

“DIAGNOSTICO DE FOCO MICROSCOPICO DE ADENOCARCINOMA DE LA PROSTATA.
ESTUDIO MORFOLOGICO E INMUNOHISTOQUIMICO DE 143 CASOS”.

TITULO CORTO: INMUNOHISTOQUIMICA Y CANCER DE PROSTATA

AUTORES: Carlos Martínez Arroyo*, Diego Leonardo Jorge Buys**, Raúl Salgueiro Ergueta
, Jorge Paredes Mendoza, Juan Manuel Marina González**** , Elías Zonana Farca***** y
Alejandra Zarate Osorno **.

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

Médico adscrito del Servicio de Urología del Hospital Español de México.

** Curso de Alta Especialidad, Inmunohistoquímica en la Patología Quirúrgica, del
Servicio de Patología del Hospital Español de México.

*** Médicos adscritos del Servicio de Urología del Hospital Español de México.

**** Jefe del Servicio de Urología del Hospital Español de México.

***** Coordinador del Servicio de Urología del Hospital Angeles Mocel.

** Jefe del Servicio de Patología del Hospital Español de México.

Sedes:

Servicio de Urología, Hospital Español de México

Servicio de Patología, Hospital Español de México

INTRODUCCION.

Una de las alteraciones más frecuentes del adenocarcinoma de la próstata es la elevación del antígeno prostático específico (APE), sin embargo, dicha elevación no es exclusiva de malignidad, ya que procesos benignos como la prostatitis crónica o aguda, la misma hiperplasia glandular y en algunas casos la atrofia, también producen elevación sérica del APE. La elevación del APE, en conjunto con algunos datos clínicos obtenidos al tacto rectal y los hallazgos del ultrasonido transrectal, pueden ser sugestivos de cáncer de la próstata, sin embargo, el diagnóstico preciso de éste último se establece con la biopsia de próstata.

La técnica para la toma de biopsias transrectales de la próstata ha evolucionado en los últimos años, y la aguja con la cual se toma actualmente es de un calibre tan delgado, que los cilindros obtenidos para estudio histopatológico tienen un diámetro menor a 1 milímetro, lo cual limita el análisis de las mismas; aunado a esto, en muchas ocasiones, debido al trayecto de la aguja, la cual únicamente toca tangencialmente el adenocarcinoma, éste se encuentra en un foco microscópico, constituido por un grupo muy pequeño de glándulas neoplásicas, las cuales pueden ser tan pocas como tres o cinco glándulas; por el otro lado, desde el punto de vista morfológico, hay algunos cambios que sugieren cáncer de próstata, desde el patrón arquitectural hasta cambios citológicos como nucléolo prominente, citoplasma claro y cristaloides en la luz de las glándulas neoplásicas, y ausencia de células basales, sin embargo, ninguno de éstos cambios es diagnóstico de cáncer por sí solo. En estas circunstancias, en muchas ocasiones el diagnóstico histopatológico es de proliferación acinar atípica pequeña (PAAP), sugestivo pero no concluyente de adenocarcinoma y se sugiere toma de nueva biopsia. Por estas razones, en los últimos años, se ha empezado a utilizar la técnica de inmunohistoquímica (IHQ) para la detección de células basales, con anticuerpos contra citoqueratinas de alto peso molecular, como la 34betaE12 y la proteína p63; más recientemente se ha agregado un anticuerpo más, la alfa-metil coenzima-A racemasa, mejor conocida como P504S, el cual es expresado con frecuencia alta en las proliferaciones glandulares malignas.

El propósito de complementar las biopsias de próstata que muestran PAAP con inmunohistoquímica con éstos tres anticuerpos, es el de establecer un diagnóstico de certeza de

adenocarcinoma, a pesar de que las glándulas representativas del mismo sean muy escasas, o en su defecto, descartar dicha patología, con el fin de evitar una segunda biopsia en los pacientes, lo cual redundaría en menor morbilidad y mejor costo-beneficio.

El objetivo de este estudio es analizar una serie de casos con focos microscópicos de PAAP, algunos de ellos sugestivos de adenocarcinoma, otros de neoplasia intraepitelial (NIP) de alto grado, otros simplemente como PAAP y que pueden ser benignos o malignos, y por último un grupo relativamente amplio de lesiones benignas que son simuladores morfológicos de adenocarcinoma e incluyen hiperplasia simple, cribiforme, de células claras, de células basales, atrofia e inflamación granulomatosa y demostrar la utilidad de la IHQ en dichas situaciones.

MATERIALES Y METODOS

Se recopiló de los archivos del departamento de Patología del Hospital Español y de las filas de consulta de uno de los autores (AZO), todos los estudios de IHQ para el diagnóstico de focos microscópicos sugestivos de cáncer de próstata, en el período que abarcó de enero del 2004 a abril del 2007. De todos estos casos, se realizó el diagnóstico morfológico de la biopsia, el cual se dividió en las siguientes cuatro categorías (basados en los criterios morfológicos previamente establecidos para cada una de estas entidades): sugestivas o diagnósticas de adenocarcinoma, PAAP, proliferación benigna y NIP de alto grado; la proliferación benigna comprendió los diagnósticos de adenosis, hiperplasia de células claras, cribiforme y de células basales, atrofia y prostatitis.

Se revaloró el estudio de IHQ con cualquiera de los siguientes tres anticuerpos, dos de ellos para células basales (citoqueratina 34betaE12 y proteína p63) y el otro un marcador relativamente específico para proliferaciones glandulares malignas de la próstata (P504S).

Finalmente se analizó la morfología en contexto con los resultados de IHQ y se estableció un diagnóstico definitivo de adenocarcinoma o de proliferación benigna de la próstata. Posteriormente se correlacionaron los hallazgos tanto morfológicos como de IHQ y se calculó el porcentaje de casos con diagnóstico inequívoco de adenocarcinoma, el de proliferación glandular benigna, NIP y, a pesar de la IHQ, casos de PAAP como no concluyentes.

Las biopsias fueron fijadas en formol al 10% amortiguado; los tejidos se procesaron rutinariamente; los cortes histológicos se hicieron a 3 micras de grosor, de éstos se obtuvieron dos laminillas histológicas, cada una de ellas con tres niveles de corte y se tiñeron con hematoxilina-eosina. Para las técnicas de IHQ, 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).

RESULTADOS.-

En el período comprendido de enero del 2004 a abril del 2007, se recopilaron 143 biopsias de próstata estudiadas por IHQ, los cuales correspondieron a 133 pacientes, diez de los cuales se les hizo el estudio en dos biopsias diferentes, tomadas simultáneamente. De éstos 143 casos, 127 fueron estudiados con los tres marcadores, es decir, citoqueratinas de alto peso molecular (34betaE12 y proteína p63) y la P504S; nueve casos fueron estudiados con dos anticuerpos, de éstos a 7 les faltó P504S y a 2 les faltó la citoqueratina 34betaE12; por último, siete casos fueron estudiados solamente con un anticuerpo, la proteína p63. De los casos con tres anticuerpos, en una de las biopsias ya no se observó el foco microscópico de PAAP en los cortes realizados para la IHQ y en el otro, la P504S no fue valorable debido a intensa tinción de fondo, a pesar de que se repitió dos veces; del caso en el cual no se observó el foco microscópico, las inmunotinciones se realizaron en las laminillas previamente teñidas con hematoxilina-eosina. De los 9 casos a los cuales sólo se les realizaron dos anticuerpos, en siete no se realizó P504S y en dos no se realizó citoqueratinas 34betaE12.

Las 143 biopsias fueron diagnosticadas morfológicamente en las cuatro categorías previamente mencionadas, divididas de la siguiente manera: 70 (49%) fuertemente sugestivas, algunas

realmente diagnósticas de adenocarcinoma; 47 (33%) como PAAP, 15 (10.5%) como proliferación benigna y 11 (7.5%) como neoplasia intraepitelial de alto grado (tabla No. 1).

Después de la revaloración con IHQ, los diagnósticos definitivos fueron: 68 (47.5%) correspondieron a adenocarcinoma, 51 (35.7%) a proliferación benigna, 14 ((9.8%) a NIP de alto grado y 10 (7%) a PAAP (tabla No. 2).

De las 70 biopsias con diagnóstico morfológico sugestivo de adenocarcinoma, una vez valoradas con IHQ, en solamente 58 casos (82.8%) se confirmó el diagnóstico de malignidad, por negatividad a los marcadores de células basales en todos los 58 casos y positividad granular periluminal con P504S en 50 (86.2%) de esos 58 casos; de los restantes 8 casos, en tres la P504S fue negativa, en 4 no se realizó y en un caso fue no valorable por la tinción de fondo; en las restantes 12 biopsias, 7 (10.1%) correspondieron a proliferación benigna (6 a adenosis y 1 a hiperplasia glandular), 3 (4.3%) a NIP de alto grado y 2 (2.8%) a PAAP (tabla No. 3).

Posterior a la IHQ, los 47 casos de PAAP se rediagnosticaron como sigue: 30 (63.8%) correspondieron a proliferación benigna con positividad a células basales (17 fueron adenosis, 7 hiperplasia glandular y atrofia, 5 hiperplasia glandular y 1 prostatitis granulomatosa), 8 (17%) a adenocarcinoma, 6 (12.8%) a PAAP y 3 (6.4%) a NIP de alto grado (tabla No. 4).

Con respecto a los 15 casos del grupo morfológico de proliferación benigna, en todos (100%) se detectó la presencia de células basales por IHQ y por ende se descartó adenocarcinoma; de estos, se dividieron en los siguientes diagnósticos: 9 (60%) adenosis, 3 (20%) atrofia, 2 (13.3%) hiperplasia de células claras y 1 (6.7%) PAAP (tabla No. 5); ninguno de éstos casos mostró positividad con P504S.

Finalmente, de los casos de NIP de alto grado, posterior a la IHQ, fueron reclasificados como sigue: 8 (72.7%) se confirmó el diagnóstico, 2 (18.2%) carecieron de células basales y por tanto correspondieron a adenocarcinoma y 1 (9.1%) correspondió a PAAP (tabla No. 6). De éstos casos, 4 (36.4%) expresaron P504S, en dos no se realizó y en los restantes 5 fue negativa.

DIAGNOSTICO MORFOLOGICO	No. de casos
Foco microscópico sospechoso de adenocarcinoma	70 (48.9%)

Proliferación acinar atípica pequeña	47(32.9%)
Proliferaciones benignas	15 (10.5%)
Neoplasia intraepitelial de alto grado	11 (7.7%)
Total	143 (100%)

Tabla No. 1: Diagnósticos morfológicos, tinción de hematoxilina-eosina.

DIAGNOSTICO POR INMUNOHISTOQUIMICA	No. de casos
Adenocarcinoma	68 (47.5%)
Proliferación acinar atípica pequeña	10 (7%)
Neoplasia intraepitelial de alto grado	14 (9.8%)
Proliferación benigna	51 (35.7%)
Total	143 (100%)

Tabla No. 2.- Diagnóstico por IHQ de los 143 casos.

DIAGNOSTICO POR INMUNOHISTOQUIMICA	No. de casos
Adenocarcinoma	58 (82.8%)
Proliferación benigna	7 (10.1%)
Neoplasia intraepitelial de alto grado	3 (4.3%)
Proliferación acinar atípica pequeña	2 (2.8%)
Total	70 (100%)

Tabla No. 3.- Diagnósticos por IHQ de los casos sospechosos de adenocarcinoma.

DIAGNOSTICOS POR INMUNOHISTOQUIMICA	No. de casos
Proliferación benigna	30 (63.8%)
Adenocarcinoma	8 (17%)
Proliferación acinar atípica pequeña	6 (12.8%)
Neoplasia intraepitelial de alto grado	3 (6.4%)
Total	47 (100%)

Tabla No. 4.- Diagnósticos por IHQ de los casos diagnosticados como PAAP.

DIAGNOSTICOS POR INMUNOHISTOQUIMICA	No. de casos
Adenosis (hiperplasia adenomatosa atípica)	9 (60%)
Atrofia	3 (20%)
Hiperplasia de células claras	2 (13.3%)
Proliferación acinar atípica pequeña	1 (6.7%)
Total	15

Tabla No. 5.- Diagnósticos por IHQ de las lesiones proliferativas benignas.

DIAGNOSTICO POR INMUNOHISTOQUIMICA	No. de casos
Neoplasia intraepitelial de alto grado	8 (72.7%)
Adenocarcinoma	2 (18.2%)
Proliferación acinar atípica pequeña	1 (9.1%)
Total	11 (100%)

Tabla No. 6.- Diagnósticos IHQ de las NIP de alto grado.

DISCUSION:

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 ir desde no hacer nada en el caso de las lesiones benignas, la administración de medicamentos, aplicación de radioterapia u orquidectomía, hasta una prostatectomía radical, con una consecuente

morbilidad alta como la incontinencia urinaria o la impotencia sexual; 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, con núcleo vesiculoso y 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, cuando ésta solo toca tangencialmente y no atraviesa las áreas de adenocarcinoma, las biopsias contienen solo un foco microscópico, el cual es menor al 10% de la longitud del cilindro o menor a 1 milímetro, o peor aún, en ocasiones corresponden únicamente a unas cuantas glándulas cuyas características a su vez no son diagnósticas; esto crea mucha dificultad para diferenciarlo morfológicamente de los simuladores del cáncer de próstata como la adenosis, hiperplasia de células claras y basales, atrofia y neoplasia intraepitelial de alto grado, entre otros; adicionalmente, hay algunos adenocarcinomas que tienen un patrón acinar relativamente inocente y cuyas células carecen de nucléolo prominente, lo cual hace muy difícil emitir un diagnóstico inequívoco de malignidad.

Aunado a las características morfológicas del cáncer de próstata, las cuales no son específicas, existe una diferencia capital entre éste y sus imitadores morfológicos, la cual es la conservación de las células basales por las proliferaciones benignas, mismas que están ausente en las proliferaciones malignas; de ahí la necesidad de verificar la presencia de células basales con inmunotinciones, ya que muchas veces no es posible destacarlas con las tinciones rutinarias de hematoxilina-eosina. El marcador tradicional para éstas son las citoqueratinas de alto peso molecular, antes llamadas citoqueratina 903, mejor conocida como la 34betaE12, la cual tiñe la membrana citoplásmica de las células basales; sin embargo es un antígeno muy susceptible a las variaciones en la concentración del formol y el tiempo de fijación. Por fortuna, 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,

que pertenece al grupo de alto peso molecular y tiene un patrón de tinción similar a la 34betaE12.

El problema real es que en algunas entidades, como la NIP de alto grado y la adenosis, la capa de células basales muestra ruptura o discontinuidad, y a pesar del aspecto morfológico de benignidad, con la IHQ no se detectan células basales y no es posible hacer un diagnóstico categórico de adenocarcinoma, basados únicamente en su ausencia o disminución.

Hace poco más de cinco años, un nuevo antígeno de expresión positiva en las proliferaciones prostáticas malignas fue descubierto, la P504S, que es una proteína producida por un gen específico para el cáncer de próstata involucrado en la beta oxidación de la cadena de los ácidos grasos (22). La P504S es expresada por un porcentaje alto, de más del 90% de los adenocarcinomas de la próstata y se considera un anticuerpo de gran valor en los casos en que la IHQ para células basales no es concluyente. Es en estos casos en los cuales se enfatiza la utilidad de la P504S, ya que la gran mayoría de las proliferaciones benignas no la expresan y su expresión es muy fuerte en las malignas.

En el análisis de nuestros casos, es posible deducir que en los focos microscópicos, el diagnóstico morfológico tiende más hacia la malignidad, ya que posterior a la IHQ, únicamente el 82% pudo ser confirmado como maligno; en las PAAP, la mayoría (64%) son lesiones benignas, con un porcentaje relativamente bajo de adenocarcinomas (17%); en las NIP de alto grado, dicho diagnóstico se confirmó en su mayoría (72%), sin embargo, en casi el 20% no se observaron células basales y el diagnóstico varió a adenocarcinoma. En las proliferaciones benignas, en el 100% se confirmó dicho diagnóstico. En otro aspecto, la expresión de P504S en adenocarcinoma es considerablemente más alta, casi del 90%, lo cual refuerza el diagnóstico en casos cuya morfología no es lo suficiente típica de adenocarcinoma; en el otro extremo se coloca casi el 5% de los casos, en los cuales, a pesar de su evidencia morfológica de malignidad, la P504S no se expresó; es bien conocido que en algunas variedades específicas de adenocarcinomas no hay expresión de dicho marcador, como el atrófico, el de patrón pseudohiperplásico y el de células espumosas.

Otro grupo digno de atención especial es el de los PAAPs como diagnóstico final; en esta serie, en 10 (7%) de los 143 casos, a pesar de haber realizado la IHQ no fue posible llegar a un diagnóstico definitivo, ya sea por que ambos criterios, tanto morfológicos como de inmunotinciones no se reunieron o, porque en algunos de estos casos, en los niveles realizados para la IHQ ya no se observó el foco sospechoso; en el caso de la inmunotinción para racemasa, uno de estos casos, el 10%, mostró positividad inequívoca; estos hallazgos también están muy bien documentados en la literatura.

En el grupo de la NIP de alto grado, en casi el 20% (2 de los casos) no se detectaron células basales, con lo cual, aunado a las alteraciones nucleares, permitió hacer el diagnóstico de adenocarcinoma, porcentaje suficiente para justificar la realización de técnicas de IHQ cuando dicho diagnóstico sea considerado. Además, ha sido informado en la literatura, lo cual también se refleja en nuestros resultados, que hay inmunotinción con racemasa en un porcentaje del 35% de las NIPs de alto grado.

En conclusión, cuando se tiene un foco microscópico sospechoso de adenocarcinoma o de PAAPs, es altamente recomendable realizar el estudio de IHQ 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, en el caso de los adenocarcinomas, proceder al tratamiento adecuado acorde con la etapa clínica de la lesión. La otra ventaja es que, a pesar de lo diminuto de la patología, ésta se hace verdaderamente representativa con la IHQ y no es necesario practicar una segunda biopsia al paciente, que probablemente dé resultados muy diferentes a la primera, cree más costos económicos y de probable morbilidad.

Adicionalmente, es digno de tener presente que existe un porcentaje de casos, el cual varía del 5 al 10%, en los cuales a pesar de la IHQ, no es posible establecer un diagnóstico de certeza, ya que la PAAPs carecen de características morfológicas malignas obvias y pueden expresar aisladas células basales, y expresión débil y focal de P504S; en estos casos se recomienda diagnosticar como no concluyente el estudio y repetir la biopsia de acuerdo a las indicaciones clínicas y condiciones del paciente.

BIBLIOGRAFIA

ESTE PENDIENTE, SEGURAMENTE SE CAMBIARA TODITA...

1. Greenlee RT, Hill-Harmon MB, Murray 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 Histopatológico 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
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. Cheville 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.
20. Iczkowski KA, Bostwick DG: The pathologist as optimist: Cancer grade deflation in prostatic needle biopsies. *Am J Surg Pathol* 22: 1169-1170,1998.
21. Brawer 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.