

PUNCION BIOPSIA PROSTATICA: ANALISIS MORFOLOGICO, INMUNOHISTOQUIMICO Y DE PLOIDIA NUCLEAR

Dres. Kahn, A.; Elsner, B.; Montes de Oca, L. F.; Bellotti, M. S.; Borghi, L.; García, A.; Becher, E.

RESUMEN: *Se presentan en este trabajo el análisis morfológico y la determinación de ADN en una serie de 50 punciones biopsias prostáticas con el diagnóstico de adenocarcinoma. Clínicamente las edades variaban entre 54 y 83 años con una media de 69. Se conocía el estadio clínico del tumor en 32 casos, correspondiendo 9 al estadio clínico B, 12 al C y 11 al D.*

Catorce casos presentaban un SG bajo (4-5), 24 uno intermedio (6-7) y 12 alto (8-10). La reproductibilidad del SG fue buena con 47/50 casos clasificados con el mismo SG o ± 1 comparando el análisis realizado en el trabajo con el informe original. La cantidad del cilindro comprometido por el tumor osciló entre el 15 al 100% con una media de 65%. Se halló cápsula en 30 casos con invasión en 6 (26%) y se comprobó invasión perineural en 4 casos (8%). La inmunotinción con CK 903 fue siempre negativa en las glándulas neoplásicas.

El análisis de ADN realizado con un analizador de imágenes sobre cortes finos teñidos con Feulgen reveló 21 tumores diploides, 15 tetraploides, 10 aneuploides y 4 altamente aneuploides.

Se halló correlación estadísticamente significativa entre el SG, la ploidía, el grado de malignidad y la presencia de eventos mayores a 5c y entre la ploidía y el estadio clínico de la lesión.

El estudio morfológico detallado del cilindro de punción biopsia puede arrojar datos que permitan además del diagnóstico la correcta estadificación y la evaluación pronóstica del paciente. El análisis de ADN puede ser un complemento útil y objetivo al estudio histológico.

(Rev. Arg. de Urol., Vol. 59, N° 4, Pág. 177, 1994)

Palabras clave: Próstata; Carcinoma de próstata; Biopsia prostática; Análisis morfológico, inmunohistoquímico y de ploidía nuclear.

INTRODUCCION

El diagnóstico precoz del adenocarcinoma de próstata es de fundamental importancia en el tratamiento de la enfermedad. Actualmente la determinación sérica del antígeno prostático específico y el examen rectal son los métodos de elección para poder pesquisar esta neoplasia en estadios relativamente incipientes⁽¹⁾.

Como en todo tumor su tratamiento necesita de una confirmación cito o histopatológica y la manera más habitual de hacerlo es mediante una punción biopsia, ya sea con una guía digital o ecográfica. En esas biopsias, además de efectuar el diagnóstico, se puede evaluar una serie de factores de valor pronóstico como la clasificación histológica con el conocido sistema de Gleason o score de Gleason (SG), la extensión del tumor y el análisis de ADN en el tejido tumoral, además del análisis de factores de proliferación y oncogenes⁽²⁾.

En este trabajo se evalúan 50 casos consecutivos de adenocarcinomas diagnosticados en punciones biopsias prostáticas realizadas con guía ecográfica con el instrumento denominado *Biopty gun* (*Bard Urological, Covington Ga, USA*) que utiliza una aguja de 18 G, rela-

*Departamento de Patología y División de Urología,
Hospital de Clínicas "José de San Martín",
Buenos Aires - Argentina.*

*Dirección Postal: Dr. Boris Elsner, Billinghurst 2343, 7° A,
(1425) Buenos Aires - Argentina.*

cionando entre sí los datos obtenidos y correlacionándolos con el estadio clínico de la enfermedad.

MATERIAL Y METODOS

El material analizado consistió en 50 biopsias con diagnóstico de adenocarcinoma elegidas entre 122 muestras consecutivas obtenidas por un mismo equipo de urólogos.

Las punciones eran fijadas en formol neutro, incluidas en parafinas con un centro de inclusión automático (*Tissue-Tek II*) que permitía, al mantener calientes los casetes, que los cilindros se incluyeran de manera plana en la superficie de los tacos, facilitando su muestreo completo.

Se obtenían múltiples cortes que eran coloreados con hematoxilina eosina, realizándose rutinariamente una inmunotinción para la demostración de citoqueratina 903 (Enzo, USA) por medio del sistema de avidina-biotina.

Se evaluó el SG y los casos se dividieron en 3 grupos: bajo (SG 4-5), intermedio (SG 6-7) y alto (SG 8 a 10). El SG establecido en el momento del análisis fue comparado con el del informe histopatológico original.

Se determinó también el porcentaje del cilindro comprometido por la neoplasia, la presencia o ausencia de cápsula y/o tejidos periprostáticos, así como su invasión por el tumor y de invasión perineural (IPN). Cuando las biopsias eran obtenidas de varias zonas de la glándula, los datos anteriormente mencionados se obtenían de un promedio de los cilindros que contenían tumor.

En todos los casos se realizaron cortes de 4 μ que fueron teñidos con la técnica de Feulgen, y estudiados con un analizador de imágenes. Se determinó la ploidía nuclear, el índice de ADN, los eventos por encima de 5c (5cE#) y el grado de malignidad (GM) de acuerdo con criterios publicados con anterioridad^(3,4).

Los tumores fueron clasificados según el tipo de histograma en diploides (D), tetraploides (T), aneuploides (A) y altamente aneuploides (AA), correspondiendo a los histogramas A, B, C y D publicados por *Tribukait y col.*⁽⁵⁾

Estas variables fueron correlacionadas en 32 casos con el estadio clínico del tumor.

Para el análisis estadístico se empleó el método de Chi cuadrado.

RESULTADOS

Las edades de los pacientes oscilaban entre 54 y 83 años con una media de 69,7.

Catorce casos (28 %) tenían un SG bajo, 24 (48 %) intermedio y 12 (24 %) alto.

Se observó una concordancia en la revisión del SG en 47 de los 50 casos (94 %) si se admitía una variación en más o menos de 1. En 3 casos el diagnóstico efectuado en la revisión difirió en 2 puntos. Los 3 tumores fue-

ron inicialmente subdiagnosticados; correspondiendo en 2 de los mismos a un patrón de Gleason 4B diagnosticado originariamente como 3A y en el restante un patrón de Gleason 3A fue diagnosticado originariamente como 2 (Fig. 1).

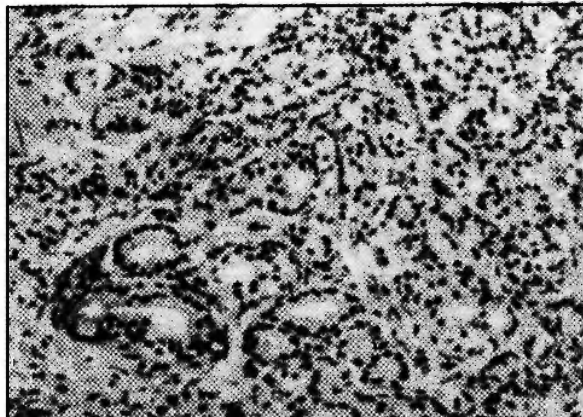


Figura 1: Adenocarcinoma con un grado 4B de la nomenclatura de Gleason. Obsérvese las glándulas fusionadas y la escasa atipia nuclear (H-E, 250X).

La cantidad del cilindro comprometido por el tumor osciló entre el 15 y el 100 % con una media de 65 %. Se halló cápsula y/o tejidos periprostáticos en 30 casos, con invasión neoplásica en 8 de ellos (26 %). Se halló invasión tumoral perineural, ya sea intra o extraprostática en 4 casos (8 %).

La inmunotinción con CK 903 fue uniformemente negativa en las glándulas neoplásicas observándose glándulas no tumorales sin tinción de las células parabaesales.

El análisis del ADN reveló 21 D, 15 T, 10 aneuploides A y 4 altamente aneuploides AA. Los índices de ADN oscilaron entre 0,90 y 2,56; el grado de malignidad de ADN (GM) entre 0,077 y 1,416; y se observaron 25 casos con eventos por encima de 5c (5cE#).

Luego de efectuar la comparación de los resultados del análisis de ADN con los 3 grupos divididos de acuerdo con el SG, los resultados fueron los siguientes (Tabla 1):

| SG | Nº de casos | Ploidía | | | | GM | 5cE# |
|------|-------------|---------|----|---|----|------------------------|------|
| | | D | T | A | AA | | |
| 2-5 | 14 | 11 | 1 | 2 | 0 | 0,077-0,428 0,252 | 2 |
| 6-7 | 24 | 7 | 10 | 6 | 1 | 0,087-1,253 (0,670) | 15 |
| 8-10 | 12 | 3 | 4 | 2 | 3 | 0,107-1,416 (0,761) | 8 |

Tabla 1: Relación entre score de Gleason y ploidía, grado de malignidad y eventos mayores a 5c.

De los 14 casos del grupo bajo 11 eran D, 1 T, y 2 A; 2 casos presentaron 5cE#, y el GM tuvo un rango de 0,077 a 0,428 con una media de 0,252.

De los 24 del grupo intermedio 7 eran D, 10 T, 6 A y 1 AA; 15 presentaron 5cE# y el GM osciló entre 0,087 y 1,253 con una media de 0,670.

Finalmente en el grupo alto de los 12 casos 3 eran D, 4 T, 2 A y 3 AA; 8 presentaron 5cE# llegando uno de los casos a tener hasta 22 eventos superiores a 5c; el GM osciló entre 0,107 y 1,416 con una media de 0,761.

De esta manera se observó una buena correlación entre el SG y la ploidía, siendo 11 de los 21 tumores diploides del grupo con SG bajo (52%). De los 29 no diploides 3/14 (21%) tenían un SG bajo, 17/24 (71%) tenían un SG intermedio y 9/12 (75%), alto, siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$).

Las diferencias en los valores del GM fueron estadísticamente significativas entre los grupos de SG bajo comparado con el intermedio y alto ($p < 0,05$). La frecuencia de histogramas con eventos mayores a 5c fueron del 14% en el grupo bajo, 62% en el intermedio y 67% en el alto, nuevamente con diferencias estadísticamente significativas entre el grupo con SG bajo con el intermedio y alto ($p < 0,01$).

De los 32 casos en los que el estadio clínico era conocido, 9 (29%) correspondían a un estadio B, 12 (37,5%) a uno C y 11 (33%) a uno D.

Comparando el estadio clínico con el análisis de ADN observamos los siguientes resultados:

De los 9 tumores con estadio B, 5 eran D, 3 T y 1 A; de los 12 tumores estadio C, 1 era D, 2 T, 7 A y 2 AA; y de los 11 estadio D, 3 eran D, 2 T, 4 A y 2 AA.

Estos resultados mostraron similar correlación que lo observado relacionando el SG y la ploidía, ya que de los 9 tumores diploides 5 (55%) eran estadio B, y de los 23 no diploides 4/9 (44%) tenían un estadio clínico B, 11/12 (92%) un estadio C y 8/11 (73%) un estadio D.

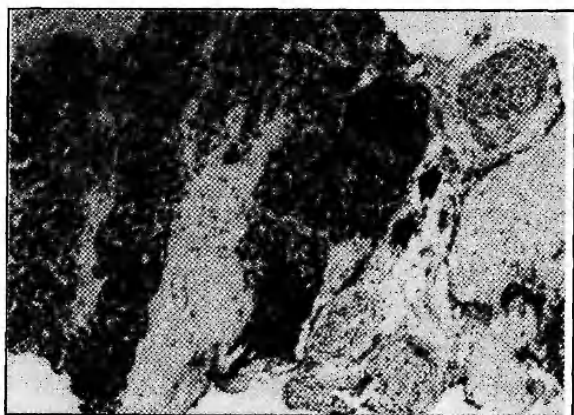


Figura 2: Microfotografía de bajo aumento que muestra un compromiso masivo por el tumor, con compromiso de la cápsula (flecha abierta), pero indemnidad de los tejidos periprostáticos (flecha cerrada), H-E, 25X.

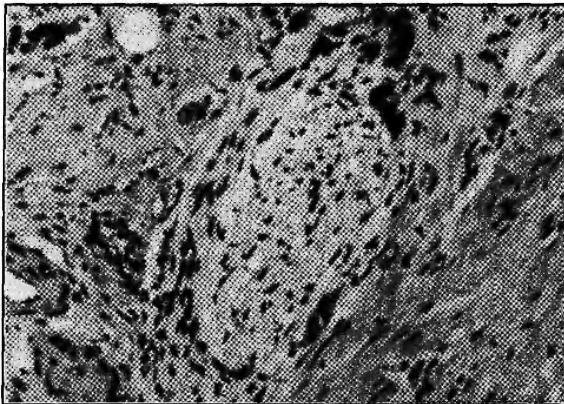


Figura 3: Compromiso perineural intraprostático (H-E, 250X).

PLOIDIA NUCLEAR (ADN) PROTOCOLO 104.534

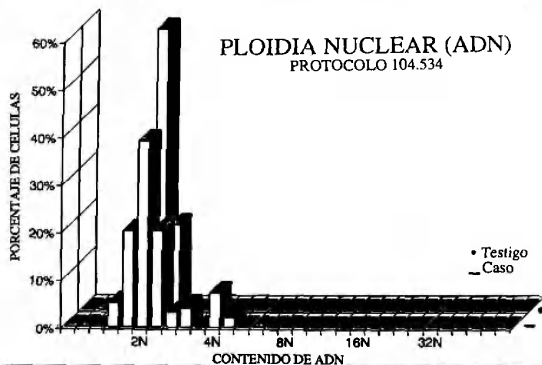


Figura 4: Histograma diploide con un índice de ADN de 1,01, ausencia de 2cE# y grado de malignidad de 0,226. Score de Gleason de 4.

PLOIDIA NUCLEAR (ADN) PROTOCOLO 101.194

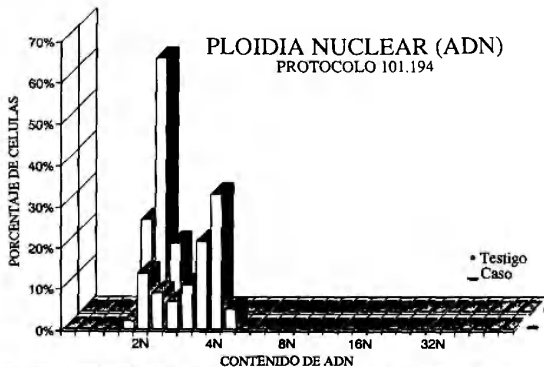


Figura 5: Histograma tetraploide con un índice de ADN de 1,93, ausencia de 2cE# y grado de malignidad de 0,525. Score de Gleason de 6.

PLOIDIA NUCLEAR (ADN)

PROTOCOLO 103.598

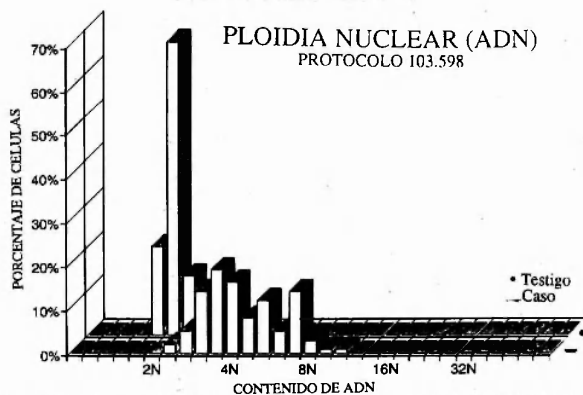


Figura 6: Histograma altamente aneuploide con un índice de ADN de 1,77, 22 eventos mayores de 5c, grado de malignidad de 1,416. Score de Gleason de 8.

DISCUSION

En esta serie de biopsias el grupo de pacientes más abundante ha sido el del SG intermedio (6-7) lo que está de acuerdo con lo generalmente aceptado y es semejante a lo hallado en nuestra serie de prostatectomías radicales, en la cual la frecuencia de los distintos grupos fue de 26, 55 y 18 % respectivamente⁽⁶⁾.

La reproductibilidad de la clasificación histológica ha sido buena en esta serie, a pesar de la ineludible subjetividad de este tipo de nomenclaturas. La concordancia diagnóstica fue semejante a la mencionada por el mismo Gleason⁽⁷⁾ quien cita una cifra del 85 %. También a semejanza de lo mencionado por Gleason el error más frecuente fue el subdiagnóstico, en especial entre los patrones 3A y 4B, no prestando atención a las glándulas "encadenadas o fusionadas" típicas del patrón 4B y no evaluando las glándulas irregulares del patrón 3A, confundiendo con el 2⁽⁷⁾.

El diagnóstico de adenocarcinoma de próstata es en ocasiones no muy sencillo, ya sea por la escasez de tumor presente, la presencia de patrones histológicos no bien conocidos y la existencia de entidades como la adenosis esclerosante difícil de diferenciar de un carcinoma⁽⁸⁾. Afortunadamente la presencia de un compromiso tumoral medio del cilindro del 65 % y de por lo menos un 15 % de tumor en el mismo hace que no hayamos tenido, por lo menos en estos casos, que enfrentarnos con pocas glándulas sospechosas de ser neoplásicas, las que son una fuente conocida de diagnósticos dudosos⁽⁹⁾. La cantidad de tumor presente en la biopsia podría también tener un valor pronóstico⁽¹⁰⁾.

Un 60 % de los casos de nuestra serie presentó cápsula y/o tejidos periprostáticos infiltrados por la neoplasia en el 26 %, casi todos (7/8 casos), pertenecientes a los

grupos con SG intermedio y alto. Este dato de fácil evaluación debe ser consignado siempre que esté presente, ya que proporciona importante información en cuanto al estadio clínico del tumor y eventualmente puede ser contraindicación de una prostatectomía radical, si bien debemos admitir que es imposible en una punción biopsia determinar la extensión del compromiso capsular⁽¹¹⁾.

La presencia de invasión perineural ha sido tradicionalmente considerada como una importante ayuda diagnóstica para el patólogo frente a casos dudosos. En nuestra serie la hemos hallado sólo en un 8 % y en la de Bastacky y col. estaba presente en un 20 %, lo que demuestra que no se debe esperar hallar invasión perineural para diagnosticar un carcinoma de próstata⁽¹²⁾. Recientemente se ha descrito que la invasión perineural se correlacionaba con compromiso neoplásico capsular en la pieza de prostatectomía radical y puede ser de ayuda en planear la extirpación o no del haz neurovascular en la cirugía⁽¹²⁾.

La inmunotinción con citoqueratina 903 es de ayuda para el diagnóstico del adenocarcinoma prostático. El marcador que decora las células parabasales es siempre negativo en los carcinomas y positivo en lesiones benignas. Es considerado de utilidad para diferenciar a glándulas malignas de entidades como PIN y adenosis esclerosante⁽¹³⁾. El problema reside en que pueden observarse falsos negativos en glándulas benignas como lo observado en nuestros casos, por lo que la interpretación de la tinción siempre debe hacerse conjuntamente con la observación de la morfología tradicional⁽¹⁴⁾.

La determinación de la ploidía nuclear ha sido considerada por lo general como de valor pronóstico en el carcinoma prostático, variando las series entre considerarlo como un factor independiente o estar relacionado con otras determinantes aceptadas como el SG, estadio clínico, invasión de las vesículas seminales etc.^(4, 5, 15, 17).

En materia de punción biopsia el método de elección para esa determinación es el análisis de imágenes sobre cortes histológicos, ya que el material es muy escaso para citometría de flujo y el desagregar cortes gruesos (50-100 μ) del taco de la biopsia para preparar extendidos nos deja frecuentemente sin material de reserva. Este método ha sido considerado recientemente como altamente representativo del contenido de ADN del tumor a pesar de la conocida heterogeneidad del carcinoma prostático^(18, 19). Si estos hallazgos son confirmados por otras series es probable que el análisis de ADN sea parte de la evaluación rutinaria de una punción biopsia prostática, ya que la determinación es rápida, objetiva y de relativamente bajo costo.

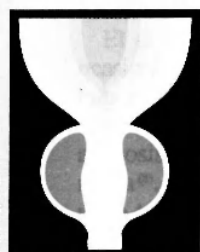
La frecuencia de los tipos de histogramas hallada en nuestros casos con un 42 % de casos D, 30 % T, y 28 % de A y AA es semejante a la encontrada por otros autores, siendo característica del tumor la frecuente aparición de histogramas tetraploides⁽¹⁶⁾.

Observamos en nuestros casos una buena correlación entre el SG y la ploidía nuclear. Esta asociación no ha

*Un nuevo mecanismo de acción.
La más simple posología.
La mejor respuesta clínica.*

HPB

**PAMI
50%**



FINASTERIN[®]
FINASTERIDE

**Primer inhibidor específico que detiene
y reduce el agrandamiento prostático.**

PRESENTACION: envases con 15 y 30 comprimidos recubiertos.



Laboratorios Finadiet S.A.C.I.F.I. Especialidades Medicinales

Hipólito Yrigoyen 3769/71 (1208) Buenos Aires. Tel.: 981-5444-5544-5644-5744

sido totalmente establecida, existiendo trabajos que al igual que el nuestro encuentra una mayor frecuencia de aneuploidía asociada a SG intermedios y altos comparados con los bajos (71, 75 y 21 % respectivamente), pero no es hallada por otros autores^(6, 15, 17).

La relación entre la ploidía y el estadio clínico del tumor está bien establecida, existiendo una predominancia de histogramas diploides en el estadio B con cifras que varían entre el 53 y 100 % y aumento de los casos aneuploides en los estadios más avanzados^(15-17, 20). En nuestros casos hallamos un 55 % de D en los casos con estadio B en contraposición a sólo el 8 % en el C y 27 % en el D.

La determinación del GM está en relación con las anomalías cromosómicas secundarias a través de la transformación logarítmica de la variancia de los valores obtenidos en forma individual de cada célula alrededor del pico principal⁽⁹⁾. Este valor, de importancia pronóstica en los carcinomas de próstata, tuvo una diferencia estadísticamente significativa entre nuestros casos con SG bajo y los intermedios y altos⁽²¹⁾.

La presencia de eventos mayores a 5c ha sido considerada como característica de los tumores malignos en tejidos sin poliploidización, pero también utilizado como factor pronóstico independiente en algunos tumores como los mamaros, siendo de interés su investigación en otras neoplasias^(22, 23). En nuestros casos hallamos correlación entre la frecuencia de eventos mayores a 5c con el grupo de SG bajo (14 %) y los intermedios y altos (61 y 67 % respectivamente).

Como conclusión, de una punción biopsia prostática con diagnóstico de cáncer puede extraerse abundante información que colabore con la estadificación y sea de valor pronóstico para el paciente con esta neoplasia.

BIBLIOGRAFIA

1. Eble, J. N.; Angermeier, P. A.: The role of fine needle aspiration and needle core biopsies in the diagnosis of primary prostatic cancer. *Hum. Pathol.* 23:249, 1992.
2. Kahn, A.; Elsner, B.; Bellotti, M. S.; Montes de Oca, L. F.; Becher, E.; Borghi, L.; Catalano, V.: Estudios inmunohistoquímicos del ciclo celular y oncogenes en adenocarcinomas prostáticos. *Medicina (Bs. As.)* 53:567, 1993.
3. Fodor, M.; Alonso, E.; Bellotti, M. S.; Elsner, B.; Aparisi, I.; Pisilli, L.: Carcinoma transicional de vejiga. Evaluación de factores pronósticos. *Medicina (Bs. As.)* 53:413, 1993.
4. Bocking, A.; Adler, C. P.; Common, H. H.; Hilgarth, M.; Branzen, B.; Aufferman, W.: Algorithm for a DNA-cytomorphometric diagnosis and grading of malignancy. *Anal. Quant. Cytol.* 6:108, 1984.
5. Tribukait, B.; Rostrom, L.; Esposti, P. L.: Quantitative and qualitative aspects of flow DNA measurements related to the cytologic grade in prostatic carcinoma. *Anal. Quant. Cytol.* 5:107, 1983.
6. García, A.; Kahn, A.; Montes de Oca, L. F.; Elsner, B.; Bellotti, M. S.; Becher, E.; Sáenz, C.: Prostatectomías radicales: Estudio morfológico y de ploidía nuclear. *Rev. Arg. de Urol.* 59, Nº 3, 115-120, 1994.
7. Gleason, D. F.: Histologic grading of prostate cancer. *Hum. Pathol.* 23:273, 1992.
8. Sakamoto, N.; Tsuneyoshi, M.; Enjoji, M.: Sclerosing adenosis of the prostate. Histopathologic and immunohistochemical analysis. *Am. J. Surg. Pathol.* 15:660, 1991.
9. Epstein, J. I.: Differential diagnosis in pathology: Urologic disorders. New York: Igatu-Shoin, 1992, p. 110.
10. Bostwick, D. G.: The pathology of early prostate cancer. *CA Cancer J. Clin.* 39:380, 1989.
11. Humphrey, P. A.; Walter, P. J.: Adenocarcinoma of the prostate. *Am. J. Clin. Pathol.* 100:256, 1993.
12. Bastacky, S. I.; Walsh, P. C.; Epstein, J. I.: Relationship between perineural tumor invasion on needle biopsy and radical prostatectomy capsular penetration in clinical stage B adenocarcinoma of the prostate. *Am. J. Surg. Pathol.* 17:336, 1993.
13. Hendrick, L.; Epstein, J. I.: Use of keratin 903 as an adjunct in the diagnosis of prostatic carcinoma. *Am. J. Surg. Pathol.* 13:389, 1989.
14. Brawer, M. K.; Nagle, R. B.; Pitts, W.: Keratin immunoreactivity as an aid to the diagnosis of persistent adenocarcinoma in irradiated human prostates. *Cancer* 63:454, 1989.
15. Montgomery, B. T.; Nativ, O.; Blute, M. L.: Stage B prostatic adenocarcinoma: Flow cytometric nuclear DNA ploidy analysis. *Arch. Surg.* 125:327, 1990.
16. Blute, M. L.; Nativ, O.; Zincke, H.; Farrow, G. M.; Therneau, T.; Lieber, M. M.: Pattern of failure after radical retropubic prostatectomy for clinically and pathologically localized adenocarcinoma of the prostate: influence of tumor deoxyribonucleic acid ploidy. *J. Urol.* 142:1262, 1989.
17. Epstein, J. I.; Pizov, G.; Steinberg, G. D.; Carter, H. B.; Pitcock, R.; Armas, D. A.; Patin, A.; Walsh, P. C.: Correlation of prostate cancer nuclear deoxyribonucleic acid, size, shape and Gleason grade with pathological stage at radical prostatectomy. *J. Urol.* 148:87, 1992.
18. Leung, Ch-S.; Zbieranowski, I.; Demers, J.; Murray, D.: DNA image cytometry of prostatic carcinoma: A comparison of needle core biopsy and subsequent prostatectomy specimens. *Mod. Pathol.* 7:195, 1994.
19. Sassi, I.; Mangili, F.; Sanvito, F.; Andreassi, A.; Cantaboni, A.: Reproducibility of FCM-DNA ploidy analysis in prostatic cancer: Comparison between needle biopsy and surgical specimens. *Anal. Cell. Pathol.* 5:17, 1993.
20. Jones, E. C.; McNeal, J.; Bruchovsky, N.; de Jong, G.: DNA content in prostatic adenocarcinoma. A flow cytometric study of the predictive value of aneuploidy for tumor volume, percentage Gleason grade 4 and 5 and lymph node metastases. *Cancer* 66:752, 1990.
21. Bocking, A.; Chatelain, R.; Orthen, U.; Gien, G.; Kalkreuth, G.; Jochman, D.; Wohltmann, D.: DNA-grading of prostatic carcinoma: Prognostic validity and reproducibility. *Anticancer Res.* 8:129, 1988.
22. Siitonen, S. M.; Kallionemi, D. P.; Heulin, H. J.; Isola, J. J.: Prognostic value of cells with more than 5c DNA content as determined by image cytometry from tissue sections. *Hum. Pathol.* 24:1348, 1993.
23. Dytch, H. E.; Bartels, P. H.; Bibbo, M.; Pishotta, F. T.; Wied, G. L.: Computer graphics in cytodagnosis. *Anal. Quant. Cytol.* 4:363, 1982.