en San Juan, a 10 de septiembre de 2015

Fdo.: Dr. Ernesto Cortés Castell

D. Raúl Corbalán Vélez, Doctor de Universidad del Área de Dermatología en el Departamento de Medicina, Psiquiatría y Dermatología de la Universidad de Zaragoza

CERTIFICA QUE:

D^a IRENE BALLESTER NORTES ha realizado el trabajo encaminado a la consecución del título de Doctora, titulado:

"ESTUDIO DE LA DIFERENCIACIÓN SEBÁCEA EN LA ENFERMEDAD DE BOWEN Y EN EL CARCINOMA EPIDERMÓIDE INVASOR"

bajo mi codirección.

En Murcia, a 16 de Septiembre de 2015



Fdo.: Dr. Raúl Corbalán Vélez

Agradecimientos

A mis compañeros del servicio de Dermatología y Anatomía Patológica del Hospital Sta. María del Rosell de Cartagena, por su apoyo y ayuda incondicional. Especialmente a Sebastián Ortiz por ser un estímulo para seguir aprendiendo, por su motivación constante y colaboración. A Socorro Montalbán por su ayuda en la finalización del proyecto.

Al servicio de Anatomía Patológica del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, especialmente a Enrique Martínez Barba y a Inma Vidal Abarca por su ayuda en la selección de los casos y en la elaboración de las técnicas de inmunohistoquímica. A la Dra. Teresa Escámez del Biobanco por su colaboración para completar el estudio.

A mis directores de tesis, el Dr. José Bañuls, por todas sus enseñanzas y sabios consejos para mejorar este proyecto. Al Dr. Ernesto Cortés, por su disponibilidad y orientación. Al Dr. Raúl Corbalán por ser el artífice de este trabajo. Gracias por la ilusión y el tiempo que le has dedicado.

A mi familia por todo su cariño y apoyo.

A Luis por saber transmitirme siempre la fuerza necesaria para seguir adelante.



ÍNDICE

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	6
1.1. Queratosis actínica	6
1.2. Enfermedad de Bowen	7
1.2.1. Epidemiología	7
1.2.2. Etiopatogenia	9
1.2.2.1 Factores físicos y químicos	9
1.2.2.2 Cicatrices y procesos inflamatorios crónicos	12
1.2.2.3 Genodermatosis	13
1.2.2.4 Inmunodepresión	15
1.2.2.5 Virus del Papiloma Humano (VPH)	16
1.2.3. Biología de la enfermedad de Bowen	18
1.2.4. Carcinoma epidermoide invasor	20
1.2.5. Dermatopatología	21
1.2.5.1. Diferenciación sebácea	24
1.2.5.2. Inmunohistoquímica de la diferenciación sebácea	30
1.3. Otros carcinomas epidermoides intraepidérmicos	37
2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	40
3. HIPÓTESIS	43
4. OBJETIVOS	45
5. MATERIAL Y MÉTODOS	47
5.1. Diseño del estudio	47
5.2. Ámbito del estudio	47
5.3. Recogida de muestras	47

5.4. Criterios de inclusión	48
5.5. Criterios de exclusión	48
5.6. Cálculo del tamaño muestral	49
5.7. Descripción de las variables	50
5.8. Estudio inmunohistoquímico	51
5.9. Análisis estadístico	52
5.10. Consideraciones éticas	53
6. RESULTADOS	56
6.1. Descripción de la muestra	56
6.2. Estudio descriptivo de las variables en relación con el tipo de tumor	57
6.3. Comparación entre enfermedad de Bowen y carcinoma epidermoide invasor	70
6.4. Comparación entre tipos de carcinoma epidermoide invasor	73
6.5. Relación entre variables	75
6.6. Otros hallazgos	80
7. DISCUSIÓN	83
7.1. Características epidemiológicas	84
7.2. Diferenciación sebácea	86
7.2.1. Células claras y microvacuolado citoplasmático	86
7.2.2. Antígeno de membrana epitelial	87
7.2.3. Receptor de andrógenos	88
7.2.4. Adipofilina	92
7.3. Otros hallazgos	95
7.3.1. Elastosis solar	95
7.3.2. PAS y PAS-D	95
7.3.3. Carcinomas epidermoides con diferenciación anexial	96

7.4. Limitaciones	97
8. CONCLUSIONES	99
9. BIBLIOGRAFÍA	102
10. ANEXOS	124
11. ABREVIATURAS	128





INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. QUERATOSIS ACTÍNICA

Es la lesión preexistente al carcinoma epidermoide (CE) más frecuente en la raza caucásica¹. En Estados Unidos se diagnosticó de queratosis actínica (QA) a 47 millones de pacientes entre 1990 y 1999². En zonas geográficas con gran insolación como Australia, más del 50% de personas mayores de 40 años presentan QA³. En un estudio del Reino Unido el 15,4% de hombres y el 5,9% de mujeres presentaban QA⁴.

El potencial maligno es relativamente bajo, se estima que el riesgo de transformación a un CE invasor es de un 0,025% al 16%⁵, según otro estudio sólo una de cada 1000 QA por año se malignizarían⁶. Además aproximadamente el 25% de las QA podrían remitir espontáneamente si disminuye la exposición a la radiación UV⁷.

Clínicamente las QA suelen ser múltiples y se localizan en zonas fotoexpuestas. La lesión clínicamente se presenta como una escama queratósica, amarillenta o marronácea adherida a un área eritematosa mal definida. La mayoría de QA se diagnostica clínicamente y sólo en un pequeño porcentaje de casos se realiza una biopsia de confirmación. Se ha descrito la existencia de QA en la piel próxima o adyacente al CE entre un 72-80 % de los casos⁸.

Clásicamente se reconocen cinco tipos de QA: hipertrófica, atrófica, bowenoide, acantolítica y pigmentada⁹. En 1994, Goldberg *et al.*¹⁰, describieron otra forma, la QA proliferativa con una mayor tendencia a la transformación maligna.

La QA clásica se caracteriza por una paraqueratosis focal, con pérdida de la capa granulosa y moderado engrosamiento de la epidermis con formación de crestas irregulares. Excepcionalmente, la epidermis puede estar adelgazada. En todos los casos hay una pérdida variable de la correcta estratificación de la epidermis, asociada a atipia moderada o intensa de los queratinocitos. Si la atipia es intensa y afecta a todo el espesor de la epidermis englobando

a la mayoría de los queratinocitos podemos aplicar el término de queratosis actínica bowenoide¹¹. En ocasiones, el diagnóstico diferencial entre QA, EB y CE invasor (CEI) incipiente puede entrañar gran dificultad. En la QA se usan como criterios diagnósticos de CE invasor la proliferación de células atípicas en dermis reticular y/o el desprendimiento de nidos de queratinocitos atípicos desde las capas inferiores de la epidermis¹².

1. 2. ENFERMEDAD DE BOWEN

1. 2. 1. EPIDEMIOLOGÍA

La enfermedad de Bowen (EB) fue originalmente descrita en 1912¹³ en dos pacientes con múltiples placas de lento crecimiento, en localizaciones no fotoexpuestas sin aparición de metástasis. Fue considerada inicialmente como una lesión premaligna. En 1959 se describió la asociación entre la EB y la presencia de una neoplasia interna¹⁴. Sin embargo las revisiones posteriores no han confirmado esta asociación^{15,16}. Debido a la aparición la EB en localizaciones no fotoexpuestas y su relación con neoplasias viscerales se consideraba que podría relacionarse con la exposición al arsénico¹⁷. Actualmente la mayor parte de los casos de EB aparecen en localizaciones fotoexpuestas y se ha generalizado el término como sinónimo de CE *in situ* de piel^{11,18}.

La EB puede ocurrir a cualquier edad en adultos aunque es infrecuente antes de los 30 años y la mayoría de pacientes son mayores de 60 años. La edad de máxima aparición es en la séptima década de la vida. Aunque afecta a ambos sexos, predomina en mujeres^{19,20}.

La manifestación clínica típica de la EB es una placa fina, bien delimitada, de lento crecimiento, de un color eritematoso, con bordes irregulares y con una escama o costra adherida. Pueden verse cambios superficiales hiperqueratósicos o verrucosos. Las lesiones pueden medir varios centímetros de diámetro y en ocasiones ser múltiples.

Los sitios con mayor frecuencia de aparición son las áreas expuestas al sol como la cabeza, el cuello y las piernas, aunque puede afectar a cualquier parte del cuerpo²¹. Las lesiones son generalmente solitarias pero pueden ser múltiples en el 10-20 % de los pacientes²⁰. En un estudio realizado en Australia que incluyó a 1001 biopsias de EB²² las localizaciones predominantes fueron: en las mujeres las extremidades inferiores y las mejillas y en los hombres el cuero cabelludo y los pabellones auriculares. La etiología de la afectación de las mejillas en las mujeres es desconocida. Se ha postulado que puede indicar un aumento de susceptibilidad a la radiación ultravioleta de los folículos vellosos que predominan en las mejillas de las mujeres. Este hallazgo puede apoyar la hipótesis de que algunos casos de EB podrían tener un origen folicular. Las diferencias de localización entre sexos se deben a discrepancias en la exposición solar. Además, con cierta frecuencia, el lado izquierdo del cuerpo se afecta más que el derecho probablemente debido a la exposición solar durante la conducción de vehículos²³.

La prevalencia exacta de la EB es desconocida por diversos motivos. A la variabilidad provocada por los distintos agentes etiopatogénicos del CE, habría que añadir las dificultades en el registro de este tipo de tumores ya que no se incluyen en los registros específicos de cáncer por su baja letalidad. Además en los estudios sobre incidencia de CE la EB se excluye generalmente. La mayoría de estudios epidemiológicos de incidencia de CE están realizados sobre el CEI. Se ha sugerido una incidencia anual en la EB aproximada de 15 casos/100000 habitantes en el Reino Unido²⁴. Sin embargo esta incidencia puede estar sobreestimada al haber sido extrapolada desde un estudio en población estadounidense²⁵ sometida a mayor exposición solar¹⁸. En un estudio poblacional llevado a cabo en Hawái se estimó en 142 por cada 100000 personas y año²⁶. El registro canadiense de cáncer que incluye sólo los tumores con confirmación histológica, en el periodo desde 1996 al 2000 estimó una incidencia media anual de EB de 22.4 lesiones por cada 100000 mujeres y de 27.8 por cada 100000 hombres²⁷.

La EB se ha asociado a un incremento de riesgo de otro cáncer cutáneo no melanoma (CCNM). Los estudios han descrito que un tercio de los pacientes tienen otro CCNM en el momento del diagnóstico, sobre todo un CB²⁶ y que existe un riesgo de 4.3 veces mayor de desarrollar otro CCNM debido a su etiología compartida¹⁶.

1. 2. 2. ETIOPATOGENIA

La EB es una degeneración maligna de la epidermis causada por diferentes factores entre los que se incluyen la radiación ultravioleta, la infección por el virus del papiloma humano (VPH) y la inmunosupresión. Estos agentes etiológicos son similares a los observados en el desarrollo del CEI.

1.2.2.1 Factores físicos y químicos

A. Radiaciones solares

Unna, en 1896, fue el primero en relacionar la exposición solar crónica con la aparición de carcinomas cutáneos. De la energía emitida por las radiaciones solares, aproximadamente un 10% corresponde a radiaciones ultravioleta, un 50% a luz visible y cerca de un 40% a la infrarroja²⁸. Las radiaciones ultravioleta se consideran el principal factor etiológico en el desarrollo de cáncer cutáneo, y particularmente de CE²⁹⁻³¹. Aunque la radiación ultravioleta B (UVB), con una longitud de onda entre 280-320 nm., sería la principal responsable, la radiación ultravioleta A (UVA), con una longitud de onda entre 320-400 nm, también es carcinógena y además potenciaría el efecto carcinógeno de la UVB²⁸.

Esto se ha comprobado mediante:

1. Evidencias epidemiológicas: Los factores geográficos, la localización predominante en zonas fotoexpuestas, la edad, etc. son factores epidemiológicos que influyen

en la incidencia del CE, sobre todo porque aumentan la cantidad de radiaciones UV recibidas³². Los factores étnico-raciales (personas con fototipos de piel clara) van a determinar la susceptibilidad de cada individuo para padecer un CE, al condicionar la relación dosis de radiación UV/respuesta individual²⁶.

2. Evidencias experimentales. La radiación UV favorece el desarrollo de tumores cutáneos en animales de experimentación²⁹.

3. La terapia con PUVA (psoralenos y radiaciones UVA), cuando es administrada a altas dosis o en protocolos de larga duración, está asociada a aumento del riesgo de desarrollo de CE y de carcinomas basocelulares (CB)³³⁻³⁵.

4. Se ha demostrado que las radiaciones UV pueden provocar alteraciones en determinados genes supresores tumorales. El ejemplo más claro es la proteína p53, codificada por el gen p53, que interviene entre otras funciones en la supresión tumoral, promoviendo la apoptosis de los queratinocitos cuyo ADN ha sido dañado. La radiación UV induce mutaciones en este gen p53, provocando la pérdida de esta función pro-apoptótica y favoreciendo por tanto la carcinogénesis. Se han identificado mutaciones en el gen p53 en QA, CE y CB³⁶.

La exposición solar excesiva, bien profesional o recreativa, sería una de las causas fundamentales en la carcinogénesis de estos tumores. Más importante que la intensidad de la exposición, sería el número total de horas de radiación UV acumulado a lo largo de la vida³⁷. Con respecto al tipo de exposición solar, el CE se ha relacionado con exposiciones crónicas y mantenidas (exposición de tipo laboral), mientras que el CB se ha relacionado con exposiciones agudas e intermitentes y/o con quemaduras solares en edades tempranas^{38,39}. Otros estudios sin embargo, no encontraron diferencias en el riesgo de ambos cánceres según el tipo de exposición solar⁴⁰.

B. Radiaciones Ionizantes

Afortunadamente, los CE producidos por estos agentes son cada vez menos frecuentes. Durante los años 40 y 50 se empleaba mucho la radioterapia como tratamiento de enfermedades benignas y malignas, sobre todo en la cara (exposición terapéutica), si bien la mayoría de casos de CE ocurrían en dedos y manos de dentistas, radiólogos, técnicos de radiología, pediatras, etc. que no se protegieron años atrás de la radiación (exposición ocupacional)^{41,42}.

El factor de riesgo más importante en CE inducidos por radiaciones ionizantes, al igual que en las radiaciones UV, es la dosis acumulada total recibida. Además, a mayor dosis, menor tiempo de latencia hasta la aparición del CE. La exposición a radiaciones UV potenciaría el efecto carcinógeno de las radiaciones ionizantes^{17,41}.

C. Carcinógenos químicos y calor

1. La exposición exógena continuada o repetida a ciertos carcinógenos químicos, predispone al desarrollo de CE en la piel. Los carcinógenos químicos más frecuentemente implicados son:

- Hidrocarburos policíclicos (alquitranes, breas, petróleo, aceites minerales...): Suele ser una exposición laboral⁴² que puede producirse sobre todo en los trabajadores de refinerías de petróleo, en las industrias textiles, en los trabajadores de carreteras por la utilización del alquitrán, en los deshollinadores por el contacto con el hollín, etc. Los productos del petróleo y los aceites lubricantes tanto como los insecticidas, herbicidas y fungicidas son particularmente patógenos para el CE, mientras que la fibra de vidrio y los solventes orgánicos para limpieza en seco incrementan la incidencia de CB⁴³.

- Arsénico. Presente sobre todo en determinados medicamentos (actualmente en desuso), en pesticidas usados en agricultura y ganadería o como contaminante del agua de pozos⁴⁴. La exposición al arsénico se ha relacionado con neoplasias viscerales⁴⁵, principalmente de pulmón, vejiga, riñón e hígado. En la piel se asocia con la aparición de múltiples CB superficiales y EB, en zonas tanto expuestas como no fotoexpuestas, alteraciones de la pigmentación y a la aparición de queratosis arsenicales palmoplantares. Los modelos animales apoyan la interacción del arsénico ingerido como un co-carcinogénico con la radiación solar para incrementar la frecuencia y el tamaño de los carcinomas cutáneos y reducir la latencia⁴⁶.
- Otros como la exposición a asbesto o a tabaco (implicado sobre todo en el CE de labio y mucosa oral)⁴⁷.

2. La exposición de forma crónica a fuentes de calor (termodermatitis o eritema *ab igne*), puede favorecer la aparición del CE en las zonas de aplicación. En nuestro medio, la localización más frecuente es la pretibial, por el uso de estufas y braseros⁴⁸.

1.2.2.2 Cicatrices y procesos inflamatorios crónicos

En general, el riesgo de desarrollar CE sobre estos procesos crónicos es bajo, y la mayoría de casos descritos en la literatura corresponden a casos esporádicos.

El término úlcera de Marjolin se relacionaba con neoplasias en cicatrices de quemaduras⁴⁹, actualmente engloba cualquier proceso maligno que surja a partir de un tejido cicatricial. Aproximadamente el 2 % de las cicatrices secundarias a quemaduras sufren malignización. El carcinoma epidermoide (CE) es la neoplasia más frecuente observada (75-96 %). El 2 % de los CE y el 0,5 % de los CB surgen de cicatrices de quemaduras⁵⁰. Este proceso de malignización puede ocurrir también en úlceras crónicas⁵¹, en osteomielitis

crónica⁵², en tractos fistulosos y en una amplia serie de genodermatosis y dermatosis crónicas (lupus vulgar, lupus crónico discoide⁵³, epidermólisis ampollosa distrófica⁵⁴, liquen plano⁵⁵ y liquen esclero-atrófico, hidrosadenitis supurativa⁵⁶, acné conglobata⁵⁷, etc.) cuyo denominador común es la cicatrización mantenida o repetida. Algunos autores opinan que los factores de crecimiento tisular, activados de forma crónica, podrían ser en parte los responsables de esta malignización⁵⁸.

1.2.2.3 Genodermatosis

La poroqueratosis^{59,60} en cualquiera de sus formas clínicas se ha asociado al CE, sin embargo este riesgo es mayor en las formas clínicas de mayor tamaño (poroqueratosis de Mibelli⁶¹) y en las lineales. Otras genodermatosis que presentan un riesgo incrementado de desarrollar CE son el albinismo⁶², el xeroderma pigmentoso o la epidermodisplasia verruciforme. Mención aparte merecen estas dos últimas enfermedades:

A. Xeroderma Pigmentoso

Es una enfermedad autosómico recesiva en la que se altera la capacidad de reparación del DNA dañado por la radiación ultravioleta. Es el paradigma de la oncogénesis causada por las radiaciones ultravioletas: en el Xeroderma Pigmentoso (XP) clásico, el riesgo de padecer cáncer cutáneo no melanoma está aumentado 10000 veces y el de melanoma más de 2000 veces^{63,64}.

En los pacientes con XP clásico, las alteraciones provocadas por las radiaciones solares en la piel aparecen desde los primeros años de vida, sobre todo en zonas de piel fotoexpuesta como la cara o el cuello. La piel de estos pacientes suele tener un aspecto poiquilodérmico con xerosis, zonas de atrofia, múltiples efélides y lentigos, telangiectasias y cicatrices por quemaduras solares. Precozmente estos pacientes comienzan a desarrollar QA,

y posteriormente tumores malignos cutáneos u oftálmicos: CB, CE y/o melanoma maligno. El inicio de los síntomas cutáneos es entre los 1-2 años y la edad promedio del inicio de las neoplasias cutáneas son los 8 años⁶⁴. Presentan también un riesgo aumentado de 10 a 20 veces de neoplasias internas como tumores del encéfalo (sarcoma y meduloblastoma), sistema nervioso central (astrocitoma), pulmón, útero, mama, páncreas, estómago, riñón, testículo y leucemia.

El xeroderma pigmentoso es un desorden complejo que comprende, al menos, ocho defectos distintos de la reparación del DNA⁶⁵. Esta heterogeneidad genética se traduce en una gran heterogeneidad clínica, con 7 grupos de la enfermedad denominados de la A a la G, además de la “forma variante de XP” o “Xerodermoide pigmentado”. En el síndrome de Sanctis-Cacchione y en el síndrome de Cockayne, el XP se asocia a otras alteraciones (neurológicas, hipogonadismo, retraso del crecimiento, o sordera entre otras).

B. Epidermodisplasia verruciforme (EV)

Se trata de una enfermedad en la que existe una mayor susceptibilidad genética a la infección por determinados subtipos oncogénicos de VPH (VPH- β), como los subtipos 5 y 8, y con menor frecuencia otros subtipos como el 9, 10, 12, 14, 15, 17, 19 a 25, 36 a 38, 47 y 49. También es habitual encontrar infecciones por otros subtipos de VPH como los 1, 2, 3, 27, 28 o 77, entre otros muchos, que son los que provocarían las verrugas planas y vulgares en la población general. La EV traduce una alteración en la inmunidad celular, y suele transmitirse de forma autosómica recesiva aunque se ha descrito también una forma recesiva ligada al cromosoma X⁶⁶. En el 75% de los casos se identifican mutaciones en los genes EVER1 o EVER2 que regulan una proteína transmembrana de transporte iónico⁶⁷.

También se ha descrito una forma de EV adquirida⁶⁸ secundaria a la inmunosupresión provocada por diversos tratamientos o enfermedades como en el trasplante renal, la infección por VIH, el lupus eritematoso sistémico o la enfermedad de Hodgkin.

Clínicamente, la EV se caracteriza por la presencia, desde la infancia, de múltiples lesiones semejantes a verrugas planas, (aunque de mayor tamaño y confluentes en placas), sobre todo en áreas fotoexpuestas. También pueden hallarse múltiples verrugas vulgares, y lesiones maculosas hipopigmentadas en tronco, cuello y cara, similares a la pitiriasis versicolor y a la dermatitis seborreica⁶⁹. En un tercio de los pacientes aproximadamente, a partir de la segunda o tercera décadas de la vida, estas lesiones se malignizan, y aparecen múltiples lesiones premalignas (QA y EB) y/o malignas (sobre todo CE), principalmente en áreas fotoexpuestas. En el 90% de estos tumores se encuentran VPH oncogénicos (predominando el subtipo VPH-5 y ocasionalmente los subtipos 8, 14, 17, 20 ó 47). Existe otra forma clínica de EV más benigna, en relación con los subtipos de VPH 3 y 10, en la que no existe una tendencia a la transformación maligna de las lesiones⁶⁹.

La EV constituye el paradigma del papel oncogénico del VPH en el CE, actuando como sinérgico o potenciador de otros factores oncogénicos como las radiaciones UV⁷⁰.

1.2.2.4 Inmunodepresión

El deterioro de la inmunidad asociada a diversas enfermedades como la infección por el VIH o neoplasias, incrementa el riesgo de cáncer cutáneo. Aunque este riesgo es ostensiblemente mayor en los pacientes receptores de trasplantes. En estos se detecta un aumento del cáncer cutáneo no melanoma (CCNM) del 40 % en los climas templados y que puede llegar hasta el 80% en Australia⁷¹. El riesgo de CB aumenta en más de 8 veces, aunque el riesgo de CE se puede incrementar en 50-100 veces⁷². La proporción habitual 4:1 entre CB y CE se invierte (1:1, 1:3-5)⁷³, siendo mucho más frecuente el CE que el CB. En el 75% de los

casos aparecen en localizaciones fotoexpuestas como cabeza, cuello y dorso de manos⁷³. Además, los CE desarrollados en estos pacientes tiene más riesgo de ser múltiples⁷⁴ o de presentar una agresividad mayor, con un incremento en el riesgo de recurrencias y/o de metástasis⁷².

Ha sido demostrada una asociación entre la dosis acumulada de medicación inmunosupresora en los años post-trasplante y la aparición de CE⁷⁵. Los inhibidores de la calcineurina como el tacrolimus y especialmente la ciclosporina pueden incrementar el riesgo de CCNM por 65 veces. Se ha descrito un riesgo menor con la azatioprina y sobre todo con los nuevos tratamientos inhibidores de mTOR. El mecanismo por el que los inhibidores de la calcineurina incrementan la incidencia de CE parece ser por la alteración de los mecanismos de reparación del ADN frente a la carcinogénesis cutánea de la radiación UV⁷⁶.

1.2.2.5 Virus del Papiloma Humano (VPH)

Los VPH son virus ADN que pertenecen a la familia Papillomaviridae. De acuerdo con la actual clasificación taxonómica⁷⁷, la familia está compuesta por 16 géneros, que se identifican con las letras griegas (alfa, beta, gamma, etc.). Cada género incluye una o varias especies, que van numeradas, y dentro de cada especie encontramos los tipos, subtipos y variantes. Actualmente se han aislado más de 120 genotipos distintos del VPH en humanos. Los géneros alfa incluyen los subtipos de mucosas y cutáneos de la clasificación taxonómica clásica, mientras que los Beta contienen la mayoría los asociados a la EV⁷⁸.

El papel oncogénico del VPH- α (sobre todo algunos subtipos como 16, 18, 31, 33 y 35) ha sido bien documentado en el carcinoma de cérvix uterino. Asimismo, el posible papel oncogénico de estos VPH en los CE cutáneos de la región ano-genital (incluyendo los CE de vulva, pene, ano o periné) y en algunos tipos de CE de orofaringe^{79,80} es cada vez más evidente. Aunque no se ha podido demostrar la relación oncogénica, también se han

encontrado estos subtipos de VPH en casos de EB extragenital en porcentajes variables según las series⁸¹⁻⁸³ y en CE de los dedos de las manos⁸⁴⁻⁸⁶.

Sin embargo la relación entre la infección por el HPV- β y el cáncer cutáneo es mucho más controvertida. Los porcentajes de detección en lesiones de QA y CE, oscilan entre el 30-90 % según la técnica utilizada y el grado de inmunosupresión⁸⁷⁻⁹⁰. Sin embargo la presencia del VPH no justificaría su papel causal. Aunque la infección por VPH sugiere un papel etiológico según los estudios epidemiológicos, para algunos autores podría ser un simple co-factor relacionado con la radiación UV⁹¹. Además la radiación UV ejerce un papel inmunosupresor que favorece la infección⁹². La presencia del VPH en sólo una fracción de los CE indicaría que puede tener un papel como promotor pero no en el mantenimiento⁹³ o progresión tumoral.

Los VPH mucosos a través de las proteínas E6 y E7, producirían alteraciones en el gen p53 y en el gen Rb, respectivamente, provocando la inmortalidad celular y/o la progresión tumoral⁹⁴. Sin embargo los mecanismos oncogénicos de los β -VPH no están tan claros. Un posible mecanismo oncogénico de estos VPH- β sería la inhibición de la proteína pro-apoptótica Bak. Las radiaciones UV inducen la activación de la proteína Bak y ésta a su vez induce la apoptosis celular, independientemente del mecanismo de la p53. La proteína E6 de los β -VPH produce la degradación de la proteína Bak⁹⁵, inhibiendo así la apoptosis celular provocada por las radiaciones UV, de forma independiente al estado de la p53. Así mismo, se ha identificado otra proteína (proteína XRCC1) reparadora de dímeros de timidina inducidos por la radiación UV, que puede ser boqueada por algunos VPH como el HPV 8⁹⁶. Además se ha descubierto que los VPH 5 y VPH 8 tienen una capacidad inhibitoria sobre la interleucina-8 que participa en la estimulación de una respuesta inmunitaria que controla aquellas células dañadas por la radiación UV⁹⁷.

1. 2. 3. **BIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD DE BOWEN**

La EB es una enfermedad de larga evolución, lento crecimiento y sin capacidad metastásica. Este comportamiento puede reflejar la dinámica entre dos procesos opuestos: la proliferación y regresión de la lesión⁹⁸⁻¹⁰⁰. Estos eventos son los responsables de la lenta y escasa progresión a CEI a pesar de las abundantes figuras atípicas y de mitosis de los queratinocitos. Puede detectarse un patrón difuso de tinción de los nucléolos de los queratinocitos para el PCNA (antígeno nuclear de proliferación celular) y para Ki-67 en el 40-50 % de los queratinocitos de la EB¹⁰¹.

La proteína p53 es un factor de transcripción que actúa entre la fase G1 y S, impidiendo el paso de una a otra mediante el control de la transcripción de genes de proteínas reguladoras de ciclo. Entre ellas se encuentra la kinasa dependiente de ciclina (CDK) que, en condiciones normales, se une a la ciclina para juntas permitir el paso de la fase de G1 a S. Las mutaciones en p53 frecuentemente inducidas por la luz UV pueden impedir su funcionamiento normal y permitir la acumulación de células mutadas por la pérdida de la apoptosis.

Para el desarrollo de una QA o un CE es necesaria la expansión clonal de los agregados portadores de cierta mutación en p53, de modo que va aumentando la superficie de “tejido diana” para que futuras mutaciones sigan contribuyendo al desarrollo de la lesión. Se ha propuesto que hay dos mecanismos que subyacen a esta expansión clonal selectiva de las células portadoras de p53 mutado. En primer lugar, la resistencia que adquieren estas células a la apoptosis inducida por UV. De este modo las células portadoras de la mutación no sufren muerte celular y ocupan los espacios dejados por los queratinocitos normofuncionantes, que sí sufrirían apoptosis. Además, se propone que estas células con p53 mutado tengan una mayor capacidad proliferativa en comparación con el resto de queratinocitos normales. Esto permite la expansión clonal de queratinocitos mutados para p53 que tienen facilidad para adquirir

nuevas mutaciones que se van acumulando. Se ha visto que p53 está mutado en piel sana fotoexpuesta, en la EB¹⁰² y hasta en un 90% de CE¹⁰³. Todo ello, apoya su implicación en las fases más iniciales del proceso de oncogénesis en el CCNM. Estos clones mutados para p53 necesitan continuar la exposición UV para la expansión clonal, en ausencia de ella puede pararse el crecimiento y regresar¹⁰⁴.

La sobreexpresión de p53 induce la síntesis de p21^{WAF1/CIP1} que actúan inhibiendo las CDK¹⁰⁵ e induce la detención en G1. La p21 se expresa fuertemente en la EB. La p16^{INK4a} es un inhibidor de la CDK4 y CDK6. Presenta una expresión intensa y característica en un 90 % aproximado de la EB, respetando las células de la capa basal¹⁰⁶. La exposición UV y la infección por VPH inducen mutaciones en p16. La expresión anormal de p16 puede traducir la sobreexpresión de proteínas mutadas¹⁰⁷. La pérdida de la proteína p16 en los CE extragenitales indicaría progresión tumoral o evolución a una fase invasora¹⁰⁸.

Recientemente se ha demostrado que la coexpresión del gen oncogénico Ras y la CDK4 pueden hacer a los queratinocitos resistentes a la apoptosis y promover la invasión¹⁰⁹.

La ciclina E es positiva en la EB y parece estar disminuida en las lesiones invasivas, sugiriendo que podría actuar como una proteína supresora tumoral en los queratinocitos¹¹⁰.

El aumento de expresión de ciclina D1 acorta la fase G1 del ciclo celular. La inhibición selectiva de su función induce apoptosis y reducción tumoral en CE humanos¹¹¹. Narbutt *et al.*¹¹² observaron que dosis suberitematosas de UVB inducían sobreexpresión de diversas proteínas de ciclo, entre ellas ciclina D1. La sobreexpresión de ciclina D1 se da desde etapas iniciales del desarrollo de cáncer cutáneo, observándose en aproximadamente el 60 % de la EB¹¹³. La expresión de la ciclina A1 está aumentada en el CEI respecto a la EB¹¹⁴. Además se ha visto que causa organización y diferenciación tisular anormal. La ciclina A presenta mayor expresión en la EB que en las QA mientras que la reducción de la expresión de B-catenina se encontró con mayor frecuencia en las lesiones invasivas que en la EB¹¹⁵.

La EB tiene además una expresión alterada de la citoqueratinas comparadas con la de la piel normal¹¹⁶.

La ciclooxigenasa (COX) es un enzima encargada de sintetizar prostaglandinas partir del ácido araquidónico de la membrana celular. Hay evidencia de la sobreexpresión de COX-2 en la EB¹¹⁷. La actividad de COX-2 y de la prostaglandina E2 sintetizada por la misma, son reguladores positivos de la proliferación en células tumorales así como supresores de apoptosis. Este efecto se da por medio de las vías Ras/Raf/MAPK, activadas en múltiples tumores.

La laminina-332 (anteriormente laminina-5) es una glucoproteína de la membrana basal que podría desempeñar un importante papel en la migración y movilidad celular y en la progresión e invasión tumoral en el CE. La laminina-332 interacciona con la integrina $\alpha 6\beta 4$ y el EGFR (factor receptor de crecimiento epidérmico) e induciría la activación de la fosfatidilinositol-3-quinasa (p13K). La p13K regula varios procesos celulares como la proliferación, crecimiento y apoptosis celular, y su activación se relacionaría directamente con la invasión tumoral¹¹⁸. El aumento en la expresión de laminina-332 se relaciona con la invasividad en los CE¹¹⁹.

1. 2. 4. CARCINOMA EPIDERMOIDE INVASOR DERIVADO DE LA ENFERMEDAD DE BOWEN

El riesgo de progresión de la EB a un CEI se ha estimado en un 3 %¹²⁰ y de metástasis de la forma invasiva en aproximadamente el 13-20 %, aunque sólo existen pequeños estudios retrospectivos²⁷. En el área genital se ha estimado un riesgo del 10% de progresión y aproximadamente el 16% de los CEI de pene estaban asociados a una lesión in situ¹²¹. En la papulosis bowenoide la progresión es extremadamente infrecuente¹⁸.

El desarrollo de induración, erosión o un diámetro creciente sobre una placa descamativa que había estado presente previamente durante meses o años puede indicar la progresión. La transformación ocurre más frecuentemente en hombres de edad avanzada y sobre todo en el cuello o en la cabeza, seguida por las extremidades y el tronco¹²².

1. 2. 5. DERMATOPATOLOGÍA

La QA y la EB son consideradas como lesiones preinvasivas o CE *in situ*¹¹. En la EB al contrario que en la QA, todo el espesor de la epidermis se afecta por queratinocitos atípicos. Esto se asocia con una maduración desordenada de la epidermis, mitosis a diferentes niveles, queratinocitos multinucleados y células disqueratósicas. Generalmente existe una pérdida de la capa granulosa, con paraqueratosis y a veces hiperqueratosis. Característicamente, la capa basal suele estar respetada¹²³ y con frecuencia se extiende por el epitelio pilosebáceo¹²⁴.

En la QA bowenoide la atipia es intensa y afecta a todo el espesor de la epidermis englobando la mayoría de los queratinocitos. El diagnóstico diferencial con la QA bowenoide puede ser muy difícil. Una clave diagnóstica es la presencia de focos conservados de células basales en empalizada en la EB¹²³.

En la EB, la unión dermoepidérmica está intacta y no existe afectación de la dermis excepto en las formas invasivas. Los cambios en la dermis subyacente incluyen vascularización aumentada y una respuesta inflamatoria variable, generalmente compuesta por linfocitos. Ocasionalmente se ven características liquenoides. La regresión parcial puede ocurrir. Se pueden encontrar pequeños depósitos de amiloide en la dermis papilar, particularmente en las lesiones de larga evolución.

Pueden existir zonas con acantolisis y focos de hiperqueratosis epidermolítica sin significado clínico. Ocasionalmente también, las lesiones se caracterizan por una tendencia a

formar tecas de queratinocitos atípicos intraepidérmicos denominado epitelioma intraepidérmico (Jadassohn). La mayoría de autores no aceptan la existencia de esta entidad, a la que consideran simplemente una expresión del fenómeno de Borst-Jadassohn, un término utilizado para describir la presencia de nidos bien definidos de células morfológicamente diferentes en la epidermis¹².

Existen formas pigmentadas por la presencia de melanina en las células tumorales individuales y melanófagos en la dermis subyacente.

Se han descrito varias variantes histológicas, y en ocasiones se pueden observar más de uno de estos patrones en diferentes áreas de la misma lesión¹². Las principales variantes por el patrón arquitectural o características citológicas son¹²⁵:

- La variante psoriasiforme en la que existe una acantosis regular con engrosamiento de las crestas y paraqueratosis suprayacente.
- La forma atrófica que se caracteriza por un adelgazamiento de la epidermis, que muestra atipia y falta de maduración en todo el espesor, con frecuencia asocia hiperqueratosis y paraqueratosis.
- El tipo verrugoso hiperqueratósico que se caracteriza por una hiperqueratosis, papilomatosis y a veces invaginaciones interpuestas en forma de depresión.
- La variante irregular muestra acantosis irregular y a menudo inflamación crónica extensa de la dermis subyacente.
- La variante papilar¹²⁶ que se caracteriza por una placa bien delimitada con componente exofítico y endofítico además de coilocitos atípicos de citoplasma claro y núcleo hipercromático. Esta variante se asemeja a la forma verrugosa hiperqueratósica aunque ésta última carece de los queratinocitos de citoplasma claro similares a los que se encuentran en la infección por VPH. Sin embargo, en diferentes estudios realizados no se ha podido demostrar presencia de infección por el VPH¹²⁷.

- La variante pagetoide contiene nidos o células aisladas de citoplasma pálido y finas bandas de queratinocitos interpuestos relativamente normales, la capa basal puede estar también respetada.
- La variante de células claras en la que se observan células de citoplasma claro y granuloso, con frecuencia presenta tinción PAS fuertemente positiva, por depósitos de glucógeno.
- La metaplasia mucinosa y sebácea¹²⁸ caracterizan otros dos infrecuentes patrones histológicos, ésta última será desarrollada de forma independiente en el siguiente apartado por la importancia para nuestro estudio.

En ocasiones en el CE no existe una diferenciación tan clara entre cuando es un carcinoma *in situ* e invasivo. Ackerman¹²⁹ consideraba la QA, junto a la papulosis bowenoide y la EB como diferentes tipos de CE superficial. En el melanoma se considera invasivo cuando las células tumorales penetran en la dermis. Sin embargo en el CE esta diferenciación puede entrañar gran dificultad¹²⁹. Esto es debido a que la EB puede invadir la dermis en profundidad de “forma expansiva”, sin una ruptura clara con la capa basal. Se usan como criterios de CE invasor la microinvasión o cuando en algún foco concreto desaparece la capa basal.

De forma similar al sistema de graduación para la neoplasia intraepitelial cervical (CIN), Cockerell¹³⁰ propuso el término de neoplasia intraepitelial queratinocítica (KIN). El grado de afectación epidérmica se valora del I al III. Las lesiones de KIN I serían lesiones planas, con atipia focal del tercio basal. En el KIN II las lesiones serían pápulas con atipia en los dos tercios inferiores de la epidermis. En el KIN III se trataría de placas con afectación completa de la epidermis (EB). Esta clasificación ha sido criticada por diferentes autores¹³¹,

ya que las lesiones de KIN I o KIN II no necesariamente tienen que progresar al tipo III para desarrollar un CEI.

CEI derivados de la EB se caracteriza histológicamente porque además de los hallazgos de la EB clásica se puede observar un tumor invasivo compuesto de islas de células escamosas y basaloides con áreas de necrosis central. El patrón invasivo más frecuente es el de CE pobremente diferenciado. No suelen observarse células queratinizantes. Las células con frecuencia pueden tener el citoplasma claro. El CEI puede mostrar áreas de diferenciación tricolemal o incluso de tipo sebáceo¹²⁸.

1. 2. 5. 1. Diferenciación sebácea

Los tumores de diferenciación sebácea son un grupo infrecuente de lesiones. Se incluyen dentro de este grupo a aquellos tumores en los que histológicamente se identifica al menos un criterio de diferenciación sebácea, que consisten en la presencia de sebocitos maduros, conductos sebáceos, sebo o láminas córneas del tipo de las producidas por el conducto sebáceo (sebolema)¹³².

La confirmación de la diferenciación sebácea puede realizarse en ocasiones por el aspecto en la microscopía óptica en la tinción con hematoxilina eosina (HE). El sebocito maduro se caracteriza por un núcleo central de contorno espiculado y un citoplasma multivacuolado con vacuolas de pequeño tamaño que corresponden a lípidos. Sin embargo el sebocito en proliferación tiene una apariencia diferente al del sebocito normal. De hecho un sebocito inmaduro o parcialmente maduro no presenta el citoplasma vacuolado con el núcleo espiculado característicos del sebocito maduro. En estos casos puede tener un núcleo oval, con un citoplasma sin presencia de vacuolas por lo que puede ser difícil diferenciarlo de otras células claras¹³³. En estos casos puede ser útil la utilización de la inmunohistoquímica.

El carcinoma sebáceo es un tumor cutáneo infrecuente, cuya incidencia se estima en un 0,05% de todas las neoplasias cutáneas y aumenta hasta un 2-4% en el grupo de tumores perioculares. Clásicamente se ha considerado que existen dos variantes de carcinoma sebáceo: el de párpados y el extraocular. Parece ser que el carcinoma sebáceo de párpado se originaría a partir de las glándulas sebáceas normales preexistentes en el párpado y a través de los conductos sebáceos ascendería hasta los infundíbulos foliculares en el epitelio de la epidermis o de la conjuntiva donde con frecuencia se observa una extensión pagetoide¹³⁴. Sin embargo la histogénesis del carcinoma sebáceo extraocular es desconocida. La mayoría de los carcinomas sebáceo son neoplasias dérmicas indiferenciadas en las que no se observa transición entre las glándulas sebáceas preexistentes y el carcinoma, por lo que no se puede determinar su origen¹³⁵.

Histológicamente, el carcinoma sebáceo tiene un patrón morfológico y citológico de neoplasia maligna, con asimetría, falta de delimitación, infiltración y atipia celular. El tumor está constituido por islotes epiteliales de diverso tamaño, compuestos por células sebáceas con un grado de diferenciación variable. La mayor parte de la lesión está constituida generalmente, por células sebáceas germinativas indiferenciadas. La presencia de sebocitos o de conductos sebáceos debe buscarse como hallazgos histológicos útiles para determinar la naturaleza sebácea del tumor¹³⁴. La secreción sebácea sólo se observa en las formas mejor diferenciadas y es más frecuente encontrar grandes áreas de necrosis en masa de las células neoplásicas. El carcinoma sebáceo ocular muestra con frecuencia una extensión pagetoide o de forma menos común signos de CE *in situ* en la conjuntiva o epidermis palpebral. En el caso de un carcinoma sebáceo extraocular es infrecuente. La presencia de estos cambios puede indicar un CEI derivado de una EB simulando un carcinoma sebáceo¹³⁶.

Dado que el carcinoma sebáceo, puede tener un comportamiento agresivo y mal pronóstico es fundamental su diagnóstico precoz. En algunas ocasiones puede ser difícil su

diferenciaron histológica de otros tumores frecuentes, como el CB o el CE indiferenciado o con células claras¹³⁷. Existen además otros tumores cutáneos con células claras, que deben diferenciarse del carcinoma sebáceo, como el hidradenocarcinoma apocrino, carcinoma siringoide, porocarcinoma o las metástasis cutáneas de carcinoma renal. Por la relación con nuestro proyecto destacaremos la EB y el carcinoma epidermoide de células claras (CECC) que desarrollaremos a continuación:

A) Enfermedad de Bowen

En la EB pueden encontrarse células claras que simulen diferenciación sebácea aunque también se ha descrito casos con verdadera diferenciación sebácea e incluso la asociación de la EB con un carcinoma sebáceo. Por lo que analizaremos estas 3 situaciones por separado:

A.1) EB con células claras o pagetoide:

Se produce una EB en la que el citoplasma de los queratinocitos puede simular las vacuolas lipídicas de los sebocitos neoplásicos de un carcinoma sebáceo in situ o de un carcinoma sebáceo epidermotropo¹³³. En los estudios realizados se ha determinado que estas células son PAS positivas, por el depósito de glucógeno y pueden expresar marcadores de diferenciación de la vaina radicular externa, pero son negativas para marcadores de diferenciación sebácea, como el antígeno de membrana epitelial (EMA)¹³⁸.

A.2) EB con diferenciación sebácea:

Existen casos infrecuentes de EB con agregados de células claras con citoplasma vacuolado característicos de diferenciación sebácea en el interior de la EB¹³⁹. Omori *et al.*¹⁴⁰ confirmaron en un caso que estos queratinocitos con signos diferenciación sebácea eran

positivos para el EMA y la adipofilina. Los autores concluían que aunque estas neoplasias podrían tratarse de un carcinoma sebáceo indiferenciado, fueron diagnosticados de EB porque solo una minoría de los queratinocitos presentaba diferenciación sebácea.

A.3) EB con carcinoma anexial invasivo:

La designación de EB con carcinoma anexial invasivo fue utilizada por primera vez por Kao¹⁴¹ en 1981. Ésta fue la primera propuesta de que la EB podía tener diferenciación anexial. En 1986 este mismo autor presentó otro caso de EB con carcinoma anexial invasivo¹²⁰. En 1986 Jacobs *et al.*¹⁴² publicaron un caso de carcinoma sebáceo originado sobre una EB en la vulva. Saida *et al.*¹⁴³ publicaron un caso de EB con CEI que presentaba áreas de diferenciación glandular sudorípara. En la zona invasiva se observaban nidos de células bowenoides y estructuras glandulares con material amorfo en el interior. Las células que rodeaban estas estructuras eran positivas para el Antígeno Carcinoembrionario (CEA). En 1994 Inoue *et al.*¹⁴⁴ presentó un caso de EB con carcinoma anexial invasivo y en 1998 Watanabe *et al.*¹⁴⁵ presentaron un caso de EB asociada a un poroma ecrino. Escalonilla *et al.*¹⁴⁶ publicaron un carcinoma sebáceo originado en la vulva asociado a una EB. En el 2006 Kamiya *et al.*¹⁴⁷ presentaron tres casos de EB asociadas a carcinoma anexial invasivo. En dos de estos casos se trataba de un porocarcinoma ecrino y en el otro un carcinoma tricolemal. Posteriormente se han publicado tres casos más de porocarcinoma ecrino y dos de carcinoma sebáceo asociada a la EB (tabla 1).

Una explicación a los casos de EB con CEI diferenciación anexial es que se trataran de cambios metaplásicos y la teoría más aceptada es que se deben a que la EB deriva de células germinales de la vaina externa del folículo piloso y de células epidérmicas pluripotenciales^{147,148} con capacidad de diferenciarse hacia estructuras anexiales.

Sin embargo, para otros autores estas lesiones de EB serían mejor interpretadas como carcinomas indiferenciados compuestos de células sebáceas primitivas germinativas¹⁴⁶ o ductales (ecrinas o apocrinas) que eventualmente podrían hacerse invasivas¹⁴⁹. La diferenciación tan diversa, así como su variable positividad inmunohistoquímica¹⁵⁰ para marcadores de diferenciación glandular (como el EMA, CAM 5.2, citoqueratina 7 y Ber-Ep4), indicarían que la EB se trataría de una enfermedad heterogénea que podría ser considerada como un carcinoma indiferenciado *in situ*.

En el año 2000, Ansai y Mihara¹⁵¹ describieron por primera vez dos casos de carcinoma sebáceo originado sobre una QA. Los autores postulaban para explicar sus casos, además de la posible ocurrencia accidental de ambas lesiones, que las QA pudieran diferenciarse hacia sebocitos o bien de que se tratasen de carcinomas sebáceos *in situ* con áreas de QA-like. Posteriormente se han publicado otros casos (tabla 2). La ocurrencia de un carcinoma sebáceo en relación con una QA, podría indicar un posible papel etiológico de la radiación UV en la etiopatogénesis del carcinoma sebáceo extraocular¹⁵². Ishida y Okabe¹⁵³ en otro caso de carcinoma sebáceo originado sobre una QA postularon que el carcinoma sebáceo extraocular podría originarse de neoplasias escamosas intraepiteliales preexistentes. Al existir también casos de carcinomas sebáceos extraoculares intraepidérmicos no asociados a neoplasias escamosas preexistentes¹³⁵, estos casos podrían originarse *de novo* a partir de células epidérmicas pluripotenciales.

La mayoría de casos publicados se han originado sobre QA bowenoides, excepto en dos casos originados sobre QA atróficas. Misago *et al.*¹⁵⁴ estudiaron dos casos de carcinomas sebáceos asociados a QA. El estudio inmunohistoquímico demostró positividad para adipofilina en la zona de carcinoma sebáceo y de citoqueratina 1 en la QA bowenoide, lo que apoyaba de que se tratara de un carcinoma sebáceo originado sobre una QA.

Tabla 1: Revisión de casos de enfermedad de Bowen con tumor anexial invasivo*

Autores	Número de casos	Sexo/Edad	Diagnóstico histológico	Localización
Kao ^{120,141}	2		Carcinoma anexial invasivo + EB	
Escalonilla et al. ¹⁴⁶	1	M/76	CS + EB	Vulva
Jacobs et al. ¹⁴²	1	M/89	CS + EB	Vulva
Inoue et al. ¹⁴⁴	1	M/75	Carcinoma anexial invasivo + EB	Abdomen
Saida et al. ¹⁴³	1	M/76	CEI-EB con diferenciación glandular sudorípara	Muñeca
Watanabe et al. ¹⁴⁵	1	M/83	Poroma ecrino + EB	Pie
Lowney et al. ¹⁵⁵	1	M/56	Porocarcinoma + EB	Pierna
Ishida et al. ¹⁵⁶	1	M/67	CS + EB	Glúteo
Hoshina et al. ¹⁵⁷	1	M/87	Porocarcinoma ecrino + EB + Queratosis seborreica	Abdomen
Kamiya et al. ¹⁴⁷	3	M/66	Porocarcinoma ecrino + EB	Pierna
		M/87	Carcinoma tricolemal + EB	Cabeza
		M/94	Porocarcinoma ecrino + EB	Pierna
Aung et al. ¹⁵⁸	1	M/60	CS in situ + EB	Frente

* CEI- EB: Carcinoma epidermoide invasor derivado de la enfermedad de Bowen; CS: Carcinoma sebáceo; EB: Enfermedad de Bowen; M: Mujer

Tabla 2: Revisión de casos de queratosis actínica asociada a carcinoma sebáceo*

Autores	Número de casos	Sexo/Edad	Diagnóstico histológico	Localización
Karkuzhali <i>et al.</i> ¹⁵²	1	M/44	QA bowenoide+ CS	Mejilla
Nakashima <i>et al.</i> ¹⁵⁹	1	M/83	QA+ CS	Mejilla
Ansai y Mihara ¹⁵¹	2	M/75 M/81	QA+ CS	Región temporal Mejilla
Ishida y Okabe ¹⁵³	1	M/ 60	QA+ CS	Cuello
Aung <i>et al.</i> ¹⁵⁸	2	V/ 70 M/ 85	QA+ CS	Mejilla
Misago <i>et al.</i> ¹⁵⁴	2	M/85 M/82	QA+ CS QA bowenoide+ CS	Mejilla Mejilla

*CS: Carcinoma sebáceo; M: Mujer; QA: Queratosis actínica; V: Varón

B) Carcinoma epidermoide de células claras (CECC)

El CECC es una rara variante de CE descrita por primera vez por Kuo¹⁶⁰, que presentó 6 casos de CECC como un subtipo de CE que simulaba un carcinoma sebáceo. Ocurre con mayor frecuencia en ancianos, asociado a la exposición solar y se localiza fundamentalmente en cabeza y cuello. Las células claras pueden aparecer focalmente en un CE por lo demás típico pero a veces ocupan la mayor parte de la lesión, similar a un carcinoma sebáceo.

Kuo¹⁶⁰ distinguió tres patrones histológicos:

- I. CECC con áreas focales de queratinización y formación de perlas córneas (similares al CE clásico) y áreas de células claras.

II. CECC sin áreas de queratinización. Las células se disponían en cordones celulares que se anastomosaban y estaban rodeados de un estroma fibroso y células inflamatorias.

III. CECC pleomórficos, desorganizados, muy anaplásicos con células tumorales monstruosas, con algún área de queratinización y células acantolíticas formando cavidades pseudoglandulares.

Kuo¹⁶⁰ en base a los estudios inmunohistoquímicos describió que estas células claras no se producían por acúmulo de mucina (tinción de azul Alcian negativa), ni de glucógeno (tinción de PAS negativa), ni de lípidos (tinción Oil Red). Sin embargo otros autores sí que demostraron depósitos de glucógeno en los CECC con sus tinciones (tinción de PAS positiva)¹⁶¹. Kuo¹⁶⁰ concluyó que estas células serían el resultado de cambios degenerativos del citoplasma («degeneración hidrópica»^{162,163}).

En los estudios ultraestructurales con microscopía electrónica, Requena *et al.*¹⁶² encontraron vacuolas pequeñas sin membrana ni envoltura, que a veces confluían en vacuolas mayores similares a las vacuolas lipídicas. Al no poder realizar tinción para lípidos concluyeron que también podrían tratarse de degeneración hidrópica o de espacios vacíos. Otros autores refieren que es un fenómeno degenerativo lisosomal^{163,164}. Kwon *et al.*¹⁶¹ concluyeron que la mayoría de los CECC se producían por acúmulos de glucógeno, aunque en algunos tumores se producía un fenómeno degenerativo, con vacuolas citoplasmáticas más grandes junto a numerosos desmosomas y tonofilamentos típicos del CE.

Respecto a la etiopatogenia¹⁶⁵ del CECC, algunos autores^{166,167}, han postulado que podría tratarse de un carcinoma tricolemal. Dalton *et al.*¹⁶⁸ y Misago *et al.*¹⁶⁹ no pudieron demostrar diferenciación tricolemal mediante estudio inmunohistoquímico en los CECC.

Además mientras que el carcinoma tricolemal presenta de manera uniforme un excelente pronóstico, esto no ha sido así en el CECC.

Hay que realizar diagnóstico diferencial entre el CECC y el carcinoma sebáceo. El CECC muestra células claras sin evidencia de auténticas vacuolas en su citoplasma y presenta mayor grado de queratinización que el carcinoma sebáceo en forma de disqueratosis y remolinos paraqueratósicos, además con frecuencia se observa continuidad con una epidermis que muestra hallazgos de QA¹³⁴.

En el CE se ha descrito verdadera diferenciación sebácea muy infrecuentemente¹⁷⁰. Weedon¹³⁶ en su clasificación de neoplasias sebáceas lo incluye dentro del grupo de tumores con diferenciación sebácea focal y establece que hay que realizar el diagnóstico diferencial en estos casos entre el carcinoma sebáceo y el CEI asociado a la EB.

1. 2. 5. 2. Inmunohistoquímica de la diferenciación sebácea

Las tinciones en fresco con Oil red O y el Sudán IV permiten demostrar las vacuolas lipídicas en el interior de las células neoplásicas. Sin embargo la necesidad de utilizar secciones en fresco por congelación ha hecho decaer la utilidad de la técnica. Normalmente para el diagnóstico diferencial y la confirmación de la diferenciación sebácea se utiliza la inmunohistoquímica. Se han publicado diferentes técnicas que pueden ser útiles para confirmar la diferenciación sebácea como son: Antígeno de Membrana Epitelial (EMA)¹⁷¹, BCA 225¹⁷², citoqueratina 8^{134,173}, CA 15-3¹⁷², adipofilina¹⁷⁴, perilipin¹⁷⁵, el Receptor de Andrógenos¹⁷⁴, Ber-EP4¹⁷⁶, HMFG-1 o HMFG-2 (antígeno del glóbulo graso de la leche humana 1 y 2)¹⁷². La proporción de expresión de inmunoreactividad de cada técnica es variable de unas series a otras^{174,176}. Ninguno de los marcadores es específico de la diferenciación sebácea¹⁷⁷. En los casos en que sea necesario, la mayoría de autores recomiendan la utilización de uno o más anticuerpos¹⁷⁴. En nuestro estudio utilizamos la

combinación del Antígeno de membrana epitelial (EMA), el receptor de andrógenos (RA) y la adipofilina para el estudio de la diferenciación sebácea.

- **Antígeno de Membrana Epitelial (EMA)**

El EMA es una proteína glicosilada que se expresa en la superficie de varios epitelios glandulares y sus neoplasias. En la piel normal se ha demostrado su presencia en las glándulas sebáceas, tanto en el ducto excretor como en los sebocitos, tiñendo las microvacuolas lipídicas del citoplasma de estos últimos y, por lo tanto, constituye uno de los marcadores inmunohistoquímicos más utilizados en el estudio de la diferenciación sebácea en una neoplasia cutánea¹⁷⁸. En las glándulas ecrinas y apocrinas, en la mayoría de los casos el EMA se expresa tanto en su porción secretora como en su ducto excretor, aunque en algunos estudios el ducto ecrino ha resultado ser EMA negativo^{171,178}. También se expresa el EMA en las células perineurales. La positividad del EMA no se restringe a las neoplasias sebáceas, observándose también en el CE y en otras neoplasias anexiales¹⁷⁹. Aunque este antígeno no se expresa habitualmente en el epitelio escamoso normal, con frecuencia resulta positivo en el CE^{180,181}. Por este motivo pueden ser necesarios otros marcadores para poder establecer la diferenciación sebácea de una neoplasia¹⁸⁰ y establecer el diagnóstico diferencial entre el CE y el carcinoma sebáceo¹⁷².

- **Receptor de Andrógenos (RA)**

El receptor de andrógenos (RA) es un factor de transcripción nuclear que pertenece a la superfamilia de los esteroides y se une a andrógenos, testosterona y a la dihidrotestosterona. El RA está presente en la piel normal y se distribuye de manera similar en las diferentes localizaciones anatómicas. El RA es expresado en las glándulas sebáceas, con mayor afinidad

en las células germinativas que en los sebocitos (Fig. 1). También se expresa en las células secretoras de las glándulas sudoríparas, en las células de la papila dérmica del folículo¹⁸² y en una pequeña cantidad de las células basales de la epidermis¹⁷⁴.

Es positivo en las neoplasias sebáceas, por lo que se considera un marcador muy sensible de diferenciación sebácea incluso para diferenciar carcinomas sebáceos indiferenciados¹⁸³. También se ha descrito su positividad focal en los CB¹⁸⁴, en un porcentaje aproximado al 30 %. Se ha utilizado incluso el RA para diferenciar los CB y los tricoepiteliomas donde es negativo¹⁸⁵. En la mayoría de estudios publicados, se ha descrito como negativo en los CE^{183,184,186}. Ansai *et al.*¹⁷⁴ en su revisión de los marcadores inmunohistoquímicos del carcinoma sebáceo incluyeron 10 casos de CE y el RA sólo fue positivo para un caso, concluyendo que la técnica era útil en la diferenciación entre el CE y el carcinoma sebáceo. Sramek *et al.*¹⁷⁶ seleccionaron 6 casos de carcinomas sebáceos periorbitales, 6 CE poco diferenciados y 9 CB. El 100% de los CE fueron positivos para EMA y el 16.7% fueron focalmente positivos para el RA.

▪ **Adipofilina**

Las vías lipogénicas se encuentran activadas en las neoplasias que utilizan la glicólisis anaeróbica para proliferar¹⁸⁷. Las células que utilizan la lipogénesis requieren una o más proteínas para el mantenimiento de las vacuolas lipídicas, entre las que se incluyen la adipofilina (perilipin 2), perilipin (perilipin 1), perilipin 3 y OXPAT¹⁸⁸. La utilización del anticuerpo anti-adipofilina es muy útil en la identificación de lípidos intracitoplasmáticos, como los que se encuentran en los sebocitos (Fíg. 1). Resulta de gran utilidad en el diagnóstico del carcinoma sebáceo, para el que es positivo en el 90-100 % de los casos de cualquier localización¹⁸⁹. El patrón óptimo de tinción es el vesiculoso, marcando las membranas de las vacuolas lipídicas.

El diagnóstico de una neoplasia sebácea, mediante la positividad de la tinción granular es más controvertido. Ésta ha sido considerada como negativa^{174,190} porque también se ha encontrado en otros tumores no sebáceos, como el CE y en los macrófagos. Otros autores^{175,188} la han considerado sin embargo positiva al detectarla en los carcinomas sebáceos.

La adipofilina también se expresa con el patrón de tinción membranoso, en los histiocitos espumosos de las lesiones xantomatosas¹⁹⁰ y en las células epiteliales de las metástasis cutáneas del carcinoma renal¹⁷⁷, ya que, además de glucógeno, contienen múltiples vacuolas lipídicas en su citoplasma. Sin embargo, los adipocitos son adipofilina negativos, porque este anticuerpo no marca la membrana de la única y gran vacuola lipídica que ocupa la totalidad del citoplasma de las células adiposas¹⁸⁰.



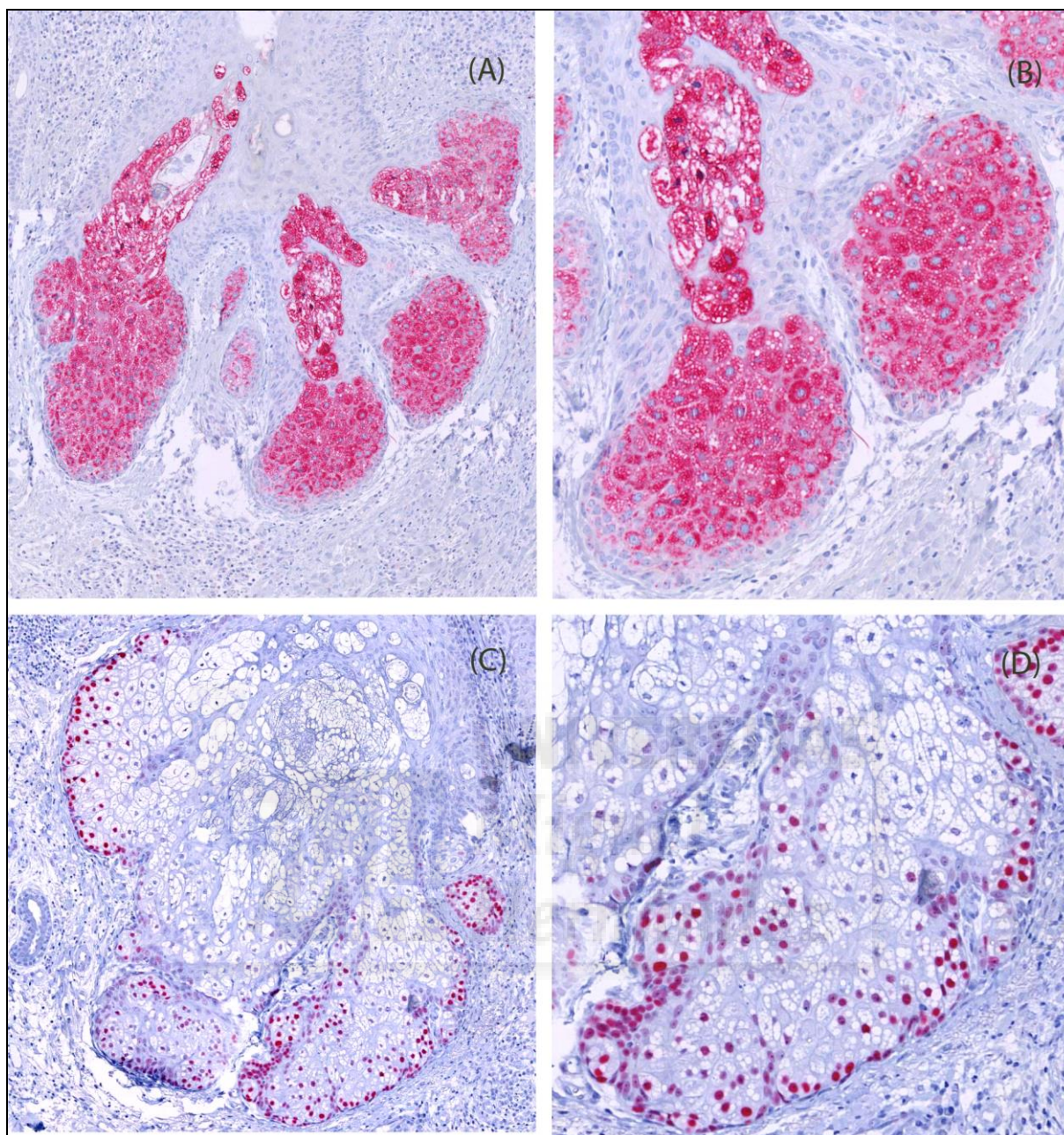


Fig. 1: (A) Inmunohistoquímica con adipofilina en las glándulas sebáceas; (B): Detalle de la adipofilina positiva en los sebocitos (patrón de tinción vesiculoso); (C): Inmunohistoquímica del receptor de andrógenos; (D): Detalle del predominio de la positividad nuclear en las células germinativas respecto a los sebocitos.

1. 3. OTROS CARCINOMAS EPIDERMÓIDES INTRAEPIDÉRMICOS

Existen lesiones genitales con una histología similar a la EB que incluyen la eritroplasia de Queyrat (en varones), la neoplasia intraepitelial vulvar (en mujeres) y la papulosis bowenoide (en ambos sexos). Dado que el objetivo de estudio de este trabajo ha sido la EB extragenital, las formas genitales las revisaremos brevemente:

- La eritroplasia de Queyrat, es un CE *in situ* que afecta al pene (glande, surco coronal o cara interna del prepucio sobre todo). Suele afectar a hombres no circuncidados y se manifiesta como una placa circunscrita, eritematosa y brillante, asintomática, que posteriormente puede hacerse más infiltrante o evolucionar hacia un CEI hasta en un 10% de los casos. Los cambios histológicos son los de un carcinoma *in situ* similar a la EB¹².

- La papulosis bowenoide está provocada por una infección por varios serotipo del VPH (sobre todo 16 y 18). Se caracteriza clínicamente por la aparición de lesiones papulosas aplanadas, habitualmente pigmentadas, en la zona genital. También se ha descrito la papulosis bowenoide extragenital, con unos hallazgos clínico-histológicos y una etiopatogenia similar¹⁹¹. Las alteraciones histológicas pueden ser indistinguibles de la EB. Algunos datos que favorecen el diagnóstico de papulosis bowenoide¹² son numerosas mitosis en metafase, los hallazgos de atipia y displasia intraepidérmica suelen ser más focales, la presencia de células gigantes multinucleadas monstruosas, mayor vacuolización citoplasmática y la existencia de una capa granulosa bien desarrollada y que no muestra células atípicas¹⁹².

- La neoplasia intraepitelial vulvar (VIN) agrupa las lesiones epiteliales preinvasoras de la vulva. Se caracteriza por presentar atipia celular y tener la posibilidad de progresar a una enfermedad invasora. Actualmente se distinguen dos tipos¹⁹³: la clásica (c-VIN) que se origina en mujeres jóvenes, producida por la infección por el VPH y otra denominada diferenciada o simple (d-VIN) que aparece en mujeres postmenopáusicas, no

relacionada con la infección por el VPH sino con enfermedades crónicas como el liquen escleroso o el liquen simple. Este último tipo es el precursor del CE queratinizante, mientras que el primero se asocia al CE verrucoso o basaloide. La actual clasificación de la WHO clasifica el VIN en tres grados, en base al grado de afectación de la epidermis. En una revisión posterior de la Sociedad para el estudio de las enfermedades vulvares (ISSVD)¹⁹⁴, se propuso eliminar el término VIN-I por su infrecuencia y bajo riesgo de progresión a CEI. Actualmente el VIN-I se considera una forma de condiloma acuminado producida por los subtipos del VPH 6 y 11. El término c-VIN agruparía actualmente los tipo II y III en una única categoría de alto riesgo. La forma d-VIN ya se consideraría un CE de alto riesgo.





JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

El cáncer de piel no melanoma es la forma más frecuente de cáncer en humanos. Dentro de los tumores epiteliales malignos, aproximadamente el 20% de los tumores corresponden a CE y el 80% CB. El CE es, por tanto, después del CB, el cáncer cutáneo de mayor incidencia en la raza blanca. Sin embargo si dentro de los registros de CE se incluyen las lesiones *in situ* o intraepidérmicas como la EB y las QA, el CE sería la forma de cáncer más frecuente en humanos¹⁹⁵.

La EB es una lesión de larga evolución, curso indolente y crecimiento muy lento¹⁹⁶. Sin embargo se ha estimado que aproximadamente el 5 % de los casos de EB pueden hacerse invasivos y el 13-20% desarrollar metástasis²⁷. Clínicamente, cuando se hacen invasivos, se presentan como un tumor de rápido crecimiento, ulcerado que crece sobre una placa eritemato-escamosa de meses o años de evolución.

Las células claras es un término descriptivo que hace referencia a la apariencia clara del citoplasma celular con las tinciones de Hematoxilina/Eosina (HE). Esta apariencia clara ha sido atribuida a diversos factores: acúmulo de material en el citoplasma (glucógeno, lípidos, mucina...), cambios degenerativos y artefactos de la técnica. Existe una gran variedad de tumores malignos y benignos que pueden presentar células claras.

Nuestro interés por este trabajo, surgió a partir de un estudio sobre los CE de células claras (CECC)¹⁹⁷. Después de analizar 249 casos de CE se observó una mayor cantidad de células claras en los CE que presentaban una EB como lesión previa y en los CE más desarrollados. Además se describieron dos patrones histológicos en los CE con células claras: un patrón con aparente diferenciación anexial que se asociaba a la existencia EB y otro de células claras alrededor de zonas queratinizantes que se asociaba a la presencia de QA. Aunque en la mayoría de los casos la observación de células claras no implicaba diferenciación anexial, se describió un subgrupo de 12 casos con probable diferenciación

luminal y/o de tipo sebáceo por lo que concluyeron que posiblemente se trataba de diferenciación seboapocrina. El predominio de lesiones de EB en estos carcinomas con diferenciación seboapocrina les hizo considerar todas estas lesiones como un continuo. La EB podría ser una lesión preexistente al CE invasor (CEI) con diferenciación sebácea.

Con el objetivo de clarificar la diferenciación sebácea en los CE, se realizaron las técnicas de inmunohistoquímica: EMA y RA en diez casos de EB. El EMA resultó positivo en ocho de los casos y además en dos de estos casos, obtuvimos también positividad para el RA. Después de nuestros resultados preliminares decidimos ampliar nuestro estudio a un mayor número de casos con el objetivo de estudiar los marcadores de diferenciación sebácea de la EB y comprobar si estos hallazgos podían corresponderse con los de los CEI derivados de la EB. Además seleccionaríamos otro grupo de CEI asociados a QA con el que comparar nuestros resultados.





HIPÓTESIS

3. HIPÓTESIS

1. La enfermedad de Bowen (EB) puede presentar signos de diferenciación sebácea.
2. Los carcinomas epidermoides (CE) invasores derivados de la EB presentarían unos hallazgos similares. La diferenciación sebácea se produciría desde el inicio del tumor y evolucionaría hasta las formas invasoras de un CE como un continuo.





OBJETIVOS

4. OBJETIVOS

1. El objetivo principal del estudio es evaluar si la enfermedad de Bowen (EB) puede presentar características de diferenciación sebácea (mediante estudio histológico e inmunohistoquímico) y si éstas son similares a las de los carcinomas epidermoides (CE) invasores derivados de la enfermedad de Bowen.

2. Los objetivos secundarios son:

- Determinación de las características epidemiológicas de la EB y de los CE invasores incluidos (edad, sexo y localizaciones más frecuentes).
- Estudio descriptivo desde un punto de vista histológico e inmunohistoquímico, de las características de los casos de CE invasores incluidos clasificados según su lesión previa sea una QA o una EB.
- Análisis comparativo de los hallazgos entre los casos de EB y CE invasores.



MATERIAL Y MÉTODOS

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

El diseño elegido para la realización de este trabajo fue un estudio descriptivo y transversal.

5.2. ÁMBITO DEL ESTUDIO

El ámbito del estudio fueron los pacientes que habían sido intervenidos de enfermedad de Bowen (EB) o de carcinoma epidermoide invasor (CEI) con estudio histopatológico, en el servicio de Anatomía Patológica del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca desde el 1 de enero del 2008 hasta el 31 de diciembre del 2014.

5.3. RECOGIDA DE MUESTRAS

En primer lugar, obtuvimos un listado informático a través del archivo de anatomía patológica de todos aquellos pacientes con diagnóstico codificado de CE y piel. En este listado sólo están incluidos los CE de piel, excluyendo por tanto aquellos localizados en mucosas (como la oral, conjuntiva o genital). Tras extraer todas las preparaciones histológicas del archivo de Anatomía Patológica, fueron analizadas en un microscopio, por dos patólogos expertos en Dermatopatología (Dr. Enrique Martínez Barba y Dr. Sebastián Ortiz Reina), por el Dr. Raúl Corbalán Vélez y por la doctoranda. Durante este análisis se realizó la inclusión o exclusión de los casos en el estudio según los criterios detallados a continuación. Sólo fueron seleccionados los casos con confirmación histológica de EB o de CEI. En estos últimos se

incluyeron sólo los casos en los que pudiera observarse lesión epidérmica asociada de QA o de EB. En base a la lesión preexistente realizamos la clasificación de los CEI incluidos.

Los datos clínicos (edad, sexo, localización, recidiva o reextirpación del CE...) se obtuvieron de: la historia clínica del paciente y/o la base de datos informática del Servicio de Anatomía Patológica, según el caso. Todos estos datos, salvo el número de identificación, permanecían desconocidos al examinar cada caso, para mantener la objetividad de las observaciones.

5. 4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Lesiones cutáneas con diagnóstico de EB o de CEI con lesión epidérmica asociada confirmada de QA o de EB (extirpadas en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca durante los años 2008-2014)
- Si existieran varios CE extirpados a un mismo paciente, consideraríamos cada uno de los CE como casos individuales, siempre que no se tratase de una reextirpación o de una recidiva.

5. 5. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- CE sobre mucosas (como la oral, conjuntiva o genital). Los CE en estas localizaciones no se estudiaron ni aparecen en el listado de carcinomas cutáneos. Al originarse sobre una semimucosa y/o mucosa, se trata de una zona con histopatología distinta.
- Lesiones no diagnosticadas de CE. Excluimos aquellos casos que tras realizar una revisión histopatológica, no se confirmó el diagnóstico de CE.
- CE asociados a queratoacantomas (QAcant). Se trata de lesiones con una histopatología distinta a la EB¹⁹⁸.

- CEI en los que no pudiera identificarse la lesión preexistente diagnóstica clasificable como QA o EB.
- Muestras no valorables. Preparaciones en las que no era posible un buen análisis de la epidermis adyacente al tumor (borde libre tumoral muy escaso, preparaciones muy artefactadas, biopsias-punch sin extirpación posterior, curetaje y electrocoagulación del tumor, etc).
- Reextirpaciones. Consideramos como reextirpaciones aquellos casos en que, por ejemplo, se realizó una biopsia previa y extirpación posterior, o aquellas extirpaciones con bordes quirúrgicos afectados y reextirpación posterior. En estos casos sólo analizamos una pieza tumoral, bien la de la biopsia/extirpación primera o bien la de la reextirpación. Habitualmente escogimos la primera extirpación (que no presenta cicatriz ni alteraciones en la epidermis adyacente al tumor), excepto cuando se trataba de una biopsia parcial de un tumor.
- Recidivas de CE extirpados previamente. Únicamente analizamos el primer CE extirpado, y no su recidiva.

5. 6. CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL

El cálculo del tamaño muestral se realizó utilizando las diferencias de prevalencia en la expresión del RA entre los diferentes grupos de CE.

En la revisión de la literatura, el RA ha sido negativo en los CE en la mayoría de estudios, sin embargo otros autores han encontrado positividad en el 16 % de los CE^{174,176}. Para determinar la prevalencia de la expresión del RA, realizamos un estudio piloto con los primeros 25 casos de EB incluidos y obtuvimos un porcentaje de positividad del 13 %. Además se eligió un error α del 5% y una potencia del 80%. Los cálculos se realizaron con el programa estadístico SPSS 19.0 para Windows con la macro !NSize¹⁹⁹. Fue obtenido un tamaño muestral necesario de 147 casos (49 sujetos por grupos de CE).

5. 7. DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES

- Datos sociodemográficos

- N° Orden: Número de orden del caso estudiado.
- Edad: Años desde la fecha de nacimiento a la de la de la extirpación.
- Sexo: Hombre o Mujer.

- Datos clínicos

- Fecha de extirpación: Fecha en la que se extirpó la lesión analizada.
- Localización: Zona en que se encontraba la lesión (cuero cabelludo, frente, mejilla-pómulo-párpado-mandíbula, nariz, labios, orejas, cuello, tórax, espalda, extremidades superiores e inferiores). Posteriormente se reagrupó esta variable en: Localización agrupada (cabeza y cuello, tronco, extremidades superiores e inferiores).

- Datos histopatológicos

- Porcentaje de células claras: Definimos como células claras aquellas que presentaban un citoplasma amplio, de aspecto “vacío” con la tinción Hematoxilina/Eosina (HE). No consideramos como células claras aquellas que únicamente presentaban una tinción citoplasmática eosinófila o anfófila más débil. El porcentaje de células claras (CCL) observado en cada caso, se puntuó de forma semi-cuantitativa en (I) Ausencia, (II) <33%, (III) $\geq 33\%$ -<66% y en (IV) $\geq 66\%$. Posteriormente se reagrupó esta variable en: (I y II) <33% y (III-IV) $\geq 33\%$ -100%.
- Citoplasma microvacuolado: Presencia o no de citoplasma microvacuolado en las células claras, que recuerda al de las células sebáceas.

▪ Elastosis solar: Presencia de elastosis solar (degeneración basófila del colágeno) y si ésta se extendía hasta dermis reticular (DR) superficial (elastosis solar leve), hasta la DR media (moderada) o hasta la DR profunda (intensa). La elastosis se reagrupó en: ausente, leve o moderada-intensa. La medición de la profundidad de la elastosis puede ser menos objetiva en determinadas localizaciones en que la dermis tiene un menor grosor (como los pómulos o la frente), aunque se adaptaron los hallazgos valorados a cada caso concreto.

5. 8. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO

Fueron realizados los estudios inmunohistoquímicos, con el fin de descartar y/o confirmar la diferenciación sebácea, mediante la técnica de inmunoperoxidasa. Para realizar esta técnica el tejido incluido en parafina se desparafinó en xileno y se rehidrató con alcohol de distintos grados. Posteriormente se realizaron cortes de cuatro micras y se le añadió el anticuerpo que queríamos estudiar.

En la primera parte fue realizado el receptor de andrógenos (RA) y el antígeno de membrana epitelial (EMA) en todos los casos incluidos en el estudio. Posteriormente tras observar los resultados obtenidos en la HE y el RA se realizó un subgrupo que incluyó a los siguientes casos: tumores con ≥ 33 % de células claras (Células claras III-IV) y tumores con el RA positivo. En este grupo se completó el estudio inmunohistoquímico con adipofilina. Además se realizó la tinción con ácido periódico de Schiff (PAS) y PAS-diestasa (PAS-d) en aquellos tumores dentro del grupo seleccionado que tuvieran presencia de células claras.

Los anticuerpos utilizados, fueron de la casa comercial Cell Marque para la adipofilina y de Roche para el EMA y el RA. Fueron utilizados a las diluciones recomendadas por los fabricantes. Los colorantes empleados fueron la diaminobenzidina (color marrón) y el aminoetilcarbazol (color rojo).

En cada estudio inmunohistoquímico se valoró el porcentaje de positividad. Fue considerada como negativa cuando se obtuvo una positividad menor del 5% en el tumor. La positividad fue clasificada de la siguiente forma: Focal (positivo $\geq 5\%$ - $\leq 25\%$), Difusa I (positivo $> 25\%$ - $\leq 75\%$) y Difusa II (positivo en más del $> 75\%$). Posteriormente se agruparon los resultados positivos en: Focal $\geq 5\%$ - $\leq 25\%$ y Difuso $> 25\%$. Como control interno de las tres técnicas inmunohistoquímicas (EMA, RA y adipofilina), fueron utilizadas las glándulas sebáceas normales. En la adipofilina se valoraron como positivos los casos con patrón de tinción membranoso (positividad en las vacuolas lipídicas intracitoplásmicas, de forma similar al que se observaba en los sebocitos). El patrón de tinción focal granular, fue considerado como negativo.

5. 9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

- Todos los datos obtenidos fueron introducidos en una base de datos protegida en Microsoft Access 2010 y procesados mediante el paquete estadístico SPSS 19.0 para Windows.
- La normalidad de la distribución de las variables fue valorada con el test de Kolmogorov-Smirnov (corrección de Lilliefors).
- Para la descripción de las variables con una distribución normal se presentaron mediante la media \pm desviación estándar y los datos de distribución no normal, en forma de mediana y rango intercuartílico (RIC). Las variables categóricas se expresaron mediante número de casos y porcentajes.
- La relación entre variables categóricas se estudió mediante la prueba de Chi-cuadrado de Pearson (con la prueba exacta de Fisher en caso de no cumplirse sus criterios de aplicabilidad).

- La comparación de dos variables cuantitativas continuas se llevó a cabo mediante la prueba t de Student para medias independientes. El supuesto de homogeneidad de varianzas se comprobó con la prueba de Levene. En el caso de que las variables no tuvieran una distribución normal se aplicó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney.
- Para la comparación de más de dos medias se empleó el análisis de la varianza. El supuesto de normalidad se comprobó con la prueba de Shapiro-Wilk. Si la distribución de la variable no seguía el patrón normal, se empleó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis.
- Para analizar la relación entre las variables y el tipo de tumor se realizó un estudio univariante. Posteriormente se realizó un análisis de regresión logística multivariante introduciendo las variables que habían resultado significativas previamente. Fueron calculadas la Odds ratio (OR) y sus intervalos de confianza (IC).
- Las estimaciones se consideraron estadísticamente significativas para el valor del riesgo alfa <0.05 .

5. 10. CONSIDERACIONES ÉTICAS

La recogida, tratamiento y uso de los datos requeridos para este estudio se ha realizado de acuerdo con las normas de Buena Práctica Clínica y la legislación vigente en España relativa a este tipo de estudios observacionales (Ley Orgánica 15/1999, sobre Protección de datos de Carácter Personal y Real Decreto 1720/2007 por el que se aprueba el Reglamento de desarrollo de dicha Ley). El protocolo del estudio fue evaluado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínico Virgen de la Arrixaca, que emitió un dictamen favorable (Anexo I). El acceso a los datos de la historia clínica se ha realizado guardando la más estricta confidencialidad. La información clínica ha sido anonimizada asignándosele un

código numérico. El estudio se ha desarrollado preservando material histológico suficiente por si fuera necesario algún estudio posterior para el paciente.





RESULTADOS

6. RESULTADOS

6.1. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA

Fueron incluidos en el estudio 145 casos de CE en los que habían: 62 casos de EB, 48 casos de CEI derivados de la EB (CEI-EB) y 35 casos de CEI asociados a QA (CEI-QA) (Fig. 2).

La edad de los pacientes estudiados estuvo comprendida entre los 48 y los 100 años. La mediana de edad fue de 81.5 (RIC de 12.4). En los varones la mediana de edad fue de 80 años (RIC 15) y de 83.5 en las mujeres (RIC 8) ($p= 0.007$). La muestra incluyó a 92 hombres (63.4 %) y 53 mujeres (36.6 %). Las localizaciones más frecuentes, fueron la cabeza y el cuello (70 %) y después las extremidades inferiores (15 %).

En relación a las variables histopatológicas, encontramos células claras en 68 casos (47.2 %). La mayoría fueron del intervalo con $<$ del 33% de células claras (49 casos). En los intervalos con $\geq 33\%$ - $<66\%$ se identificaron 17 casos (12 %) y en el de $\geq 66\%$ de células claras 2 casos (1.4 %). Además se objetivó microvacuolado citoplasmático en 36 casos (25.7 %). El EMA fue positivo en la mayoría de los casos (82.8 %). La expresión del RA fue positiva en 17 casos (11.9 %). Esta positividad fue focal en 12 casos (8.4 %) y difusa en 5 (3.5 %).

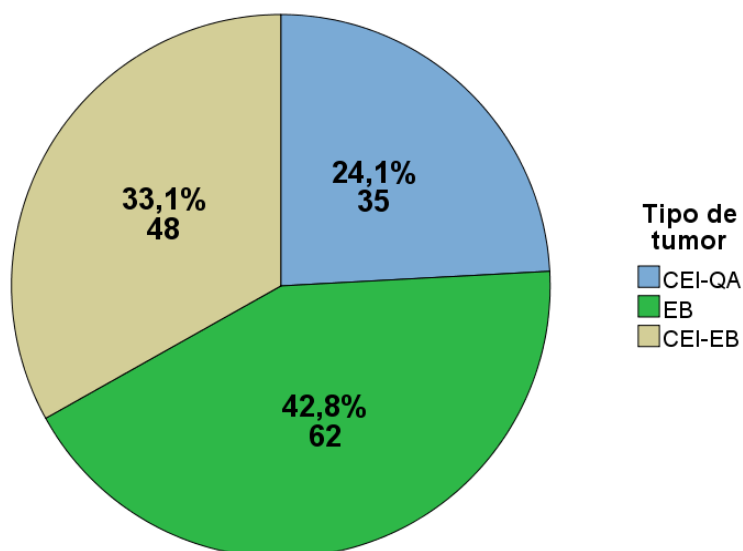


Fig. 2: Distribución por tipo de tumor incluido.

6. 2. ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LAS VARIABLES EN RELACIÓN CON EL TIPO DE TUMOR

6. 2. 1 Datos sociodemográficos

▪ Edad

La edad de los pacientes fue similar en los tres grupos de CE ($p=0.478$). La mediana de edad para la EB fue de 80 años (RIC 13.5) y para los otros dos grupos de CE invasor de 83 años.

▪ Sexo

En los grupos de CEI-QA y CEI-EB hubo una mayor prevalencia de hombres respecto a mujeres (75 % vs 25 %), mientras que en la EB predominaron las mujeres (47 % vs 53 %) ($p=0.001$).

- Localización

La localización más frecuente para los tres tipos de tumor fue la cabeza y el cuello, seguida por las extremidades inferiores para la EB ($p < 0.001$) (Fig. 3).

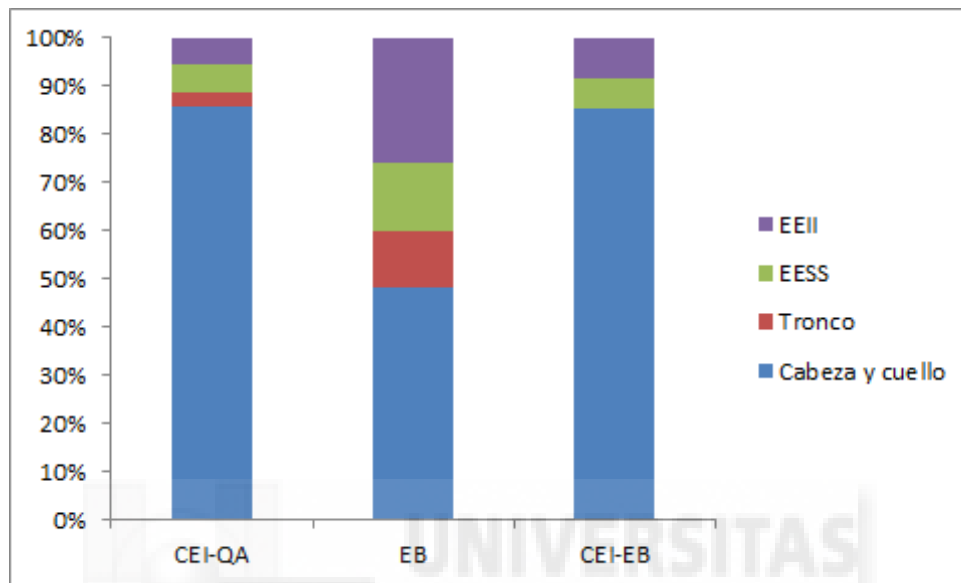


Fig.3: Localización agrupada y clasificada por tipo de tumor.

6. 2. 2 Variables histopatológicas

- Porcentaje de células claras

Las células claras fueron más frecuentes en la EB (43.9 %) y en los CEI-EB (39.4 %) ($p=0.230$). Además los CEI-EB presentaron mayor cantidad de células claras. El 21.7% de los casos de este grupo presentaron más de un 33 % de células claras (Fig. 4).

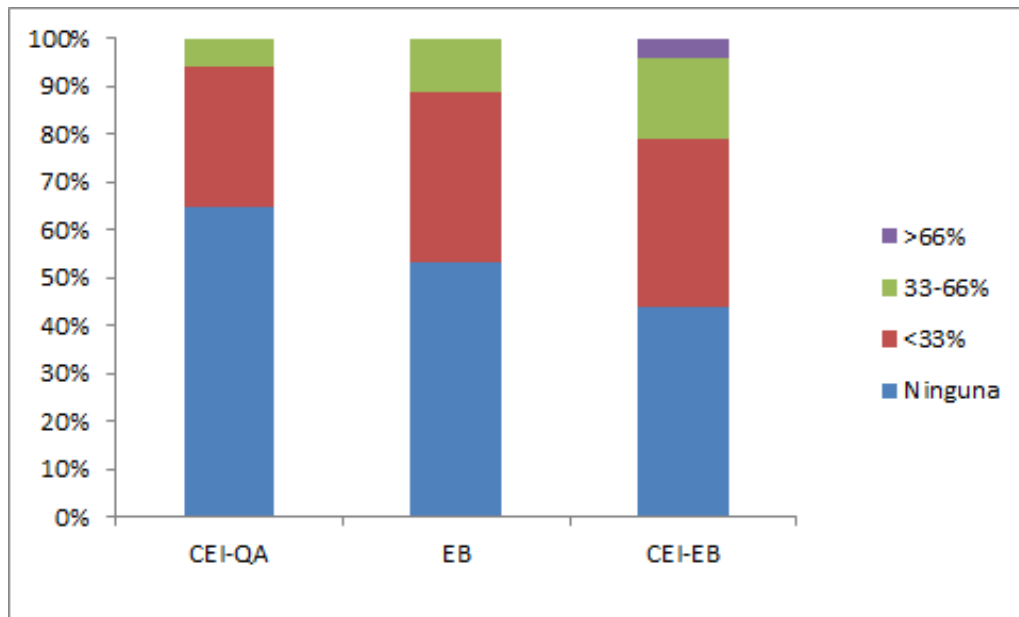


Fig.4: Distribución de la frecuencia de células claras por tipo de tumor.

- Microvacuolado

El microvacuolado citoplasmático predominó en los CEI-EB donde se identificó en el 39.6 %. En la EB se observó en el 20.7 % y en los CEI-QA en el 14.7 % ($p=0.021$) (Fig. 5).

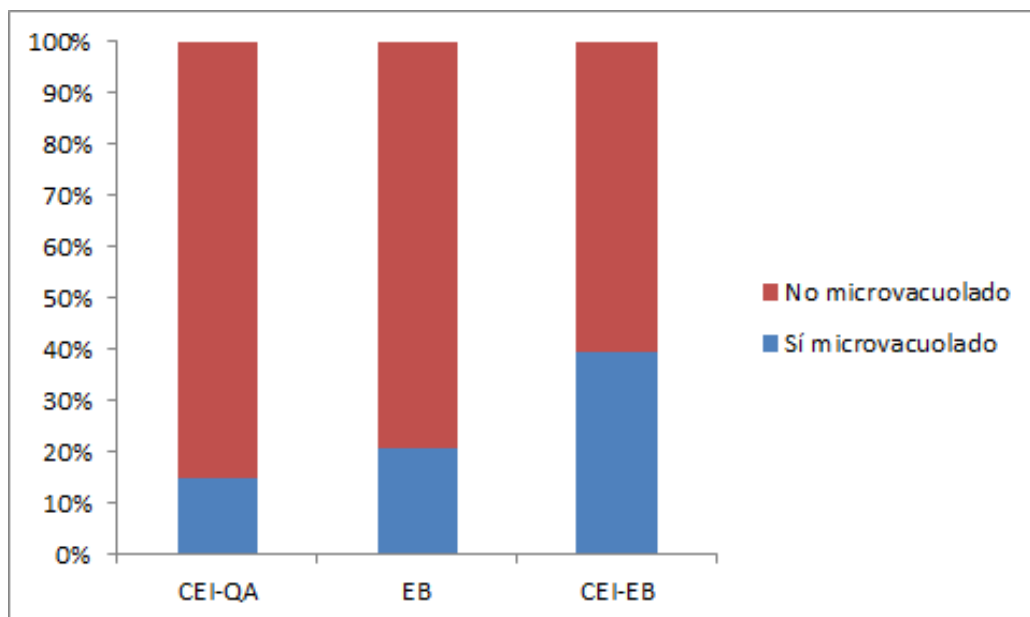


Fig. 5: Distribución del microvacuolado citoplasmático por tipo de tumor.

Cuando seleccionábamos el subgrupo con células claras (Fig. 6) también predominaba el microvacuolado citoplasmático en el grupo de CEI-EB (70.4 %) (Fig. 7). En la EB se identificaba en el 48 % y en los CEI-QA en el 41.7 % ($p=0.141$).

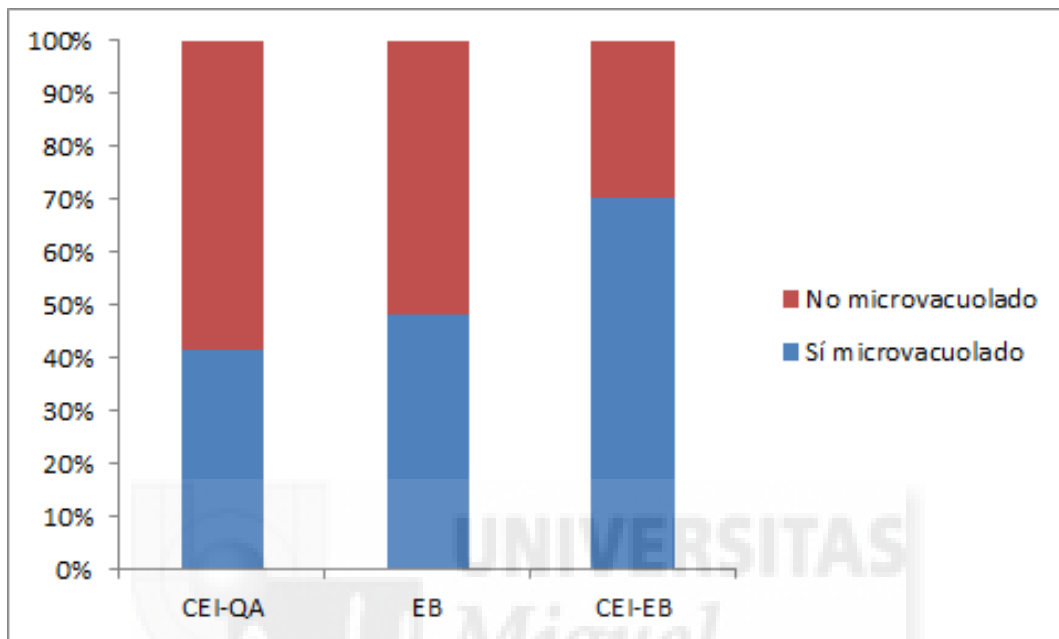


Fig.6: Microvacuolado citoplasmático por tipo de tumor en el grupo con células claras.

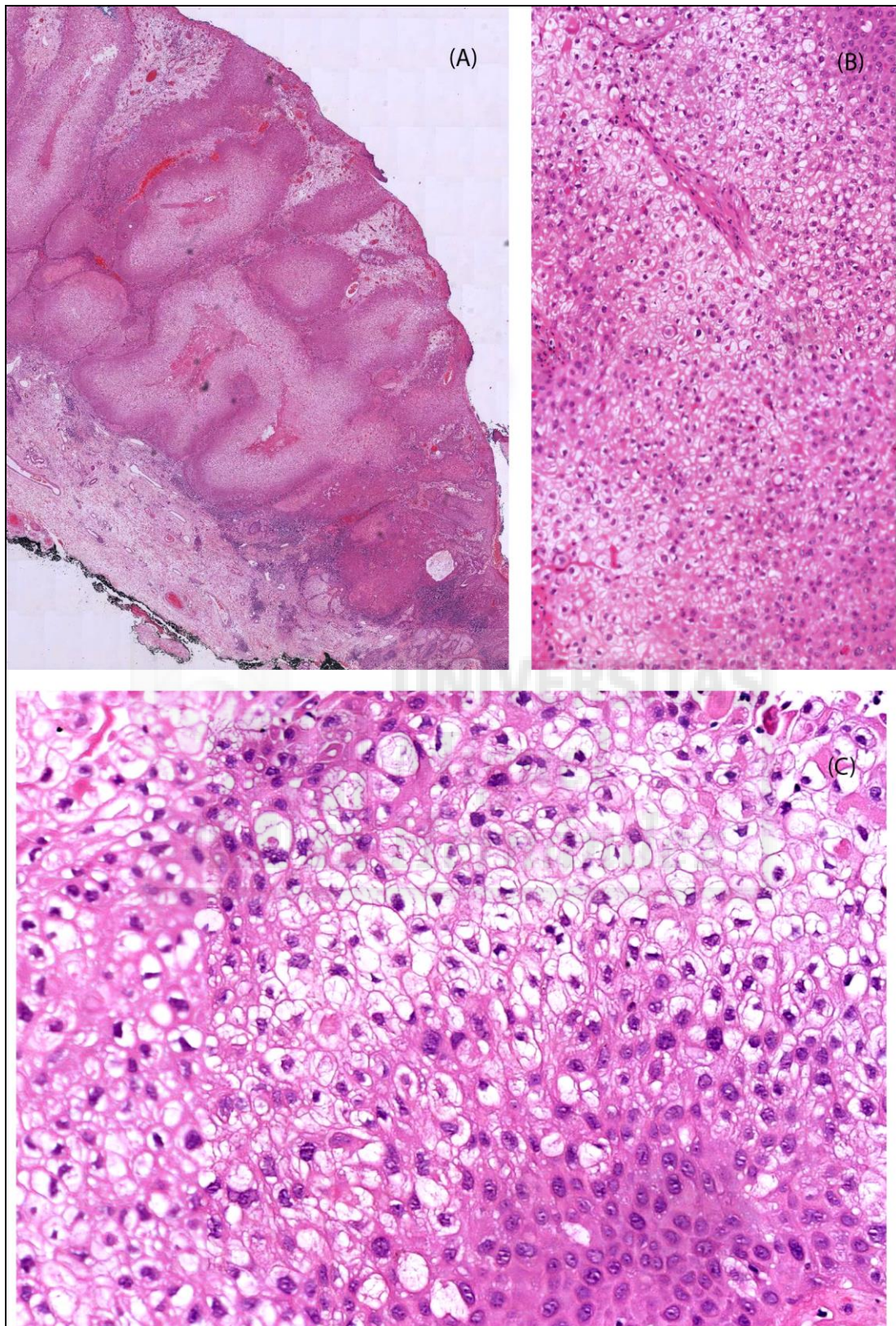


Fig.7: (A) Carcinoma epidermoide invasor asociado a enfermedad de Bowen
(B) y (C): Detalles con células claras con citoplasma vacuolado.

- Elastosis solar

La elastosis destacó en los CE invasores donde se objetivó en más del 80 % frente a la EB en la que aparecía en el 67.7 % (Fig. 8). Sin embargo, la elastosis intensa predominó en la EB (12.9 %) y en los CEI-EB (8.3 %; $p=0.190$).

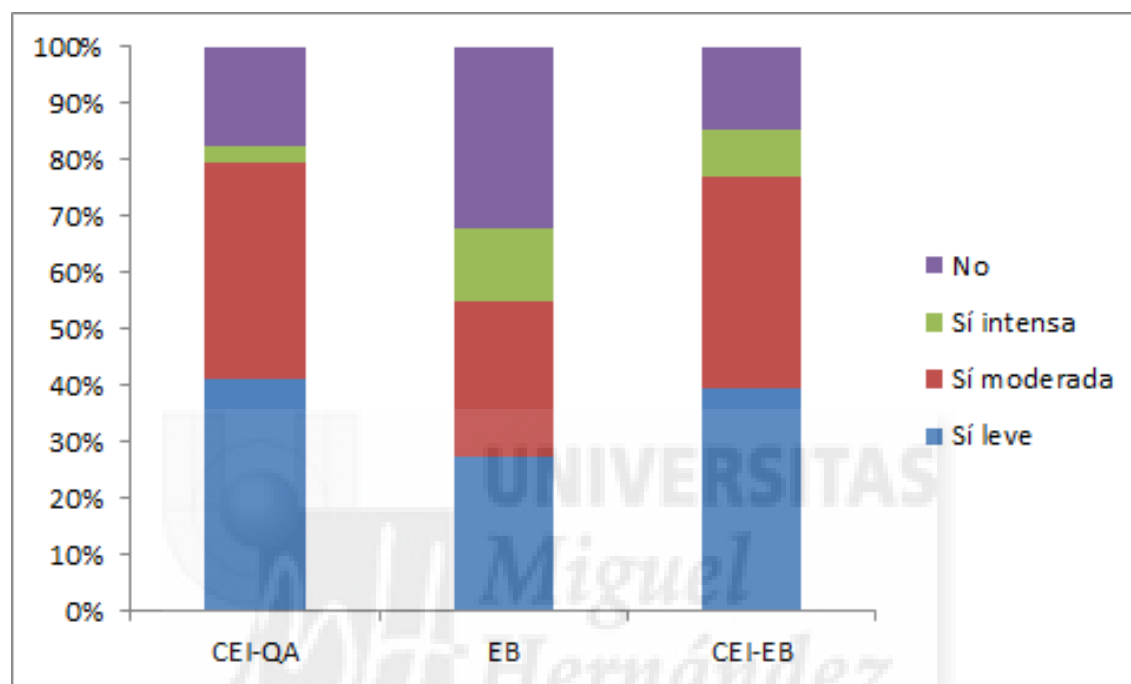


Fig.8: Elastosis solar por tipo de tumor.

7.2.3 Variables inmunohistoquímicas

- EMA

La expresión de EMA fue mayor en el grupo de EB (83 %) y en el de CEI-EB (89.6 %; $p=0.013$) (Fig. 9). Además éste último grupo presentó el mayor porcentaje de positividad difusa (64.6 %) (Fig. 12 y 13).

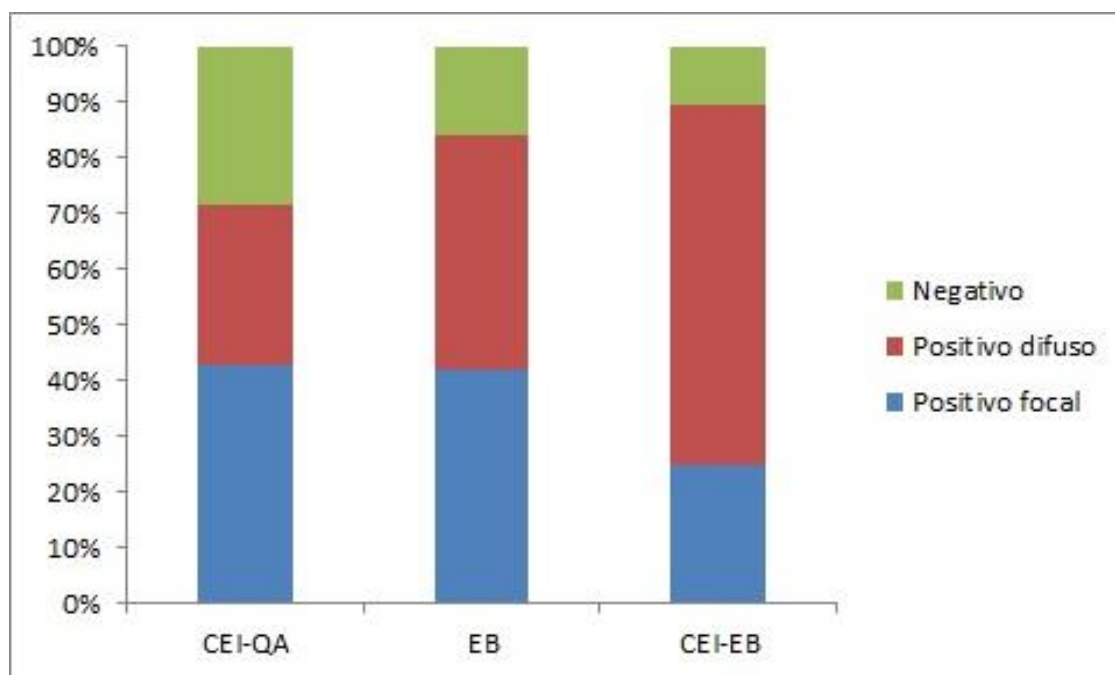


Fig.9: Expresión de EMA según el tipo de tumor.

▪ Receptor de andrógenos

El RA fue negativo para todos los casos de CEI-QA (Fig. 10). La EB presentó 14 casos positivos (23 %) ($p=0.01$). Este grupo tuvo positividad focal en 10 casos (16.4 %) (Fig. 11) y difusa en 4 casos (6.6 %) (Figs. 12-14). En el grupo de CEI-EB se obtuvieron 3 casos positivos (6.3 %). Dos de estos casos tuvieron positividad focal para el RA y uno difusa.

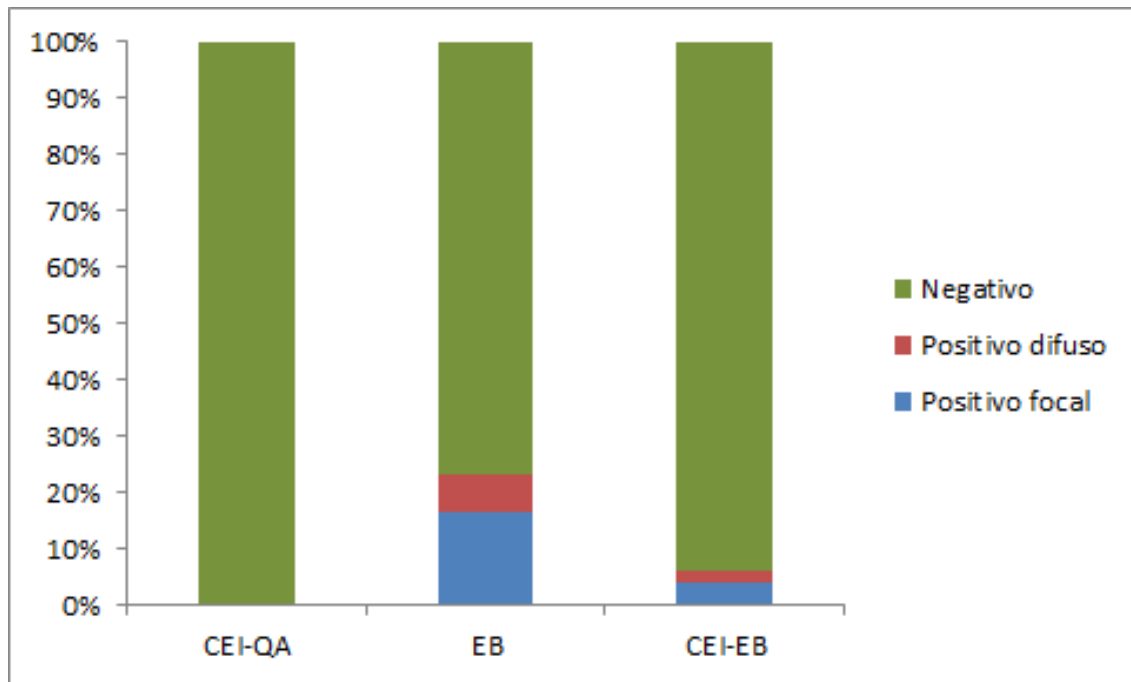


Fig. 10: Expresión del receptor de andrógenos según el tipo de tumor.

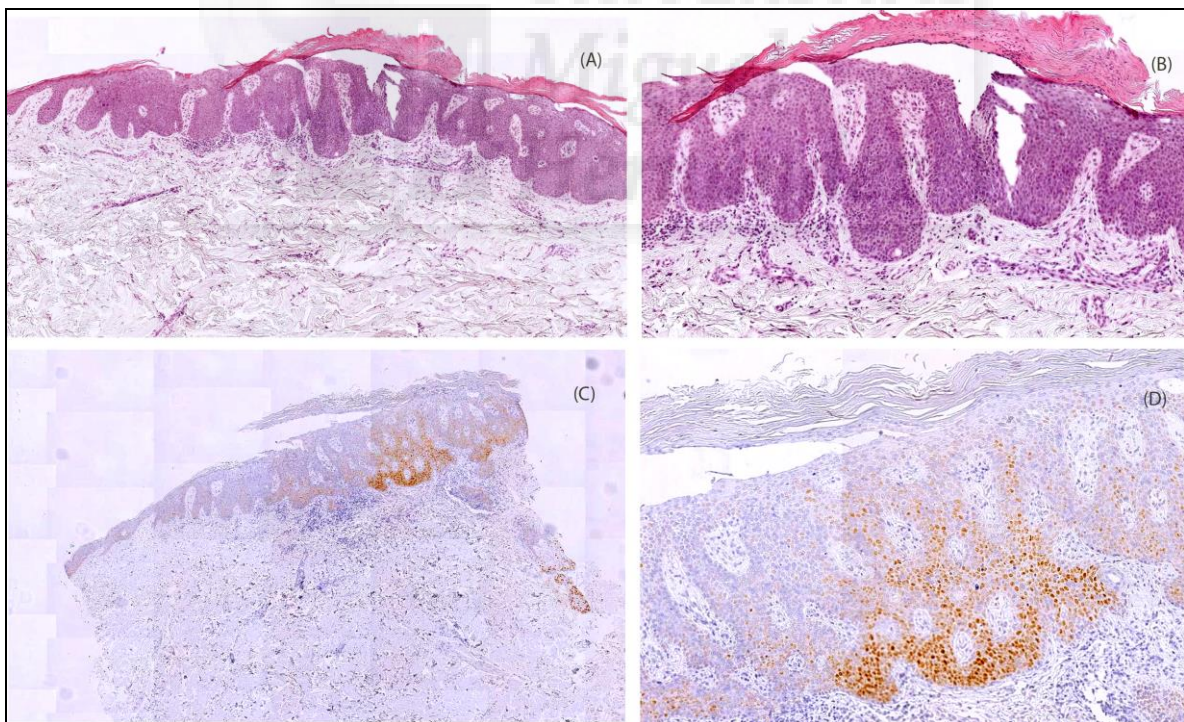


Fig. 11: (A) Enfermedad de Bowen (EB); (B): Detalle de una EB sin células claras; (C): Inmunohistoquímica del receptor de andrógenos; (D): Detalle de la positividad focal del receptor de andrógenos.

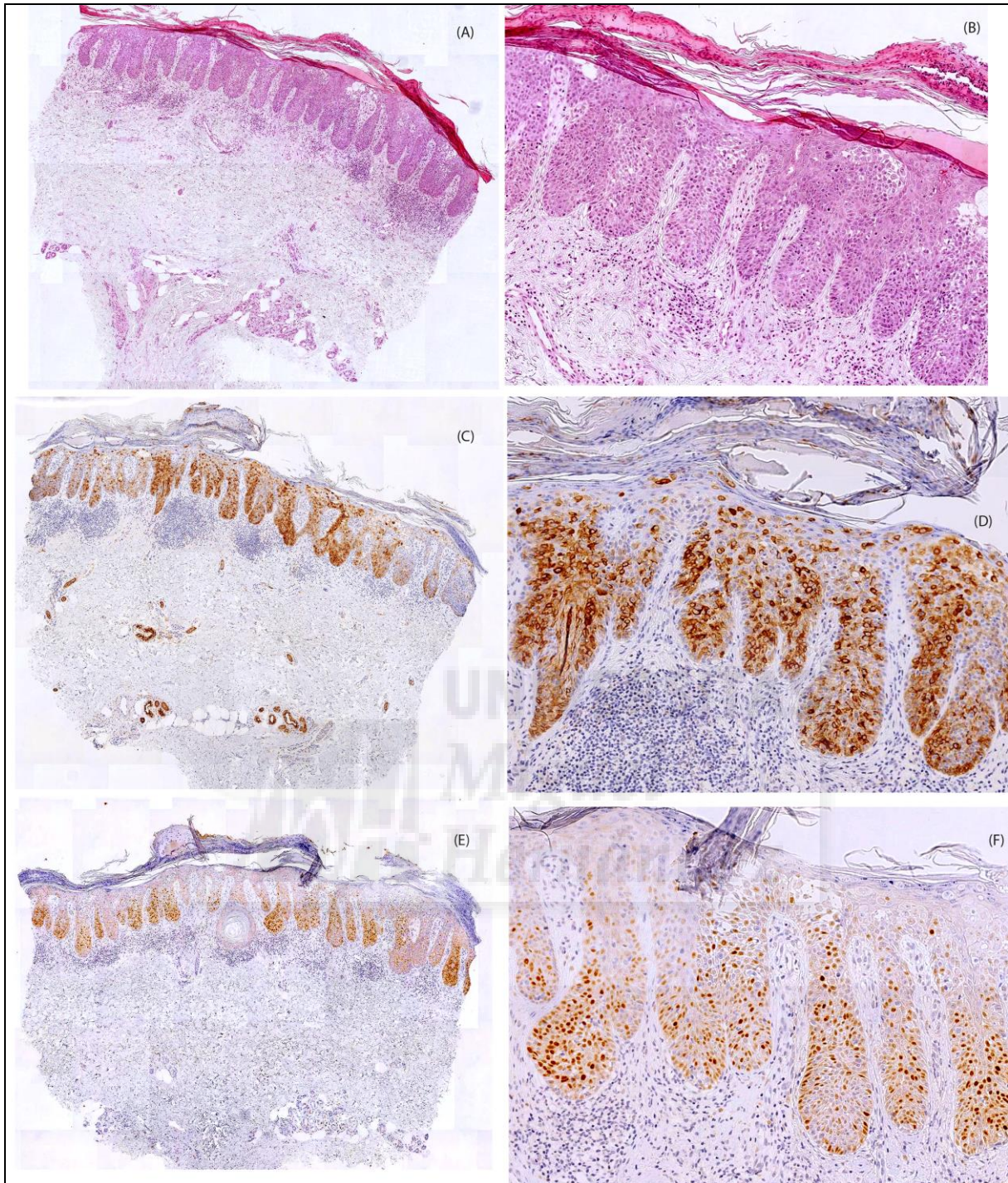


Fig. 12: (A): Enfermedad de Bowen; (B): Detalle con atipia en todas las capas de la epidermis; (C): Estudio inmunohistoquímico con EMA; (D): Detalle de la positividad con EMA; (E): El mismo caso estudiado con el RA; (F): Detalle de la positividad nuclear difusa para el RA.

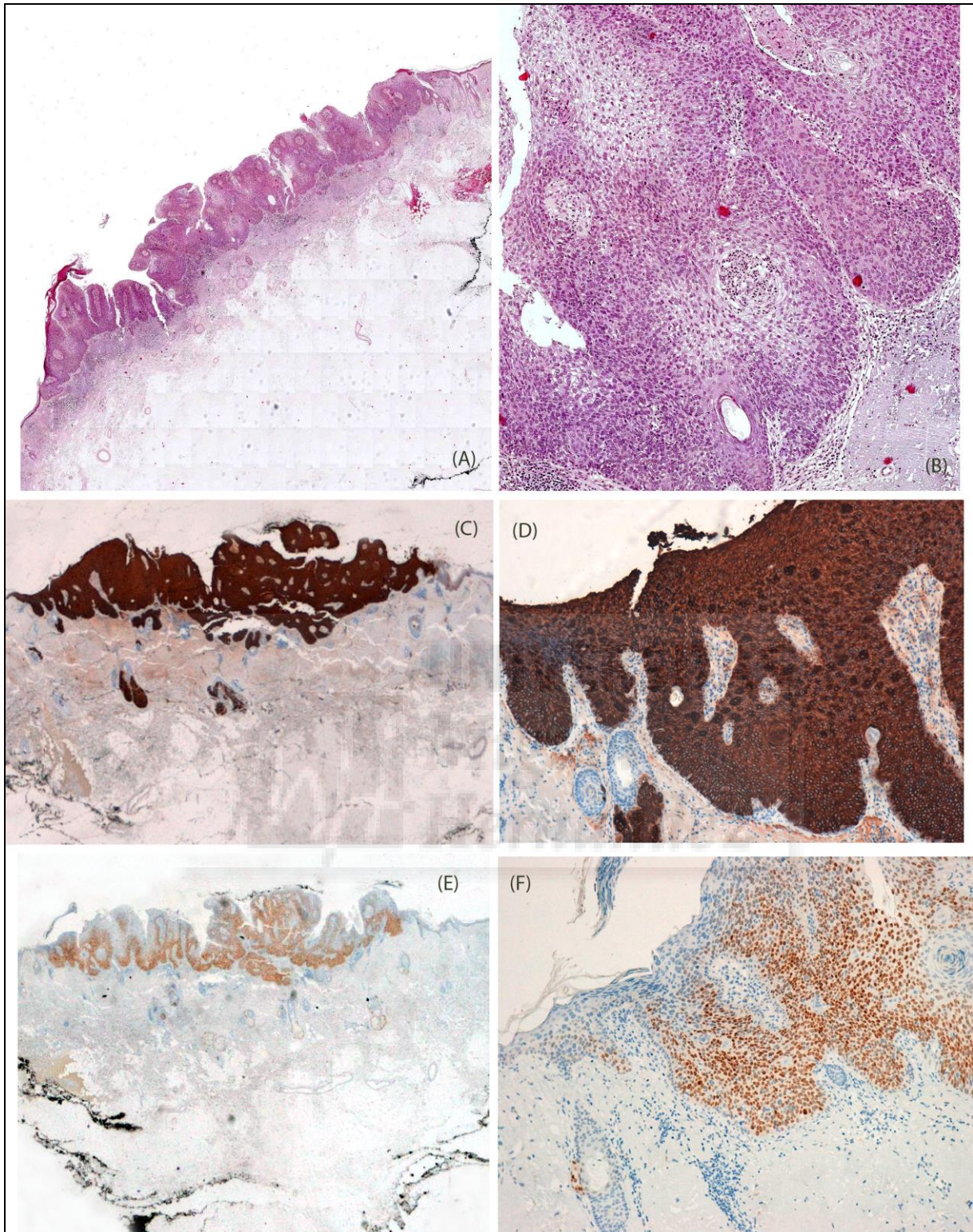


Fig. 13: (A): Enfermedad de Bowen (B): Detalle con células claras; (C): Estudio inmunohistoquímico con EMA; (D): Detalle de la positividad difusa para EMA; (E): El mismo caso estudiado con el RA; (F): Detalle de la positividad nuclear difusa para el RA.

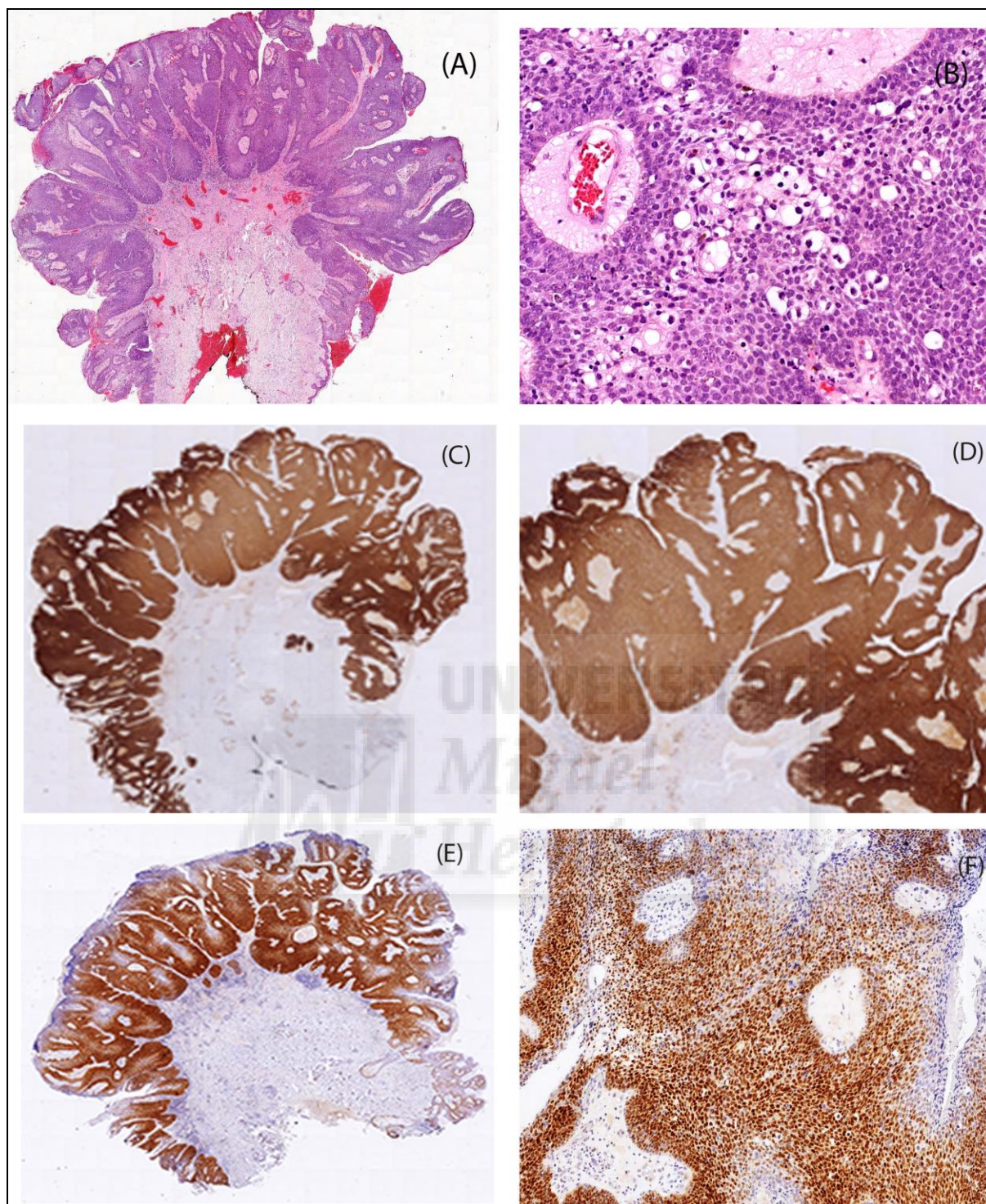


Fig. 14:(A): Enfermedad de Bowen con áreas de infiltración de tipo expansivo; (B): Detalle con células claras con citoplasma vacuolado; (C): Estudio inmunohistoquímico con EMA; (D): Detalle de la positividad para EMA; (E): El mismo caso estudiado con el RA; (F): Detalle de la positividad nuclear para el RA.

- Adipofilina

Fue solicitada la adipofilina en 36 casos del grupo seleccionado de tumores con \geq del 33% de células claras y/o expresión positiva del RA. En 7 casos no pudo realizarse por escaso material por lo que fueron excluidos. Dos casos de CEI-EB que presentaron tinción granular para la adipofilina fueron considerados negativos (Fig. 15).

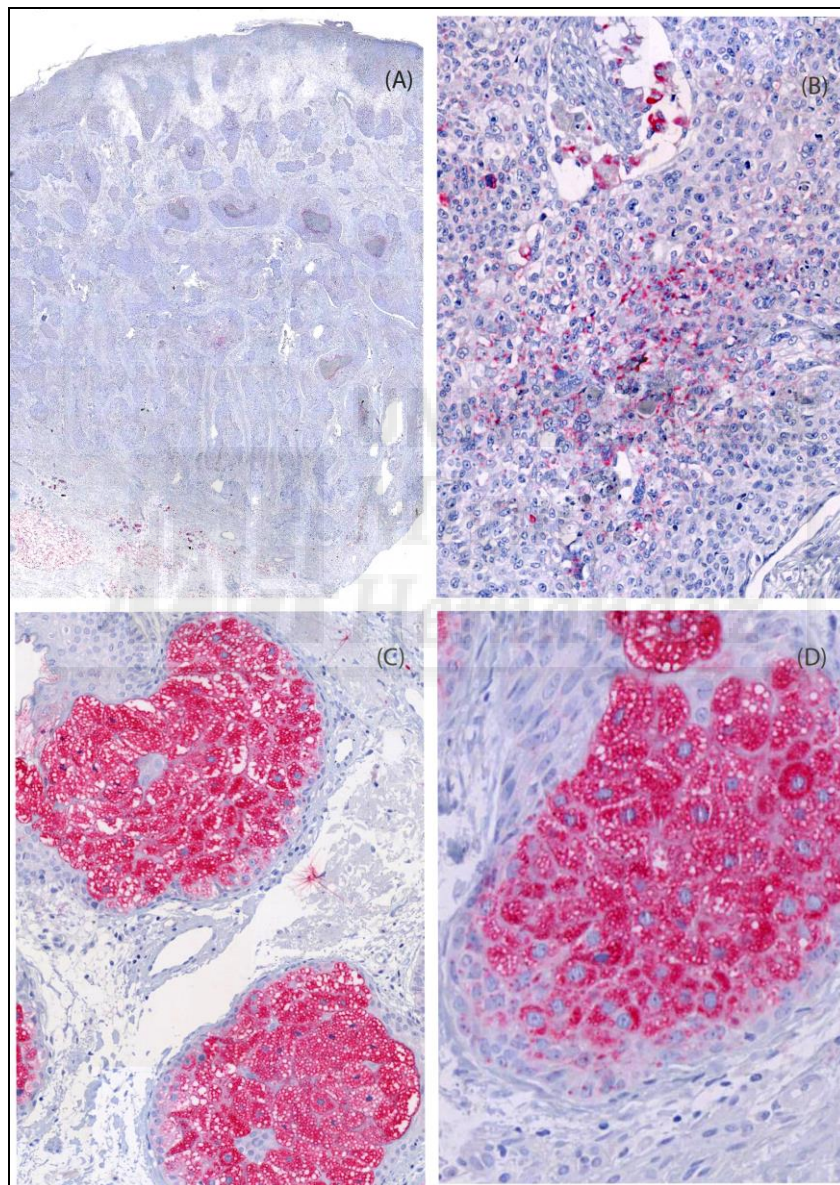


Fig. 15: (A): Inmunohistoquímica con adipofilina en un carcinoma epidermoide invasor (B): Detalle con la captación focal granular de la adipofilina; (C) y (D): Detalles de la captación vesiculosa en los sebocitos de las glándulas sebáceas normales.

Tabla 3: Descripción de las variables para cada tipo de tumor*

Variables	CEI - QA (N=35)	EB (N=62)	CEI - EB (N=48)	P
Variables sociodemográficas				
Edad	83 (RIC 8.7)	80 (RIC 13.5)	83 (RIC 13.3)	0.478
Sexo (Varón)	27 (77.1 %)	29 (46.8%)	36 (75 %)	0.001
Localización:				
-Cabeza y cuello	30 (85.7 %)	30 (48.4 %)	41 (85.4 %)	<0.001
-Tronco	1 (2.9 %)	7 (11.3 %)	0	
-EESS	2 (5.7%)	9 (14.5 %)	2 (6.3 %)	
-EEII	2 (5.7%)	16 (25.8 %)	3 (8.3 %)	
Variables histológicas				
Células claras				
- Ausencia	22 (64.7 %)	33 (53.2 %)	21 (43.8 %)	0.230
- <33%	10 (29.4 %)	22 (35.5 %)	17 (35.4 %)	
- ≥33 %	2 (5.9 %)	7 (11.3 %)	10 (20.8 %)	
Microvacuolado (sí)	5 (14.7 %)	12 (20.7 %)	19 (39.6 %)	0.021
Elastosis				
-No	6 (17.6%)	20 (32.3 %)	7 (14.6 %)	0.190
-Leve	14 (41.2 %)	17 (27.4 %)	19 (39.6 %)	
-Moderada-intensa	14 (41.2 %)	25 (40.3 %)	22 (45.8 %)	
Variables inmunohistoquímicas				
EMA				
-Negativo	10 (28.6 %)	10 (16.1 %)	4 (10.4 %)	0.013
-Focal	15 (42.9 %)	26 (41.9 %)	12 (25 %)	
-Difuso	10 (28.6%)	26 (41.9 %)	31 (64.6 %)	
RA				
-Negativo	34 (100 %)	47 (77 %)	45 (93.8 %)	0.010
-Focal	0	10 (16.4 %)	2 (4.2 %)	
-Difuso	0	4 (6.6 %)	1 (2.1 %)	

*CEI- EB: Carcinoma epidermoide invasor derivado de la enfermedad de Bowen; CEI- QA: Carcinoma epidermoide invasor derivado de queratosis actínica; EB: Enfermedad de Bowen; EMA: Antígeno de membrana epitelial; EESS: Extremidades superiores; EEII: Extremidades inferiores; RA: Receptor de andrógenos.

6.3. COMPARACIÓN ENTRE ENFERMEDAD DE BOWEN Y CARCINOMA EPIDERMÓIDE INVASOR DERIVADO DE LA ENFERMEDAD DE BOWEN

Para realizar esta comparación se han excluido los casos de CEI-QA, seleccionando únicamente los grupos de EB y de CEI-EB. Los datos de esta comparación se encuentran recogidos en la tabla 4.

La edad no presentó diferencias significativas. Ambos grupos presentaron su mediana de edad en la octava década (83 EB vs. 80 años CEI-EB). En cuanto al sexo hubo un predominio del sexo varón en el grupo de CEI respecto al grupo de EB (75 vs. 47 %; $p=0.003$). En el grupo de CEI la localización predominante fue en la cabeza y cuello (85 % vs. 48 %). La elastosis solar y la expresión de EMA no presentaron diferencias significativas. El RA presentó un mayor porcentaje de positivos en la EB respecto al CEI (23 % vs 6 %; $p=0.017$).

Se realizó un análisis univariante para estudiar las variables asociadas al CEI-EB respecto a la EB. Las variables clínicas que mostraron una asociación significativa fueron el sexo varón (OR 3.41; IC 95 % 1.50-7.76) y la localización de cabeza y cuello (OR 6.24 (2.43-16.05)). Dentro de las variables anatomopatológicas el microvacuolado citoplasmático (OR=2.51; IC 95 % 1.06-5.93) y el receptor de andrógenos (OR=0.22 IC 95 % 0.06-0.83) se asociaron significativamente a la presencia de CEI respecto a la EB. La proporción de casos con receptor de andrógenos positivo en el grupo de EB fue mayor que en el de CEI-EB, por lo que la OR del RA para la EB sería de 4.47 (inversa de 0.22).

Tabla 4 Estudio univariante por grupos derivados de la EB*

VARIABLES	EB (N=62)	CEI - EB (N=48)	p	OR (I.C.)
Edad	80 (RIC 13.5)	83 (RIC 13.3)	0.326	1.02 (0.98-1.06)
Sexo (Varón)	29 (46.8 %)	36 (75 %)	0.003	3.41 (1.50-7.76)
Localización:				
-Cabeza y cuello	30 (48.4 %)	41 (85.4 %)	<0.001	6.24 (2.43-16.05)
-Otras localizaciones	32 (51.6 %)	7 (14.6 %)		
Células claras				
- Ausencia o <33%	55 (88.7 %)	38 (79.2 %)	0.170	2.07 (0.72-5.91)
- ≥33 %	7 (11.3 %)	10 (20.8 %)		
Microvacuolado (sí)	12 (20.7 %)	19 (39.6 %)	0.033	2.51 (1.06-5.93)
Elastosis				
-No	20 (32.3 %)	7 (14.6 %)	0.088	1
-Leve	17 (27.4 %)	19 (39.6 %)		3.19 (1.08-9.42)
-Moderada-intensa	25 (40.3 %)	22 (45.8 %)		2.51 (0.89-7.07)
EMA				
-Negativo	10 (16.1 %)	5 (10.4 %)	0.390	1.65 (0.52-5.21)
-Positivo	52 (83.9 %)	43 (89.6 %)		
RA				
-Negativo	47 (77 %)	45 (94 %)	0.017	0.22 (0.06-0.83)
-Positivo	14 (23 %)	3 (6 %)		

*CEI- EB: Carcinoma epidermoide invasor derivado de la enfermedad de Bowen; EMA: Antígeno de membrana epitelial; RA: Receptor de andrógenos; EB: Enfermedad de Bowen; OR: Odds Ratio; IC: Intervalo de confianza

Con objeto de determinar las variables que se relacionaron de forma independiente con el tipo de tumor derivado de EB (*in situ* o invasor) se realizó un análisis de regresión logística multivariante (tabla 5). Las variables incluidas fueron las que habían resultado significativas en el estudio univariante. Únicamente el microvacuolado citoplasmático (2.83 IC 95 % 1.04-7.69) y la localización (4.25; IC 95 % 1.50-12.10) se mantuvieron como variables significativas.

Tabla 5: Análisis multivariante*

VARIABLES	p	OR (I.C.)
Sexo (Varón)	0.132	2.14 (0.80-5.7)
Localización:		
-Cabeza y cuello	0.007	4.25 (1.50-12.10)
-Otras localizaciones		
Microvacuolado (sí)	0.041	2.83 (1.04-7.69)
RA		
-Negativo	0.128	0.31 (0.07-1.40)
-Positivo		

*OR: Odds Ratio; IC: Intervalo de confianza; RA: Receptor de andrógenos.

6. 4. COMPARACIÓN ENTRE TIPOS DE CARCINOMA EPIDERMÓIDE INVASOR

Fue realizada una comparación entre ambos grupos de CEI excluyendo los casos de EB. Los datos de esta comparación se encuentran recogidos en la tabla 6.

Ambos grupos presentaron su mediana de edad en 83 años. En cuanto al sexo hubo un predominio del sexo varón en los dos grupos (75 % vs. 77.1 %). En ambos grupos predominó la localización en cabeza y cuello en un porcentaje muy similar (85.7 % vs. 85.4 %). La elastosis solar y el porcentaje de CCL no presentaron diferencias significativas. El RA presentó tres casos positivos en los CEI-EB y ninguno en los CEI-QA.

Se realizó un análisis univariante para estudiar las variables asociadas al CEI-EB respecto a los derivados de QA. Ninguna variable clínica mostró una asociación significativa. Dentro de las variables anatomopatológicas el microvacuolado citoplasmático (OR 3.80; IC 95 % 1.25-11.55) y la expresión de EMA (OR 3.44; IC 95 % 1.06-11.21) se asociaron significativamente a la presencia de CEI-EB respecto a los CEI-QA. No se calculó la OR para el RA ya que no presentó casos positivos en el grupo derivado de QA.

Tabla 6: Estudio univariante entre grupos de carcinoma epidermoide invasor*

Variables	CEI - QA (N=35)	CEI - EB (N=48)	p	OR (I.C.)
Edad	83 (RIC 9)	83 (13.3)	0.854	0.99 (0.94-1.04)
Sexo (Varón)	27 (77.1 %)	36 (75 %)	0.822	1.12 (0.40-3.13)
Localización:				
-Cabeza y cuello	30 (85.7 %)	41 (85.4 %)	0.970	1.02 (0.30-3.54)
-Otras localizaciones	5 (14.3 %)	7 (14.6 %)		
Células claras				
- Ausencia o <33%	32 (94.1 %)	38 (79.2 %)	0.076	4.21 (0.86-20.63)
- ≥ 33 %	2 (5.9 %)	10 (20.8 %)		
Microvacuolado (sí)	5 (14.7 %)	19 (39.6 %)	0.019	3.80 (1.25-11.55)
Elastosis				
-No	6 (17.6 %)	7 (14.6 %)	0.892	1
-Leve	14 (41.2 %)	19 (39.6 %)		
-Moderada-intensa	14 (42.2 %)	22 (45.8 %)		
EMA (Positivo)	25 (71.4 %)	43 (89.6 %)	0.034	3.44 (1.06-11.21)
RA (Positivo)	0	3 (6.3 %)	0.138	

*CEI- EB: Carcinoma epidermoide invasor derivado de la enfermedad de Bowen; CEI- QA: Carcinoma epidermoide invasor derivado de queratosis actínica; EMA: Antígeno de membrana epitelial; RA: Receptor de andrógenos.

Cuando se introducían las dos variables significativas obtenidas en el análisis univariante en la regresión logística, sólo el microvacuolado citoplasmático (OR 3.29; IC 95 % 1.06-10.21) se mantuvo como variable significativa, mientras que el EMA perdió la significación estadística (OR 2.38 IC 95 % 0.69-8.18).

6. 5. RELACIÓN ENTRE VARIABLES

Hemos analizado la posible relación entre estas tres variables (porcentaje de células claras, expresión de EMA y expresión del RA) y el resto de las variables principales. Los resultados se describen a continuación y en las tablas (7-9).

▪ Porcentaje de células claras

Fue realizada la comparación entre el porcentaje de células claras agrupado (ausencia, <33% y $\geq 33\%$) y las variables principales (tabla 7).

La edad, el sexo y la localización no presentaron diferencias significativas.

El microvacuolado citoplasmático presentó diferencias significativas ($p < 0.001$). Los grupos con más células claras son los que presentaron mayor porcentaje de microvacuolado, que fue del 70 % en el grupo con $\geq 33\%$ de células claras y aproximadamente del 50 % en el grupo con <33% células claras.

La elastosis solar fue más frecuente en el grupo con células claras. Además fue más intensa a mayor porcentaje de células claras. En el grupo con $\geq 33\%$ de células claras, la elastosis solar fue moderada e intensa en el 68 % y en el de <33% en el 57 % ($p < 0.001$).

La expresión positiva de EMA fue más frecuente en el grupo con células claras y también más difusa en el grupo con $\geq 33\%$ de células claras (74 % difusa vs 53 % en el grupo con <33% de células claras) ($p=0.01$).

La expresión del RA no presentó diferencias por grupos. Fue negativa en todos los casos de $\geq 33\%$ células claras y la distribución de positivos fue muy similar en los grupos con ausencia o <33% de células claras.

Tabla 7: Distribución del porcentaje de células claras en las variables*

Variables	Ausencia CCL (N=76)	<33% CCL (N=49)	≥33% CCL (N=19)	P
Edad	81 (RIC 13)	82.5 (RIC 15.5)	84 (RIC 9)	0.138
Sexo (Varón)	50 (65.8 %)	33 (67.3 %)	8 (42.1 %)	0.121
Localización:				
-Cabeza y cuello	53 (69.7 %)	33 (67.3)	14 (73.7 %)	0.083
-Tronco	8 (10.5 %)	0	0	
-EESS	4 (5.3%)	7 (14.3 %)	3 (15.8 %)	
-EEII	11 (14.5 %)	9 (18.4 %)	2 (10.5 %)	
Microvacuolado (sí)	0	24 (51.1 %)	12 (70.6 %)	<0.001
Elastosis				
-No	26 (34.2 %)	5 (10.2 %)	2 (10.5 %)	<0.001
-Leve	30 (39.5 %)	16 (32.7 %)	4 (2.1 %)	
-Moderada-intensa	20 (26.3 %)	28 (57.1 %)	13 (68.4 %)	
EMA				
-Negativo	17 (22.4 %)	4 (8.2 %)	3 (15.8 %)	0.010
-Focal	32 (42.1 %)	19 (38.8 %)	2 (10.5 %)	
-Difuso	27 (35.5 %)	26 (53.1 %)	14 (73.7 %)	
RA				
-Negativo	67 (89.3 %)	39 (81.3 %)	19 (100 %)	0.120
-Focal	7 (9.3 %)	5 (10.4 %)	0	
-Difuso	1 (1.3 %)	4 (8.3 %)	0	

*CCL: Células claras; CEI- EB: Carcinoma epidermoide invasor derivado de la enfermedad de Bowen; CEI- QA: Carcinoma epidermoide invasor derivado de queratosis actínica; EMA: Antígeno de membrana epitelial; RA: Receptor de andrógenos; EB: Enfermedad de Bowen; EESS: Extremidades superiores; EEII: Extremidades inferiores.

- **Expresión del antígeno de membrana epitelial (EMA)**

Fue realizada una comparación entre las expresión de EMA: negativa, focal o difusa y el resto de las variables. Los datos quedan recogidos en la tabla 8.

Las variables de edad, sexo y localización no fueron significativas respecto a la expresión de EMA. Sin embargo, el microvacuolado citoplasmático, siguió una distribución significativa respecto a la expresión de EMA ($p=0.003$). El grupo con expresión negativa de EMA sólo presentó 1 caso con microvacuolado. Cuando la positividad de EMA fue focal, 11 casos tuvieron microvacuolado (20.8 %) y en el grupo con positividad difusa el porcentaje de microvacuolado fue mayor (38 %). No se identificaron diferencias significativas respecto a la elastosis solar o la expresión del RA. Respecto al RA destacó que no hubo casos positivos para esta variable que fueran EMA negativos. Los casos positivos para el RA se distribuyeron de forma similar en los grupos con expresión focal o difusa para el EMA.

Tabla 8: Distribución de la expresión de EMA*

Variables	Negativa (N=25)	Focal (N=53)	Difusa (N=67)	p
Edad	77.8 (RIC 13)	82.5 (10.5)	82.5 (13.7)	0.198
Sexo (Varón)	19 (76 %)	37 (69.8 %)	36 (53.7 %)	0.069
Localización:				
-Cabeza y cuello	15 (60 %)	38 (71.7)	48 (71.6 %)	0.502
-Tronco	3 (12 %)	3 (5.7 %)	2 (3 %)	
-EESS	4 (16 %)	3 (5.7 %)	7 (10.4 %)	
-EEII	3 (12 %)	9 (17 %)	10 (14.9 %)	
Microvacuolado (sí)	1 (4.2 %)	11 (20.8 %)	24 (38.1 %)	0.003
Elastosis				
-No	26 (25 %)	16 (30.2 %)	11 (16.4 %)	0.207
-Leve	11 (45.8 %)	17 (32.1 %)	22 (32.8 %)	
-Moderada-intensa	7 (29.2 %)	20 (37.7 %)	34 (50.7 %)	
RA				
-Negativo	23 (92 %)	45 (86.5 %)	58 (87.9 %)	0.770
-Focal	2 (8 %)	4 (7.7 %)	6 (9.1 %)	
-Difuso	0	3 (5.8 %)	2 (3 %)	

*EMA: Antígeno de membrana epitelial; RA: Rde andrógenos; EB: Enfermedad de Bowen; EESS: Extremidades superiores; EEII: Extremidades inferiores.

▪ **Expresión del receptor de andrógenos**

Los casos con expresión positiva del RA focal o difusa fueron agrupados en RA positivos. La variable RA: negativos o positivos fue comparada con el resto de las variables (tabla 9).

La edad no presentó diferencias significativas. En el grupo con RA positivos el sexo femenino fue más frecuente (64.7 % en mujeres vs. 35.3 % en hombres) ($p=0.01$).

En el grupo con RA negativos la localización predominante fue en cabeza y cuello, mientras que en el grupo con RA positivos la localización fue muy variada, presentándose por igual en cabeza y cuello que en el tronco o en las extremidades inferiores ($p=0.001$).

Tabla 9: Distribución expresión del receptor de andrógenos*

Variables	Negativos (N=126)	Focal-Difuso (N=17)	p
Edad	82.13 (RIC 13)	80.5 (RIC 8.75)	0.772
Sexo (Varón)	85 (67.5 %)	6 (35.3 %)	0.010
Localización:			
-Cabeza y cuello	94 (74.6 %)	5 (29.4 %)	0.001
-Tronco	3 (2.4 %)	5 (29.4 %)	
-EESS	12 (9.5 %)	2 (11.8 %)	
-EEII	17 (13.5 %)	5 (29.4 %)	
Microvacuolado (sí)	30 (24.8 %)	6 (35.3 %)	0.356
Elastosis			
-No	27 (21.6 %)	6 (35.3 %)	0.374
-Leve	43 (34.4 %)	6 (35.3 %)	
-Moderada-intensa	55 (44 %)	5 (29.4 %)	

*EESS: Extremidades superiores; EEII: extremidades inferiores.

6. 6. OTROS HALLAZGOS

▪ PAS y PAS-d

Fue realizada en 23 casos del grupo seleccionado de CE con células claras que tuvieron el RA positivo y/o \geq del 33% de células claras. El 82,6 % fueron PAS positivos (Fig. 17). Todos los casos PAS positivos fueron PAS-d negativos. Los 23 casos se distribuyeron en 3 casos de CEI-QA (3 positivos), 10 de EB (7 positivos) y 10 de CEI-EB (9 positivos). Hubo 4 casos que la tinción con PAS fue negativa, tres de los cuales tuvieron el RA positivo (un CEI-EB y dos de EB).

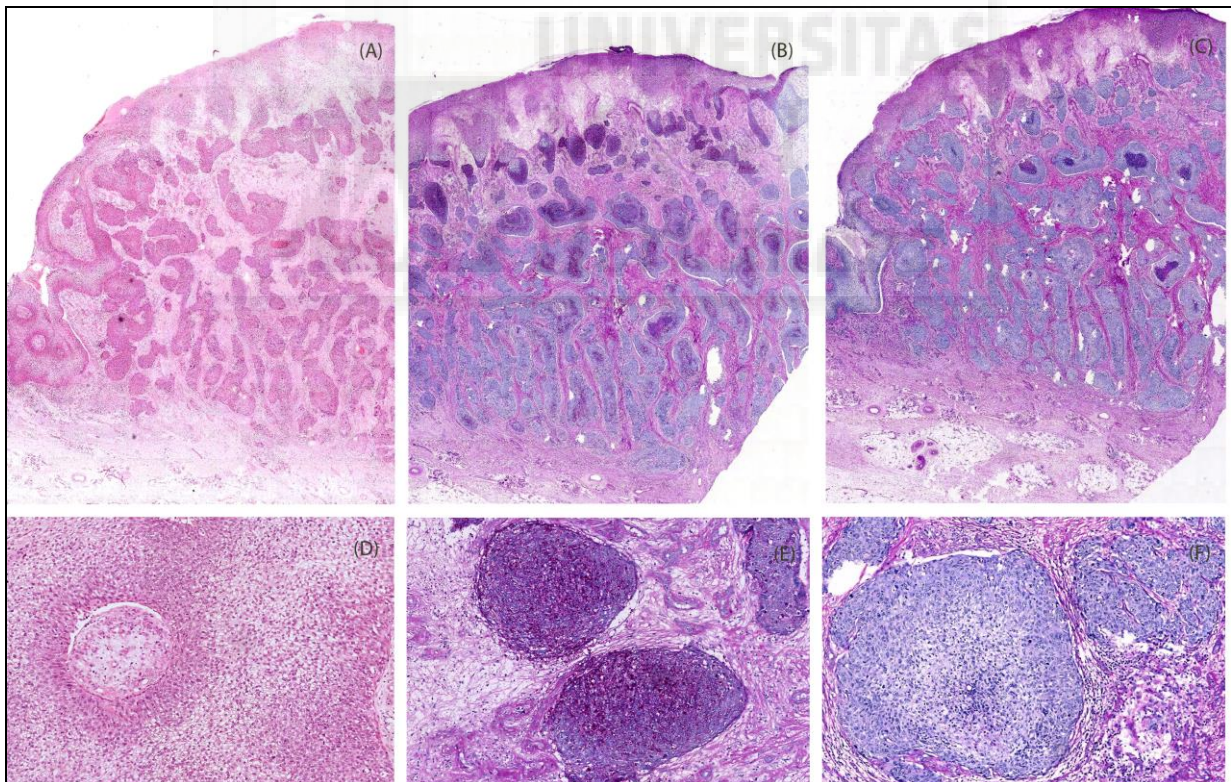


Fig. 16: (A): Carcinoma epidermoide infiltrante; (B) Tinción positiva con PAS; (C): Tinción negativa con PAS-d; (D): Detalle con abundantes células claras de aspecto vacuolado; (E): Depósitos PAS positivos en las células claras; (F): Detalle PAS-d negativo.

- **Carcinomas epidermoides con diferenciación anexial**

En dos casos se objetivo diferenciación anexial en una EB con componente de CE invasor (Fig. 17). En conexión con la epidermis presentaban una neoplasia epitelial maligna con una doble diferenciación de hábito escamoso y sudoríparo. Los dos casos presentaron diferenciación ductal con positividad focal para el antígeno carcinoembrionario (CEA). La citoqueratina (CK) 7 fue intensamente positiva en el componente glandular de los dos casos, mientras que el componente escamoso fue positivo para CK 5/6. El EMA fue positivo en ambos componentes.

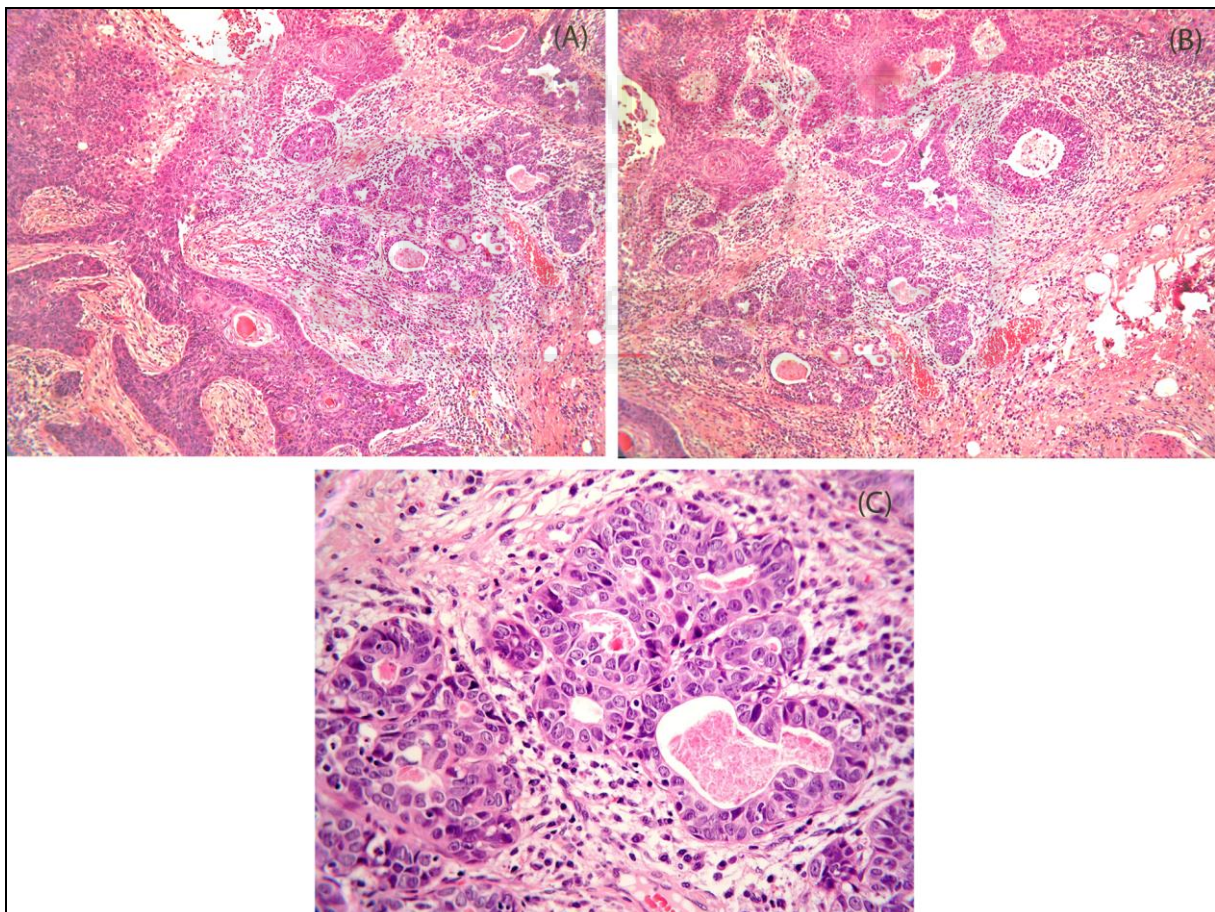


Fig. 17: (A) y (B): Carcinoma epidermoide infiltrante con focos de diferenciación ductal en vecindad. (C): La diferenciación ductal está representada por células poligonales, con escaso citoplasma, núcleos basófilos y con presencia de material eosinófilo a nivel intraluminal.



DISCUSIÓN

7. DISCUSIÓN

El objetivo principal del estudio ha sido evaluar las posibles características de diferenciación sebácea en los CE. Para ello, fue realizado un estudio histológico e inmunohistoquímico, además de un análisis comparativo de los hallazgos en casos de EB, en CEI-QA y en CEI-EB.

Los hallazgos más importantes de nuestro estudio han sido: confirmar que los CEI-EB y la EB son los CE que con mayor frecuencia presentaron células claras y microvacuolado citoplasmático; que un porcentaje de los CE, principalmente de EB, fueron positivo para el RA y que las variables histológicas de posible diferenciación sebácea no se relacionaron con la expresión del RA ni con la adipofilina, por lo que no pudimos demostrar la existencia de verdadera diferenciación sebácea. Además la mayoría de los casos resultaron positivos con la tinción con PAS y negativos con el PAS-d, lo que apoyaría que estuvieran producidos por depósitos de glucógeno y únicamente simularían diferenciación sebácea.

El carcinoma sebáceo es un tumor cutáneo infrecuente, que puede tener un comportamiento agresivo y mal pronóstico por lo que es fundamental su diagnóstico precoz¹³⁴. El conocimiento de las características de los CE con células claras sería importante para mejorar el diagnóstico diferencial con otras neoplasias como el carcinoma sebáceo. Además, el hallazgo de la expresión del RA en la EB podría mejorar el conocimiento sobre su patogenia y abre la posibilidad de una posible futura implicación terapéutica y/o pronóstica.

7.1 CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS

La mediana de edad de nuestro trabajo (81.5 años) fue superior a las de otros trabajos²⁰⁰ previos (71.4 años) realizados en el CE. La edad de aparición para la EB ha sido situada entre los 60-90 años²⁰¹. En el Reino Unido se estableció la edad de mayor incidencia, en la séptima década de la vida²⁴. En nuestro estudio no se encontraron diferencias en la edad al clasificarlos por tipo de tumor. En las mujeres, la mediana de edad fue ligeramente superior respecto a la de los hombres (83.5 vs. 80 años en los hombres; $p=0.007$), también ligeramente superior a la de otros estudios (72.7 en mujeres y 68.1 en hombres)²⁰².

En cuanto al sexo, hubo un predominio de hombres (63.4 % vs. 36.6 % en mujeres), similar a lo descrito previamente en otros estudios en Estados Unidos^{21,202} o en Europa²⁰³. Los hombres predominaron sobre todo en los grupos de CEI, sin embargo el porcentaje de mujeres en la EB fue ligeramente superior (53.2% de mujeres; $p=0.001$). Esto coincide con otros autores que han encontrado un predominio de la EB en mujeres^{19,20}. Los datos de incidencia son variables según los países. En Australia²² el 57% de los casos fueron mujeres, mientras que en Europa^{16,19} fue el 56-61%, el 54% en Japón²⁰¹ y la incidencia más alta del 74-80 % fue en EEUU²⁶. La excepción fue un estudio realizado en Hawaii donde sólo el 38% de los casos fueron en mujeres²⁶.

Cuando comparábamos el sexo con la expresión del RA, el RA fue más frecuente en las mujeres respecto a los hombres (64.7 % en mujeres vs. 35.3 % en hombres con RA positivos; $p=0.01$). Esto puede deberse a que el RA fue más frecuente en la EB y en este grupo también predominaron las mujeres.

La localización predominante en cabeza y cuello (70 %) también es similar a la de otros estudios²⁰⁰. En los CEI la localización en cabeza y cuello tuvo una alta incidencia y similar en ambos tipos (85 %), pero fue más baja en la EB (48 %; $p<0.001$). Destacó la

incidencia en las extremidades inferiores en la EB como segunda localización (26 %). La localización en cabeza en cuello respecto a otras localizaciones, mantuvo su significación estadística en el análisis multivariante (OR 4.25; IC 95 % 1.5-12) al comparar entre CEI-EB con la EB. La localización en el grupo con RA positivos fue muy variada, presentándose por igual en cabeza y cuello que en el tronco o en las extremidades inferiores.

Las localizaciones predominantes del CE son áreas fotoexpuestas del cuerpo como cara, cuello, antebrazos, manos y piernas²⁰⁴, aunque puede afectar a cualquier parte del cuerpo²¹. También se han descrito previamente variaciones de localización entre sexos, debido a discrepancias en la exposición solar. En un estudio realizado en Australia, que incluyó a 1001 biopsias de EB²² las localizaciones predominantes fueron: en las mujeres las extremidades inferiores y las mejillas y en los hombres el cuero cabelludo y los pabellones auriculares.



7. 2. DIFERENCIACIÓN SEBÁCEA

7. 2. 1. Células claras y microvacuolado citoplasmático

En nuestro estudio fueron objetivadas células claras en 68 casos (47.2 %). En este grupo con células claras, se encontraron menos del 33% en 49 casos (34 %) y más del 33% de células claras en 19 casos (13.2 %). Sólo se identificaron 2 casos (1.4 %) con más de 66 % de células claras. La presencia focal de células claras en el CE es muy frecuente y pueden llegar hasta el 50% de los CE¹⁹⁷. Sin embargo la presencia de gran cantidad de células claras es infrecuente. Corbalan *et al.*¹⁹⁷ encontraron 7 casos (3 %) de 229 CE que presentaron más de un 75 % de células claras. Kuo¹⁶⁰ estudió 229 casos de CE y sólo encontró 6 CECC (2.6%). Estos tumores estaban compuestos por células claras casi en su totalidad, ya que no consideró como CECC aquellos que mostraban células claras de manera focal.

Cuando lo clasificábamos por tipo de tumor, las células claras eran más frecuentes en la EB (43.9 %) y en los CEI-EB (39.4 %). Esto coincide con otro trabajo previo¹⁹⁷ en el que los CE con más células claras derivaban de una EB como lesión preexistente. En nuestro estudio, el 21.7% de los CEI-EB presentaban más de un tercio de células claras frente al 11.3% de los casos de EB. Esto podría deberse a que la presencia de células claras en el CE representa un continuo, que precisa tiempo, y por tanto sólo aparece en los tumores más desarrollados¹⁹⁷.

Para diagnosticar la diferenciación sebácea, se debe identificar uno o varios de los hallazgos siguientes: células epiteliales con citoplasma vacuolado similares a los sebocitos normales, conductos sebáceos, el sebo o el sebolema²⁰⁵. En la mayoría de neoplasias sebáceas, se pueden identificar los sebocitos maduros con su citoplasma ocupado por vacuolas lipídicas y un núcleo de contorno espiculado. Con frecuencia se encuentran también sebocitos

inmaduros. Estas células muestran un citoplasma granular de apariencia eosinófila. Conforme la lesión es más indiferenciada, existen muchos sebocitos con grados intermedios de maduración mostrando sólo pequeñas vacuolas en su citoplasma^{205,206}.

En nuestro estudio un 25 % de los tumores presentaban células claras con citoplasma de aspecto microvacuolado que recordaba al de las células sebáceas. El microvacuolado presentó una relación significativa con el porcentaje de células claras. En los tumores con predominio de células claras era más frecuente encontrar microvacuolado citoplasmático. El grupo con más del 33 % células claras presentaron microvacuolado en un 70 % y el de menos del 33 % en un 51 %. La distribución de esta variable coincidía con la de las células claras y se observaba también con más frecuencia en los tumores derivados de EB, sobre todo en los invasores.

Aunque las células claras no presentaron una relación significativa con el tipo de tumor, sí que lo presentó el microvacuolado. Un motivo pudo ser un tamaño muestral insuficiente. Sin embargo la variable microvacuolado citoplasmático debe interpretarse como una variable relacionada con el porcentaje de células claras. Es decir, se observó microvacuolado citoplasmático sólo en las áreas con células claras dentro del tumor. El microvacuolado permaneció como una variable significativa en el análisis multivariante en la comparación entre EB y CEI-EB, además de en la comparación entre tipos de CEI.

7.2.2. Antígeno de membrana epitelial (EMA)

El EMA fue positivo en la mayoría de los casos (82.8 %). La positividad fue focal en el 36.6 % y difusa en el 46.2 %. Al clasificar la expresión de EMA según el tipo de tumor se obtuvo una mayor positividad en el grupo asociado a la EB sobre todo en las formas invasoras (89.6 %; $p=0.013$). Además este grupo presentó el mayor porcentaje de positividad difusa

(64.6 %). Cuando se clasificaba por presencia de células claras o de microvacuolado citoplasmático, que a su vez eran más frecuentes en la EB y en los CEI-EB, también aparecían diferencias significativas en el EMA.

El EMA es una glicoproteína que está presente en la superficie de varios epitelios glandulares y sus neoplasias. Constituye uno de los marcadores inmunohistoquímicos más utilizados en la investigación de la diferenciación sebácea de una neoplasia cutánea. En la piel normal se ha demostrado su presencia en las glándulas sebáceas, en las glándulas ecrinas y apocrinas, pero no se expresa habitualmente en el epitelio escamoso normal¹⁷⁸. Sin embargo, el EMA con frecuencia resulta positivo también en el CE^{180,181}. Los estudios describen que los queratinocitos transformados son capaces de expresar EMA, que aparece incluso en capas superficiales de la epidermis^{181,207}.

En nuestro estudio el EMA también fue positivo en la mayoría de CE y presentó diferencias significativas al compararlo con las variables de porcentaje de células claras y microvacuolado, por lo que estos factores podrían aumentar su expresión. Debido a este motivo puede no ser útil en el diagnóstico diferencial con el carcinoma sebáceo¹⁷² y se necesitarían otros marcadores para poder establecer la diferenciación sebácea de una neoplasia¹⁸⁰.

7. 2. 3. Receptor de andrógenos (RA)

El RA fue positivo en el 12 % de la muestra. Un 23 % de los casos de EB presentaron positividad para el RA, así como el 6,3 % de los CEI-EB (6.3 %). En la comparación entre ambos grupos presentaron diferencias significativas ($p=0.017$).

El RA ha sido positivo en el carcinoma sebáceo y negativo en los CE en la mayoría de los estudios previos. Sin embargo, en los estudios realizados se han incluido un número

limitado de CE con el fin de compararlos y realizar el diagnóstico diferencial con el carcinoma sebáceo. Además, la mayoría han sido realizados en carcinomas sebáceos perioculares. Aunque es esperable en los carcinomas sebáceos extraoculares un comportamiento inmunohistoquímico similar del RA, no se ha demostrado con un número suficiente de casos. Las características de las glándulas de Meibomio y la frecuente diseminación intraepitelial en las lesiones oftalmológicas podrían hacer variar el comportamiento de los biomarcadores²⁰⁸. No hemos encontrado otros estudios previos de la expresión inmunohistoquímica del RA en la EB.

El RA se considera un marcador muy sensible de diferenciación sebácea incluso para diagnosticar carcinomas sebáceos indiferenciados¹⁸³. Bayer-Garner *et al.*¹⁸³ estudiaron 14 casos de CE y en todos fue negativo el RA, incluso en los que tenían células claras. Asadi-Amoli *et al.*¹⁸⁴ estudiaron 55 pacientes con tumores palpebrales que incluían a 19 carcinomas sebáceos y 18 CE. Mientras que describían como positivos todos los carcinomas sebáceos, daban como negativos el 100 % de los CE. Otros autores¹⁸⁶ también obtuvieron resultados negativos con el RA en CE perioculares.

El RA ha sido por lo tanto negativo en la mayoría de estudios en los CE. Sin embargo, algunos autores, han encontrado casos positivos^{174,176}. Sramek *et al.*¹⁷⁶ estudiaron 6 CE poco diferenciados y encontraron positividad focal para el RA en un CE (16.7 %). Jakobiec *et al.*²⁰⁸ obtuvieron 1 caso positivo para el RA de 5 casos de EB. Además incluyeron 7 CE invasores moderadamente y bien diferenciados, que fueron negativos para el RA. Ansai *et al.*¹⁷² incluyeron 35 carcinomas sebáceos (16 oculares y 19 extraoculares) y 10 CE (5 palpebrales y 5 extrapalpebrales). En 1 caso de CE ocular obtuvieron positividad para el RA.

Por lo tanto, nuestro porcentaje de RA positivos (12 %), fue similar a la de otros autores^{172,174,176,208}, que han obtenido casos positivos, aunque los estudios han sido realizados con un número muy limitado de casos. Sin embargo nuestro porcentaje de positivos fue mayor

en la EB (23 %). Las diferencias obtenidas con otros autores que han obtenido un 100 % de negativos para la expresión del RA en el CE, podrían deberse a: la variabilidad en la selección de los casos, las modificaciones en la realización de las técnicas inmunohistoquímicas²⁰⁹ o la utilización de distintos anticuerpos.

Las variables que podían indicar diferenciación sebácea, como el porcentaje de células claras y el microvacuolado citoplasmático no se relacionaron con la expresión del RA en nuestro estudio. Además los casos que fueron positivos para el RA, finalmente fueron negativos con la adipofilina. Por lo que a pesar de la expresión inmunohistoquímica del RA no pudimos concluir que se tratara de verdadera diferenciación sebácea.

Algunos autores han descrito diferenciación anexial^{139,140,143} en la EB. También se ha demostrado, su capacidad para expresar marcadores inmunohistoquímicos heterogéneos (CK 7²¹⁰, CEA, CAM 5.2²¹¹, HMFG-1, citoqueratina MNF116, EMA y Antígeno de la proteína del líquido de la enfermedad quística (GCDFP-15)¹⁴⁸. Mai *et al.*²¹⁰ interpretaron la expresión de CK7 y CEA en casos de EB pagetoide como un cambio fenotípico. Slater *et al.*¹⁴⁸ apoyaban que la EB podría tratarse de un carcinoma intraepidérmico con diferenciación anexial divergente que podría ser de tipo ecrino, apocrino o sebáceo. Aunque también podrían tratarse de cambios metaplásicos, sería más probable que representase su origen desde estructuras anexiales intraepidérmicas o desde células ectodérmicas pluripotenciales. Sah *et al.*²¹¹ también concluían que en base a los hallazgos morfológicos e inmunohistoquímicos (positividad de tipo glandular y de citoqueratinas de alto peso molecular), que la EB pagetoide pudiera surgir de una célula pluripotencial con diferenciación de tipo glandular y escamoso. Otros autores también han encontrado positividad variable a CK 7²¹² y CAM 5.2²⁰⁹ en CE *in situ* e invasores. Por lo tanto nuestros resultados positivos para el RA podrían ir en concordancia con estos autores, apoyando la hipótesis¹⁵⁰ de que la EB se tratase de un

carcinoma intraepidérmico indiferenciado, que se originase desde estructuras anexiales intraepidérmicas o de células ectodérmicas pluripotenciales.

El RA además de expresarse en los sebocitos y células germinativas de las glándulas sebáceas, en las células secretoras de las glándulas sudoríparas y en las células de la papila dérmica del folículo¹⁸², también se expresa en una pequeña cantidad de las células basales¹⁷⁴ de la epidermis normal. Por lo tanto otra explicación para los casos positivos para el RA, es que pudieran originarse a partir de estas células epidérmicas con expresión positiva del RA.

El RA también podría estar implicado en la oncogénesis del CE. Se ha observado un aumento en la expresión del RA en respuesta a la radiación ultravioleta B en modelos experimentales²¹³. Sin embargo en nuestro estudio no se relacionó la expresión del RA con una mayor elastosis solar o con los CEI derivados de QA, también asociados a una intensa exposición a la radiación ultravioleta.

El RA podría actuar modificando la expresión de ciclooxigenasa 1 (COX) y COX-2 como un posible mecanismo de actuación en la piel²¹⁴. Hay evidencias de la sobreexpresión de COX-2 en la EB¹¹⁷. La actividad de COX-2 y de la prostaglandina E2 sintetizada por la misma, son reguladores positivos de la proliferación en células tumorales así como supresores de apoptosis. El hecho de que el RA fuera más frecuente en la EB que en los CEI podría indicar que tuviera un papel más importante en las fases iniciales de la oncogénesis, como promotor o iniciador tumoral, que en la progresión.

La expresión del RA ha sido evaluada por su significado pronóstico en varios tipos de cánceres²¹⁵⁻²¹⁸. También se ha identificado un aumento de la expresión del RA en la enfermedad de Paget extramamaria²¹⁹. Mulay *et al.*²²⁰ estudiaron su valor pronóstico en el carcinoma sebáceo. No encontraron relación entre la expresión del RA y el estadio tumoral. Sin embargo sí que encontraron relación entre un aumento de la expresión del RA, con un

aumento de la recurrencia. La utilización de antagonistas del RA podría ser una posible diana terapéutica en tumores con una elevada expresión del RA.

El aumento de expresión en la EB en nuestro estudio y la presencia en algunos casos de CEI-EB también podría indicar su implicación en la oncogénesis del CE. Sin embargo, sería necesario estudiar más casos y su evolución clínica para estudiar si podría ser un marcador pronóstico, igual que en otros cánceres o una posible diana terapéutica en aquellos carcinomas con una elevada expresión.

7. 2. 4. Adipofilina

La adipofilina es una proteína perteneciente a la familia PAT (Perilipina, adipofilina, TIP47, proteínas S3-12 y MLD), la cual presenta funciones importantes en el metabolismo de los lípidos almacenados¹⁸⁸. La adipofilina se encuentra en la superficie de las vacuolas lipídicas, por lo que la utilización del anticuerpo anti-adipofilina es muy útil en la identificación de lípidos intracitoplasmáticos, como los que se encuentran en los sebocitos. No es un marcador exclusivo de diferenciación sebácea, sino de contenido intracitoplasmático de lípidos¹⁹⁰. Resulta de especial utilidad en el diagnóstico del carcinoma sebáceo¹⁸⁰. Ansai *et al.*¹⁷⁴ señalaron la adipofilina como el marcador con más sensibilidad y especificidad para diagnosticar neoplasias sebáceas.

La observación del patrón de tinción es esencial para este marcador, ya que se han descrito dos tipos de tinciones: un patrón membranoso, delimitando las vacuolas lipídicas y otro granular citoplasmático. Ostler *et al.*¹⁹⁰ and Muthusamy *et al.*²²¹ describieron que la tinción específica para el diagnóstico de una neoplasia sebácea, era la que delimitaba las vacuolas lipídicas intracitoplásmicas múltiples de pequeño tamaño (tinción membranosa). Consideraban negativa la tinción granular que podía observarse en los CE y le atribuían una

reactividad inespecífica frente a antígenos citoplasmáticos, más que una reactividad frente a lípidos citoplasmáticos. Ostler *et al.*¹⁹⁰ al utilizar este patrón de tinción, describieron como negativa la adipofilina en 17 casos de CE y Muthusamy *et al.*²²¹ en 10 CE. Sin embargo Mulay *et al.*¹⁸⁶ estudiaron 25 CE y obtuvieron un patrón de tinción membranoso en 7 CE con células claras, estableciendo que la adipofilina aislada no sería un criterio suficiente para el diagnóstico diferencial entre el carcinoma sebáceo y el CE con células claras. En nuestro estudio, no hemos identificado el patrón de tinción membranoso característico, descrito en los tumores sebáceos.

Sin embargo, otros autores^{175,188} han considerado positiva la tinción granular. Boussahmain *et al.*¹⁷⁵ estudiaron con adipofilina 28 CE (18 invasores y 10 in situ) y 30 carcinomas sebáceos. Aunque obtuvieron una buena sensibilidad con la adipofilina para el diagnóstico del carcinoma sebáceo, la especificidad fue baja (35%) porque el 75% de los CE con células claras expresaron también la adipofilina. Estos autores, consideraron sin embargo positiva la tinción granular al detectarla en el 42% de los carcinomas sebáceos. Para ellos, la expresión aumentada de adipofilina en estos tumores podría deberse al metabolismo lipídico alterado. La adipofilina intervendría en el mantenimiento y liberación de las vacuolas lipídicas de pequeño tamaño que se producen y liberan en tumores en actividad, lo que indicaría más que un estado de diferenciación celular un estado metabólico activado.

En nuestro estudio, obtuvimos un patrón focal de tinción granular citoplasmático en dos CE con células claras. La tinción granular la consideramos inespecífica, al igual que otros autores^{174,190} al haberse descrito también captación por los gránulos de queratohialina en los CE. Por lo tanto no pudimos confirmar mediante la adipofilina que los CE que expresaban el RA o con células claras, tuvieran realmente contenido intracitoplasmático de lípidos o se tratara de una reactividad inespecífica frente a antígenos citoplasmáticos.

El RA habitualmente se expresa en el núcleo de las células germinativas de las glándulas sebáceas, mientras que la adipofilina se expresa en las vacuolas lipídicas citoplasmáticas de los sebocitos. El RA por lo tanto se expresa con más afinidad en las células menos diferenciadas de las neoplasias sebáceas¹⁸⁴. Otros autores^{175,208} también han descrito que el grado de tinción con la adipofilina fue mayor en los tumores mejor diferenciados y que el receptor de andrógenos fue más sensible para detectar el componente intraepitelial de los carcinomas sebáceos²⁰⁸. La expresión positiva en nuestro estudio para el RA y negativa para adipofilina podría explicarse por la afinidad del RA para expresarse en células menos diferenciadas y que necesitarían tiempo para desarrollar los depósitos lipídicos intracitoplasmáticos que marcaría la adipofilina. Sin embargo, tampoco encontramos casos positivos para la adipofilina en los CEI más desarrollados, con RA positivo y/o con células claras.



7.3. OTROS HALLAZGOS

7.3.1. Elastosis solar

La elastosis solar se considera un signo histológico objetivo de daño solar crónico. En nuestro estudio la mayoría de los casos presentaron elastosis solar (77.1 %) y fue moderada-intensa en el 42.4 %. En los análisis realizados, la elastosis solar sólo presentó diferencias significativas al compararlo con el porcentaje de células claras ya que fue más frecuente y más intensa en el grupo con $\geq 33\%$ de CCL. En la mayoría de casos para que se desarrolle un CE existe una elastosis solar como consecuencia de un importante daño solar crónico. Además los CE de células claras se han descrito más frecuentemente en localizaciones fotoexpuestas (cabeza y cuello) y en hombres con historia de intensa exposición solar¹²⁴.

7.3.2. PAS Y PAS-d

Fue realizada en 23 casos del grupo seleccionado de CE con células claras que tuvieron el RA positivo y/o \geq del 33% de células claras. El 82,6 % tuvieron tinción PAS positivo y PAS-d negativo. La mayoría de los casos fueron de EB o de CEI-EB. Hubo cuatro casos que la tinción con PAS fue negativa, tres de los cuales tuvieron el RA positivo (un CEI-EB y dos EB).

Se ha descrito que en los casos de CECC que existe positividad con la tinción de PAS y que se negativiza con el PAS-d se tratarían de acúmulos citoplasmáticos de glucógeno¹⁹⁷. Kwon *et al.*¹⁶¹ concluyeron que la mayoría de CECC tanto de piel como en otros órganos, se producían por acúmulos de glucógeno. En los CECC que no se demuestran acúmulos de

glucógeno se ha determinado que podrían ser por cambios degenerativos¹⁶⁰, degeneración hidrópica¹⁶² o por degeneración de lisosomas¹⁶⁴.

Dalton *et al.*¹⁶⁸ estudiaron 40 casos de CECC y encontraron glucógeno en el 95% de los CE de células claras incluidos. Al-Arashi *et al.*¹³⁸ han caracterizado la variante de CE *in situ* de células claras. La mayoría de sus casos también mostraron abundantes acúmulos de glucógenos.

En nuestro estudio no pudimos demostrar depósitos de glucógeno sólo en tres casos de EB y en un CEI-EB. Además tres de estos casos, tuvieron el RA positivo (un CEI-EB y dos de EB). Sin embargo al ser negativa la adipofilina, no pudimos confirmar de que las células claras que contenían se correspondieran con depósitos lipídicos intracitoplasmáticos.

7.3.3. Carcinomas epidermoides con diferenciación anexial

En dos casos de CEI-EB se objetivo diferenciación anexial. Estos tumores presentaban diferenciación ductal y presentaban asociación con una EB como lesión previa, como se ha descrito en varios estudios^{141,143}.

Una explicación a los casos de CEI-EB con diferenciación anexial, es que se trataran de cambios metaplásicos y la teoría más aceptada es que la EB derivaría de células germinales de la vaina externa del folículo piloso y de células epidérmicas pluripotenciales^{147,148} con capacidad de diferenciarse hacia estructuras anexiales. Sin embargo para otros autores estas lesiones de EB serían mejor interpretadas como carcinomas indiferenciados compuestos de células sebáceas primitivas germinativas¹⁴⁶ o ductales (ecrinas o apocrinas) que eventualmente podrían hacerse invasivas¹⁴⁹.

7.4. LIMITACIONES

-Las variables porcentaje de células claras y los valores inmunohistoquímicos han sido descritas en intervalos (análisis semicuantitativo) porque no es posible determinar el porcentaje exacto y además en un mismo tumor, se pueden observar áreas con mayor o menor cantidad de células claras o de positividad inmunohistoquímica.

-Pueden existir discrepancias diagnósticas en la clasificación de las lesiones incluidas. Por ejemplo la QA bowenoide puede ser indistinguible de la EB. Además en algunos casos pueden confluir lesiones de QA y de EB. Para evitarlo sólo fueron incluidos los casos con diagnóstico revisado y fueron excluidos los casos dudosos o cuyo diagnóstico no estaba claro. Además las lesiones fueron clasificadas según su componente mayoritario, como por ejemplo en las QA aunque existiera algún foco de displasia en toda la epidermis.

-Podría existir un posible sesgo de selección ya que no se realizó el recuento, ni se analizaron los casos con material insuficiente para completar los estudios inmunohistoquímicos. Además en siete casos no pudo completarse el estudio con adipofilina por escaso material, por lo que fueron excluidos en el análisis de esta variable.

-Serían necesarios más estudios con un tamaño muestral mayor y/o multicéntricos para evitar que posibles variables geográficas o ambientales pudieran interferir en los resultados.



CONCLUSIONES

8. CONCLUSIONES

1. La enfermedad de Bowen y los carcinomas epidermoides invasivos derivados de ésta, son los tumores que presentaron mayor cantidad de células claras y en los que se observaba además con frecuencia signos de microvacuolado en el citoplasma. El conocimiento de estas características sería importante para evitar errores diagnósticos con otros tumores como el carcinoma sebáceo.

2. En el estudio inmunohistoquímico, el antígenos de membrana epitelial presentó escasa utilidad para estudiar la diferenciación sebácea ya que fue positivo en la mayoría de los carcinomas epidermoides, sobre todo en los casos con mayor porcentaje de células claras. Debido a este motivo puede no ser un marcador útil en el diagnóstico diferencial con el carcinoma sebáceo.

3. La mayoría de carcinomas epidermoides de células claras presentaron positividad con la tinción de PAS y fueron PAS-d negativos, lo que apoyaría que estuvieran producidos por depósitos de glucógeno y únicamente simularían diferenciación sebácea.

4. Sin embargo, existe un porcentaje de carcinomas epidermoides que expresaron el receptor de andrógenos. Este porcentaje fue mayor en la enfermedad de Bowen y disminuyó en las formas invasoras. Además, el receptor de andrógenos fue negativo en todos los casos de carcinomas epidermoides invasores derivados de queratosis actínicas.

5. El receptor de andrógenos no se relacionó con la adipofilina, ni con otras variables de diferenciación sebácea como el porcentaje de células claras o el microvacuolado, por lo que a pesar de la positividad de la expresión inmunohistoquímica, no pudimos concluir que se tratara de verdadera diferenciación sebácea.

6. La expresión del receptor de andrógenos en la enfermedad de Bowen, podría apoyar que se tratase de un carcinoma intraepidérmico indiferenciado que se originase desde estructuras anexiales intraepidérmicas o de células ectodérmicas pluripotenciales.

7. El estudio de la expresión del receptor de andrógenos en el carcinoma epidermoide puede permitir mejorar el conocimiento sobre su patogenia y evitar errores diagnósticos con otras neoplasias como el carcinoma sebáceo.

8. Serán necesarios más estudios incluyendo factores pronósticos del carcinoma epidermoide, para valorar si existen diferencias en el comportamiento biológico de los carcinomas epidermoides que tienen expresión positiva para el receptor de andrógenos, así como la utilización de antagonistas pudieran tener un papel futuro en el tratamiento.





BIBLIOGRAFÍA

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Lebowitz M. Actinic keratosis: epidemiology and progression to squamous cell carcinoma. *Br J Dermatol.* 2003;149 Suppl:31–33.
2. Gupta AK, Cooper EA, Feldman SR, Fleischer AB. A survey of office visits for actinic keratosis as reported by NAMCS, 1990-1999. *National Ambulatory Medical Care Survey. Cutis.* 2002;70:8–13.
3. Marks R, Ponsford MW, Selwood TS, Goodman G, Mason G. Non-melanotic skin cancer and solar keratoses in Victoria. *Med J Aust.* 1983;2:619–622.
4. Memon AA, Tomenson JA, Bothwell J, Friedmann PS. Prevalence of solar damage and actinic keratosis in a Merseyside population. *Br J Dermatol.* 2000;142:1154–1159.
5. Glogau RG. The risk of progression to invasive disease. *J Am Acad Dermatol.* 2000;42:23–24.
6. Marks R, Rennie G, Selwood TS. Malignant transformation of solar keratoses to squamous cell carcinoma. *Lancet.* 1988;1:795–797.
7. Marks R, Foley P, Goodman G, Hage BH, Selwood TS. Spontaneous remission of solar keratoses: the case for conservative management. *Br J Dermatol.* 1986;115:649–655.
8. Czarnecki D, Meehan CJ, Bruce F, Culjak G. The majority of cutaneous squamous cell carcinomas arise in actinic keratoses. *J Cutan Med Surg.* 2002;6:207–209.
9. Brufau-Redondo C. Precáncer epitelial cutáneo-mucoso. En: Herrera Ceballos E, ed. *Tumores Cutáneos.* Madrid: Grupo Aula Médica Ed.; 1999:97–116.
10. Goldberg LH, Joseph AK, Tschien JA. Proliferative actinic keratosis. *Int J Dermatol.* 1994;33:341–345.
11. Calonje E, Brenn T, Lazar AJ, McKee PH. Tumors of the surface epithelium. En: *McKee's Pathology of the skin.* 4^a ed. China: Elsevier; 2011:1110–25.
12. Weedon. Tumores de la epidermis. En: *Piel Patología.* 1^a edición. Madrid: Marbán; 2002:635–73.

13. Bowen JT. Precancerous dermatoses: a study of two cases of chronic atypical epithelial proliferation. 1912;30:241–255.
14. Peterka ES, Lynch FW, Goltz RW. An association between Bowen's disease and internal cancer. *Arch Dermatol.* 1961;84:623–629.
15. Sober AJ, Burstein JM. Precursors to skin cancer. *Cancer.* 1995;75:645–650.
16. Jaeger AB, Gramkow A, Hjalgrim H, Melbye M, Frisch M. Bowen disease and risk of subsequent malignant neoplasms: a population-based cohort study of 1147 patients. *Arch Dermatol.* 1999;135:790–793.
17. Martin AA, Hudgins EM, McMullan FH. All Bowen's disease is squamous cell carcinoma in situ, but all squamous cell carcinoma in situ is not Bowen's disease. *J Cutan Pathol.* 2010;37:1186–1187.
18. Morton CA, Birnie AJ ED. British Association of Dermatologists' guidelines for the management of squamous cell carcinoma in situ (Bowen's disease) 2014. *Br J Dermatol.* 2014;170:245–260.
19. Eedy DJ GA. Thirteen-year retrospective study of Bowen's disease in Northern Ireland. *BrJ Dermatol.* 1987;117:715–720.
20. Cox NH. Body site distribution of Bowen's disease. *Br J Dermatol.* 1994;130:714–716.
21. Duncan KO, Geisse JK, Leffell DJ. Epidermal and Appendageal Tumors. En: *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine.* 8^a ed. McGraw-Hill; 2012:1261–94.
22. Kossard S, Rosen R. Cutaneous Bowen's disease: An analysis of 1001 cases according to age, sex, and site. *J Am Acad Dermatol.* 1992;27:406–410.
23. Bernstein EF, Schwartz M, Viehmeyer R, Arocena MS, Sambuco CP, Ksenzenko SM. Measurement of protection afforded by ultraviolet-absorbing window film using an in vitro model of photodamage. *Lasers Surg Med.* 2006;38:337–342.
24. Cox NH, Eedy DJ, Morton CA. Guidelines for management of Bowen's disease: 2006 update. *Br J Dermatol.* 2007;156:11–21.
25. Chute CG, Chuang TY, Bergstralh EJ, Su WP. The subsequent risk of internal cancer with Bowen's disease. A population-based study. *JAMA.* 1991;266:816–819.

26. Reizner GT, Chuang TY, Elpern DJ, Stone JL, Farmer ER. Bowen's disease (squamous cell carcinoma in situ) in Kauai, Hawaii. A population-based incidence report. *J Am Acad Dermatol.* 1994;31:596–600.
27. Arlette JP, Trotter MJ. Squamous cell carcinoma in situ of the skin: history, presentation, biology and treatment. *Australas J Dermatol.* 2004;45:1–9.
28. Yáñez-Díaz S. Carcinomas espinocelulares. En: Grupo Aula Médica, ed. *Tumores Cutáneos.* Madrid; 1999:97–116.
29. Johnson TM, Rowe DE, Nelson BR, Swanson NA. Squamous cell carcinoma of the skin (excluding lip and oral mucosa). *J Am Acad Dermatol.* 1992;26:467–484.
30. Vitasa BC, Taylor HR, Strickland PT, Rosenthal FS, West S, Abbey H et al. Association of nonmelanoma skin cancer and actinic keratosis with cumulative solar ultraviolet exposure in Maryland watermen. *Cancer.* 1990;65:2811–2817.
31. Marks R. An overview of skin cancers. Incidence and causation. *Cancer.* 1995;75:607–612.
32. 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;131:164–169.
33. Stern RS, Laird N, Melski J, Parrish JA, Fitzpatrick TB, Bleich HL. Cutaneous squamous-cell carcinoma in patients treated with PUVA. *N Engl J Med.* 1984;310:1156–1161.
34. Stern RS, PUVA Follow-Up Study. The risk of squamous cell and basal cell cancer associated with psoralen and ultraviolet A therapy: a 30-year prospective study. *J Am Acad Dermatol.* 2012;66:553–562.
35. Nijsten TEC, Stern RS. The increased risk of skin cancer is persistent after discontinuation of psoralen+ultraviolet A: a cohort study. *J Invest Dermatol.* 2003;121:252–258.
36. Leffell DJ. The scientific basis of skin cancer. *J Am Acad Dermatol.* 2000;42:18–22.

37. Ko CB, Walton S, Keczek K, Bury HP, Nicholson C. The emerging epidemic of skin cancer. *Br J Dermatol*. 1994;130:269–272.
38. Moan J, Grigalavicius M, Baturaite Z, Dahlback A, Juzeniene A. The relationship between UV exposure and incidence of skin cancer. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2014;31:26–35.
39. Khalesi M, Whiteman DC, Tran B, Kimlin MG, Olsen CM, Neale RE. A meta-analysis of pigmentary characteristics, sun sensitivity, freckling and melanocytic nevi and risk of basal cell carcinoma of the skin. *Cancer Epidemiol*. 2013;37:534–543.
40. Iannacone MR, Wang W, Stockwell HG, O'Rourke K, Giuliano AR, Sondak VK et al. Patterns and timing of sunlight exposure and risk of basal cell and squamous cell carcinomas of the skin--a case-control study. *BMC Cancer*. 2012;12:417.
41. Gallagher RP, Bajdik CD, Fincham S, Hill GB, Keefe AR, Coldman A et al. Squamous cell and basal cell carcinoma of the skin in relation to radiation therapy and potential modification of risk by sun exposure. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007;18:776–784.
42. Gallagher RP, Bajdik CD, Fincham S, Hill GB, Keefe AR, Coldman A et al. Chemical exposures, medical history, and risk of squamous and basal cell carcinoma of the skin. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1996;5:419–424.
43. Glick AB, Dlugosz AA. Chemical carcinogenesis. En: Goldsmith LA; Katz SI; Gilchrist BA; Paller AS; Leffell DJ; Wolff K, ed. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. 8^a ed. Buenos Aires: McGraw-Hill; 2012:1239–51.
44. Cabrera HN, Gómez ML. Skin cancer induced by arsenic in the water. *J Cutan Med Surg*. 2003;7:106–111.
45. Bhawan J. Squamous cell carcinoma in situ in skin: what does it mean?. *J Cutan Pathol*. 2007;34:953–955.
46. Rossman TG, Uddin AN, Burns FJ. Evidence that arsenite acts as a cocarcinogen in skin cancer. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2004;198:394–404.
47. De Hertog SA, Wensveen CA, Bastiaens MT, Kielich CJ, Berkhout MJ, Westendorp RG et al. Relation between smoking and skin cancer. *J Clin Oncol*. 2001;19:231–238.

48. Sigmon JR, Cantrell J, Teague D, Sanguenza O, Sheehan DJ. Poorly differentiated carcinoma arising in the setting of erythema ab igne. *Am J Dermatopathol.* 2013;35:676–678.
49. Jellouli-Elloumi A, Kochbati L, Dhraief S, Ben Romdhane K, Maalej M. Cancers arising from burn scars: 62 cases. *Ann Dermatol Venereol.* 2003;130:413–416.
50. García-Morales I, Pérez-Gil A, Camacho FM. Úlcera de Marjolin: carcinoma sobre cicatriz por quemadura. *Actas Dermosifiliogr.* 2006;97:529–532.
51. Stanford R, Lowell D, Raju R, Arya S. Marjolin's ulcer of the leg secondary to nonhealing chronic venous stasis ulcer. *J Foot Ankle Surg Off Publ Am Coll Foot Ankle Surg.* 2012;51:475–478.
52. Panteli M, Puttaswamaiah R, Lowenberg DW, Giannoudis PV. Malignant Transformation in Chronic Osteomyelitis: Recognition and Principles of Management. *J Am Acad Orthop Surg.* 2014;22:586–594.
53. Tao J, Zhang X, Guo N, Chen S, Huang C, Zheng L et al. Squamous cell carcinoma complicating discoid lupus erythematosus in Chinese patients: review of the literature, 1964-2010. *J Am Acad Dermatol.* 2012;66:695–696.
54. McGrath JA, Schofield OM, Mayou BJ, McKee PH, Eady RA. Epidermolysis bullosa complicated by squamous cell carcinoma: report of 10 cases. *J Cutan Pathol.* 1992;19:116–123.
55. Singh SK, Saikia UN, Ajith C, Kumar B. Squamous cell carcinoma arising from hypertrophic lichen planus. *J Eur Acad Dermatology Venereol.* 2006;20:745–746.
56. Losanoff JE, Sochaki P, Khoury N, Levi E, Salwen WA, Basson MD. Squamous cell carcinoma complicating chronic suppurative hidradenitis. *Am Surg.* 2011;77:1449–1453.
57. Quintal D, Jackson R. Aggressive squamous cell carcinoma arising in familial acne conglobata. *J Am Acad Dermatol.* 1986;14:207–214.
58. Smoller BA, McNutt NS, Carter DM, Gottlieb AB, Hsu A, Krueger J. Recessive dystrophic epidermolysis bullosa skin displays a chronic growth-activated immunophenotype. Implications for carcinogenesis. *Arch Dermatol.* 1990;126:78–83.

59. Kanitakis J. Porokeratoses: an update of clinical, aetiopathogenic and therapeutic features. *Eur J dermatology*. 2014;24:533–44.
60. Sasson M, Krain AD. Porokeratosis and cutaneous malignancy. A review. *Dermatologic Surg*. 1996;22:339–342.
61. Ma D-L, Vano-Galvan S. Squamous Cell Carcinoma Arising from Giant Porokeratosis: *Dermatologic Surg*. 2009;35:1999–2000.
62. Perry PK, Silverberg NB. Cutaneous malignancy in albinism. *Cutis*. 2001;67:427–430.
63. Bradford PT, Goldstein AM, Tamura D, Khan SG, Ueda T, Boyle J et al. Cancer and neurologic degeneration in xeroderma pigmentosum: long term follow-up characterises the role of DNA repair. *J Med Genet*. 2011;48:168–176.
64. DiGiovanna JJ, Kraemer KH. Shining a light on xeroderma pigmentosum. *J Invest Dermatol*. 2012;132:785–796.
65. Fassihi H. Spotlight on “xeroderma pigmentosum.” *Photochem Photobiol Sci*. 2013;12:78–84.
66. Robati RM, Marefat A, Saeedi M, Rahmati-Roodsari M, Asadi-Kani Z. Four familial cases of epidermodysplasia verruciformis: mother and three sons. *Dermatol Online J*. 2009;15:8.
67. Orth G. Genetics of epidermodysplasia verruciformis: Insights into host defense against papillomaviruses. *Semin Immunol*. 2006;18:362–374.
68. Rogers HD, Macgregor JL, Nord KM, Tying S, Rady P, Engler DE et al. Acquired epidermodysplasia verruciformis. *J Am Acad Dermatol*. 2009;60:315–320.
69. De Oliveira WRP, Festa Neto C, Rady PL, Tying SK. Clinical aspects of epidermodysplasia verruciformis. *J Eur Acad Dermatology Venereol*. 2003;17:394–398.
70. Padlewska K, Ramoz N, Cassonnet P, Riou G, Barrois M, Majewski S et al. Mutation and abnormal expression of the p53 gene in the viral skin carcinogenesis of epidermodysplasia verruciformis. *J Invest Dermatol*. 2001;117:935–942.

71. Harwood CA, Proby CM, McGregor JM, Sheaff MT, Leigh IM, Cerio R. Clinicopathologic features of skin cancer in organ transplant recipients: a retrospective case-control series. *J Am Acad Dermatol*. 2006;54:290–300.
72. Euvrard S, Kanitakis J, Claudy A. Skin cancers after organ transplantation. *N Engl J Med*. 2003;348:1681–1691.
73. Zwald FO, Brown M. Skin cancer in solid organ transplant recipients: advances in therapy and management: part I. Epidemiology of skin cancer in solid organ transplant recipients. *J Am Acad Dermatol*. 2011;65:253–261.
74. 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.
75. Fortina AB, Piaserico S, Caforio AL, Abeni D, Alaibac M, Angelini A et al. Immunosuppressive level and other risk factors for basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma in heart transplant recipients. *Arch Dermatol*. 2004;140:1079–1085.
76. Kuschal C, Thoms K-M, Schubert S, Schäfer A, Boeckmann L, Schön MP et al. Skin cancer in organ transplant recipients: effects of immunosuppressive medications on DNA repair. *Exp Dermatol*. 2012;21:2–6.
77. Bernard HU, Burk RD, Chen Z, van Doorslaer K, zur Hausen H de VE. Classification of Papillomaviruses (PVs) Based on 189 PV Types and Proposal of Taxonomic Amendments. *Virology*. 2010;401:70–79.
78. Corbalán-Vélez R, Ruiz-Maciá JA, Brufau C, Carapeto FJ. Carcinoma espinocelular cutáneo y papilomavirus (VPH). *Actas Dermosifiliogr*. 2007;98:583–593.
79. Parfenov M, Peadamallu CS, Gehlenborg N, Freeman SS, Danilova L, Bristow CA et al. The role of human papillomavirus infection in head and neck cancers. *Ann Oncol*. 2010;21:243–245.
80. Parfenov M, Peadamallu CS, Gehlenborg N, Freeman SS, Danilova L, Bristow CA et al. Characterization of HPV and host genome interactions in primary head and neck cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111:15544–15549.

81. Park H-R, Kim KH, Min SK, Seo J, Kim DH, Kwon MJ. Low rate of detection of mucosal high-risk-type human papillomavirus in Korean patients with extragenital Bowen's disease and squamous cell carcinoma, especially in digital cases. *Biomed Res Int.* 2013;2013:421205.
82. Zheng S, Adachi A, Shimizu M, Shibata SI, Yasue S, Sakakibara A et al. Human papillomaviruses of the mucosal type are present in some cases of extragenital Bowen's disease. *Br J Dermatol.* 2005;152:1243–1247.
83. Derancourt C, Mouglin C, Chopard-Lallier M, Coumes-Marquet S DC. Oncogenic human papillomaviruses in extra-genital Bowen disease revealed by in situ hybridization. *Ann Dermatol Venereol.* 2001;128:715–718.
84. Forslund O, Nordin P, Hansson BG. Mucosal human papillomavirus types in squamous cell carcinomas of the uterine cervix and subsequently on fingers. *Br J Dermatol.* 2000;142:1148–1153.
85. Alam M, Caldwell JB, Eliezri YD. Human papillomavirus-associated digital squamous cell carcinoma: literature review and report of 21 new cases. *J Am Acad Dermatol.* 2003;48:385–393.
86. Shim W-H, Park H-J, Kim H-S, Kim SH, Jung DS, Ko HC et al. Bowenoid Papulosis of the Vulva and Subsequent Periungual Bowen's Disease Induced by the Same Mucosal HPVs. *Ann Dermatol.* 2011;23:493–496.
87. Berkhout RJ, Bouwes Bavinck JN, ter Schegget J. Persistence of human papillomavirus DNA in benign and (pre)malignant skin lesions from renal transplant recipients. *J Clin Microbiol.* 2000;38:2087–2096.
88. Forslund O, Ly H, Reid C, Higgins G. A broad spectrum of human papillomavirus types is present in the skin of Australian patients with non-melanoma skin cancers and solar keratosis. *Br J Dermatol.* 2003;149:64–73.
89. Meyer T, Arndt R, Nindl I, Ulrich C, Christophers E, Stockfleth E. Association of human papillomavirus infections with cutaneous tumors in immunosuppressed patients. *Transpl Int.* 2003;16:146–153.

90. Pfister H, Fuchs PG, Majewski S, Jablonska S, Pniewska I, Malejczyk M. High prevalence of epidermodysplasia verruciformis-associated human papillomavirus DNA in actinic keratoses of the immunocompetent population. *Arch Dermatol Res.* 2003;295:273–279.
91. Feltkamp MCW, de Koning MNC, Bavinck JNB, Ter Schegget J. Betapapillomaviruses: innocent bystanders or causes of skin cancer. *J Clin Virol.* 2008;43:353–360.
92. Aubin F. Mechanisms involved in ultraviolet light-induced immunosuppression. *Eur J dermatology.* 2003;13:515–523.
93. Arron ST, Ruby JG, Dybbro E, Ganem D, DeRisi JL. Transcriptome Sequencing Demonstrates that Human Papillomavirus Is Not Active in Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. *J Invest Dermatol.* 2011;131:1745–1753.
94. McLaughlin-Drubin ME, Münger K. The human papillomavirus E7 oncoprotein. *Virology.* 2009;384:335–344.
95. Jackson S, Storey A. E6 proteins from diverse cutaneous HPV types inhibit apoptosis in response to UV damage. *Oncogene.* 2000;19:592–598.
96. Iftner T, Elbel M, Schopp B, Hiller T, Loizou JI, Caldecott KW et al. Interference of papillomavirus E6 protein with single-strand break repair by interaction with XRCC1. *EMBO J.* 2002;21:4741–4748.
97. Akgül B, Bostanci N, Westphal K, Nindl I, Navsaria H, Storey A et al. Human papillomavirus 5 and 8 E6 downregulate interleukin-8 secretion in primary human keratinocytes. *J Gen Virol.* 2010;91:888–892.
98. Murata Y, Kumano K, Sashikata T. Partial spontaneous regression of Bowen's disease. *Arch Dermatol.* 1996;132:429–432.
99. Chisiki M, Kawada A, Akiyama M, Itoh Y, Tajima S, Ishibashi A et al. Bowen's disease showing spontaneous complete regression associated with apoptosis. *Br J Dermatol.* 1999;140:939–944.
100. Nihei N, Hiruma M, Ikeda S, Ogawa H. A case of Bowen's disease showing a clinical tendency toward spontaneous regression. *J Dermatol.* 2004;31:569–572.

101. Baum HP, Meurer I, Unteregger G. Expression of proliferation-associated proteins (proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen) in Bowen's disease. *Br J Dermatol.* 1994;131:231–236.
102. Hughes JH, Robinson RA. P53 expression in Bowen's disease and in microinvasive squamous cell carcinoma of the skin. *Mod Pathol.* 1995;8:526–529.
103. Ziegler A, Jonason AS, Leffell DJ, et al. Sunburn and p53 in the onset of skin cancer. *Nature.* 1994;372:773–776.
104. Zhang W, Remenyik E, Zelterman D, Brash DE, Wikonkal NM. Escaping the stem cell compartment: sustained UVB exposure allows p53-mutant keratinocytes to colonize adjacent epidermal proliferating units without incurring additional mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98:13948–13953.
105. Kawakami T, Soma Y, Mizoguchi M, Saito R. Analysis of p53, p21(Waf1/Cip1) and TGF-beta(3) immunohistochemical staining in Bowen's disease. *Dermatology.* 2001;202:9–15.
106. Harvey NT, Leecy T, Wood BA. Immunohistochemical staining for p16 is a useful adjunctive test in the diagnosis of Bowen's disease. *Pathology.* 2013;45:402–407.
107. Mortier L, Marchetti P, Delaporte E, Martin de Lassalle E, Thomas P, Piette F et al. Progression of actinic keratosis to squamous cell carcinoma of the skin correlates with deletion of the 9p21 region encoding the p16(INK4a) tumor suppressor. *Cancer Lett.* 2002;176:205–214.
108. Corbalán-Vélez R, Oviedo-Ramírez I, Ruiz-Maciá JA, Conesa-Zamora P, Sánchez-Hernández M, Martínez-Barba E et al. Tinción inmunohistoquímica p16 en carcinomas epidermoides del área genital y extragenital. *Actas Dermosifiliogr.* 2011;102:439–447.
109. Lazarov M, Kubo Y, Cai T, Dajee M, Tarutani M, Lin Q et al. CDK4 coexpression with Ras generates malignant human epidermal tumorigenesis. *Nat Med.* 2002;8:1105–1114.
110. Bito T, Ueda M, Ito A, Ichihashi M. Less expression of cyclin E in cutaneous squamous cell carcinomas than in benign and premalignant keratinocytic lesions. *J Cutan Pathol.* 1997;24:305–308.

111. Sauter ER, Nesbit M, Litwin S, Klein-Szanto AJ, Cheffetz S, Herlyn M. Antisense cyclin D1 induces apoptosis and tumor shrinkage in human squamous carcinomas. *Cancer Res.* 1999;59:4876–4881.
112. Narbutt J, Norval M, Slowik-Rylska M, Jochymiski C, Kozłowski W, Sysa-Jedrzejowska A et al. Suberythemal ultraviolet B radiation alters the expression of cell cycle-related proteins in the epidermis of human subjects without leading to photoprotection. *Br J Dermatol.* 2009;161:890–896.
113. Liang SB, Furihata M, Takeuchi T, Iwata J, Chen BK, Sonobe H et al. Overexpression of cyclin D1 in nonmelanocytic skin cancer. *Virchows Arch An Int J Pathol.* 2000;436:370–376.
114. Shen Y, Xu J, Jin J, Tang H, Liang J. Cyclin D1 expression in Bowen's disease and cutaneous squamous cell carcinoma. *Mol Clin Oncol.* 2014;2:545–548.
115. Brasanac D, Boricic I, Todorovic V, Tomanovic N, Radojevic S. Cyclin A and beta-catenin expression in actinic keratosis, Bowen's disease and invasive squamous cell carcinoma of the skin. *Br J Dermatol.* 2005;153:1166–1175.
116. Ichikawa E, Watanabe S, Otsuka F. Immunohistochemical localization of keratins and involucrin in solar keratosis and Bowen's disease. *Am J Dermatopathol.* 1995;17:151–157.
117. Amirnia M, Babaie-Ghazani A, Fakhrjou A, Khodaeiani E, Alikhah H, Naghavi-behzad M et al. Immunohistochemical study of cyclooxygenase-2 in skin tumors. *J Dermatolog Treat.* 2014;25:380–387.
118. Corbalán-Vélez R, Martínez-Barba E, López-Poveda MJ, Vidal-Abarca Gutiérrez I, Ruíz-Maciá JA, Oviedo-Ramirez I et al. Utilidad de la tinción con laminina-332 para diferenciar queratoacantoma, queratoacantoma con áreas de carcinoma epidermoide y carcinoma epidermoide crateriforme. *Actas Dermosifiliogr.* 2012;103:308–316.
119. Hamasaki H, Koga K, Aoki M, Hamasaki M, Koshikawa N, Seiki M et al. Expression of laminin 5- γ 2 chain in cutaneous squamous cell carcinoma and its role in tumour invasion. *Br J Cancer.* 2011;105:824–832.
120. Kao GF. Carcinoma arising in Bowen's disease. *Arch Dermatol.* 1986;122:1124–1126.

121. Soria JC, Fizazi K, Piron D, Kramar A, Gerbaulet A, Haie-Meder C et al. Squamous cell carcinoma of the penis: multivariate analysis of prognostic factors and natural history in monocentric study with a conservative policy. *Ann Oncol.* 1997;8:1089–1098.
122. Cassarino DS, Derienzo DP, Barr RJ. Cutaneous squamous cell carcinoma: a comprehensive clinicopathologic classification. Part one. *J Cutan Pathol.* 2006;33:191–206.
123. Saglam O, Salama M, Meier F, Chaffins M, Ma C, Ormsby A et al. Immunohistochemical staining of palisading basal cells in Bowen's disease and basal involvement in actinic keratosis: contrasting staining patterns suggest different cells of origin. *Am J Dermatopathol.* 2008;30:123–126.
124. Cassarino DS, Derienzo DP, Barr RJ. Cutaneous squamous cell carcinoma: a comprehensive clinicopathologic classification. Part two. *J Cutan Pathol.* 2006;33:261–279.
125. Strayer DS, Santa Cruz DJ. Carcinoma in situ of the skin: a review of histopathology. *J Cutan Pathol.* 1980;7:244–259.
126. Landman G, Taylor RM, Friedman KJ. Cutaneous papillary squamous cell carcinoma. A report of two cases. *J Cutan Pathol.* 1990;17:105–110.
127. Sun JD, Barr RJ. Papillated Bowen Disease, a Distinct Variant. *J Dermatopathol.* 2006;28:395–398.
128. Weedon D. Tumors of the epidermis. En: *Skin Pathology.* 3rd ed. London: Churchill Livingstone Elsevier; 2010:691–98.
129. Ackerman AB, Mones J. Squamous-cell carcinoma in situ is a fiction!. *J Cutan Pathol.* 2009;36:74–75.
130. Cockerell CJ, Wharton JR. New histopathological classification of actinic keratosis (incipient intraepidermal squamous cell carcinoma). *J Drugs Dermatol.* 2005;4:462–467.
131. Scurry J. Grading of actinic keratoses. *J Am Acad Dermatol.* 2001;44:1052–1053.

132. Simón RS, de Eusebio E, Álvarez-Viéteiz A, Sánchez Yus E. Proliferaciones con diferenciación sebácea. I: Hamartomas. *Actas Dermosifiliogr.* 1998;89:577–590.
133. Ackerman A, Nussen-Lee S, Tan M. Denominator in common for diagnosis histopathologic of neoplasms with sebaceous differentiation. En: *Histopathologic Diagnosis of Neoplasms with Sebaceous Differentiation*. 2^a ed. New York: Ardor Scribendi; 2009:18–22.
134. Requena L, Fernandez J. Carcinoma sebáceo. En: *Neoplasias Anexiales Cutáneas*. Madrid: Aula Médica; 2004:467–483.
135. Kazakov D, Kutzner H, Spagnolo D, Rütten A, Mukensnabl P, Michal M. What is extraocular cutaneous sebaceous carcinoma in situ?. *Am J Dermatopathol.* 2010;32:857–858.
136. Weedon D. Tumors of cutaneous appendages. En: *Skin Pathology*. 3rd ed. China: Elsevier; 2010:772–79.
137. Mercader P, García-Melgares ML, Roche E, Sánchez-Carazo JL, Alegre-de Miquel V. Clinical follow-up and presence of visceral tumors in 12 patients with sebaceous gland tumors. *Actas Dermosifiliogr.* 2008;99:532–539.
138. Al-Arashi MY, Byers HR. Cutaneous clear cell squamous cell carcinoma in situ : clinical, histological and immunohistochemical characterization. *J Cutan Pathol.* 2007;34:226–233.
139. Fulling KH, Strayer DS, Santa Cruz DJ. Adnexal metaplasia in carcinoma in situ of the skin. *J Cutan Pathol.* 1981;8:79–88.
140. Omori Y, Tanito K, Ito K, Ishiji T, Saeki H, Nakagawa H et al. Bowen's carcinoma of the penis with sebaceous differentiation associated with human papillomavirus type 16. *Int J Dermatol.* 2014;53:531–532.
141. Kao G. Adnexal carcinoma arising in Bowen's disease. *Proc 19th Annu Meet Am Soc Dermatopathol.* 1981.
142. Jacobs DM, Sandles LG, Leboit PE. Sebaceous carcinoma arising from Bowen's disease of the vulva. *Arch Dermatol.* 1986;122:1191–1193.

143. Saida T, Okabe Y, Uhara H. Bowen's disease with invasive carcinoma showing sweat gland differentiation. *J Cutan Pathol*. 1989;16:222–226.
144. Inoue U, Hirai S, Ono T. A case of Bowen's disease with invasive adnexal carcinoma. *Ski cancer*. 1994;9:175–180.
145. Watanabe T, Murakami T, Okochi H, Kikuchi K, Furue M. Eccrine poroma associated with Bowen's disease. *Int J Dermatol*. 1998;37:399–400.
146. Escalonilla P, Grilli R, Cañamero M, Soriano ML, Fariña MC, Manzarbeitia F et al. Sebaceous carcinoma of the vulva. *Am J Dermatopathol*. 1999;21:468–472.
147. Kamiya H, Kitajima Y, Ban M. Bowen's disease with invasive adnexal carcinoma: the pluripotential nature of Bowen's disease cells. *J Dermatol*. 2006;33:858–864.
148. Slater DN, Parsons MA, Mudhar H. In-situ squamous cell carcinoma (Bowen's disease) with divergent adnexal differentiation. *Histopathology*. 2003;43:100.
149. Fisher C. Pathology of incipient neoplasia (3rd edition). *Br J Cancer*. 2002;86:1019.
150. McCalmont TH. The company you keep. *J Cutan Pathol*. 2013;40:863–864.
151. Ansai S, Mihara I. Sebaceous carcinoma arising on actinic keratosis. *Eur J dermatology*. 2000;10:385–388.
152. Karkuzhali P, Gomathy N, Ahamed P. Sebaceous carcinoma of cheek arising in a lesion of solar keratosis. *Indian J Dermatol*. 2009;54:16–18.
153. Ishida M, Okabe H. Intraepidermal sebaceous carcinoma occurring concurrently with actinic keratosis. *J Cutan Pathol*. 2012;39:731–732.
154. Misago N, Kuwashiro M, Tsuruta N, Narisawa Y. Sebaceous carcinoma in association with actinic keratosis: A report of two cases with an immunohistochemical study. *J Dermatol*. 2015;42:616–620.
155. Lowney AC, Mc Aleer MA, O'Connor K, Fitzgibbon JF, Bourke JF. Eccrine porocarcinoma arising within an area of Bowen disease. *Clin Exp Dermatol*. 2012;37:136–138.

156. Ishida M, Iwai M, Yoshida K, Kagotani A, Okabe H. Sebaceous carcinoma associated with Bowen's disease: a case report with emphasis on the pathogenesis of sebaceous carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol*. 2013;6:3029–3032.
157. Hoshina D, Akiyama M, Hata H, Aoyagi S, Sato-Matsumura KC, Shimizu H. Eccrine porocarcinoma and Bowen's disease arising in a seborrheic keratosis. *Clin Exp Dermatol*. 2007;32:54–56.
158. Aung PP, Batrani M, Mirzabeigi M, Goldberg LJ. Extraocular sebaceous carcinoma in situ: report of three cases and review of the literature. *J Cutan Pathol*. 2014;41:592–6.
159. Nakashima K, Adachi K, Yamasaki A, Yamada N, Yoshida Y, Yamamoto O. Sebaceous carcinoma with actinic keratosis. *Acta Derm Venereol*. 2010;90:196–198.
160. Kuo T. Clear cell carcinoma of the skin. A variant of the squamous cell carcinoma that simulates sebaceous carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 1980;4:573–583.
161. Kwon TJ, Ro JY, Mackay B. Clear-cell carcinoma: an ultrastructural study of 57 tumors from various sites. *Ultrastruct Pathol*. 1996;20:519–527.
162. Requena L, Sánchez M, Requena I, Alegre V, Sánchez Yus E. Clear cell squamous cell carcinoma. A histologic, immunohistologic, and ultrastructural study. *J Dermatol Surg Oncol*. 1991;17:656–660.
163. Barnadas MA, Freeman RG. Clear cell basal cell epithelioma: light and electron microscopic study of an unusual variant. *J Cutan Pathol*. 1988;15:1–7.
164. Barr RJ, Alpern KS, Santa Cruz DJ, Fretzin DF. Clear cell basal cell carcinoma: an unusual degenerative variant. *J Cutan Pathol*. 1993;20:308–316.
165. Biswas A, Mahalingam M. Cutaneous clear cell neoplasms: a histopathological reappraisal. *Am J Dermatopathol*. 2012;34:237–254.
166. Suster S. Clear cell tumors of the skin. *Semin Diagn Pathol*. 1996;13:40–59.
167. Lee JY, Tang CK, Leung YS. Clear cell carcinoma of the skin: a tricholemmal carcinoma?. *J Cutan Pathol*. 1989;16:31–39.
168. Dalton SR, LeBoit PE. Squamous cell carcinoma with clear cells: how often is there evidence of tricholemmal differentiation?. *Am J Dermatopathol*. 2008;30:333–339.

169. Misago N, Toda S, Narisawa Y. Tricholemmoma and clear cell squamous cell carcinoma (associated with Bowen's disease): immunohistochemical profile in comparison to normal hair follicles. *Am J Dermatopathol.* 2012;34:394–399.
170. Steffen C, Ackerman A. Neoplasm with sebaceous differentiation. En: Philadelphia: Lea & Febiger; 1994.
171. Heyderman E, Graham RM, Chapman D V, Richardson TC, McKee PH. Epithelial markers in primary skin cancer: an immunoperoxidase study of the distribution of epithelial membrane antigen (EMA) and carcinoembryonic antigen (CEA) in 65 primary skin carcinomas. *Histopathology.* 1984;8:423–434.
172. Ansai S, Mitsuhashi Y, Kondo S, Manabe M. Immunohistochemical differentiation of extra-ocular sebaceous carcinoma from other skin cancers. *J Dermatol.* 2004;31:998–1008.
173. Ansai S, Katagata Y, Yoshikawa K, Hashimoto H, Hozumi Y, Kondo S et al. An immunohistochemical study of sebaceous carcinoma with anti-keratin monoclonal antibodies: comparison with other skin cancers. *J Dermatol.* 1994;21:553–559.
174. Ansai S, Takeichi H, Arase S, Kawana S, Kimura T. Sebaceous carcinoma: an immunohistochemical reappraisal. *Am J Dermatopathol.* 2011;33:579–587.
175. Boussahmain C, Mochel MC, Hoang MP. Perilipin and adipophilin expression in sebaceous carcinoma and mimics. *Hum Pathol.* 2013;44:1811–1816.
176. Sramek B, Lisle A, Loy T. Immunohistochemistry in ocular carcinomas. *J Cutan Pathol.* 2008;35:641–646.
177. Rangel J, McCalmont TH. Intracytoplasmic Adipophilin Immunopositivity: A Pitfall in the Distinction of Metastatic Renal Carcinoma from Sebaceous Carcinoma. *J Cutan Pathol.* 2010;37:1194–1195.
178. Fuertes L, Santonja C, Kutzner H, Requena L. Inmunohistoquímica en dermatopatología: revisión de los anticuerpos utilizados con mayor frecuencia (parte I). *Actas Dermosifiliogr.* 2013;104:99–127.

179. Noda Y, Horike H, Watanabe Y, Mori M, Tsujimura T. Immunohistochemical identification of epithelial membrane antigen in sweat gland tumors by the use of a monoclonal antibody. *Pathol Res Pract*. 1987;182:797–804.
180. Fuertes L, Santonja C, Kutzner H, Requena L. Inmunohistoquímica en dermatopatología: revisión de los anticuerpos utilizados con mayor frecuencia (parte II). *Actas Dermosifiliogr*. 2013;104:181–203.
181. Mariko O, Sotoh T, Yokozeki H, Nishioka K. Eccrine porocarcinoma with Bowenoid changes: epithelial membrane antigen is not a useful marker for malignant tumours arising from eccrine gland structures. *Acta Derm Venereol*. 2004;84:142–144.
182. Pelletier G, Ren L. Localization of sex steroid receptors in human skin. *Histol Histopathol*. 2004;19:629–636.
183. Bayer-Garner IB, Givens V, Smoller B. Immunohistochemical staining for androgen receptors: a sensitive marker of sebaceous differentiation. *Am J Dermatopathol*. 1999;21:426–431.
184. Asadi-Amoli F, Khoshnevis F, Haeri H, Jahanzad I, Pazira R, Shahsiah R. Comparative examination of androgen receptor reactivity for differential diagnosis of sebaceous carcinoma from squamous cell and basal cell carcinoma. *Am J Clin Pathol*. 2010;134:22–26.
185. Izikson L, Bhan A, Zembowicz A. Androgen receptor expression helps to differentiate basal cell carcinoma from benign trichoblastic tumors. *Am J Dermatopathol*. 2005;27:91–95.
186. Mulay K, White VA, Shah SJ, Honavar SG. Sebaceous carcinoma: clinicopathologic features and diagnostic role of immunohistochemistry (including androgen receptor). *Can J Ophthalmol*. 2014;49:326–332.
187. Tennant DA, Durán R V, Boulahbel H, Gottlieb E. Metabolic transformation in cancer. *Carcinogenesis*. 2009;30:1269–1280.
188. Straub B, Herpel E, Singer S, Zimbelmann R, Breuhahn K, Macher-Goeppinger S et al. Lipid droplet-associated PAT-proteins show frequent and differential expression in neoplastic steatogenesis. *Mod Pathol*. 2010;23:480–492.

189. Jakobiec FA, Mendoza PR. Eyelid sebaceous carcinoma: clinicopathologic and multiparametric immunohistochemical analysis that includes adipophilin. *Am J Ophthalmol*. 2014;157:186–208.
190. Ostler DA, Prieto VG, Reed JA, Deavers MT, Lazar AJ, Ivan D. Adipophilin expression in sebaceous tumors and other cutaneous lesions with clear cell histology: an immunohistochemical study of 117 cases. *Mod Pathol*. 2010;23:567–573.
191. Johnson TM, Saluja A, Fader D, Blum D, Cotton J, Wang TS et al. Isolated extragenital bowenoid papulosis of the neck. *J Am Acad Dermatol*. 1999;41:867–870.
192. Requena L, Requena C. Histopatología de las infecciones víricas cutáneas más frecuentes. *Actas Dermosifiliogr*. 2010;101:201–216.
193. Reyes MC, Cooper K. An update on vulvar intraepithelial neoplasia: terminology and a practical approach to diagnosis. *J Clin Pathol*. 2014;67:290–294.
194. Sideri M, Jones RW, Wilkinson EJ, Preti M, Heller DS, Scurry J et al. Squamous vulvar intraepithelial neoplasia: 2004 modified terminology, ISSVD Vulvar Oncology Subcommittee. *J Reprod Med*. 2005;50:807–810.
195. Bonerandi JJ, Beauvillain C, Caquant L, Chassagne JF, Chaussade V, Clavere P et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of cutaneous squamous cell carcinoma and precursor lesions. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2011;25 Suppl 5:1–51.
196. Fitzgerald DA. Cancer precursors. *Semin Cutan Med Surg*. 1998;17:108–113.
197. Corbalán-Vélez R, Ruiz-Macia JA, Brufau C, López-Lozano JM, Martínez-Barba E, Carapeto FJ. Las células claras en el carcinoma espinocelular cutáneo. *Actas Dermosifiliogr*. 2009;100:307–316.
198. Beham A, Regauer S, Soyer HP, Beham-Schmid C. Keratoacanthoma: a clinically distinct variant of well differentiated squamous cell carcinoma. *Adv Anat Pathol*. 1998;5:269–280.
199. Domenech JM, Granero R. Macro !NSize for SPSS Statistics. *Sample Size & Power: Comparisons and estimations for independent proportions, means, correlations, risks and rates V2012.02.20*. [Programa informático]. Universidad Autónoma de Barcelona 2012.

200. Chuang TY, Popescu NA SW, Su WP, Chute CG. A population-based incidence study in Rochester, Minn. *Arch Dermatol.* 1990;126:185–88.
201. Kovács A, Yonemoto K, Katsuoka K, Nishiyama S, Harhai I. Bowen's disease: statistical study of a 10 year period. *J Dermatol.* 1996;23:267–274.
202. Miller DL, Weinstock MA. Nonmelanoma skin cancer in the United States: incidence. *J Am Acad Dermatol.* 1994;30:774–778.
203. Revenga Arranz F, Paricio Rubio JF, Mar Vázquez Salvado M, del Villar Sordo V. Descriptive epidemiology of basal cell carcinoma and cutaneous squamous cell carcinoma in Soria (north-eastern Spain) 1998-2000: a hospital-based survey. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2004;18:137–141.
204. Engel A, Johnson ML, Haynes SG. Health effects of sunlight exposure in the United States. *Arch Dermatol.* 1988;124:72–9.
205. Requena L, Requena C. Criterios histopatológicos de diferenciación sebácea. En: *Neoplasias Anexiales Cutáneas.* Madrid: Aula Médica; 2004:359–69.
206. Ackerman A, Nussen-Lee S, Tan M. Sebaceous Carcinoma. En: *Histopathologic Diagnosis of Neoplasms with Sebaceous Differentiation.* 2^a ed. New York; 2009:205–269.
207. Sloane JP, Ormerod MG. Distribution of epithelial membrane antigen in normal and neoplastic tissues and its value in diagnostic tumor pathology. *Cancer.* 1981;47:1786–1795.
208. Jakobiec FA, Werdich X. Androgen receptor identification in the diagnosis of eyelid sebaceous carcinomas. *Am J Ophthalmol.* 2014;157:682–687.
209. Clarke LE, Conway AB, Warner NM, Barnwell PN, Sceppa J, Helm KF. Expression of CK7, Cam 5.2 and Ber-Ep4 in cutaneous squamous cell carcinoma. *J Cutan Pathol.* 2013;40:646–650.
210. Mai KT, Alhalouly T, Landry D, Stinson WA, Perkins DG, Yazdi HM. Pagetoid variant of actinic keratosis with or without squamous cell carcinoma of sun-exposed skin: a lesion simulating extramammary Paget's disease. *Histopathology.* 2002;41:331–336.

211. Sah SP, Kelly PJ, McManus DT, McCluggage WG. Diffuse CK7, CAM5.2 and BerEP4 positivity in pagetoid squamous cell carcinoma in situ (pagetoid Bowen's disease) of the perianal region: a mimic of extramammary Paget's disease. *Histopathology*. 2013;62:511–514.
212. Pulitzer M, Desman G, Busam KJ. CK7 expression in primary cutaneous squamous cell carcinoma. *J Cutan Pathol*. 2010;37:966–972.
213. Mitchell DL, Fernandez AA, Garcia R, Paniker L, Lin K, Hanninen A et al. Acute exposure to ultraviolet-B radiation modulates sex steroid hormones and receptor expression in the skin and may contribute to the sex-bias of melanoma in a fish model. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2014;27:408–417.
214. Simanainen U, Ryan T, Li D, Suarez FG, Gao YR, Watson G et al. Androgen receptor actions modify skin structure and chemical carcinogen-induced skin cancer susceptibility in mice. *Horm Cancer*. 2015;6:45–53.
215. Taplin M-E, Balk SP. Androgen receptor: a key molecule in the progression of prostate cancer to hormone independence. *J Cell Biochem*. 2004;91:483–490.
216. Park S, Koo J, Park HS, Kim JH, Choi SY, Lee JH et al. Expression of androgen receptors in primary breast cancer. *Ann Oncol*. 2010;21:488–492.
217. Gan L, He J, Zhang X, Zhang YJ, Yu GZ, Chen Y et al. Expression profile and prognostic role of sex hormone receptors in gastric cancer. *BMC Cancer*. 2012;12:566.
218. Rades D, Setter C, Dahl O, Schild SE, Noack F. The prognostic impact of tumor cell expression of estrogen receptor- α , progesterone receptor, and androgen receptor in patients irradiated for nonsmall cell lung cancer. *Cancer*. 2012;118:157–163.
219. Diaz de Leon E, Carcangiu ML, Prieto VG, McCue PA, Burchette JL, To G et al. Extramammary Paget disease is characterized by the consistent lack of estrogen and progesterone receptors but frequently expresses androgen receptor. *Am J Clin Pathol*. 2000;113:572–575.
220. Mulay K, Shah SJ, Aggarwal E, White VA, Honavar SG. Periocular sebaceous gland carcinoma: do androgen receptor (NR3C4) and nuclear survivin (BIRC5) have a prognostic significance? *Acta Ophthalmol*. 2014;92:681–687.

221. Muthusamy K, Halbert G, Roberts F. Immunohistochemical staining for adipophilin, perilipin and TIP47. *J Clin Pathol.* 2006;59:1166–1170.







ANEXOS

10. ANEXOS

ANEXO I: Certificado del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínico Virgen de la Arrixaca

 
**Hospital Universitario
"Virgen de la Arrixaca"**
Ctra. Madrid - Cartagena · Telf. 968 36 95 00
30120 El Palmar (Murcia)

Dr. D. Antonio Piñero Madrona
Presidente del CEIC Hospital Virgen de la Arrixaca

CERTIFICA

Que el CEIC Hospital Virgen de la Arrixaca en su reunión del día 26/01/2015, acta 01/15 ha evaluado la propuesta del investigador **Dr. Raúl Corbalán Vélez** referida al estudio:

Título: Estudio de la diferenciación sebácea en la enfermedad de Bowen y en el carcinoma epidermoide invasor

1º. Considera que

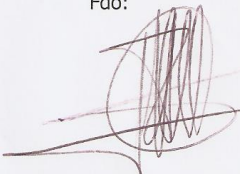
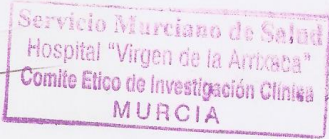
- El ensayo se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y su realización es pertinente.
- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.
- La capacidad de los Investigadores y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

2º. Por lo que este CEIC emite un **DICTAMEN FAVORABLE**

3º. Este CEIC acepta que dicho estudio sea realizado por el **Dr. Raúl Corbalán Vélez** como investigador principal en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca.

Lo que firmo en Murcia, a 26 de enero de 2015

Fdo:

Dr. D. Antonio Piñero Madrona
Presidente del CEIC Hospital Virgen de la Arrixaca

Mod. 141

Anexo 2: Ficha de recogida de datos**1. Número de Registro****2. Número Biopsia:****3. Número de historia clínica:****4. Nombre y apellidos:****5. Fecha nacimiento:****6. Sexo:****7. Fecha de intervención quirúrgica:****8. Localización:**

- a. Cuero cabelludo
- b. Frente
- c. Mejilla-pómulo-párpado-mandíbula
- d. Nariz
- e. Labios
- f. Orejas
- g. Cuello
- h. Tórax
- i. Espalda
- j. Extremidades superiores e inferiores

9. Porcentaje de células claras (CCL)

- a. Ausencia
- b. <33%
- c. $\geq 33\%$ -< 66%
- d. $\geq 66\%$

- e. No valorable

10. Citoplasma microvacuolado:**11. Elastosis solar:**

- a. No elastosis
- b. Dermis reticular superficial
- c. Dermis reticular media
- d. Dermis reticular profunda
- e. No valorable

12. Antígeno de membrana epitelial

- a. Negativo
- b. Focal ($\geq 5\%$ - $\leq 25\%$)
- c. Difusa-I ($>25\%$ - $\leq 75\%$)
- d. Difusa-II ($>75\%$)

13. Receptor de andrógenos

- a. Negativo
- b. Focal ($\geq 5\%$ - $\leq 25\%$)
- c. Difusa-I ($>25\%$ - $\leq 75\%$)
- d. Difusa-II ($>75\%$)

14. Adipofilina

- a. Negativo
- b. Focal ($\geq 5\%$ - $\leq 25\%$)
- c. Difusa-I ($>25\%$ - $\leq 75\%$)
- d. Difusa-II ($>75\%$)

15. PAS:**16. PAS-d:****17. Otros hallazgos histológicos e inmunohistoquímicos:**



ABREVIATURAS

11. ABREVIATURAS

- **CB:** Carcinoma basocelular
- **CCL:** Células claras
- **CCNM:** Cáncer cutáneo no melanoma
- **CE:** Carcinoma epidermoide
- **CEA:** Antígeno carcinoembrionario
- **CECCL:** Carcinoma epidermoide de células claras
- **CEI:** Carcinoma epidermoide invasor
- **CEI- EB:** Carcinoma epidermoide invasor derivado de la enfermedad de Bowen
- **CEI- QA:** Carcinoma epidermoide invasor derivado de queratosis actínica
- **CK:** Citoqueratina
- **CS:** Carcinoma sebáceo
- **EB:** Enfermedad de Bowen
- **EMA:** Antígeno de membrana epitelial
- **EESS:** Extremidades superiores
- **EEII:** Extremidades inferiores
- **HE:** Hematoxilina/Eosina
- **HMFG-1 y 2:** Antígeno del glóbulo de grasa de la leche humana 1 y 2
- **IC:** Intervalo de confianza
- **ID:** Inmunodeprimido
- **OR:** Odds ratio
- **PAS:** Tinción con ácido periódico-Schiff
- **PAS-d:** Tinción con ácido periódico-Schiff y diastasa
- **QA:** Queratosis actínica

- **QAcant:** Queratoacantoma
- **RA:** Receptor de andrógenos
- **RIC:** rango intercuartil

