

**EVIDENCIA SOBRE LA EXPRESIÓN DE HER-2 EN LA ENFERMEDAD DE  
PAGET EXTRAMAMARIA**



**UNIVERSIDAD DEL ROSARIO**

Colegio Mayor De Nuestra Señora Del Rosario

Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud

Programa de Medicina

Especialización en Mastología

Bogotá, abril de 2018

**EVIDENCIA SOBRE LA EXPRESIÓN DE HER-2 EN LA ENFERMEDAD DE  
PAGET EXTRAMAMARIA.**

**Ricardo Monroy Muñoz**

Trabajo de grado para optar al título de Sub-Especialista en Mastología

**Asesores Temáticos**

Wilson Rubiano

Jairo De la Peña

Sandra Ramírez

**Asesor Metodológico**

Paula Aguilera

Mariana Villaveces

**Colegio Mayor De Nuestra Señora Del Rosario**

**Escuela de Medicina y Ciencias de la salud**

Bogotá, D.C. abril de 2018

AUTOR

**Ricardo Monroy Muñoz**

Médico y Cirujano. Colegio Mayor de Nuestra Señora del Rosario  
Ginecólogo y Obstetra. Colegio Mayor de Nuestra Señora del Rosario

Estudiante de especialización de Mastología

Universidad del Rosario

Email: [monroy.ricardo07@gmail.com](mailto:monroy.ricardo07@gmail.com)

“La Universidad del Rosario, no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia”.

*Quiero dedicar este trabajo de investigación en primer lugar a Dios, por guiarme en el buen camino e impulsarme para afrontar los retos que cada día se presentan.*

*A mis amadísimos padres Ricardo Monroy y Luz Esther Muñoz, quienes me han apoyado incondicionalmente desde pequeño, sobre todo en mis estudios, logros académicos y universitarios, y me han enseñado a salir adelante.*

*Igualmente, a mis hermanos Nicolás y Daniela, familia y amigos con los que comparto todo lo que aprendo y de quienes también sigo aprendiendo.*

*A mi amada novia, Andrea Peña, por ser la fuente de motivación e inspiración, por su apoyo incondicional y por estar en los momentos más importantes de mi vida.*

*Finalmente, a todos los beneficiarios de mi profesión a quienes espero aportar un mayor conocimiento en el ámbito de la salud.*

*Gracias a todos.*

*Ricardo*

## **Agradecimientos**

Le agradezco profundamente a mis profesores Wilson Rubiano y Jairo de la Peña, por depositar su confianza en mí y darme la oportunidad de compartir con ellos estos dos años de especialización, brindándome su experiencia y sabiduría, además de mostrar interés en dirigir este proyecto. Gracias por su paciencia, dedicación, motivación, criterio y aliento, realmente ha sido un privilegio contar con su guía.

A la Dra. Sandra Ramírez por el interés en transmitir sus conocimientos de biología molecular y de investigación, demostrando siempre su capacidad académica y de docencia, procurando un crecimiento académico continuo. Gracias por ser parte de este proyecto

A Mariana Villaveces, que nuevamente me guío en el desarrollo metodológico de esta investigación, haciendo posible la realización del mismo. Por su preocupación, apoyo incondicional y supervisión del proceso de este proyecto. Igualmente, a Paula Aguilera quien fue clave en los comienzos de esta investigación.

A todos los tutores de la Universidad Del Rosario, personal del Hospital Universitario Mayor y colegas, que compartieron sus conocimientos, dentro y fuera del ambiente laboral, por su atención y amabilidad en lo referente a mi vida como alumno y como persona.

Finalmente, este trabajo no habría sido posible sin la influencia directa o indirecta de muchas personas a las que agradezco profundamente por estar presentes en las distintas etapas de su elaboración, y que de alguna manera han sido claves en mi vida profesional y personal.

## Tabla de contenido

	<b>pág.</b>
1. Información general.....	11
2. Introducción.....	14
3. Planteamiento del problema.....	13
4. Justificación.....	18
5. Marco teórico.....	19
6. Objetivos.....	27
6.1 <i>Objetivo general</i> .....	27
6.2 <i>Objetivos específicos</i> .....	27
7. Metodología de la investigación.....	28
7.1 <i>Tipo y diseño general del estudio</i> .....	28
7.2 <i>Planteamiento de hipótesis</i> .....	28
7.3 <i>Estrategia PICOT</i> .....	28
7.4 <i>Técnica de recolección de la información</i> .....	28
7.5 <i>Criterios de selección</i> .....	28
7.6 <i>Control de sesgos</i> .....	29
7.7 <i>Plan de análisis</i> .....	30
7.8 <i>Aspectos éticos</i> .....	30
8. Aspectos administrativos.....	31
8.1 <i>Cronograma</i> .....	31
8.2 <i>Presupuesto</i> .....	33
8.3 <i>Organigrama</i> .....	34
9. Resultados.....	35
10. Discusión.....	40
11. Conclusiones.....	44
12. Recomendaciones .....	45
13. Referencias bibliográficas .....	46
14. Anexos (relación de artículos encontrados y elegidos para la revisión sistemática)	

### Lista de tablas

	<b>pág.</b>
<b>Tabla 1</b> <i>Criterios de calidad SIGN</i> .....	30
<b>Tabla 2</b> <i>Cronograma de actividades</i> .....	32
<b>Tabla 3</b> <i>Presupuesto</i> .....	28
<b>Tabla 4</b> <i>Resultados de la búsqueda en la literatura por bases de datos</i> .....	36
<b>Tabla 5</b> <i>Causas de exclusión</i> .....	36
<b>Tabla 6.</b> <i>Caracterización de la población (componente meta-analítico)</i> .....	37
<b>Tabla 7.</b> <i>Relación de cada una de las variables con sobreexpresión her-2</i> .....	39
<b>Tabla 8</b> <i>Relación de cada una de las variables con amplificación (n=296)</i>	39
<b>Tabla 9</b> <i>Relación del resultado inmunohistoquímica de la sobreexpresión HER-2</i>	40



### Lista de figuras

	<b>pag</b>
<b>Figura 1</b> <i>Transducción cruzada de señales entre RE y HER-2</i> .....	22
<b>Figura 2</b> <i>Organigrama</i> .....	33
<b>Figura 3</b> Flujograma según declaración Prisma para revisiones sistemáticas de la literatura.....	29
<b>Figura 4</b> Localización de la Enfermedad de Paget extra mamaria .....	38

### **Lista de siglas**

ACE	Antígeno carcinoembrionario
CK	Citoqueratina
E	Estrógenos
EP	Enfermedad de Paget
EPM	Enfermedad de Paget mamaria
EPEM	Enfermedad de Paget extramamaria
FCE	Factor de crecimiento epidérmico
HER-2	Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (siglas en inglés)
MMS	Cirugía micrográfica de Mohs
RE	Receptor de estrógenos

### Información general

<b>Nombre del proyecto</b>	Evidencia sobre la expresión de HER-2 en la enfermedad de Paget extramamaria	
<b>Grupos de investigación</b>	N/A	
<b>Línea de Investigación</b>	N/A	
<b>Descriptores/ palabras claves</b>	Extramammary Paget´s disease; HER-2; HER-2/neu; ErBB2; Human epidermal growth factor receptor 2.	
<b>Investigador principal</b>	Ricardo Monroy Muñoz	
<b>Contacto</b>	Dirección	Cll 24 # 29 – 45
	Teléfono	5600520
	Celular	3106960183
	Correo electrónico	monroy.ricardo07@gmail.com
<b>Co-investigadores</b>	Nombre	Wilson Rubiano
		Jairo De La Peña
		Sandra Ramírez
		Paula Aguilera
<b>Duración</b>	1 año	
<b>Fecha</b>	Inicio: 09-08-2016	Finalización: 30-04-2018
<b>Clasificación del área científica o disciplinar</b>	N/A	
<b>Sector de aplicación</b>	Salud	
<b>Clasificación del tipo de financiación</b>	Independiente	
<b>Tipo de proyecto</b>	Revisión sistemática de la literatura	
<b>Costo general del proyecto</b>	4.212.000 pesos	
<b>Tiempo de dedicación</b>	18 horas semanales	

*Introducción:* La enfermedad de Paget extramamaria EPEM es una entidad poco común de la piel, con un cuadro clínico insidioso pero agresivo por su gran compromiso loco regional y potencial para producir metástasis e incluso la muerte. El HER2 es un biomarcador de interés por sus implicaciones clínicas en el diagnóstico, evolución y pronóstico de la enfermedad. El presente estudio propone conocer la evidencia relacionada con el comportamiento de este biomarcador en la enfermedad de Paget extramamaria.

*Metodología:* Revisión sistemática de literatura con un componente meta-analítico en el cual se extrajo la evidencia sobre el comportamiento del HER2 en pacientes con EPEM, siguiendo el contenido de diferentes artículos publicados en las principales base de datos (Medline, Embase, Cochrane, Pubmed, Google Scholar, Science Direct, tripdatabase) sin límite de tiempo en las publicaciones.

*Resultados:* De 147 artículos encontrados sobre el tema, 38 cumplieron criterios para su inclusión, 692 pacientes en total, 51.1% de género masculino. La proteína HER2 se sobreexpresó en el 42.77% de los casos de EPEM extramamaria y la amplificación del gen *ERBB2* fue positiva en el 11.1% de los casos. La invasión dérmica se presentó en el 87.2% de los casos mientras que la metástasis regional y recurrencia posterior a tratamiento se presentó en un 76.8% y 93.9% respectivamente. La asociación entre Her-2 y la EPEM fue significativa ( $p < 0.001$ )

*Discusión:* Existe sobreexpresión y/o amplificación del HER2 en la EPEM con un porcentaje de positividad objetivo de 42%, por tanto, la terapia con terapias blanco anti-HER2 debe considerarse como una novedosa estrategia terapéutica en casos seleccionados con positividad para este marcador.

*Palabras clave:* Enfermedad Paget extramamaria, HER2, sobreexpresión, amplificación.

*Background:* Paget's disease extramammary EPDM is an uncommon entity of the skin, with an insidious but aggressive clinical manifestations due to its great locoregional commitment and potential to produce metastasis and even death. HER2 is a biomarker that is currently under study due to its clinical implications in the diagnosis, evolution and prognosis of the disease. The present study proposes to identify the evidence related to the behavior of this biomarker in extramammary Paget's disease.

*Methods:* A systematic review of literature with a meta-analytical component was performed in which the evidence of the behavior of HER2 in patients with EPDM was extracted, according to different articles published in the main database (Medline, Embase, Cochrane, Pubmed, Google Scholar, Science Direct, tripdatabase) without time limit for the publications.

*Results:* Of 147 articles found on the subject, 38 met criteria for inclusion, (692 patients in total, 51.1% male). HER2 protein was over-expressed in 42.77% of the cases and the amplification of the *ERBB2* gene was positive in 11.1%. The dermal invasion occurred in 87.2% of the cases, while the regional metastasis and recurrence after treatment occurred in 76.8% and 93.9% respectively. The association between Her-2 expressoin and the EPDM was significat ( $p < 0.01$ )

*Discussion:* There is overexpression and/or amplification of HER-2 in EPDM with a target positivity percentage of 42%, therefore therapy with anti-HER2 target therapies should be considered as a possible new therapeutic strategy in selected cases with positivity for this marker.

*Key words:* Paget extramammary disease, HER2, overexpression, amplification.

## 2. Introducción

La enfermedad de Paget (EP) fue descrita por primera vez en 1874 por Sir. James Paget, un cirujano británico, quien describió lesiones mamarias como picazón, escoriación, eritema y secreción por el pezón, asociándolas con cáncer subyacente en la glándula mamaria (1); sin embargo fue Crocker en 1889 el que primero describió la EP fuera de la mama, basándose en la similitud histológica que presentaba esta entidad en diferentes sitios anatómicos similar a la que se describió inicialmente en la glándula mamaria (2). Por tanto, esta enfermedad puede clasificarse en enfermedad de Paget mamaria (EPM), refiriéndose a la enfermedad de la glándula mamaria propiamente dicha y que afecta al pezón y la areola, y en enfermedad de Paget extramamaria (EPEM), aquella que se desarrolla en sitios ajenos a la glándula mamaria (3). La primera ha sido ampliamente estudiada, conociendo a fondo su diagnóstico, tratamiento y pronóstico; sin embargo, la enfermedad de Paget extramamaria, debido a su rareza, es ahora objeto de estudio. Si bien en la actualidad su diagnóstico, tratamiento y pronóstico generalmente se extrapola a lo que se conoce de la enfermedad de Paget mamaria, existen bases científicas que apuntan a que esta entidad es completamente diferente desde varios puntos de vista, por tanto, se supone que el abordaje de esta enfermedad también puede llegar a ser diferente. Por esta razón, en los últimos años, los investigadores se han preocupado por conocer más acerca de esta patología.

HER2 es un receptor transmembrana con actividad tirosin quinasa intracitosplasmática que posee estrecha homología con el receptor del factor de crecimiento epidérmico (FCE) que contribuye a controlar la proliferación celular, diseminación intraepidérmica, migración e invasión de las células (4). Se conoce que el receptor HER2 se encuentra sobrepresado en 25-30% de los cánceres de mama y que así mismo el gen que lo codifica (*ERBB2* o *HER2/neu*) se encuentra amplificado en algunos de ellos, lo que favorece el crecimiento tumoral agresivo característico, considerándose un indicador de mal pronóstico (5). El estado de HER2 en los pacientes con cáncer de mama no es sólo un indicador pronóstico, sino también es un factor predictivo del efecto terapéutico de algunos regímenes de quimioterapia en adyuvancia y neoadyuvancia (6). Además, el

propio receptor HER2 es blanco terapéutico de medicamentos como el trastuzumab, un anticuerpo monoclonal humanizado anti-HER2, que se ha usado desde hace algunos años como tratamiento anticáncer en el cáncer de mama (7–9).

Estudios recientes han reportado un estado positivo de HER2 (sobrexpresión de la proteína HER2 y/o amplificación del gen *ERBB2*) en la enfermedad de Paget extramamaria, por lo que se ha propuesto que el tratamiento con anticuerpos monoclonales anti HER2 podría ser benéfico para los pacientes con EPEM (10–12). Sin embargo, hasta la fecha existen pocos estudios, debido a que la enfermedad es poco común y la mayoría de las publicaciones presentan un número de casos limitado. Además, los estudios donde analizan tanto la sobrexpresión de HER2 como la amplificación de *ERBB2* son aún más escasos.

En el presente estudio se obtuvieron datos que contribuyeron a determinar la sobrexpresión del receptor HER2 y/o amplificación del gen *ERBB2* en la EPEM y establecer su comportamiento con la historia natural de esta enfermedad.

### 3. Planteamiento del problema

La EP es una rara enfermedad que se puede presentar tanto en mujeres como en hombres, siendo más común en mujeres (1). La EPM ocurre en 0.7 al 4.3% de todos los casos de cáncer de seno (13), pero la EPEM es una enfermedad de frecuencia aún más baja que la EPM, representando tan solo un 6,5% de todos los diagnósticos de enfermedad de Paget (14). Debido a esta situación de presentación tan exótica, se conoce muy poco acerca de esta enfermedad, situación que genera varias problemáticas a la hora de abordar el tratamiento de los pacientes. Una de ellas es que el diagnóstico se convierte en un verdadero reto para clínicos y patólogos. En la mayoría de los casos el diagnóstico de la EPEM ocurre tardíamente, con una media de 1,5 años después del inicio de los síntomas hasta el diagnóstico definitivo, inclusive se han reportado casos de pacientes en el que el diagnóstico se realiza pasados dos a tres años del inicio de los síntomas (15). Así mismo no existen paneles moleculares para el diagnóstico y que orienten al patólogo para identificar con facilidad esta enfermedad, lo que hace que el juicio y la experticia del patólogo sean las herramientas existentes para llegar al diagnóstico definitivo.

Adicionalmente, los clínicos tienen poca experiencia en el tratamiento de esta enfermedad, esto supone el reto más grande en gran medida, debido a que la literatura médica universal consiste en su mayoría en reportes de casos, y existen pocos estudios prospectivos, guías o protocolos que orienten al clínico en el momento de tomar una decisión terapéutica; lo anterior lleva a que se opte por un tratamiento que pudiera no ser el mejor para el paciente. En muchas ocasiones el tratamiento se extrapola a lo que se hace habitualmente en la EPM, sin embargo, debido a que la naturaleza de la enfermedad es diferente, suponemos que el tratamiento de cada entidad podría ser distinto. Además, estas conductas no tienen una base científica ya que no son respaldadas por estudios clínicos que comparen un tratamiento con otro.

Estudios recientes han reportado el estado positivo de HER2 (sobrexpresión de la proteína HER2 o amplificación del gen *ERBB2*) en la EPEM (11,16), por lo que se ha propuesto que el tratamiento con anticuerpos monoclonales anti HER2 como el trastuzumab podría ser benéfico para las pacientes con EPEM (10–12), tal cual como lo es en el tumores del seno que presentan dentro de su perfil biológico un estado positivo



de HER2 (7–9). Por otro lado, estudios donde analizan tanto la sobreexpresión de HER2 y la amplificación de *ERBB2* son aún más escasos.

De todo lo anterior se puede deducir que falta mucho por conocer y que hay mucho por estudiar acerca de esta enfermedad. Hasta el momento no se conoce a fondo la naturaleza ni las bases biológicas o moleculares que involucran esta patología. Por otra parte, falta publicar estudios con criterios para establecer una opción terapéutica adecuada para cada paciente con EPEM, enfermedad que, si bien es muy infrecuente, es de gran importancia si se tiene en cuenta que de no establecer un diagnóstico temprano o de no aplicar un tratamiento adecuado y oportuno, puede ser mortal.

### **Pregunta de investigación**

¿Cuál es la evidencia en torno a la expresión del receptor HER2 en la enfermedad de Paget extramamaria?

#### **4. Justificación**

Teniendo en cuenta que en la literatura médica no existe hasta la fecha publicaciones que orienten y establezcan criterios para tomar decisiones acerca del tratamiento más adecuado para cada paciente con EPEM, con la presente revisión sistemática se pretende dar mayor entendimiento a los diferentes perfiles biológicos que pueda presentar esta enfermedad y abrir las puertas a nuevas opciones de tratamiento como la terapia con anticuerpos monoclonales, encaminada al beneficio de los pacientes que padecen esta rara y poco estudiada enfermedad. Lo anterior con el fin de impulsar futuros estudios prospectivos teniendo como base los resultados obtenidos en este estudio para finalmente dar recomendaciones y establecer protocolos de manejo que orienten a los clínicos en el momento de escoger la mejor opción terapéutica para cada paciente.

El conocimiento del estado de HER2 en la EPEM brinda una herramienta terapéutica adicional si se documenta tumores con estado positivo de HER2 (11). Esto podría abrir las puertas a nuevos estudios que analicen el beneficio de terapias con anticuerpos monoclonales como el trastuzumab y en un futuro cercano se pueda avalar e implementar dentro de un protocolo de manejo, tal cual como se hace hoy en día en el manejo del cáncer de seno, donde el trastuzumab se utiliza en pacientes con tumores que presentan positividad de HER2, mostrando grandes beneficios (7–9).

Después de los resultados obtenidos en este estudio se tendrá una idea más clara de la biología y el perfil molecular de esta enfermedad y su relación con las implicaciones clínicas que conllevaría tener un estado positivo de HER2 en estos tumores. Algunas de estas pueden ser el grado de invasión, la agresividad del tumor, el riesgo de presentar metástasis y el pronóstico. Adicionalmente, secundario a todo lo anterior, se espera que este estudio o las futuras investigaciones que de este estudio puedan surgir, genere un impacto positivo en la sobrevivencia de los pacientes que padecen esta enfermedad, teniendo en cuenta que en la mayoría de los casos, debido a que el diagnóstico generalmente es tardío, la enfermedad suele encontrarse en un estado avanzado, por lo que el tratamiento no es suficiente para el control de la enfermedad, llevando a la muerte en poco tiempo (15).

## 5. Marco Teórico

### 5.1 Definición y clasificación

La enfermedad de Paget (EP) fue descrita por primera vez en 1874 por Sir. James Paget (1), un cirujano británico, quien describió lesiones mamarias como picazón, escoriación, eritema y secreción por el pezón, asociándolas con cáncer subyacente en la glándula mamaria. Sin embargo fue Crocker en 1889 el que primero describió la EP fuera de la mama, basándose en la similitud histológica que presentaba esta entidad en diferentes sitios anatómicos con la que se describió inicialmente en la glándula mamaria (2). Por tanto, esta enfermedad puede clasificarse en enfermedad de Paget mamaria (EPM), refiriéndose a la enfermedad de la glándula mamaria propiamente dicha y que afecta al pezón y la areola, y en enfermedad de Paget extramamaria (EPEM), la cual se desarrolla en sitios ajenos a la glándula mamaria (3).

### 5.2 Epidemiología

La EP es una rara enfermedad que se puede presentar tanto en mujeres como en hombres, siendo más común en mujeres (17). La EPM ocurre en 0.7 al 4.3 % de todos los casos de cáncer de seno (13), pero la EPEM es una enfermedad de frecuencia aún más baja que la EPM, representando tan solo un 6,5% de todos los diagnósticos de enfermedad de Paget (14).

La EPEM es más frecuente en pacientes de más de 50 años, con una edad media de aparición de 68 años, donde aparecen el 90% de los casos y es más frecuente en mujeres que en hombres (17). Esto se debe a que la localización más frecuente de la EPEM es la vulva, ocurriendo en un 65% de los casos de EPEM (13). Cuando aparece en vulva se asocia con carcinoma ginecológico subyacente hasta en un 17% de los casos y a la existencia de neoplasia a distancia en un 11-20% (13). La segunda localización en frecuencia de la EPEM es la zona perianal (20%), y afecta en igual proporción a hombres y mujeres, asociándose hasta en un 10% a neoplasia subyacente (13). La tercera localización en frecuencia es el aparato genital masculino (14%). Se asocia en un 11% de los casos a neoplasia prostática, vesical, testicular, uretral o renal (13).

### 5.3 *Histopatología e histogénesis*

Histopatológicamente la EP se caracteriza por la presencia de células de Paget en la epidermis, que son células epiteliales glandulares con citoplasma abundante y claro, usualmente con núcleos pleomórficos e hipercromáticos (13). La inmunohistoquímica es muy útil en la EP para los diagnósticos diferenciales (3). En general las células de Paget tienen el mismo patrón de tinción de inmunohistoquímica que las células cancerígenas mamarias subyacentes (3). Se observa la sobreexpresión de las citoqueratinas de bajo peso molecular, especialmente CK7, y la falta de expresión de citoqueratinas de alto peso molecular, tales como CK10, CK14 y CK20 (18,19). Además, también expresan antígeno carcinoembrionario, receptores de andrógenos y HER2 (20). Por el contrario los antígenos de estrógeno y progesterona son frecuentemente negativos (20,21).

No está claro cómo estas células de Paget, vistas principalmente en la piel de la glándula mamaria, pueden encontrarse y proliferar en diferentes sitios (17). La patogénesis precisa de la EPEM sigue siendo objeto de gran debate. El origen celular es controversial, ya que esta afección, aunque se encuentra principalmente en la piel portadora de glándulas apocrinas, también puede ser diagnosticada en otros sitios (22) y aunque la tinción de inmunohistoquímica que éstas células poseen características epitelio-glandular, su origen no se ha podido establecer (13,22). Se han presentado muchas teorías que asocian las células de Paget con anexos cutáneos (tanto glándulas apocrinas y ecrinas), células madre de queratinocitos pluripotentes dentro de la epidermis y, más recientemente, las células de Toker, que están presentes tanto tejido mamario como vulvar (23). La EPEM se considera una condición heterogénea que abarca dos mecanismos histogénicos distintos (14). En la EPEM primaria (o intraepidérmica), aunque existen diferentes teorías, la más aceptada es que provienen de un precursor pluripotencial de la epidermis o sus anexos. Posteriormente, puede invadir la dermis y, a través de los vasos linfáticos y sanguíneos, producir metástasis (17). Por el contrario, la EPEM secundaria surge de la propagación epidermotrópica de células malignas de un adenocarcinoma subyacente en una glándula anexial dérmica o dentro de un epitelio contiguo (17).

#### *5.4 Papel de HER2 en las células*

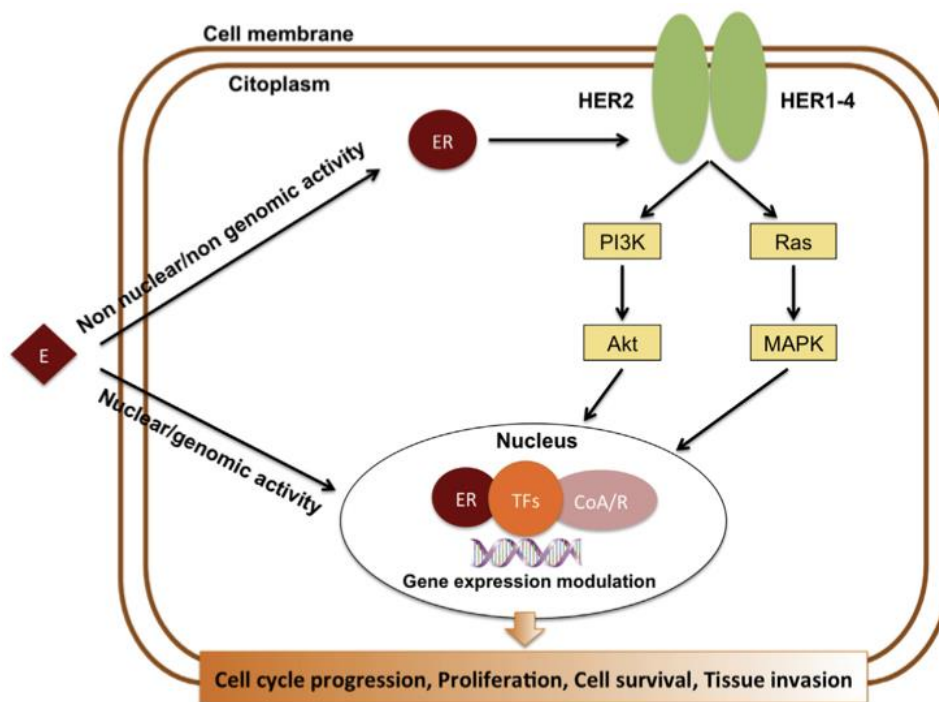
HER2 es un miembro de la familia HER, que consiste en 4 receptores de tirosina quinasa transmembranales (4). Estos receptores son: EGFR / HER1, c-erbB2 / HER2, HER3 y HER4. El gen que codifica este receptor es el *ERBB2* y está localizado en el cromosoma 17q21 (4).

##### *5.4.1. Vías de señalización*

HER2 funciona como un co-receptor universal para los otros miembros de la familia HER y, cuando se sobreexpresa, estimula constitutivamente el crecimiento tumoral, la invasividad y la supervivencia a través de la activación de varias cascadas de señalización, en su mayoría a través de vías MAPK y PI3K/Akt (4). Más específicamente, los dímeros HER2/EGFR inducen proliferación y mejoran las funciones invasivas, los homodímeros de HER2 alteran la polaridad celular y los dímeros HER2-HER3 aumentan las funciones metabólicas de las células tumorales, favorecen la supervivencia celular, inducen la proliferación y aumentan la invasividad (4).

Adicionalmente se ha documentado un papel importante del receptor de estrógenos (RE). Los RE modulan la expresión de numerosos genes ya que la unión del estrógeno determina una dimerización con su receptor, que regula la expresión génica. El RE también puede funcionar como un coregulador de otros factores transcripcionales. Varios receptores de tirosina quinasa tales como EGFR, IGF1 y HER2 pueden activar el RE de una manera independiente del ligando, a través de la fosforilación, determinando una importante transducción de señales cruzadas entre el RE y las vías del receptor tirosina quinasa. Los estrógenos (E) actúan mediante una actividad nuclear o genómica y una actividad no nuclear o no genómica. Los RE no nucleares interactúan directa o indirectamente (por ejemplo, a través proteínas G) con los dímeros del receptor del factor de crecimiento epidérmico humano HER2/HER1-4 que activan sus vías de quinasa corriente abajo (figura 1) (4).

**Figura 1** Transducción cruzada de señales entre RE y HER2



Fuente: Schettini F, Buono G, Cardalesi C, Desideri I, De Placido S, Del Mastro L. Hormone Receptor/Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-positive breast cancer: Where we are now and where we are going. *Cancer Treat Rev. Elsevier Ltd;* 2016;46:20–6.

A su vez los dímeros fosforilan a los RE y otros factores de transcripción y coactivadores/correpresores, modulando la expresión génica. Las vías de señalización HER2 también reducen la expresión del RE tanto a nivel del RNA mensajero como de proteína. El RE también promueve la acción de HER2, y otros receptores de tirosina quinasa como el TKR y la expresión génica de los ligandos de TKR. Esta transducción de señales bidireccional conduce proliferación, supervivencia celular y a la invasión tisular característica de las lesiones tumorales (24).

#### 5.4.2. Expresión de HER2 y amplificación de ERBB2

La amplificación del gen HER2 y la sobreexpresión de la proteína HER2 están presentes en un 25-30 % de los tumores malignos de la mama (5). Su presencia se relaciona con un pronóstico desfavorable en el cáncer de mama, ya que está asociado a un crecimiento agresivo de células tumorales y por consiguiente con la disminución de la supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia global (13,14). La sobreexpresión e HER2 también resulta en un aumento de la producción de isoformas raras de HER2 que generan una potenciación de la señalización (4).

El estado de HER2 de los pacientes con cáncer de mama no sólo es un indicador pronóstico, sino que también es un factor predictivo del efecto terapéutico de los regímenes basados en antraciclinas en entornos tanto adyuvantes y neoadyuvantes (9). Además, el propio receptor HER2 es un objetivo para la terapia con anticuerpos como trastuzumab, un anticuerpo monoclonal humanizado anti HER2 (7,9). Adicionalmente la evidencia reciente ha demostrado que, además de ser un objetivo terapéutico importante en el cáncer de mama, HER2 es un objetivo para el tratamiento de cánceres gástricos metastásicos con sobreexpresión de esta proteína (5).

#### *5.4.3. Relación con la EPEM*

Varios estudios han demostrado una frecuente amplificación del gen *ERBB2*, o la sobreexpresión de la proteína HER2, o ambos en la enfermedad de Paget mamaria y extramamaria (11,16). Se ha demostrado que HER2 está sobreexpresado en 5-80% de los casos de EPEM (5). Sin embargo, no hay un estudio detallado que correlacione las vías de la señalización de HER-2 y las características clínico-patológicas en la EPEM.

#### *5.5 Presentación clínica*

La clínica de la EPEM es insidiosa. La lesión primaria es una placa eritematosa y escamosa, generalmente es bien delineada, y puede mostrar erosiones con costras e incluso ulceraciones que pueden provocar prurito (60-72% de los casos), dolor, escozor, sensibilidad, edema o incluso pueden llegar a ser asintomáticas. Las lesiones suelen ser solitarias, pero en ocasiones pueden ser múltiples, en cuyo caso las placas parecen estar separadas por áreas de piel normal (13). Pueden haber cambios en la pigmentación, más a menudo hipopigmentación que hiperpigmentación (15). Cuando la enfermedad progresa puede dar lesiones vegetantes o nodulares infiltrativos y linfadenopatías regionales. Hasta el 39% de los pacientes pueden tener linfadenopatía asociada, ya sea unilateral o bilateral (15). La EPEM afecta áreas ricas en glándulas apócrinas (axila o ingle), pero se han descrito casos de EPEM ectópica (aparición de la enfermedad en áreas habitualmente libres de glándulas apócrinas), en particular la mejilla, el abdomen y el oído externo (25–28).

### *5.6 Diagnóstico*

El diagnóstico clínico usualmente es complejo debido al amplio espectro de diagnósticos diferenciales. En la mayoría de los casos el diagnóstico de la EPDM ocurre tardíamente, con una media de 1,5 años después del inicio de los síntomas hasta el diagnóstico definitivo, inclusive se han reportado casos de pacientes en el que el diagnóstico se realiza pasado 2 a 3 años del inicio de los síntomas (15). Cuando se está ante una EPDM, el estudio histológico es la herramienta para obtener el diagnóstico. La biopsia muestra infiltración de la epidermis por las células de Paget, en forma aislada o formando nidos y con atipia variable. La inmunohistoquímica puede orientar el diagnóstico hacia formas primarias o secundarias de la enfermedad así como para descartar los posibles diagnósticos diferenciales (17). El antígeno carcinoembrionario (ACE) es muy útil en este aspecto. Las EPDM secundarias presentan tinción positiva para este marcador en casi un 100% de los casos. Esto supone que un ACE negativo descarta una forma secundaria de EPDM y, aunque esto no excluye tener que hacer el cribado completo de neoplasia primaria (14). Adicionalmente el marcador GCDPF-15 se expresa en el 50% de los casos de EPDM primario y es negativo en los tipos secundarios (29).

Las neoplasias descritas asociadas a la EPDM son múltiples: digestivas (canal anal, rectal y colon), ginecológicas (endometrial, cuello de útero, carcinoma de glándula de Bartolino), renal y uretral (30). Por todo esto, ante un diagnóstico de EPDM se recomienda una búsqueda rigurosa de neoplasias asociadas de acuerdo con la presentación clínica.

### *5.7 Diagnóstico diferencial*

El diagnóstico diferencial al que se enfrentan los clínicos es muy amplio y se establece con patología tan variada como el eczema crónico (que suele tener una respuesta rápida al tratamiento corticoide tópico aunque suele recidivar a la retirada), el liquen escleroatrófico (que se presenta en forma de lesiones más blanquecinas, cicatriciales, con induración y erosiones), pénfigo benigno familiar de Hailey-Hailey (en este caso la historia familiar y la posibilidad de afectar a varios pliegues a la vez dará la clave del diagnóstico), candidiasis (que suele presentar buena respuesta a los antimicóticos,



lesiones habitualmente más inflamatorias, ocasionalmente con satelitosis o pustulación perilesionales), psoriasis invertida (antecedentes de psoriasis, afectación de varios pliegues), carcinoma basocelular (este tumor se puede diagnosticar por su típico brillo perlado, telangiectasias y ocasionalmente por su pigmento negro-azulado), enfermedad de Bowen (que suele presentar un eritema más intenso que el EPEM pero clínicamente pueden ser indistinguibles) y melanoma (17).

Frente a un diagnóstico diferencial tan amplio de una enfermedad poco frecuente, el reto a superar es de difícil resolución. Ante un paciente de estas características es necesario descartar y tratar la enfermedad más frecuente como una posible infección candidiásica o un eczema crónico (14). Si la respuesta terapéutica no es buena está indicada la realización de una biopsia cutánea que permitirá descartar EPEM u otras neoplasias (13). El estudio de inmunohistoquímica es útil para descartar otras patologías. Por ejemplo, el melanoma expresa Melan A, S100 y HMB45, pero no las otras proteínas, mientras que la enfermedad de Bowen expresa AE<sub>1</sub>AE<sub>3</sub>, p63 y eventualmente CK7 (31).

### *5.8 Tratamiento*

La cirugía se considera el pilar del tratamiento para pacientes con EPEM (13), sin embargo debido a la rareza de esta patología, la experiencia en su manejo es limitada. En ocasiones los procedimientos quirúrgicos pueden llegar a ser altamente mutilantes, adicionalmente en estas extirpaciones amplias el índice de recurrencia puede llegar al 25% (17). Este porcentaje se reduce significativamente si se realiza mediante la cirugía micrográfica de Mohs (MMS) (32). O'Connor y colaboradores realizaron una revisión retrospectiva de 95 pacientes tratados en la Clínica Mayo. Esta incluyó un informe sobre 12 pacientes tratados con MMS. La MMS tuvo una tasa de recurrencia local del 8% después de un seguimiento de 65 meses. En contraste, la recurrencia se presentó en un 22% de los pacientes que se sometieron a escisión local amplia (33). En un estudio retrospectivo de Hendi y colaboradores, la tasa de recurrencia después de MMS fue del 16% para el EPEM primaria y del 50% para el EPEM recurrente. El margen medio para eliminar todos los tumores fue de 2,5 cm, mientras que los márgenes de 5 cm fueron necesarios para obtener márgenes microscópicamente claros en el 97% de los casos (32).

La radioterapia es un tratamiento mejor tolerado, pero presenta índices de recurrencia

del 50%. Para algunos autores esta poca respuesta se debe al uso, en series antiguas, de dosis infraterapéuticas (34). Está indicada en pacientes que rechacen la cirugía, en recurrencias tras ésta o como adyuvante cuando haya márgenes afectados por el tumor en la extirpación quirúrgica (35).

Otra opción terapéutica es el láser de CO<sub>2</sub>, pero el índice de recurrencias llega al 30-60% y es muy doloroso para el paciente (17). El imiquimod tópico y la terapia fotodinámica no se recomiendan como tratamiento estándar aunque algunos autores lo han utilizado con éxito (36). En cuando a la quimioterapia, en la enfermedad localmente avanzado o metastásica, se ha publicado muchos informes anecdóticos, pero ningún estudio ha evaluado la eficacia de un régimen quimioterapéutico predefinido. Los tratamientos notificados incluyen 5-FU, 5-FU/mitomicina C, carboplatino/5-FU, dosis bajas de 5-FU/ cisplatino, dosis bajas de mitomicina C/etopósido/cisplatino, mitomicina/epirubicina/vincristina/cisplatino/5-FU, y docetaxel (37–41). Aunque ciertos casos han demostrado alguna respuesta mensurable, no se pueden extraer conclusiones.

### *5.9 Pronóstico*

El pronóstico de la enfermedad es bueno cuando se diagnostica en fases precoces logrando supervivencias mayores al 90% a los 5 años en EPEM primaria limitada a epidermis. Pero el pronóstico empeora cuando las células sobrepasan la epidermis o cuando hay otro tumor asociado al Paget cutáneo (17). En cualquiera de las formas se precisa un seguimiento a largo plazo del paciente debido al elevado índice de recurrencia. Varios factores pueden presagiar un mayor riesgo de muerte, tales como: presencia de invasión dérmica, niveles elevados de ACE, presencia clínica de nódulos en la lesión primaria y metástasis ganglionares bilaterales. De éstos, la presencia de invasión dérmica puede ser el factor más significativo (15).

## **6. Objetivos**

### *6.1. Objetivo general*

Evaluar la evidencia en torno a la expresión del receptor HER2 en pacientes con enfermedad de Paget extramamaria

### *6.2. Objetivos específicos*

- Determinar la asociación de la positividad del receptor HER2 en la enfermedad localizada y metastásica
- Determinar si existe sobreexpresión y/o amplificación del gen *ERBB2* en la EPDM
- Determinar la relación entre el estado positivo de HER2 y el pronóstico en pacientes con EPDM.

## **7. Metodología de investigación**

### *7.1 Tipo y diseño general del estudio*

El estudio realizado corresponde a una revisión sistemática de la literatura con componente meta-analítico. La búsqueda se hizo mediante palabras clave sobre el tema (mencionadas más adelante), de forma ordenada siguiendo los pasos de la declaración Prisma(42).

### *7.2 Planteamiento de hipótesis*

#### Hipótesis nula

El receptor HER2 no está alterado en los pacientes con enfermedad de Paget extramamaria

#### Hipótesis alterna

El receptor HER2 presenta una sobreexpresión en los pacientes con enfermedad de Paget extramamaria

### *7.3 Estrategia PICOT*

*Población:* Mujeres y hombres con enfermedad de Paget extramamaria, (sin restricción de edad).

*Intervención:* Expresión del receptor HER2

*Comparación:* No expresión del receptor HER2

*Desenlaces (Outcomes):* Pronóstico de la enfermedad, presencia de metástasis

*Tipo de estudio:* Estudios clínicos aleatorizados, cohortes, casos y controles, estudios de caso, cortes transversales, descriptivos.

### *7.4 Técnica de recolección de la información*

La técnica de recolección de la información se realizó en dos etapas: búsqueda electrónica y búsqueda manual de los términos MeSH.

La búsqueda electrónica se centró en las bases de datos como Medline, Embase, Tripdatabase, Science Direct y Cochrane. Las búsquedas no se limitaron a un periodo de tiempo en las publicaciones; en Medline desde 1948 y Embase 1947. Los estudios tampoco tuvieron límite en cuanto a idiomas y se incluyeron sólo los estudios que se encontraban publicados en revistas reconocidas.

La búsqueda manual o de literatura gris estuvo enfocada en las bases de datos de Google Académico; adicionalmente, se realizó búsqueda en los lugares de registro de estudios clínicos como Clinical trials register, Clinical trials, Controlled-trials. Por último, se realizó la búsqueda de otros artículos que se encontraban en los listados de referencia de los artículos ya revisados. (Formato de bola de nieve)

#### -Estrategia de búsqueda:

Para Medline se usaron las siguientes formulas:

*("paget's"[All Fields] AND "disease"[All Fields]) OR "paget's disease"[All Fields]) AND ("receptor, erbb-2"[MeSH Terms] OR ("receptor"[All Fields] AND "erbb-2"[All Fields]) OR "erbb-2 receptor"[All Fields] OR "her 2"[All Fields] OR "genes, erbb-2"[MeSH Terms] OR ("genes"[All Fields] AND "erbb-2"[All Fields]) OR "erbb-2 genes"[All Fields])*

Para otras bases de datos, se usaron combinaciones similares con el fin de cumplir el objetivo principal del estudio.

#### -Términos Mesh

- Extramammary paget's disease
- Her-2
- Her-2 overexpression
- Her-2/neu amplification
- Erbb2 amplification
- Human epidermal growth factor receptor 2

#### Bases de datos

Medline, Embase, Cochrane, Pubmed, Google Scholar, Science Direct, tripdatabase, referencia de artículos.

### 7.5 Criterios de selección

#### Criterios de inclusión

- Estudios que contengan pacientes con enfermedad de Paget extramamaria a quienes se les realiza pruebas para HER2 o gen *ERBB2*
- Estudios en humanos de cualquier edad, sexo y raza.
- Estudios clínicos aleatorizados, cohortes, casos y controles, estudios de caso, cortes trasversales.

#### Criterios de Exclusión

- Abstracts, conferencias, congresos, comentarios, cartas al editor.
- Estudios que realizaron pruebas para HER2 o gen *ERBB2*, pero no reportan el resultado.

### 7.6 Control de sesgos

8 Se tuvo en cuenta el cegamiento y aleatorización de los individuos participantes de cada estudio. También se incluyeron la totalidad de publicaciones sobre el tema, incluidos los estudios descriptivos los cuales aportaron información valiosa de estadísticas y casos específicos. El control de sesgos más importante, se hizo clasificando cada uno de los artículos por los criterios de calidad SIGN según la Scottish “Intercollegiate Guidelines Network”

**Tabla 1. Criterios de calidad SIGN**

<b>NIVEL DE EVIDENCIA CIENTÍFICA: SCOTTISH INTERCOLLEGIATE GUIDELINES NETWORK (SIGN)</b>	
1++	Meta-análisis de gran calidad, revisiones sistemáticas de ensayos clínicos aleatorizados o ensayos clínicos aleatorizados con muy bajo riesgo de sesgos.
1+	Metaanálisis de gran calidad, revisiones sistemáticas de ensayos clínicos aleatorizados o ensayos clínicos aleatorizados con bajo riesgo de sesgos.
1-	Metaanálisis de gran calidad, revisiones sistemáticas de ensayos clínicos aleatorizados o ensayos clínicos aleatorizados con alto riesgo de sesgos.
2++	Revisiones sistemáticas de alta calidad de estudios de cohortes o de casos-controles, o estudios de cohortes o de casos-controles de alta calidad, con muy bajo riesgo de confusión, sesgos o azar y una alta probabilidad de que la relación sea causal.
2+	Estudios de cohortes o de casos-controles bien realizados, con bajo riesgo de confusión, sesgos o azar y una moderada probabilidad de que la relación sea causal
2-	Estudios de cohortes o de casos y controles con alto riesgo de sesgo
3	Estudios no analíticos, como informe de casos y series de casos
4	Opinión de expertos

### *8.5 Plan de análisis*

Una vez se eligieron los artículos que cumplieron criterios de inclusión, se citaron: el título del artículo, revista y año de publicación, tipo de estudio, número de pacientes para el estudio y principales resultados obtenidos; se tuvieron en cuenta el cegamiento y asignación aleatoria en el caso de estudios analíticos o ensayos clínicos. Todos los artículos fueron clasificados según la escala de evidencia, con el fin de evaluar la calidad de la información aportada por el presente estudio.

También se hizo una descripción narrativa de los principales hallazgos en los estudios incluidos.

Teniendo en cuenta los datos encontrados, se llevó a cabo un componente meta-analítico con los resultados que así lo permitieran. Las medidas de resumen fueron promedios aritméticos de los resultados expresados en términos cuantitativos y proporciones de los resultados en términos cualitativos. Para esto fue necesaria la sumatoria de la totalidad de los casos en forma agrupada.

### *8.6 Aspectos éticos*

El presente trabajo de investigación se realizó posterior a leer y conocer la declaración de Helsinki, en la cual se establecen las normas de investigación en seres humanos, teniendo como base los principios bioéticos de beneficencia, no maleficencia, justicia y autonomía. Además se tuvieron en cuenta los principios establecidos en la resolución 8430/93, que enfatiza que toda investigación en la que el ser humano sea sujeto de estudio, deberá prevalecer el criterio del respeto a su dignidad y la protección de sus derechos y bienestar (no aplican ninguna de las dos porque no estamos tratando con pacientes).

Teniendo en cuenta lo anterior y según el artículo 11 de la mencionada resolución, la investigación se considera sin riesgo, ya que este estudio se trata de una revisión sistemática de la literatura. Por lo tanto, no se requiere de la utilización de consentimiento informado ni tampoco de la presentación ante comité de ética de la Universidad del Rosario o del Hospital Universitario Mayor Mederi. Se cuenta con la aprobación por parte de ambos por convenio asistencial – académico. Finalmente, no se declaran conflictos éticos, ni intereses comunes y/o patrocinio.

## 8 Aspectos administrativos

### 8.1 Cronograma de actividades

**Tabla 2** Cronograma de estudio

EXPRESIÓN DE HER-2 EN LA ENFERMEDAD DE PAGET EXTRAMAMARIA										
ACTIVIDADES		2016			2017			2018		
		Ago	Sep	Sep-Dic	Ene-Mar	Abr-Jul	Ago-Dic	Ene	Feb	Mar
1	Idea de investigación	X								
2	Pregunta de investigación		X							
4	Realización del protocolo de investigación			X						
5	Búsqueda de la literatura				X					
7	Revisión y elección de artículos					X				
9	Recopilación y análisis de los resultados						X			
8	Digitación de los resultados							X		
10	Construcción del documento final								X	
11	Revisión de pares académicos de los documentos									X



## 8.2 Presupuesto

No existe conflictos de intereses externos ni patrocinio de entidad que pudiera comprometer los resultados del estudio

Los recursos económicos provienen del investigador.

**Tabla 3.** *Presupuesto*

<b>RUBROS</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Valor individual</b>	<b>Valor total</b>
<b>Personal</b>			
Personal	5	No financiable	0
<b>Materiales</b>			
Cartucho impresora	2	\$ 50.000	\$ 100.000
Carpetas	3	\$ 4.000	\$ 12.000
Fotocopias y material bibliográfico	400	\$ 100 c/u	\$400.000
<b>Equipos</b>			
Computador portátil	1	\$1.000.000	\$1.000.000
<b>Servicios</b>			
Internet	10 meses	\$ 80.000	\$ 800.000
Celular	10 meses	\$ 60.000	\$ 600.000
Otros	---	---	0
<b>Transporte</b>			
Gasolina	10 meses	\$ 60.000	\$ 600.000
Parqueadero	10meses	\$ 70.000	\$ 700.000
<b>TOTAL GENERAL</b>			<b>\$4.212.000</b>

8.3 Organigrama

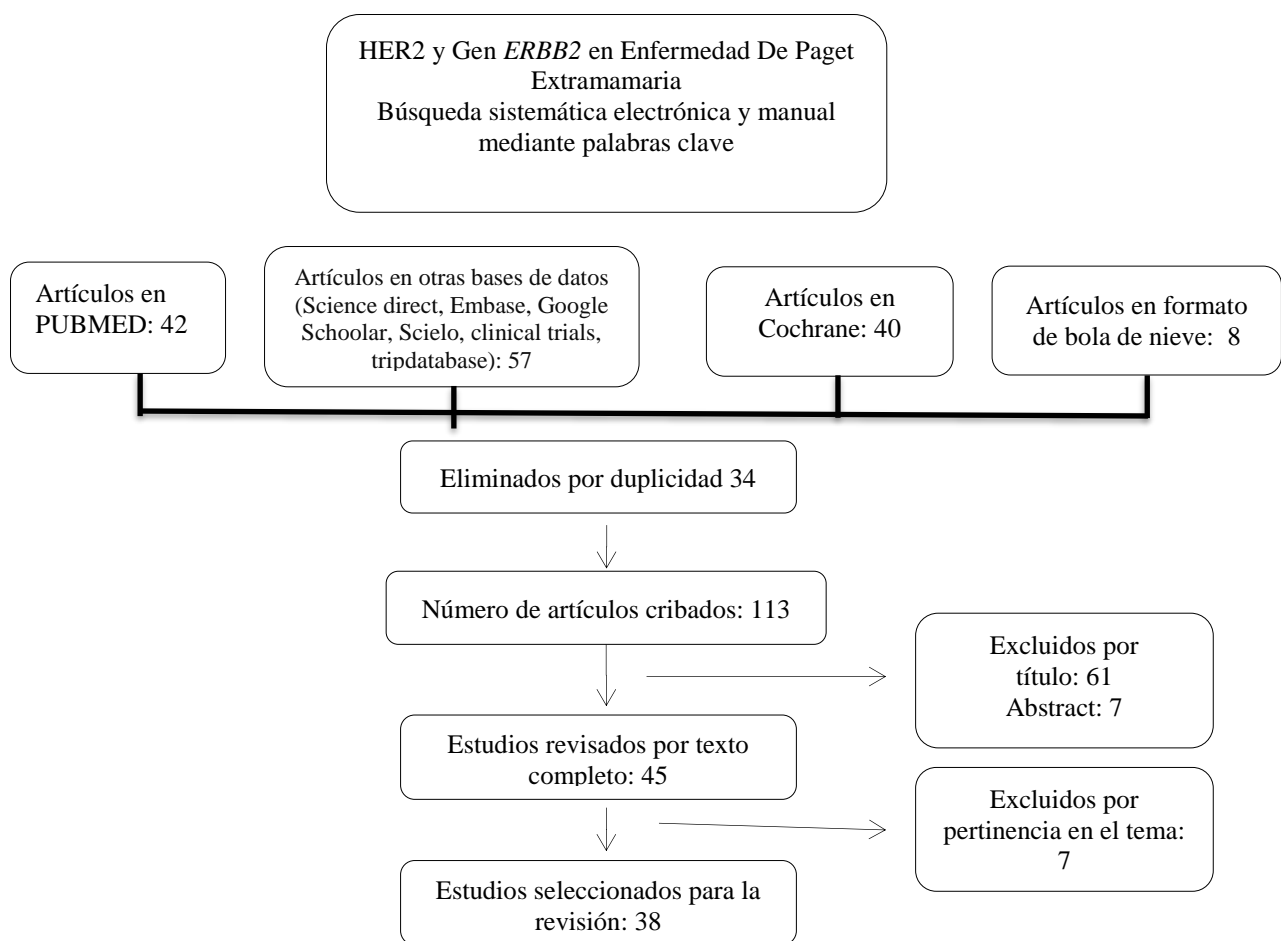
**Figura 3 Organigrama**



## 9. Resultados

Se evaluó la evidencia en torno a las implicaciones clínicas de la expresión del receptor HER2 en pacientes con enfermedad de Paget extramamaria, incluyendo todos los artículos relacionados con el tema (sin límite de tiempo), que fueran originales.

**Figura 2** *Flujograma según declaración Prisma (43) para revisiones sistemáticas de la literatura.*



En el periodo entre 1990 y 2017 se encontraron 147 artículos según la búsqueda por palabras clave en las bases de datos descritas, entre los cuales 34 estaban duplicados. Se realizó la lectura completa de 45 artículos para su análisis y extracción de evidencia, de los cuales 38 fueron elegibles de manera independiente por dos de los investigadores. (a

pesar que la revisión sistemática se hizo sin límite de tiempo, la primera publicación que apareció al respecto fue en el año 1990)

**Tabla 4.** Resultados de la búsqueda en la literatura por bases de datos.

<b>Bases de datos/ARTICULOS</b>	<b>Encontrados</b>	<b>Incluidos*</b>	<b>Duplicado*</b>
Pubmed/medline	42	38	24
Embase	12	10	2
Cochrane	40	34	26
Science direct	1	1	0
Google Scholar	34	15	12
Tripdatabase	10	7	3
Bola de nieve	8	8	0
<b>TOTAL</b>	<b>147</b>	<b>113</b>	<b>67</b>

Fuente: Autor, 2018. \* Artículos incluidos y duplicados por cada base de datos

La principal base de datos fue Pubmed (100%), seguida de Cochrane (89.4%). Otras bases de datos como literatura gris (Google scholar) aportaron el 39.47%, y EMBASE con el 26.3%.

**Tabla 5.** Causas de exclusión

<b>Causa de exclusión</b>	<b>N</b>
Titulo	61
Pertinencia en el resumen	7
Desenlace medible	7
Tipo de estudio	0
Repetidos	34
<b>TOTAL</b>	<b>109</b>

Fuente: Autor, 2018

Al evaluar la calidad de la evidencia (según guías SIGN, ver tabla 1), se encontró que todos aportan evidencia 3 (por ser en su totalidad descriptivos). Al calcular la

homogeneidad de los artículos se encontró un valor de  $I^2= 0.37$  lo que permite concluir que todos los artículos fueron homogéneos, para su comparación entre sí.

Después de realizar la búsqueda en las principales bases de datos, se encontraron 38 artículos elegibles, con 692 casos reportados. Se resumen los datos a continuación (según los objetivos del estudio).

**Tabla 6.** *Caracterización de la población (componente meta-analítico)*

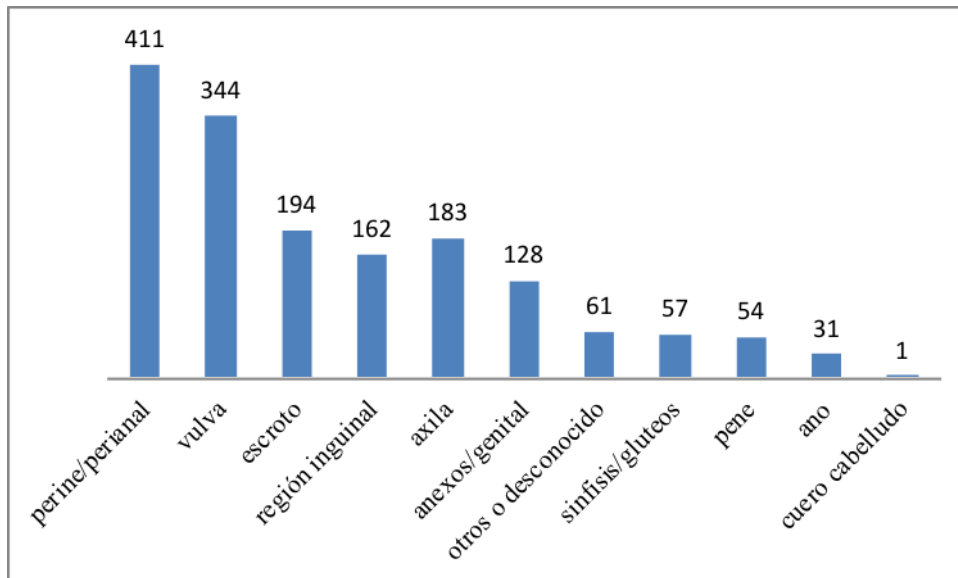
<b>Variable</b>	<b>Artículos</b>	<b>características</b>	<b>Cantidad de pacientes</b>	<b>%</b>
Género (n=618)	34 artículos	Hombre	316	51.1%
		Mujer	302	48.8%
Sobreexpresión her-2 (n=692)	38 artículos	Positivo	296	42.77%
Amplificación (n=296)	19 artículos	Positivo	33	11.1%
Invasión (n=543)	21 artículos	Si	474	87.2%
		No	69	12.7%
Tipo de invasión (n=384)	14 artículos	Superficial	228	59.3%
		Profunda	156	40.6%
Metástasis local (n=336)	23 artículos	Si	258	76.78%
Metástasis a distancia (n=258)	22 artículos	Si	53	20.54%
Asociación con otro Ca (n=258)	28 artículos	Si	42	16.27%
Recurrencia (n=313)	18 artículos	Si	294	93.9%
Pronóstico (n=219)	13 artículos	Muerte	14	6.3%

Fuente: diseño propio del autor 2018

En la totalidad de los artículos se citó sobreexpresión en (38 artículos). El receptor HER2 se sobreexpresó en el 42.77% de los casos. Las técnicas utilizadas fueron en su mayoría Herceptest-DAKO (349 pacientes), otras menos frecuentes como novocastra (n=41), tritón n=22 casos CB11 con n=54 casos, y 208 casos que no especifican la técnica de inmunohistoquímica.

Solamente 19 artículos hablan de amplificación, 33/296 pacientes reportan amplificación positiva. En un artículo (44) refieren que no se encontró como factor independiente para pronóstico.

**Figura 4.** Localización de la enfermedad de Paget extramamaria



Fuente: Diseño propio del autor 2018

En cuanto a la localización de las lesiones las más comunes fueron periné, vulva y escroto (ver figura 4).

En cuanto a la invasión de la EPDM, 21 artículos citaron el tema con 543 pacientes; el 87.2% presentaron algún tipo de invasión localizada. Tan solo 14 artículos especifican si es superficial y profunda, con los siguientes porcentajes: superficial 59.3%, profunda 40.6%.

De 23 artículos que describen metástasis localizada (ganglios), el 76.8% de los pacientes presentaron ganglios positivos. De 22 artículos que mencionaron la presencia de metástasis a distancia con 258 pacientes, el 3.4% fue positiva: la localización de las

mismas más comunes fueron: hígado (con dos casos), huesos (con dos casos), y anexial, pulmón medula ósea, con un caso cada uno.

Con respecto a la asociación con otros tipos de neoplasia, 28 artículos relacionaron su presencia común, entre los cuales el 16.2% fue positiva: los órganos más comunes fueron: 7 colorrectal, 8 anorrectales, 4 próstata, 4 carcinoma de células transicionales, 4 adenocarcinoma subyacente, 2 hígado, 2 huesos, 2 renales, 1 células escamosas, 4 glándulas sudoríparas.

Con respecto a la recurrencia, 18 artículos citaron el tema. 313 pacientes. 294 refieren el estado de HER2 positivo.

Con respecto al pronóstico, el 6.3% de los pacientes reportados murieron. La causa de muerte fue compromiso metastásico en todos los casos. La mediana de muerte fue 9 meses cuando hubo metástasis.

Con el fin de realizar una comparación de los artículos que hablan de la sobreexpresión del HER2 (692 pacientes) con cada una de las variables se realizó el conteo de los pacientes positivos y negativos y se encontró que (Ver tabla 7):

**Tabla 7.** *Relación de cada una de las variables con sobreexpresión HER2*

Variable	Relación en número de casos
Invasión (n=592)	519 vs 73
Invasión superficial (n= 384)	358 vs 26
Invasión profunda (n=384)	226 vs 158
Metástasis regional (n=336)	267 vs 69
Metástasis a distancia (n=258)	87 vs 171
Recurrencia (n=313)	303 vs 10
Muerte (n= 219)	74 vs 145

Fuente: diseño propio del autor 2018

Con el fin de realizar una comparación de los artículos que mencionaron la amplificación del gen *ERBB2* (296 pacientes) con cada una de las variables se realizó al igual la cuantificación de casos positivos y negativos encontrando que: (Ver tabla 8):

**Tabla 8.** *Relación de cada una de las variables con amplificación del gen ERBB2 (n=296)*

	Relación en número de casos
Invasión	291 vs 5
Invasión superficial	277 vs 19
Invasión profunda	216 vs 80
Metástasis regional	175 vs 121
Metástasis a distancia	198 vs 98
Recurrencia	149 vs 147
Pronóstico (muerte)	74 vs 222

Fuente: diseño propio del autor 2018

Con el fin de evaluar la fuerza de la sobreexpresión del marcador HER2 se estableció la cantidad de pacientes que presentaron un resultado inequívoco (+), débilmente (++) y positivo (+++), los cuales se presentan en la tabla 9.

**Tabla 9.** *Relación del resultado inmunohistoquímica de la expresión HER2*

	+	++	+++
26 artículos n=520 pacientes	57 pacientes (10.96%)	314 pacientes (60.38%)	297 pacientes (57.1%)

Fuente: diseño propio del autor 2018

Se aclara que, al hacer la cuantificación de pacientes con resultados ++ o +++, hubo artículos que no especificaron la cantidad de pacientes en un grupo o el otro (debido a que reportaron un resultado simplemente “positivo”).



## 10. Discusión

La EPEM es una rara e inespecífica enfermedad maligna que afecta áreas de la piel rica de glándulas apocrinas como la región genital y las axilas (23). En el momento de la presentación inicial, la mayoría de los pacientes con EPEM son diagnosticados erróneamente, ya que las biopsias generalmente no se realizan (15). Debido a su baja sospecha, entre la comunidad médica, la aplicación de cremas con esteroides y agentes antimicóticos o antibióticos suelen ser las primeras terapias, reservando la biopsia como último recurso, por lo que el diagnóstico casi siempre se realiza de forma tardía (17). Según datos en literatura, el intervalo promedio desde el inicio de los síntomas hasta el diagnóstico histológico puede llegar a ser hasta de tres años (15); la extensión de la enfermedad demostrada histológicamente es comúnmente mucho mayor que la lesión visible porque la lesión tiende a ser invasiva y difusa en muchos casos (17). El tratamiento recomendado es la escisión local amplia incluyendo los anexos de la piel y los ganglios linfáticos regionales en caso de enfermedad invasiva (13). Sin embargo, la alta tasa de recurrencia incluso después de una escisión local extensa, representa un dilema terapéutico. El manejo adecuado de pacientes con lesiones extensas o enfermedades recurrentes aún está lejos de resolverse por completo; la sobreexpresión de HER2 se ha demostrado en la EPM en varios estudios (5), pero rara vez se ha investigado en la EPEM.

Varios estudios han demostrado una frecuente amplificación del gen *ERBB2*, o la sobreexpresión de la proteína HER2, o ambos (11,16), con un rango de positividad que oscila entre el 5 al 80% de los casos de EPEM (5), demostrando la gran diversidad de los estudios publicados hasta la fecha. Se cree que la importancia de la expresión de esta oncoproteína es semejante a la positividad en el cáncer de mama, pues puede desempeñar un papel en la promoción de la propagación intraepitelial de las células malignas (13,14).

El presente estudio es el más grande hasta la fecha, con 38 artículos analizados y 692 casos recopilados. Además, corresponde a la primera revisión sistemática de la literatura con análisis meta analítico ya que actualmente solo se encuentran publicados casos y reportes de casos en la literatura universal. En primera instancia se evaluó si el HER2 se

encontraba sobrepresado y se encontró sobrepresión (++) y (+++) en 296 de 692 casos (42,77%). Cabe anotar que se encontraron varias inconsistencias en la metodología histopatológica y en la categorización de la positividad del HER2 en varios de los artículos. Por otro lado 208 casos no reportaron la técnica de inmunohistoquímica ni el criterio de positividad utilizado. Esto puede ser la causa de la gran discordancia presentada en los estudios previos con un rango que varía del 5 al 80%.

Teniendo en cuenta lo anterior, se tomaron los artículos que utilizaron las recomendaciones actuales para la evaluación del HER2 del Colegio Americano de Patología, y se encontró 7 artículos con 80 casos positivos de 195 pacientes (41%). Curiosamente el porcentaje de positividad fue muy similar a la sobrepresión global. La amplificación del gen *ERBB2* demostrada por FISH o CISH fue positiva para 33 de los 296 casos ++ y +++ (11.1%).

Estos datos no son acordes con el estudio de Tanaka (104 casos), serie de casos más grande publicada a la fecha, quien encontró una sobrepresión del 15% y una amplificación del 75%. Sin embargo, en ese mismo estudio se hizo un análisis de 5 estudios publicados desde el 2004 al 2010, utilizando el enfoque HercepTest y parecen haber empleado métodos de inmunotinción y puntuación estandarizados similares a los utilizados en el presente. El número total de pacientes fue de 132, y 53 de los tumores (40%) tenían una puntuación de HER2 evaluada inmunohistoquímicamente de ++ o +++, una cifra muy similar a la arrojada en nuestro estudio. No ocurrió así con la amplificación ya que dicho análisis arrojó un porcentaje de amplificación del 45 % (5 casos positivos de 11) versus un 11.1% arrojado en nuestro estudio. Esto puede deberse a al menor número de pacientes analizados por Tanaka (45).

Por otro lado, en el presente estudio, se evaluaron las variables más importantes y relevantes teniendo en cuenta la historia natural de la enfermedad. Con respecto al género llama la atención una relación casi homogénea entre géneros con 51 vs 49% respectivamente para masculino y femenino, no acorde con las series de casos publicadas a la fecha, en los cuales la mayoría de los casos son pacientes masculinos e incluso en algunas series reportan un porcentaje en hombres que duplica al de las mujeres. En cuanto al sitio anatómico se observó una tendencia similar con una mayor proporción de casos en la vulva y región perineal en las mujeres y escroto y región

perianal en hombres. Adicionalmente se estudiaron los factores de mal pronóstico como invasión dérmica, superficial y profunda, metástasis regional y a distancia, asociación con otros carcinomas y recurrencia posterior al tratamiento. No se evaluaron márgenes quirúrgicas puesto que la extensa mayoría de los artículos no reportaban estos datos. Llama la atención el porcentaje de invasión dérmica en los casos reportados (87.2%), esto se debe posiblemente a que el diagnóstico de la enfermedad es tardío y que al momento de realizar el tratamiento la enfermedad ya está avanzada. Igualmente ocurre con la metástasis a regional con un porcentaje de 76.78% y con la recurrencia de la enfermedad posterior al tratamiento con un porcentaje de 93.9%; situación que permite hacer inferencias sobre la agresividad de la enfermedad y de lo mórbida que puede llegar a ser. El porcentaje de metástasis a distancia y de muerte es mucho menor, sin embargo, no deja de ser importante ya que el pronóstico vital está directamente relacionado con la presencia de metástasis. La mediana de muerte fue de 9 meses cuando estuvo presente y el peor pronóstico fué la metástasis hepática (46).

A pesar de que no existe un consenso o guías de manejo para el uso de terapias blanco anti-HER2, se encontraron 4 casos de manejo experimental tratados con este tipo de terapias en combinación o no con regímenes de quimioterapia. 3 casos fueron tratados con trastuzumab y uno con Lapatinib. Todos reportaron regresión de las lesiones, mejoría de la calidad de vida y se encontraban vivos al momento de la publicación.

Finalmente se intentó buscar asociación entre cada una de las variables pronósticas y la positividad de HER2. El estudio de Tanaka reportó sobreexpresión de HER2 con mayor frecuencia en EPEM en invasión profunda que en invasión superficial (29% frente a 6%,  $P = 0.013$ ). Por otro lado, se observó una relación de amplificación del gen ERBB2 significativamente mayor en enfermedad invasiva profunda vs en la superficial (26% frente a 2.8%,  $P < 0.001$ ). Adicionalmente los casos amplificados se encontraron con mayor frecuencia en casos con metástasis a ganglios linfáticos múltiples a diferencia de aquellos con metástasis nulas o únicas. Para poder sacar conclusiones en nuestro estudio con respecto a las diferentes variables pronósticas (relación de la sobreexpresión HER2 con invasión, metástasis, pronóstico) solo fue posible hacer la cuantificación en los casos que reportaron, sin embargo, al conocer las implicaciones clínicas del mismo, no fue posible concluir esta relación por falta de datos suficientes, especialmente negativos.

No obstante, los resultados observados sugieren que las células de Paget HER2 positivas pueden tener un mayor potencial invasivo y metastásico, con un peor pronóstico de la enfermedad, igual a lo observado en la enfermedad Paget mamaria y el cáncer de seno. Se puede especular que los mecanismos moleculares de tal invasividad y metastatizabilidad se deben a una vía de transducción de señales a través de la activación del receptor HER2, que puede desempeñar un papel en la promoción de la propagación intraepidérmica de células malignas, y también ayudar a controlar proliferación, migración e invasión.

El presente estudio se presenta como la revisión más extensa y sin límite de tiempo sobre el tema, realizada a la fecha y permite conocer la evidencia de la sobreexpresión del HER2 en la enfermedad de Paget extra mamaria, tanto en hombres como en mujeres. Adicionalmente es el primer estudio que evalúa objetivamente y teniendo en cuenta una técnica de evaluación del HER2 homogénea, lo que arroja como resultado una proporción más real de la positividad de este marcador, que hasta la fecha seguía siendo incierto.

## 11. Conclusiones

La EPEM es una enfermedad rara pero importante por la gran morbilidad que genera y por ser potencialmente mortal, además de ser un desafío diagnóstico y terapéutico al que se enfrentan los clínicos. Queda demostrado que existe sobreexpresión y/o amplificación del HER2 en la EPEM con un porcentaje de positividad objetivo y real (42%), respondiendo el interrogante de investigación principal objeto del presente estudio y estrechando la gran variedad de datos reportados hasta la fecha.

Varios estudios han informado sobre la sobreexpresión del receptor HER2 en la EPEM sin embargo, este es sin duda el estudio a mayor escala que evalúa sobreexpresión y amplificación génica del HER2 en casos de EPEM. Un subconjunto de casos de EPEM, tanto intraepiteliales como invasivos, muestran sobreexpresión de HER2 y amplificación génica. Adicionalmente la positividad de HER2 se correlaciona con casos biológicamente más agresivos, es decir, aquellos con invasión profunda, metástasis a ganglios linfáticos y, por ende, peor pronóstico.

En conclusión, con base en la experiencia reportada para carcinoma de mama HER2 positivo, la terapia con terapias blanco anti-HER2 debe considerarse como una posible nueva estrategia terapéutica en casos seleccionados de EPEM con sobreexpresión y/o amplificación de HER2.

## 12. Recomendaciones

- El receptor HER2 es un biomarcador importante de mal pronóstico pues puede predecir un comportamiento agresivo de la enfermedad. Debido a su alto valor pronóstico y predictivo, sumado al gran porcentaje de pacientes con positividad del marcador HER2, este debe ser solicitado de rutina en la EPEM.
- El HER2 debe ser evaluado según las últimas recomendaciones del Colegio Americano de Patología, al igual que para el cáncer de mama.
- En casos HER2 positivos es aconsejable utilizar como opción terapéutica, especialmente, en casos con metástasis regional o a distancia, terapias blanco anti-HER2 como el trastuzumab. Sin embargo, no se ha estandarizado la dosis, duración y esquema de tratamiento. Para ello se debe realizar una guía de manejo al igual que existe para el tratamiento del cáncer de mama.
- Estudios futuros deben evaluar las mismas variables y emplear métodos de inmunotinción y puntuación de HER2 estandarizados. Adicionalmente se debe discriminar en cada variable para casos positivos y negativos

### 13. Referencias bibliográficas

1. Paget J. On disease of the mammary areola preceding cancer of the mammary gland. *St Bartholomew's Hosp Rep.* 1874;10:87–9.
2. Crocker H. Paget's disease affecting the scrotum and penis. *Trans Pathol Soc London.* 1889;40:187–91.
3. Lopes Filho LL, Lopes IMRS, Lopes LRS, Enokihara MMSS, Michalany AO, Matsunaga N. Mammary and extramammary Paget's disease. *An Bras Dermatol.* 2015;90(2):219–31.
4. Moasser MM. The oncogene HER2; its signaling and transforming functions and its role in human cancer pathogenesis. *Oncogene.* 2007;26(45):6469–87.
5. Tanaka R, Sasajima Y, Tsuda H, Namikawa K, Tsutsumida A, Otsuka F, et al. Human epidermal growth factor receptor 2 protein overexpression and gene amplification in extramammary Paget disease. *Br J Dermatol.* 2013;168(6):1259–66.
6. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ulrich A, McGuire WL. Human breast cancer: Correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science (80- ).* 1987;235:177–82.
7. Slamon D, Pegram M. Rationale for trastuzumab (Herceptin) in adjuvant breast cancer trials. *Semin Oncol.* 2001;28:13–9.
8. Piccart M, Lohrisch C, Di Leo A, Larsimont D. The predictive value of HER2 in breast cancer. *Oncology.* 2001;61(2):73–82.
9. Yeon CH, Pegram MD. Anti-erbB-2 antibody trastuzumab in the treatment of HER2-amplified breast cancer. *Invest New Drugs.* 2005;23(5):391–409.
10. Karam A, Berek JS, Stenson A, Rao JY, Dorigo O. HER-2/neu targeting for recurrent vulvar Paget's disease. A case report and literature review. *Gynecol Oncol. Elsevier Inc.;* 2008;111(3):568–71.
11. Tanskanen M, Jahkola T, Asko-Seljavaara S, Jalkanen J, Isola J. HER2 oncogene amplification in extramammary Paget's disease. *Histopathology.* 2003;42(6):575–9.
12. Takahagi S, Noda H, Kamegashira A, Madokoro N, Hori I, Shindo H, et al. Metastatic extramammary Paget's disease treated with paclitaxel and trastuzumab combination chemotherapy. *J Dermatol.* 2009;36(8):457–61.

13. Kanitakis J. Mammary and extramammary Paget's disease. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2007;5(21):581–90.
14. Sánchez J, Molinero J, Ferreres J, Masferrer E. Enfermedad de Paget extramamaria. *Semergen.* 2011;37(9):504–7.
15. Hatta N, Yamada M, Hirano T, Fujimoto A, Morita R. Extramammary Paget's disease: treatment, prognostic factors and outcome in 76 patients. *Br J Dermatol.* 2008;158(2):313–8.
16. Meissner K, Riviere A, Haupt G. Study of neu-protein expression in mammary Paget's disease with and without underlying breast carcinoma and in extramammary Paget's disease. *Am J Pathol.* 1990;137(6):1305–9.
17. Tanaka VD, Sanches JA, Torezan L, Niwa AB, Festa Neto C. Mammary and extramammary Paget's disease: a study of 14 cases and the associated therapeutic difficulties. *Clin (São Paulo, Brazil).* 2009;64:599–606.
18. Yao DX, Hoda SA, Chiu A, Ying L, Rosen PP. Intraepidermal cytokeratin 7 immunoreactive cells in the non-neoplastic nipple may represent interepithelial extension of lactiferous duct cells. *Histopathology.* 2002;40(3):230–6.
19. Smith KJ, Tuur S, Corvette D, Lupton GP, Skelton HG. Cytokeratin 7 staining in mammary and extramammary Paget's disease. *Mod Pathol.* 1997;10(11):1069–74.
20. Kanitakis J, Thivolet J, Claudy A. p53 protein expression in mammary and extramammary Paget's disease. *Anticancer Res.* 1993;13:2429–2433.
21. Sek P, Zawrocki A, Biernat W, Piekarski JH. HER2 molecular subtype is a dominant subtype of mammary Paget's cells. An immunohistochemical study. *Histopathology.* 2010;57(4):564–71.
22. Shepherd V, Davidson EJ, Davies-Humphreys J. Extramammary Paget's disease. *Int J Obstet Gynaecol.* 2005;112:273–9.
23. Lloyd J, Flanagan AM. Mammary and extramammary Paget's disease. *J Clin Pathol.* 2000;53(10):742–9.
24. Schettini F, Buono G, Cardalesi C, Desideri I, De Placido S, Del Mastro L. Hormone Receptor/Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-positive breast cancer: Where we are now and where we are going. *Cancer Treat Rev. Elsevier Ltd;* 2016;46:20–6.
25. Chilukuri S, Page R, Reed JA, Friedman J, Orengo I. Ectopic extramammary



- Paget's disease arising on the cheek. *Dermatologic Surg.* 2002;28(5):430–3.
26. Cohen MA, Hanly A, Poulos E, Goldstein GD. Extramammary Paget's disease presenting on the face. *Dermatol Surg.* 2004;30(10):1361–3.
  27. Onishi Y, Ohara K. Ectopic extramammary Paget's disease affecting the upper abdomen. *Br J Dermatol.* 1996;134(5):958–61.
  28. Gonzalez-Castro J, Iranzo P, Palou J. Extramammary Paget's disease involving the external ear. *Br J Dermatol.* 1998;138(5):914–5.
  29. Mckee PH, Hertogs KT. Endocervical adenocarcinoma and vulval Paget's disease : a significant association. *Br J Dermatol.* 1980;103(4):443–8.
  30. Chanda JJ, Melbourne MD. Clinical reviews Extramammary Paget's disease : Prognosis and relationship to internal malignancy. *J Am Acad Dermatol.* American Academy of Dermatology, Inc.; 1985;13(6):1009–14.
  31. Liegl B, Leibl S, Gogg-Kamerer M, Tessaro B, Horn L, Moinfar F. Mammary and extramammary Paget's disease : an immunohistochemical study of 83 cases. *Histopathology.* 2007;50:439–47.
  32. Hendi A, Brodland DG, Zitelli JA. Extramammary Paget's disease: Surgical treatment with Mohs micrographic surgery. *J Am Acad Dermatol.* 2004;51(5):767–73.
  33. O'connor WJ, Lim KK, Zalla MJ, Gagnot M, Otley CC, Nguyen TH, et al. Comparison of Mohs Micrographic Surgery and Wide Excision for Extramammary Paget's Disease. *Dermatologic Surg.* 2003;29(7):723–7.
  34. Brown RS, Lankester KJ, Spittle MF. Radiotherapy or surgery in perianal paget's disease? *Br J Radiol.* 2000;73(867):340.
  35. Moreno-Arias GA, Conill C, Sola-Casas MA, Mascaro-Galy JM, Grimalt R. Radiotherapy for in situ extramammary Paget disease of the vulva. *J Dermatolog Treat.* 2003;14(2):119–23.
  36. Vereecken P, Awada A, Ghanem G, Marques da Costa C, Larsimont D, Simoens C, et al. A therapeutic approach to perianal extramammary Paget's disease: topical imiquimod can be useful to prevent or defer surgery. *Med Sci Monit.* 2007;13(6):75–7.
  37. Kariya K, Tsuji T, Schwartz RA. Trial of low-dose 5-fluorouracil/cisplatin therapy for advanced extramammary Paget's disease. *Dermatol Surg.* 2004;30(2 Pt 2):341–4.

38. Belezney KM, Levesque MA, Gill S. Response to 5-fluorouracil in metastatic extramammary Paget disease of the scrotum presenting as pancytopenia and back pain. *Curr Oncol*. 2009;16(5):81–3.
39. Watanabe Y, Hoshiai H, Ueda H, Nakai H, Obata K, Noda K. Low-dose mitomycin C, etoposide, and cisplatin for invasive vulvar Paget's disease. *Int J Gynecol Cancer*. 2002;12(3):304–7.
40. Yamazaki N, Yamamoto A, Wada T, Ishikawa M, Moriya Y, Nakanishi Y. A case of metastatic extramammary Paget's disease that responded to combination chemotherapy. *J Dermatol*. 1999;26(5):311–6.
41. Mochitomi Y, Sakamoto R, Gushi A, Hashiguchi T, Mera K, Matsushita S, et al. Extramammary Paget's disease/carcinoma successfully treated with a combination chemotherapy: report of two cases. *J Dermatol*. 2005;32:632–7.
42. Welch V, Petticrew M, Tugwell P, Moher D, Neill JO, Waters E et al. Extensión PRISMA-Equidad 2012 : guías para la escritura y la publicación de revisiones sistemáticas enfocadas en la equidad en salud. *Rev Panam Salud Pública*. 2013;34(4):60–8.
43. Welch V, Petticrew M, Tugwell P, Moher D, Neill JO, Waters E, et al. Extensión PRISMA-Equidad 2012 : guías para la escritura y la publicación de revisiones sistemáticas enfocadas en la equidad en salud \*. 2013;34(4):60–8.
44. Tanaka R, Sasajima Y, Tsuda H, Namikawa K, Tsutsumida A, Otsuka F YN. Human epidermal growth factor receptor 2 protein overexpression and gene amplification in extramammary Paget disease. *Br J Dermatol*. 2013;168–6(1259–66).
45. Tanaka R(1),(2), Sasajima Y(3),(4), Tsuda H(3),(5), Namikawa K(6) T, A(6), Tsutsumida A(6), Fujisawa Y(7), Fujimoto M(6),(7) YN. Concordance of the HER2 protein and gene status between primary and corresponding lymph node metastatic sites of extramammary Paget disease. *Clin Exp Metastasis*. 2016;33(7):687–97.
46. Choi YD(1), Cho NH, Park YS, Cho SH, Lee G PK. Lymphovascular and marginal invasion as useful prognostic indicators and the role of c-erbB-2 in patients with male extramammary Paget's disease: a study of 31 patients. *J Urol*. 2005;174(2):561–5.