

<https://doi.org/10.24245/drm/bmu.v68i4.9930>

Virus de papiloma humano en muestras de piel de liquen escleroso genital

Human papillomavirus in genital lichen sclerosus skin samples.

Daniela Attili Castro,¹ Vicente Madrid Marina,² María E Santana Román,³ Rosa María Lacy Niebla,¹ María Elisa Vega Memije¹

Resumen

OBJETIVOS: Determinar la coexistencia del virus de papiloma humano (VPH) mediante PCR punto final en muestras parafinadas de piel genital con diagnóstico clínico-patológico de liquen escleroso.

MATERIALES Y MÉTODOS: Estudio observacional, descriptivo, ambispectivo y transversal efectuado de enero de 2009 a diciembre de 2020 con muestras de tejido de pacientes con diagnóstico clínico-patológico de liquen escleroso genital a las que se les practicó PCR punto final para la búsqueda de VPH.

RESULTADOS: Se practicó PCR punto final a 56 muestras de tejido; en ninguna de ellas hubo positividad para VPH.

CONCLUSIONES: En este estudio efectuado en un laboratorio especializado, con la técnica adecuada y controles necesarios, no se encontró relación entre la existencia de liquen escleroso genital y la infección por VPH. Se recomienda abrir líneas de investigación de otros procesos infecciosos en esta enfermedad.

PALABRAS CLAVE: Liquen escleroso; virus de papiloma humano; PCR.

Abstract

OBJECTIVES: To determine the frequency of human papillomavirus (HPV) by end-point PCR in paraffin samples of genital skin with a clinical-pathological diagnosis of lichen sclerosus.

MATERIALS AND METHODS: An observational, descriptive, ambispective and cross-sectional study was carried out from January 2009 to December 2020 using tissue samples from patients with a clinical-pathological diagnosis of genital lichen sclerosus, that underwent an end-point PCR to search for HPV.

RESULTS: End-point PCR was performed on 56 tissue samples of which there was no positivity for HPV in any of the samples.

CONCLUSIONS: In this study carried out in a specialized laboratory, with the appropriate technique and necessary controls, no relationship was found between the development of genital lichen sclerosus and HPV infection. We recommend opening lines of research on other infectious processes in this disease.

KEYWORDS: Lichen sclerosus; Human papillomavirus; PCR.

¹ Servicio de Dermatología, Hospital General Dr. Manuel Gea González, Ciudad de México.

² Investigador.

³ Técnico de Laboratorio. Centro de Investigaciones Sobre Enfermedades Infecciosas (CISEI), México.

Recibido: noviembre 2023

Aceptado: noviembre 2023

Correspondencia

Rosa María Lacy Niebla
rosilacy@yahoo.com.mx

Este artículo debe citarse como:

Attili-Castro D, Madrid-Marina V, Santana-Román ME, Lacy-Niebla RM, Vega-Memije ME. Virus de papiloma humano en muestras de piel de liquen escleroso genital. Dermatol Rev Mex 2024; 68 (4): 449-455.

ANTECEDENTES

El liquen escleroso es una enfermedad inflamatoria crónica y recidivante que afecta la piel y las mucosas, principalmente en la región anogenital. En nuestra casuística solamente el 6-15% es de localización extragenital.¹ Puede llegar a ser tan extenso que altera la anatomía genital y produce cambios funcionales. A pesar de ser una dermatosis benigna, implica un riesgo del 2 al 8% de carcinoma de células escamosas y existen casos asociados con melanoma.^{1,2,3}

La prevalencia exacta del liquen escleroso se desconoce. Se estima que en la población general es de 1 por cada 300-1000 individuos. Los estudios recientes sugieren una prevalencia más alta en la población femenina: cerca de 1 por cada 30-60 mujeres.^{4,5,6}

Sanhueza y colaboradores⁷ encontraron en su estudio que 4 de cada 5 mujeres con síntomas como prurito, eritema, dispareunia, erosiones o alteraciones vulvares de más de un año de evolución tienen liquen escleroso, lo que indica que es una enfermedad subdiagnosticada. En la población masculina se estima una prevalencia del 0.0014 al 0.07%; sin embargo, se desconoce su verdadera prevalencia porque esta afección no se ha reconocido lo suficiente.^{7,8,9}

El liquen escleroso se manifiesta mayoritariamente en mujeres con respecto a hombres con una relación de 3:1-10:1.^{3,6} En México, los datos epidemiológicos de liquen escleroso son escasos; un estudio encontró que el 83% de los casos de liquen escleroso ocurre en la región anogenital con predominio en el sexo femenino con proporción mujer:hombre de 2.5:1 con edad media al inicio de los síntomas de 50 años y el 7% de estos casos afecta a niños menores de 14 años.¹

En términos clínicos, el liquen escleroso vulvar se distingue por placas de color blanco marfil con superficie brillante que suelen ser simétricas

y principalmente afectan la parte interna de la vulva, el periné y el área perianal; pueden afectar el introito vaginal, lo que produce dispareunia, y estenosis perianal, lo que genera defecación dolorosa. **Figura 1**

Los principales síntomas son: prurito, ardor, dolor, disuria e incontinencia urinaria. El 10% de los casos pueden ser asintomáticos. En hombres, generalmente se manifiesta con placas blancas e induradas, puede afectar el glande, el prepucio y el surco coronal. Inicialmente sobreviene como máculas hipopigmentadas o eritematosas inespecíficas, algunas telangiectasias, posteriormente puede verse como placas con bordes irregulares bien definidos, erosiones, atrofia, típicamente como anillo blanquecino esclerótico en la parte distal del prepucio. Puede ser asintomático; sin embargo, es más frecuente que se manifieste como fimosis o parafimosis con prurito, disuria, parestesias y ardor. Es crónico, recurrente y remitente con periodos de inactividad, pero progresivo.¹⁰⁻¹⁵

La causa del liquen escleroso aún no se ha explicado adecuadamente; existe cada vez más información de diversas hipótesis de su patogénesis. Los estudios sugieren un origen multifactorial, que incluye un trasfondo genético, autoinmunitario, hormonal e infeccioso.^{3,5,11} Respecto a los agentes infecciosos, la prevalencia de virus del papiloma humano (VPH) descrita en la bibliografía es del 4 al 80% de los casos de liquen escleroso.¹²

El VPH-16 es el genotipo más prevalente, contribuye al 64% de los genotipos de VPH detectados en la estimación general.¹² Al sumar la prevalencia del VPH-18, la prevalencia combinada del VPH de alto riesgo es del 69%, mientras que el VPH-6 y 11 representaron un 11% de los casos. Se han investigado otros agentes infecciosos, como *Borrelia burgdorferi* y el virus de Epstein-Barr, entre otros, como desencadenantes externos, pero no se ha relacionado con la causa específica del liquen escleroso.



Figura 1. Liquen escleroso vulvar.

Entre las complicaciones del liquen escleroso genital destacan la formación de cicatrices y deformidades importantes del área genital, así como las neoplasias. El carcinoma de células escamosas tiene una incidencia del 3.5 al 8% de los casos de liquen escleroso. El carcinoma de células escamosas tipo no usual puede surgir a partir del liquen escleroso porque se observan adyacentes en el 25 al 65% de los casos de cáncer vulvar.¹⁶ Powell y colaboradores¹⁷ demostraron en su estudio que el 50% de los casos de carcinoma de células escamosas de pene mostraban cambios de liquen escleroso en la histopatología.

Porter y colaboradores¹⁸ demostraron una prevalencia aumentada de liquen escleroso (50%) en pacientes con eritroplasia de Queyrat (hoy denominada neoplasia intraepitelial o carcinoma epidermoide *in situ*) en comparación con los pacientes con otras formas de neoplasia intraepitelial de pene o la población sana. El 30% de estos pacientes tuvieron coinfección con el virus del papiloma humano. La relación entre liquen escleroso y la infección por VPH es controvertida.

El objetivo de este estudio fue determinar la existencia del virus del papiloma humano mediante PCR punto final en muestras parafinadas de piel genital con diagnóstico clínico-patológico de liquen escleroso.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio observacional, descriptivo, ambispectivo, transversal con muestras de tejido embebidas en parafina de pacientes con diagnóstico clínico e histopatológico de liquen escleroso genital, obtenidas de enero de 2009 a diciembre de 2020. Los criterios de inclusión fueron: muestras de pacientes con diagnóstico clínico-histológico de liquen escleroso genital, de uno y otro sexo y cualquier edad. Los criterios de exclusión fueron: muestras con material insuficiente para el estudio. Los datos se tabularon en Microsoft Excel y se analizaron con estadística descriptiva.

Para la técnica de PCR punto final se llevó a cabo la extracción y purificación de ácidos nucleicos de las muestras con diagnóstico de liquen escleroso que estaban embebidas en bloques de parafina. La metodología fue la siguiente:

Remoción de parafina: Con un bisturí se retiró el tejido del bloque de parafina. Posteriormente, se agregaron 500 μ L de xileno al tejido, se dejó en agitación durante 15 minutos a temperatura ambiente y se centrifugó a 14,000 rpm (centrífuga Eppendorf FA-45-24-11-HS; 5430R) durante 3 minutos; se retiró la fase líquida con ayuda de una micropipeta y se repitió el paso.

Hidratación del tejido: El tejido se hidrató con 500 μ L de etanol al 100, 70, 50 y 20% adicionados secuencialmente; el tejido se dejó en incubación durante 1 minuto a temperatura ambiente con cada uno de los diferentes porcentajes de etanol; se centrifugó a 14,000 rpm durante 3 minutos y se retiró el sobrenadante. Por último, se dejó secar la muestra durante 5 minutos a temperatura ambiente.

Lisis del tejido: Una vez que el tejido estaba libre de parafina e hidratado se procedió a hacer la lisis del mismo, para ello se utilizó un mortero y 1 mL de buffer de lisis (contiene EDTA 100 mM, Tris 10 mM, NaCl 50 mM y SDS al 0.5%) y proteinasa K a 200 μ g/mL que se adicionó al momento. El tejido se diseccionó en fragmentos pequeños, se agregó buffer de lisis y se maceró hasta homogeneizar. El material homogeneizado se transfirió a un tubo Eppendorf (1.5 mL), se incubó durante una hora y media en un termoblock a 56 °C y se añadieron 800 μ L de Trizol. Posteriormente se almacenó a -20 °C hasta su procesamiento.

Separación de ácidos nucleicos y proteínas: La separación de los ácidos nucleicos y proteínas se llevó a cabo con 200 μ L de cloroformo por muestra, se incubaron durante 5 minutos a temperatura ambiente, se dio vortex por 10 segundos y se centrifugaron a 12,000 rpm durante 15 minutos para obtener dos fases (ARN superior-proteínas inferior) delimitadas por una interfase que corresponde al ADN). Con ayuda de una micropipeta se recuperó el ADN (interfase).

Purificación de ADN: Se adicionaron 200 μ L de cloroformo a la interfase (ADN) y se centrifugó a 10,000 rpm durante 2 minutos y se recuperó la fase superior que corresponde al ADN. La precipitación del ADN se hizo con 0.15 volúmenes de acetato de potasio 8 M, 2 volúmenes de etanol frío al 100% y se incubó a -20 °C durante toda la noche. Después, la muestra se centrifugó a 10,000 rpm durante 30 minutos. Por último, se procedió a lavar el pellet de ADN con 500 μ L de etanol frío al 75% (en agua DEPC), se dio vortex por 5 segundos y se centrifugó a 10,000 rpm durante 15 min a 4 °C; se repitió el paso anterior una vez más y se dejó secar el pellet a temperatura ambiente. El ADN se resuspendió en 20-40 μ L de agua libre de nucleasas y se cuantificó en el NanoDrop Lite a 260 nm.

PCR actina, VPH: Se verificó la extracción de ADN mediante la amplificación del gen endógeno de actina por PCR punto final y la visualización del fragmento amplificado (109 pb) por electroforesis en gel de agarosa al 1.5%. Una vez que se corroboró la amplificación de actina se procedió a hacer PCR punto final para la búsqueda de virus de papiloma humano (VPH) con oligonucleótidos específicos. El 94% (56/59) de las biopsias amplificaron para actina y fueron procesadas. La secuencia de oligonucleótidos utilizada fue Sen5' TTTGTTACTGTGGTAGATACTAC3', Antisent5' GAAAAATAAACTGTAAATCATATTC3'.

La existencia de VPH se catalogó como variable dicotómica (presente-no presente). Se utilizó la medida de proporción para calcular la frecuencia estimada donde $P = \text{número de casos con VPH} / \text{población total tamizada}$ y se mostró en porcentaje.

RESULTADOS

Se analizaron 59 muestras de tejido de pacientes con diagnóstico clínico-patológico de liquen escleroso genital a las que se les

realizó PCR punto final para la búsqueda de VPH; 3 de las muestras resultaron negativas para actina de ADN, por lo que se excluyeron del análisis. De las 56 muestras analizadas, 40 eran de mujeres; la edad promedio fue de 49.8 años en hombres y de 54.6 años en mujeres. Todas las muestras analizadas fueron negativas para virus del papiloma humano.

Cuadro 1

Cuadro 1. Resultados de PCR punto final para VPH en biopsias de liquen escleroso genital

Número de biopsia	ADN		PCR		Número de biopsia	ADN		PCR	
	Conc. [ng/μL]	260/280	ADN actina	VPH		Conc. [ng/μL]	260/280	ADN actina	VPH
1	234.3	1.78	1	0	31	20.6	1.8	1	0
2	38.4	1.7	1	0	32	372.3	1.92	1	0
3	20.8	1.48	1	0	33	76.8	1.76	1	0
4	67.1	1.9	1	0	34	187.7	1.52	1	0
5	55.9	1.92	1	0	35	47.7	1.71	1	0
6	22.9	1.39	1	0	36	160.8	1.46	1	0
7	51.1	1.92	1	0	37	57.9	1.52	1	0
8	50.5	1.4	1	0	38	44.7	1.34	1	0
9	81.6	1.62	1	0	39	77.9	1.64	1	0
10	47.7	1.59	1	0	40	44.5	1.64	1	0
11	32.6	1.38	1	0	41	48.2	1.67	1	0
12	38.7	1.88	1	0	42	9.6	1.54	0	0
13	47	1.2	1	0	43	19.1	1.68	1	0
14	212.5	1.89	1	0	44	48.3	1.85	1	0
15	83.1	1.4	1	0	45	38.7	1.64	1	0
16	22.1	1.79	1	0	46	92	1.67	0	0
17	46.1	1.41	1	0	47	73.3	1.58	1	0
18	56.1	1.75	1	0	48	62.1	1.68	1	0
19	37.5	1.54	1	0	49	101.4	1.69	1	0
20	300.7	1.9	1	0	50	38	1.6	0	0
21	297.2	1.81	1	0	51	33.2	1.62	1	0
22	31.5	1.62	1	0	52	78.8	1.64	1	0
23	20.9	1.64	1	0	53	8.2	1.63	1	0
24	188.7	1.74	1	0	54	119.9	1.65	1	0
25	302.5	1.85	1	0	55	9.3	1.63	1	0
26	100.3	1.8	1	0	56	38.4	1.74	1	0
27	32.9	1.5	1	0	57	13.7	1.68	1	0
28	39.2	1.36	1	0	58	62.1	1.54	1	0
29	68.4	1.69	1	0	59	29.7	1.5	1	0
30	92.8	1.81	1	0					

DISCUSIÓN

El liquen escleroso es más común en mujeres que en hombres con una relación de 3:1-10:1. Los estudios sugieren un origen multifactorial, que incluye un trasfondo genético, autoinmunitario, hormonal e infeccioso. Respecto a los agentes infecciosos, la prevalencia de VPH descrita en la bibliografía es del 4 al 80% de los casos.

Hald y Blaakaer¹² calcularon la mediana de todos los estudios publicados hasta 2016 en relación con el VPH en liquen escleroso genital y encontraron una prevalencia global del 22%; la prevalencia del VPH es del 8% (intervalo: 0-52%) en pacientes femeninas y del 29% (intervalo: 0-80%) en pacientes masculinos.

Nasca y su grupo¹⁹ estudiaron la coexistencia de infección por VPH de alto riesgo oncogénico en pacientes con liquen escleroso genital; reportaron un 17.4% de prevalencia en su estudio, a diferencia de la población de este estudio en la que fue del 0%. Drut y colaboradores²⁰ estudiaron la coexistencia de VPH en niños menores de 15 años con liquen escleroso genital; encontraron cerca del 52% de positividad en su muestra. En este estudio únicamente se encontraron 4 casos de liquen escleroso genital en niños menores de 15 años, que fueron negativos para VPH, como el resto de la muestra, por lo que se recomienda practicar estudios con mayor población infantil.

Perceau y colaboradores²¹ informaron que en pacientes con carcinoma de células escamosas peneano asociado con liquen escleroso, de las muestras que se sometieron al análisis de PCR ninguna fue positiva para VPH; los autores concluyen que se necesitan series más grandes para estudiar esta asociación. No obstante, se ha propuesto que el liquen escleroso proporciona un campo fértil en el que un virus oncogénico puede causar cambios displásicos y aumentar el riesgo de malignización.

Al obtener el 100% de negatividad en este estudio es posible descartar que el VPH esté implicado en la patogenia del liquen escleroso genital en esta población porque el estudio se llevó a cabo con la técnica adecuada y se obtuvieron los controles necesarios para validar los datos. Es necesario replantear el origen infeccioso de esta enfermedad.

CONCLUSIONES

Se encontró una diferencia importante en cuanto a la coexistencia de VPH en liquen escleroso genital en comparación con lo descrito en la bibliografía. A pesar de haber realizado las pruebas de PCR en un laboratorio especializado y con experiencia en este tipo de muestras, no se obtuvo coexistencia de VPH en liquen escleroso genital.

Recomendamos abrir nuevas líneas de investigación para determinar si existe algún agente infeccioso relacionado con la causa de esta enfermedad.

REFERENCIAS

1. Attili-Castro D, Flores-Reyes IA, Vega-Memije ME, Lacy-Niebla RM. Liquen escleroso. Características clínico-patológicas de 66 casos. *Dermatol Rev Mex* 2021; 65 (4): 518-527. <https://doi.org/10.24245/dermatolrevmex.v65i4.6601>
2. Alfaro-Sánchez AB, Casados-Vergara RF. Liquen escleroso y atrófico vulvar. *Dermatol Rev Mex* 2013; 57 (5): 394-397.
3. Fistarol SK, Itin PH. Diagnosis and treatment of lichen sclerosus an update. *Am J Clin Dermatol* 2013; 14: 27-47. DOI 10.1007/s40257-012-0006-4
4. Pérez-López FR, Vieira-Baptista P. Lichen sclerosus in women: a review. *Climacteric* 2017;20 (4): 339-347 DOI: 10.1080/13697137.2017.1343295
5. Kirkpatrick B, Austin W, Nima B, et al. Pathophysiology, clinical manifestations, and treatment of lichen sclerosus: A systematic review. *Urology* 2020; 135: 11-19. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2019.09.034>
6. Marfatia Y, Surani A, Baxi R. Genital lichen sclerosus et atrophicus in females: An update. *Indian J Sex Transm Dis AIDS* 2019; 40 (1): 6-12. doi: 10.4103/ijstd.IJSTD_23_19
7. Sanhueza P, Yaksic N, Xhahuán K. Valor de la biopsia vulvar en el diagnóstico de liquen escleroso en pacientes con alteraciones vulvares crónicas. *Rev Chil Obstet Ginecol* 2004; 69 (3): 199-202. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75262004000300003>
8. Smith SD, Fischer G. Paediatric vulval lichen sclerosus: review. *Australas J Dermatol* 2009; 50: 243-248. <https://doi.org/10.1111/j.1440-0960.2009.00530.x>
9. Tran DA, Tan X, Macri CJ, et al. Lichen sclerosus: An auto-immunopathogenic and genomic enigma with emerging genetic and immune targets. *Int J Biol Sci* 2019; 15 (7): 1429-1439. doi: 10.7150/ijbs.34613

10. Gautam MM, Singh V, Nadkarni NJ, et al. Anogenital lichen sclerosis. *Indian J Sex Transm Dis* 2020; 41: 1-7. DOI: 10.4103/ijstd.IJSTD_49_17
11. Sherman V, McPherson T, Baldo M, et al. The high rate of familial lichen sclerosis suggests a genetic contribution: an observational cohort study. *J EADV* 2010; 24: 1031-1034.
12. Hald AK, Blaakaer J. The possible role of human papillomavirus infection in the development of lichen sclerosis. *Int J Dermatol* 2017; 57 (2): 139-146. doi: 10.1111/ijd.13697
13. Kirtschig G: Lichen sclerosis—presentation, diagnosis and management. *Dtsch Arztebl Int* 2016; 113: 337-43. DOI: 10.3238/arztebl.2016.0337
14. Nerantzoulis I, Grigoriadis T, Michala L. Genital lichen sclerosis in childhood and adolescence—a retrospective case series of 15 patients: early diagnosis is crucial to avoid long-term sequelae. *Eur J Pediatr* 2017; 176: 1429-1432. <https://doi.org/10.1007/s00431-017-3004-y>
15. Charlton OA, Smith SD. Balanitis xerotica obliterans: a review of diagnosis and management. *Int J Dermatol* 2019; 58 (7): 777-781. Doi:10.1111/ijd.14236
16. Bleeker M, Visser P, Overbeek L, et al. Lichen sclerosis: Incidence and risk of vulvar squamous cell carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2016; 25 (8). DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-16-0019
17. Powell J, Robson A, Cranston D, et al. High incidence of lichen sclerosis in patients with squamous cell carcinoma of the penis. *Br J Dermatol* 2001; 145: 85-89. doi: 10.1046/j.1365-2133.2001.04287.x
18. Porter WM, Francis N, Hawkins D, et al. Penile intraepithelial neoplasia: clinical spectrum and treatment of 35 cases. *Br J Dermatol* 2002; 147: 1159-1165. doi: 10.1046/j.1365-2133.2002.05019.x
19. Nasca MR, Innocenzi D, Micali G. Association of penile lichen sclerosis and oncogenic human papillomavirus infection. *Int J Dermatol* 2006; 45 (6): 681-3. doi: 10.1111/j.1365-4632.2005.02608.x
20. Drut RM, Gómez MA, Drut R, et al. Human papillomavirus is present in some cases of childhood penile lichen sclerosis: an in situ hybridization and SP-PCR study. *Pediatr Dermatol* 1998; 15 (2): 85-90. doi: 10.1046/j.1525-1470.1998.1998015085.x
21. Perceau G, Derancourt C, Clavel C, et al. Lichen sclerosis is frequently present in penile squamous cell carcinomas but is not always associated with oncogenic human papillomavirus. *Br J Dermatol* 2003; 148: 934-938. doi: 10.1046/j.1365-2133.2003.05326.x

AVISO IMPORTANTE

Ahora puede descargar la aplicación de **Dermatología Revista Mexicana**.

Para consultar el texto completo de los artículos deberá registrarse una sola vez con su correo electrónico, crear una contraseña, indicar su nombre completo y especialidad. Esta información es indispensable para saber qué consulta y cuáles son sus intereses y poder en el futuro inmediato satisfacer sus necesidades de información.

La aplicación está disponible para Android o iPhone.

