

ORIGINALES

Enfermedad de Paget de la vulva: estudio inmunohistoquímico

M. Sánchez y J.V. Torres

Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología. Facultad de Medicina y Odontología de Valencia. Valencia. España.

SUMMARY

Paget's disease of the vulva is a non squamous intraepithelial lesion that appears between 0.2% and 5% of the vulval cancers. The majority of these cases do not have an associated subjacent neoplasm. The origin of the Paget's cell in this disease has not been established; to this end, we analyse certain immunohistochemical characteristics of the cells: cytoqueratines 6, 7, 8, 18, 19 and 20; proteins Ki 67, BCL 2, P53 and C-erb.B2. The following are the results: all the cytoqueratines are positive except 20, and among the proteins, Ki 67 is positive, BCL 2 is negative, p53 is negative and C-erb.B2 is positive. These results support the theory that exists today, that Paget's cell originates in the vulva, in the germinative layer of the pluripotential cells of the epithelium, and not in the cutaneous appendages.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Paget de la vulva, que se encuadra dentro del grupo de los tumores epiteliales malignos de la vulva, fue descrita por primera vez en 1901 por Dubreuilh, como resultado de la presencia, en la epidermis vulvar y anejos cutáneos, de células de adenocarcinoma secretor glandular^{1,2}. Veintiséis años antes el propio Paget había publicado, por primera vez, datos sobre la enfermedad de la mama que lleva su nombre³. De todos los cánceres de vulva, la frecuencia de esta enfermedad se encuentra entre el 0,2 y el 5%^{2,4}, y afecta a mujeres en edad adulta, con una media de edad de 63 años aproximadamente⁵. El prurito persistente y el escozor son los síntomas más comunes, y su duración varía desde algunos meses hasta 10 años. En algunas pacientes puede haber flujo y exudación de la superficie cutánea ulcerada.

Aceptado para su publicación el 29 de julio de 2002.



Fig. 1. Enfermedad de Paget vulvar macroscópica. Lesiones eritematoescamosas en ambos labios mayores, más marcadas en el derecho, con extensión al periné.

En un porcentaje variable de pacientes, que alcanza un 50% en algunos estudios^{6,7}, existe otra neoplasia. La asociación más común es con un carcinoma vulvar próximo u otro tumor local, por ejemplo en la glándula de Bartholino⁸, y en cuanto a las neoplasias más distantes, el carcinoma de mama es el más común^{6,7,9-11}. Otras localizaciones, como el tracto urinario^{6,12,13}, otras porciones del tracto genital femenino^{2,4,5,12}, el área anorrectal⁶ y cualquier parte del cuerpo¹², se han publicado en asociación con la enfermedad de Paget vulvar. El riesgo de metástasis es bajo, pero el de recurrencia alcanza el 35%, tal vez debido a la extensión microscópica de las células de Paget más allá de los márgenes visibles de la lesión y a su carácter multifocal².

La apariencia de la enfermedad de Paget vulvar consiste en lesiones múltiples, eritematosas, aparentemente eccematosas, moderadamente bien demarcadas, escamosas, en forma de pápulas o placas de aspecto cartográfico (fig. 1). A veces las pápulas son hiperqueratósicas y aparecen blancas, mientras que en otras ocasiones son de aspecto papilar. Se produce con mayor frecuencia en los labios mayores, aunque también puede afectar el periné y el área perianal. En

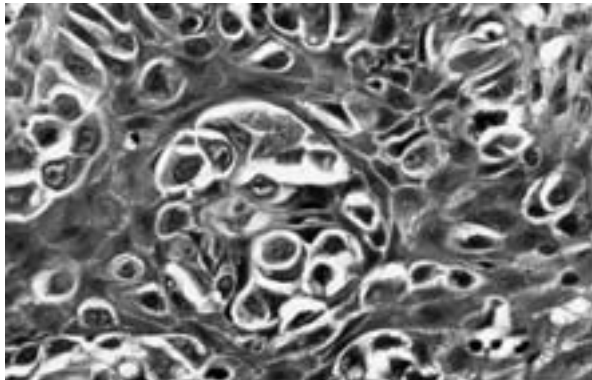


Fig. 2. «Nido» de células de Paget teñidas con hematoxilina-eosina (X 200).

algunas pacientes las lesiones pueden extenderse a los pliegues inguinales, monte de Venus, labios menores, vestíbulo y vagina.

Las células de Paget (fig. 2) son grandes, redondas u ovales, con citoplasma abundante, vacuolado, y un gran núcleo vesicular, claro, redondo u oval. El núcleo puede ser más hiper cromático, particularmente cuando se sitúa periféricamente, y es indentado, dando a la célula forma de «anillo de sello». Frecuentemente las células de Paget se extienden histológicamente más allá de los márgenes clínicos de las lesiones, y también pueden ser observadas en la capa más superficial de los folículos pilosos, en los conductos de las glándulas sudoríparas ecrinas y en las glándulas sebáceas. Respecto a su presencia en los conductos de las glándulas sudoríparas apocrinas, los datos no son concluyentes, de modo que algunos autores lo encuentran aisladamente y otros hasta en casi el 50% de sus casos^{1,2,12}.

En este trabajo analizamos la célula de Paget, en la enfermedad de Paget de la vulva, mediante un estudio inmunohistoquímico, con el objetivo de acercarnos a la célula de origen, que continúa siendo hoy día motivo de debate.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudiamos nueve casos de enfermedad de Paget vulvar, en ninguno de los cuales se encontró otra neoplasia subyacente o a distancia. La colonoscopia y mamografía realizadas resultaron negativas en todas las pacientes. La edad media fue de 59 años.

Se determinaron las citoqueratinas (CK) 6, 18, 7, 20, 8 y 19 (6 y 18 determinadas conjuntamente; 8, 18 y 19 determinadas también de forma conjunta -Cam 5.2-), y las proteínas Ki 67, BCL 2, p53 y C-erb B2. El estudio inmunohistoquímico se llevó a cabo utili-

zando el método del complejo avidina-biotina-peroxidasa en secciones de parafina. Se incluyeron muestras de control positivas y negativas, y la actividad endógena de la biotina fue eliminada utilizando un kit bloqueador (laboratorios Dako). La valoración de los resultados fue subjetiva y semicuantitativa.

Las CK son uno de los tres tipos de proteínas que constituyen los filamentos intermedios, que son parte del citoesqueleto de todas las células eucariotas. Los diferentes tipos epiteliales se caracterizan por la expresión de subtipos de CK específicas y normalmente se conservan en los tumores de origen epitelial. Moll et al identificaron 19 polipéptidos usando un gel de electroforesis 2-D¹⁴, y la CK 20 se añadió posteriormente a esta familia de proteínas¹⁵. El contenido en CK de los tejidos epiteliales varía dependiendo del tipo de tejido y del grado de diferenciación de las células. Las CK primarias aparecen en los epitelios normales en los estados iniciales de desarrollo y las secundarias se expresan en epitelios diferenciados. Las CK 8 y 18 son las primarias de epitelios simples y la 5 y la 14 son las primarias de epitelios estratificados. El resto de CK son secundarias, por lo tanto se expresan en las capas suprabasales de los distintos epitelios.

La CK 6 se encuentra en la epidermis de la planta del pie, en el epitelio del canal anal, la lengua, la epiglotis, el esófago, el exocervix, el epitelio traqueal, el folículo piloso y en las glándulas sudoríparas y sebáceas. Asimismo, es positiva en algunos carcinomas de células basales y células escamosas, adenocarcinomas de mama y carcinomas indiferenciados de bronquios (tipo celular largo).

La CK 7 se localiza en las glándulas sebáceas y sudoríparas, en las glándulas apocrinas y mamaria, el epitelio transicional de vejiga urinaria y el epitelio de vesícula biliar. La CK 7 positiva es característica de adenocarcinoma (páncreas, mama, bronquios, cloacogénicos).

La CK 20 se localiza en el epitelio foveolar de la mucosa gástrica, intestino delgado y mucosa del colon, «células en sombrilla» del urotelio, células de Merkel en la epidermis y epitelio de la cavidad bucal. La CK 20 es positiva en ciertos adenocarcinomas digestivos, incluyendo el de colon, y en las células de Merkel de la epidermis.

La cam 5.2 es un anticuerpo monoclonal antiqueratina, obtenido de líneas celulares de cáncer de colon, que reconoce las citoqueratinas 8, 18 y 19. Se encuentra muy elevado en el cáncer de mama. Las CK 8 y 18 son las citoqueratinas primarias de los epitelios simples. La CK 19 se encuentra en gran cantidad de tipos celulares epiteliales, incluyendo epitelios glan-

dulares y de conductos, y es positiva también en múltiples lesiones epiteliales, tanto benignas como malignas.

La proteína Ki 67 se localiza en 10q25-qter y está involucrada en la proliferación celular. Se expresa durante las fases activas del ciclo celular y está ausente en la fase G0. Está elevada en el cáncer de mama, riñón y próstata, entre otros. La Ki 67 expresa proliferación celular.

El *BCL-2* (B-cell leukemia/lymphoma 2) es un gen localizado en 18q21, cuya expresión es amplia, en células B y T en particular, se localiza sobre todo en la membrana mitocondrial, aunque también en otras membranas, y su función es antiapoptótica. Este gen está implicado en enfermedades como la leucemia, linfomas, neuroblastoma y cánceres de ovario y colon.

La proteína p53 es un antioncogén cuya función en el ciclo celular es bloquear el paso de G2 a M, actuando sobre el complejo ciclina B/CDK1 y estimulando la síntesis de factores inhibidores del grupo KIP/CIP, como la p21.

El C-erb B2 es un protooncogén cuya expresión se encuentra incrementada en neoplasias malignas, entre ellas las de mama y ovario, y su alteración suele acompañarse con la de la proteína p53¹⁶.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En 1986 la Sociedad Internacional para el estudio de la Enfermedad Vulvar clasificó la enfermedad de Paget de la vulva como una lesión intraepitelial no escamosa de la vulva.

En el 20-30% de las mujeres existe una neoplasia invasiva asociada de la vulva u órganos adyacentes y se cree que las células han migrado o «metastatizado» desde el tumor hasta la epidermis^{8,11,12}. En la enfermedad de mama de Paget subyace un adenocarcinoma en la práctica totalidad de los casos. Se ha considerado la posibilidad de que las lesiones sean metástasis de un tumor primario más distante⁶, posibilidad que se ha rechazado debido a que en la mayoría de las pacientes no se ha identificado tal tumor.

En la gran mayoría de las pacientes no aparece ni invasión local ni neoplasia invasiva a distancia, y las células neoplásicas parecen haberse desarrollado *in situ*^{6,11}; pero continúa siendo motivo de debate si las células se forman en la epidermis y migran a los anexos¹⁷, si se desarrollan en las glándulas sudoríparas y migran a la epidermis¹⁸ o se desarrollan simultáneamente en ambos lugares, la epidermis y los apéndices cutáneos⁶. Es decir, no se ha establecido todavía si la célula de Paget se origina en el estrato germinativo de

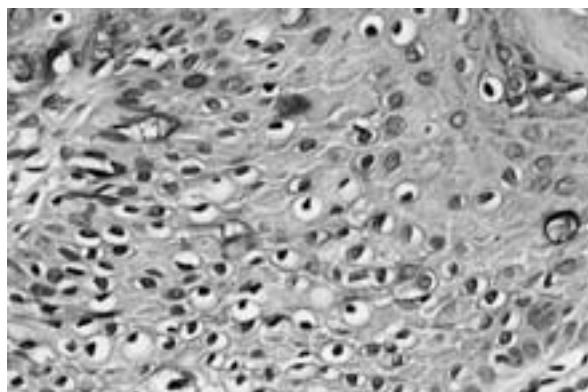


Fig. 3. Expresión de la positividad para las citoqueratinas 6 y 18 (× 100).

TABLA I. Resultados de las determinaciones de citoqueratinas y proteínas

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
CK 6, 18	++	++	+	++	++	+	+	++	++
CK 7	++	++	+	+	+	++	+	+	++
CK 20	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cam 5.2	++	+	++	++	+	++	++	+	+
Ki 67	+++	+	++	+++	+	++	+++	++	++
BCL 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
p53	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-erb B2	+++	+++	+	+++	+++	+++	+	+++	+++

CK: citoqueratina.

células pluripotenciales o, por el contrario, se origina «directamente» en el epitelio escamoso, en glándulas sudoríparas ecrinas y apocrinas o en los folículos pilosos. Actualmente la mayoría de los autores se decanta por su origen en células indiferenciadas de la epidermis^{2,19-22}.

Los resultados se presentan en la tabla 1. Las CK primarias, aquellas que aparecen en los epitelios normales en los estadios iniciales de desarrollo, resultan positivas para las CK 6 y 18, conjuntamente, (fig. 3) y para Cam 5.2 (fig. 4), apoyando así el origen en la célula pluripotencial. La CK 7 es un buen indicador de las células de Paget y sirve de ayuda para diferenciarlas de las células escamosas. La positividad para la CK 7 (fig. 5), es decir, su localización en la capa más superficial de los folículos pilosos, en los conductos de las glándulas sudoríparas ecrinas y en glándulas sebáceas no hace sino reafirmar la misma teoría, ya que su presencia en diversas localizaciones puede explicarse por la pluripotencialidad de la célula de origen. La CK 20 es negativa en la enfermedad de Paget de la vulva, teniendo en cuenta sus localizaciones normales y patológicas, y en la epidermis se loca-

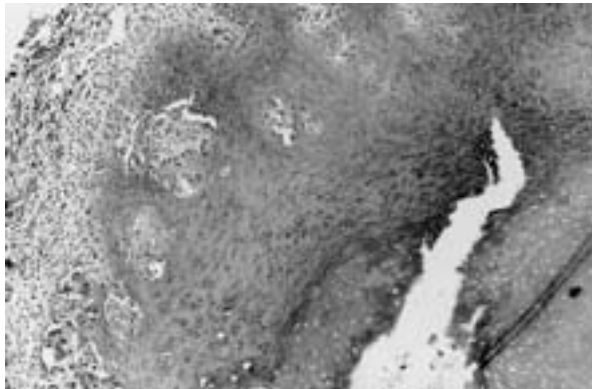


Fig. 4. Las citoqueratinas 8, 18 y 19 (Cam 5.2) son positivas (×100).

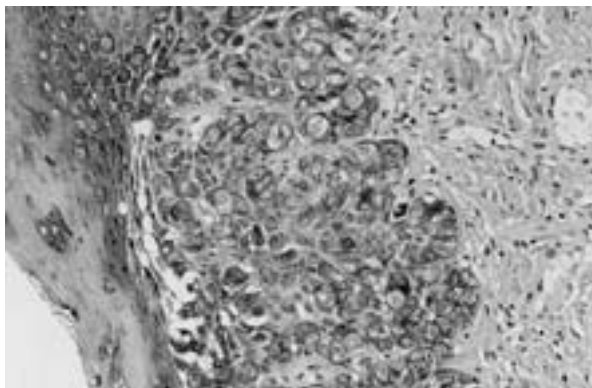


Fig. 5. Distribución amplia de la citoqueratina 7 (×50).

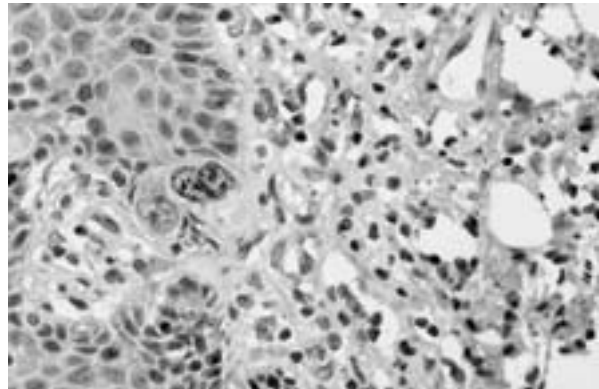


Fig. 6. Proliferación celular: Ki 67 positiva (×100).

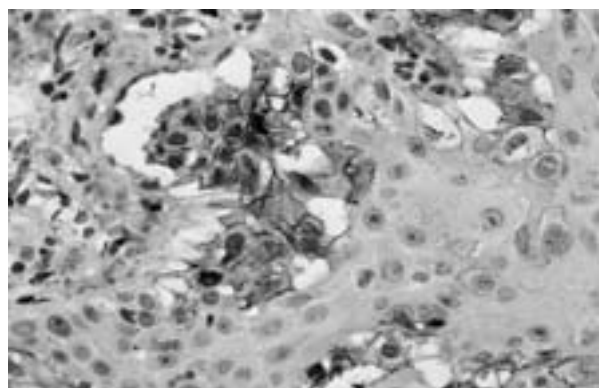


Fig. 7. Positividad para C-erb B2 (×100).

liza exclusivamente en las células de Merkel, resultado que, aunque difícilmente valorable, coincide con los obtenidos por otros autores²³.

Se han publicado dos casos de enfermedad extramamaria de Paget originada en un teratoma quístico maduro ovárico^{24,25}. En ninguno de ellos se halló un componente invasivo. La CK 7 resultó débilmente positiva y la CK 20 negativa. El teratoma quístico maduro ovárico es un tumor benigno epitelial en el que no están presentes las glándulas sudoríparas, de este modo, la aparición de células de Paget en esta localización apoya su origen en la célula pluripotencial.

La Ki 67 (fig. 6) resulta positiva, expresando de este modo proliferación celular. Se ha publicado un caso de difusión «pagetoide» de carcinoma *in situ* escamoso esofágico²⁶, enfermedad que habitualmente se diagnostica en estadios avanzados. Las células tumorales revelaron un fenotipo sugestivo de origen en

células primitivas epidérmicas pluripotenciales, así como una sobreexpresión de la p53. La alteración de la proteína p53 conduce a un desbloqueo del ciclo celular entre las fases G2 y M. En el presente estudio no se demuestra alteración de este antioncogén y los resultados publicados por otros autores son contradictorios^{23,27}. La alteración del gen *BCL-2* conduce a una apoptosis celular, pero este gen tampoco se encuentra alterado en las células de Paget analizadas. Por el contrario, la proteína C-erb B2 (fig. 7) es positiva en las células de Paget de la vulva estudiadas, expresando también proliferación neoplásica. Es curiosa la disparidad entre p53 negativa y C-erb B2 positiva, ya que ambas suelen presentarse alteradas o indemnes de forma conjunta.

En conclusión, la aproximación inmunohistoquímica realizada apoya firmemente la teoría del origen de la célula de Paget de la vulva en el estrato germinati-

vo de células pluripotenciales.

RESUMEN

La enfermedad de Paget de la vulva es una lesión intraepitelial no escamosa que comprende entre el 0,2 y el 5% de los cánceres de vulva. En la mayoría de los casos no existe asociación con otra neoplasia subyacente y no se ha establecido el origen de la célula de Paget en esta enfermedad. Para acercarnos al mismo, analizamos ciertas características inmunohistoquímicas celulares: CK 6, 7, 8, 18, 19 y 20; proteínas Ki 67, BCL 2, p 53 y C-erb B2. Los resultados obtenidos son los siguientes: todas las CK son positivas excepto la 20, Ki 67 positiva, BCL 2 negativa, p53 negativa y C-erb B2 positiva. Estos resultados apoyan la teoría, predominante en la actualidad, del origen de la célula de Paget de la vulva en el estrato germinativo de células pluripotenciales del epitelio y no en los apéndices cutáneos.

BIBLIOGRAFÍA

- Roth LM, Lee SC, Ehrlich CE. Paget's disease of the vulva. A histogenetic study of five cases including ultra-structural observations and review of the literature. *Am J Surg Pathol* 1977;1:193-206.
- Jones RE Jr, Austin C, Ackerman AB. Extramammary Paget's disease. A critical re-examination. *Am J Dermatopathol* 1979;1:101-32.
- Paget J. On disease of the mammary areola preceding cancer of the mammary gland. *St Bartholomew Hosp Rep* 1874; 10:86-9.
- Taylor PT, Stenwig JT, Klausen H. Paget's disease of the vulva: a report of 18 cases. *Gynecol Oncol* 1975;3:46-60.
- Breen JL, Smith CI, Gregori CA. Extramammary Paget's disease. *Clinical Obstet Gynecol* 1978;21:1107-15.
- Helwig EB, Graham JH. Anogenital (extramammary) Paget's disease. A clinicopathological study. *Cancer* 1963;16: 387-403.
- Fenn ME, Morley GW, Abell MR. Paget's disease of the vulva. *Obstet Gynecol* 1971;38:660-70.
- Tchang F, Okagaki T, Richart RM. Adenocarcinoma of the Bartholin's gland associated with Paget's disease of vulvar area. *Cancer* 1973;31:221-5.
- Fetherson WC, Friedrich EG Jr. The origin and significance of vulvar Paget's disease. *Obstet Gynecol* 1972;39:735-44.
- Tsukada Y, López RG, Pickren JW, Piver MS, Barlow JJ. Paget's disease of the vulva. A clinicopathologic study of eight cases. *Obstet Gynecol* 1975;45:73-8.
- Hart WR, Millman JB. Progression of intraepithelial Paget's disease of the vulva to invasive carcinoma. *Cancer* 1977;40:2333-7.
- Lee SC, Roth LM, Ehrlich C, Hall JA. Extramammary Paget's disease of the vulva. A clinicopathologic study of 13 cases. *Cancer* 1977;39:2540-9.
- Tuck SM, Williams A. Paget's disease of the vulva complicated by bladder carcinoma. Case report. *British Journal of Obstet Gynecol* 1985;92:416-8.
- Moll R, Franke WW, Schiller DA, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 1982;31:11-24.
- Moll R, Krepler R, Franke WW. Identification of protein IT of the intestinal cytoskeleton as a novel type I cytokeratin with unusual properties and expression patterns. *J Cell Biol* 1990;111:567-80.
- Atlas of genetics and cytogenetics in oncology and haematology. University Hospital Poitiers France. On line on journal and database. Disponible en: <http://www.infobiogen.fr/services/chromcancer/index.html>
- Woodruff JD. Paget's disease of the vulva. *Obstet Gynecol* 1955;5:175-85.
- Kariniemi AL, Forsman L, Wahlström T, Vesterinen E, Andersson L. Expression of differentiation antigens in mammary and extramammary Paget's disease. *Br J Dermatol* 1984;110:203-10.
- Goldblum JR, Hart WR. Vulvar Paget's disease: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 19 cases. *Am J Surg Pathol* 1997;21:1178-87.
- Goldblum JR, Hart WR. Perianal Paget's disease: a histologic and immunohistochemical study of 11 cases with and without associated rectal adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 1998;22:170-9.
- Mazoujian G, Pinkus G, Haagensen DE. Extramammary Paget's disease- evidence for an apocrine origin: an immunoperoxidase study of gross cystic disease fluid protein-15, carcinoembryonic antigen and keratin proteins. *Am J Surg Pathol* 1984;8:43-50.
- Guarner J, Cohen C, DeRose PB. Histogenesis of extramammary and mammary Paget's cells. An immunohistochemical study. *Am J Dermatopathol* 1989;11:313-8.
- Crawford D, Nimmo M, Clement PB, Thomson T, Benedet JL, Miller D, et al. Prognostic factors in Paget's disease of the vulva: a study of 21 cases. *Int J Gynecol Pathol* 1999; 18:351-9.
- Monteagudo C, Torres JV, Llombart-Bosch A. Extramammary Paget's disease arising in a mature cystic teratoma of the ovary. *Histopathology* 1999;35:582-4.
- Shimizu S, Kobayashi H, Suchi T, Torii Y, Narita K, Aoki S. Extramammary Paget's disease arising in a mature cystic teratoma of the ovary. *Am J Surg Pathol* 1991;15:1002-6.
- Chu P, Stagias J, West AB, Traube M. Diffuse pagetoid squamous cell carcinoma *in situ* of the esophagus: a case report. *Cancer* 1997;79:1865-70.
- Scheistroen M, Trope C, Kaern J, Pettersen EO, Alfsen GC,