

TITULO: "INMUNOHISTOQUIMICA EN EL APOYO DIAGNOSTICO DEL CANCER DE PROSTATA"

**TITULO CORTO: INMUNOHISTOQUIMICA Y CANCER DE PROSTATA**

**AUTORES:** Carlos Martínez Arroyo\*, Raúl Salgueiro Ergueta <sup>a</sup>, Jorge Paredes Mendoza <sup>a</sup>, Juan Manuel Marina González <sup>aa</sup>, Maria del Pilar Mata Miranda<sup>\*\*\*</sup> y Alejandra Zarate Osorno <sup>\*\*</sup>

\* Médico asociado del Servicio de Urología del Hospital Español de México.

<sup>a</sup> Médico adscrito del Servicio de Urología del Hospital Español de México.

<sup>\*\*</sup> Jefe del Servicio de Patología del Hospital Español de México.

<sup>aa</sup> Jefe del Servicio de Urología del Hospital Español de México.

<sup>\*\*\*</sup> Maestra en Ciencias. Jefe de la División de Investigación del Hospital Gral. "Dr. Manuel Gea González"

**Sedes:**

Servicio de Urología. Hospital Español de México

Servicio de Patología. Hospital Español de México

## INTRODUCCION.

Mundialmente, la incidencia del cáncer de próstata corresponde a la sexta causa mas común de cáncer, la cuarta mas común en el sexo masculino y la más común en muertes relacionadas al cáncer en varones mayores de 50 años (2) . Durante 2002 en México, el cáncer de próstata fue la segunda causa de muerte con 4231 defunciones de un total de 28,579 en el sexo masculino, lo que equivale a un porcentaje del 49%; de éstos, 4,026 (63.3%) decesos en la edad post productiva, con una tasa de 17 por 100,000 habitantes de 65 y mas años (3) (Tabla 1). La incidencia de tiempo de vida del cáncer en ciudades desarrolladas es del 14.3%, comparado con el 4.3% en las ciudades del tercer mundo. Aproximadamente un 19% de los hombres diagnosticados con cáncer de próstata mueren por esta enfermedad.

La detección precoz del cáncer de próstata es un punto prioritario de salud pública, responsable de más de 1 millón de biopsias y prostatectomías anualmente en los Estados Unidos. Actualmente se dispone de pruebas para la detección precoz del cáncer de próstata, las cuales permiten sospechar la presencia de dicho padecimiento, entre las cuales está la toma de biopsias (4); sin embargo, aún con una biopsia, en algunas ocasiones es imposible ser categórico en el diagnóstico, ya que la proliferación acinar atípica pequeña (PAAP, cuyas siglas en inglés son ASAP), puede corresponder desde una adenosis simple, atrofia, hiperplasia, hasta una neoplasia intraepitelial o un verdadero adenocarcinoma; estas entidades patológicas son morfológicamente similares y la mayoría de ellos son los grandes imitadores del cáncer de próstata; la diferencia entre éstas y el adenocarcinoma es la presencia de células basales, las cuales son fácilmente detectadas con inmunohistoquímica, ya que expresan algunos marcadores de las mismas, como las citoqueratinas de alto peso molecular, en particular la 34betaE12 y la proteína p63; también existe un marcador de cáncer de próstata, la Racemasa P504S, el cual, aún cuando no es exclusivo de ésta, su expresión en ausencia de células basales, es fuertemente sugestivo de proliferación glandular maligna.

Además hay algunos inconvenientes con las biopsias desde el punto de vista técnico; de éstos, uno muy frecuente, es que el diámetro de los cilindros obtenidos es muy estrecho, ya que se utiliza la aguja de calibre 18. Segundo, se hacen biopsias únicamente por la elevación del

antígeno prostático específico (APE) en suero, sin tener otra evidencia clínica de cáncer, lo cual sobrecarga el número de muestras, que a su vez magnifica el riesgo de mala interpretación diagnóstica por un lado, y por el otro, de encontrar mayor número de PAAPs.

El propósito de este estudio es presentar un grupo de pacientes con APE elevado, los cuales fueron sometidos a biopsia; de éste grupo, hubo un porcentaje al que se le realizó estudio adicional de inmunohistoquímica por PAAPs, y finalmente, se analizan los resultados, las categorías diagnósticas de cada uno de ellos y se enfatizan las ventajas de disponer de ésta técnica para el estudio de las biopsias de próstata.

## **MATERIALES Y METODOS**

Se recopilaron de los archivos del departamento de Patología del Hospital Español las biopsias transrectales de próstata del período que comprende de julio del 2000 a diciembre del 2005; de éstas, se incluyeron únicamente las biopsias que tenían cortes histológicos rutinarios teñidos con hematoxilina-eosina; a su vez, de este grupo se seleccionaron los casos que tuvieron un diagnóstico morfológico de PAAPs o sospechoso para adenocarcinoma; de éstas, se incluyeron las que disponían de las inmunotinciones para células basales, es decir, las citoqueratinas de alto peso molecular (34betaE12 y proteína 63) y racemasa P504S. Desde el punto de vista clínico, los requisitos fueron que los casos seleccionados por biopsia, estuvieran completos, con ultrasonido transrectal, al igual que niveles séricos de APE, independiente de los hallazgos patológicos.

Las biopsias fueron fijadas en formol al 10% amortiguado, rutinariamente procesadas, los cortes histológicos se hicieron a 3 micras de grosor, y se tiñeron con hematoxilina-eosina; de éstos se obtuvieron dos laminillas histológicas, cada una de ellas con tres niveles de corte. Para las técnicas de inmunohistoquímica, se utilizaron los anticuerpos anti-citoqueratina 34betaE12 (/DAKO, Carpintería CA), a una dilución de 1: , anti-proteína p63 (Cell Marque, ), a una

dilución de 1: , y anti-Racemasa P504S ( , a una dilución de 1: ). La técnica de inmunohistoquímica utilizada fue la del complejo de avidina-biotina (ABC, referencia...); el colorante revelador utilizado fue la diaminobenzidina, que da un color café a las reacciones positivas (Tabla 2).

Todo el material disponible se revisó tanto desde el punto de vista morfológico como de su inmunohistoquímica para la evaluación de la presencia de células basales y la expresión de Racemasa P504S por los grupos glandulares en cuestión.

## **RESULTADOS.**

En el período descrito, se obtuvieron 167 casos de biopsias de próstata, de las cuales 58 (35%) fueron negativos a cáncer, con diagnósticos de hiperplasia glandular o de células basales, adenosis o atrofia; 69 (41%) fueron positivos a cáncer, con diagnóstico categórico establecido de adenocarcinoma, acinar en la mayoría de los casos, con su gradación de Gleason; los restantes 40 casos (24%) se diagnosticaron como PAAps o sospechosos para adenocarcinoma y se les realizó inmunohistoquímica como requisito para establecer un diagnóstico de certeza; entre los diagnósticos de éstos últimos se consideraron adenosis (hiperplasia adenomatosa atípica), atrofia, neoplasia intraepitelial (NIP) de alto grado, proliferación acinar atípica sin diagnóstico y foco microscópico fuertemente sospechoso, más no diagnóstico, de adenocarcinoma (Tabla 3).

De los casos sometidos a inmunohistoquímica, se analizaron los ultrasonidos prostáticos, así como su nivel de APE sérico, para tratar de establecer una correlación de los hallazgos patológicos con los estudios de laboratorio y de imagen.

De los 40 casos sometidos a inmunohistoquímica, tantos fueron como adenosis, tantos como adenocarcinoma, tantos positivos a células basales, tantos negativos, tantos a etc. ESA INFORMACION NO LA TENGO YO, PUESTO QUE IGNORO QUE CASOS

INCLUYERON USTEDES EN ESTE ESTUDIO, DE AHÍ QUE NO PUEDA YO DECIR CON EXACTITUD, Y ES UNA MATERIAL NECESARISIMO PARA ESTO.

#### DISCUSION:

Es bien conocido que la elevación sérica del APE es sugestivo de cáncer de próstata, sin embargo, otros padecimientos no neoplásicos, como la hiperplasia glandular y las prostatitis pueden también producir una elevación del APE; el tacto rectal, complementado con el ultrasonido transrectal es también instrumento muy valioso para diagnosticar cáncer; sin embargo, actualmente, la biopsia de la zona sospechosa, guiada por ultrasonido, es el método más objetivo para establecer un diagnóstico de cáncer de próstata.

El diagnóstico de adenocarcinoma en una biopsia de próstata es de una responsabilidad muy grande, ya que tiene implicaciones posteriores para el tratamiento, el cual puede ser desde la administración de medicamentos, aplicación de radioterapia u orquidectomía, hasta una prostatectomía radical, con una consecuente morbilidad alta y trastornos en la vida personal del paciente. De aquí la importancia de hacer un diagnóstico categórico que no deje lugar a dudas de la existencia del adenocarcinoma.

Cuando en las biopsias de próstata se observa un adenocarcinoma morfológicamente diagnóstico como ocurre en la mayoría de los casos, esto es, glándulas de estructura rígida, arreglo complejo y cuyos núcleos son vesiculosos y tienen nucléolo prominente, que además se presenta en muchos focos o involucra más de la mitad del cilindro o su totalidad, no existe un problema diagnóstico. Desafortunadamente, debido a lo delgado de las biopsias y el trayecto de la aguja al momento del procedimiento, ésta solo toca lateralmente los focos de adenocarcinoma, y las biopsias contienen solamente un foco microscópico, menor al 10% de la longitud del cilindro, menor a 1 milímetro y en ocasiones corresponden únicamente a unas cuantas glándulas, cuyas características a su vez no son diagnósticas. Adicionalmente, se han descrito en la actualidad un gran número de simuladores morfológicos del cáncer de próstata, los más comunes de éstos son la adenosis, atrofia y neoplasia intraepitelial de alto grado entre otros; por el otro lado, hay

algunos adenocarcinomas que tienen un patrón acinar relativamente inocente y cuyas células carecen de nucléolo prominente, lo cual hace aún más difícil su diagnóstico.

Aunado a las características morfológicas del cáncer de próstata, una diferencia capital entre éste y sus imitadores morfológicos es que éstos últimos conservan su capa de células basales, misma que está ausente en las proliferaciones malignas; de ahí la necesidad de verificar la presencia de éstas con inmunotinciones. El marcador tradicional para éstas son las citoqueratinas de alto peso molecular, antes llamadas citoqueratinas 903, mejor conocida como la 34betaE12, la cual tiñe la membrana citoplásmica de las células basales, sin embargo es un antígeno muy susceptible a la concentración del formol y el tiempo de fijación; en los últimos años, se ha empleado más frecuentemente la proteína p63, un factor de transcripción nuclear presente en las células basales, cuya expresión es consecuentemente nuclear y cuyos epítopes son más resistentes a las variaciones en la fijación; también se puede utilizar la citoqueratina 5/6,q ue también es de alto peso molecular. Hasta aquí, el diagnóstico de adenocarcinoma de la próstata por inmunohistoquímica era por negatividad a la expresión de ciertos antígenos. Sin embargo, un nuevo antígeno, de expresión positiva, fue descubierto hace poco más de 5 años, la P504s, el cual es expresado por un alto porcentaje de los adenocarcinomas de la próstata, es decir, que por fin existe un marcador de positividad para su diagnóstico. En resumen, las PAAPs negativas a células basales y positivas a P504S corresponden, en más del 90% de los casos, a adenocarcinomas. Existe un 10% en el cual a pesar de la IHQ no es posible establecer un diagnóstico de certeza, ya que la PAAPs carece de características morfológicas obvias y puede expresar aisladas células basales, y también P504S.

En conclusión, cuando se tiene un foco microscópico de PAAPs, se considera recomendable realizar el estudio de inmunohistoquímica con estos tres anticuerpos, la citoqueratina 34betaE12 y proteína p63 para células basales y la racemasa P504S, con el objetivo de tener un diagnóstico inequívoco de adenocarcinoma, lo cual tiene varias grandes ventajas; la primera de ellas es

El rendimiento diagnóstico de la biopsia prostática en sextante es hasta un 43% superior que con dos o menos biopsias. (5) Por lo cual, se han encontrado malinterpretaciones comunes en la anatomía patológica del cáncer de próstata, en estas, la primera es el llamar grado 1 o 2 de Gleason o bien diferenciado a un foco que es demasiado pequeño para hablar de cáncer, lo prudente es llamarlo sospechoso; o bien cuando hay ausencia de suficientes características de cáncer es proliferación acinar atípica pequeña (ASAP). En segunda ocasión, es el confundir la variante del cáncer con patrón 3 de Gleason en su variante de glándulas grandes, con acinos benignos; por lo que la ausencia de tinción de los acinos con citoqueratina 34betaE12 implica cáncer aunque se puede producir por atrofia o atipia inflamatoria. En caso de que los focos sospechosos en la biopsia se pueden denominar NIP de alto grado, podrían ser otros imitadores del cáncer de próstata o el mismo infradiagnosticado. (6) En muchos pacientes especialmente aquellos con elevada concentración sérica de APE, la biopsia inicial puede no encontrar el cáncer. Esta es una consideración importante en estudios que comparan la utilidad de la detección selectiva porque la mayoría de los estudios es incapaz de proporcionar el verdadero nivel de falsos negativos, provocando una subestimación de la tasa real de cáncer. El informe por separado de cada sitio del trozo de biopsia inicial facilita la repetición de la biopsia y es lo preferido porque las zonas suelen representar tumores separados. (7)

Las indicaciones actuales para repetir la biopsia incluyen la presencia de un NIP de alto grado; la proliferación acinar atípica sospechosa, pero no diagnóstica, de malignidad; y el elevado riesgo clínico debido a la elevación de APE sérico, anormalidad en el tacto rectal y anormalidad en la ultrasonografía. La mayoría de las lesiones prostáticas benignas se originan de la zona de transición y muchas de estas simulan adenocarcinoma prostático (8)

La neoplasia prostática intraepitelial (NIP) es el extremo precanceroso de la continuidad morfológica de las proliferaciones celulares de los conductos, conductillos y acinos prostáticos preexistentes. Dividiéndose en bajo y alto grado. (9) La continuidad entre el NIP de bajo grado, el de alto grado y el cáncer invasor precoz se caracteriza por la rotura de la capa de células basales, crecimiento y solapamiento de núcleos y aumento de la prominencia nucleolar.

El NIP precede al carcinoma en 10 o más años; el NIP de bajo grado aparece por

primera vez en la tercera década de la vida. (10,11) En un estudio de Mettlin, la incidencia en 330 biopsias fue de 5.2% para el PIN y 15.8% para cáncer. (12) Lee y cols. (13) estudiaron 256 pacientes con 10.5% para NIP y 40.2% para cáncer, con edad media de 65 y 70 años para NIP y cáncer, respectivamente. Davidson y cols. (14) encontraron adenocarcinoma en el 35% de las biopsias repetidas en pacientes con diagnóstico previo de NIP, comparado con un 13% de las biopsias sin NIP. El NIP de alto grado predice ( $p < 0.0001$ ) el cáncer, con un riesgo relativo de 14.9. Se ha sugerido la biopsia de seguimiento a intervalos de 3 ó 6 meses durante dos años y, a partir de entonces, cada 12 meses indefinidamente.

Existe una proliferación localizada de pequeños acinos que es sospechosa de carcinoma pero queda por debajo del umbral diagnóstico. La incidencia es del 1.5 al 9% de las biopsias (15) La proliferación acinar atípica pequeña (ASAP) difiere del cáncer ya que los focos tienen la mitad de tamaño que el cáncer mínimo (11 vs. 17 acinos y 0.4mm vs. 0.8mm). El crecimiento infiltrante ocurre en el 75% de la ASAP y en el 100% de los cánceres mínimos. Las secciones adicionales demuestran un carcinoma definitivo en el 10 al 36% de los casos. (16) Por lo tanto, los imitadores más comunes del cáncer en biopsias con aguja son la atrofia y sus variantes, la hiperplasia postatrófica, seguidas por las hiperplasia de células basales y por el NIP de alto grado. La atrofia consiste en pequeñas glándulas deformadas con epitelio aplanado, núcleos hipercromáticos y fibrosis del estroma, se puede confundir con el adenocarcinoma debido a la prominente deformidad en la arquitectura de los acinos. Está en el extremo final de la continuidad morfológica de la atrofia acinar que imita más próximamente al carcinoma y provoca prostatectomías innecesarias. (17).

Existe el convencimiento de que el estudio anatomopatológico de la pieza de exéresis o la biopsia representativa de un tejido o tumor es el examen definitivo para alcanzar un diagnóstico con el que plantear unas indicaciones terapéuticas precisas. Generalmente, es la correlación anatomoclínica la que induce a decidir la toma de decisiones terapéuticas. Sin embargo en otras ocasiones, el patólogo encuentra verdaderos dificultades para interpretar las muestras que le ofrecemos y decidir la naturaleza del tejido o tumor, particularmente, en casos de tumores pobremente diferenciados muy bien diferenciados en un órgano determinado. En



estas circunstancias, el patólogo encuentra serias dificultades de interpretación y tiene que apoyarse en la correlación anatomoclínica o recurrir a determinaciones más sofisticadas que permitan tal diferenciación. En esto, la técnica de inmunohistoquímica (IHQ) ha sido de una gran ayuda al ser capaz de identificar moléculas específicas de un tejido o tumor, permitiendo asegurar la naturaleza de esa muestra. Ello supone un avance importante en la toma de decisiones terapéuticas en situaciones poco frecuentes pero de gran responsabilidad clínica, teniendo como uno de sus objetivos el incrementar la sensibilidad y especificidad del diagnóstico anatomopatológico en biopsias tumorales que conlleven una actitud terapéutica adyuvante agresiva.(18) Al caracterizarse el cáncer prostático por la pérdida de las células basales se utilizan los marcadores inmunohistoquímicos, (19) los cuales son, la queratina de alto peso molecular (3βE12) para valorar la capa celular basal, su mayor utilidad es confirmar la benignidad al demostrar una capa celular basal inmunorreactiva. (20) La rotura de la capa de células basales se produce en el 56% de los casos con NIP de alto grado (con mayor frecuencia en glándulas próximas a carcinoma invasor que en glándulas lejanas) y en acinos inflamados, hiperplasia adenomatosa atípica e hiperplasia postatrófica. (21) Otros nuevos marcadores prometedores son el p63 y la p504s (Alfa-metilacil-CoA racemasa). La p504s es un gen específico para el cáncer de próstata que se transcribe en una proteína involucrada en la beta oxidación de la cadena de los ácidos grasos la cual ha mostrado una detección por inmunohistoquímica. (22)

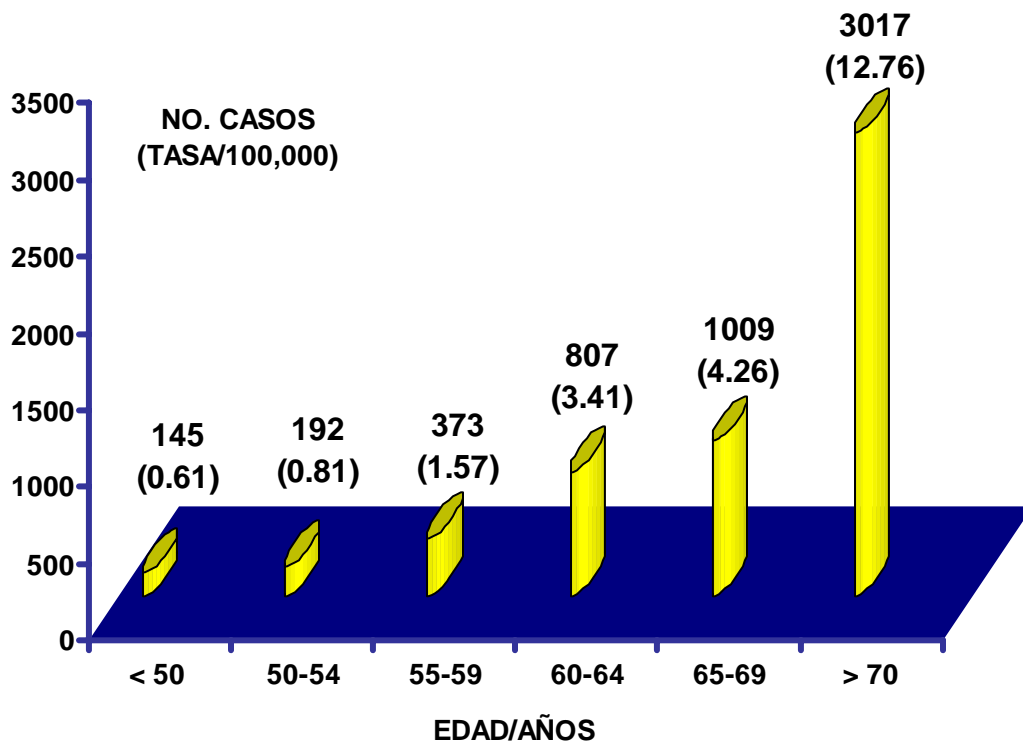
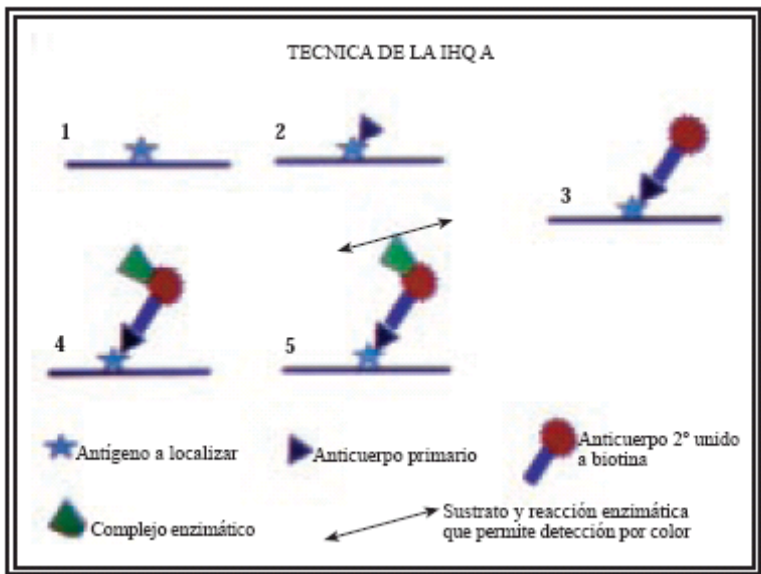
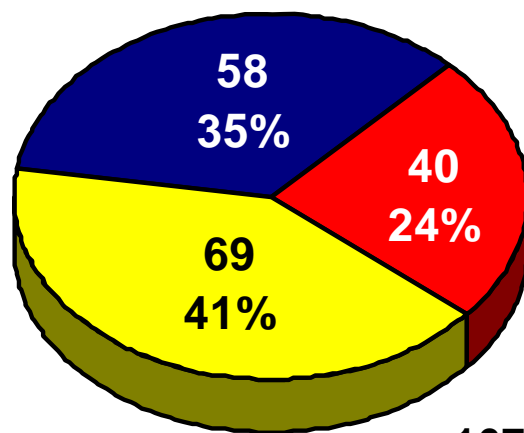


TABLA 1. MORTALIDAD DE CANCER DE PROSTATA REGISTRO HISTOPATOLOGICO DE NEOPLASIAS MALIGNAS 2002



**TABLA 2. TÉCNICA DE LA INMUNOHISTOQUÍMICA**



167 PTS.

■ CANCER (+) ■ CANCER (-) ■ DUDOSO

TABLA 3. DIAGNOSTICO DEL UNIVERSO DE ESTUDIO.

**DIAGNOSTICO DUDOSO 40 Px ( 24 % )**

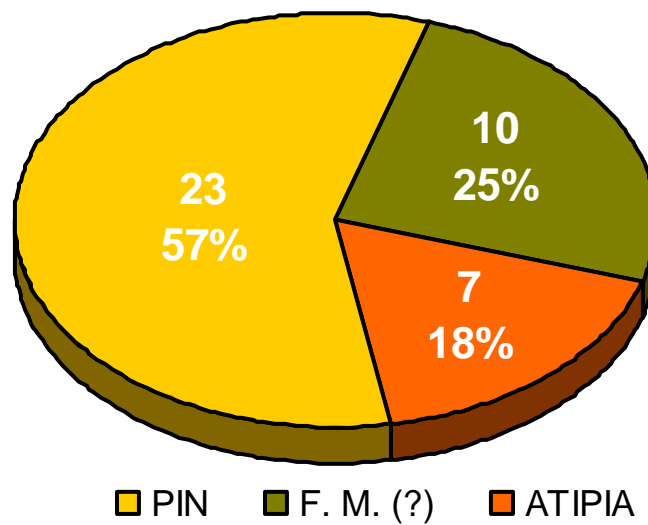


Tabla 4. Diagnósticos dudosos y/o lesiones premalignas



## **BIBLIOGRAFIA**

1. Greenlee RT, Hill Harmon MB, Murria T, et al. Cancer statistics, 2001. CA Cancer J Clin 2001; 51:15-36.
2. Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer Statistics. Cancer J Clin 1999; 49: 8
3. Registro Histopatologico de Neoplasias Malignas, SSA, SEED, DGE, 1999.
4. Coley CM, Barry MJ, Fleming C, et al. Early detection of prostate cancer. Part I. Prior probability and effectiveness of tests. The American College of Physicians. Ann Intern Med 126: 394-406, 1997.
5. Hodge KK, McNeal JE, Terris MK, et al: Random systematic versus directed ultrasound guided transrectal core biopsies of the prostate. J Urol, 1989; 142: 71-74.
6. Bostwick DG, Iczkowski KA, Diagnostic Pathology, 1: 104. 1997.
7. Shepherd D, Keetch DW, Humphrey PA, et al: Repeat biopsy strategy in men with isolated prostatic intraepithelial neoplasia on prostate needle biopsy. J Urol 156: 460-463; 1996
8. Young RH. Pseudoneoplastic lesions of the prostate gland. Pathol Annual 1 : 105-128 ; 1988.

9. Bostwick DG. High grade prostatic intraepithelial neoplasia: The most likely precursor of prostate cancer. *Cancer* 75: 1823-1836; 1995
10. Billis A: Age and race distribution of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia: An autopsy study in Brazil (South America) *J Urol Pathol* 5: 1-7, 1996.
11. Sakr WA, Grignon DJ, Haas GP et al: Epidemiology of high grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Pathol Res Pract* 191: 838-841, 1995.
12. Mettlin C, Lee F, Drago J, Murphy GP, and the investigators of the American Cancer Society National Prostate Cancer Detection Project: The American Cancer Society National Prostate Cancer Detection Project: Findings on the detection of early prostate cancer in 2425 men. *Cancer* 67: 2949-2958, 1991
13. Lee F, Torp-Pedersen ST, Carroll JT, et al : Use of transrectal ultrasound and prostate-specific antigen in diagnosis of prostatic intraepithelial neoplasia. *Urology* 24 (suppl): 4-12, 1989.
14. Davidson D, Bostwick DG, Qian J, et al : Prostatic intraepithelial neoplasia is predictive of adenocarcinoma. *J Urol* 154: 1295-1299, 1996.
15. Chevillet JC, Reznicek MJ, Clark JR, et al: The focus of atypical glands suspicious for malignancy in prostate needle biopsy specimens: Incidence, histologic features, and clinical follow-up of cases diagnosed in a community practice. *Am J Clin Pathol* 108: 633-640, 1997.
16. Reyes AO, Humphrey PA: Diagnostic effect of complete histologic sampling of prostate needle biopsy specimens. *Am J Clin Pathol* 109: 416-422, 1998.
17. Egan AJM, Lopez-Beltran A, Bostwick DG: Prostatic adenocarcinoma with atrophic features: Malignancy mimicking a benign process. *Am J Surg Pathol*, 21: 931-935, 1997.
18. Briones R.J., Algaba A.F., Almenar S, Solsona N.E: Inmunohistoquímica aplicada en Urología. *Actas Urológicas Españolas*. 819-834.
19. Yang XJ, Lecksell K, Gaudin P, et al: Rare expression of high molecular weight cytokeratin in adenocarcinoma of the prostate gland. A Study of 100 cases of metastatic and locally advanced prostate cancer. *Am J Surg Pathol*, 23: 147-152, 1999.



20Iczkowski KA, Bostwick DG: The pathologist as optimist: Cancer grade deflation in prostatic needle biopsies. *Am J Surg Pathol* 22: 1169-1170,1998.

21Brawer MK, Peehl DM, Stamey TA, et al: Keratin immunoreactivity in the benign and neoplastic human prostate. *Cancer Res* 45: 3663-3667, 1985

22 Beach AM, Gown MN, de Peralta-Venturina AL, et al: P504s Immunohistochemical detection in 405 prostatic specimens including 18-gauge needle biopsies. *Am J Surg Pathol*. 26(12): 1588-1596,2002.