

TESIS DOCTORAL

ESTUDIO DE LOS EFECTOS DE LA APLICACIÓN
TÓPICA DE IMIQUIMOD AL 5% EN LA
APOPTOSIS DEL CARCINOMA BASOCELULAR

DAVID VIDAL SARRÓ

DIRECTORES DE LA TESIS:
PROFESOR AGUSTÍN ALOMAR MUNTAÑOLA
PROFESOR XAVIER MATÍAS-GUIU

SERVICIO DE DERMATOLOGÍA
HOSPITAL DE LA SANTA CREU I SANT PAU
BARCELONA

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA
FACULTAT DE MEDICINA
DEPARTAMENT DE MEDICINA

Mayo de 2003

A mi mujer Laura y a mi familia

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis no hubiera podido llevarse a cabo sin la colaboración y el estímulo de maestros, compañeros y colaboradores, entre los cuales quiero mencionar en primer lugar al Dr. Agustín Alomar, jefe del servicio de Dermatología del HSCSP y profesor titular de la Universidad Autónoma de Barcelona, por asumir la dirección de este proyecto con gran interés académico, por facilitar los medios necesarios para su realización y por darme sus sugerencias y apoyo incondicional en todo momento.

Al Dr. Xavier Matías-Guiu, jefe del servicio de Anatomía Patológica del Hospital Arnau de Vilanova de Lleida y catedrático de la Universidad de Lleida, por asumir la co-dirección de este proyecto, por la ayuda prestada en el trabajo realizado en Anatomía Patológica y por su apoyo constante.

Al Dr. Ignasi Gich Saladich, adjunto del servicio de Epidemiología del HSCSP, por su ayuda en estadística y por su gran motivación con este trabajo.

A todos los miembros del servicio de Dermatología del HSCSP por su ayuda y colaboración diaria: a los médicos Dra. Pérez, Dra. Barnadas, Dra. García, Dra. Baselga, Dra. Alegre, Dra. Gilaberte, Dra. Bergua, Dra. Vila, Dra. Peramiqúel, Dr. Garcés y Dr. Puig, a las enfermeras Ana, Maribel e Isabel y al personal administrativo Carme, Piedad y Joana.

A todos los miembros del servicio de Anatomía Patológica del HSCSP por su colaboración: a los médicos Dr. Prat, Dr. Lerma, Dr. Curell, Dr. Bordas, Dr. Sancho y Dra. Rodríguez, al personal técnico y de enfermería Vicenç, Elena, Carme, Esther, Cristina, Fina, Erika y al personal administrativo Antonio, Carme, Pilar y Carme.

Al Dr. Sanz del servicio de Farmacia del HSCSP por su colaboración.

Al Dr. Coll de laboratorios Puig por su colaboración.

Al Dr. M. Sainz de los Terreros, E. González, M. A. Llorens, J. Fischer, O. Álvarez y al resto de personal de 3M España que han colaborado en este estudio por su apoyo y profesionalidad.

A todos los pacientes que participaron en este trabajo por su colaboración.

ÍNDICE

PRÓLOGO	Pág. 6
1. ANTECEDENTES	
1.1. CARCINOMA BASOCELULAR	Pág. 7
1.1.1. INTRODUCCIÓN	Pág. 7
1.1.2. CLÍNICA	Pág. 8
1.1.3. HISTOLOGÍA	Pág. 10
1.1.4. CARCINOGENÉISIS	Pág. 12
1.1.5. CICLO CELULAR	Pág. 14
1.1.6. APOPTOSIS	Pág. 17
1.1.7. P53, BAX, BCL-2 Y FAS	Pág. 21
1.1.8. TRATAMIENTO	Pág. 24
1.2. IMIQUIMOD	Pág. 26
1.2.1. INTRODUCCIÓN	Pág. 26
1.2.2. MECANISMO DE ACCIÓN	Pág. 27
1.2.3. IMIQUIMOD EN DERMATOLOGÍA	Pág. 29
1.2.4. IMIQUIMOD EN EL CARCINOMA BASOCELULAR	Pág. 32
2. JUSTIFICACIÓN	Pág. 34
3. OBJETIVOS E HIPÓTESIS	Pág. 35
4. DISEÑO DE LOS ESTUDIOS	Pág. 37
4.1. ESTUDIO ABIERTO EN 55 CBC	Pág. 37
4.2. ESTUDIO RANDOMIZADO EN 30 CBC	Pág. 42
5. PACIENTES Y MÉTODOS	Pág. 46
5.1. PACIENTES	Pág. 46
5.1.1. CRITERIOS DE SELECCIÓN	Pág. 46
5.1.2. TAMAÑO MUESTRAL	Pág. 47
5.2. MÉTODOS	Pág. 48
5.2.1. TRATAMIENTOS	Pág. 48
5.2.2. CÁLCULO DE LAS ÁREAS	Pág. 48
5.2.3. OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS CUTÁNEAS	Pág. 48
5.2.4. PROCESADO DE LAS BIOPSIAS CUTÁNEAS	Pág. 48
5.2.5. MÉTODO DE LAS INMUNOTINCIONES	Pág. 49
5.2.6. TÉCNICA DE TUNEL	Pág. 52
5.2.7. EVALUACIÓN DE LAS INMUNOTINCIONES Y TUNEL	Pág. 53
5.2.8. ECOGRAFÍA CUTÁNEA	Pág. 55
5.2.9. MÉTODO ESTADÍSTICO	Pág. 55

6. RESULTADOS DEL ESTUDIO ABIERTO EN 55 CBC	Pág. 56
6.1. RESULTADOS BASALES	Pág. 56
6.2. RESULTADOS DURANTE EL TRATAMIENTO	Pág. 63
6.3. RESULTADOS AL FINAL DEL TRATAMIENTO	Pág. 66
6.4. RESULTADOS 6 SEMANAS POSTRATAMIENTO	Pág. 69
6.5. RESULTADOS 18 MESES POSTRATAMIENTO	Pág. 90
6.6. RESULTADOS DEL ESTUDIO DEL INFILTRADO INFLAMATORIO PERITUMORAL	Pág. 95
6.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	Pág. 99
7. RESULTADOS DEL ESTUDIO RANDOMIZADO EN 30 CBC	Pág. 104
7.1. RESULTADOS BASALES	Pág. 104
7.2. RESULTADOS DURANTE EL TRATAMIENTO	Pág. 108
7.3. RESULTADOS AL FINAL DEL TRATAMIENTO	Pág. 112
7.4. ECOGRAFÍA CUTÁNEA Y DENSIDAD DEL INFILTRADO INFLAMATORIO	Pág. 120
7.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	Pág. 126
8. DISCUSIÓN	Pág. 128
8.1. ESTUDIO ABIERTO EN 55 CBC	Pág. 128
8.2. ESTUDIO RANDOMIZADO EN 30 CBC	Pág. 134
9. CONCLUSIONES	Pág. 137
9.1. ESTUDIO ABIERTO EN 55 CBC	Pág. 137
9.2. ESTUDIO RANDOMIZADO EN 30 CBC	Pág. 139
9.3. CONCLUSIONES FINALES	Pág. 140
10. COMUNICACIONES Y PUBLICACIONES	Pág. 141
10.1. COMUNICACIONES	Pág. 141
10.2. PUBLICACIONES	Pág. 142
11. FOTOGRAFÍAS	Pág. 143
12. BIBLIOGRAFÍA	Pág. 157

PRÓLOGO

La oncología dermatológica es una parte fundamental de la dermatología actual y prueba de ello es la presencia de pacientes con carcinomas basocelulares en la consulta de cualquier dermatólogo casi todos los días. El manejo terapéutico del carcinoma basocelular se basa en la cirugía, pero ante el envejecimiento de la población ha surgido la necesidad de poder tratar los pacientes con terapias menos agresivas. La introducción de la inmunoterapia en el carcinoma basocelular con interferón intralesional en 1986 significó un gran paso en esta dirección. En 1997 la FDA aprobó el uso de imiquimod tópico en el tratamiento de las verrugas genitales externas, por su capacidad de inducir la producción de múltiples citocinas, principalmente el interferón. La propiedad inmunomoduladora de imiquimod para activar el sistema inmune innato y adquirido fue pronto utilizada para tratar el carcinoma basocelular y Beutner publicó la primera serie de carcinomas basocelulares tratados con éxito con imiquimod en 1999 . Imiquimod significa un paso más en la inmunoterapia del carcinoma basocelular, con la ventaja que permite un tratamiento domiciliario del tumor por el propio paciente sin cirugía.

Actualmente la eficacia a largo plazo y el mecanismo de acción de imiquimod en el carcinoma basocelular se están estableciendo con estudios en todo el mundo. El presente trabajo ha tenido como objetivo principal la evaluación de los efectos de la aplicación tópica de imiquimod al 5% en la apoptosis del carcinoma basocelular y se ha realizado en los servicios de Dermatología y Anatomía Patológica del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau en los últimos 3 años.

1. ANTECEDENTES

1.1. CARCINOMA BASOCELULAR

1.1.1. INTRODUCCIÓN

El carcinoma basocelular (CBC) es la neoplasia maligna más frecuente en los humanos. Es un tumor maligno cutáneo que crece invadiendo estructuras vecinas y que sólo en casos excepcionales produce metástasis a distancia.

El CBC representa el 70% de todos los tumores malignos cutáneos, con una frecuencia entre 5 y 7 veces superior al carcinoma espinocelular cutáneo^{1,2}.

La incidencia anual de nuevos CBC por 100.000 habitantes es de 2055 en Australia^{3,4,5}, 407 en Estados Unidos^{6,7} y 128 en Europa⁸. En Australia y en los Estados Unidos se estiman 125.000 y 1.200.000 nuevos CBC anuales respectivamente, con un incremento del 3-6% anual. Se calcula que 2 de cada 3 australianos y 1 de cada 3 caucásicos desarrollarán un CBC a lo largo de su vida.

El CBC aparece generalmente en adultos, con un predominio a partir de los 60 años en relación con la exposición solar crónica. La incidencia por sexo es mayor en los hombres, habitualmente más expuestos a las radiaciones solares por motivos de trabajo. En los últimos años se ha detectado un aumento de CBC en pacientes de menos de 50 años que se exponen a las radiaciones ultravioletas por razones sociales o de ocio. La presencia de CBC en pacientes de menos de 30 años obliga a descartar una genodermatosis.

El principal factor de riesgo de padecer un CBC son las radiaciones ultravioletas (RUV)^{9,10}. Las RUV producen múltiples alteraciones en el ADN, como son la formación de fotodímeros de pirimidina (pirimidina-ciclobutano y 6-4 pirimidina-pirimidona) por la transición de C a T y de CC a TT y roturas de una hebra del ADN. Las RUV también alteran la inmunidad cutánea y favorecen la aparición de CBC. Otros factores de riesgo del CBC son las radiaciones ionizantes, los fototipos claros, determinadas genodermatosis (síndrome de Gorlin, síndrome de Bazex, síndrome de Rombo y xeroderma pigmentoso), los arsenicales y la inmunosupresión. La infección por el virus papiloma humano no es un factor de riesgo del CBC en pacientes inmunocompetentes¹¹.

1.1.2. CLÍNICA

El CBC tiene múltiples formas de presentación clínica y por su relieve se pueden dividir en CBC planos y perlados ¹². Los CBC planos se dividen en superficiales eritematoides, pagetoides y esclerodermiformes. Los CBC perlados se dividen en perlados simples, ulcerados, cicatriciales y úlcero-vegetantes.

El CBC plano es el que carece de irregularidades en su superficie, excepto algunas escamas, erosiones o costras. El CBC superficial eritematoide tiene un aspecto eritematoso aterciopelado y suele localizarse en el tronco y extremidades. El CBC pagetoide presenta tonalidad grisácea, abundantes escamo-costras y suele localizarse en el tronco y extremidades. El CBC esclerodermiforme o morfeiforme tiene un aspecto blanco amarillento, una consistencia dura y esclerosa y suele localizarse en la cara.

Los CBC perlados simples son pápulas translúcidas con telangiectasias en su superficie. La evolución natural del CBC perlado es la de un tumor de lento crecimiento ^{13,14} que crece centrifugamente y en profundidad a lo largo de los años. Si se deja crecer el CBC forma un tumor con pápulas perladas en la periferia y un centro necrótico y ulcerado (ulcus rodens). En ocasiones el CBC ulcerado presenta fenómenos de cicatrización espontánea, que definen el CBC perlado cicatricial. Si el tamaño y la ulceración del CBC es muy importante hablamos de CBC úlcero-vegetantes o terebrantes, que cursan con gran destrucción de los tejidos vecinos y que pueden ocasionar la muerte del paciente.

El CBC esporádico aparece de novo, sin que se conozcan lesiones clínicas precursoras. En el síndrome de Gorlin la lesión precursora del CBC es el nevus basocelular.

El color del CBC generalmente es traslúcido o eritematoso. La presencia de pigmento no justifica la individualización de otra forma clínica de CBC, dado que se trata de un fenómeno que puede ocurrir en cualquier variante clínica y aparece hasta en un 5% del total de los CBC.

Los CBC se originan en la piel y no aparecen en las mucosas dermo-papilares, que se pueden afectar secundariamente. El 80% de los CBC se localizan en áreas de piel descubierta, sobretodo en la cara de adultos con

fototipos claros ¹⁵. Los CBC de la cara generalmente son perlados o planos esclerodermiformes. En la denominada zona central o T de la cara (ojos, nariz y surcos nasogenianos) el riesgo de infiltración en profundidad es más elevado al encontrarse múltiples pliegues embrionarios. El tronco es la zona no fotoexpuesta donde aparecen más CBC, que generalmente son del tipo superficial eritematoide y pagetoide. Los CBC en genitales y cuero cabelludo son poco frecuentes y generalmente aparecen en pacientes con genodermatosis o que han recibido radiaciones ionizantes en dicha zona. Los CBC de palmas y plantas son los más infrecuentes y obligan a descartar una genodermatosis.

Generalmente los pacientes presentan lesiones únicas de CBC, pero en pacientes ancianos con fototipos claros y una historia de exposición solar crónica es frecuente encontrar múltiples CBC. La aparición de múltiples CBC en personas jóvenes obliga a descartar una genodermatosis o arsenicismo.

Los pacientes con CBC esporádico tienen un riesgo de padecer nuevos CBC, carcinomas espinocelulares y melanomas mayor que los pacientes que no han tenido nunca un CBC, por lo que deben ser controlados periódicamente para la detección precoz de recidivas, nuevos CBC y otros cánceres cutáneos ^{16,17,18}.

La ecografía cutánea a 20 MHz y la microscopía confocal in vivo ^{19,20} se utilizan en fase experimental para diagnosticar el CBC, determinar su grosor, sus márgenes y su densidad. En el melanoma maligno las determinaciones ecográficas con ecógrafos de 20 MHz han demostrado una buena correlación con el índice de Breslow patológico ^{21,22}.

1.1.3. HISTOLOGÍA

Las células del CBC proceden de las células madre indiferenciadas pluripotenciales de la capa basal epidérmica y de la vaina folicular externa ²³ y se ha demostrado su clonalidad ²⁴. Las células son basaloides, regulares y con poco citoplasma y se configuran formando nidos tumorales en las capas altas de la dermis y epidermis, con una empalizada de células en la periferia de los nidos. Alrededor de los nidos se forma un estroma tumoral rico en mucina, vasos, mastocitos y células dendríticas dérmicas ²⁵. La interacción entre los nidos tumorales y el estroma es necesaria en el crecimiento del BCC.

Los patrones histológicos del CBC más frecuentes son el nodular, el superficial y el infiltrante ^{26,27,28}. Otros patrones más infrecuentes son el esclerodermiforme, el metatípico y el micronodular.

El patrón superficial representa el 5% de los CBC. El tumor se forma de múltiples microlóbulos de células tumorales que penden de la capa basal epidérmica o de la vaina folicular externa ocupando sólo la dermis superficial y yuxtaepitelial. La zona de contacto epidérmica suele ser muy angosta, dando aspecto sesil o pediculado invertido al tumor. A veces es complejo definir las zonas de transición tumoral. La epidermis que cubre el tumor es atrófica con mínimas ulceraciones. El estroma peritumoral es poco fibroso. Este patrón histológico se suele corresponder con las variedades clínicas de CBC superficial eritematoide y pagetoide.

El patrón nodular o sólido representa el 80% de los CBC. La dermis está ocupada por densos acúmulos de células neoplásicas que ofrecen imágenes abigarradas y compactas. Los lóbulos tumorales pueden ser únicos o múltiples, generalmente redondeados u ovals. Es frecuente observar la empalizada celular periférica perfectamente constituida. El estroma peritumoral muestra una reacción fibroconjuntiva y celular, con presencia de abundante mucina. Este patrón histológico se suele corresponder con la variedad clínica de CBC perlado simple. En la profundidad de los CBC nodulares a veces se originan prolongaciones espiculares infiltrativas. Estos casos ya deben considerarse como CBC de patrón infiltrante por su comportamiento más agresivo.

El patrón infiltrante, cordonal o retiforme representa el 15% de los CBC. Se caracteriza por la presencia de cordones neoplásicos de grosor variable que

infiltran en la dermis. Los cordones tumorales están formados por células en empalizada en la periferia y pocos elementos centrales. Los cordones se cruzan entre sí y dan lugar a imágenes en encaje. El estroma se comporta como en el patrón sólido. Este patrón histológico es el que se suele presentar el CBC perlado ulcerado y úlcero-vegetante.

El patrón esclerodermiforme, esclerosante, o desmoplásico representa el 1,5% de los CBC. El tumor está constituido por finos cordones infiltrativos en la dermis, que casi no presentan células en empalizada. El estroma peritumoral presenta una reacción fibroconjuntiva muy densa, con muchos fibroblastos y colágeno, formando manguitos alrededor de los cordones. Este patrón histológico es el que se suele presentar el CBC plano esclerodermiforme.

Cada patrón histológico tiene un curso evolutivo y una agresividad clínica distinta. Los patrones superficial y nodular son no agresivos y el resto de patrones histológicos son agresivos. Los CBC agresivos infiltran en la profundidad de la dermis e invaden estructuras vecinas, presentan infiltración perineural en un 1% de los casos y producen metástasis en un 0,01% de casos.

El CBC suele presentar un infiltrado inflamatorio peritumoral²⁹. Este infiltrado está compuesto mayoritariamente por linfocitos T (55% de células del infiltrado) con un índice CD4 / CD8 de 1,9. También hay macrófagos (16%), células de Langerhans (4%), células asesinas naturales (4%), linfocitos B (2%), mastocitos y células plasmáticas. Este infiltrado inflamatorio peritumoral es el que desarrolla las respuestas antitumorales. El CBC desarrolla mecanismos de escape del sistema inmune, inhibe el infiltrado peritumoral y crea un estado de tolerancia inmunológica que le permite crecer.

En un 20% de los CBC se observa regresión espontánea^{30,31,32,33} parcial o total. Esta regresión se produce por necrosis de las áreas isquémicas del CBC y por apoptosis de las células del CBC. En las áreas de regresión se ha encontrado un infiltrado inflamatorio peritumoral e intratumoral rico en linfocitos T CD4 con actividad TH1, linfocitos activados con una expresión del receptor de la IL-2 aumentada y niveles elevados de las citocinas IL-2, INF- γ y TNF- β . Estos linfocitos activados participan en la respuesta inmune celular antitumoral, que induce la apoptosis de las células del CBC.

1.1.4. CARCINOGENESIS

El cáncer es una enfermedad genética³⁴⁻³⁷. En el proceso de la carcinogénesis la célula cancerígena acumula una serie de mutaciones en su genoma que activa oncogenes, inactiva genes supresores tumorales, modifican el ciclo celular, alteran las funciones normales de la célula y su fenotipo. La célula cancerígena es una célula anómala que crece y prolifera sin control, que ha perdido sus funciones y fenotipo diferenciados, que inhibe su apoptosis, que escapa del sistema inmune, que estimula la angiogénesis, que crece invadiendo los tejidos vecinos y que es capaz de diseminarse a distancia.

Recientemente se han implicado las células senescentes peritumorales en la carcinogénesis^{38,39}. Estas células se acumulan en los tejidos con el paso de los años y favorecen el desarrollo de las células cancerígenas.

La carcinogénesis del CBC es un proceso complejo⁴⁰⁻⁴³ que ha sido motivo de múltiples estudios en los últimos años. La mayoría de CBC comparte las mismas alteraciones genéticas, pero variaciones en la expresión de determinados genes y proteínas son la base genética de los diferentes patrones clínicos e histológicos del CBC.

Tabla 1. Alteraciones genéticas y funcionales de las células del CBC

- Alteraciones en la vía del hedgehog en el 100% de los CBC
- Pérdida de heterocigosidad en 9q22.3 en el 60% de los CBC esporádicos
- Mutaciones del gen PTCH en el 30-40% de los CBC esporádicos
- Mutaciones del gen PTCH en el 100% de los CBC del síndrome de Gorlin
- Mutaciones del gen SMH en 20% de los CBC esporádicos
- Sobreexpresión de las proteínas Gli1 y Gli2
- Sobreexpresión de la proteína p53 en el 42-92% de CBC. Los CBC agresivos tienen una expresión de p53 mayor que los CBC no agresivos.
- Mutación del gen superior tumoral p53 en el 40-60% de CBC
- Índice proliferativo (ki-67) aumentado, con un ciclo celular corto (217 horas, 9 días) y frecuentes mitosis. Los CBC agresivos tienen un índice proliferativo mayor que los CBC no agresivos.

- Índice apoptótico aumentado. Los CBC agresivos tienen un índice apoptótico mayor que los CBC no agresivos.

- Sobreexpresión de la proteína antiapoptótica bcl-2 en el 67-100% de CBC.

Menor expresión en los CBC agresivos

- Baja expresión de la proteína proapoptótica bax

- Baja expresión de la proteína antiapoptótica survivina ⁴⁴

- Ausencia de expresión de fas receptor

- Expresión difusa e intensa de fas ligando

- Baja expresión de la proteína CUSP/p63 ⁴⁵

- Sobreexpresión de las proteínas WNT-1⁴⁶ y β -catenina nuclear ⁴⁷

- Baja expresión de la proteína supresora tumoral p27 ⁴⁸

- Mutaciones de los oncogenes H-ras y K-ras en un 2-14% de CBC ⁴⁹

- Ausencia de antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) de clase II (HLA-DR) en la superficie celular

- Expresión aumentada de citocinas de los linfocitos TH2: IL-4 y IL-10 ⁵⁰

La IL-10 inhibe las células dendríticas, inhibe la expresión de las moléculas coestimuladoras B7-1 (CD80) y B7-2 (CD86) de las células presentadoras de antígenos y suprime los linfocitos TH1

- Baja expresión de la molécula de adhesión intercelular tipo 1 (ICAM-1)

- Baja expresión de la molécula de adhesión intercelular E-cadherina en los CBC agresivos ⁵¹

- Expresión elevada de la molécula de adhesión CD44 en los CBC agresivos ⁵²

- Actividad aumentada de las metaloproteinasas de la matriz (colagenasa IV, matrisilina, estromelisina-3...) en los CBC agresivos ^{53,54}

- Predominio de los alelos TNF α d4 y d6 y del haplotipo TNF a2-b4-d5 ⁵⁵

1.1.5. CICLO CELULAR

El ciclo celular ^{56,57} está compuesto por las fases G0, G1, S, G2 y M y es un complejo mecanismo regulado por diferentes genes, proteínas y vías: genes supresores tumorales (p53, Rb, PTCH..), oncogenes (c-myc, H-ras, K-ras, HH, SMH, Gli1, WNT-1, bcl-2...), ciclinas (A, B1, B2, C, D1, D2, D3, E, F, G y H), proteínas tirosina cinasas (PTK) ⁵⁸, cinasas dependientes de ciclinas (CDK 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7), inhibidores de las CDK o CKI (las Kip/Cip p21, p27 y p57 y las proteínas INK4 p15, p16, p18 y p19) y telomerasas ⁵⁹ entre otras. Estos factores reguladores del ciclo celular son los que determinan que una célula prolifere, evolucione a diferenciación terminal, entre en quiescencia, pase a senescencia, muera por apoptosis o degenera a célula cancerígena ⁶⁰.

La vía del hedgehog (HH) ⁶¹⁻⁶⁹ es muy importante en el desarrollo del CBC. La vía del HH incluye los genes y proteínas patched (PTCH), smoothed (SMH), Gli1 y Gli2. La proteína SMH estimula el núcleo celular, aumenta la actividad del oncogén Gli1 (también Gli2 y Gli 3), aumenta la expresión de la proteína Gli1 en el citoplasma y aumenta el ciclo celular.

El gen patched (PTCH1) es un gen supresor tumoral se localiza en el cromosoma 9q22.3 y es el gen homólogo humano del gen patched de la mosca *Drosophila*. El gen PTCH2 se localiza en el cromosoma 1p32.1-32.3 y también codifica PTCH. La proteína PTCH es una molécula de la membrana celular que inhibe SMH y disminuye el ciclo celular. Por otro lado la proteína HH inhibe el PTCH y aumenta el ciclo celular al igual que la proteína SMH. Mutaciones de los genes HH, PTCH, SMH y Gli 1 aumentan el ciclo celular y favorecen la carcinogénesis del CBC. Estudios recientes han demostrado que todos los CBC, esporádicos o asociados al síndrome de Gorlin, tienen alteraciones en la vía del HH: pérdida de heterozigosis en 9q22.3 en el 60% de los CBC esporádicos, con mutaciones inactivadoras del alelo PTCH restante; mutaciones del gen PTCH1 en 30-40% de los CBC esporádicos y el 100% de los CBC asociados al síndrome de Gorlin; mutaciones del gen SMH en 20% de los CBC esporádicos; sobreexpresión de los factores de transcripción Gli1 y Gli2.

Ki-67 es una proteína no histona que se detecta en el núcleo en las fases G1, S, G2 y M del ciclo celular, pero no en la fase G0. Se desconoce la función precisa del antígeno ki-67, pero se relaciona con factores de transcripción. El índice proliferativo es el porcentaje de células que expresan ki-67 y se utiliza como marcador de la proliferación celular, de modo similar a la expresión del antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA).

En el CBC el número de células ki-67 positivas por campo de gran aumento (x400) es de 51,25 (S: 6,06)⁷⁰. El índice proliferativo (ki-67) del CBC es de 26,4%⁷¹ y es mayor en los CBC agresivos y recurrentes^{72,73}. El índice proliferativo (ki-67) del CBC es mayor que el del tricopitelioma y menor que el del carcinoma espinocelular.

Figura 1. Ciclo celular

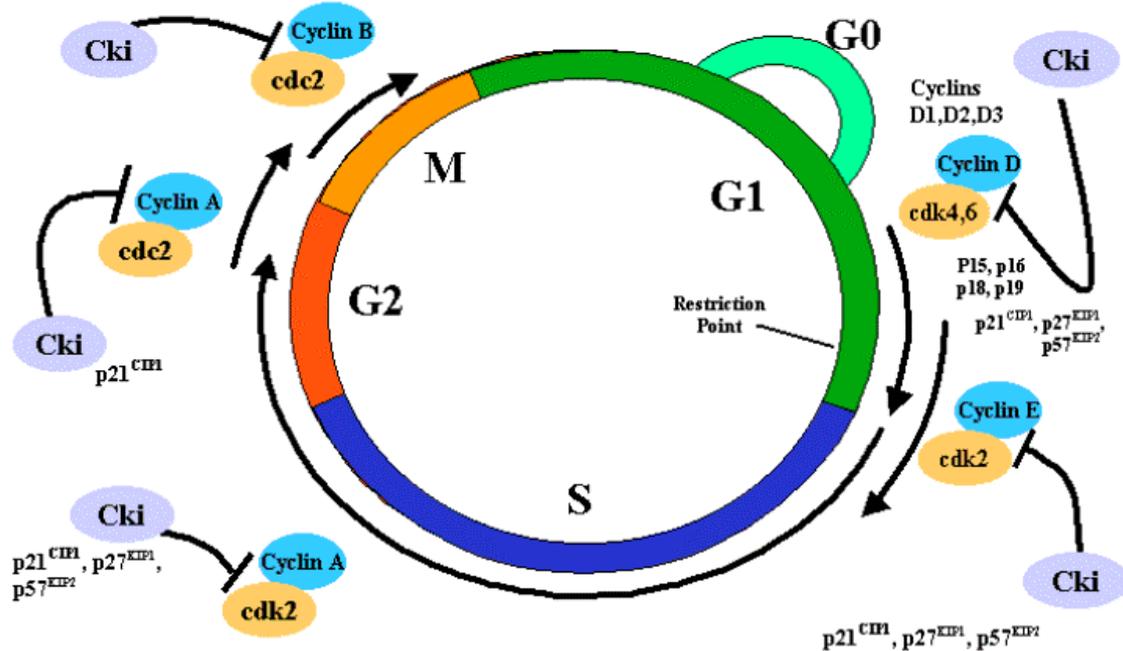
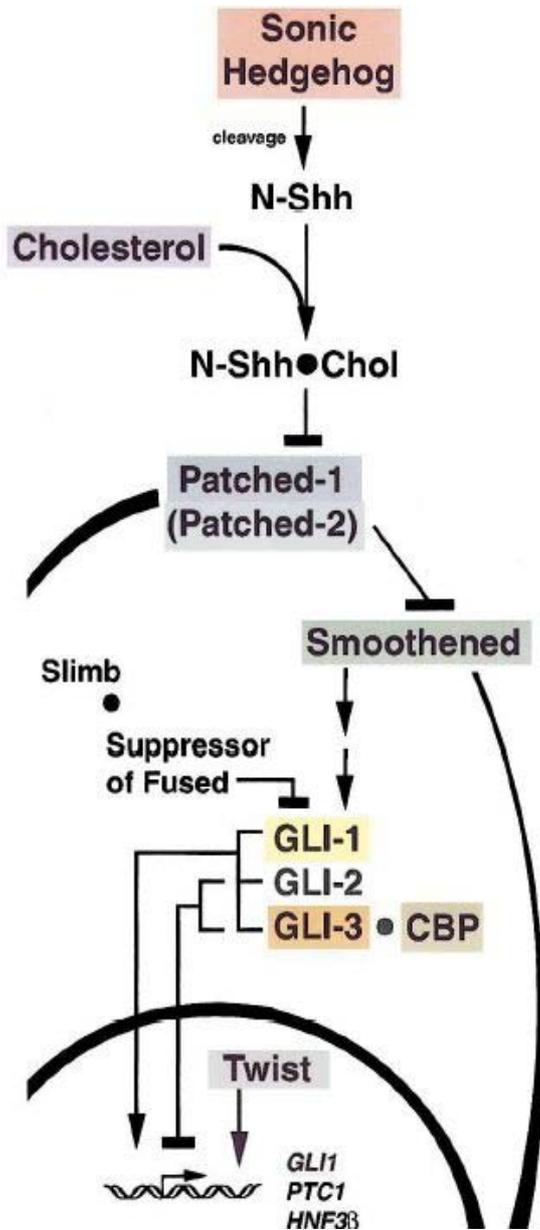


Figura 2. Vía del hedgehog



Holoprosencephaly

Smith-Lemli-Opitz

Gorlin Syndrome
Basal Cell Carcinoma
Medulloblastoma
Trichoepithelioma
Esophageal SCC
Bladder Transitional CCa

Basal Cell Carcinoma
Medulloblastoma

Basal Cell Carcinoma
Medulloblastoma

Basal Cell Carcinoma
Glioblastoma
Rhabdomyosarcoma
Osteosarcoma
Predicts Sarcoma Grade

Greig Syndrome
Pallister-Hall Syndrome
Postaxial Polydactyly A
Preaxial Polydactyly IV
Postaxial Polydactyly A/B

Rubinstein-Taybi

1.1.6. APOPTOSIS

La apoptosis ⁷⁴⁻⁸⁰ también llamada muerte celular programada o suicidio celular, es un proceso fisiológico mediante el cual las células no viables son eliminadas. Es un proceso activo que requiere energía, transcripción genética y síntesis de macromoléculas, que no se produce accidentalmente y que está codificado genéticamente por la propia célula. La apoptosis actúa como un proceso celular básico en la regulación de las poblaciones celulares y en la morfogénesis y homeostasis de los tejidos.

En la apoptosis se produce una pérdida de uniones intercelulares y microvilli de la membrana plasmática, con una pérdida de contacto con las células vecinas. Al mismo tiempo se dilata el retículo endoplásmico y se forman vesículas que se fusionan con la membrana plasmática y vacían su contenido al espacio intercelular. Esto da lugar a una pérdida de iones y líquidos intracelulares, condensación del citoplasma, compactación de la cromatina en bandas densas uniformes y condensación picnótica del núcleo. Posteriormente se pierde la membrana nuclear y la cromatina compactada de los nucleosomas se fragmenta en puntos muy concretos y forma oligonucleosomas constantes de tamaño regular (cariorexix). La célula se fragmenta en múltiples cuerpos apoptóticos, con las organelas citoplasmáticas y mitocondrias intactas en su interior y limitados por una membrana de superficie lisa. Finalmente los cuerpos apoptóticos muestran dilatación progresiva y degradación de las organelas. Todo este proceso es asincrónico y dura 3 minutos. Posteriormente los cuerpos apoptóticos son fagocitados por los macrófagos vecinos.

En una sección histológica teñida con hematoxilina-eosina los queratinocitos apoptóticos son células aisladas con citoplasma eosinofílico y núcleo picnóticos. A veces se observan linfocitos en la vecindad de la célula apoptótica. La apoptosis no produce inflamación, pero los infiltrados inflamatorios pueden aumentar la apoptosis.

La apoptosis es un proceso estrechamente regulado y múltiples genes y proteínas participan en su control. Muchos de los genes implicados participan al mismo tiempo en los mecanismos que regulan el ciclo celular y su alteración puede favorecer la carcinogénesis. Los principales estímulos que inducen la apoptosis son los glucocorticoides, el factor de necrosis tumoral (TNF), los

linfocitos T citotóxicos, las células asesinas naturales, las perforinas, las grancimas A y B, múltiples genes y proteínas (p53, bax, bcl-xs, bad, bak, bim, bid, c-myc, NYC, P54, Fas...), la ceramida, la hipoxia, el estrés oxidativo reactivo, los virus, las toxinas bacterianas, las RUV, las radiaciones ionizantes, la quimioterapia, la hipertermia y la pérdida de adhesión intercelular entre otros.

Los inhibidores de la apoptosis más importantes son los genes y proteínas bcl-2, bcl-xl, mcl-1, survivina y ras mutado.

La regulación de la apoptosis se puede dividir en dos vías. La vía endógena o mitocondrial y la vía exógena de los receptores de la muerte. Las 2 vías comparten la cascada de las caspasas, que son la vía efectora de la apoptosis. Las caspasas son una familia de proteasas cistínicas citoplasmáticas, que tienen una activación en cascada. La caspasa 3 (CPP32)⁸¹ es la caspasa que marca el punto sin retorno de la cascada, que acaba con la fragmentación de la cromatina y la muerte celular.

La vía mitocondrial de la apoptosis está formada por las proteínas proapoptóticas bax, bcl-xs, bad, bak, bim y bid y por las proteínas antiapoptóticas bcl-2 y bcl-xl. Mediante las relaciones entre bax/bcl-2 y bcl-xs/bcl-xl se regula esta vía. Si domina los efectos proapoptóticos de bax o bcl-xs, se produce la translocación del citocromo C de la mitocondria al citoplasma. Aquí se une a Apaf-1 (proteasa factor de activación de la apoptosis) y a la procaspasa 9 y se activa la caspasa 9, que después activa la procaspasa 3.

Los receptores de la muerte⁸² son el fas receptor, TNF receptor y TRAIL (ligando de TNF inductor de la apoptosis) receptor. Cuando estos receptores de membrana celular se unen a sus ligandos se activa la caspasa 8 (MACH), que después activa la procaspasa 3.

La perforina y las grancimas^{83,84} son proteínas exclusivas de los linfocitos citotóxicos (T CD8+ y NK). Estos linfocitos detectan células diana y producen una exocitosis de gránulos cargados de perforina y grancimas. La perforina forma pequeños poros en la membrana celular de la célula diana, que permiten la endocitosis de los gránulos con grancimas en el citoplasma de la célula diana. Las grancimas A y B son proteasas intracelulares que activan la procaspasa 3, siendo la grancima B la más proapoptótica y capaz de fragmentar el ADN por vías independientes de las caspasas⁸⁵.

Las RUV^{86, 87} inducen la apoptosis por dos vías. Por un lado alteran el ADN, producen estrés oxidativo celular y activan la expresión de p53 y bax; y por otro activan la expresión de receptores de la muerte como fas receptor y TRAIL receptor.

Los linfocitos citotóxicos (T CD8+ y NK) inducen la apoptosis por la vía de fas y mediante la perforina y grancimas.

El CBC tiene la apoptosis aumentada. Estudiando secciones de CBC teñidas con hematoxilina-eosina y determinando las células apoptóticas y mitóticas por morfología, se objetivó un 1,26% de células apoptóticas, un 0,53% de células mitóticas y un índice apoptosis/mitosis entre 2,35⁸⁸ y 13,9⁸⁹. El hecho de que haya más células apoptóticas que en mitosis podría explicar el lento crecimiento del CBC⁹⁰. Los CBC agresivos presentan más apoptosis que los CBC no agresivos⁹¹, pero también tienen más mitosis.

La técnica de Tunel^{92,93}, terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP (deoxyuridine triphosphate) biotin nick end labeling, permite el estudio inmunohistoquímico de las células en apoptosis. Las células positivas en la técnica de Tunel son células apoptóticas. El índice apoptótico del CBC por la técnica de Tunel es de 0,63% (S: 0,09)⁹⁴. En otro estudio se observó que la mayoría de los CBC tenía un gran número de células Tunel positivas en el centro de los nidos tumorales, mientras que en el CBC esclerodermiforme el grado de apoptosis era mayor en la parte distal de los cordones que infiltraban en profundidad⁹⁵.

Figura 3. Vías que regulan la apoptosis

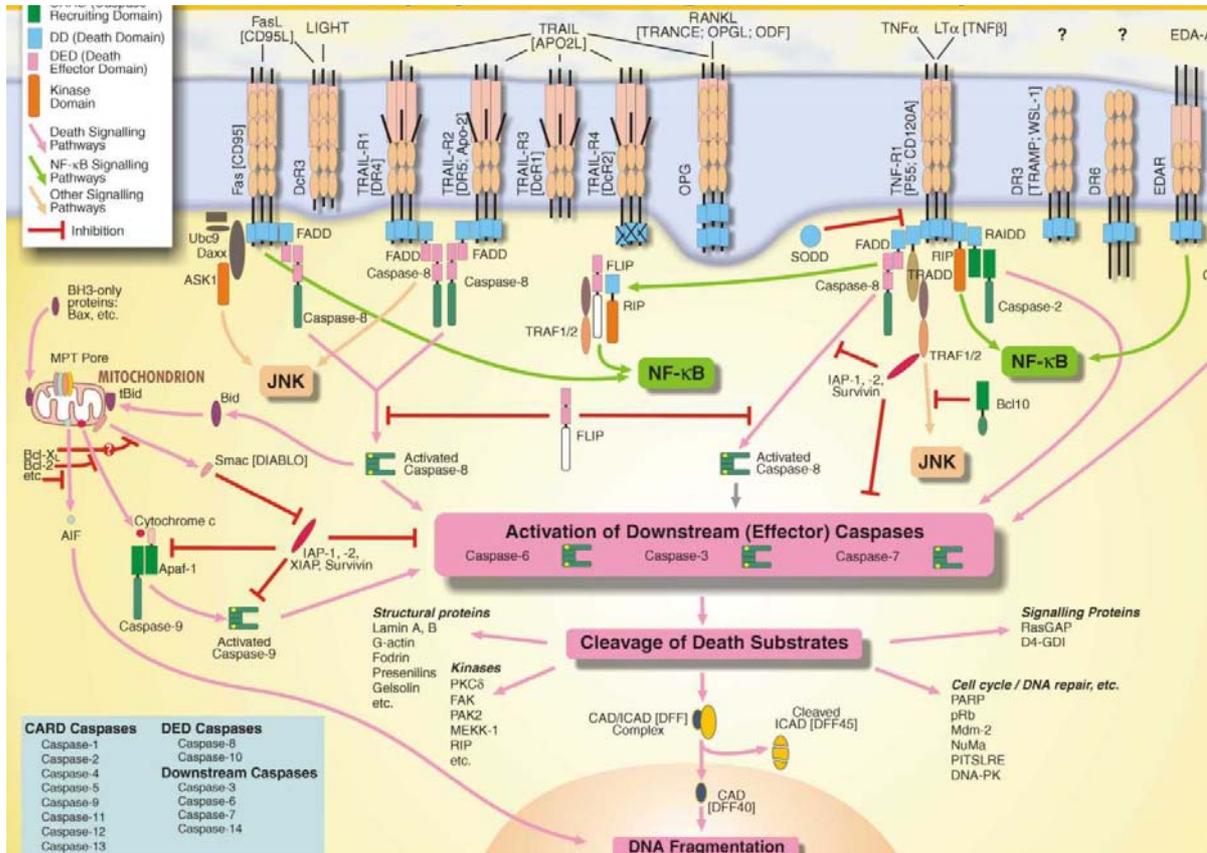
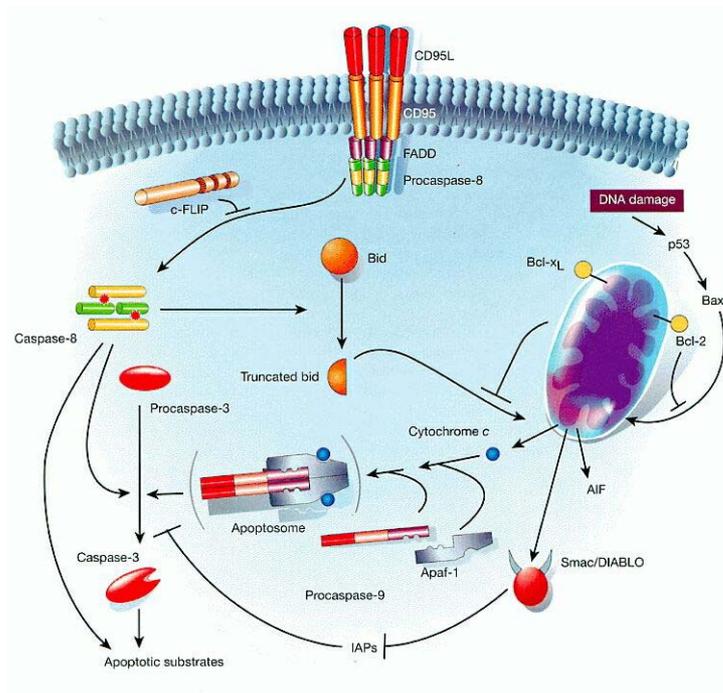


Figura 4. Fas, p53, bax y bcl-2 en la apoptosis



1.1.7. P53, BAX, BCL-2 Y FAS

P53

P53 es un gen supresor tumoral conocido como el guardián del genoma por su capacidad para regular el ciclo celular en situaciones de estrés y mantener la integridad del genoma⁹⁶⁻¹¹⁶. La proteína p53 es un factor de transcripción y activación de otros genes: bax, p21^{WAF1}, mdm-2, GADD45 y IGF-BP3. Cuando se produce una alteración en el genoma p53 activa la vía de p21, que inhibe la CDK2 y detiene el ciclo celular en la fase G1, permitiendo que los mecanismos de reparación del ADN actúen antes de la fase S. Por el contrario, cuando las mutaciones del DNA son irreversibles, p53 activa la vía de bax y se produce la apoptosis.

Cuando un alelo del gen p53 está mutado (heterocigotos de p53) el gen no actúa del todo correctamente y la célula es más resistente a la apoptosis. Cuando los dos alelos de p53 están mutados (homocigotos negativos de p53) la célula es incapaz de regular su ciclo celular, no repara bien el ADN, ni entra en apoptosis cuando las mutaciones son graves, por lo que se favorece la carcinogénesis.

La proteína p53 salvaje (normal) tiene una vida media de 20 minutos y normalmente se mantiene a baja concentración. Sin embargo existen situaciones de sobreexpresión de p53 salvaje fisiológicas, como ocurre después de la exposición a RUV o hipoxia. El gen p53 mutado expresa una proteína mutada con una función alterada y una vida media mayor que la p53 salvaje. La p53 mutada se acumula en la célula tumoral y por inmunohistoquímica se detecta una sobreexpresión de p53. En los tumores con p53 sobreexpresada suele haber mutación del gen p53 (en los codones 196, 248, 273, 278, 282 y 342), pero para confirmar esta mutación se deben realizar análisis moleculares de secuenciación del gen.

En un 42-92% de CBC se encuentra sobreexpresión de la proteína p53 y los CBC agresivos expresan más p53 que los CBC no agresivos^{117,118}. En el CBC el número de células con sobreexpresión de p53 por campo de gran aumento (x400) es de 31,75 (S:9,02)¹¹⁹. Las mutaciones del gen p53 se han demostrado en un 40-60% de CBC y se han detectado en la piel adyacente al CBC¹²⁰.

Bcl-2

El gen bcl-2 (B-cell leukaemia/lymphoma-2) es un protooncogén que codifica una proteína de membrana de 26 kilodaltons que se localiza en el núcleo, el retículo endoplásmico liso y las mitocondrias ¹²¹⁻¹³⁰. Bcl-2 es la mayor proteína antiapoptótica conocida y en la piel sana se expresa en los melanocitos y en los queratinocitos de la capa basal. Bcl-2 regula la apoptosis mediante la formación de homodímeros y heterodímeros con el resto de proteínas de la familia de bcl-2.

Un 67-100% de CBC presentan sobreexpresión de bcl-2. En el CBC el número de células con sobreexpresión de bcl-2 (células bcl-2 positivas) por campo de gran aumento (x400) es de 34 (S:8,78) ¹³¹. La expresión de bcl-2 es más alta en los CBC no agresivos (superficial y nodular) y menor en los CBC agresivos (infiltrante, esclerodermiforme) ¹³². A pesar de la sobreexpresión de bcl-2 las células del CBC presentan mucha apoptosis, por lo que bcl-2 no es suficiente para proteger las células del CBC frente a determinados estímulos proapoptóticos.

Bax

Bax (bcl-2-associated X protein) es una proteína proapoptótica que regula la vía mitocondrial de la apoptosis. La actividad de bax se regula por la formación de homodímeros y heterodímeros en la membrana mitocondrial con las proteínas heterólogas bcl-2, bcl-xs, bcl-xl y bad. Bax, bcl-xs y bad son proapoptóticas, mientras que bcl-2 y bcl-xl son antiapoptóticas. La expresión de bax es muy baja en el CBC ^{133,134,135}.

Relaciones entre p53, bax y bcl-2 y la apoptosis en el CBC:

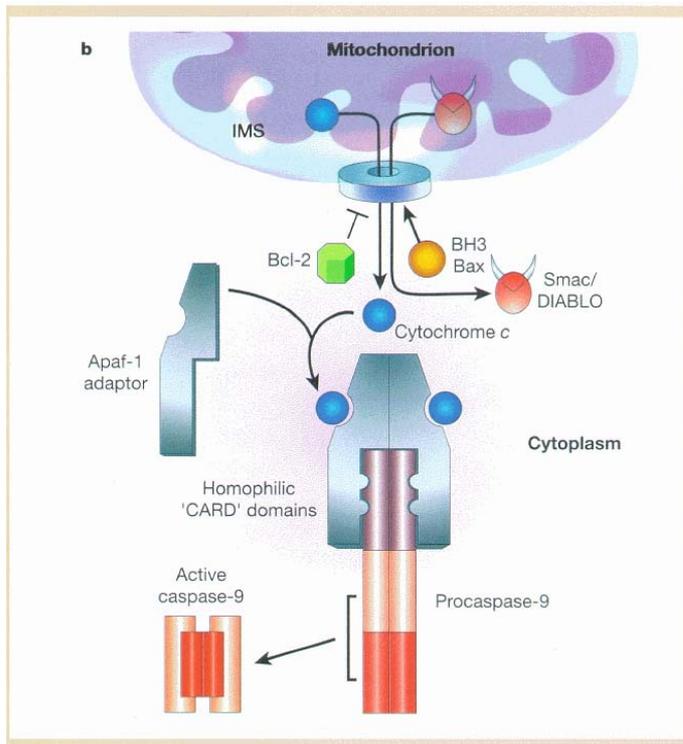
- Relación negativa entre la expresión de p53 y bcl-2
- Relación negativa entre la expresión de bcl-2 y la apoptosis
- La expresión elevada de p53 no modifica la apoptosis
- El balance bax / bcl-2 está dominado por bcl-2

Fas

Fas (fas receptor, CD95 o Apo-1)^{136,137} es una sintasa ácida grasa (fatty acid synthase) que induce la apoptosis. Es una molécula de la membrana plasmática de la familia de los receptores de la muerte que se expresa en muchos tipos celulares, como en los queratinocitos después de las RUV. Las células del CBC no expresan fas receptor¹³⁸.

Fas ligando (CD95L o Apo-1L) es una proteína soluble de la familia de TNF y la interacción entre fas receptor y fas ligando induce la apoptosis de la célula con fas receptor. Fas ligando se expresa de manera difusa y intensa en los linfocitos T activados y en las células del CBC^{139,140}. Esta alteración no sólo evita la apoptosis de la células del CBC, sino que induce la apoptosis de las células con fas receptor del infiltrado inflamatorio peritumoral.

Figura 5. Relaciones entre bcl-2, bax y el citocromo c



1.1.8. TRATAMIENTO

Existen múltiples opciones terapéuticas para el CBC ^{141,142}: cirugía (curetaje, cirugía excisional, cirugía micrográfica de Mohs), radioterapia, crioterapia, terapia fotodinámica e inmunoterapia. La elección del tratamiento más adecuado dependerá principalmente de CBC (patrón histológico, tamaño, localización, número de lesiones, tratamientos previos), del paciente (edad, enfermedades, tratamientos, consentimiento), de centro asistencial (material, quirófano, enfermería) y del propio médico (experiencia, habilidades personales, preferencias).

La inmunoterapia antitumoral ¹⁴³⁻¹⁴⁶ se basa en la regresión tumoral espontánea mediada por las citocinas y las células del sistema inmune. La regresión espontánea del CBC se relaciona con el infiltrado inflamatorio peritumoral (linfocitos TH1) y la expresión elevada de determinadas citocinas (IFN γ , TNF, IL-2). Los antígenos tumorales específicos del CBC (moléculas MAGE...) permiten que el sistema inmune cree una respuesta antígeno específica mediada por linfocitos citotóxicos (T CD8+ y NK) y anticuerpos.

La inmunoterapia del CBC se realiza con interferón alfa (IFN α) intralesional, IL-2 perilesional e imiquimod crema al 5% tópico.

El IFN (α 2a, α 2b, γ) intralesional ¹⁴⁷⁻¹⁵⁶ se ha utilizado a dosis entre 1,5 y 3 MUI, 3 veces por semana, entre 3 y 8 semanas. Las tasas de curación son de un 67-100% para los CBC no agresivos y de un 50% para los CBC recurrentes o agresivos. Muchos casos sólo presentan una respuesta parcial y un 10% de CBC no responden. Los efectos secundarios del IFN α intralesional son eritema, edema, fatiga, mialgia, cefalea, fiebre y náusea, todos ellos leves y reversibles. Estos efectos adversos y el elevado precio del IFN α limitan su uso en la práctica clínica habitual. El mecanismo de acción del IFN frente al CBC se basa en la inducción de una respuesta inmunológica antitumoral. El IFN estimula la producción de linfocitos TH1 y promueve la formación de un infiltrado inflamatorio peritumoral con mayoría de linfocitos T CD4+ alrededor de los nidos tumorales, un 15% de linfocitos T CD8+ y algunas células asesinas naturales. El IFN también aumenta la diferenciación celular, tiene un efecto antiproliferativo, intensifica la expresión de antígenos oncorreactivos,

aumenta la expresión de ICAM-1, aumenta la actividad de las células asesinas naturales y de los macrófagos (aumenta la expresión de TAP1 y TAP2), aumenta la producción de IL-1 y IL-2, disminuye la producción de IL-10 por el CBC e induce la apoptosis de las células tumorales ¹⁵⁷. Esta apoptosis parece estar mediada por un aumento en la expresión del receptor Fas en las células del CBC¹⁵⁸.

Las inyecciones de IL-2 perilesional también han demostrado inducir la regresión del CBC ¹⁵⁹. En un estudio con 12 pacientes con PEG-IL-12, a dosis entre 3000 UI y 1,2 MUI, con inyecciones peritumorales radiales semanales entre 1 y 4 semanas se consiguió curación completa en un 66% de casos. El mecanismo de acción de la IL-2 frente al CBC se basa en la inducción de una respuesta inmunológica antitumoral.

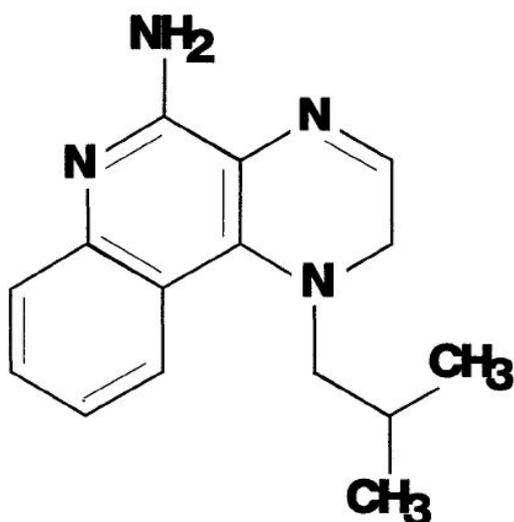
1. 2. IMIQUIMOD

1.2.1. INTRODUCCIÓN

Imiquimod (R-837, S-26308, Im) es una molécula de síntesis desarrollada por 3M Pharmaceuticals, Minesota, EEUU. Su fórmula química es $C_{14}H_{16}N_4$, 1-(2-methylpropyl)-1H-imidazo(4,5-c)quinolin-4-amina y su peso molecular es de 240,3 daltons. Im es una amina heterocíclica del grupo de las imidazoquinolinas y es un análogo de nucleósido ¹⁶⁰⁻¹⁶³. Los metabolitos de Im son el R-842, el S-26704 y el S-27609. Im se comercializa en crema al 5% con el nombre de Aldara[®]. Cada presentación comercial de Aldara[®] contiene 12 sobres monodosis con 250 mg de crema de Im al 5%: 5 mg de Im por cada 100 mg de crema y 12,5 mg de Im por sobre.

Resiquimod (R848, S-28463) es otra imidazoquinolina desarrollada por 3M Pharmaceuticals. Su fórmula es 4-amino-2-ethoxymethyl-alpha,alpha-dimethyl-1H-imidazo[4,5-c]quinoline-1-ethanol. Resiquimod es 100 veces más potente que Im en la activación de las células dendríticas y en la inducción y producción de citocinas inflamatorias. Resiquimod en gel al 0,01% y 0,05% se ha ensayado en la prevención de recurrencias del virus herpes simple ¹⁶⁴.

Figura 6. Fórmula química de imiquimod



1.2.2. MECANISMO DE ACCIÓN

Im no presenta actividad antiviral ni antineoplásica intrínseca, ni induce destrucción citolítica inespecífica, pero estudios in vitro e in vivo han demostrado una importante actividad antivírica y antitumoral ¹⁶⁵⁻¹⁷⁰. Esta actividad se debe a que Im es un modificador de la respuesta inmune innata y adquirida. En la dermis Im y sus metabolitos se unen al receptor toll-like 7 (TLR7) ^{171,172} de la membrana plasmática de monocitos, macrófagos y células dendríticas ¹⁷³. En el interior de estas células se estimula la fosforilación de los factores de transcripción de IFN (alfa4F1 y STAT-1) y del NF-kB (nuclear factor kappa B, proteína de unión y activación del gen kappa) ya sea a través de la activación de la tirosina cinasa o de la proteína cinasa C. Los factores de transcripción fosforilados y activados de IFN y de NF-kB actúan sobre el ADN e inducen la síntesis del ARNm que codifica las citocinas. Ninguna de estas citocinas es inducida mediante un efecto en cascada y por tanto la inducción de una citocina no es un requisito previo para la inducción de otras citocinas. La inducción de citocina por parte de Im es un evento primario e induce la producción de ARNm de forma directa e independiente. La expresión de los genes de las citocinas mediada por Im no se ve bloqueada por los inhibidores de la síntesis de proteínas. La producción de estas citocinas es dosis-dependiente y el pico de máxima producción se produce a las 8 horas de la aplicación tópica de Im. Algunas de estas citocinas activan a monocitos y macrófagos y retroalimentan su propia producción. Las principales citocinas inducidas por Im son el IFN α , el TNF α y la IL12. Estas citocinas activan a las células asesinas naturales y a células presentadoras de antígenos (CPA) como las células de Langerhans y macrófagos ^{174, 175}. Estas CPA aumentan su actividad presentadora de antígenos, para posteriormente migrar a los ganglios linfáticos regionales y presentar los antígenos a los linfocitos T "naive" a través de las moléculas del CMH de clase II (HLA DP, DQ, DR). Una vez presentado el antígeno, estos linfocitos desarrollan una expansión clonal formando linfocitos T de memoria que pasan a la sangre y linfocitos T CD4+ activados que vuelven al lugar de donde proviene la CPA. En la dermis los linfocitos T expresan citocinas del patrón TH1 (INF, TNF), activan linfocitos T CD8+ citotóxicos y linfocitos B e inhiben los linfocitos TH2. Los linfocitos T CD8+

citotóxicos destruyen las células infectadas o tumorales de manera restringida al reconocimiento antigénico por las moléculas del CMH de clase I (HLA A, B y C). Las células asesinas naturales (NK) son linfocitos que no expresan receptor funcional de células T y eliminan las células infectadas o tumorales que no expresan las moléculas del CMH de clase I, en un proceso independiente del antígeno. Los linfocitos citotóxicos (T CD8+ y NK) destruyen las células diana por una apoptosis mediada por perforinas y grancimas¹⁷⁶ o por una apoptosis mediada por fas ligando. Los linfocitos B se diferencian a células plasmáticas y producen inmunoglobulinas antígeno específicas¹⁷⁷. Los IFN y TNF α también actúan sobre células infectadas o tumorales inhibiendo su ciclo celular e induciendo su apoptosis. El IFN γ , el TNF α y la IL-18 tienen un efecto antiangiogénico que favorece la necrosis de la lesión tratada¹⁷⁸.

Tabla 2. Efectos de Imiquimod

- Aumenta la producción de IFN α (subtipos 1, 2, 5, 6 y 8), IFN β e IFN γ
- Aumenta la producción de TNF α
- Aumenta la producción de IL-1, IL-3, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 y IL-18
- Aumenta la producción de G-CSF, GM-CSF, MIP-1 α , MIP-1 β , MCP-1 y PGE2
- Indirectamente aumenta la producción de IL-2 y RANTES
- Aumenta la expresión de las moléculas del CMH de clase II
- Aumenta la actividad de los macrófagos y células asesinas naturales
- Aumenta la actividad de las células de Langerhans
- Aumenta la actividad de los linfocitos T (aumenta la expresión de CD29), que desarrollan un patrón de expresión de citocinas TH1
- Aumenta la producción de perforinas en los linfocitos T citotóxicos
- Aumenta la actividad de los linfocitos B, que proliferan y se diferencian a células plasmáticas para producir inmunoglobulinas antígeno específicas
- Mediante la IL-8 los neutrófilos aumentan la expresión de Mac-1, aumentan su quimiotaxis y disminuyen la expresión de L-selectina
- Inhibe de la angiogénesis mediada por IL-18
- Disminuye la actividad de los linfocitos TH2
- Disminuye la expresión de la IL-4 y IL-5

1.2.3. IMIQUIMOD EN DERMATOLOGÍA

Im en crema al 5% se aprobó por la Food and Drug Association of USA (FDA) como tratamiento de las verrugas genitales externas en Febrero de 1997. En piel sana Im no es irritante (test de aplicación abierta repetida negativo), no es fotosensible, no es fototóxico, ni aumenta los efectos de la RUV en los queratinocitos¹⁷⁹⁻¹⁸². La distribución sistémica de Im aplicado tópicamente es despreciable (<1%).

El método de aplicación de Im es sencillo y lo realizan los pacientes en su domicilio. Im se aplica por la noche antes de la hora normal de dormir sobre la lesión a tratar, deber permanecer en la piel durante un período comprendido entre 8 y 10 horas y se limpia por la mañana. Se recomienda aplicar un sobre de Im a noches alternas (3 noches por semana) hasta que desaparezca la lesión tratada, o hasta un máximo recomendado de 16 semanas de tratamiento. Si Im se aplica sobre una verruga o un CBC se produce una respuesta inmunológica y una intensa reacción inflamatoria aguda, pero en piel sana no ocurre nada. Los efectos adversos locales son la aparición de prurito, eritema, edema, erosión, ulceración y costras en la piel tratada. Estos efectos son muy frecuentes (>90% de casos), son dosis dependientes, generalmente son bien tolerados, permiten un tratamiento continuado en domicilio y desaparecen al suspender la aplicación de Im. En raras ocasiones (1% de casos) puede aparecer cefalea, mialgias, fiebre y un cuadro seudogripal relacionado con la liberación masiva de citocinas (IFN...), que mejoran con paracetamol y desaparecen al suspender el tratamiento. Una vez finalizado el tratamiento se observa la regresión de la verruga o del CBC con un buen resultado estético. Im ha demostrado ser un tratamiento tópico eficaz frente a dermatosis infecciosas (verrugas genitales externas, verrugas vulgares, moluscos contagiosos, leishmaniasis), tumorales (carcinomas basocelulares, carcinomas espinocelulares in situ, melanomas, linfoma cutáneo de células T, enfermedad de Paget extramamaria, hemangiomas, queloides) e inflamatorias (granuloma anular, granuloma facial). Su eficacia frente al virus herpes simple^{183,184,185} es dudosa y no es eficaz en la alopecia areata^{186,187}.

Tabla 3. Indicaciones de Imiquimod 5% crema

Actualmente la FDA y la Agencia Europea del Medicamento (AEM) sólo ha aprobado el uso de Im para las verrugas genitales externas, pero el 87% de las prescripciones de Im en EEUU son para otras indicaciones ¹⁸⁸.

Infección por el VPH

Verrugas externas genitales ^{189,190}

Verrugas externas genitales en pacientes trasplantados ¹⁹¹

Verrugas externas genitales en pacientes VIH+ ¹⁹²

Verrugas externas genitales en niños ¹⁹³

Verrugas genitales del canal anal ¹⁹⁴

Papulosis bowenoide ¹⁹⁵

Verrugas vulgares ¹⁹⁶

Verrugas vulgares en niños ¹⁹⁷

Verrugas vulgares en pacientes VIH+ ¹⁹⁸

Verrugas planas ¹⁹⁹

Estuocoqueratosis ²⁰⁰

Moluscos contagiosos ²⁰¹

MC en niños ²⁰²

MC en pacientes HIV+ ²⁰³

Leishmaniasis cutánea ²⁰⁴

Carcinoma basocelular

Carcinoma espinocelular

Queratosis actínicas ^{205,206}

Enfermedad de Bowen ²⁰⁷

Queilitis actínica ²⁰⁸

Neoplasia intraepitelial en pacientes trasplantados ²⁰⁹

Neoplasia intraepitelial de pene ²¹⁰

Neoplasia intraepitelial de vulva ²¹¹

Neoplasia intraepitelial de vagina ²¹²

Neoplasia intraepitelial anal y perianal en paciente VIH+ ²¹³

Carcinoma espinocelular invasor ²¹⁴

Melanoma

Lentigo maligno ²¹⁵

Metástasis cutáneas de melanoma ²¹⁶

Linfoma cutáneo de células T

Parapsoriasis en placas ²¹⁷

Micosis fungoide estadios IA y IIA ²¹⁸

Linfoma cutáneo primario CD30+ ²¹⁹

Enfermedad de Paget extramamaria ²²⁰

Hemangiomas ²²¹

Queloides ²²²

Granuloma anular ²²³

Granuloma facial ²²⁴

Lupus eritematoso crónico discoide ²²⁵

Poroqueratosis de Mibelli

1.2.4. IMIQUIMOD EN EL CARCINOMA BASOCELULAR

Im es un modificador de la respuesta inmune innata y adquirida y un potente inductor de citocinas, especialmente interferón. En analogía al IFN intralesional ahora se utiliza Im tópico en el CBC.

La eficacia de Im en el CBC se describe en múltiples publicaciones a partir de 1999. La mayoría se refieren a CBC superficiales²²⁶⁻²²⁹, CBC nodulares^{230,231} o ambos²³²⁻²³⁸, pero también hay autores que refieren su eficacia en CBC infiltrantes²³⁹, en CBC de pacientes con el síndrome de Gorlin^{240,241}, en CBC de pacientes con xeroderma pigmentoso²⁴² y en pacientes trasplantados²⁴³.

Beutner y cols²⁴⁴ fueron los primeros en publicar la eficacia de Im en 35 casos de CBC con patrón histológico superficial y nodular en 1999. Los 28 CBC superficiales tenían una área entre 0,5 y 2 cm² y los 7 CBC nodulares tenían una área entre 0,5 y 1,5 cm². Los pacientes fueron tratados entre 10 y 16 semanas en 6 pautas de tratamiento distintas: 2 aplicaciones/día, 1 apl./día, 3 apl./semana, 2 apl./sem, 1 apl./sem y vehículo de Im. Se consiguió curación histológica en el 100% de los CBC tratados con 2 apl./día, 1 apl./día y 3 apl./sem; y se curaron el 60% de los CBC tratados con 2 apl./sem; el 50% de los CBC tratados con 1 apl./sem y el 9% de los CBC tratados con el vehículo de Im. Las reacciones locales fueron dosis dependientes y bien toleradas, pero 10 pacientes (28%) requirieron periodos de reposo del tratamiento.

Marks y cols²⁴⁵ publicaron los resultados de la aplicación de Im en el 99 casos de CBC superficial en el 2001. Los pacientes fueron tratados 6 semanas en 4 pautas de tratamiento: 2 apl./día, 1 apl./día, 2 apl./día x 3 días/sem y 3 apl./sem. Se curaron el 100% de los CBC tratados con 2 apl./día, el 87% de los CBC tratados con 1 apl./día, el 73% de los CBC tratados con 2 apl./día x 3 días/sem y el 69% de los CBC tratados con 3 apl./sem. Los efectos locales fueron dosis dependientes y generalmente bien tolerados y sólo 1 paciente suspendió el tratamiento.

Geisse y cols²⁴⁶ publicaron los resultados de la aplicación de Im en el 128 casos de CBC superficial en el 2002. Los pacientes fueron tratados 12 semanas y se siguieron 5 pautas de tratamiento: 2 apl./día, 1 apl./día, 5 apl./sem, 3 apl./sem y vehículo de Im. Se curaron el 100% de los CBC tratados con 2 apl./día, el 87% de los CBC tratados con 1 apl./día, el 80% de los CBC

tratados con 5 apl./sem, el 51% de los CBC tratados con 3 apl./sem y el 18% de los CBC tratados con el vehículo de Im. Los efectos locales fueron dosis dependientes y 41 pacientes (32%) requirieron periodos de reposo del tratamiento.

Shumack y cols²⁴⁷ publicaron los resultados de la aplicación de Im en el 191 casos de CBC nodular en el 2002 . 99 pacientes fueron tratados 6 semanas y se siguieron 4 pautas de tratamiento: 2 apl./día, 1 apl./día, 2 apl./día x 3 días/sem y 3 apl./sem. Se curaron el 71% de los CBC tratados con 1 apl./día, el 42% de los CBC tratados con 2 apl./día x 3 días/sem y el 59% de los CBC tratados con 3 apl./sem. 92 pacientes fueron tratados 12 semanas y se siguieron 5 pautas de tratamiento: 2 apl./día, 1 apl./día, 5 apl./sem, 3 apl./sem y vehículo de Im. Se curaron el 76% de los CBC tratados con 1 apl./día, el 70% de los CBC tratados con 5 apl./sem, el 60% de los CBC tratados con 3 apl./sem y el 13% de los CBC tratados con el vehículo de Im. Los efectos locales fueron dosis dependientes y 8 pacientes (4,1%) suspendieron el tratamiento por este motivo.

El mecanismo de acción de Im en el tratamiento del CBC no es bien conocido, pero estudios recientes han demostrado que Im tópico induce una respuesta inmunológica aguda²⁴⁸, aumenta el infiltrado inflamatorio peritumoral y aumenta los linfocitos T CD4+. En las células del CBC²⁴⁹⁻²⁵² Im parece aumentar la expresión bax y fas receptor y disminuir la expresión de PCNA y bcl-2.

2. JUSTIFICACIÓN

El CBC es el tumor maligno más frecuente y en nuestro país su incidencia aumenta progresivamente por el envejecimiento de la población y la exposición crónica a las RUV. En los próximos años el CBC será un problema de salud pública de primer orden y su tratamiento cada vez será más complejo por la presencia de múltiples lesiones en personas ancianas. La inmunoterapia tópica del CBC con Im crema al 5% permite tratar los CBC de modo ambulatorio sin necesidad de cirugía ni radioterapia. Estudios clínicos de Im en el CBC han demostrado que Im induce una respuesta inmunológica aguda con cambios en el infiltrado inflamatorio peritumoral, pero el mecanismo por el cual se eliminan las células del CBC no es totalmente conocido. Dado que la principal citocina inducida por Im es el IFN y el tratamiento con IFN intralesional induce la apoptosis de las células del CBC, se cree que Im también aumenta la apoptosis del CBC. El objetivo principal de este trabajo es determinar los efectos de Im crema al 5% en la apoptosis de las células del CBC.

3. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

3.1. OBJETIVO GENERAL

Estudio de los efectos de la aplicación tópica de Im crema al 5% en la apoptosis de las células del CBC.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Estudiar el índice apoptótico (células Tunel +) del CBC antes, durante y después de la aplicación de Im crema al 5%.
2. Estudiar el índice proliferativo (ki-67) del CBC antes, durante y después de la aplicación de Im crema al 5%.
3. Estudiar la expresión de las proteínas p53 y bcl-2 en las células del CBC antes, durante y después de la aplicación de Im crema al 5%.
4. Estudiar el infiltrado inflamatorio peritumoral antes y durante la aplicación de Im crema al 5%.
5. Estudiar la regresión macroscópica y microscópica del CBC durante y después de la aplicación de Im crema al 5%.
6. Estudiar la correlación entre el índice apoptótico del CBC, el índice proliferativo del CBC, la expresión de p53 y bcl-2 en las células del CBC, el infiltrado inflamatorio peritumoral y la regresión macroscópica y microscópica del CBC durante la aplicación de Im crema al 5%

3.3. HIPÓTESIS DEL OBJETIVO GENERAL

La aplicación de Im crema al 5% sobre el CBC aumenta la apoptosis en las células del CBC.

3.4. HIPÓTESIS DE LOS OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. La aplicación de Im crema al 5% en el CBC induce un aumento del índice apoptótico (células Tunel +) del CBC.
2. La aplicación de Im crema al 5% en el CBC induce un descenso del índice proliferativo (ki-67) del CBC.
3. La aplicación de Im crema al 5% en el CBC induce un descenso en la expresión de las proteínas p53 y bcl-2 en las células del CBC.

4. La aplicación de Im crema al 5% en el CBC aumenta la densidad del infiltrado inflamatorio peritumoral y modifica la composición celular del mismo.
5. La aplicación de Im crema al 5% en el CBC induce una regresión macroscópica y microscópica del CBC.
6. Los cambios inducidos por la aplicación de Im crema al 5% en el índice apoptótico del CBC, el índice proliferativo del CBC, la expresión de p53 y bcl-2 en las células del CBC, el infiltrado inflamatorio peritumoral y la regresión macroscópica y microscópica del CBC se correlacionan entre si.

4. DISEÑO DE LOS ESTUDIOS

Con el fin de evaluar los objetivos e hipótesis formuladas anteriormente se diseñaron 2 estudios:

1. Estudio abierto en 55 CBC
2. Estudio randomizado en 30 CBC

4.1. ESTUDIO ABIERTO EN 55 CBC

Título: Estudio clínico abierto sobre los efectos de Im crema al 5% en 55 casos de CBC.

Diseño: Ensayo clínico abierto prospectivo.

Centro participante: Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (HSCSP), Barcelona.

Investigadores:

D. Vidal, Dr. Alomar y Dr. Garcés del servicio de Dermatología HSCSP.

Dr. Matías-Guiu del servicio de Anatomía Patológica del HSCSP.

Dr. Gich del servicio de Epidemiología del HSCSP.

Comité ético de investigación clínica: C.E.I.C. del HSCSP.

Tratamiento: Im crema al 5%.

Fase de ensayo clínico: Fase IV.

Tipo de ensayo: Ensayo clínico con un principio activo de una especialidad farmacéutica en nuevas condiciones de uso.

Afección en estudio: Carcinoma basocelular.

Tamaño de la muestra: 55 pacientes con CBC .

Grupos de tratamiento: 10 pacientes en el grupo A, 12 pacientes en el grupo B, 13 pacientes en el grupo C y 20 pacientes en el grupo D.

Presentación del tratamiento: Sobres monodosis.

Método de aplicación: El paciente se aplicaba el contenido de un sobre monodosis en el CBC por la noche, antes de ir a dormir sin realizar cura oclusiva. La crema debía permanecer en la piel durante un período comprendido entre 8 y 10 horas y por la mañana se limpiaba con agua y jabón suave.

Posología: 30 pacientes se trataron 3 noches por semana (grupos A, B y C) y 20 pacientes se trataron 5 noches por semana (grupo D). Todos los pacientes se trataron con 24 sobres monodosis.

Duración del tratamiento: 6 semanas para los grupos A, B y C y 5 semanas para el grupo D.

Período de inclusión: Enero del 2001 y Julio del 2001.

Asignación de tratamiento: El tratamiento fue asignado a los pacientes de forma consecutiva por grupos: primero el grupo A, después el B, después el C y finalmente el D.

Número de biopsias: 3 por paciente, 165 en total.

Obtención de las biopsias: Antes del tratamiento (visita -1); durante el tratamiento (visita 1 para los grupos C y D, visita 2 para el grupo B y visita 3 para el grupo A); y 6 semanas después de finalizar el tratamiento (visita 6).

Tipo de control: No había.

Técnicas de enmascaramiento: A todos los pacientes se les hizo entrega de los 24 sobres monodosis del tratamiento en la visita 0. A todos los pacientes se les hizo entrega de las mismas instrucciones de aplicación de la crema, con la salvedad de la frecuencia de aplicación: 3 noches por semana para los pacientes de los grupos A, B y C y 5 noches por semana para los pacientes del grupo D.

Tipo de ciego: La parte clínica del estudio no tenía ciego. La interpretación de los resultados patológicos se hizo a ciego simple. La apertura de este ciego sólo se realizó una vez finalizados los estudios patológicos e introducidos todos los resultados en la base de datos.

Cumplimiento del tratamiento: La evaluación del cumplimiento se realizó de forma objetiva con el recuento de los sobres monodosis utilizados en las visitas 1, 2, 3, 4 y 5.

Variables de evaluación clínica:

1. Tamaño tumoral: diámetro máximo del tumor y área tumoral.
2. Características objetivas del CBC: Se anotó la presencia de eritema, erosión, ulceración y pústulas. Se anotó el diámetro máximo de eritema y el área de eritema.
3. Características subjetivas del paciente: Se anotó la presencia de prurito, dolor, escozor, fiebre y otros síntomas referidos por el paciente.

Variables de evaluación patológica:

1. Patrón histológico del CBC: superficial, nodular o infiltrante. Se consideró CBC de patrón superficial cuando se observaban múltiples microlóbulos de células tumorales que pendían de la capa basal epidérmica o de la vaina folicular externa ocupando sólo la dermis superficial y yuxtaepitelial. Se consideró CBC de patrón nodular cuando se observaban densos acúmulos de células neoplásicas, formando lóbulos tumorales únicos o múltiples, generalmente redondeados u ovals. Se consideró CBC de patrón infiltrante cuando se observaban cordones neoplásicos de grosor variable infiltrando la dermis o prolongaciones espiculares infiltrativas en la parte más profunda del tumor. Si en la primera biopsia el tumor era de patrón superficial, pero en la segunda o tercera había patrón nodular, ese tumor pasaba a considerarse CBC nodular. Si en la primera biopsia el tumor era de patrón superficial o nodular, pero en la segunda o tercera había patrón infiltrante, ese tumor pasaba a considerarse CBC infiltrante.
2. Índice apoptótico: porcentaje de células tumorales Tunel positivas.
3. Índice proliferativo (ki-67): porcentaje de células tumorales ki-67 positivas.
4. Expresión de p53: porcentaje de células tumorales p53 positivas.
5. Expresión de bcl-2: porcentaje de células tumorales bcl-2 positivas.
6. Células del infiltrado inflamatorio (células totales, CD3+, CD8+, CD20+, CD56+, CD68+, grancima B+ y S-100+): número de células por campo (x400) y porcentaje de células positivas.

Variables para la evaluación de la seguridad: Se registraron en cada visita todos los acontecimientos adversos (AA), que se definieron como un cambio desfavorable que se presentase en un sujeto sometido a investigación clínica al que se le administraba un producto farmacéutico, independientemente que se considerase o no relacionado con dicho producto. Cualquier signo, síntoma o enfermedad, desfavorable y no intencionado, que se presentaron asociados temporalmente con el uso de un producto medicinal podían constituir un AA. La intensidad de los AA se valoró como leve (no interfería con la vida cotidiana del sujeto), moderada (interfería pero no impedía la actividad habitual) y severa (interfería algún aspecto importante de la vida cotidiana y el tratamiento debía interrumpirse por el AA). La frecuencia se definió como puntual, recurrente o

persistente. La relación de causalidad se estableció según la clasificación de Karch y Lasagna: no relacionada, improbable, posible y cierta.

Aspectos éticos: El estudio se llevó a cabo de acuerdo con los requerimientos éticos de las declaraciones de Helsinki, revisión de Sudáfrica, Octubre 1996. El estudio se realizó cumpliendo con la normativa existente en España detallada en el apartado 18/90 (21 de noviembre) y 31/95 de la DGFPD española relativo a estudios con fármacos y siguiendo las Buenas Prácticas Clínicas.

Plan detallado del estudio: Se realizaron 14 visitas por paciente:

1. Visita –1 o preinclusión. Se recogían los datos sociodemográficos, las enfermedades concomitantes, la medicación concomitante no esporádica, el tamaño y características objetivas del tumor y los síntomas que refería el paciente. Se realizaba una biopsia cutánea en sacabocados de 4 milímetros para estudio patológico.
2. Visita 0 o basal. 15 días después de la visita –1. Se recogía el resultado histológico de la biopsia y se evaluaba si el paciente cumplía todos los criterios de selección del estudio. Si el paciente aceptaba participar en el estudio, se firmaba el consentimiento informado escrito. Se entregaban al paciente los 24 sobres del tratamiento y se le instruía sobre su correcta aplicación.
3. Visita 1: 7 días después de la visita 0. Se recogían el tamaño y características objetivas del tumor y los síntomas que refería el paciente. Se hacía la valoración de seguridad y se hacía el recuento y anotación de los sobres monodosis utilizados. Se realizaba una biopsia cutánea en sacabocados de 4 milímetros para estudio patológico a los pacientes de los grupos C y D.
4. Visita 2: 7 días después de la visita 1. Se recogían el tamaño y características objetivas del tumor y los síntomas que refería el paciente. Se hacía la valoración de seguridad y se hacía el recuento y anotación de los sobres monodosis utilizados. Se realizaba una biopsia cutánea en sacabocados de 4 milímetros para estudio patológico a los pacientes del grupo B.
5. Visita 3: 7 días después de la visita 2. Se recogían el tamaño y características objetivas del tumor y los síntomas que refería el paciente. Se hacía la valoración de seguridad y se hacía el recuento y anotación de los

sobres monodosis utilizados. Se realizaba una biopsia cutánea en sacabocados de 4 milímetros para estudio patológico a los pacientes del grupo A.

6. Visita 4: 7 días después de la visita 3 y 4 semanas de tratamiento. Se recogían el tamaño y características objetivas del tumor y los síntomas que refería el paciente. Se hacía la valoración de seguridad, se hacía el recuento y anotación de los sobres monodosis utilizados.
7. Visita 5: final del tratamiento. Se recogían el tamaño y características objetivas del tumor y los síntomas que refería el paciente. Se hacía la valoración de seguridad, se hacía el recuento y anotación de los sobres monodosis utilizados.
8. Visita 6: 6 semanas después de la visita 5. Se recogían el tamaño y características objetivas del tumor y los síntomas que refería el paciente. Se realizaba una biopsia cutánea en sacabocados de 4 milímetros para estudio patológico a todos los pacientes.
9. Visita 7: 2 meses postratamiento. Se recogía el resultado histológico de la biopsia. Si en la biopsia había CBC el paciente se excluía del estudio y se le ofrecía otra opción terapéutica. Si en la biopsia no había CBC el paciente pasaba al programa de visitas de seguimiento.
10. Visita 8: 6 meses postratamiento. Se valoraba la zona tratada con Im. En caso de sospecha clínica de CBC se realizaba una biopsia cutánea para estudio patológico.
11. Visita 9: 9 meses postratamiento. Se valoraba de la zona tratada con Im. En caso de sospecha clínica de CBC se realizaba una biopsia cutánea para estudio patológico.
12. Visita 10: 12 meses postratamiento. Se valoraba de la zona tratada con Im. En caso de sospecha clínica de CBC se realizaba una biopsia cutánea para estudio patológico.
13. Visita 11: 18 meses postratamiento. Se valoraba de la zona tratada con Im. En caso de sospecha clínica de CBC se realizaba una biopsia cutánea para estudio patológico.
14. Visita 12: 24 meses postratamiento. Se valoraba de la zona tratada con Im. En caso de sospecha clínica de CBC se realizaba una biopsia cutánea para estudio patológico.

4.2. ESTUDIO RANDOMIZADO EN 30 CBC

Título: Estudio clínico randomizado con placebo sobre los efectos de Im crema al 5% en 30 casos de CBC.

Diseño: Ensayo clínico aleatorizado, doble ciego y prospectivo.

Centro participante: Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona.

Investigadores:

D. Vidal y Dr. Alomar del servicio de Dermatología del HSCSP .

Dr. Matías-Guiu del servicio de Anatomía Patológica del HSCSP.

Dr. Gich del servicio de Epidemiología del HSCSP.

Dr. Sanz del servicio de Farmacia del HSCSP.

Dr. Coll de laboratorios Puig.

Comité ético de investigación clínica: C.E.I.C. del HSCSP.

Tratamiento: Im crema al 5% y la crema vehículo (excipiente) .

Fase de ensayo clínico: Fase IV.

Tipo de ensayo clínico: Ensayo clínico con un principio activo de una especialidad farmacéutica en nuevas condiciones de uso.

Afección en estudio: Carcinoma basocelular.

Tamaño de la muestra: 30 pacientes con CBC .

Grupos de tratamiento: 24 pacientes se trataron con Im (grupo Im) y 6 pacientes se trataron con la crema vehículo (grupo Ex), en una relación 4 a 1.

Presentación del tratamiento: Sobres monodosis.

Método de aplicación: Igual que en el estudio abierto con 55 CBC.

Posología: 15 pacientes se trataron 3 noches por semana (12 del grupo Im y 3 del grupo Ex) y utilizaron 6 sobres monodosis. 15 pacientes se trataron 5 noches por semana (12 del grupo Im y 3 del grupo Ex) y utilizaron 10 sobres monodosis .

Duración del tratamiento: 2 semanas.

Período de inclusión: Septiembre del 2001 y Febrero del 2002.

Aleatorización de tratamiento: La aleatorización de los tratamientos (Im o Ex) se realizó con un programa informático.

Asignación de tratamiento: El tratamiento fue asignado a los pacientes de forma consecutiva siguiendo la lista de tratamientos aleatorizados .

Número de biopsias: 3 por paciente, 90 en total.

Obtención de las biopsias: Antes del tratamiento (visita -1); al final de la primera semana de tratamiento (visita 1); y al final de la segunda semana de tratamiento (visita 2).

Tipo de control: Se utilizó crema vehículo sin principio activo (excipiente) como tratamiento control.

Técnicas de enmascaramiento: A todos los pacientes se les hizo entrega de los sobres monodosis del tratamiento en la visita 0. El aspecto externo de los sobres como las características de la crema era iguales para los dos grupos de tratamientos (Im vs. crema vehículo), sin ningún tipo de distintivo que los identificara. Cada sobre monodosis tenía una etiqueta que incluirá el nombre del investigador principal, el código del estudio y el código de aleatorización del envase. A todos los pacientes se les hizo entrega de las mismas instrucciones de aplicación de la crema, con la salvedad de la frecuencia de aplicación: 3 noches por semana para 15 pacientes y 5 noches por semana para los otros 15 pacientes.

Tipo de ciego: La parte clínica tenía un doble ciego ya que ni los investigadores, ni los pacientes conocían inicialmente el tipo de tratamiento asignado. El Dr. Sanz era el único que sabía la composición de los sobres monodosis de tratamiento. El Dr. Gich realizó una lista con los tratamientos aleatorizados que se entregó a Farmacia. Aquí se prepararon bolsas de plástico numeradas con los sobres monodosis de cada tratamiento en su interior. Estos sobres se entregaron a D. Vidal, que los daba a los pacientes incluidos en el estudio de forma consecutiva siguiendo su numeración. Las determinaciones ecográficas se realizaron a doble ciego, dado que ni los investigadores, ni los pacientes conocían el tipo de tratamiento asignado. La interpretación de los resultados patológicos se hizo a ciego simple. La apertura del ciego sólo se realizó una vez finalizados los estudios clínicos y patológicos y una vez introducidos todos los datos en la base de datos para realizar el análisis estadístico de los mismos..

Cumplimiento del tratamiento: El cumplimiento del tratamiento se realizó de forma objetiva con el recuento de los sobres monodosis utilizados en las visitas 1 y 2.

Variables de evaluación clínica:

1. Tamaño tumoral: diámetro máximo del tumor y área tumoral.
2. Características objetivas del CBC: Se anotó la presencia de eritema, erosión, ulceración y pústulas. Se anotó el diámetro máximo de eritema y el área de eritema.
3. Características subjetivas del paciente: Se anotó la presencia de prurito, dolor y escozor.

Variables de evaluación patológica:

1. Patrón histológico del CBC: superficial, nodular e infiltrante. Se consideró CBC de patrón superficial cuando se observaban múltiples microlóbulos de células tumorales que pendían de la capa basal epidérmica o de la vaina folicular externa ocupando sólo la dermis superficial y yuxtaepitelial. Se consideró CBC de patrón nodular cuando se observaban densos acúmulos de células neoplásicas, formando lóbulos tumorales únicos o múltiples, generalmente redondeados u ovals. Se consideró CBC de patrón infiltrante cuando se observaban cordones neoplásicos de grosor variable infiltrando la dermis o prolongaciones espiculares infiltrativas en la parte más profunda del tumor. Si en la primera biopsia el tumor era de patrón superficial, pero en la segunda o tercera había patrón nodular, ese tumor pasaba a considerarse CBC nodular. Si en la primera biopsia el tumor era de patrón superficial o nodular, pero en la segunda o tercera había patrón infiltrante, ese tumor pasaba a considerarse CBC infiltrante.
2. Índice apoptótico: porcentaje de células tumorales Tunel positivas.
3. Índice proliferativo (ki-67): porcentaje de células tumorales ki-67 positivas .
4. Expresión de p53: porcentaje de células tumorales p53 positivas.
5. Expresión de bcl-2: porcentaje de células tumorales bcl-2 positivas.
7. Células del infiltrado inflamatorio: número de células por campo (x400).

Variables de evaluación ecográfica:

1. Grosor del CBC y del infiltrado inflamatorio en milímetros.
2. Ecogenicidad de la dermis .

Variables para la evaluación de la seguridad: Igual que en el estudio abierto con 55 CBC .

Aspectos éticos: Igual que en el estudio abierto con 55 CBC .

Póliza de seguro: Igual que en el estudio abierto con 55 CBC .

Plan detallado del estudio: Se realizaron 4 visitas por paciente: .

1. Visita –1 o preinclusión. Se recogían los datos sociodemográficos, las enfermedades concomitantes, la medicación concomitante no esporádica, el tamaño y características objetivas del tumor y los síntomas que refería el paciente. Se evaluaba la lesión con el Dermascan C y se realizaba una biopsia cutánea en sacabocados de 4 milímetros para estudio patológico.
2. Visita 0 o basal. 15 días después de la visita –1. Se recogía el resultado histológico de la biopsia y se evaluaba si el paciente cumplía todos los criterios de selección del estudio. Si el paciente aceptaba participar en el estudio, se firmaba el consentimiento informado escrito. Se entregaban al paciente los sobres del tratamiento aleatorizado y se le instruía sobre su correcta aplicación.
3. Visita 1: 7 días después de la visita 0. Se recogían el tamaño y características objetivas del tumor, se hacía la valoración de seguridad, se hacía el recuento y anotación de los sobres monodosis utilizados, se evaluaba la lesión con el Dermascan C y se realizaba una biopsia cutánea en sacabocados de 4 milímetros para estudio patológico.
4. Visita 2: 7 días después de la visita 1. Se recogían el tamaño y características objetivas del tumor, se hacía la valoración de seguridad, se hacía el recuento y anotación de los sobres monodosis utilizados, se evaluaba la lesión con el Dermascan C y se realizaba una biopsia cutánea en sacabocados de 4 milímetros para estudio patológico.

5. PACIENTES Y MÉTODOS

5.1. PACIENTES

5.1.1. Criterios de selección

Los pacientes incluidos en los estudios debían cumplir todos los criterios de inclusión y ningún criterio de exclusión.

Criterios de inclusión

1. Hombres y mujeres > 18 años de edad.
2. CBC > 8 milímetros de diámetro.
3. CBC confirmado histológicamente.
4. CBC primario.
5. CBC con patrón histológico superficial, nodular o infiltrante.
6. CBC esporádico.
7. Consentimiento informado escrito a participar en el estudio.

Criterios de exclusión

1. Mujeres gestantes o en período de lactancia.
2. Pacientes inmunodeprimidos.
3. Pacientes con síndrome de Gorlin, síndrome de Bazex, síndrome de Rombo o xeroderma pigmentoso.
4. Pacientes adictos a tóxicos : alcohol, benzodiazepinas, cocaína, heroína...
5. Pacientes que estuvieran recibiendo fármacos inmunosupresores, inmunomoduladores, citotóxicos, o otro fármaco en investigación de forma concomitante al estudio o en las últimas 8 semanas.
6. Pacientes con alteraciones psíquicas, limitaciones educacionales y de comprensión de lenguaje escrito que comprometieran el buen cumplimiento del tratamiento y del régimen de visitas del estudio.
7. CBC persistente o recurrente a tratamientos previos.
8. CBC con patrón histológico esclerodermiforme o displásico.
9. CBC en zonas de alto riesgo (pliegues embrionarios de la cara...).
10. CBC infectados.

5.1.2. Tamaño muestral

Estudio abierto en 55 CBC: 55 pacientes repartidos en 4 grupos: 10 pacientes en el grupo A, 12 pacientes en el grupo B, 13 pacientes en el grupo C y 20 pacientes en el grupo D.

Estudio randomizado en 30 CBC: 30 pacientes repartidos en 2 grupos: 24 pacientes en el grupo Im y 6 pacientes en el grupo Ex.

5.2. MÉTODOS

5.2.1. Tratamientos

Im crema al 5% se obtuvo de la presentación comercial disponible en España (Aldara® 3M Pharmaceuticals). La crema vehículo de Aldara® (excipiente) se obtuvo de la fábrica de 3M Pharmaceuticals del Reino Unido.

Todos los tratamientos se presentaron en forma de sobres monodosis.

En el estudio abierto con 55 CBC todos los envoltorios eran iguales (color blanco y verde y con texto). En el estudio randomizado con 30 CBC los envoltorios eran totalmente blancos sin texto.

5.2.2. Cálculo de las áreas

Las áreas de tumor y de eritema se calcularon siguiendo la fórmula de cálculo del área de una superficie elíptica: $A \times B \times \pi / 4$. A y B son los diámetros perpendiculares mayores.

5.2.3. Obtención de las muestras cutáneas

Las biopsias en sacabocados de 4 milímetros de diámetro de los CBC se realizaron en el quirófano de cirugía menor del Servicio de Dermatología. Se utilizó anestesia local con mepivacaina sin adrenalina y punch número 4 de Stiefel en todas las biopsias. A cada paciente se le realizaron 3 biopsias del CBC y en total se obtuvieron 255 muestras cutáneas de 85 pacientes.

Estudio abierto en 55 CBC: 3 biopsias: Antes de iniciar el tratamiento; en el día 8 de tratamiento para los grupos C y D; en el día 15 de tratamiento para el grupo B; en el día 22 de tratamiento para el grupo A; y 6 semanas después de acabar el tratamiento. Un total de 165 muestras cutáneas.

Estudio randomizado en 30 CBC: 3 biopsias: Antes de iniciar el tratamiento; en los días 8 y 15 de tratamiento. Un total de 90 muestras cutáneas.

5.2.4. Procesado de las biopsias cutáneas

Cada muestra cutánea de 4 milímetros de diámetro se partía en dos mitades iguales de 2 milímetros. Este proceso se realizaba en el quirófano del Servicio de Dermatología con un bisturí del número 11 y una placa de plástico rígido, y las dos mitades de la biopsia se transportaban de inmediato al Servicio de

Anatomía Patológica. Una mitad de la biopsia era fijada en formaldehído, incluida en parafina y guardada en un archivador a temperatura ambiente. La otra mitad de la biopsia se congelaba con nitrógeno líquido y se guardaba en el congelador vertical Angelantoni a -70° C.

A partir de la muestra parafinada se realizaban 4 secciones para tinción en hematoxilina y eosina y estudio histológico. Si las secciones mostraban un CBC de patrón histológico superficial, nodular o infiltrante y el paciente era incluido en el estudio, se realizaban nuevas de secciones de 5 micras de la muestra parafinada para la inmunotinciones de p53, Ki-67 y bcl-2. A partir de la muestra congelada se realizaban secciones de 5 micras para la técnica de Tunel.

Al final del estudio clínico abierto en 55 CBC se seleccionaron 25 casos de CBC tratados con Im que no presentaron recidiva tras 18 meses de seguimiento. 5 casos fueron utilizados para evaluar el infiltrado inflamatorio peritumoral previo al tratamiento, 5 casos para estudiar el infiltrado después de 3 dosis de Im (biopsias del día 8 del grupo C), 5 casos para estudiar el infiltrado después de 5 dosis de Im (biopsias del día 8 del grupo D), 5 casos para estudiar el infiltrado después de 6 dosis de Im (biopsias del día 15 del grupo B) y 5 casos para estudiar el infiltrado después de 9 dosis de Im (biopsias del día 22 del grupo A). A partir de la muestra parafinada se realizaron tinciones de hematoxilina-eosina para determinar la densidad celular del infiltrado y se realizaron las inmunotinciones para los antígenos CD3, CD8, CD20, CD56, CD68, grancima B y S-100.

5.2.5. Método de las inmunotinciones

Los estudios inmunohistoquímicos se realizaron en secciones de 5 micras obtenidas del bloque de tejido fijado en formol e incluido en parafina, mediante la técnica de Envision-peroxidasa. Tras desparafinar e hidratar, las secciones se sometieron a tratamiento de recuperación antigénica mediante incubación en pepsina (S-100) o mediante calor (121°C) en autoclave en tampón citrato pH 6.0 (p53, bcl-2, CD3, CD8, CD20, CD68) o en tampón EDTA pH 8.0 (Ki-67, CD56, grancima B). Se incubó con peróxido de hidrógeno 6% para inhibir peroxidases endógenas durante 5 minutos. Posteriormente se incubó con el anticuerpo primario 30 minutos y después con Envision (Dako) 30 minutos. Se reveló con DAB, 5 minutos y se procedió a contrateñir con hematoxilina. En

todos los pasos intermedios se efectuaron lavados con PBS. Por último, las secciones fueron deshidratadas y montadas con DPX.

P53: proteína nuclear. En muestras seleccionadas con CBC se estudió el porcentaje de células del CBC que expresaban p53 (salvaje o mutada). Se utilizó el anticuerpo monoclonal para P53 de Bio Genex, San Ramón, Ca, USA. Clon BP 53-12-1. Código N° MU195-UC. Dilución de trabajo 1/150. Control positivo externo: carcinoma del colon P53 positivo.

Ki-67: proteína nuclear. En muestras seleccionadas con CBC se estudió el índice proliferativo (ki-67) de las células del CBC. Se utilizó el anticuerpo monoclonal MIB-1 de Bio Genex, San Ramón, Ca, USA. Clon MIB-1. Código N° MU297-UC. Dilución de trabajo 1/15. Control positivo externo: amígdala hipertrófica Ki-67 positiva.

Bcl-2: proteína mitocondrial, nuclear y del retículo endoplásmico. En muestras seleccionadas con CBC se estudió el porcentaje de células del CBC que expresaban bcl-2. Se utilizó el anticuerpo monoclonal para bcl-2 de Dako, Dinamarca. Clona 124. Código N° M 0887. Dilución de trabajo 1/4. Control positivo externo: linfoma folicular nodal bcl-2 positivo.

CD3: receptor de superficie de los linfocitos T (TCR). Marcador pan-T. En muestras seleccionadas con CBC se estudió la población de linfocitos T CD3+ del infiltrado inflamatorio peritumoral. Se utilizó el anticuerpo policlonal para CD3 de Dako, Dinamarca. Código N° A0452. Dilución de trabajo 1/200. Control positivo externo: amígdala hipertrófica.

CD8: receptor de superficie de los linfocitos T citotóxicos y supresores. En muestras seleccionadas con CBC se estudió la población de linfocitos T CD8+ citotóxicos y supresores del infiltrado inflamatorio peritumoral. Se utilizó el anticuerpo monoclonal para CD8 de Dako, Dinamarca. Clon C8/144B. Código M7103. Dilución de trabajo 1/20. Control positivo externo: amígdala hipertrófica.

CD20: receptor de superficie de los linfocitos B. Marcador pan-B, que no se expresa en las células plasmáticas maduras. En muestras seleccionadas con CBC se estudió la población de linfocitos B CD20+ del infiltrado inflamatorio peritumoral. Se utilizó el anticuerpo monoclonal para CD20 de Dako, Dinamarca. Clon L26. Código N° M0755. Dilución de trabajo 1/800. Control positivo externo: amígdala hipertrófica.

CD56: receptor de superficie de los linfocitos asesinos naturales (NK). En muestras seleccionadas con CBC se estudió la población de linfocitos asesinos naturales CD56+ del infiltrado inflamatorio peritumoral. Se utilizó el anticuerpo monoclonal para CD56 de Novocastra, United Kingdom. Clon 1B6. Código N° NCL-CD56- 1B6. Dilución de trabajo 1/50. Control positivo externo: amígdala hipertrófica.

CD68: proteína lisosomal intracelular de macrófagos y monocitos, pero no en linfocitos. En muestras seleccionadas con CBC se estudió la población de macrófagos CD68+ del infiltrado inflamatorio peritumoral. Se utilizó el anticuerpo monoclonal para CD68 de Dako, Dinamarca, Clon KP1. Código N° M0814. Dilución de trabajo 1/200. Control positivo externo: amígdala hipertrófica.

Grancima B: proteasa citoplasmática de los linfocitos T citotóxicos y de los linfocitos asesinos naturales activados. En muestras seleccionadas con CBC se estudió la población de linfocitos citotóxicos grancima B+ del infiltrado inflamatorio peritumoral. Se utilizó el anticuerpo monoclonal para Grancima B de Novocastra, United Kingdom. Clon 11F1. Código N° NCL-GRAN B. Dilución de trabajo 1/40. Control positivo externo: linfoma cutáneo anaplásico.

S-100: proteína citoplasmática de las células dendríticas, de las células de Schwann y de las células de origen melanocítico. En muestras seleccionadas con CBC se estudió la población de células dendríticas S-100+ del infiltrado inflamatorio peritumoral. Se utilizó el anticuerpo policlonal para S-100 de Dako, Dinamarca. Código N° Z0311. Dilución de trabajo 1/3200. Control positivo externo: melanoma. Control positivo interno: melanocitos y células de Langerhans de la epidermis.

5.2.6. Técnica de Tunel

En todas las muestras con CBC se estudió el porcentaje de células apoptóticas (índice apoptótico) del CBC mediante la técnica de Tunel o terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP (deoxyuridine triphosphate) biotin nick end labeling. La apoptosis fragmenta la cromatina e induce la formación de radicales hidroxilos en el núcleo y la TDT (terminal deoxynucleotidyl transferase) une dUTP fijada a la digoxigenina en los radicales hidroxilos. Posteriormente se añade una peroxidasa unida a un anticuerpo contra la digoxigenina y se marcan los hidroxilos formados en la apoptosis. Par la técnica de Tunel se utilizó el kit de ApopTag, Intergene, Purchase, NY, EE.UU.

Dado que la técnica de Tunel podía dar resultados variables en secciones de parafina, se decidió utilizar secciones de muestras congeladas. De cada bloque congelado se hicieron 6 secciones de 5 micras, que se dividían en dos laminillas con 3 secciones en cada una. Se realizó la técnica de Tunel en las 2 laminillas a la vez y si los resultados del Tunel en las 2 laminillas eran iguales se consideró que la técnica había sido correcta. Por el contrario, si los resultados del Tunel eran diferentes en las dos laminillas se repetía todo el proceso (6 nuevas secciones para 2 nuevas laminillas y nueva técnica de Tunel). Una vez obtenidas 2 laminillas con el Tunel igual, se escogían las mejores secciones para determinar el índice apoptótico.

Falsos positivos: melanina y márgenes de las secciones. Para evitar falsos positivos debidos a la melanina, se comparaban las secciones del Tunel con una sección procedente de la muestra congelada sólo teñida con hematoxilina.

Control positivo externo: endometrio menstrual.

Control positivo interno: linfocitos peritumorales.

Control negativo interno: queratinocitos de piel sana.

5.2.7. Evaluación de las inmunotinciones y del Tunel

Se supervisó la buena calidad de todas las inmunotinciones y de la técnica de Tunel y los casos dudosos o mal teñidos fueron repetidos. El recuento de las inmunotinciones y de la técnica de Tunel se realizó de forma cuantitativa con la ayuda de un ocular de microscopio de la marca Olympus (modelo WHK10X-1) que tenía una rejilla cuadrada integrada, que medía 10 x 10 milímetros y tenía 121 intersecciones perpendiculares. Esta rejilla ocupaba un área de 6,25 mm² a 40 aumentos, 1 mm² a 100 aumentos, 0,25 mm² a 200 aumentos y 0,0625 mm² a 400 aumentos. También se utilizó un contador manual de dos botones.

P53: Se consideraron células p53 positivas aquellas que mostraron una inmunotinción del núcleo homogénea e intensa. Estudiando las células del CBC en campos de gran aumento (x 400) se contaron los núcleos que coincidían con las intersecciones de la rejilla. Se evaluaron un mínimo de 200 células y se determinó el porcentaje de células p53 positivas dividiendo el número de células p53 positivas por el total de células evaluadas.

Ki-67: Se consideraron células ki-67 positivas aquellas que mostraron una inmunotinción del núcleo homogénea e intensa. Estudiando las células del CBC en campos de gran aumento (x 400) se contaron los núcleos que coincidían con las intersecciones de la rejilla. Se evaluaron un mínimo de 200 células y se determinó el porcentaje de células ki-67 positivas dividiendo el número de células ki-67 positivas por el total de células evaluadas. Este porcentaje es el llamado índice proliferativo.

Bcl-2: Se consideraron células bcl-2 positivas aquellas que mostraron una inmunotinción del citoplasma homogénea e intensa. Estudiando las células del CBC en campos de gran aumento (x 400) se contaron los citoplasmas que coincidían con las intersecciones de la rejilla. Se evaluaron un mínimo de 200 células y se determinó el porcentaje de células bcl-2 positivas dividiendo el número de células bcl-2 positivas por el total de células evaluadas.

Apoptosis: Se consideraron células apoptóticas o Tunel positivas aquellas que mostraron una inmunotinción del núcleo homogénea e intensa. Estudiando las células del CBC en campos de gran aumento (x 400) se contaron los núcleos que coincidían con las intersecciones de la rejilla. Se evaluaron un mínimo de 200 células y se determinó el porcentaje de células Tunel positivas dividiendo

el número de células Tunel positivas por el total de células evaluadas. Este porcentaje es el llamado índice apoptótico.

Infiltrado inflamatorio: se contaron el número de células del infiltrado inflamatorio en secciones de hematoxilina-eosina de 400 aumentos (0,0625 mm²). Se determinó el número de células por campo de 400 aumentos haciendo la media de un mínimo de 4 determinaciones.

CD3: Se consideraron células CD3+ aquellas que mostraron una inmunotinción homogénea e intensa. Se contaron el número de células CD3+ del infiltrado inflamatorio en secciones de 400 aumentos (0,0625 mm²). Se determinó el número de células CD3+ por campo de 400 aumentos haciendo la media de un mínimo de 4 determinaciones.

CD8: Se consideraron células CD8+ aquellas que mostraron una inmunotinción homogénea e intensa. Se contaron el número de células CD8+ del infiltrado inflamatorio en secciones de 400 aumentos (0,0625 mm²). Se determinó el número de células CD8+ por campo de 400 aumentos haciendo la media de un mínimo de 4 determinaciones.

CD20: Se consideraron células CD20+ aquellas que mostraron una inmunotinción homogénea e intensa. Se contaron el número de células CD20+ del infiltrado inflamatorio en secciones de 400 aumentos (0,0625 mm²). Se determinó el número de células CD20+ por campo de 400 aumentos haciendo la media de un mínimo de 4 determinaciones.

CD56: Se consideraron células CD56+ aquellas que mostraron una inmunotinción homogénea e intensa. Se contaron el número de células CD56+ del infiltrado inflamatorio en secciones de 400 aumentos (0,0625 mm²). Se determinó el número de células CD56+ por campo de 400 aumentos haciendo la media de un mínimo de 4 determinaciones.

CD68: Se consideraron células CD68+ aquellas que mostraron una inmunotinción homogénea e intensa. Se contaron el número de células CD68+ del infiltrado inflamatorio en secciones de 400 aumentos (0,0625 mm²). Se determinó el número de células CD68+ por campo de 400 aumentos haciendo la media de un mínimo de 4 determinaciones.

Grancima B: Se consideraron células grancima B+ aquellas que mostraron una inmunotinción homogénea e intensa. Se contaron el número de células grancima B + del infiltrado inflamatorio en secciones de 400 aumentos (0,0625

mm²). Se determinó el número de células grancima B + por campo de 400 aumentos haciendo la media de un mínimo de 4 determinaciones.

S-100: Se consideraron células S-100+ aquellas que mostraron una inmunotinción homogénea e intensa. Se contaron el número de células S-100 + del infiltrado inflamatorio en secciones de 400 aumentos (0,0625 mm²). Se determinó el número de células S-100+ por campo de 400 aumentos haciendo la media de un mínimo de 4 determinaciones.

5.2.8. Ecografía cutánea

Mediante un Dermascan C de alta frecuencia (20 MHz) de Cortex Technology se evaluó el grosor ecográfico en milímetros del CBC con el infiltrado inflamatorio peritumoral y la ecogenicidad de la dermis. Las determinaciones se realizaron los días 0, 8 y 15 de tratamiento antes de realizar las biopsias.

5.2.9. Método estadístico

Bases de datos: con todos los resultados clínicos y patológicos codificados se crearon bases de datos con el programa Excel 2002.

Estudio descriptivo: en las variables cualitativas se calculó el porcentaje (%) y se indicó el número de casos (N). En las variables cuantitativas se calculó la media aritmética (X) y la desviación típica (S).

Análisis inferencial: las variables cuantitativas se estudiaron con la T de Student, análisis de la varianza (ANOVA), modelos lineales generales (test de Greenhouse-Geisser) y si ANOVA era significativo análisis Post-Hoc (test de Scheffé) . Para evaluar la relación entre variables cuantitativas se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson (r).

Las variables cualitativas se estudiaron con las tablas de contingencia (Chi cuadrado o test exacto de Fisher).

Análisis multivariante: Regresión logística (método forward)

Significación estadística: si el análisis estadístico mostraba una $p < 0,05$ se consideró que las diferencias detectadas eran estadísticamente significativas. Todos los test aplicados fueron bilaterales.

Programa estadístico: se utilizó el programa SPSS 10.0.

6. RESULTADOS DEL ESTUDIO ABIERTO CON 55 CBC

6.1. Resultados basales

Entre Enero y Julio del 2001 se seleccionaron 62 pacientes para la visita de selección (visita -1), pero 12 pacientes (19%) fueron excluidos del estudio por presentar alguno de los criterios de exclusión del mismo: 10 pacientes no mostraron CBC en la biopsia y 2 pacientes fueron descartados por no ofrecer garantías de realizar bien el estudio. Se incluyeron un total de 55 casos de CBC en 50 pacientes. 45 pacientes tenían un solo CBC y 5 pacientes tenían 2 CBC. Había 33 CBC en hombres (60%) y 22 CBC en mujeres (40%). La edad media de los pacientes era de 71,4 años (S:12,4. Min. 40. Max. 89). El fototipo de los pacientes era III en 31 casos (56%), II en 21 casos (38%) y IV en 3 casos (5%). El CBC se localizaba en la cabeza 35 casos (64%), en el tronco en 13 (24%) y en las extremidades en 7 (12%). El tamaño medio del CBC era de 118,9 mm² (S:141,1. Min. 25,1. Max. 777,5). Ningún CBC mostró eritema ni pústulas, pero 28 CBC (51%) mostraban erosión o ulceración. Había 4 CBC de patrón histológico superficial (7%) y 8 CBC nodulares (15%), que sumados eran 12 CBC no infiltrantes (22%). Los otros 43 CBC eran de patrón histológico infiltrante (78%).

La la biopsia inicial diagnóstica la expresión de p53 del CBC era de 34,7% (S:31,8%); el índice proliferativo (ki-67) del CBC era de 49,3% (S:21,1%); la expresión de bcl-2 del CBC era de 87,2% (S:26,1%); y el índice apoptótico del CBC era de 0,61% (S:0,26%).

Grupo A

Había 13 casos de CBC (23% del total) en 11 pacientes. 9 pacientes tenían un solo CBC y 1 paciente tenía 2 CBC. Había 3 CBC en hombres (23%) y 10 CBC en mujeres (77%). La edad media de los pacientes era de 74,3 años (S:7,5. Min. 60. Max. 86). El fototipo de los pacientes era III en 11 casos (85%) y II en 2 casos (15%). El CBC se localizaba en la cabeza 5 casos (38%), en el tronco en 7 (54%) y en las extremidades en 1 caso (8%). El tamaño medio del CBC era de 179,4 mm² (S:211,6. Min. 25,1. May 777,5). Ningún CBC mostró

eritema ni pústulas, pero 7 CBC (54%) mostraban erosión o ulceración. Había 1 CBC de patrón histológico superficial (8%) y 3 CBC nodulares (23%), que sumados eran 4 CBC no infiltrantes (31%). Los otros 9 CBC eran infiltrante (69%). La expresión de p53 del CBC era de 29,6% (S:31,1%); el índice proliferativo (ki-67) del CBC era de 58,4% (S:17,6%); la expresión de bcl-2 del CBC era de 86,1% (S:22,9%); y el índice apoptótico del CBC era de 0,58% (S:0,18%).

Grupo B

Había 12 casos de CBC (21% del total) en 10 pacientes. 8 pacientes tenían un solo CBC y 2 paciente tenía 2 CBC. Había 9 CBC en hombres (75%) y 3 CBC en mujeres (25%). La edad media de los pacientes era de 72,1 años (S:8,3. Min. 57. Max. 85). El fototipo de los pacientes era III en 3 casos (25%), II en 8 casos (67%) y IV en 1 caso (8%). El CBC se localizaba en la cabeza 8 casos (67%), en el tronco en 3 (25%) y en las extremidades en 1 caso (8%). El tamaño medio del CBC era de 94,5 mm² (S:65,1. Min. 37,6. Max. 282,7). Ningún CBC mostró eritema ni pústulas, pero 4 CBC (33%) mostraban erosión o ulceración. Había 1 CBC de patrón histológico superficial (8%) y 2 CBC nodulares (17%), que sumados eran 3 CBC no infiltrantes (25%). Los otros 9 CBC eran infiltrante (75%). La expresión de p53 del CBC era de 26,7% (S:31,5%); el índice proliferativo (ki-67) del CBC era de 56,9% (S:23,7%); la expresión de bcl-2 del CBC era de 87,4% (S:26,2%); y el índice apoptótico del CBC era de 0,63% (S:0,22%).

Grupo C

Había 10 casos de CBC (18% del total) en 10 pacientes. Había 6 CBC en hombres (60%) y 4 CBC en mujeres (40%). La edad media de los pacientes era de 78,7 años (S:7. Min. 66. Max. 89). El fototipo de los pacientes era III en 8 casos (80%) y II en 2 casos (20%). El CBC se localizaba en la cabeza 9 casos (90%) y en el tronco en 1 (10%). El tamaño medio del CBC era de 79,2 mm² (S:52,2. Min. 25,1. Max. 153,9). Ningún CBC mostró eritema ni pústulas, pero 5 CBC (50%) mostraban erosión o ulceración. Había 1 CBC de patrón histológico nodular (10%) y 9 CBC infiltrantes (90%). La expresión de p53 del CBC era de 33% (S:27,1%); el índice proliferativo (ki-67) del CBC era de 49,4% (S:23,4%);

la expresión de bcl-2 del CBC era de 93,3% (S:17,7%); y el índice apoptótico del CBC era de 0,59% (S:0,20%).

Grupos A-B-C o 3 noches por semana

Este grupo incluía los grupos A (13 pacientes), B (12 pacientes) y C (10 pacientes). Había 35 casos de CBC (63% del total) en 32 pacientes. 29 pacientes tenían un solo CBC y 3 pacientes tenían 2 CBC. Había 18 CBC en hombres (51%) y 17 CBC en mujeres (49%). La edad media de los pacientes era de 74,8 años (S:7,9. Min. 57. Max. 89). El fototipo de los pacientes era III en 22 casos (63%), II en 12 casos (34%) y IV en 1 caso (3%). El CBC se localizaba en la cabeza 22 casos (62%), en el tronco en 11 (31%) y en las extremidades en 2 (5%). El tamaño medio del CBC era de 121,7 mm² (S:141,3. Min. 25,1. Max. 777,5). Ningún CBC mostró eritema ni pústulas, pero 16 CBC (46%) mostraban erosión o ulceración. Había 2 CBC de patrón histológico superficial (6%) y 6 CBC nodulares (17%), que sumados eran 8 CBC no infiltrantes (23%). Los otros 27 CBC eran infiltrantes (77%). La expresión de p53 del CBC era de 29,6% (S:29,4%); el índice proliferativo (ki-67) del CBC era de 55,2% (S:21,3%); la expresión de bcl-2 del CBC era de 88,6% (S:22,4%); y el índice apoptótico del CBC era de 0,60% (S:0,19%).

Grupo D o 5 noches por semana

Había 20 casos de CBC (36% del total) en 18 pacientes. 16 pacientes tenían un solo CBC y 2 pacientes tenían 2 CBC. Había 15 CBC en hombres (75%) y 5 CBC en mujeres (25%). La edad media de los pacientes era de 65,4 años (S:16,3. Min. 40. Max. 87). El fototipo de los pacientes era III en 9 casos (45%), II en 9 casos (45%) y IV en 2 casos (10%). El CBC se localizaba en la cabeza 13 casos (65%), en el tronco en 2 (10%) y en las extremidades en 5 (25%). El tamaño medio del CBC era de 113,9 mm² (S:144,2. Min. 28,. Max. 589). Ningún CBC mostró eritema ni pústulas, pero 12 CBC (60%) mostraban erosión o ulceración. Había 2 CBC de patrón histológico superficial (10%) y 2 CBC nodulares (10%), que sumados eran 4 CBC no infiltrantes (20%). Los otros 16 CBC eran infiltrante (80%). La expresión de p53 del CBC era de 43,9% (S:34,6%); el índice proliferativo (ki-67) del CBC era de 38,7% (S:16,3%); la

expresión de bcl-2 del CBC era de 84,7% (S:32,4%); y el índice apoptótico del CBC era de 0,63% (S:0,37%).

Grupo CBC no infiltrantes

Había 12 CBC (22% del total), 6 en hombres (50%) y 6 en mujeres (50%). La edad media de los pacientes era de 64,3 años (S:24,7). El fototipo de los pacientes era III en 6 casos (50%) y II en 6 casos (50%). El CBC se localizaba en la cabeza 5 casos (42%), en el tronco en 5 (42%) y en las extremidades en 2 (16%). El tamaño medio del CBC era de 122,2 mm² (S:202,8). Ningún CBC mostró eritema ni pústulas, pero 2 CBC (17%) mostraban erosión o ulceración. Había 4 CBC de patrón histológico superficial (33%) y 8 CBC nodulares (67%). La expresión de p53 del CBC era de 34% (S:37,6%); el índice proliferativo (ki-67) del CBC era de 43,8% (S:22,1%); la expresión de bcl-2 del CBC era de 87,4% (S:28,7%); y el índice apoptótico del CBC era de 0,62% (S:0,3%).

Grupo CBC infiltrantes

Había 43 CBC (78% del total), 27 en hombres (63%) y 16 en mujeres (37%). La edad media de los pacientes era de 70,2 años (S:15,6). El fototipo de los pacientes era III en 25 casos (58%), II en 15 casos (35%) y IV en 3 casos (7%). El CBC se localizaba en la cabeza 30 casos (70%), en el tronco en 8 (18%) y en las extremidades en 5 (12%). El tamaño medio del CBC era de 112,5 mm² (S:118,9). Ningún CBC mostró eritema ni pústulas, pero 26 CBC (60%) mostraban erosión o ulceración. La expresión de p53 del CBC era de 33,3% (S:30,6%); el índice proliferativo (ki-67) del CBC era de 50,8% (S:20,4%); la expresión de bcl-2 del CBC era de 84% (S:31,2%); y el índice apoptótico del CBC era de 0,58% (S:0,28%).

Tabla 4. Resultados basales de los grupos A, B y C

	Grupo A		Grupo B		Grupo C	
	N o X	% o S	N o X	% o S	N o X	% o S
Pacientes	13	23%	12	21%	10	18%
Hombres	3	23%	9	75%	6	60%
Mujeres	10	77%	3	25%	4	40%
Edad media	74,3	7,5	72,1	8,3	78,7	7
Fototipo II	2	15%	8	67%	2	20%
Fototipo III	11	85%	3	25%	8	80%
Fototipo IV	0		1	8%	0	
Área BCC mm2	179,4	211,6	94,5	65,1	79,1	52,2
Eritema	0		0		0	
Erosión	7	54%	4	33%	5	50%
Pústulas	0		0		0	
Cabeza	5	38%	8	67%	9	90%
Tronco	7	54%	3	25%	1	10%
Extremidades	1	8%	1	8%	0	
BCC	13	23%	12	21%	10	18%
Superficial	1	8%	1	8%	0	0%
Nodular	3	23%	2	17%	1	10%
No infiltrante	4	31%	3	25%	1	10%
Infiltrante	9	69%	9	75%	9	90%
% Cel CBC +	13		12		10	
p53	29,6%	31,1%	26,7%	31,5%	33,%	27,1%
ki-67	58,4%	17,6%	56,9%	23,7%	49,4%	23,4%
bcl-2	86,1%	22,9%	87,4%	26,2%	93,3%	17,7%
Apoptosis	0,58%	0,18%	0,63%	0,22%	0,59%	0,20%

Tabla 5. Resultados basales de los grupos 3 días/sem y 5 días/sem

	Grupos A-B-C 3 días/sem		Grupo D 5 días/sem		Total	
	N o X	% o S	N o X	% o S	N o X	% o S
Pacientes	35	63%	20	36%	55	100%
Hombres	18	51%	15	75%	33	60%
Mujeres	17	48%	5	25%	22	40%
Edad media	74,8	7,9	65,4	16,3	71,4	12,4
Fototipo II	12	34%	9	45%	21	38%
Fototipo III	22	63%	9	45%	31	56%
Fototipo IV	1	3%	2	10%	3	5%
Área BCC mm2	121,7	141,3	113,9	144,2	118,9	141,1
Eritema	0		0		0	
Erosión	16	46%	12	60%	28	51%
Pústulas	0		0		0	
Cabeza	22	62%	13	65%	35	64%
Tronco	11	31%	2	10%	13	24%
Extremidades	2	5%	5	25%	7	12%
BCC	35	63%	20	36%	55	100%
Superficial	2	6%	2	10%	4	7%
Nodular	6	17%	2	10%	8	15%
No infiltrante	8	23%	4	20%	12	22%
Infiltrante	27	77%	16	80%	43	78%
% Cel CBC +	35		20		35	
p53	29,6%	29,4%	44%	34,6%	34,7%	31,8%
ki-67	55,2%	21,3%	38,7%	16,3%	49,3%	21,1%
bcl-2	88,6%	22,4%	84,7%	32,5%	87,2%	26,1%
Apoptosis	0,60%	0,19%	0,63%	0,37%	0,61%	0,26%

Tabla 6. Resultados basales de los CBC infiltrantes y no infiltrantes

	CBC infiltrantes		CBC No Infiltrantes		Total	
	No X	% o S	No X	% o S	No X	% o S
Pacientes	43	78%	12	22%	55	100%
Hombres	27	63%	6	50%	33	60%
Mujeres	16	37%	6	50%	22	40%
Edad media	70,2	15,6	64,3	24,7	71,4	12,4
Fototipo II	15	35%	6	50%	21	38%
Fototipo III	25	58%	6	50%	31	56%
Fototipo IV	3	7%	0		3	5%
Área BCC mm2	112,5	118,9	122,2	202,8	118,9	141,1
Eritema	0		0		0	
Erosión	26	60%	2	17%	28	51%
Pústulas	0		0		0	
Cabeza	30	70%	5	42%	35	64%
Tronco	8	18%	5	42%	13	24%
Extremidades	5	12%	2	16%	7	12%
BCC	43	78%	12	22%	55	100%
Superficial	0		4	33%	4	7%
Nodular	0		8	67%	8	15%
No infiltrante	0		12	100%	12	22%
Infiltrante	43	100%	0		43	78%
% Cel CBC +	43	78%	12	22%	55	100%
p53	33,3%	30,6%	34%	37,6%	34,7%	31,8%
ki-67	50,8%	20,4%	43,8%	22,1%	49,3%	21,1%
bcl-2	84%	31,2%	87,4%	28,7%	87,2%	26,1%
Apoptosis	0,58%	0,28%	0,62%	0,30%	0,61%	0,26%

6.2. Resultados durante el tratamiento

Durante el tratamiento apareció eritema en los 55 casos (100%), erosión o ulceración en 48 casos (87%) y pústulas estériles en 2 casos (4%). A la mitad del tratamiento el área de eritema era de 140,2 mm² (S:123), el cociente entre el área de eritema y el área tumoral del CBC basal era de 1,6 (S:2,2), el cumplimiento era del 100% y no se habían producido acontecimientos adversos. En los días 8 (grupos C y D), 15 (grupo B) y 22 (grupo A) de tratamiento se recogió una biopsia cutánea para estudio histológico, que mostró CBC en 39 casos (71%): 1 CBC superficial, 5 CBC nodulares y 33 CBC infiltrantes. En 16 biopsias (29%) no se encontró CBC y estos pacientes inicialmente tenían 3 CBC superficiales (75%), 3 CBC nodulares (38%) y 10 CBC infiltrantes (23%).

Grupo A

Durante el tratamiento apareció eritema en 13 casos (100%) y erosión o ulceración en 13 (100%). El día 22 de tratamiento el área de eritema era de 214,4 mm² (S:131,1) y el cociente entre el área de eritema y el área tumoral del CBC basal era de 2,7 (S:4,2). La biopsia cutánea del día 22 mostró CBC en sólo 7 casos (54%): 2 CBC de patrón nodular y 5 CBC infiltrantes. No había CBC en las biopsias de 6 pacientes (46%), que inicialmente tenían 1 CBC superficial (100%), 1 CBC nodular (33%) y 4 CBC infiltrantes (44%). La expresión de p53 del CBC era de 29,2% (S:33%); el índice proliferativo (ki-67) del CBC era de 37,2% (S:20,1%); la expresión de bcl-2 del CBC era de 73% (S:32,9%); y el índice apoptótico del CBC era de 1,88% (S:0,66%).

Grupo B

Durante el tratamiento apareció eritema en 12 casos (100%) y erosión o ulceración en 10 (83%). Al final de la segunda semana de tratamiento (día 15) el tamaño medio del eritema era de 126,1 mm² (S:76,3) y el cociente entre el área de eritema y el área tumoral del CBC basal era de 1,5 (S:0,7). La biopsia cutánea del día 15 demostró CBC en 7 casos (58%): 2 CBC de patrón nodular y 5 CBC infiltrantes. No había CBC en las biopsias de 5 pacientes (42%), que inicialmente tenían 1 CBC superficial (100%) y 4 CBC infiltrantes (44%). La

expresión de p53 del CBC era de 22,2% (S:35%); el índice proliferativo (ki-67) del CBC era de 72,5% (S:26,9%); la expresión de bcl-2 del CBC era de 78% (S:36,9%); y el índice apoptótico del CBC era de 2,02% (S:1,3%).

Grupo C

Durante el tratamiento apareció eritema en 10 casos (100%), erosión o ulceración en 7 (70%) y pústulas en 1 (10%). Al final de la primera semana de tratamiento (día 8) el tamaño medio del eritema era de 74,8 mm² (S:53,9) y el cociente entre el área de eritema y el área tumoral del CBC basal era de 1 (S:0,4). La biopsia cutánea del día 8 demostró CBC en 9 casos (90%): 1 CBC de patrón nodular y 8 CBC infiltrantes. No había CBC en la biopsia de 1 paciente (10%) que inicialmente tenían 1 CBC infiltrante (11%). La expresión de p53 del CBC era de 36,6% (S:31,2%); el índice proliferativo (ki-67) del CBC era de 62,4% (S:27%); la expresión de bcl-2 del CBC era de 74,8% (S:20,7%); y el índice apoptótico del CBC era de 1,50% (S:0,71%).

Grupo D

Durante el tratamiento apareció eritema en 20 casos (100%), erosión o ulceración en 20 (100%) y pústulas en 1 (5%). Al final de la primera semana de tratamiento (día 8) el tamaño medio del eritema era de 133 mm² (S:145,7) y el cociente entre el área de eritema y el área tumoral del CBC basal era de 1,3 (S:0,9). La biopsia cutánea del día 8 demostró CBC en 16 casos (80%): 1 CBC de patrón superficial y 15 CBC infiltrantes. No había CBC en la biopsia de 4 pacientes (20%), que inicialmente tenían 1 CBC superficial, 2 nodulares y 1 infiltrante. La expresión de p53 del CBC era de 32,7% (S:31,7%); el índice proliferativo (ki-67) del CBC era de 38,7% (S:23%); la expresión de bcl-2 del CBC era de 59,9% (S:37,3%); y el índice apoptótico del CBC era de 1,59% (S:1,33%).

Tabla 7. Resultados durante el tratamiento de los grupos A, B, C y D

	Grupo A		Grupo B		Grupo C		Grupo D	
	N o X	% o S						
Día tto	22		15		8		8	
Pacientes	13		12		10		20	
Área eritema mm2	214,4	131,1	126,1	76,3	74,8	53,9	133	145,7
AE/AT	2,7	4,2	1,5	0,7	1,0	0,4	1,3	0,9
Eritema	13	100%	12	100%	10	100%	20	100%
Erosión	13	100%	10	83%	7	70%	18	90%
Pústulas	0	0%	0	0%	1	10%	1	5%
Bx sin CBC	6	46%	5	42%	1	10%	4	20%
Superficial	1	100%	1	100%	0		1	50%
Nodular	1	33%	0		0		2	100%
No infiltrante	2	50%	1	33%	0		3	75%
Infiltrante	4	44%	4	44%	1	11%	1	6%
Bx con BCC	7	54%	7	58%	9	90%	16	80%
Superficial	0		0		0		1	50%
Nodular	2	67%	2	100%	1	100%	0	
No infiltrante	2	50%	2	67%	1	100%	1	1%
Infiltrante	5	56%	5	56%	8	89%	15	94%
% Cel CBC +	7		7		9		16	
p53	29,2%	33%	22,2%	35%	36,6%	31,2%	32,7%	31,7%
ki-67	37,2%	20,1%	72,5%	26,9%	62,4%	27%	38,7%	23%
bcl-2	73%	32,9%	78%	36,9%	74,8%	20,7%	59,9%	37,3%
Apoptosis	1,88%	0,66%	2,02%	1,30%	1,50%	0,71%	1,59%	1,33%

6.3. Resultados al final del tratamiento

Al final del tratamiento el tamaño medio del eritema era de 492,6 mm² (S:636,5) y el cociente entre el área de eritema y el área tumoral del CBC basal (AE/AT) era de 6,9 (S:10,3). Había eritema en 52 casos (95%), erosión o ulceración en 47 (85%) y pústulas en 4 (7%). El cumplimiento del tratamiento era del 98% y se produjeron 2 acontecimientos adversos (AA) en 2 pacientes (5% de los CBC tratados): un varón del grupo B y una mujer del grupo D.

Grupo A

Al final del tratamiento el tamaño medio del eritema era de 434,4 mm² (S:281,8) y el cociente AE/AT era de 4,8 (S:4,9). Había eritema en 13 casos (100%) y erosión o ulceración en 11 (84%). El cumplimiento del tratamiento era del 100% y no se produjo ningún AA.

Grupo B

Al final del tratamiento el tamaño medio del eritema era de 697,6 mm² (S:1066,4) y el cociente AE/AT era de 8,8 (S:12,3). Había eritema en 12 casos (100%), erosión o ulceración en 9 (75%) y pústulas en 2 (17%). El cumplimiento del tratamiento era del 92% y se produjo 1 AA (17% de los CBC tratados): un varón de 85 años que se trataba 2 CBC de la cabeza de manera simultánea presentó un cuadro seudogripal con febrícula, cefalea y mal estado general al principio de la 4ª semana de tratamiento. El AA motivó la suspensión del tratamiento cuando sólo se había completado el 50% del mismo (4 semanas de las 8 previstas). El probable motivo del AA fue que el paciente aplicó la crema más veces de las indicadas: 2 veces al día 3 días por semana en lugar de 1 vez al día 3 días por semana.

Grupo C

Al final del tratamiento el tamaño medio del eritema era de 208,3 mm² (S:383,2) y el cociente AE/AT era de 2,9 (S:4,1). Había eritema en 7 casos (70%) y erosión o ulceración en 7 (70%). El cumplimiento del tratamiento era del 100% y no se produjo ningún AA.

Grupos A-B-C o 3 noches por semana

Al final del tratamiento el tamaño medio del eritema era de 460 mm² (S:688,2) y el cociente AE/AT era de 5,6 (S:8,2). Había eritema en 32 casos (91%), erosión o ulceración en 27 (77%) y pústulas en 2 (6%). El cumplimiento del tratamiento era del 97% y se produjo 1 AA (6% de los CBC).

Grupo D o 5 noches por semana

Al final del tratamiento el tamaño medio del eritema era de 549,7 mm² (S:546,4) y el cociente AE/AT era de 9,3 (S:13,2). Había eritema en 20 casos (100%), erosión o ulceración en 20 (100%) y pústulas en 2 (10%). El cumplimiento del tratamiento era del 100% y se produjo 1 AA (5% de los CBC): una mujer de 76 años que se trataba 1 CBC de la cabeza presentó una gran reacción inflamatoria local (erosión, costras y área de eritema 28 veces mayor que el área tumoral inicial), cuadro seudogripal con cefalea y astenia. El AA motivó la suspensión temporal del tratamiento, pero tras una semana de descanso se pudo reiniciar y completar. El probable motivo del AA fue una absorción elevada Im en una superficie erosionada muy extensa.

Gráfica 1. Resultados al final tratamiento de los grupos 3 días/sem y 5 d/s

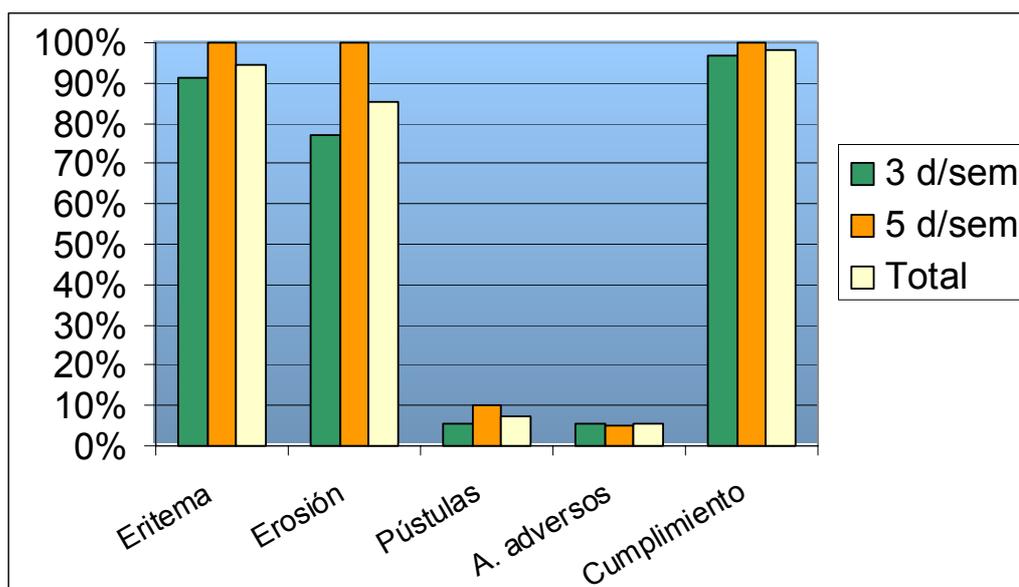


Tabla 8. Resultados al final del tratamiento de los grupos A, B y C

	Grupo A		Grupo B		Grupo C	
	N o X	% o S	N o X	% o S	N o X	% o S
Pacientes	13	100%	12	100%	10	100%
Área eritema mm ²	434,4	281,8	697,6	1066,4	208,3	383,2
AE/AT	4,8	4,9	8,8	12,3	2,9	4,1
Eritema	13	100%	12	100%	7	70%
Erosión	11	85%	9	75%	7	70%
Pústulas	0	0%	2	17%	0	0%
A. adversos	0	0%	2	17%	0	0%
Cumplimiento tto	100%		92%		100%	

Tabla 9. Resultados al final del tratamiento de los grupos 3 días/s y 5 d/s

	Grupos A-B-C 3 días/sem		Grupo D 5 días/sem		Total	
	N o X	% o S	N o X	% o S	N o X	% o S
Pacientes	35	100%	20	200%	55	100%
Área eritema mm ²	460,0	688,2	549,7	546,4	492,6	636,5
AE/AT	5,6	8,2	9,3	13,2	6,9	10,3
Eritema	32	91%	20	100%	52	95%
Erosión	27	77%	20	100%	47	85%
Pústulas	2	6%	2	10%	4	7%
A. adversos	2	6%	1	5%	3	5%
Cumplimiento tto	97%		100%		98%	

6.4. Resultados 6 semanas postratamiento

Seis semanas postratamiento 13 pacientes (24%) mostraban CBC clínicamente visibles, que tenían una área tumoral de 34,7 mm² (S:31,5). Evaluando los 55 CBC en conjunto el área tumoral media era de 9,5 mm² (S:22,4). Ningún paciente mostraba eritema o pústulas, pero había erosión o ulceración en 5 casos (9%), todos ellos con CBC clínicamente visible.

La biopsia cutánea mostró CBC en 13 casos (24%): 1 CBC de patrón nodular y 12 CBC infiltrantes. No había CBC en las biopsias de 42 pacientes (76%), que inicialmente tenían 4 CBC superficiales (100%), 7 CBC nodulares (87%) y 31 CBC infiltrantes (72%). La expresión de p53 del CBC era de 32,4% (S:34,3%); el índice proliferativo (ki-67) del CBC era de 37,7% (S:25,7%); la expresión de bcl-2 del CBC era de 58,3% (S:43,1%); y el índice apoptótico del CBC era de 0,85% (S:0,54%).

Grupo A

Seis semanas postratamiento 3 pacientes (23%) mostraban CBC clínicamente visibles, que tenían una área tumoral de 39,2 mm² (S:46,1). Evaluando los 13 CBC en conjunto el área tumoral media era de 12,1 mm² (S:29,8). Ningún paciente mostraba eritema o pústulas, pero había erosión o ulceración en 1 caso (8%). La biopsia cutánea mostró CBC en 3 casos (23%): 1 CBC de patrón nodular y 2 CBC infiltrantes. No había CBC en las biopsias de 10 pacientes (77%), que inicialmente tenían 1 CBC superficial (100), 2 CBC nodulares (67%) y 7 CBC infiltrantes (78%).

La expresión de p53 del CBC era de 25,3% (S:14,2%); el índice proliferativo (ki-67) del CBC era de 33,3% (S:20,6%); la expresión de bcl-2 del CBC era de 54,7% (S:42,2%); y el índice apoptótico del CBC era de 1% (S:0,87%).

Grupo B

Seis semanas postratamiento 2 pacientes (17%) mostraban CBC clínicamente visibles, que tenían una área tumoral de 19,3 mm² (S:17,2). Evaluando los 12 CBC en conjunto el área tumoral media era de 4,8 mm² (S:11,4). Ningún paciente mostraba eritema, pústulas, erosión o ulceración. La biopsia cutánea mostró CBC en 2 casos (17%): 2 CBC infiltrantes. No había CBC en las

biopsias de 10 pacientes (83%), que inicialmente tenían 1 CBC superficial (100%), 2 CBC nodulares (100%) y 7 CBC infiltrantes (78%).

La expresión de p53 del CBC era de 1,5% (S:0,7%); el índice proliferativo (ki-67) del CBC era de 71,5% (S:2,1%); la expresión de bcl-2 del CBC era de 2,5% (S:0,7%); y el índice apoptótico del CBC era de 0,75% (S:0,36%).

Grupo C

Seis semanas postratamiento 2 pacientes (20%) mostraban CBC clínicamente visibles, que tenían una área tumoral de 11,8 mm² (S:17,1). Evaluando los 10 CBC en conjunto el área tumoral media era de 3,5 mm² (S:9,9). Ningún paciente mostraba eritema, pústulas, erosión o ulceración. La biopsia cutánea mostró CBC en 2 casos (20%): 2 CBC infiltrantes. No había CBC en las biopsias de 8 pacientes (80%), que inicialmente tenían 1 CBC nodular (100%) y 7 CBC infiltrantes (78%).

La expresión de p53 del CBC era de 42% (S:52,3%); el índice proliferativo (ki-67) del CBC era de 21% (S:12,7%); la expresión de bcl-2 del CBC era de 74,5% (S:34,6%); y el índice apoptótico del CBC era de 0,55% (S:0,07%).

Grupos A-B-C o 3 noches por semana

Seis semanas postratamiento 7 pacientes (20%) mostraban CBC clínicamente visibles, que tenían una área tumoral de 31,3 mm² (S:32,5). Evaluando los 35 CBC en conjunto el área tumoral media era de 7,2 mm² (S:19,9). Ningún paciente mostraba eritema o pústulas, pero había erosión o ulceración en 1 casos (3%). La biopsia cutánea mostró CBC en 7 casos (30%): 1 CBC nodular y 6 CBC infiltrantes. No había CBC en las biopsias de 28 pacientes (80%), que inicialmente tenían 2 CBC superficiales (100%), 5 CBC nodulares (83%) y 21 CBC infiltrantes (77%).

La expresión de p53 del CBC era de 23,3% (S:28,3%); el índice proliferativo (ki-67) del CBC era de 40,7% (S:25,3%); la expresión de bcl-2 del CBC era de 45,4% (S:41,6%); y el índice apoptótico del CBC era de 0,8% (S:0,56%).

Grupo D o 5 noches por semana

Seis semanas postratamiento 6 pacientes (30%) mostraban CBC clínicamente visibles, que tenían una área tumoral de 38,6 mm² (S:32,3). Evaluando los 20 CBC en conjunto el área tumoral media era de 13,5 mm² (S:26,2). Ningún paciente mostraba eritema o pústulas, pero había erosión o ulceración en 4 casos (20%). La biopsia cutánea mostró CBC en 6 casos (30%): 6 CBC infiltrantes. No había CBC en las biopsias de 14 pacientes (70%), que inicialmente tenían 2 CBC superficiales (100%), 2 CBC nodulares (100%) y 10 CBC infiltrantes (62%).

La expresión de p53 del CBC era de 42,2% (S:41,1%); el índice proliferativo (ki-67) del CBC era de 33,4% (S:28,6%); la expresión de bcl-2 del CBC era de 76,2% (S:42,6%); y el índice apoptótico del CBC era de 0,91% (S:0,57%).

Gráfica 2. Áreas de tumor y eritema de los grupos 3 d/s y 5 d/s

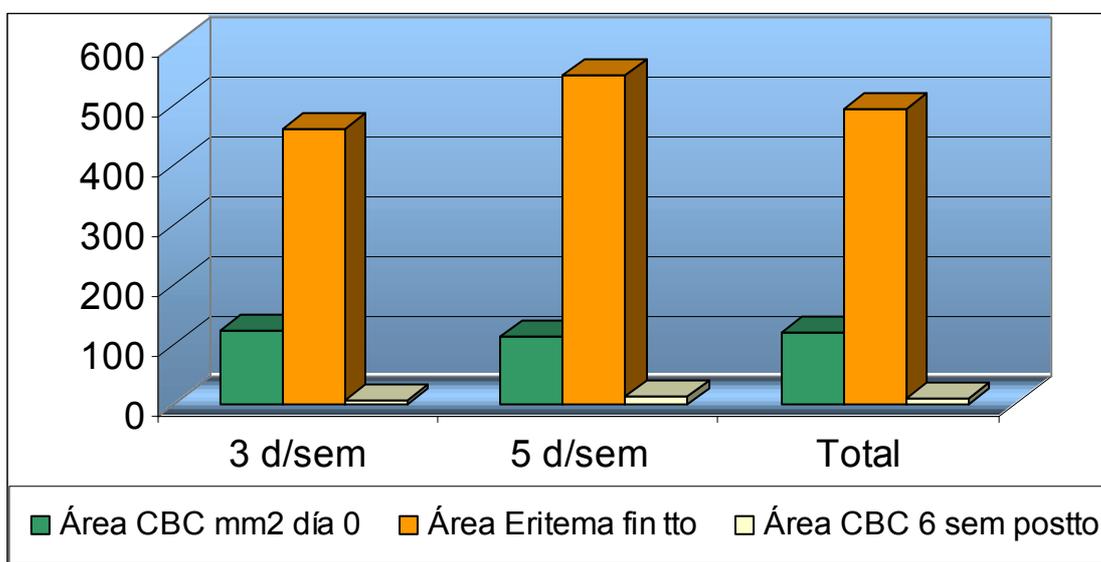


Tabla 10. Resultados 6 semanas postratamiento de los grupos A, B y C

	Grupo A		Grupo B		Grupo C	
	N o X	% o S	N o X	% o S	N o X	% o S
Pacientes	13	100%	12		10	
Área CBC mm2	39,2	46,1	19,3	17,2	11,8	17,1
Área mm2	12,1	29,8	4,8	11,4	3,5	9,9
Eritema	0	0%	0		0	
Erosión	1	8%	0		0	
Bx sin CBC	10	77%	10	83%	8	80%
Superficial	1	100%	1	100%	0	0%
Nodular	2	67%	2	100%	1	100%
No infiltrante	3	75%	3	100%	1	100%
Infiltrante	7	78%	7	78%	7	78%
Bx con BCC	3	23%	2	17%	2	20%
Superficial	0	0%	0	0%	0	0%
Nodular	1	33%	0	0%	0	0%
No infiltrante	1	25%	0	0%	0	0%
Infiltrante	2	22%	2	22%	2	22%
% Cel CBC +	3		2		2	
p53	25,3%	14,2%	1,5%	0,7%	42,0%	52,3%
ki-67	33,3%	20,6%	71,5%	2,1%	21,0%	12,7%
bcl-2	54,7%	42,2%	2,5%	0,70%	74,5%	34,6%
Apoptosis	1,00%	0,87%	0,75%	0,36%	0,55%	0,07%

Tabla 11. Resultados 6 sem postratamiento de los grupos 3 d/s y 5 d/s

	Grupos A-B-C 3 días/sem		Grupo D 5 días/sem		Total	
	N o X	% o S	N o X	% o S	N o X	% o S
Pacientes	35		20		55	
Área CBC mm2	31,3	32,5	38,6	32,3	34,7	31,5
Área mm2	7,2	19,9	13,5	26,2	9,5	22,4
Eritema	0		0		0	0%
Erosión	1	3%	4	20%	5	9%
Bx sin CBC	28	80%	14	70%	42	76%
Superficial	2	100%	2	100%	4	100%
Nodular	5	83%	2	100%	7	87%
No infiltrante	7	87%	4	100%	11	91%
Infiltrante	21	77%	10	62%	31	72%
Bx con BCC	7	20%	6	30%	13	24%
Superficial	0	0%	0	0%	0	0%
Nodular	1	16%	0	0%	1	12%
No infiltrante	1	12%	0	0%	1	8%
Infiltrante	6	22%	6	37%	12	27%
% Cel CBC +	7		6		13	
p53	23,3%	28,3%	45,2%	41,1%	32,4%	34,3%
ki-67	40,7%	25,3%	33,4%	28,6%	37,7%	25,7%
bcl-2	45,4%	41,6%	76,2%	42,6%	58,3%	43,1%
Apoptosis	0,80%	0,56%	0,91%	0,57%	0,85%	0,54%

Tabla 12. Resultados del grupo A

	Día 0		Día 22		Fin tto		6 sem postto	
	No X	% o S	No X	% o S	No X	% o S	No X	% o S
Pacientes	13	23%	13		13		13	100%
Área BCC mm2	179,4	211,6					12,1	29,8
Área eritema mm2	0		214,4	131,1	434,4	281,8	0	
AE/AT			2,7	4,2	4,8	4,9		
Eritema	0	0%	13	100%	13	100%	0	
Erosión	7	54%	13	100%	11	85%	1	8%
Pústulas	0	0%	0	0%	0	0%	0	
A. adversos			0		0			
Cumplimiento			100%		100%			
Bx con CBC	13	100%	7	54%			3	23%
Superficial	1	8%	0				0	0%
Nodular	3	23%	2	67%			1	33%
No infiltrante	4	31%	2	50%			1	25%
Infiltrante	9	69%	5	56%			2	22%
Bx sin BCC			6	46%			10	77%
Superficial			1	100%			1	100%
Nodular			1	33%			2	67%
No infiltrante			2	50%			3	75%
Infiltrante			4	44%			7	78%
% Cel CBC +	13		7				3	
p53	29,6%	31,1%	29,2%	33%			25,3%	14,2%
ki-67	58,4%	17,6%	37,2%	20,1%			33,3%	20,6%
bcl-2	86,1%	22,9%	73%	32,9%			54,7%	42,2%
Apoptosis	0,58%	0,18%	1,88%	0,66%			1,00%	0,87%

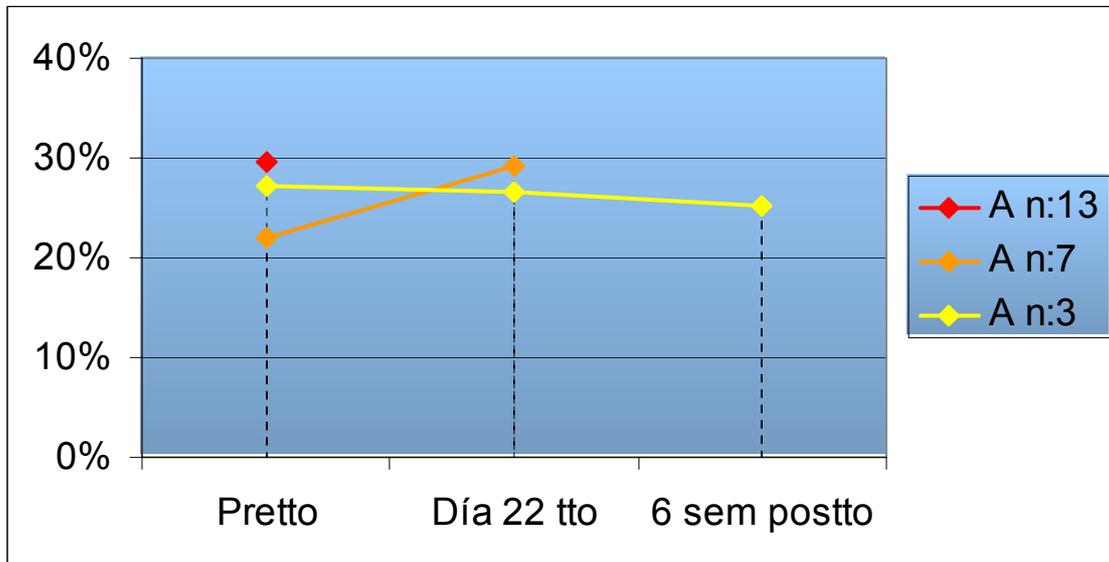
Tabla 13. Resultados del grupo A. Casos con CBC en las 2 biopsias

	Día 0		Día 22		P
	No X	S	No X	S	
% Cel CBC +	7		7		
p53	22,0%	23,4%	29,2%	33,0%	0,4
ki-67	53,8%	22,5%	37,2%	20,1%	0,1
bcl-2	81,7%	29,2%	73,0%	32,9%	0,03
Apoptosis	0,58%	0,18%	1,88%	0,66%	0,01

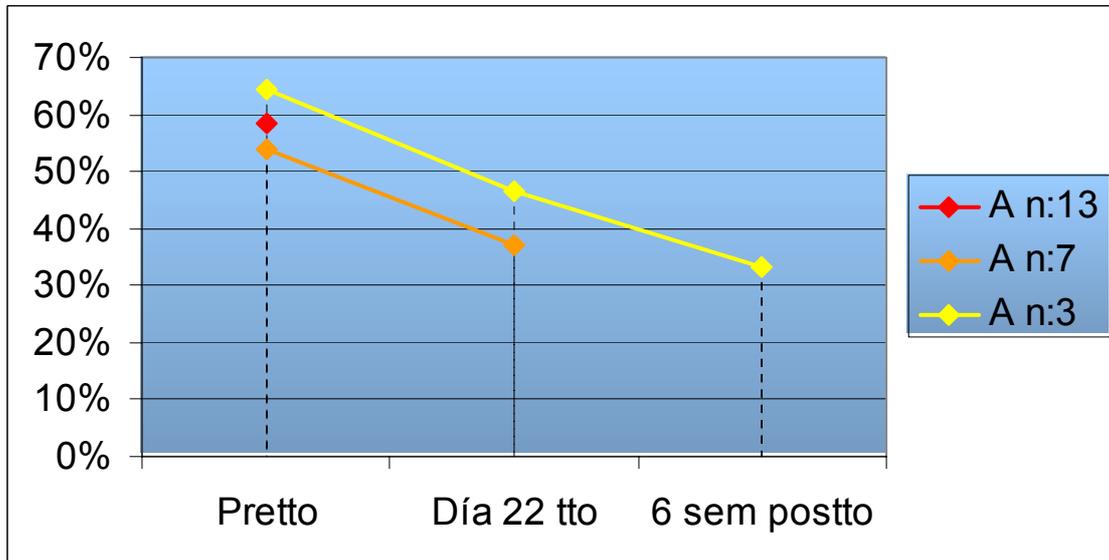
Tabla 14. Resultados del grupo A. Casos con CBC en las 3 biopsias

	Día 0		Día 22		6 sem postto		P
	No X	S	No X	S	No X	S	
% Cel CBC +	3		3		3		
p53	27,3%	14,5%	26,7%	15,3%	25,3%	14,2%	0,7
ki-67	64,3%	6,1%	46,7%	16,1%	33,3%	20,6%	0,08
bcl-2	67,3%	42,5%	59,7%	45,4%	54,7%	42,2%	0,3
Apoptosis	0,66%	0,28%	2,16%	0,29%	1,00%	0,87%	0,1

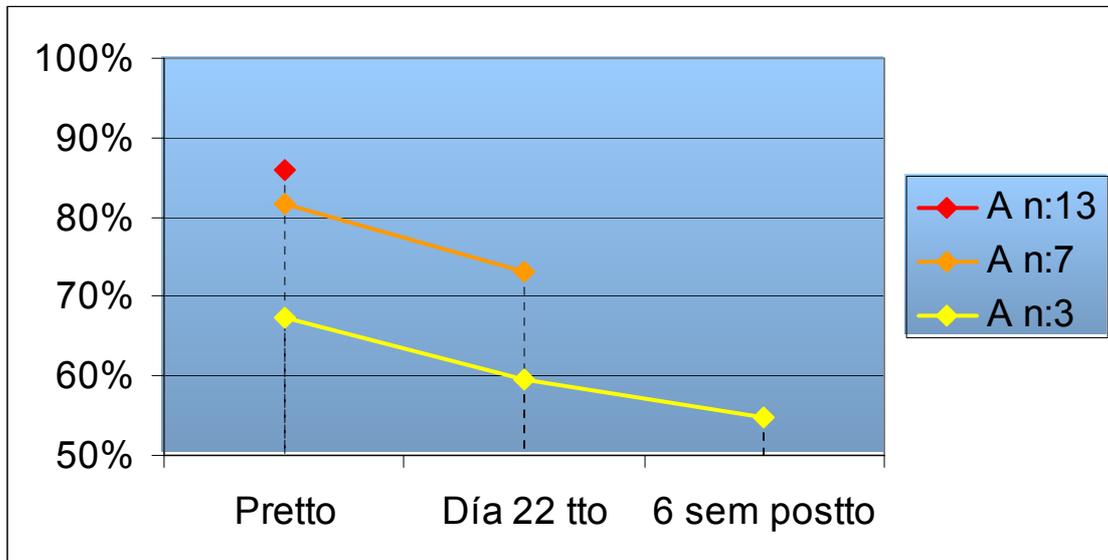
Gráfica 3. Expresión de p53 en el grupo A



Gráfica 4. Índice proliferativo (ki-67) en el grupo A



Gráfica 5. Expresión de bcl-2 en el grupo A



Gráfica 6. Índice apoptótico en el grupo A

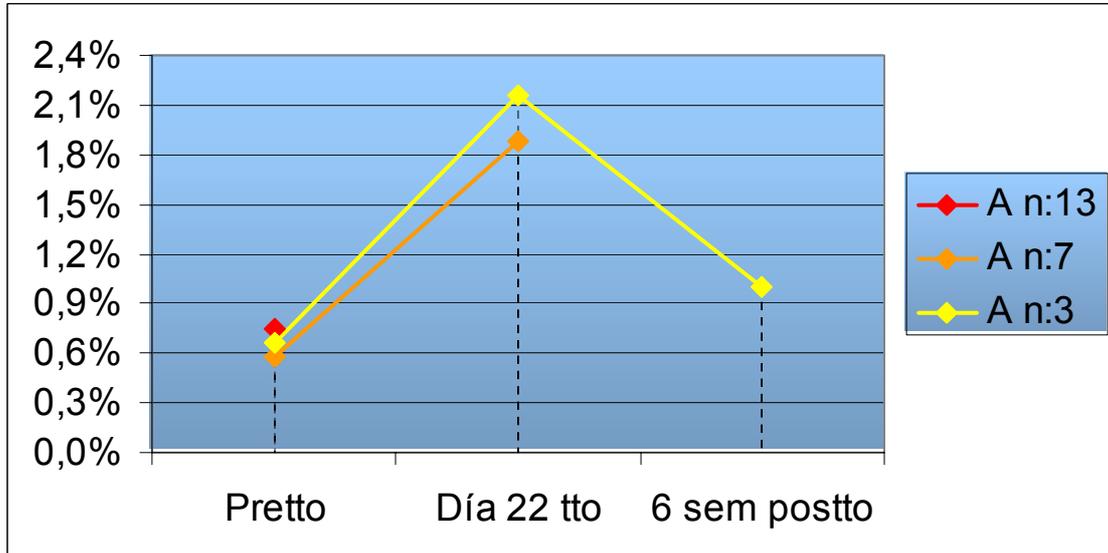


Tabla 15. Resultados del grupo B

	Día 0		Día 8		Fin tto		6 sem postto	
	N o X	% o S	N o X	% o S	N o X	% o S	N o X	% o S
Pacientes	12	21%	12		12	100%	12	
Área BCC mm2	94,5	65,1					4,8	11,4
Área eritema mm2	0		126,1	76,3	697,6	1066,4	0	
AE/AT			1,5	0,7	8,8	12,3		
Eritema	0		12	100%	12	100%	0	
Erosión	4	33%	10	83%	9	75%	0	
Pústulas	0		0	0%	2	17%		
A. adversos					2	17%		
Cumplimiento					92%			
Bx con CBC	12		7	58%			2	17%
Superficial	1	8%	0				0	0%
Nodular	2	17%	2	100%			0	0%
No infiltrante	3	25%	2	67%			0	0%
Infiltrante	9	75%	5	56%			2	22%
Bx sin BCC			5	42%			10	83%
Superficial			1	100%			1	100%
Nodular			0				2	100%
No infiltrante			1	33%			3	100%
Infiltrante			4	44%			7	78%
% Cel CBC +	13		7				2	
p53	26,7%	31,5%	22,2%	35%			1,5%	0,7%
ki-67	56,9%	23,7%	72,5%	26,9%			71,5%	2,1%
bcl-2	87,4%	26,2%	78%	36,9%			2,5%	0,7%
Apoptosis	0,63%	0,22%	2,02%	1,30%			0,75%	0,36%

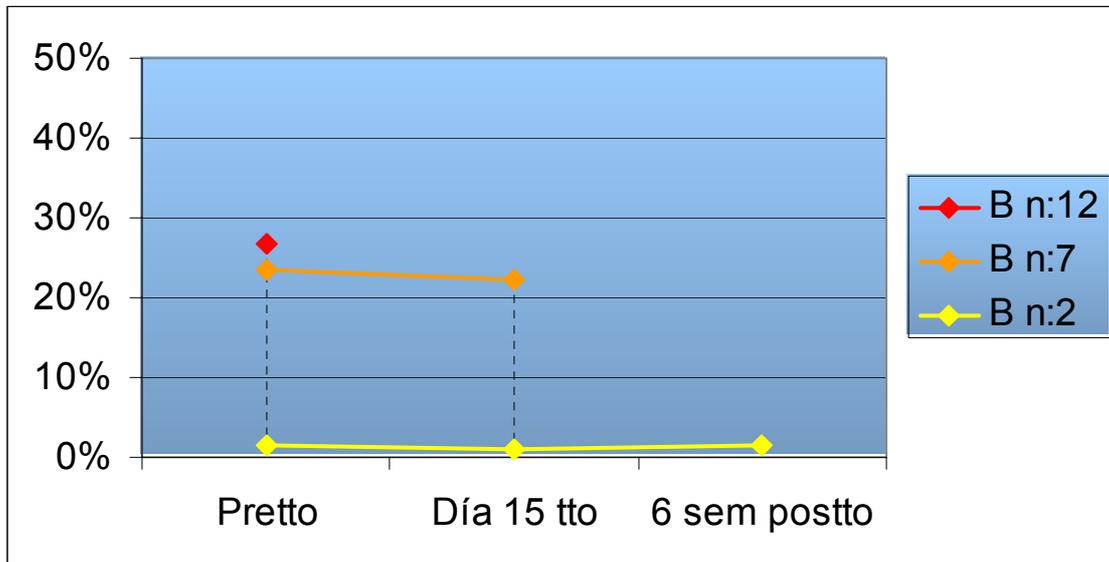
Tabla 16. Resultados del grupo B. Casos con CBC en las 2 biopsias

	Día 0		Día 15		P		
	No	X	S	No		X	S
% Cel CBC +	7			7			
p53	23,5%		32,7%	22,2%		35,0%	0,1
ki-67	61,9%		25,7%	72,5%		26,9%	0,2
bcl-2	79,4%		32,9%	78,0%		36,9%	0,1
Apoptosis	0,58%		0,18%	2,02%		1,30%	0,02

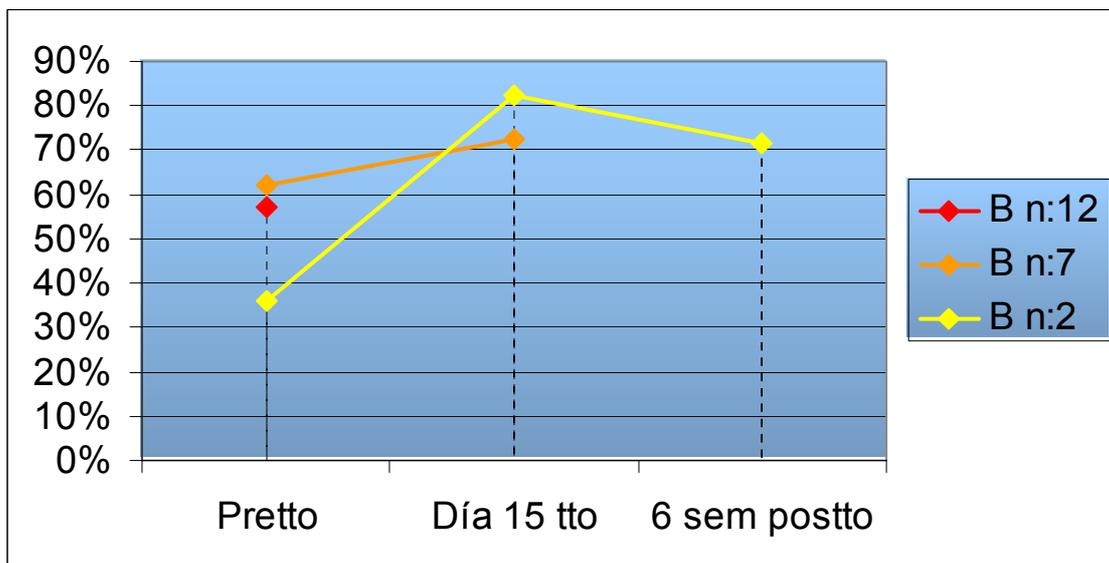
Tabla 17. Resultados del grupo B. Casos con CBC en las 3 biopsias

	Día 0		Día 15		6 sem postto		P		
	No	X	S	No	X	S			
% Cel CBC +	2			2		2			
p53	1,5%		0,7%	1,0%		0,0%	1,5%	0,7%	0,5
ki-67	35,8%		13,0%	82,5%		3,5%	71,5%	2,1%	0,1
bcl-2	65,2%		47,8%	40,0%		49,5%	2,5%	0,7%	0,3
Apoptosis	0,55%		0,07%	2,67%		1,66%	0,75%	0,36%	0,3

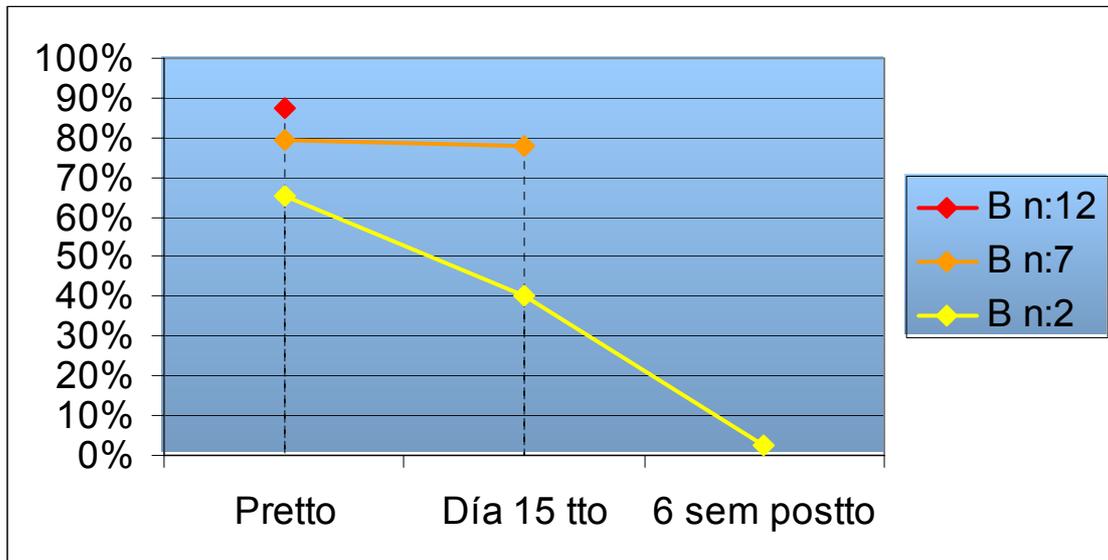
Gráfica 7. Expresión de p53 en el grupo B



Gráfica 8. Índice proliferativo (ki-67) en el grupo B



Gráfica 9. Expresión de bcl-2 en el grupo B



Gráfica 10. Índice apoptótico en el grupo B

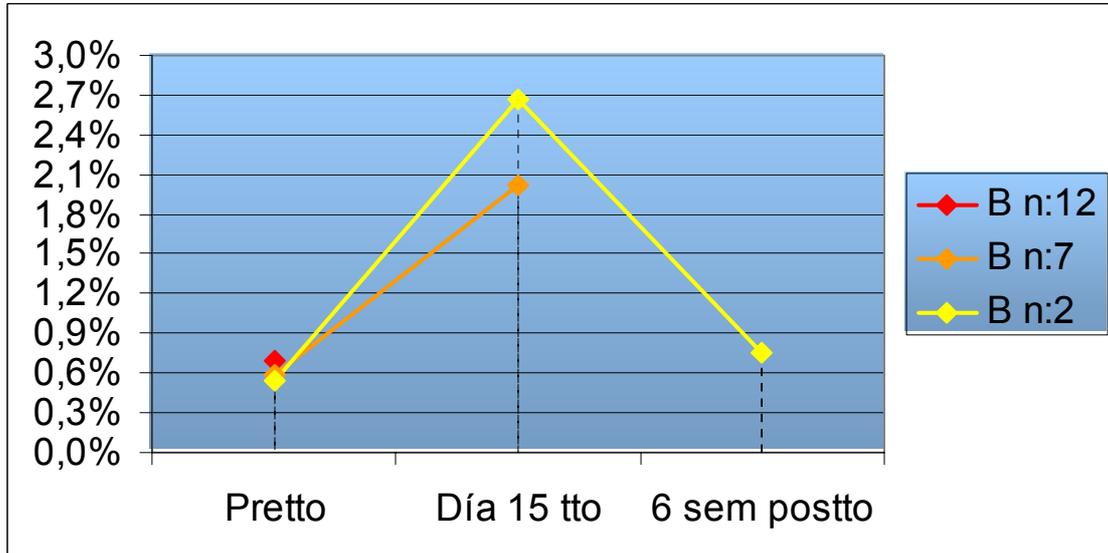


Tabla 18. Resultados del grupo C

	Día 0		Día 8		Fin tto		6 sem postto	
	No X	% o S	No X	% o S	No X	% o S	No X	% o S
Pacientes	10	18%	10		10	100%	10	
Área BCC mm2	79,1	52,2					3,5	9,9
Área eritema mm2	0		74,8	53,9	208,3	383,2	0	
AE/AT			0,9	0,4	2,9	4,1		
Eritema	0		10	100%	7	70%	0	
Erosión	5	50%	7	70%	7	70%	0	
Pústulas	0		1	10%	0		0	
A. adversos			0		0			
Cumplimiento			100%		100%			
Bx con CBC	10	18%	9	90%			2	20%
Superficial	0	0%	0				0	0%
Nodular	1	10%	1	100%			0	0%
No infiltrante	1	10%	1	100%			0	0%
Infiltrante	9	90%	8	89%			2	22%
Bx sin BCC			1	10%			8	80%
Superficial			0				0	0%
Nodular			0				1	100%
No infiltrante			0				1	100%
Infiltrante			1	11%			7	78%
% Cel CBC +	10		9				2	
p53	33%	27,1%	36,6%	31,2%			42,0%	52,3%
ki-67	49,4%	23,4%	62,4%	27%			21,0%	12,7%
bcl-2	93,3%	17,7%	74,8%	20,7%			74,5%	34,6%
Apoptosis	0,59%	0,20%	1,50%	0,71%			0,55%	0,07%

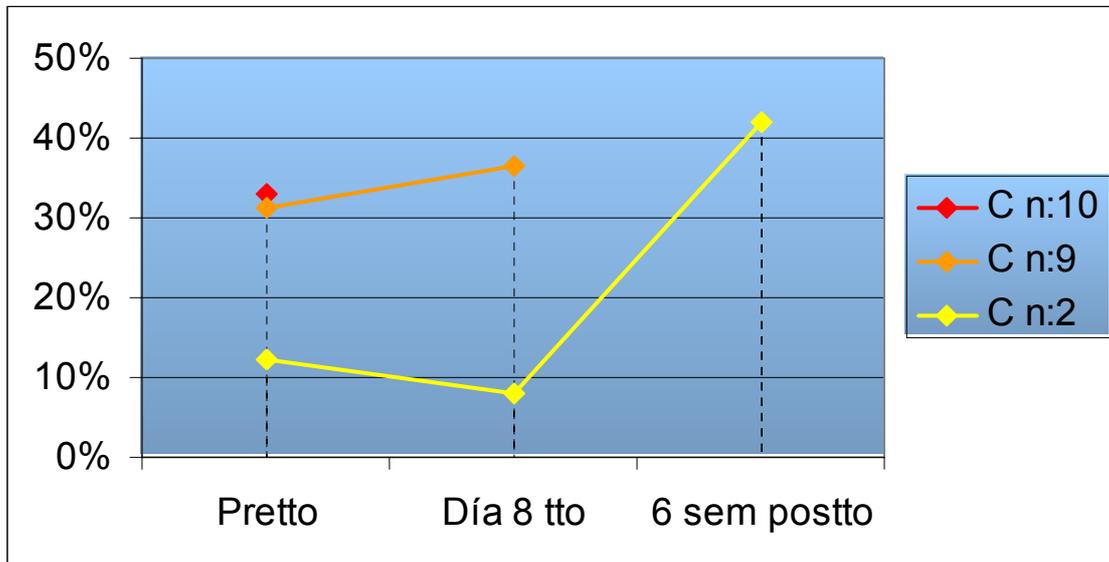
Tabla 19. Resultados del grupo C. Casos con CBC en las 2 biopsias

	Día 0		Día 8		P
	No X	S	No X	S	
% Cel CBC +	9		9		
p53	31,1%	28,1%	36,6%	31,2%	0,7
ki-67	50,5%	24,6%	62,4%	27,0%	0,3
bcl-2	92,7%	18,7%	74,8%	20,7%	0,01
Apoptosis	0,55%	0,16%	1,50%	0,71%	0,01

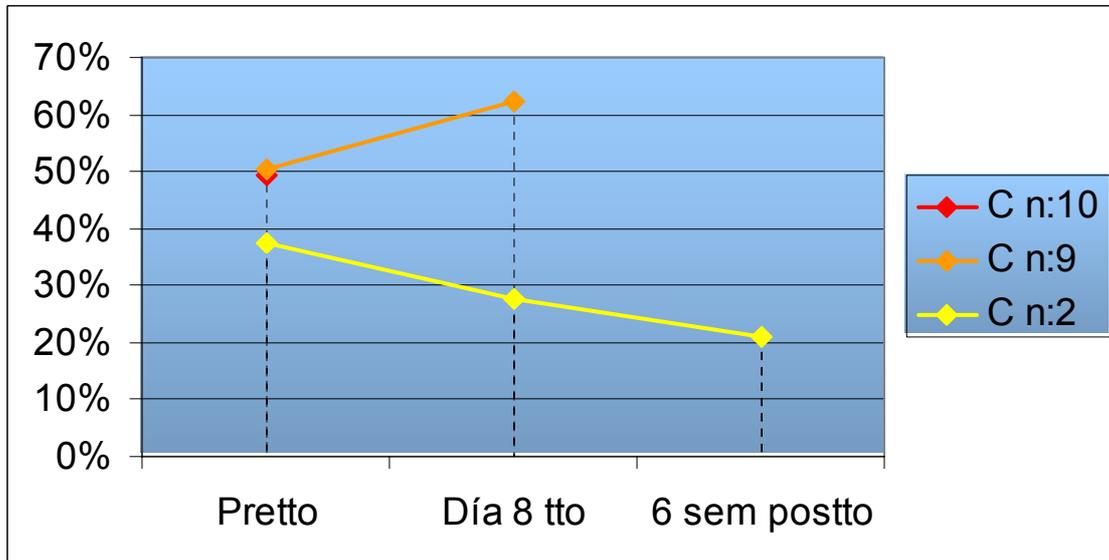
Tabla 20. Resultados del grupo C. Casos con CBC en las 3 biopsias

	Día 0		Día 8		6 sem postto		P
	No X	S	No X	S	No X	S	
% Cel CBC +	2		2		2		
p53	12,2%	15,8%	8,0%	9,9%	42,0%	52,3%	0,6
ki-67	37,6%	34,6%	27,5%	31,8%	21,0%	12,7%	0,5
bcl-2	70,9%	39,7%	51,0%	29,7%	74,5%	34,6%	0,7
Apoptosis	0,74%	0,34%	1,50%	0,71%	0,55%	0,07%	0,2

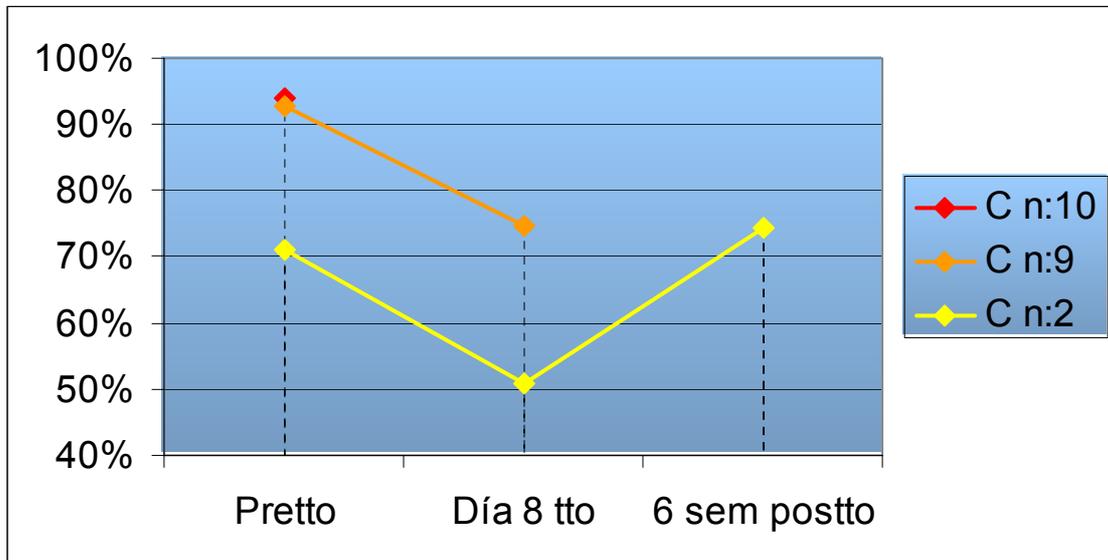
Gráfica 11. Expresión de p53 en el grupo C



Gráfica 12. Índice proliferativo (ki-67) en el grupo C



Gráfica 13. Expresión de bcl-2 en el grupo C



Gráfica 14. Índice apoptótico en el grupo C

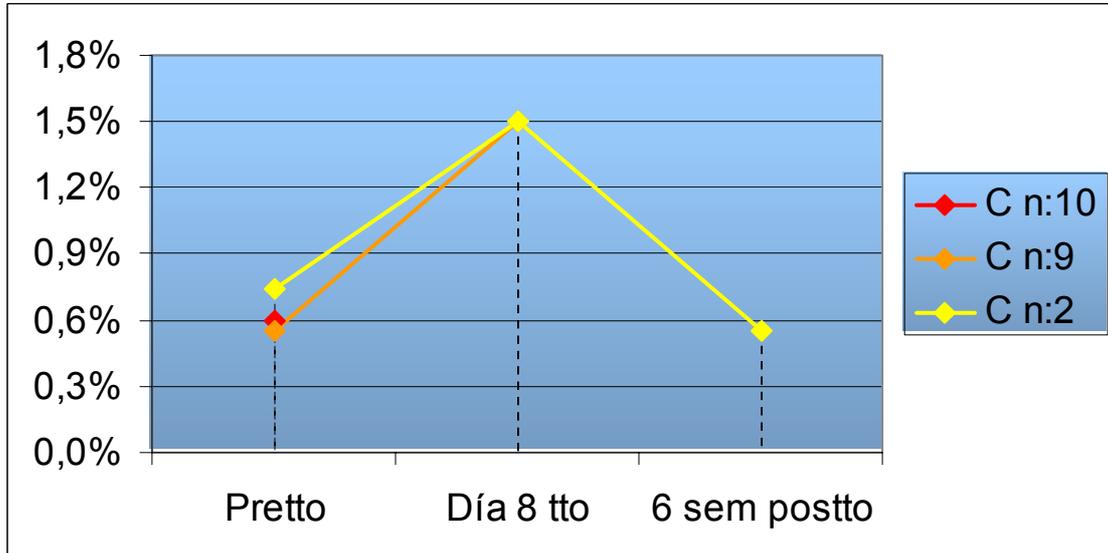


Tabla 21. Resultados del grupo D

	Día 0		Día 8		Fin tto		6 sem postto	
	N o X	% o S	N o X	% o S	N o X	% o S	N o X	% o S
Pacientes	20	36%	20		20		20	
Área BCC mm2	113,9	144,2					13,5	26,2
Área eritema mm2	0		133	145,7	549,7	546,4	0	
AE/AT			1,3	0,9	9,3	13,2		
Eritema	0		20	100%	20	100%	0	
Erosión	12	60%	18	90%	20	100%	4	20%
Pústulas	0		1	5%	2	10%	0	
A. adversos			0		1	5%		
Cumplimiento			100%		100%			
Bx con CBC	20	36%	16	80%			6	30%
Superficial	2	10%	1	50%			0	0%
Nodular	2	10%	0				0	0%
No infiltrante	4	20%	1	1%			0	0%
Infiltrante	16	80%	15	94%			6	37%
Bx sin BCC			4	20%			14	70%
Superficial			1	50%			2	100%
Nodular			2	100%			2	100%
No infiltrante			3	75%			4	100%
Infiltrante			1	6%			10	62%
% Cel CBC +	20		16				6	
p53	44,0%	34,6%	32,7%	31,7%			45,2%	41,1%
ki-67	38,7%	16,3%	38,7%	23%			33,4%	28,6%
bcl-2	84,7%	32,5%	59,9%	37,3%			76,2%	42,6%
Apoptosis	0,63%	0,37%	1,59%	1,33%			0,91%	0,57%

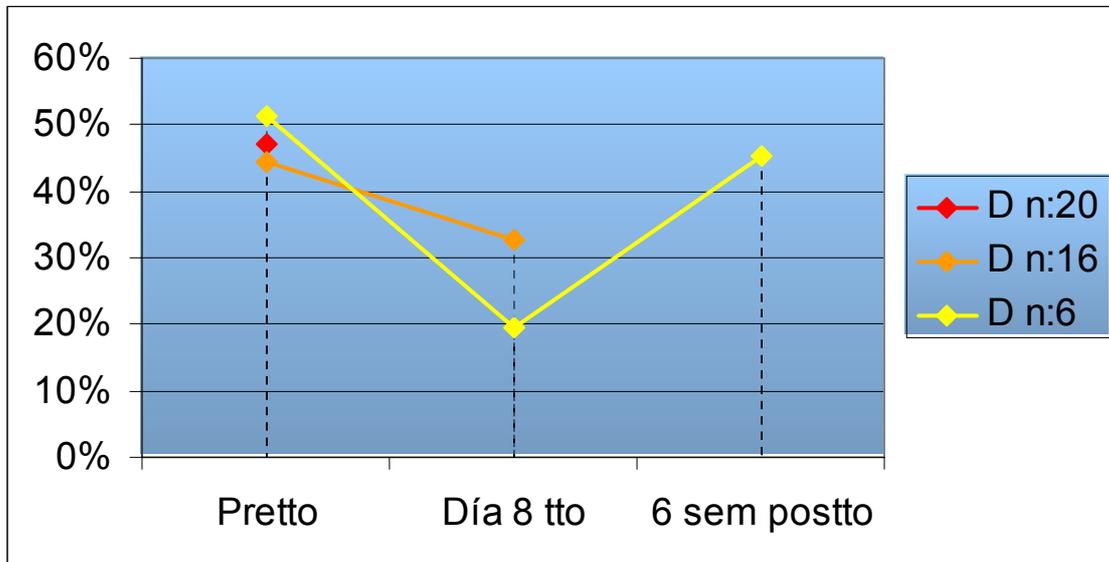
Tabla 22. Resultados del grupo D. Casos con CBC en las 2 biopsias

	Día 0		Día 8		P
	No X	S	No X	S	
% Cel CBC +	16		16		
p53	44,4%	33,2%	32,7%	31,7%	0,3
ki-67	35,3%	13,5%	38,7%	23,0%	0,4
bcl-2	85,6%	33,6%	59,9%	37,3%	0,04
Apoptosis	0,63%	0,40%	1,59%	1,33%	0,01

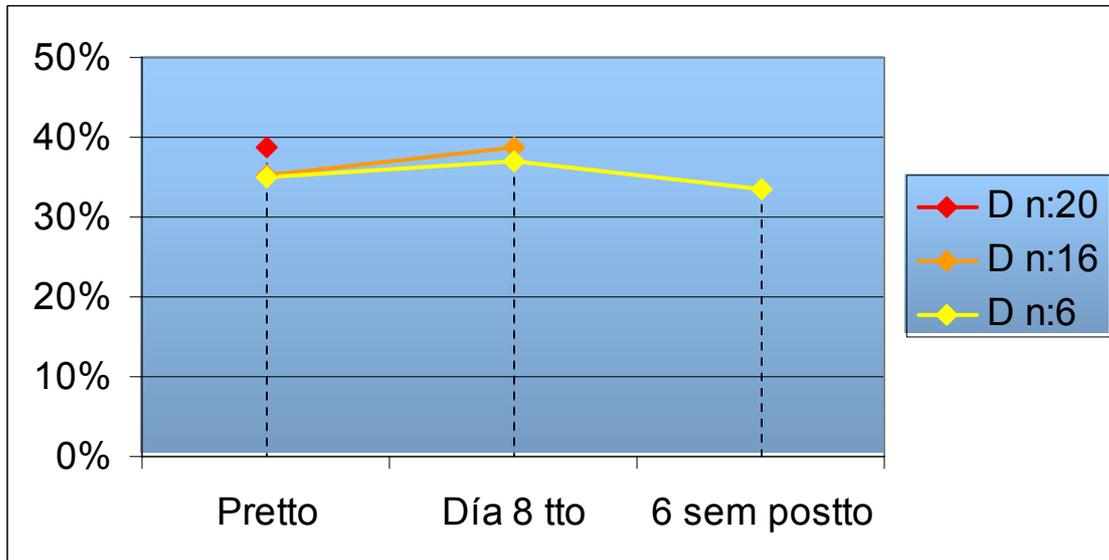
Tabla 23. Resultados del grupo D. Casos con CBC en las 3 biopsias

	Día 0		Día 8		6 sem postto		P
	No X	S	No X	S	No X	S	
% Cel CBC +	6		6		6		
p53	51,3%	40,2%	19,5%	13,2%	45,2%	41,1%	0,2
ki-67	35,0%	2,6%	37,0%	18,1%	33,4%	28,6%	0,9
bcl-2	99,0%	0,0%	75,7%	37,6%	76,2%	42,6%	0,4
Apoptosis	0,58%	0,20%	1,92%	1,68%	0,91%	0,57%	0,1

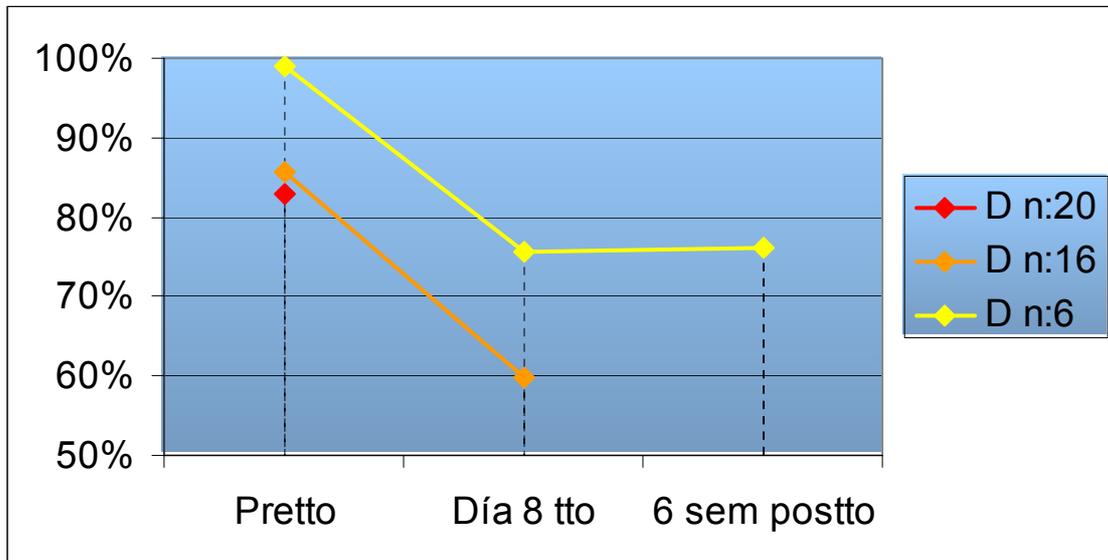
Gráfica 15. Expresión de p53 en el grupo D



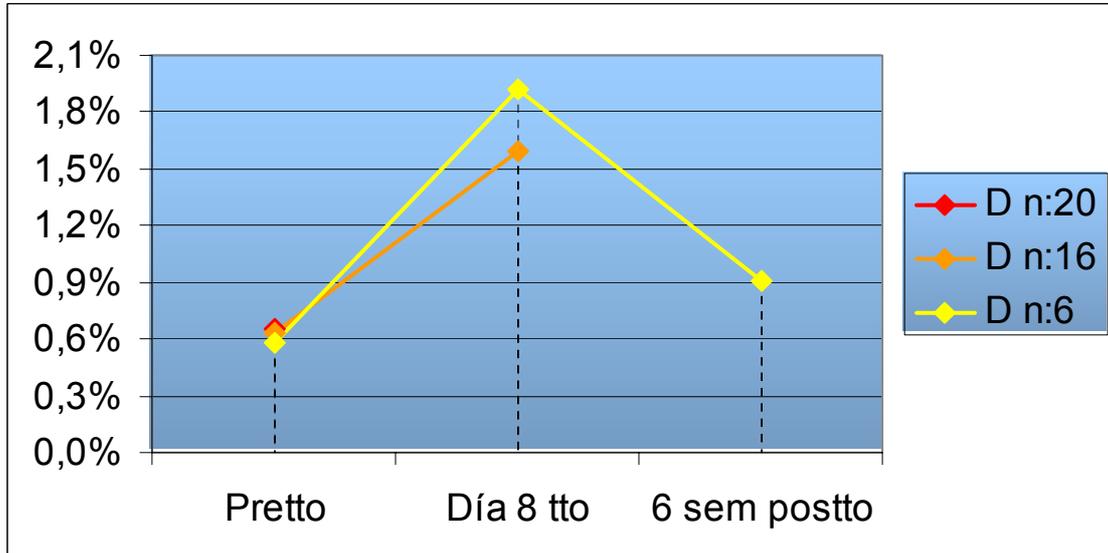
Gráfica 16. Índice proliferativo (ki-67) en el grupo D



Gráfica 17. Expresión de bcl-2 en el grupo D



Gráfica 18. Índice apoptótico en el grupo D



6.5. Resultados 18 meses postratamiento

Los 42 casos que no mostraron CBC en la biopsia realizada 6 semanas postratamiento siguieron controles clínicos periódicos durante una media de 18,3 meses (S: 1,2, Min. 16, Max. 24). Sólo una paciente (2%) presentó recidiva del CBC en este periodo. Era una mujer de 76 años, fototipo III, que presentaba un CBC infiltrante erosionado en la cabeza, con un área tumoral de 78,5 mm² y que se había tratado el CBC 5 veces por semana (grupo D). A la semana de tratamiento el CBC estaba erosionado y presentaba una área de eritema de 392 mm² (AE/AT: 5), y al final del tratamiento había erosión y el área de eritema era de 2198 mm² (AE/AT: 28). Esta paciente presentó un cuadro pseudo gripal al final del tratamiento por la gran extensión de eritema, y después de una semana de descanso completó todo el tratamiento. En la visita realizada 10 meses postratamiento se observó una pápula tumoral de 4 mm² en la zona tratada, y la biopsia cutánea confirmó que era un CBC.

Grupo A

18 meses postratamiento la tasa de respuesta completa al tratamiento fue del 77%: 100% en CBC superficial, 67% en CBC nodulares (75% en CBC no infiltrantes) y 78% en CBC infiltrantes.

Grupo B

18 meses postratamiento la tasa de respuesta completa al tratamiento fue del 83%: 100% en CBC superficial, 100% en CBC nodulares (100% en CBC no infiltrantes) y 78% en CBC infiltrantes.

Grupo C

18 meses postratamiento la tasa de respuesta completa al tratamiento fue del 80%: 100% en CBC en CBC nodular (100% en CBC no infiltrantes) y 78% en CBC infiltrantes.

Grupo A-B-C o 3 noches por semana

18 meses postratamiento la tasa de respuesta completa al tratamiento fue del 80%: 100% en CBC superficiales, 83% en CBC nodulares (87% en CBC no infiltrantes) y 77% en CBC infiltrantes.

Grupo D o 5 noches por semana

18 meses postratamiento la tasa de respuesta completa al tratamiento fue del 65%: 100% en CBC superficiales, 100% en CBC nodulares, 100% en CBC no infiltrantes y 56% en CBC infiltrantes.

Total

18 meses postratamiento la tasa de respuesta completa al tratamiento fue del 75% (41 casos de 55): 100% en CBC superficiales (4 de 4), 88% en CBC nodulares (7 de 8), 92% en CBC no infiltrantes (11 de 12) y 70% en CBC infiltrantes (30 de 43).

Los CBC con respuesta completa al tratamiento eran más pequeños de tamaño, ocurrieron en pacientes más jóvenes y tenían una expresión de bcl-2 y ki-67 en el CBC más alta que los CBC del grupo de no curación.

Gráfica 19. Respuesta completa 18 meses postratamiento

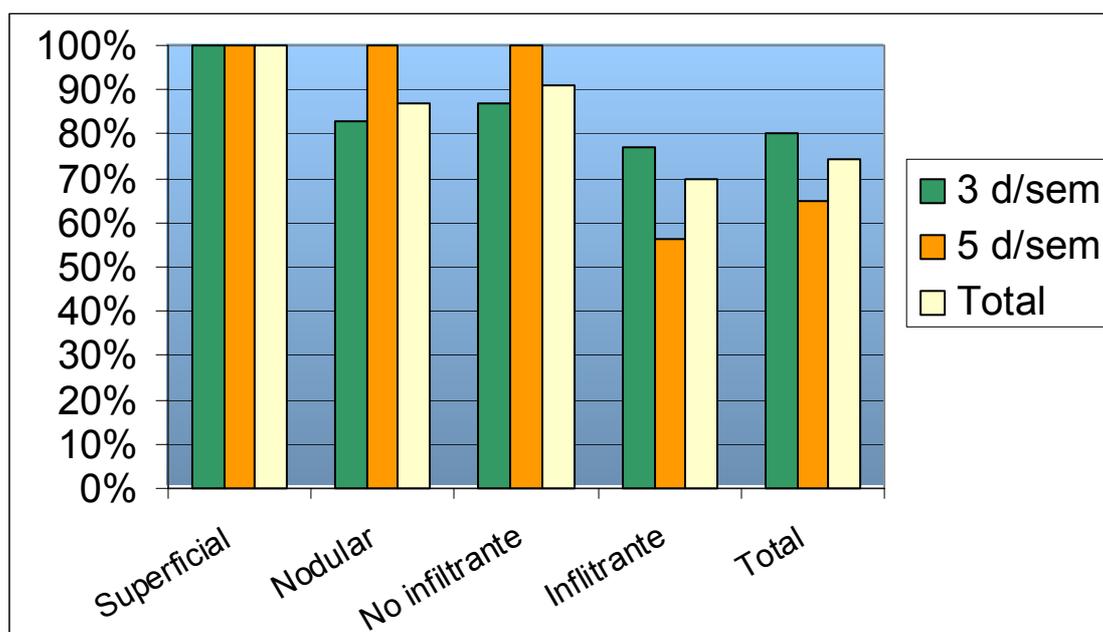


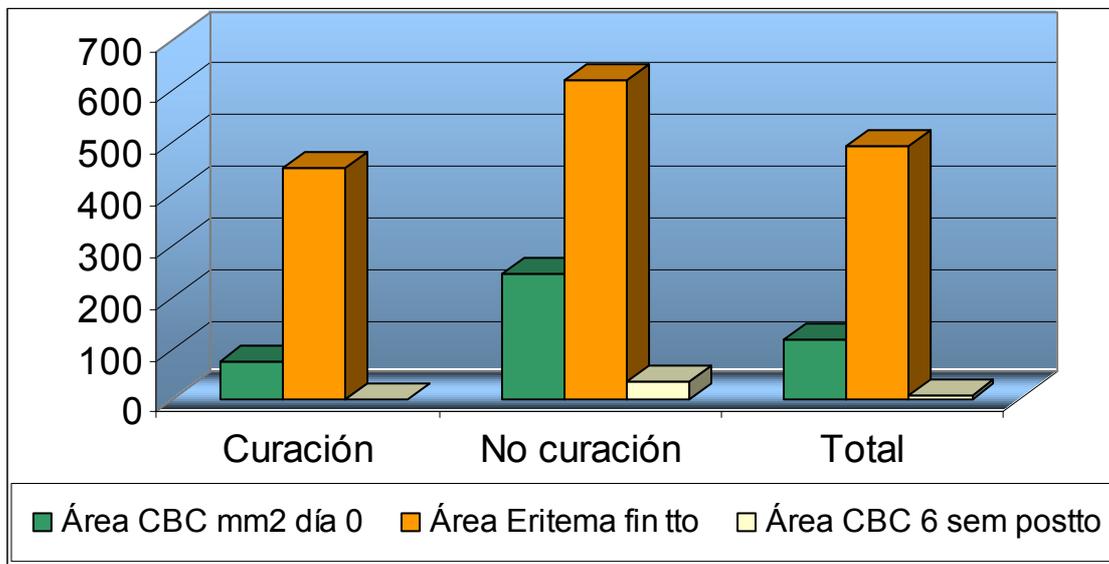
Tabla 24. Respuesta completa 18 meses postratamiento

	Grupo A		Grupo B		Grupo C	
	N	%	N	%	N	%
CBC	13		12		10	
CBC Superficial	1	100%	1	100%	0	0%
CBC Nodular	2	67%	2	100%	1	100%
CBC No infiltrante	3	75%	3	100%	1	100%
CBC Infiltrante	7	78%	7	78%	7	78%
Total	10	77%	10	83%	8	80%

Tabla 25. Respuesta completa 18 meses postratamiento

	Grupos A-B-C 3 días/sem		Grupo D 5 días/sem		Total	
	N	%	N	%	N	%
CBC	35		20		55	
CBC Superficial	2	100%	2	100%	4	100%
CBC Nodular	5	83%	2	100%	7	88%
CBC No infiltrante	7	87%	4	100%	11	92%
CBC Infiltrante	21	77%	9	56%	30	70%
Total	28	80%	13	65%	41	75%

Gráfica 20. Áreas de tumor y eritema por curación



Comentario: a pesar de que el área eritema al final del tratamiento (AE) fue mayor en el grupo no curación (620 mm^2) que en el grupo curación (448 mm^2), la relación entre AE y el área tumoral basal (AE/AT) fue mayor en el grupo curación (7,4) que en el grupo no curación (5,4).

Tabla 26. Respuesta completa 18 meses postratamiento

	Total		Curación		No Curación		P
	No X	% o S	No X	% o S	No X	% o S	
Pacientes	55	100%	41	75%	14	25%	
Hombres	33	60%	25	61%	8	57%	1
Mujeres	22	40%	16	39%	6	43%	1
Edad media	71,4	12,4	69,6	13,1	76,4	8,4	0,07
Fototipo II	21	38%	17	41%	4	29%	0,6
Fototipo III	31	56%	22	54%	9	64%	0,6
Fototipo IV	3	5%	2	5%	1	7%	0,6
3 v/sem 8 sem	35	64%	28	80%	7	20%	0,3
5 v/sem 5 sem	20	36%	13	65%	7	35%	0,3
Cabeza	35	63%	25	61%	10	71%	0,5
Tronco	13	23%	10	24%	3	21%	0,5
Extremidades	7	12%	6	15%	1	7%	0,5
Día 0	55	100%	41	75%	14	25%	
Área BCC mm2	118,9	141,1	75,9	50,2	244,3	228,3	0,01
Eritema	0		0		0		
Erosión	28	51%	16	39%	12	86%	0,01
Pústulas	0		0		0		
CBC	55	100%	41	75%	14	25%	
Superficial	4	7%	4	100%	0		
Nodular	8	15%	7	88%	1	13%	
No infiltrante	12	22%	11	92%	1	8%	0,1
Infiltrante	43	78%	30	70%	13	30%	0,1
% Cel CBC +	55	100%	41	75%	14	25%	
p53	34,7%	31,8%	36,3%	31,4%	29,9%	33,4%	0,5
ki-67	49,3%	21,1%	52,5%	21,4%	40,2%	17,7%	0,06
bcl-2	87,2%	26,1%	91%	20,9%	76,3%	35,9%	0,07
Apoptosis	0,61%	0,26%	0,61%	0,28%	0,60%	0,2%	0,9
Fin tto	55	100%	41	75%	14	25%	
Área eritema mm2	492,6	636,5	448,9	666,8	620,5	539,3	0,3
AE/AT	6,9	10,3	7,4	11,2	5,4	7,2	0,5
Eritema	52	95%	38	92%	14	100%	0,6
Erosión	47	85%	33	80%	14	100%	0,1
Pústulas	4	7%	2	4%	2	14%	0,2
A. adversos	3	5%	1	2%	2	14%	0,1
Cumplimiento	98%		98,7%		96%		0,4
6 sem postto	55	100%	41	75%	14	25%	
Área CBC mm2	9,5	22,4	0		37,1	31,1	
Eritema	0		0		0		
Erosión	5	9%	0		5	36%	

6.6. Resultados del estudio del infiltrado inflamatorio peritumoral

Pretratamiento

En las 5 biopsias estudiadas el número medio de células del infiltrado inflamatorio peritumoral por campo de 400 aumentos (0,0625 mm²) era de 488 (S: 270), con 184 células CD3 + (41%), 58 células CD8 + (15%), una relación CD4/CD8 de 2.1, 9 células CD20 + (2%), 2 células CD56 + (1%), 105 células CD68 + (22%), 7 células grancima B + (3%) y 6 células S-100 + (2%).

3 aplicaciones de Im. 3 d/sem, día 8

En las 5 biopsias estudiadas el número medio de células del infiltrado inflamatorio peritumoral por campo de 400 aumentos era de 1110 (S: 91), con 460 células CD3 + (42%), 183 células CD8 + (17%), una relación CD4/CD8 de 1.7, 53 células CD20 + (5%), 4 células CD56 + (1%), 232 células CD68 + (21%), 31 células grancima B + (3%) y 18 células S-100 + (2%).

5 aplicaciones de Im. 5 d/sem, día 8

En las 5 biopsias estudiadas el número medio de células del infiltrado inflamatorio peritumoral por campo de 400 aumentos era de 1252 (S: 274), con 661 células CD3 + (53%), 265 células CD8 + (22%), una relación CD4/CD8 de 1.5, 153 células CD20 + (12%), 7 células CD56 + (1%), 196 células CD68 + (16%), 40 células grancima B + (3%) y 13 células S-100 + (1%).

6 aplicaciones de Im. 3 d/sem, día 15

En las 5 biopsias estudiadas el número medio de células del infiltrado inflamatorio peritumoral por campo de 400 aumentos era de 1192 (S: 249), con 530 células CD3 + (44%), 232 células CD8 + (20%), una relación CD4/CD8 de 1.4, 137 células CD20 + (12%), 2 células CD56 + (1%), 226 células CD68 + (19%), 52 células grancima B + (4%) y 15 células S-100 + (1%).

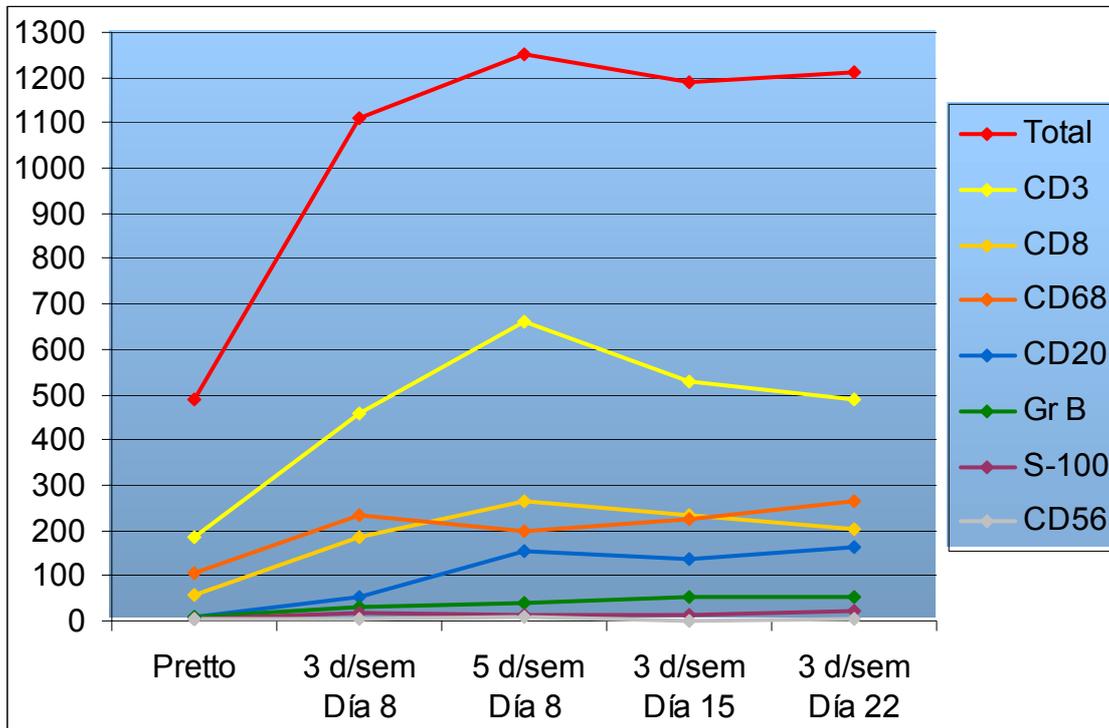
9 aplicaciones de Im. 3 d/ sem, día 22

En las 5 biopsias estudiadas el número medio de células del infiltrado inflamatorio peritumoral por campo de 400 aumentos era de 1213 (S: 60), con 488 células CD3 + (40%), 202 células CD8 + (17%), una relación CD4/CD8 de 1.4, 161 células CD20 + (14%), 3 células CD56 + (1%), 266 células CD68 + (22%), 55 células grancima B + (5%) y 22 células S-100 + (2%).

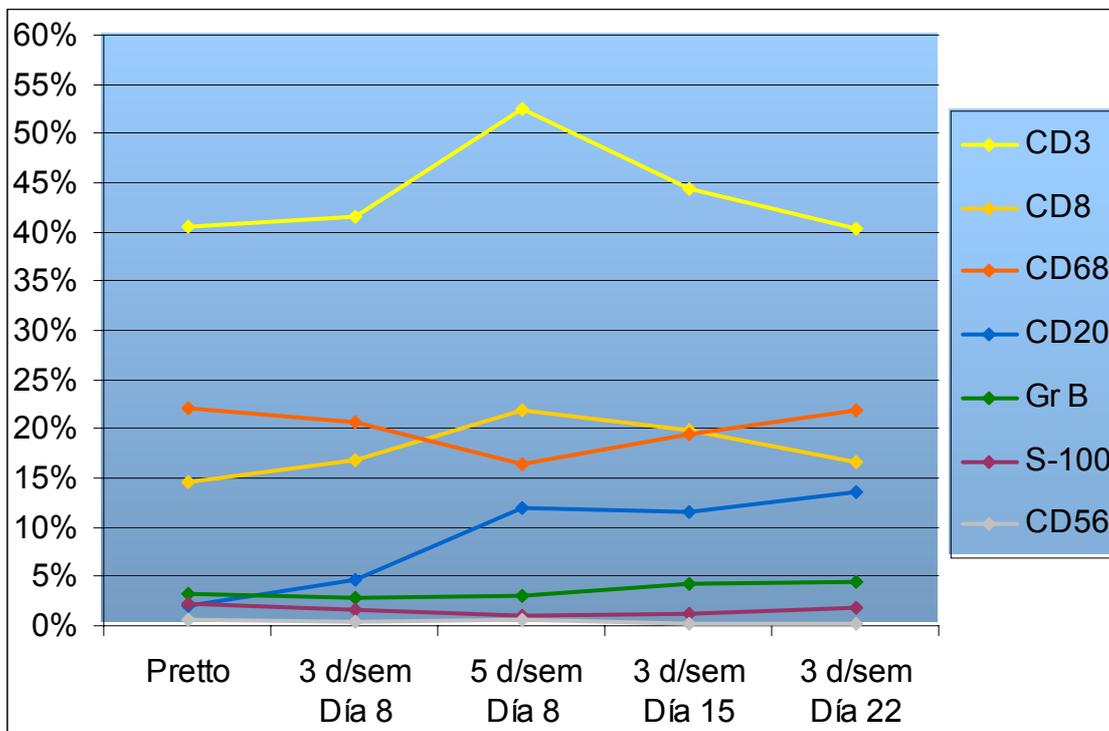
Tabla 27. Resultados del estudio del infiltrado inflamatorio peritumoral

		Pretto	3 días/s Día 8	5 días/s Día 8	3 días/s Día 15	3 días/s Día 22	P
Células totales	X	488	1110	1252	1192	1213	0,001
	S	270	91	274	249	60	
CD3+	X	184	460	661	530	488	0,001
	S	91	21	172	130	24	
	%	41%	42%	53%	44%	40%	
CD8+	X	58	183	265	232	202	0,001
	S	21	58	22	78	18	
	%	15%	17%	22%	20%	17%	
CD4/CD8	X	2,1	1,7	1,5	1,4	1,4	0,6
	S	0,9	0,9	0,6	0,8	0,3	
CD20+	X	9	53	153	137	161	0,002
	S	6	53	76	54	82	
	%	2%	5%	12%	12%	14%	
CD56+	X	2	4	7	2	3	0,3
	S	2	5	8	1	2	
	%	1%	0,4%	1%	0,2%	0,3%	
CD68+	X	105	232	196	226	266	0,01
	S	61	115	70	30	43	
	%	22%	21%	16%	19%	22%	
Gran B+	X	7	31	40	52	55	0,05
	S	4	17	42	40	19	
	%	3%	3%	3%	4%	5%	
S-100+	X	6	18	13	15	22	0,02
	S	2	9	5	7	10	
	%	2%	2%	1%	1%	2%	

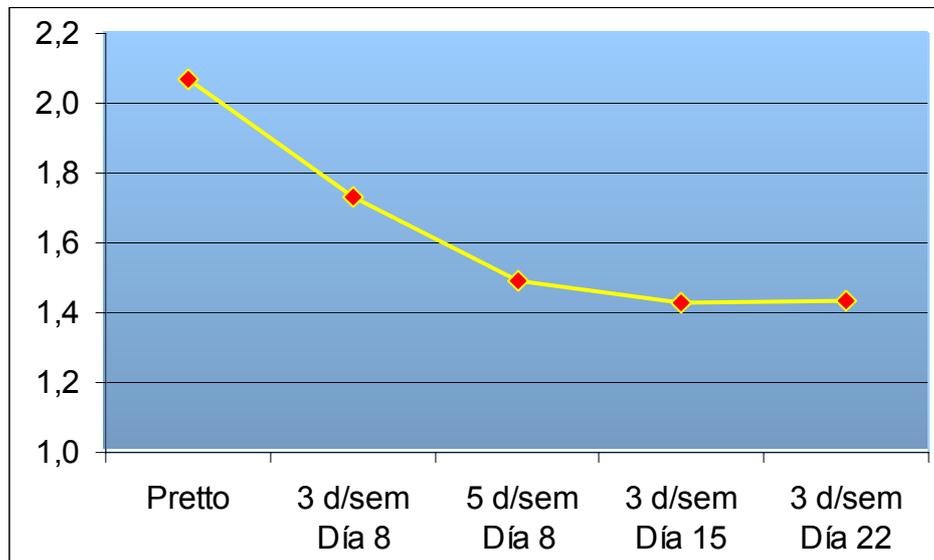
Gráfica 21. Número de células del infiltrado inflamatorio peritumoral por campo de 400 aumentos



Gráfica 22. Porcentaje de células del infiltrado inflamatorio peritumoral por campo de 400 aumentos



Gráfica 23. Relación de células CD4+ / CD8+ del infiltrado inflamatorio peritumoral



Comentario: El número de células CD4 + se calculó restando el número de células CD8 + del número de células CD3 +.

6.7. Análisis estadístico

Día 0

Las dos posologías de tratamiento (3 días por semana y 5 días por semana) mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en los resultados de las variables edad y localización, pero no tenían diferencias significativas en los resultados de las otras variables estudiadas: sexo, área tumoral basal (AT), erosión, histología del CBC, fototipo, expresión de p53 y bcl-2 del CBC, índice proliferativo (ki-67) del CBC y e índice apoptótico del CBC.

Los 4 grupos (A, B, C y D) mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en los resultados de las variables edad y localización, pero no tenían diferencias significativas en los resultados de las otras variables estudiadas: sexo, área tumoral basal, erosión, histología del CBC, fototipo, expresión de p53 y bcl-2 del CBC, índice proliferativo (ki-67) del CBC y e índice apoptótico del CBC.

Las variables expresión de bcl-2 del CBC pretto y índice apoptótico basal del CBC pretto mostraron una correlación inversa ($r < 1$) significativa ($p < 0,05$).

El análisis bivalente mostró una tendencia estadística entre la expresión elevada de bcl-2 y los CBC no infiltrantes, pero la poca potencia del grupo de CBC no infiltrantes (sólo 12 CBC) no permitió encontrar diferencias significativas con la expresión de bcl-2 de los CBC infiltrantes.

Fin del tratamiento

Las dos posologías de tratamiento (3 d/sem y 5 d/sem) no tenían diferencias significativas en los resultados de ninguna de las variables estudiadas: eritema, área de eritema (AE), AE/AT, erosión, pústulas, acontecimientos adversos y cumplimiento. A pesar de ello los resultados de las variables eritema, AE, AE/AT y erosión eran más frecuentes o elevados en el grupo 5 d/sem.

6 semanas postto

El análisis estadístico bivariante mostró una relación significativa ($p < 0,05$) entre la ausencia de CBC en la biopsia realizada 6 semanas postratamiento, el AT y la erosión basal. Por tanto los CBC que con más frecuencia no mostraron tumor en la biopsia realizada 6 semanas postratamiento eran los CBC de menor tamaño y sin erosión basal.

El análisis bivariante no mostró relaciones significativas entre la ausencia de CBC en la biopsia realizada 6 semanas postratamiento y las variables edad, sexo, histología del CBC (no infiltrantes o infiltrantes), los grupos (A, B, C y D), posología (3 d/sem o 5 d/sem), fototipo, localización, expresión basal de p53 y bcl-2, índice proliferativo (ki-67) basal, índice apoptótico basal, eritema al final del tratamiento, área de eritema al final del tratamiento, cociente AE/AT, erosión al final del tratamiento, pústulas al final del tratamiento, acontecimientos adversos y cumplimiento.

El análisis multivariante (regresión logística) demostró que sólo la variable AT basal tenía una relación significativa ($p < 0,05$) e independiente de otras variables con la ausencia de CBC en la biopsia realizada 6 semanas postratamiento.

La erosión basal era una variable dependiente de la variable AT basal: los tumores de menor tamaño tenían menos erosión que los CBC más grandes. Los modelos generales lineales o ANOVA de 2 factores (medidas repetidas de un factor a lo largo del tiempo) estudiaron la expresión de p53 y bcl-2 del CBC, el índice proliferativo (ki-67) y el índice apoptótico del CBC en los 4 grupos (A,B,C y D). Se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en el aumento del índice apoptótico del CBC durante el tratamiento en todos los grupos (A,B,C y D), y en el descenso de la expresión de bcl-2 del CBC durante el tratamiento en los grupos A, C y D.

Se encontró una correlación negativa ($r < 1$) significativa ($p < 0,05$) entre la expresión de bcl-2 del CBC y el índice apoptótico del CBC. Mientras la expresión de bcl-2 disminuía con el tratamiento y 6 semanas postratamiento volvía a subir, el índice apoptótico del CBC aumentaba con el tratamiento y 6 semanas postratamiento volvía a bajar.

18 meses postto

La curación completa mostró una relación significativa ($p < 0,05$) con las variables área tumoral basal y la erosión basal. Por tanto los tumores de menor tamaño y los tumores sin erosión antes del tratamiento eran los que con mayor probabilidad tenían curación completa a los 18 meses postratamiento.

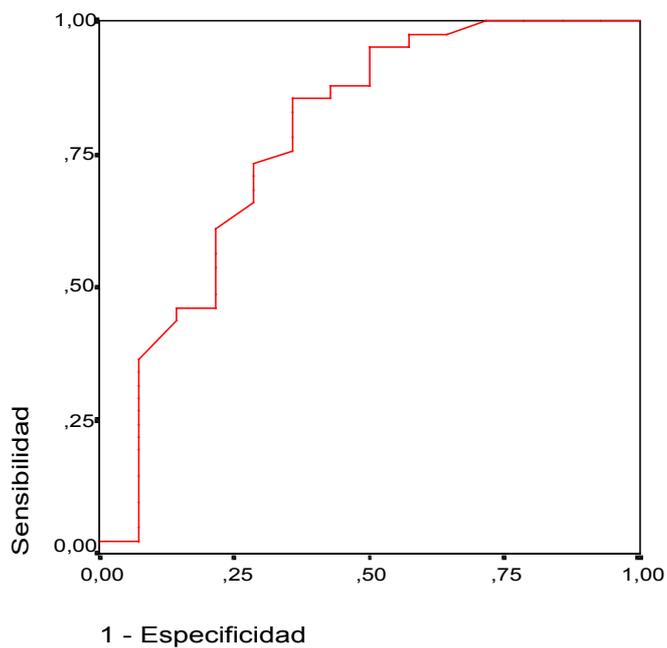
Se detectaron tendencias estadísticas entre las variables curación completa y las variables edad, índice proliferativo (ki-67) del CBC previa al tratamiento y expresión de bcl-2 del CBC previa al tratamiento. Por tanto los CBC de pacientes jóvenes, con expresión elevada de ki-67 del CBC y bcl-2 previa al tratamiento tenían más opciones de curación.

El análisis bivariante no mostró diferencias ni tendencias estadísticas entre las variables curación y sexo, histología del CBC (no infiltrantes o infiltrantes), grupos (A, B, C y D), posología (3 d/sem o 5 d/sem), fototipo, localización, expresión de p53 del CBC previa al tratamiento e índice apoptótico del CBC previo al tratamiento, eritema al final del tratamiento, área de eritema al final del tratamiento, cociente AE/AT, erosión al final del tratamiento, pústulas al final del tratamiento, acontecimientos adversos y cumplimiento.

El análisis multivariante (regresión logística) demostró que las 3 variables más significativas con la curación completa 18 meses postratamiento eran el área tumoral basal, la erosión basal y el índice proliferativo (ki-67) del CBC previa al tratamiento. En el primero paso hacia delante (método forward) se encontró que la variable erosión basal era una variable dependiente del área tumoral basal: los tumores de menor tamaño tenían menos erosión que los CBC más grandes. Sólo las variables área tumoral basal y índice proliferativo (ki-67) del CBC previo al tratamiento eran factores independientes y pronósticos de curación. Por tanto, los CBC de nuestro estudio de menor tamaño basal y mayor índice proliferativo (ki-67) fueron los que se curaron con más frecuencia. La curva ROC (recessive operative curve) entre las variables área tumoral (AT) basal y curación demostró que la AT basal con mayor sensibilidad y especificidad era de 90 mm²: sensibilidad del 73% y especificidad del 71%. La sensibilidad del 73% significa que el 73% de los CBC curados tenían una AT basal inferior a 90 mm², y que un 27% de los CBC curados tenían una AT basal superior a 90 mm². La especificidad del 71% significa que el 71% de los CBC no curados tenían una AT basal superior a 90 mm², y que el 29% de los

CBC no curados tenían una AT basal inferior a 90 mm². La AT basal de 90 mm² tenía un valor predictivo positivo del 87% y un valor predictivo negativo del 60%, con un rendimiento global del 80% (44 entre 55).

Gráfica 24. Curva ROC de la variable área tumoral basal en relación a curación



Estudio del infiltrado inflamatorio peritumoral

Las variables células totales, células CD3+ totales, porcentaje de células CD3+, células CD8+ totales, células CD20+ totales, porcentaje de células CD20+, células CD68+ totales, células grancima B + totales y células S-100+ mostraron aumentos significativos ($p < 0,05$) durante el tratamiento. Las variables porcentaje de células CD8+, porcentaje de células CD68+, células CD56+ totales, porcentaje de células CD56+, porcentaje de células grancima B+, porcentaje de células S-100+ y la relación CD4/CD8 se modificaron con el tratamiento pero sin mostrar diferencias significativas.

La variable células totales mostró una correlación positiva ($r > 1$) significativa ($p < 0,05$) con las variables células CD3+ totales, células CD8+ totales, células CD20+ totales, células CD68+ totales, células grancima B + totales, células S-100+ totales y índice apoptótico (células Tunel+). La variable células totales mostró una correlación negativa ($r < 1$) significativa ($p < 0,05$) con la expresión de bcl-2 del CBC. El índice apoptótico mostró una correlación positiva ($r > 1$) significativa ($p < 0,05$) con la variable células totales, y una correlación negativa ($r < 1$) significativa ($p < 0,05$) con la expresión de bcl-2 del CBC. La expresión de bcl-2 del CBC mostró una correlación negativa ($r < 1$) significativa ($p < 0,05$) con las variables células totales, índice apoptótico y células grancima B+ totales. La expresión de p53 del CBC y el índice proliferativo (ki-67) del CBC no mostraron correlación significativa con ninguna de las variables estudiadas.

7. RESULTADOS ESTUDIO RANDOMIZADO CON 30 CBC

7.1. Resultados basales

Entre Septiembre de 2001 y Febrero de 2002 se seleccionaron 39 pacientes para la visita de selección, pero 9 (30%) fueron excluidos del estudio por presentar alguno de los criterios de exclusión del mismo: 7 pacientes no mostraron CBC en la biopsia y 2 pacientes fueron descartados por no ofrecer garantías de realizar bien el estudio. Se incluyeron un total de 30 casos de CBC en 30 pacientes diferentes. Había 21 CBC en hombres (70%) y 9 en mujeres (30%). La edad media de los pacientes era de 71 años (S:10,4). El fototipo de los pacientes era III en 17 casos (56%) , II en 10 (33%) y IV en 3 (10%). El CBC se localizaba en la cabeza en 20 casos (66%), el tronco en 8 (26%) y las extremidades en 2 (6%). El tamaño medio de los CBC era de 113,4 mm² (S:85,6). Ningún CBC mostró eritema ni pústulas, pero 12 CBC (40%) mostraban erosión o ulceración. Había 3 CBC de patrón histológico nodular (10%) y 2 de superficial (7%), que sumados eran 5 CBC no infiltrantes (16%). Los otros 25 CBC eran infiltrantes (83%). La expresión de p53 del CBC era de 34,9% (S:35,6%); el índice proliferativo (ki-67) del CBC era de 38,2% (S:18%); la expresión de bcl-2 del CBC era de 83,5% (S:22,6%); y el índice apoptótico del CBC era de 0,59% (S:0,29%).

Grupo Im

24 pacientes. 12 se trataron 3 noches por semana y 12 se trataron 5 noches por semana. Había 19 hombres (79%) y 5 mujeres (20%). La edad media de los pacientes era de 71,2 años (S:10,6). El fototipo de los pacientes era III en 13 casos (54%) , II en 8 (33%) y IV en 3 (12%). El CBC se localizaba en la cabeza en 16 casos (66%), el tronco 6 en (25%) y las extremidades en 2 (8%). El tamaño medio de los CBC era de 121,3 mm² (S:93,6). Había 10 CBC (42%) con erosión o ulceración. El patrón histológico del CBC era infiltrante en 22 casos (91%) y no infiltrante en 2 (8%): nodular en 1 caso (4%) y superficial en otro (4%). La expresión de p53 del CBC era de 38,1% (S:37,1%); el índice proliferativo (ki-67) del CBC era de 39,7% (S:18,3%); la expresión de bcl-2 del

CBC era de 83,9% (S:21,7%); y el índice apoptótico del CBC era de 0,58% (S:0,31%).

Grupo Im 3 noches por semana

12 pacientes, 8 hombres (66%) y 4 mujeres (33%). La edad media de los pacientes era de 70,8 años (S:7,7). El fototipo de los pacientes era III en 5 casos (41%) , II en 6 (50%) y IV en 1 (8%). El tamaño medio de los CBC era de 137,2 mm² (S:119,8). La localización del CBC era la cabeza en 8 casos (66%), el tronco en 3 (25%) y las extremidades en 1 (8%). Había 6 CBC (50%) con erosión o ulceración. El patrón histológico del CBC era infiltrante en 11 casos (91%) y nodular en 1 (8%). La expresión de p53 del CBC era de 30,4% (S:35,5%); el índice proliferativo (ki-67) del CBC era de 35,8% (S:17%); la expresión de bcl-2 del CBC era de 81% (S:20,6%); y el índice apoptótico del CBC era de 0,63% (S:0,42%).

Grupo Im 5 noches por semana

12 pacientes, 11 hombres (91%) y 1 mujer (8%). La edad media de los pacientes era de 71,5 años (S:13,2). El fototipo de los pacientes era III en 8 casos (66%) , II en 2 (16%) y IV en 2 (16%). El tamaño medio de los CBC era de 105,5 mm² (S:58,5). La localización del CBC era la cabeza en 8 casos (66%), el tronco 3 en (25%) y las extremidades en 1 (8%). Había 4 CBC (33%) con erosión o ulceración. El patrón histológico del CBC era infiltrante en 11 casos (91%) y superficial en 1 (8%). El patrón histológico del CBC era infiltrante en 11 casos (91%) y no nodular en 1 (8%). La expresión de p53 del CBC era de 45,7% (S:38,6%); el índice proliferativo (ki-67) del CBC era de 43,6% (S:19,4%); la expresión de bcl-2 del CBC era de 86,8% (S:23,2%); y el índice apoptótico del CBC era de 0,54% (S:0,15%).

Grupo Ex

6 pacientes. 3 se trataron 3 noches por semana y 3 se trataron 5 noches por semana. Había 2 hombres (33%) y 4 mujeres (66%). La edad media de los pacientes era de 73,6 años (S:10,4). El fototipo de los pacientes era III en 4 casos (66%) y II en 2 (33%). El tamaño medio de los CBC era de 81,8 mm² (S:27,5). La localización del CBC era la cabeza en 4 casos (66%) y el tronco en

2 (33%). Había 2 CBC (33%) con erosión o ulceración. El patrón histológico del CBC era infiltrante en 3 casos (50%) y no infiltrante en 3 (50%): nodular en 2 casos (33%) y superficial en 1 (16%). El patrón histológico del CBC era infiltrante en 11 casos (91%) y no nodular en 1 (8%). La expresión de p53 del CBC era de 22,3% (S:28,2%); el índice proliferativo (ki-67) del CBC era de 32,1% (S:17%); la expresión de bcl-2 del CBC era de 82,3% (S:28,3%); y el índice apoptótico del CBC era de 0,6% (S:0,2%).

Tabla 28. Resultados basales de los grupos Im 3d/s y Im 5d/s

	Im 3 d/sem		Im 5 d/sem		Total Im	
	No X	% o S	No X	% o S	No X	% o S
Pacientes	12	50%	12	50%	24	100%
Hombres	8	67%	11	92%	19	79%
Mujeres	4	33%	1	8%	5	21%
Edad media	70,8	7,7	71,5	13,2	71,2	10,6
Fototipo II	6	50%	2	17%	8	33%
Fototipo III	5	42%	8	67%	13	54%
Fototipo IV	1	8%	2	17%	3	13%
3 v/sem	12	100%	0		12	50%
5 v/sem	0		12	100%	12	50%
Cabeza	8	67%	8	67%	16	67%
Tronco	3	25%	3	25%	6	25%
Extremidades	1	8%	1	8%	2	8%
Área CBC mm2	137,2	119,8	105,5	58,5	121,3	93,6
Eritema	0		0		0	
Erosión	6	50%	4	33%	10	42%
Pústulas	0		0		0	
CBC	12	50%	12	50%	24	100%
Superficial	0		1	8%	1	4%
Nodular	1	8%	0		1	4%
No infiltrante	1	8%	1	8%	2	8%
Infiltrante	11	92%	11	92%	22	92%
% Cel CBC +	12	50%	12	50%	24	100%
p53	30,4%	35,5%	45,7%	38,6%	38,1%	37,1%
ki-67	35,8%	17%	43,6%	19,4%	39,7%	18,3%
bcl-2	81%	20,6%	86,8%	23,2%	83,9%	21,7%
Apoptosis	0,63%	0,42%	0,54%	0,15%	0,58%	0,31%

Tabla 29. Resultados basales de los grupos Imiquimod y Excipiente

	Imiquimod		Excipiente		Total	
	N o X	% o S	N o X	% o S	N o X	% o S
Pacientes	24	80%	6	20%	30	100%
Hombres	19	79%	2	33%	21	70%
Mujeres	5	21%	4	67%	9	30%
Edad media	71,2	10,6	73,6	10,4	71,0	10,4
Fototipo II	8	33%	2	33%	10	33%
Fototipo III	13	54%	4	67%	17	57%
Fototipo IV	3	13%	0		3	10%
3 v/sem	12	50%	3	50%	15	50%
5 v/sem	12	50%	3	50%	15	50%
Cabeza	16	67%	4	67%	20	67%
Tronco	6	25%	2	33%	8	27%
Extremidades	2	8%	0		2	7%
Área CBC mm2	121,3	93,6	81,8	27,5	113,4	85,6
Eritema	0		0		0	
Erosión	10	42%	2	33%	12	40%
Pústulas	0		0		0	
CBC	24	80%	6	20%	30	100%
Superficial	1	4%	1	17%	2	7%
Nodular	1	4%	2	33%	3	10%
No infiltrante	2	8%	3	50%	5	17%
Infiltrante	22	92%	3	50%	25	83%
% Cel CBC +	24	80%	6	20%	30	100%
p53	38,1%	37,1%	22,3%	28,2%	34,9%	35,6%
ki-67	39,7%	18,3%	32,1%	17%	38,2%	18%
bcl-2	83,9%	21,7%	82,3%	28,3%	83,6%	22,6%
Apoptosis	0,58%	0,31%	0,60%	0,20%	0,59%	0,29%

7.2. Resultados durante el tratamiento

Grupo Im

24 pacientes mostraron CBC en las biopsias pretratamiento y del día 8. Si comparamos los resultados de las inmunotinciones obtenemos que la expresión de p53 del CBC pasó de 38,0% (S: 37,0%) pretto a 28,4% (S: 30,1%) el día 8; el índice proliferativo (ki-67) del CBC pasó de 39,7% (S:18,2%) pretto a 37,7% (S: 20,2%) el día 8; la expresión de bcl-2 del CBC pasó de 83,8% (S: 21,6%) pretto a 68,7% (S: 33,6%) el día 8 ($p<0.05$); y el índice apoptótico del CBC pasó de 0,58% (S: 0,31%) pretto a 1,00% (S: 0,69%) el día 8 ($p<0.05$).

Grupo Im 3 noches por semana

12 pacientes mostraron CBC en las biopsias pretratamiento y del día 8. La expresión de p53 del CBC pasó de 30,4% (S: 35,5%) pretto a 22,2% (S: 30,1%) el día 8; el índice proliferativo (ki-67) del CBC pasó de 35,8% (S:17%) pretto a 29,5% (S: 13,8%) el día 8; la expresión de bcl-2 del CBC pasó de 81% (S: 20,6%) pretto a 71,8% (S: 31,1%) el día 8; y el índice apoptótico del CBC pasó de 0,63% (S: 0,42%) pretto a 0,99% (S: 0,72%) el día 8.

Grupo Im 5 noches por semana

12 pacientes mostraron CBC en las biopsias pretratamiento y del día 8. La expresión de p53 del CBC pasó de 45,7% (S: 38,6%) pretto a 34,6% (S: 30,1%) el día 8; el índice proliferativo (ki-67) del CBC pasó de 43,6% (S:19,4%) pretto a 46% (S: 22,8%) el día 8; la expresión de bcl-2 del CBC pasó de 83,8% (S: 86,8%) pretto a 65,8% (S: 37,3%) el día 8; y el índice apoptótico del CBC pasó de 0,54% (S: 0,15%) pretto a 1,03% (S:0,7%) el día 8.

Grupo Ex

6 pacientes mostraron CBC en las biopsias pretratamiento y del día 8. La expresión de p53 del CBC pasó de 22,2% (S: 28,2%) pretto a 15,5% (S: 18,2%) en el día 8; el índice proliferativo (ki-67) del CBC pasó de 32,0% (S:16,9%) a 43,1% (S: 21,1%) el día 8; la expresión de bcl-2 del CBC pasó de 82,3% (S: 28,3%) pretto a 82,8% (S: 29,2%) el día 8; y el índice apoptótico del CBC pasó de 0,59% (S: 0,20%) pretto a 0,58% (S: 0,20%) el día 8.

Tabla 30. Resultados durante el tratamiento del grupo Im

	Día 0		Día 8		P
	N o X	S	N o X	S	
% Cel CBC +	24		24		
p53	38%	37%	28,4%	30,1%	0,054
ki-67	39,7%	18,2%	37,7%	20,2%	0,4
bcl-2	83,8%	21,6%	68,7%	33,6%	0,01
Apoptosis	0,58%	0,31%	1,01%	0,69%	0,006

Tabla 31. Resultados durante el tratamiento del grupo Im 3 d/sem

	Día 0		Día 8		P
	N o X	S	N o X	S	
% Cel CBC +	12		12		
p53	30,4%	35,5%	22,2%	30,1%	0,06
ki-67	35,8%	17%	29,5%	13,8%	0,04
bcl-2	81%	20,6%	71,8%	31,1%	0,1
Apoptosis	0,63%	0,42%	0,99%	0,72%	0,09

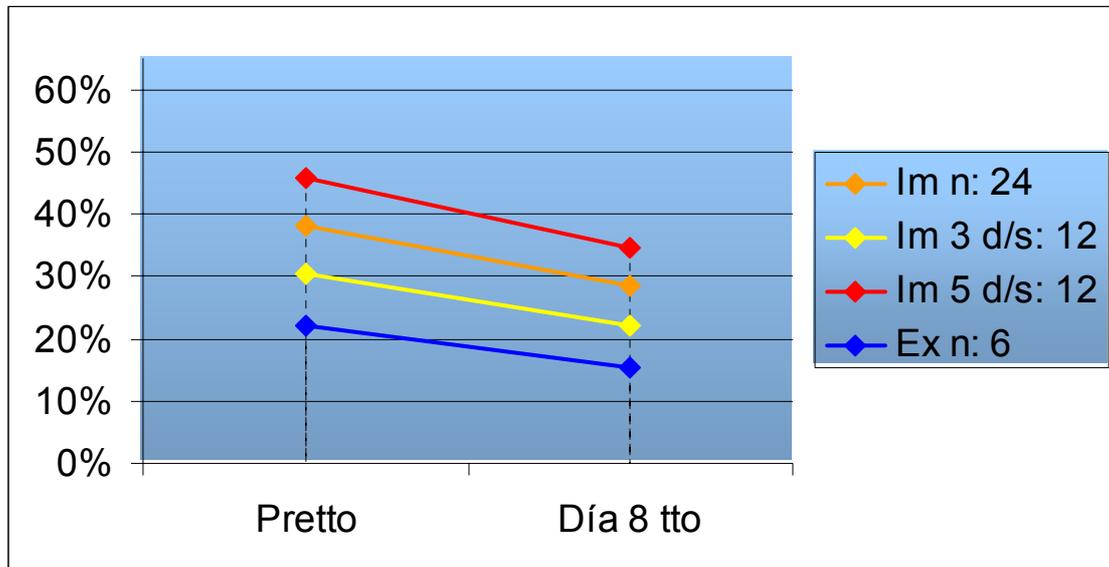
Tabla 32. Resultados durante el tratamiento del grupo Im 5 d/sem

	Día 0		Día 8		P
	N o X	S	N o X	S	
% Cel CBC +	12		12		
p53	45,7%	38,6%	34,6%	30,1%	0,2
ki-67	43,6%	19,4%	46%	22,8%	0,6
bcl-2	86,8%	23,2%	65,8%	37,3%	0,04
Apoptosis	0,54%	0,15%	1,03%	0,7%	0,03

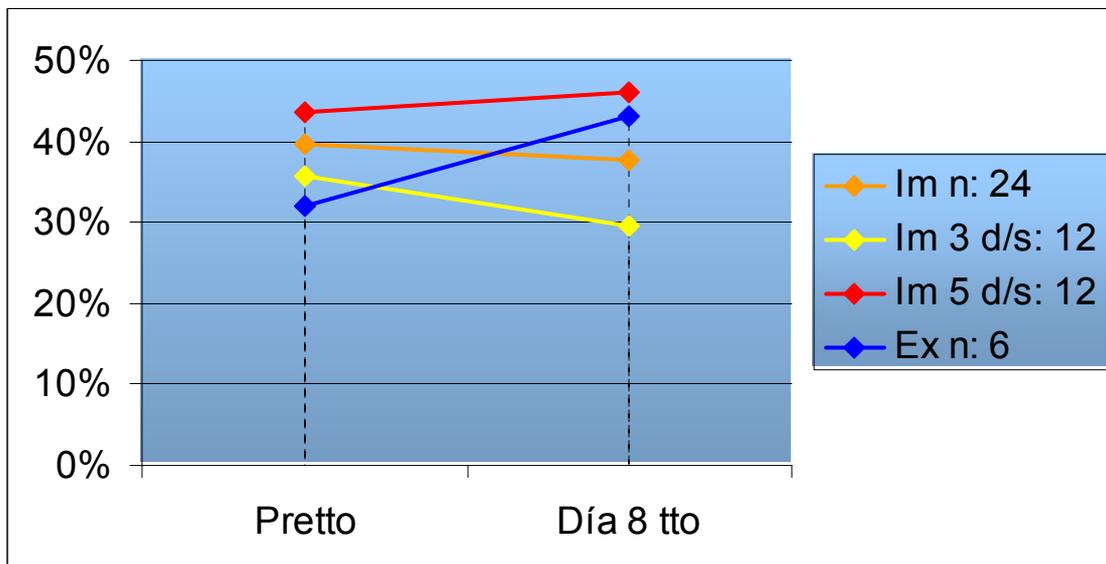
Tabla 33. Resultados durante el tratamiento del grupo Excipiente

	Día 0		Día 8		P
	N o X	S	N o X	S	
% Cel CBC +	6		6		
p53	22,2%	28,2%	15,5%	18,2%	0,2
ki-67	32%	16,9%	43,1%	21,1%	0,4
bcl-2	82,3%	28,3%	82,8%	29,2%	0,6
Apoptosis	0,59%	0,2%	0,58%	0,2%	0,9

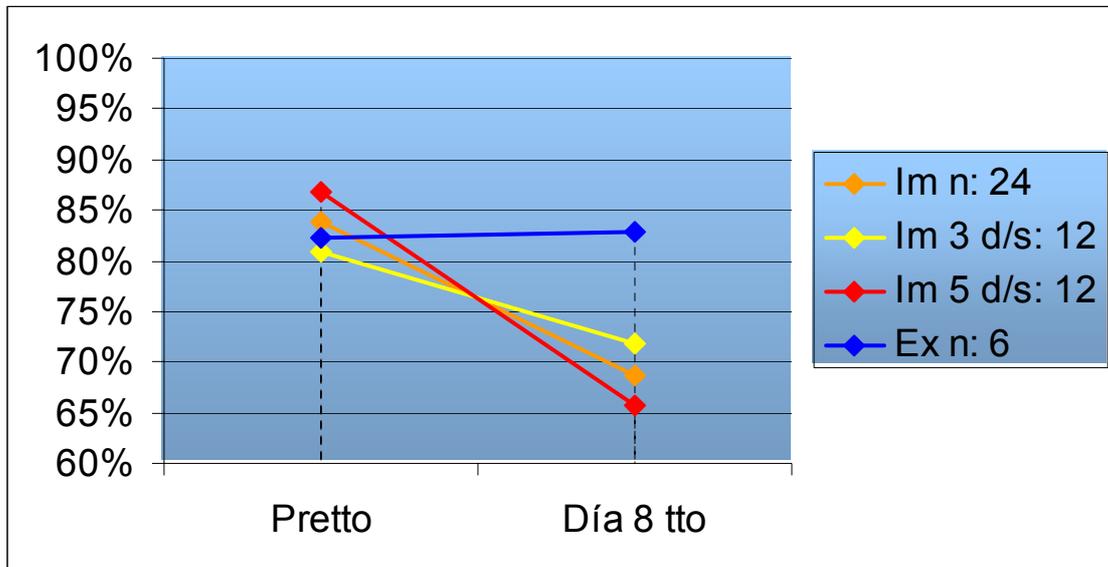
Gráfica 25. Expresión de p53 del CBC



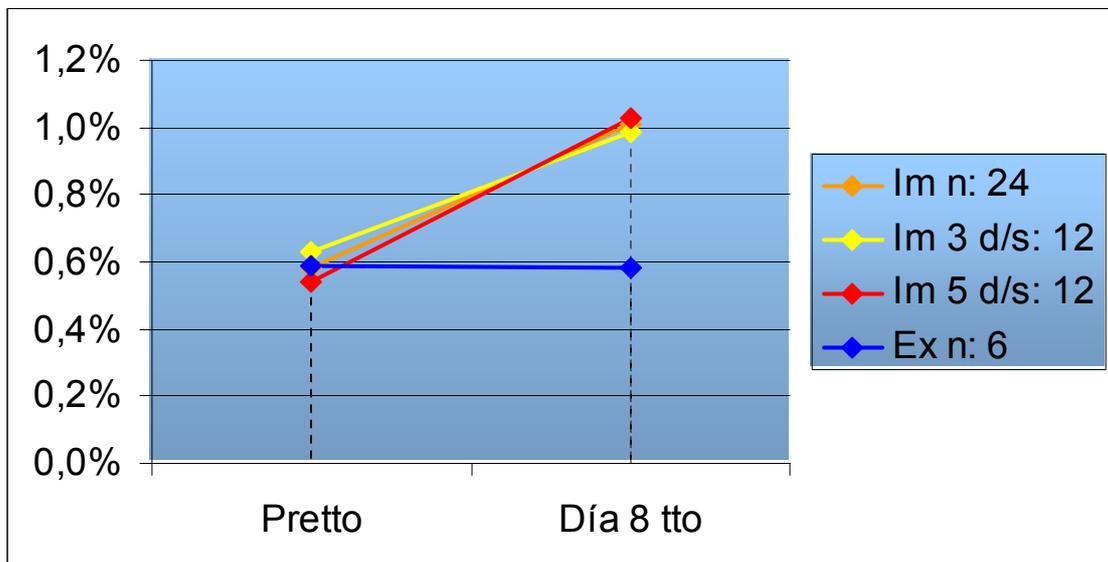
Gráfica 26. Índice proliferativo (ki-67) del CBC



Gráfica 27. Expresión de bcl-2 del CBC



Gráfica 28. Índice apoptótico del CBC



7.3. Resultados al final del tratamiento

Se realizó una biopsia a los 15 días de tratamiento a todos los pacientes, pero sólo 18 biopsias mostraron CBC (17 CBC infiltrantes y 1 superficial) y correspondían a 15 pacientes del grupo Im y 3 pacientes del grupo Ex.

Las 12 biopsias del día 15 que no mostraron evidencia de CBC correspondían a 9 pacientes del grupo Im y 3 pacientes del grupo Ex.

Grupo Im

15 pacientes mostraron CBC en las biopsias pretratamiento, del día 8. y del día 15. Si comparamos los resultados de las inmunotinciones obtenemos que la expresión de p53 del CBC pasó de 45,1% (S: 41,7%) pretto a 32,1% (S: 34,3%) el día 8 y a 31,9% (S: 31,3%) el día 15; el índice proliferativo (ki-67) del CBC pasó de 38,9% (S:17,2%) a 33,0% (S:17,0%) el día 8 y a 33,8% (S: 15,3%) el día 15; la expresión de bcl-2 del CBC pasó de 88,7% (S: 15,1%) pretto a 72,1% (S: 32,7%) el día 8 y a 61,4% (S: 33,5%) el día 15 ($p<0.05$); y el índice apoptótico del CBC pasó de 0,53% (S: 0,13%) pretto a 0,92% (S: 0,66%) el día 8 y a 1,66% (S: 1,05%) el día 15 ($p<0.05$).

Grupo Im 3 días por semana

8 pacientes mostraron CBC en las biopsias pretratamiento, del día 8. y del día 15. La expresión de p53 del CBC pasó de 31,8% (S: 38,8%) pretto a 24,6% (S: 34,5%) el día 8 y a 24,3% (S: 34,1%) el día 15; el índice proliferativo (ki-67) del CBC pasó de 37,5% (S:17,8%) a 29,1% (S:14,4%) el día 8 y a 33% (S:18,3%) el día 15; la expresión de bcl-2 del CBC pasó de 84,6% (S:19,7%) pretto a 77,2% (S:30%) el día 8 y a 74,3% (S:27,8%) el día 15 ; y el índice apoptótico del CBC pasó de 0,51% (S: 0,04%) pretto a 0,86% (S: 0,68%) el día 8 y a 1,77% (S: 1,23%) el día 15.

Grupo Im 5 días por semana

7 pacientes mostraron CBC en las biopsias pretratamiento, del día 8. y del día 15. La expresión de p53 del CBC pasó de 60,3% (S: 42,4%) pretto a 40,8% (S: 34,7%) el día 8 y a 40,7% (S: 27,6%) el día 15; el índice proliferativo (ki-67) del CBC pasó de 40,6% (S:17,9%) a 37,5% (S:19,9%) el día 8 y a 34,7% (S:

12,7%) el día 15; la expresión de bcl-2 del CBC pasó de 93,5% (S: 5,7%) pretto a 66,4% (S: 37,1%) el día 8 y a 46,9% (S: 35,5%) el día 15; y el índice apoptótico del CBC pasó de 0,57% (S: 0,19%) pretto a 0,99% (S: 0,69%) el día 8 y a 1,54% (S: 0,9%) el día 15.

Grupo Ex

3 pacientes mostraron CBC en las biopsias pretratamiento, del día 8. y del día 15. La expresión de p53 del CBC pasó de 27,8% (S: 43,5%) pretto a 19,5% (S: 26,5%) en el día 8 y a 24,7% (S: 33,0%) el día 15; el índice proliferativo (ki-67) del CBC pasó de 31,2% (S: 18,2%) pretto a 45,0% (S: 22,5%) el día 8 y a 36,0% (S: 12,0%) el día 15; la expresión de bcl-2 del CBC pasó de 65,6% (S:34,1%) pretto a 67,0% (S: 37,3%) el día 8 y a 65,1% (S: 37,9%) el día 15; y el índice apoptótico del CBC pasó de 0,53% (S: 0,05%) pretto a 0,49% (S: 0,01%) el día 8 y a 0,49% (S: 0,01%) el día 15.

Tabla 34. Resultados del grupo Imiquimod

	Día 0		Día 8		Día 15	
	N o X	% o S	N o X	% o S	N o X	% o S
Pacientes	24		24		24	
Área CBC mm2	121,4	93,6				
Área eritema mm2	0		144,5	112,2	202,6	187,6
AE/AT	0		1,2		1,7	
Eritema	0		15	63%	20	83%
Erosión	10	42%	15	63%	18	75%
Pústulas	0		0		0	
A. adversos			0		0	
Cumplimiento			100%		100%	
Bx con CBC	24		24		15	63%
Superficial	1	4%	1	4%	0	
Nodular	1	4%	1	4%	0	
Infiltrante	22	92%	22	92%	15	100%
% Cel CBC +	24		24		15	
p53	38,1%	37,1%	28,4%	30,1%	32%	31,3%
ki-67	39,7%	18,3%	37,7%	20,3%	33,8%	15,4%
bcl-2	83,9%	21,7%	68,8%	33,7%	61,5%	33,5%
Apoptosis	0,58%	0,31%	1,01%	0,70%	1,66%	1,06%

Tabla 35. Resultados del grupo Imiquimod 3 días/semana

	Día 0		Día 8		Día 15	
	N o X	% o S	N o X	% o S	N o X	% o S
Pacientes	12		12		12	
área BCC mm2	137,2	119,8				
Área eritema mm2	0		162,4	140,3	247,8	246,6
AE/AT	0		1,2		1,8	
Eritema	0		5	42%	9	75%
Erosión	6	50%	6	50%	6	50%
Pústulas	0		0		0	
A. adversos	0		0		0	
Cumplimiento	0		100%		100%	
Bx con CBC	12		12		8	67%
Superficial	0		0		0	
Nodular	1	8%	1	8%	0	
Infiltrante	11	92%	11	92%	8	100%
% Cel CBC +	12		12		8	
p53	30,4%	35,5%	22,2%	30,1%	24,3%	34,1%
ki-67	35,8%	17%	29,5%	13,8%	33%	18,3%
bcl-2	81%	20,6%	71,8%	31,1%	74,3%	27,8%
Apoptosis	0,63%	0,42%	0,99%	0,72%	1,77%	1,23%

Tabla 36. Resultados del grupo Imiquimod 5 días/semana

	Día 0		Día 8		Día 15	
	N o X	% o S	N o X	% o S	N o X	% o S
Pacientes	12		12		12	
área BCC mm2	105,5	58,5				
Área eritema mm2	0		126,6	77,1	157,5	91,5
AE/AT	0		1,2		1,5	
Eritema	0		10	83%	11	92%
Erosión	4	33%	9	75%	12	100%
Pústulas	0		0		0	
A. adversos	0		0		0	
Cumplimiento	0		100%		100%	
Bx con CBC	12		12		7	58%
Superficial	1	8%	1	8%	0	
Nodular	0		0		0	
Infiltrante	11	92%	11	92%	7	100%
% Cel CBC +	12		12		7	
p53	45,7%	38,6%	34,6%	30,1%	40,7%	27,6%
ki-67	43,6%	19,4%	46%	22,8%	34,7%	12,7%
bcl-2	86,8%	23,2%	65,8%	37,3%	46,9%	35,5%
Apoptosis	0,54%	0,15%	1,03%	0,7%	1,54%	0,9%

Tabla 37. Resultados del grupo Excipiente

	Día 0		Día 8		Día 15	
	N o X	% o S	N o X	% o S	N o X	% o S
Pacientes	6		6		6	
Área CBC mm2	81,8	27,5	80,5	26,5		
Área eritema mm2	0		0		82,1	27,8
AE/AT	0		0		1	
Eritema	0		0		2	33%
Erosión	2	33%	2	33%	3	50%
Pústulas	0		0		0	
A. adversos			0		0	
Cumplimiento			100%		100%	
Bx con CBC	6		6		3	
Superficial	1	17%	1	17%	1	33%
Nodular	2	33%	2	33%	0	
Infiltrante	3	50%	3	50%	2	67%
% Cel CBC +	6		6		3	
p53	22,3%	28,2%	15,5%	18,3%	24,8%	33%
ki-67	32,1%	17%	43,1%	21,2%	36,1%	12,1%
bcl-2	82,3%	28,3%	82,9%	29,3%	65,1%	37,9%
Apoptosis	0,60%	0,20%	0,58%	0,20%	0,50%	0,01%

Tabla 38. Resultados del grupo Imiquimod

	Día 0		Día 8		Día 15		P
	No X	S	No X	S	No X	S	
% Cel CBC +	15		15		15		
p53	45,1%	41,7%	32,1%	34,3%	31,9%	31,3%	0,1
ki-67	38,9%	17,2%	33%	17%	33,8%	15,3%	0,2
bcl-2	88,7%	15,1%	72,1%	32,7%	61,4%	33,5%	0,01
Apoptosis	0,53%	0,13%	0,92%	0,66%	1,66%	1,05%	0,002

Tabla 39. Resultados del grupo Im 3 días/semana

	Día 0		Día 8		Día 15		P
	No X	S	No X	S	No X	S	
% Cel CBC +	8		8		8		
p53	31,8%	38,8%	24,6%	34,5%	24,3%	34,1%	0,4
ki-67	37,5%	17,8%	29,1%	14,4%	33%	18,3%	0,3
bcl-2	84,6%	19,7%	77,2%	30%	74,3%	27,8%	0,3
Apoptosis	0,51%	0,04%	0,86%	0,68%	1,77%	1,23%	0,03

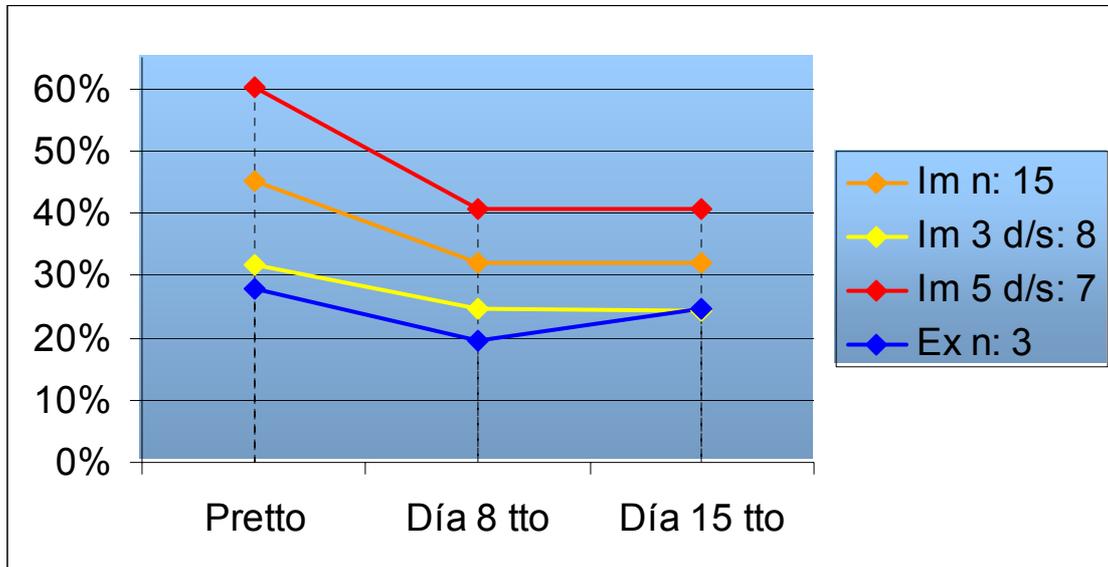
Tabla 40. Resultados del grupo Im 5 días/semana

	Día 0		Día 8		Día 15		P
	No X	S	No X	S	No X	S	
% Cel CBC +	7		7		7		
p53	60,3%	42,4%	40,8%	34,7%	40,7%	27,6%	0,2
ki-67	40,6%	17,9%	37,5%	19,9%	34,7%	12,7%	0,3
bcl-2	93,5%	5,7%	66,4%	37,1%	46,9%	35,5%	0,03
Apoptosis	0,57%	0,19%	0,99%	0,69%	1,54%	0,90%	0,05

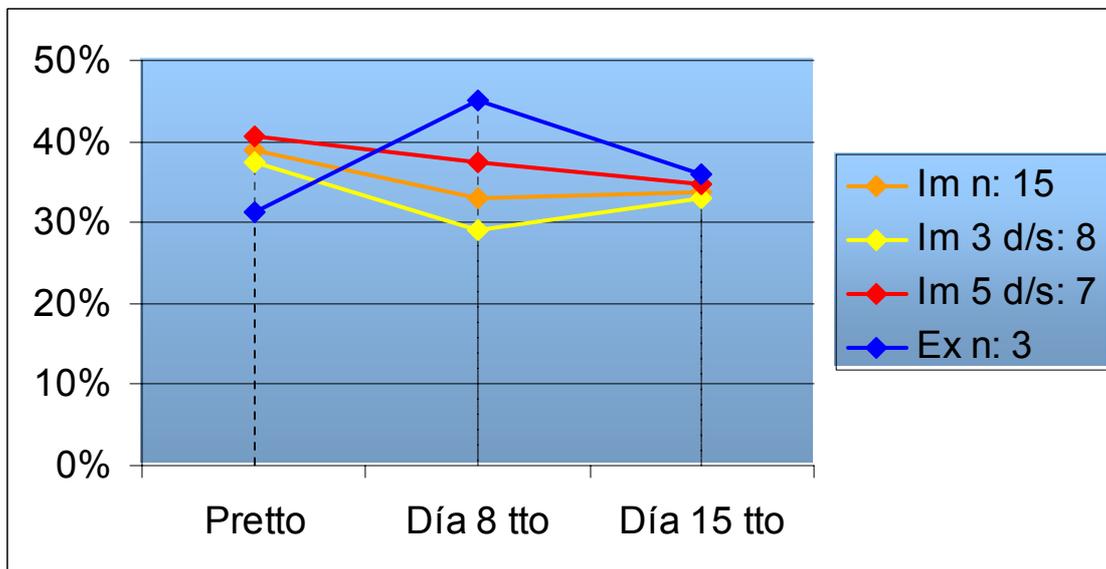
Tabla 41. Resultados del grupo Excipiente

	Día 0		Día 8		Día 15		P
	No X	S	No X	S	No X	S	
% Cel CBC +	3		3		3		
p53	27,8%	43,5%	19,5%	26,5%	24,7%	33%	0,4
ki-67	31,2%	18,2%	45%	22,5%	36,0%	12%	0,7
bcl-2	65,6%	34,1%	67%	37,3%	65,1%	37,9%	0,7
Apoptosis	0,53%	0,05%	0,49%	0,01%	0,49%	0,01%	0,4

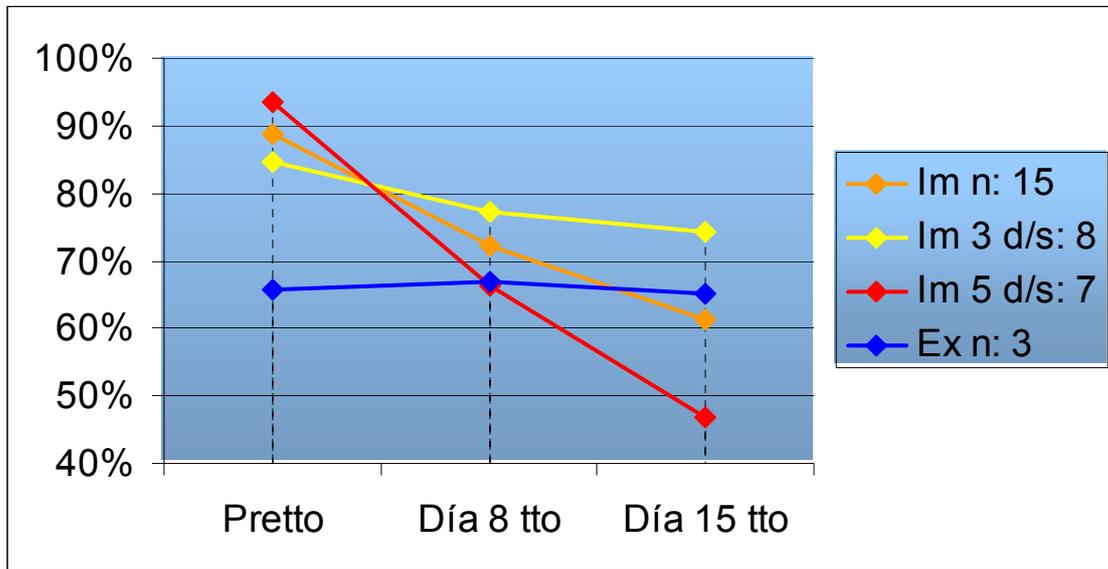
Gráfica 29. Expresión de p53 del CBC



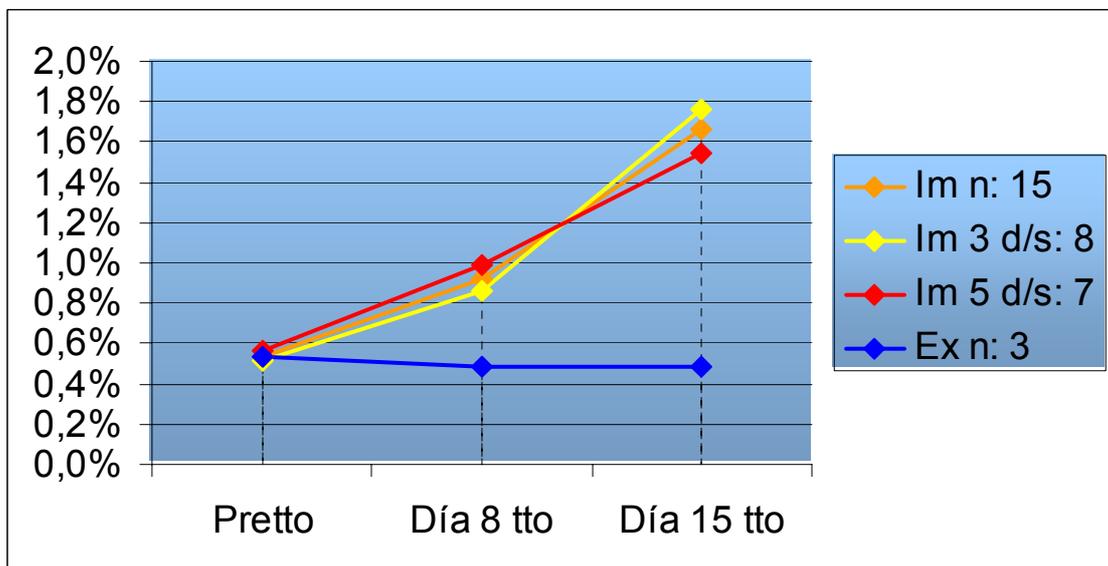
Gráfica 30. Índice proliferativo (ki-67) del CBC



Gráfica 31. Expresión de bcl-2 del CBC



Gráfica 32. Índice apoptótico del CBC



7.4. Ecografía cutánea y densidad del infiltrado inflamatorio

Resultados basales

Entre los 30 CBC del estudio se seleccionaron 12 casos al azar. Había 12 pacientes, 7 hombres (58%) y 5 mujeres (42%). La edad media de los pacientes era de 71 años (S:14,1). El fototipo de los pacientes era III en 6 casos (50%) , II en 4 (33%) y IV en 2 (17%). El tamaño medio de los CBC era de 93,1 mm² (S:57,5). La localización del CBC era la cabeza en 7 casos (58%), el tronco en 4 (33%) y las extremidades en 1 (8%). Había 2 CBC (17%) con erosión o ulceración. El patrón histológico del CBC era infiltrante en 11 casos (92%) y superficial en 1 (8%). El grosor dérmico ecográfico medio era de 1,955 mm. (S: 0,478). El número medio de células inflamatorias por campo de 400 aumentos era de 498 (S:213)

En el grupo Im había 10 CBC, 7 hombres (70%) y 3 mujeres (30%). La edad media de los pacientes era de 68,6 años (S:13,7). El fototipo de los pacientes era III en 4 casos (40%) , II en 4 (40%) y IV en 2 (20%). Había 6 CBC en el grupo 3 días/sem y 4 CBC en el grupo 5 días/sem. El tamaño medio de los CBC era de 94,1 mm² (S:61,6). La localización del CBC era la cabeza en 5 casos (50%), el tronco en 4 (40%) y las extremidades en 1 (10%). Había 2 CBC (20%) con erosión o ulceración. El patrón histológico del CBC era infiltrante en 9 casos (90%) y superficial en 1 (10%). El grosor dérmico ecográfico medio era de 2,005 mm (S: 0,512). El número medio de células inflamatorias por campo de 400 aumentos era de 502 (S:234).

Los 6 CBC del grupo 3d/sem tenían un grosor dérmico ecográfico medio de 2,016 mm (S:0,462) y un número medio de células inflamatorias por campo de 400 aumentos de 567 (S:261). Los 4 CBC del grupo 3d/sem tenían un grosor dérmico ecográfico medio de 1,988 mm (S:0,657) y un número medio de células inflamatorias por campo de 400 aumentos de 404 (S:169).

Había 2 CBC en 2 mujeres del grupo Ex. La edad media de las pacientes era de 83 años (S:12,7), el fototipo era III y eran del grupo 5 días/sem. El tamaño medio de los CBC era de 87,9 mm² (S:46,6). La localización del CBC era la cabeza en los 2 casos, y no había erosión. El patrón histológico del CBC era infiltrante en los 2 casos. El grosor dérmico ecográfico medio era de 1,704 mm

(S: 0,039). El número medio de células inflamatorias por campo de 400 aumentos era de 475 (S:78)

Resultados del día 8 de tratamiento

En el grupo Im había eritema en 6 CBC (60%), erosión en 4 (40%), y el área media de eritema y de los CBC era de 105,5 mm² (S:67,9). El grosor dérmico ecográfico medio era de 2,461 mm (S: 0,951). El número medio de células inflamatorias por campo de 400 aumentos era de 1104 (S:203).

Los 6 CBC del grupo 3d/sem tenían un grosor dérmico ecográfico medio de 2,41 mm (S:0,91) y un número medio de células inflamatorias por campo de 400 aumentos de 1031 (S:234). Los 4 CBC del grupo 3d/sem tenían un grosor dérmico ecográfico medio de 2,537 mm (S:1,148) y un número medio de células inflamatorias por campo de 400 aumentos de 1213 (S:75).

En el grupo Ex no había eritema ni erosión, y el área media de los CBC era de 87,9 mm² (S:46,6). El grosor dérmico ecográfico medio era de 1,666 mm (S: 0,009). El número medio de células inflamatorias por campo de 400 aumentos era de 347 (S:136)

Resultados del día 15 de tratamiento

En el grupo Im había eritema en 7 CBC (70%), erosión en 6 (60%), y el área media de eritema y de los CBC era de 148,1 mm² (S:107,3). 5 biopsias (50%) no mostraron CBC en la biopsia. El grosor dérmico ecográfico medio era de 2,704 mm (S: 0,937). El número medio de células inflamatorias por campo de 400 aumentos era de 1246 (S:98).

Los 6 CBC del grupo 3d/sem tenían un grosor dérmico ecográfico medio de 2,666 mm (S:0,94) y un número medio de células inflamatorias por campo de 400 aumentos de 1220 (S:119). Los 4 CBC del grupo 3d/sem tenían un grosor dérmico ecográfico medio de 2,762 mm (S:1,073) y un número medio de células inflamatorias por campo de 400 aumentos de 1285 (S:37).

En el grupo Ex había eritema y erosión en 1 caso, y el área media de los CBC era de 87,9 mm² (S:46,6). 1 biopsia (50%) no mostró CBC en la biopsia. El grosor dérmico ecográfico medio era de 1,781 mm (S: 0,033). El número medio de células inflamatorias por campo de 400 aumentos era de 485 (S:78)

Tabla 42. Resultados basales del estudio ecográfico

Día 0	Imiquimod		Excipiente		Total	
	N o X	% o S	N o X	% o S	N o X	% o S
Pacientes	10	83%	2	100%	12	100%
Hombres	7	70%	0		7	58%
Mujeres	3	30%	2	100%	5	42%
Edad media	68,6	13,7	83	12,7	71	14,2
Fototipo II	4	40%	0		4	33%
Fototipo III	4	40%	2	100%	6	50%
Fototipo IV	2	20%	0		2	17%
3 v/sem	6	60%	0		6	50%
5 v/sem	4	40%	2	100%	6	50%
Cabeza	5	50%	2	100%	7	58%
Tronco	4	40%	0		4	33%
Extremidades	1	10%	0		1	8%
Área BCC mm2	94,1	61,6	88	46,6	93,1	57,5
Eritema	0		0		0	
Erosión	2	20%	0		2	17%
Pústulas	0		0		0	
Grosor ecográfico mm.	2,005	0,512	1,704	0,039	1,955	0,478
Nº células infl.	502	234	475	78	498	213
BCC	10	100%	2	100%	12	100%
Superficial	1	10%	0		1	8%
Nodular	0		0		0	
Infiltrante	9	90%	2	100%	11	92%
% Cel CBC +						
P53	27,3%	29%	9,6%	12,2%	24,3%	27,4%
Ki-67	37%	14,8%	38,2%	14,8%	37,2%	14,1%
bcl-2	85,3%	18,8%	95,2%	6,8%	86,9%	17,5%
Apoptosis	0,49%	0,2%	0,55%	0,07%	0,51%	0,03%

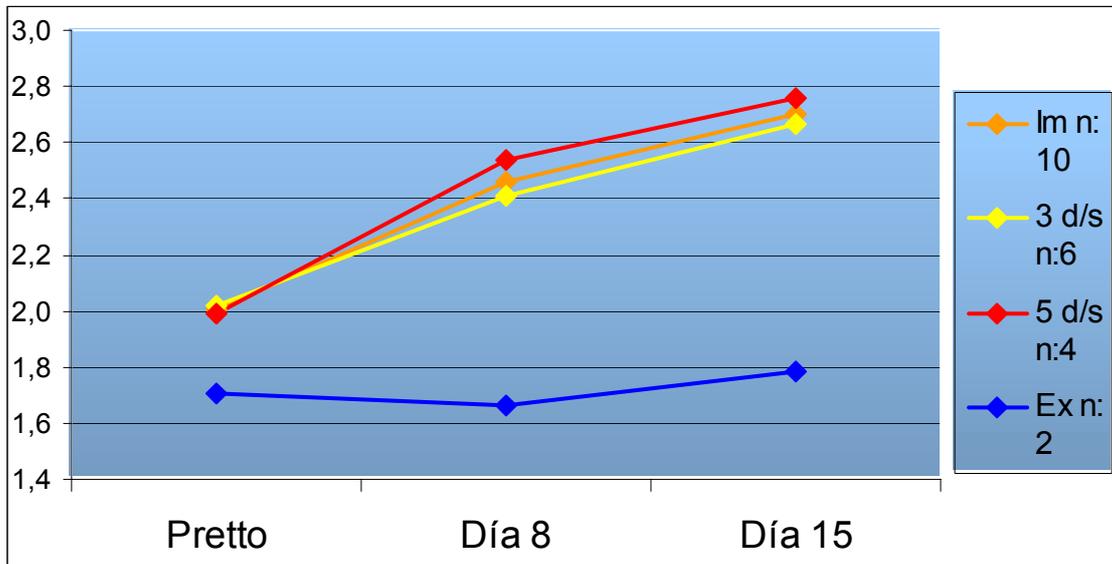
Tabla 43. Resultados del estudio ecográfico del grupo Im

	Día 0		Día 8		Día 15	
	N o X	% o S	N o X	% o S	N o X	% o S
Pacientes	10	100%	10	100%	10	100%
Área BCC mm2	94,1	61,6				
Área eritema mm2	0		105,5	67,9	148,1	107,3
AE/AT	0		1,1		1,6	
Eritema	0		6	60%	7	70%
Erosión	2	20%	4	40%	6	60%
Pústulas	0		0		0	
Grosor ecográfico mm.	2,005	0,512	2,461	0,951	2,704	0,937
Nº células infl.	502	234	1104	203	1246	98
Bx con CBC	10	100%	10	100%	5	50%
Superficial	1	10%	1	10%	0	
Nodular	0		0		0	
Infiltrante	9	90%	9	90%	5	100%
% Cel CBC +						
P53	27,3%	29%	22,2%	27,9%	31,8%	42,4%
ki-67	37%	14,8%	34,7%	23,5%	38,6%	14%
bcl-2	85,3%	18,8%	70,1%	33,6%	65,3%	29,4%
Apoptosis	0,49%	0,2%	1,23%	0,36%	2,05%	1,19%

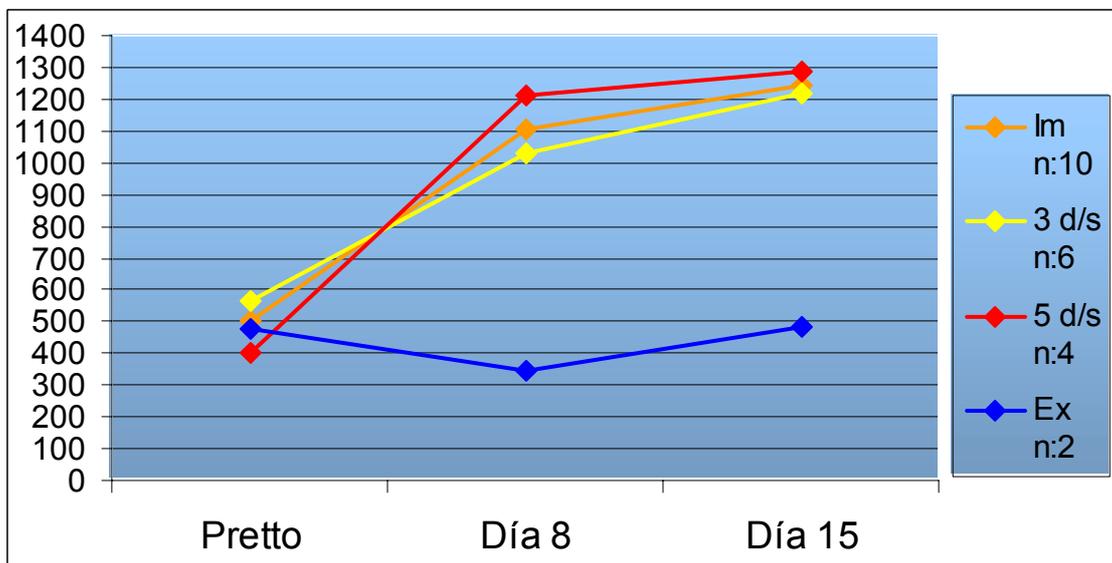
Tabla 44. Resultados del estudio ecográfico del grupo Ex

	Día 0		Día 8		Día 15	
	N o X	% o S	N o X	% o S	N o X	% o S
Pacientes	2	100%	2	100%	2	100%
Área BCC mm2	87,9	46,6	87,9	46,6		
Área eritema mm2	0				87,9	46,6
AE/AT	0		0		1	
Eritema	0		0		1	50%
Erosión	0		0		1	50%
Pústulas	0		0		0	
Grosor ecográfico mm.	1,704	0,039	1,666	0,009	1,781	0,033
Nº células infl.	475	78	347	136	485	78
Bx con CBC	2	100%	2	100%	1	50%
Superficial	0					
Nodular	0					
Infiltrante	2	100%	2	100%	1	100%
% Cel CBC +						
p53	9,6%	12,2%	11%	14,2%	10,6%	
ki-67	38,2%	14,8%	35,5%	35,4%	22,6%	
bcl-2	95,2%	6,8%	95%	5,7%	93,3%	
Apoptosis	0,55%	0,07%	0,64%	0,46%	0,5%	

Gráfica 33. Grosor dérmico ecográfico del CBC



Gráfica 34. Número de células del infiltrado inflamatorio por campo de 400 aumentos



7.5. Análisis estadístico

Día 0

Los grupos Im y Ex mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en los resultados de las variables histología del CBC y sexo. En el grupo Im el 92% de los casos eran CBC infiltrantes y había un 79% de hombres, mientras en el grupo Ex solo había un 50% de CBC infiltrantes y sólo un 33% de hombres. Los grupos Im y Ex no mostraron diferencias significativas en los resultados de las variables edad, localización, área tumoral, erosión, fototipo, grosor ecográfico, expresión de p53 y bcl-2 del CBC, índice proliferativo (ki-67) del CBC e índice apoptótico del CBC.

Día 8 de tratamiento

Los grupos Im y Ex mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en los resultados de las variables eritema, área de eritema, expresión de bcl-2 del CBC y índice apoptótico del CBC. En el grupo Im el 63% de los casos tenían eritema, el área de eritema era de 144,5 mm² y la relación AE/AT era de 1,2. En el grupo Ex ningún caso mostró eritema, el área de eritema era 0 y la relación AE/AT era de 0. En el grupo Im había un descenso de expresión de bcl-2 del CBC y un aumento del índice apoptótico del CBC, mientras en el grupo Ex casi no se modificaron.

El grupo Im 3 d/s mostró diferencias significativas en los resultados de la variable índice proliferativo (ki-67) del CBC. El grupo Im 5 d/s mostró diferencias significativas en los resultados de las variables expresión de bcl-2 del CBC y índice apoptótico del CBC.

Los grupos Im y Ex no mostraron diferencias significativas en los resultados de las variables erosión, grosor ecográfico, expresión de p53 del CBC y índice proliferativo (ki-67) del CBC.

Día 15 de tratamiento

Los grupos Im y Ex mostraron diferencias significativa ($p < 0,05$, análisis bivalente) en los resultados de las variables eritema, área de eritema, expresión de bcl-2 del CBC y índice apoptótico del CBC. En el grupo Im el 83% de los casos tenían eritema, el área de eritema era de 202,6 mm² y la

relación AE/AT era de 1,7. En el grupo Ex sólo el 33% de los casos mostró eritema, el área de eritema era de 82,1 y la relación AE/AT era de 1. En el grupo Im había un descenso de expresión de bcl-2 del CBC y un aumento del índice apoptótico del CBC, mientras en el grupo Ex casi no se modificaron. También se detectó una correlación inversa entre la expresión de bcl-2 del CBC y el índice apoptótico del CBC, pero la poca potencia del grupo (sólo 15 casos) no permitió encontrar significación estadística. Como más acusada era el descenso de la expresión de bcl-2 del CBC mayor era el aumento del índice apoptótico del CBC.

El grupo Im 3 d/s mostró diferencias significativas en los resultados de la variable índice apoptótico del CBC. El grupo Im 5 d/s mostró diferencias significativas en los resultados de las variables expresión de bcl-2 del CBC y índice apoptótico del CBC.

Los grupos Im y Ex no mostraron diferencias significativas en los resultados de las variables erosión, grosor ecográfico, expresión de p53 del CBC y índice proliferativo (ki-67) del CBC.

Estudio ecográfico y del infiltrado inflamatorio

Los grupos Im, Im 3 d/s, Im 5 d/s y Ex mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en los resultados de la variable células totales del infiltrado inflamatorio a lo largo del tratamiento. En los grupos tratados con Im la densidad celular del infiltrado aumentaba con el tiempo, pero no con el Ex.

Los grupos Im, Im 3 d/s, Im 5 d/s y Ex no mostraron diferencias significativas en los resultados de la variable grosor dérmico ecográfico a lo largo del tratamiento. Sin embargo los CBC tratados con Im aumentaron más el grosor dérmico que los CBC tratados con Ex.

La variable células totales del infiltrado inflamatorio mostró una correlación positiva ($r > 1$) significativa ($p < 0,05$) con las variables grosor dérmico ecográfico, índice apoptótico (células Tunel+) y eritema del CBC; y mostró una correlación negativa ($r < 1$) significativa ($p < 0,05$) con la variable expresión de bcl-2 del CBC. La variable grosor dérmico ecográfico mostró una correlación positiva ($r > 1$) significativa ($p < 0,05$) con las variables células totales del infiltrado inflamatorio y eritema del CBC.

8. DISCUSIÓN

8.1. Estudio abierto en 55 CBC

Pacientes

Los pacientes del estudio tenían una edad media de 71 años, eran la mayoría hombres (60%) y tenían fototipos claros (95% II y III). Estos resultados son comparables con la literatura, que remarca la elevada incidencia de CBC en hombres adultos de fototipos claros ¹⁵.

Tamaño

Los CBC del estudio mostraron un tamaño medio de 118 mm², un 51% de erosión, ausencia de eritema o pústulas y se localizaban mayoritariamente en la cabeza (64%). Estos resultados son comparables con los descritos por otros autores, que definen el CBC como un tumor de lento crecimiento, con mínimos fenómenos inflamatorios, frecuentemente ulcerado y localizado en áreas descubiertas de la cabeza ^{12,14,15}.

Patrón histológico

El 78% de los CBC del estudio tenían un patrón histológico infiltrante, con sólo un 7% de CBC superficiales y un 15% de CBC con patrón nodular. Estos porcentajes difieren de los reportados por diferentes autores ^{27,28} que consideran el CBC nodular como el tipo histológico más frecuente de todos (80%). Estas diferencias podrían deberse a un sesgo de selección de pacientes, dado que los pacientes con CBC superficiales y nodulares habitualmente se tratan a nivel ambulatorio y sólo los CBC más complejos (patrones agresivos o localizaciones de alto riesgo) se remiten a un hospital de tercer nivel como en el que se desarrolló el presente estudio. También podría haber un sesgo de interpretación del patrón del CBC, y que en nuestro estudio se hubiesen considerado como CBC infiltrantes algunos tumores que otros autores podrían considerar como CBC de patrón nodular. En este estudio se consideró CBC de patrón nodular cuando se observaban densos acúmulos de células neoplásicas, formando lóbulos tumorales únicos o múltiples, generalmente

redondeados u ovals, y se consideró CBC de patrón infiltrante cuando se observaban cordones neoplásicos de grosor variable infiltrando la dermis o prolongaciones espiculares infiltrativas en la parte más profunda del tumor. Si en la primera biopsia el tumor era de patrón superficial o nodular, pero en la segunda o tercera había patrón infiltrante, ese tumor pasaba a considerarse CBC infiltrante.

Grupos

Los 55 CBC del estudio se asignaron a los cuatro grupos de tratamiento (A, B, C y D) de forma secuencial, con tal de evitar sesgos de selección. Gracias a ello los cuatro grupos no mostraron diferencias significativas en la mayoría de las variables clínicas e histológicas del estudio. Sólo las variables edad y localización mostraron una distribución no homogénea entre los grupos, siendo los pacientes del grupo D los más jóvenes y los CBC del grupo C los que se localizaron con más frecuencia en la cabeza.

P53

La expresión de la proteína p53 del CBC fue estudiada con un quit comercial que muestra la proteína p53 normal y la mutada. Antes de empezar el tratamiento la expresión de p53 del CBC fue del 34%, resultado inferior a los encontrados en la literatura (42-92%)^{117,118}. Durante el tratamiento con Im la expresión de p53 en el CBC no mostró modificaciones significativas en ninguno de los cuatro grupos del estudio. En las biopsias tomadas seis semanas después del tratamiento la expresión de p53 del CBC tampoco mostró diferencias significativas con respecto a los valores basales o durante el tratamiento. Es por ello que se puede concluir que la expresión de p53 del CBC no se modifica con el tratamiento con Im 5% crema aplicado 3 o 5 días por semana.

Ki-67

El índice proliferativo (ki-67) del CBC previo tratamiento fue del 49% y los CBC infiltrantes mostraron un índice mayor (50%) que los CBC no infiltrantes (43%). Estos resultados son bastante más altos que los encontrados en la literatura (26%)⁷¹. De manera similar a la expresión de P53, el índice

proliferativo no mostró modificaciones significativas durante el tratamiento ni seis semanas después del mismo. Se puede concluir que el índice proliferativo del CBC no se modifica con el tratamiento con Im 5% crema aplicado 3 o 5 días por semana.

Bcl-2

La expresión de la proteína bcl-2 del CBC previa al tratamiento fue muy alta en casi todos los CBC (87%), siendo algo menor en los CBC infiltrantes (84%). Estos resultados son comparables con los reportados en la literatura (67-100%) que dan a la proteína bcl-2 un gran papel antiapoptótico en el CBC ^{131,132}. Durante el tratamiento con Im se produjo un descenso en la expresión de la proteína bcl-2 en los grupos A, C, y D. En las biopsias obtenidas seis semanas después del tratamiento la expresión de bcl-2 del CBC disminuyó en los grupos A y B, se mantuvo estable en los el grupo D, y aumento en el grupo C, pero sin diferencias significativas en ningún grupo. Estos resultados sugieren que la expresión de bcl-2 del CBC se modifica durante el tratamiento con Im 5% crema aplicado 3 o 5 días por semana.

Apoptosis

El índice apoptótico del CBC previo al tratamiento fue del 0,6%, resultado comparable con otros estudios realizados por otros autores con la técnica de Tunel ⁹⁴. Durante el tratamiento con Im el índice apoptótico del CBC mostró modificaciones significativas en los cuatro grupos del estudio. Seis semanas después del tratamiento el índice apoptótico del CBC disminuyó a valores similares a los basales. No se encontraron diferencias significativas entre los valores durante el tratamiento y 6 semanas después del tratamiento, y esta ausencia de significación estadística probablemente se deba al limitado número de casos con tumor en la biopsia realizada 6 semanas después del tratamiento: 3 en el grupo A, 2 en el grupo B, 2 en el grupo C, y seis en el grupo D. La expresión de la proteína bcl-2 y el índice apoptótico se modificaron durante el tratamiento con Im de forma dependiente, con una correlación significativa. Estos resultados sugieren que el índice apoptótico del CBC se modifica durante el tratamiento con Im 5% crema aplicado 3 o 5 días por semana.

Infiltrado inflamatorio

El infiltrado inflamatorio peritumoral del CBC mostró un aumento significativo en cuanto a número total de células durante el tratamiento con Im. La composición de dicha infiltrado mostró un aumento significativo de células CD3+, CD8+ y CD68+ y S-100+ en la primera semana de tratamiento, indicando el papel de los linfocitos T, los monocitos y las células dendríticas en la respuesta inmune inducida por Im. A partir de la segunda semana de tratamiento también se detectó un aumento significativo de las células grancima B + y CD20 +, demostrando el papel de las células citotóxicas y de los linfocitos B en la respuesta antitumoral inducida por Im. Por otro lado las células CD56+ no mostraron modificaciones significativas durante el tratamiento con Im, por lo que estos resultados sugieren que las células asesinas naturales de la dermis no se modifican durante el tratamiento con Im 5% crema aplicado 3 o 5 días por semana.

La densidad del infiltrado inflamatorio peritumoral, la expresión de la proteína bcl-2 y el índice apoptótico se modificaron durante el tratamiento con Im de forma dependiente con una correlación significativa.

Efectos adversos

Im produjo cambios inflamatorios en todos los CBC durante el tratamiento. La presencia de eritema fue del 100% a mitad del tratamiento y del 95% al final del mismo. La presencia de pústulas estériles se objetivó en el 7% de casos, y un cuadro pseudo gripal con cefalea, debilidad generalizada y malestar se objetivó en 2 pacientes. A pesar de estas reacciones locales y acontecimientos adversos el cumplimiento del tratamiento fue del 98% y se realizó ambulatoriamente en todos los casos. La relación área de eritema / área tumoral basal fue de 6,9 al final del tratamiento. Estos resultados son comparables con estudios clínicos previos de Im en el CBC, en los que se destacan unos efectos adversos locales y sistémicos dosis dependientes, generalmente bien tolerados por los pacientes^{227,246,247}.

Eficacia

La variable curación CBC tratado con Im se estableció después de un seguimiento mínimo de 18 meses a todos los pacientes. A pesar del sesgo creado por la realización de biopsias a todos los CBC durante el tratamiento, se encontró una tasa global de curación del 75%. El análisis bivariante mostró relación significativa entre la curación y las variables área tumoral basal y erosión basal, por lo que los CBC de mayor tamaño y erosionados eran los que se curaban con menor frecuencia. La posología no mostró relación significativa con la curación, pero los pacientes tratados con Im 3 días por semana presentaron mejores tasas de curación con menos efectos adversos locales que los pacientes tratados 5 días por semana. Estos resultados nos indican que la inflamación no se correlacionó linealmente con la eficacia, y se plantean tres hipótesis para entender la relación entre posología y eficacia: o bien los pacientes tratados 5 días por semana no se aplicaron bien la crema sobre el CBC al aparecer los efectos adversos locales, o bien la crema correctamente aplicada no penetró en la dermis por la presencia de costras, o tanta inflamación inducida por Im produjo un cambio en el infiltrado inflamatorio: la destrucción de la epidermis pudo inducir la expresión de citocinas inmunosupresoras y un cambio en la función de los linfocitos CD8, que pasaron de ser citotóxicos a supresores.

El patrón histológico (infiltrante o no infiltrante) tampoco mostró relación significativa con la curación, a pesar de que los CBC no infiltrantes tenían una tasa de curación del 92% y los CBC infiltrantes del 70%. Es probable que aumentando el número de casos del grupo de CBC no infiltrantes se hubiese encontrado diferencias significativas a favor de estos con respecto a la curación.

Con el fin de obtener variables basales independientes y pronósticas de curación se realizó un análisis multivariante que demostró que el área tumoral basal tenía una relación inversa con la curación y que la erosión basal era una variable dependiente del tamaño tumoral. El análisis multivariante demostró que el índice proliferativo (Ki-67) basal del CBC era otro factor pronóstico de curación y a mayor índice proliferativo mas curación. Este resultado es sorprendente, dado que en nuestra serie y en la literatura⁷³ los CBC agresivos tienen un índice proliferativo mayor que los CBC no agresivos. Este resultado

sugiere que los CBC más activos son los que responderán más al tratamiento con Im, pero podría estar sesgado por el hecho de que en nuestro estudio sólo hay 12 CBC no infiltrantes (índice proliferativo de 43%) frente a 43 CBC infiltrantes (índice proliferativo de 50%).

8.2. Estudio randomizado en 30 CBC

Este estudio se diseñó con el fin de confirmar los hallazgos histológicos encontrados en el estudio abierto, por lo que no se consideró la variable curación. A pesar de incluir menos pacientes, el estudio ganó potencia estadística al incluir casos tratados con el excipiente del preparado comercial de Im crema (Aldara[®]) y randomizar los grupos.

Pacientes y CBC

Los pacientes incluidos en el estudio tenían una edad media de 71 años, siendo la mayoría hombres (70%) de fototipos claros (90% II y III). Los CBC incluidos en el estudio mostraron un tamaño medio de 71 mm², un 41% de erosión, ausencia de eritema o pústulas y se localizaban mayoritariamente en la cabeza (67%). El 83% de los CBC incluidos en el estudio presentaron el patrón histológico infiltrante, con sólo un 7% de CBC superficiales y un 10% de CBC con patrón nodular. Estos resultados son comparables con los del estudio abierto.

Grupos

Los 30 CBC incluidos en el estudio se asignaron en dos grupos de tratamiento (Im y Ex) y 2 posologías (3 días por semana o 5 días por semana) de forma randomizada con el fin de evitar sesgos. Gracias a ello los grupos no mostraron diferencias significativas en la mayoría de las variables clínicas e histológicas del estudio. Sólo las variables sexo y histología del CBC mostraron una distribución no homogénea entre los grupos, habiendo más hombres y CBC de patrón infiltrante en el grupo Im que en el grupo Ex.

P53

La expresión de la proteína p53 del CBC antes de empezar el tratamiento fue de 38%, resultado similar al encontrado en el estudio abierto (34%). Durante el tratamiento la expresión de p53 en el CBC no mostró modificaciones significativas en ninguno de los grupos del estudio (Im, Im 3 días/sem, Im 5 días/sem, Ex). Es por ello que se puede concluir que la expresión de p53 del

CBC no se modifica con Im ni con el excipiente de Aldara® aplicado 3 o 5 días por semana.

Ki-67

El índice proliferativo (Ki-67) del CBC previo tratamiento fue del 39%, resultado inferior al obtenido en el estudio abierto (49%). Durante el tratamiento el índice proliferativo del CBC no mostró modificaciones significativas en los grupos Im, Im 5 días/sem y Ex. En el grupo Im 3 días/sem se detectó un descenso significativo del índice proliferativo del CBC entre la determinación basal y el día 8, pero no se detectó después en el día 15. Es por ello se concluye que el índice proliferativo (ki-67) del CBC no se modifica con Im ni con el excipiente de Aldara® aplicado 3 o 5 días por semana.

Bcl-2

La expresión de la proteína bcl-2 del CBC previa al tratamiento fue del 83%, resultado similar al encontrado en el estudio abierto (87%). Durante el tratamiento se produjo un descenso significativo de la expresión de la proteína bcl-2 en los grupos Im y Im 5 días/sem. En el grupo Im 3 días/sem el descenso no fue significativo, y en el grupo Ex no se modificó. Estos resultados sugieren que la expresión de bcl-2 del CBC se modifica con el tratamiento con Im aplicado 3 o 5 días por semana, y no se modifica con el excipiente de Aldara®. La disminución de la expresión de bcl-2 del CBC durante el tratamiento con Im podría ser el resultado de efecto directo de Im en las células del CBC o por la secreción de citocinas del infiltrado inflamatorio inducido por Im.

Apoptosis

El índice apoptótico del CBC previo al tratamiento fue del 0,5%, resultado similar al encontrado en el estudio abierto (0,6%). Durante el tratamiento se produjo un aumento significativo del índice apoptótico en los grupos Im, Im 3 días/sem y Im 5 días/sem, pero no en el grupo Ex. La expresión de la proteína bcl-2 y el índice apoptótico se modificaron durante el tratamiento con Im de forma dependiente, con una correlación significativa. Estos resultados sugieren que el tratamiento con Im aplicado 3 o 5 días por semana modifica el índice apoptótico del CBC, y no se modifica con el excipiente de Aldara®.

Infiltrado inflamatorio

El infiltrado inflamatorio peritumoral del CBC y las determinaciones ecográficas mostraron un aumento significativo del número total de células y del grosor ecográfico durante el tratamiento con Im, pero no con el excipiente de Aldara. La densidad del infiltrado inflamatorio peritumoral, el grosor ecográfico, el eritema y el índice apoptótico aumentaron durante el tratamiento con Im de forma dependiente, con una correlación significativa. Este resultado sugiere que Im induce un infiltrado inflamatorio peritumoral capaz de aumentar el índice apoptótico del CBC. El aumento del índice apoptótico del CBC durante el tratamiento con Im podría ser el resultado de una disminución de la principal proteína antiapoptótica (bcl-2) y el aumento de estímulos proapoptóticos (TNF, linfocitos T citotóxicos, células asesinas naturales, perforinas, grancimas A y B, bax.). Estos dos factores precipitarían el suicidio celular de la célula del CBC.

Efectos adversos

Im produjo cambios inflamatorios y eritema en el 83% de los casos (0% basal), con erosión en el 75% (42% previa al tratamiento) y una relación área de eritema / área tumoral basal de 1,7 en el día 15 el tratamiento. El excipiente de Aldara produjo cambios inflamatorios y eritema en el 33% de los casos (0% basal), erosión en el 50% (33% previa al tratamiento) y una relación área de eritema / área tumoral basal era de 1 en el día 15 el tratamiento. Estos resultados demuestran que Im induce fenómenos inflamatorios en el CBC.

Conclusiones

Las principales conclusiones del estudio son la demostración patológica de que Im induce una respuesta inflamatoria capaz de modificar la expresión de bcl-2 en las células del CBC y aumentar el índice apoptótico del CBC. Des del punto de vista clínico también hay que destacar las elevadas tasas de curación encontradas, los efectos locales dosis dependientes y la utilidad de la ecografía cutánea en el estudio del CBC in vivo.

9. CONCLUSIONES

9.1. Estudio abierto en 55 CBC

1. Im crema al 5% fue un tratamiento eficaz en el 100% de los CBC superficiales.
2. Im crema al 5% fue un tratamiento eficaz en el 87% de los CBC nodulares.
3. Im crema al 5% fue un tratamiento eficaz en el 75% los CBC infiltrantes.
4. El área basal del CBC fue la variable independiente de mayor potencia pronóstica de la curación completa del CBC inducida por Im crema al 5%
5. El índice proliferativo (ki-67) del CBC fue una variable independiente pronóstica con la curación completa del CBC inducida por Im crema al 5%
6. La erosión basal del CBC fue una variable pronóstica de la curación completa del CBC inducida por Im crema al 5%.
7. La posología 3 días por semana mostró menos reacciones locales y mejores tasas de curación completa que la posología 5 días por semana.
8. El índice apoptótico del CBC aumentó durante el tratamiento con Im crema al 5% y disminuyó 6 semanas postratamiento en todos los grupos.
9. La expresión de bcl-2 del CBC disminuyó durante el tratamiento con Im crema al 5% y aumentó 6 semanas postratamiento en todos los grupos.
10. Las variables índice apoptótico del CBC y expresión de bcl-2 del CBC mostraron una correlación inversa significativa.
11. La expresión de p53 y ki-67 del CBC tratado con Im crema al 5% no se modificó significativamente durante el tratamiento.
12. Las variables células totales, células CD3+ totales, porcentaje de células CD3+, células CD8+ totales, células CD20+ totales, porcentaje de células CD20+, células CD68+ totales, células grancima B + totales y células S-100+ del infiltrado inflamatorio peritumoral del CBC aumentaron significativamente durante el tratamiento con Im crema al 5%.
13. Las variables porcentaje de células CD8+, porcentaje de células CD68+, células CD56+ totales, porcentaje de células CD56+, porcentaje de células grancima B+, porcentaje de células S-100+ y la relación CD4/CD8 se

modificaron con el tratamiento con Im crema al 5% pero sin diferencias significativas.

14. Las variables células totales del infiltrado inflamatorio peritumoral del CBC, células CD3+ totales, células CD8+ totales, células CD20+ totales, células CD68+ totales, células grancima B + totales, células S-100+ totales y índice apoptótico (células Tunel+) mostraron una correlación positiva ($r > 1$) significativa.
15. Las variables células totales del infiltrado inflamatorio peritumoral del CBC, y la expresión de bcl-2 del CBC mostraron una correlación negativa ($r < 1$) significativa.
16. Las variables expresión de p53 del CBC y índice proliferativo (ki-67) del CBC no mostraron correlación significativa con las variables índice apoptótico del CBC, expresión de bcl-2 del CBC ni células totales del infiltrado inflamatorio peritumoral.

9.2. Estudio randomizado en 30 CBC

1. El índice apoptótico del CBC aumentó significativamente en el grupo tratado con Im crema al 5%, en el grupo tratado con Im 3 noches por semana y en el grupo tratado con Im 5 noches por semana
2. La expresión de bcl-2 del CBC disminuyó significativamente durante el tratamiento en el grupo tratado con Im crema al 5%, en el grupo tratado con Im 3 noches por semana y en el grupo tratado con Im 5 noches por semana
3. La expresión de p53 del CBC y índice proliferativo (ki-67) del CBC se modificaron en el grupo tratado con Im crema al 5% pero sin mostrar diferencias significativas.
4. La expresión de p53 y bcl-2 del CBC, el índice proliferativo (ki-67) del CBC y el índice apoptótico del CBC se modificaron en el grupo tratado con crema vehículo (excipiente) sin mostrar diferencias significativas.
5. La variable células totales del infiltrado inflamatorio mostró una correlación positiva ($r > 1$) significativa con las variables grosor dérmico ecográfico, índice apoptótico del CBC y eritema del CBC
6. La variable células totales del infiltrado inflamatorio mostró una correlación negativa ($r < 1$) significativa con la variable expresión de bcl-2 del CBC.
7. La variable grosor dérmico ecográfico mostró una correlación positiva ($r > 1$) significativa con las variables células totales del infiltrado inflamatorio y eritema del CBC.

9.3. Conclusiones finales

1. Im crema al 5% induce la regresión clínica e histológica del CBC.
2. Im crema al 5% aumenta el infiltrado inflamatorio peritumoral del CBC, que se constituye principalmente de linfocitos CD3+, CD8+ y CD20+.
3. Im crema al 5% aumenta el número de células grancima B + del infiltrado peritumoral del CBC.
4. Im crema al 5% disminuye la expresión de bcl-2 del CBC.
5. Im crema al 5% aumenta el índice apoptótico del CBC.