

Curso 2010/11
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS/31
I.S.B.N.: 978-84-15287-56-8

ROSA NIEVES RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ

**Carcinoma prostático: especial referencia
a biomarcadores patológicos de interés pronóstico.
Estudio clinicopatológico,
inmunohistoquímico y molecular**

Directores

**HUGO ÁLVAREZ-ARGUELLES CABRERA
EDUARDO SALIDO RUIZ
LUCIO DÍAZ-FLORES FEO**



SOPORTES AUDIOVISUALES E INFORMÁTICOS
Serie Tesis Doctorales

*A mis padres, quienes siempre me han apoyado en todo incondicionalmente.
A mi marido, por su apoyo en los momentos más difíciles y sus palabras de
aliento para seguir adelante.
Y a mis hijos, por su amor y cariño*

AGRADECIMIENTOS

La elaboración de este trabajo de Tesis Doctoral, ha sido posible por la dedicación, esfuerzo, constancia y ayuda de muchas personas, que han colaborado en su planteamiento, recogida de datos y desarrollo. Aunque estoy segura que todas ellas saben que les estaré siempre agradecida, quiero dejar constancia de este sentimiento en estas breves líneas.

Al Profesor Doctor D. Lucio Díaz- Flores Feo, quien cuando fui alumna suya en esta Facultad, me impresionó por sus cualidades humanas y didácticas. Años después, durante mi residencia en el Departamento de Anatomía Patológica su calidad humana y profesional le convirtieron a mis ojos en un ejemplo a seguir en esta especialidad.

Al Profesor Doctor D. Hugo Álvarez-Argüelles Cabrera, siempre dispuesto a enseñar, colaborar, por ser impulsor en esta Tesis Doctoral. Su saber, su actitud entusiasta y su espíritu de trabajo, han sido ejemplos para mí e imprescindibles para llevar a buen fin este trabajo.

Al Profesor Doctor Eduardo Salido Ruiz, por la ayuda que siempre me ha ofrecido y lo que me ha enseñado. Resultado de su incansable trabajo y capacidad innovadora, son muchas de las nuevas técnicas incorporadas al Servicio de Anatomía Patológica y, consecuencia de su tesón, esta Tesis Doctoral.

Al Profesor Doctor D. Antonio Isaac Martín Herrera, jefe del Servicio, quien ha dirigido mi actividad profesional formativa como residente MIR. En especial me gustaría agradecerle su disposición a transmitirme sus amplios conocimientos en todas las ramas de la Anatomía Patológica. Su dedicación y disposición al trabajo del día a día, siempre me ayudarán en mi actividad profesional.

A los Médicos del Servicio de Anatomía Patológica Sonia, Maruja, Rafa, Cipriano, Cande, Mara y Alejandro, que de una forma u otra me han ayudado en la realización de esta tesis.

A Nieves, por ser más que una compañera, una amiga. Por su ánimo, apoyo y estímulo para impulsar este trabajo, que con su entusiasmo ha estado siempre en los buenos y no tan buenos momentos.

A los Profesores de Histología, en particular al Doctor García Miranda, Doctor Francisco Valladares y Doctor Ricardo Gutiérrez, por sus consejos y ayuda en la elaboración de este proyecto.

Al personal de enfermería y técnico del Servicio de Anatomía Patológica, especialmente a Luisa, Tomás, Cande y Manuel, por su amistad y ayuda durante este trabajo.

A Lourdes, Ceci, Bárbara y Livam por ayudarme en la realización de las técnicas inmunohistoquímicas y moleculares.

Al personal administrativo del Servicio de Anatomía Patológica, por la colaboración en la recogida de datos de este proyecto.

ÍNDICE

INDICE

1.- INTRODUCCIÓN

1. 1.- Anatomía e histología prostática, 1

1. 2.- Epidemiología del cáncer de próstata, 5

1. 3.- Etiología y factores de riesgo, 7

1.3.1.- La edad, 7

1.3.2.- Hormonas, 8

1.3.3.- Raza, 8

1.3.4.- Dieta, 9

1.3.5.- Hiperplasia benigna de próstata (HBP), 9

1.3.6.- Infecciones prostáticas, 10

1.3.7.- Neoplasia intraepitelial prostática (PIN), 10

1.3.8.- Factores ambientales, 13

1.4.- Diagnóstico del cáncer de próstata, 14

1.4.1.- Semiología, 14

1.4.2.- Diagnóstico precoz del carcinoma de próstata, 15

1.4.2.1.- *Tacto rectal*, 15.

1.4.2.2.- *Ecografía transrectal*, 15

1.4.2.3.- *Resección transuretral de próstata*, 16

1.4.2.4.- *Antígeno prostático específico (PSA)*, 17

1.5.- Histopatología del cáncer de próstata, 20

1.5.1.- Aspectos generales, 20

1.5.1.1.- *Características arquitecturales*, 22

1.5.1.2.- *Características nucleares*, 23

1.5.1.3.- *Características citoplasmáticas*, 23

1.5.1.4.- *Características intraluminales*, 24

1.5.1.5.- *Hallazgos específicos de malignidad*, 25

1.5.1.6.- *Características estromales*, 27

1.5.2.- Subtipos de carcinoma de próstata, 30

1.5.2.1.- *Adenocarcinoma de conductos prostáticos*, 30

1.5.2.2.- *Adenocarcinoma mucinoso (coloide)*, 31

1.5.2.3.- *Carcinoma de células en anillo de sello*, 31

CARCINOMA PROSTÁTICO

1.5.2.4.- *Carcinoma escamoso (epidermoide) y adenoescamoso*, 32

1.5.2.5.- *Carcinoma urotelial (o de células transicionales) primario de la Próstata*, 32

1.5.2.6.- *Carcinoma sarcomatoide y carcinosarcoma*, 32

1.5.2.7.- *Carcinoma basaloide y adenoide quístico*, 33

1.5.2.8.- *Carcinoma neuroendocrino*, 34

1.5.2.9.- *Carcinoma linfoepitelioma-like*, 34

1.5.2.10.- *Carcinomas indiferenciados sin especificar*, 34

1.5.3.- Sistema de gradación de Gleason, 35

1.5.4.- Hallazgos inmunohistoquímicos, 38

1.5.4.1.- *Antígeno prostático específico (PSA)*, 38

1.5.4.2.- *Fosfatasa ácida alcalina (PAP)*, 39

1.5.4.3.- *Citoqueratinas de alto peso molecular detectadas por 34 β e12 (citoqueratina)*, 39

1.5.4.4.- *p63*, 40

1.5.4.4.- *α -methyl-co a racemase (AMACR)*, 40

1.5.4.5.- *Receptor androgénico (AR)*, 42

1.5.4.6.- *Microseminoproteína beta (MSMB)*, 42

1.6.- Estadaje del carcinoma prostático, 44

1.7.- Opciones terapéuticas del carcinoma de próstata, 46

1.7.1.- Prostatectomía radical, 47

1.7.2.- Radioterapia externa, 49

1.7.3.- Terapia hormonal, 50

1.7.4.- Cambios histológicos observados post-tratamiento, 51

1.7.4.1.- *Radioterapia*, 51

1.7.4.2.- *Deprivación hormonal con estrógenos y andrógenos*, 52

1.7.4.3.- *Crioterapia*, 52

1.8.- Pronóstico del carcinoma prostático, 52

1.8.1.- Factores predictivos pronósticos, 52

1.8.1.1.- *Estadio clínico*, 52

1.8.1.2.- *Estadio patológico*, 53

1.8.1.3.- *Gradación histológica (Gleason)*, 53

1.8.1.4.- *Márgenes quirúrgicos*, 54

1.8.1.5.- *Volumen tumoral*, 54

1.8.1.6.- *Extensión extraprostática*, 55

INDICE

- 1.8.1.7.- *Invasión de vesículas seminales*, 56
- 1.8.8.8.- *Invasión de ganglios linfáticos*, 57
- 1.8.1.9.- *La edad*, 57
- 1.8.1.10.- *Invasión perineural*, 57
- 1.8.1.11.- *Niveles séricos de PSA*, 57
- 1.8.1.12.- *Biomarcadores*, 58
 - 1.8.1.12.1.- *Ploidía del DNA*, 58
 - 1.8.1.12.2.- *Índice proliferativo (Ki-67)*, 58
 - 1.8.1.12.3.- *Expresión p53*, 58
 - 1.8.1.12.4.- *Diferenciación neuroendocrina*, 58
 - 1.8.1.12.5.- *bcl-2*, 59
 - 1.8.1.12.6.- *E-cadherina*, 59
 - 1.8.1.12.7.- *c-erbB2*, 59
- 1.8.2.- *Estadificación patológica y patrones de crecimiento y metástasis*, 60

1.9.-Análisis de los mecanismos implicados en la progresión tumoral. Genes y marcadores tumorales del cáncer de próstata, 64

- 1.9.1.- *Componente hereditario del cáncer de próstata*, 66
- 1.9.2.- *Alteraciones genéticas en carcinoma de próstata*, 67
 - 1.9.2.1.- *Aberraciones cromosómicas en cáncer de próstata. detección y significado biológico*, 67
 - 1.9.2.1.1.- *Cromosoma 8*, 68
 - 1.9.2.1.2.- *Cromosoma 13*, 69
 - 1.9.2.1.3.- *Cromosoma 16*, 69
 - 1.9.2.1.4.- *Cromosoma 10*, 69
 - 1.9.2.1.5.- *Cromosoma 17*, 70
 - 1.9.2.1.6.- *cromosoma 18*, 71
 - 1.9.2.1.7.- *Cromosoma 7*, 71
 - 1.9.2.1.8.- *Cromosoma 6*, 71
 - 1.9.2.1.9.- *Cromosoma X*, 71
 - 1.9.2.2.- *Mutaciones y anomalías de expresión génica en cáncer de próstata*, 72
 - 1.9.2.2.1.- *MYC*, 72
 - 1.9.2.2.2.- *NKX3.1*, 73
 - 1.9.2.2.3.- *PTEN*, 74
 - 1.9.2.2.4.- *Receptor androgénico*, 76
 - 1.9.2.2.5.- *Fusión TMPRSS2-ETS*, 79
 - 1.9.2.2.6.- *p27*, 80

CARCINOMA PROSTÁTICO

- 1.9.2.2.7.- *Telomerasa*, 81
- 1.9.2.2.8.- *Micrnas*, 82
- 1.9.2.2.9.- *Epigenética*, 83
- 1.9.2.2.10.- *GSTP1*, 84
- 1.9.2.2.11.- *APC*, 85
- 1.9.2.2.12.- *El gen CDH1(16q22)*, 86
- 1.9.2.2.13.- *TP 53*, 87

2.- OBJETIVOS, 89

3.- MATERIAL Y MÉTODO, 89

- 3.1.-Material de estudio, 89
- 3.2.- Método de estudio, 89
 - 3.2.1.- Método clínico, 89
 - 3.2.2.- Método anatomo-patológico, 90
 - 3.3.2.1.- *Estudio macroscópico*, 90
 - 3.3.2.2.- *Estudio microscopio óptico*, 90
 - 3.3.2.3.- *Estudio inmunohistoquímico*, 91
 - 3.3.2.4.- *Estudio molecular*, 95
 - 3.2.3.- Análisis estadístico, 99

4.- RESULTADOS, 101

4.1.- Aspectos epidemiológicos, clínicos y analíticos, 101

- 4.1.1.- La edad, 101
- 4.1.2.- El PSA preoperatorio, 102
- 4.1.3.- Estadio fundamentado en parámetros patológicos (pT), 103
- 4.1.4.- PSA a los 5 años, 103
- 4.1.5.- Metástasis a distancia, 104
- 4.1.6.- Mortalidad, 105

4.2.- Datos patológicos, 105

- 4.2.1.- Gradación de Gleason, 105
- 4.2.2.- Márgenes quirúrgicos afectados, 110
- 4.2.3.- Invasión capsular, 111
- 4.2.4.- Afectación extraprostática, 113

INDICE

- 4.2.5.- Invasión de las vesículas seminales, 114
- 4.2.6.- Afectación unilateral o bilateral de la próstata, 116
- 4.2.7.- Volumen tumoral, 116
- 4.2.8.- Invasión de ganglios linfáticos, 117

4.3.- Correlación clínico-patológica, 117

- 4.3.1.- Edad, 117
- 4.3.2.- PSA preoperatorio, 118
- 4.3.3.- Estadío, 119
- 4.3.4.- PSA a los 5 años, 120
- 4.3.5.- Metástasis, 120
- 4.3.6.- Mortalidad, 121
- 4.3.7.- Score Gleason, 122
- 4.3.8.- Afectación de márgenes quirúrgicos, 123
- 4.3.9.- Invasión capsular, 123
- 4.3.10.- Extensión extraprostática, 124
- 4.3.11.- Invasión de vesículas seminales, 124
- 4.3.12.- Bilateralidad, 125
- 4.3.13.- Volumen tumoral, 125

4.4.-Parámetros inmunohistoquímicos, 127

- 4.4.1.-Eexpresión de ki-67, 127
- 4.4.2.- Expresión de bcl-2, 131
- 4.4.3.- Expresión de p53, 134
- 4.4.4.- Expresión de p63, 137
- 4.4.5.- Expresión de e-cadherina, 137
- 4.4.6.- Expresión de cromogranina A, 141
- 4.4.7.- Expresión de p504s (AMACR), 145
- 4.4.8.- Expresión de c-erbB2, 147
- 4.4.9.- Expresión de CD31, 150
- 4.4.10.- Expresión de MSMB (microseminoproteína beta), 152
- 4.4.11.- PCR de tejido y genotipado del polimorfismo del promotor de MSMB (rs10993994) mediante RFLP, 159

4.5.- Correlación Inmuno-clínicopatológica, 161

- 4.5.1.- Expresión de Ki-67, 161
- 4.5.2.- Expresión de p53, 162
- 4.5.3.- Expresión de bcl2, 163
- 4.5.4.- Expresión de E-cadherina, 163

CARCINOMA PROSTÁTICO

- 4.5.5.- Expresión de cromogranina A, 164
- 4.5.6.- Expresión de AMACR, 165
- 4.5.7.- Expresión de c-erbB2, 166
- 4.5.8.- CD 31, 166
- 4.5.9.- MSMB, 167

5.- DISCUSIÓN, 171

5.1. Aspectos epidemiológicos, analíticos y clinicopatológicos generales,171

- 5.1.1.- Edad, 171
- 5.1.2.- PSA preoperatorio, 173
 - 5.1.2.1.-*Correlación PSA preoperatorio y edad, 175*
 - 5.1.2.2.-*Correlación PSA preoperatorio y Gleason, 176*
 - 5.1.2.2.-*Correlación PSA preoperatorio y volumen tumoral, 177*
 - 5.1.2.3.- *Correlación PSA preoperatorio y estadio (pT), 178*
- 5.1.3.- Estadio fundamentado en parámetros patológicos, 178
 - 5.1.3.1.- *Correlación estadio con Gleason, 180*
 - 5.1.3.2.- *Correlación estadio con volumen tumoral, 179*
- 5.1.4.- Metástasis, 180
- 5.1.5.- Recurrencia de la enfermedad, 182
- 5.1.6.- Mortalidad, 184
 - 5.1.6.1.- *Correlación entre mortalidad y gradación de Gleason, 186.*
 - 5.1.6.2. *Correlación entre mortalidad y PSA preoperatorio, 186*

5.2.- Significado pronóstico de aspectos patológicos o morfológicos convencionales, 189

- 5.2.1.- Gradación de Gleason, 189
 - 5.2.1.1.- *Correlación entre Gleason y volumen tumoral, 191*
- 5.2.2.- Volumen tumoral, 191
- 5.2.3 .- Afectación de márgenes quirúrgicos, 192
- 5.2.4.- Invasión de la cápsula, 194
- 5.2.5.- Extensión extraprostática, 195
- 5.2.5.- Invasión de las vesículas seminales,196

5.3.- Aspectos inmunohistoquímicos-moleculares de significado pronóstico en el carcinoma prostático, 197

- 5.3.1.- ki-67, 198
- 5.3.2.- bcl-2, .202.

INDICE

- 5.3.3.- E-cadherina, 205
- 5.3.4.- p53, 207
- 5.3.5.- Cromogranina A, 211
- 5.3.6.- Her-2/neu: (c-erbB2), 212
- 5.3.7.- Angiogénesis: (CD31), 213
- 5.3.8.- p504/p63, 215.
- 5.3.9.- MSMB, 221

6.- CONCLUSIONES, 225

7.- ANEXOS, 231

8.- BIBLIOGRAFÍA, 243

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

1.1.- ANATOMÍA E HISTOLOGÍA PROSTÁTICA

La próstata (gr. *próstatas*, quien está delante) es la mayor de las glándulas sexuales accesorias del hombre. En condiciones normales pesa aproximadamente 20 gramos y mide unos 2 x 3 x 4 cm. de espesor, largo y ancho. Está localizada en el suelo pélvico, debajo de la vejiga urinaria. La próstata rodea la primera parte de la uretra y su parte posterior la recorren los dos conductos eyaculadores.

La próstata inicia su desarrollo en la séptima semana de la embriogénesis, a partir del mesénquima situado en la porción del seno urogenital alrededor de la desembocadura del conducto de Wolf. Por lo tanto, su desarrollo y diferenciación masculina son mediados por la acción de los andrógenos. La zona mesenquimal situada por encima del conducto wolfiano dará lugar a la próstata craneal, en la que habitualmente se desarrolla la hiperplasia benigna a partir de los 40-45 años. De la zona mesenquimal inferior al conducto de Wolf derivará la zona caudal de la próstata, en la cual se originarán alrededor del 80% de los carcinomas prostáticos. En el caso de las mujeres, el vestigio embriológico de este órgano corresponde a las glándulas periuretrales de Skene. Hasta la pubertad, el tejido glandular prostático se compone de los sistemas de conductos, dado que los alvéolos solo se adivinan como botones terminales. En la pubertad, el epitelio sufre una rápida hiperplasia, con formación de los alvéolos, y la próstata duplica su tamaño. Estas modificaciones se deben a la estimulación de la testosterona secretada entonces en cantidad creciente por las células de Leydig.

Aunque macroscópicamente, la próstata se divide en lóbulos, desde un punto de vista histológico y clínico se distinguen tres zonas concéntricas que rodean en parte la porción prostática de la uretra: la zona periférica, central y de transición (Figuras 1 y 2).

La *zona periférica de la próstata* es la subdivisión anatómica de mayor tamaño. Comprende las superficies laterales, posteriores y apicales y, se extiende

CARCINOMA PROSTÁTICO

ventralmente de forma variable, donde se fusiona con el estroma fibromuscular anterior. Se puede visualizar mediante ultrasonido endo-rectal y es la zona de la que se obtienen muestras si se elige tomar biopsias por dicha vía. Contiene alrededor del 75% del componente glandular prostático, grandes glándulas principales, cuyos conductos excretores transcurren hacia atrás, desembocando junto con el colliculus seminalis de la uretra. Es la región donde se desarrolla con más frecuencia la neoplasia intraepitelial prostática y el carcinoma de próstata.

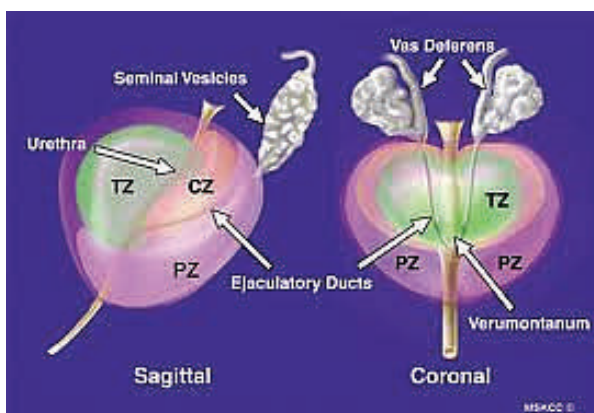


Figura 1. Esquema que representa la anatomía de la próstata en proyección sagital como coronal

La *zona central* representa aproximadamente el 25 % de la masa glandular total de la próstata. Las vesículas seminales y la ampolla de los conductos deferentes abocan en la zona central por su parte cefálica, uniéndose en su interior para formar los conductos eyaculadores. Forma una estructura piramidal con base en la próstata y vértice en el verumontanum. Se diferencia de la zona periférica y de transición por sus características glandulares tanto morfológicas como histológicas. El citoplasma de las células secretoras es mucho más granular y oscuro. Los núcleos son relativamente más grandes y dispuestos a diferente altura en las distintas células que componen la glándula²⁰⁴. La zona central es relativamente resistente al desarrollo neoplásico, aunque se considera que el 5 – 10 % de los carcinomas de próstata tienen su origen en ella.

La *zona de transición* corresponde al 5 % de la próstata y contiene glándulas mucosas. Estas últimas forman dos lóbulos a ambos lados de la uretra proximal y solo se encuentran en la parte superior del colliculus seminalis. Es la

INTRODUCCIÓN

principal región donde se desarrolla la hiperplasia benigna aunque en ella pueden originarse hasta 10-20% de los carcinomas de próstata.

Desde el punto de vista histológico, la glándula prostática se compone de 30 a 40 glándulas tubuloalveolares o tubulosaculares compuestas, que se vacían en unos 20 conductos excretores independientes en la uretra, a ambos lados del colliculus seminalis. Una cápsula, formada por tejido conjuntivo denso, rodea al órgano y se extiende por su interior para constituir el estroma prostático. Éste último está constituido por tejido conectivo con elementos vasculo-nerviosos, miofibroblastos (positivos para vimentina y actina) y componente de células musculares lisas intercaladas (positivas para miosina y desmina). La estrecha interconexión existente entre estroma y epitelio es necesaria para el correcto desarrollo y funcionamiento de la próstata ¹⁰⁹ (Figura 3).

Los alvéolos de tamaño variable, tienen forma muy irregular, dado que el estroma origina evaginaciones hacia la luz, por lo que su epitelio de revestimiento forma pliegues complejos acompañados por una estrecha lámina propia de sostén. Existen dos tipos de células epiteliales: a) Células cilíndricas o cúbicas, con citoplasmas espumoso claro y núcleos basales de cromatina desespiralizada y b) Células basales en contacto con la membrana basal, planas, más escasas y con núcleos cromáticos.

El citoplasma de las células cilíndricas altas posee un Golgi muy desarrollado, localizado entre el núcleo basal y la superficie luminal, abundantes lisosomas (que produce fosfatasa ácida) y gránulos secretores. Las luces glandulares suelen contener material de secreción almacenado con pequeños cuerpos esféricos amiláceos, a menudo calcificados en ancianos.

Existen evidencias basadas en el patrón de expresión de citoqueratinas y en la vida media y capacidad de proliferación celular que sugieren que en la monocapa de células basales residiría la población de *stem cells* (o células madre adultas pluripotenciales) que daría origen a las células secretoras y células basales. Ambos tipos celulares pertenecerían a la misma estirpe y se distinguirían entre sí por su grado de diferenciación celular, desde no diferencia-

CARCINOMA PROSTÁTICO

do (células basales) hasta diferenciado (células secretoras). También se han encontrado células prostáticas que presentan características fenotípicas intermedias entre células basales y secretoras³⁰⁹, sería la población de células con una diferenciación intermedia³¹³.

El epitelio glandular contiene una pequeña población de células neuroendocrinas que se localizan sobre la capa de células basales y dispuestas aleatoriamente entre las células secretoras, detectándose mediante técnicas inmunohistoquímicas y microscopía electrónica. Estas células son ricas en gránulos de serotonina y Enolasa neurono específica (ENE). Existen subpoblaciones de células neuroendocrinas que también contienen una variedad de hormonas peptídicas, tales como somatostatina, calcitonina y bombesina. Pese a la asociación observada, su implicación en el desarrollo prostático, así como en su patología es desconocida. Podría representar una función paracri-

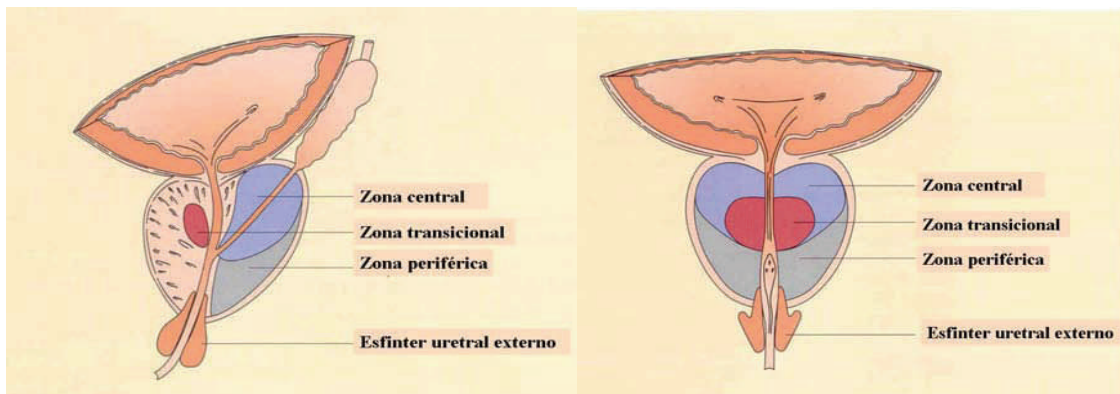


Figura 2. Cortes de la vejiga y próstata en varias proyecciones donde se pueden estudiar las diferentes zonas de la próstata

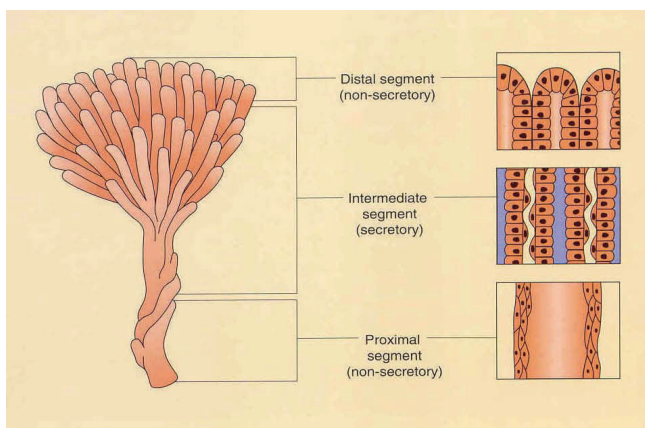


Figura 3.

INTRODUCCIÓN

na, tal vez en respuesta a estímulos neuronales. Esta pequeña población celular puede originar, ocasionalmente, carcinomas que son negativos para el antígeno específico de próstata (PSA) y para la fosfatasa ácida (PAP).

1. 2.- EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER DE PRÓSTATA

El cáncer de próstata (CP) no fue considerado como una neoplasia frecuente hasta que, en 1902, Albarrán y Hallé observaron una elevada frecuencia de los denominados “epiteliomas adenoides” en los especímenes quirúrgicos de las prostatectomías. La distribución zonal de la glándula prostática y su trascendencia en el desarrollo del CP, claramente establecida por Gil Vernet en la década de los 50, sirvió posteriormente a McNeal en sus estudios sobre la anatomía zonal de la próstata, ampliamente conocidos en el campo de la patología prostática.

En la actualidad, el CP se sitúa entre las seis neoplasias más frecuentes que afectan a la población mundial, siendo la segunda en los varones. Destaca entre otras neoplasias por tres razones fundamentales: el brusco incremento de su incidencia en los últimos años, el ser la neoplasia más común en la población masculina y el constituir la segunda causa oncológica de muerte en los países occidentales ¹¹⁷. El incremento en la incidencia de esta neoplasia es debido a varios factores: a) aumento de la longevidad masculina b) avances en el campo del diagnóstico precoz y c) mayor exposición a los factores de riesgo. Debido a los avances en el diagnóstico precoz, se ha observado una disminución significativa de la mortalidad por cáncer; en concreto, en las dos últimas décadas ha disminuido un 38 % ¹¹⁷.

El cáncer de próstata es uno de los mayores problemas médicos en la población masculina. Cada año 2,6 millones de nuevos casos son diagnosticados en Europa, constituyendo aproximadamente un 11% de todos los cánceres en hombres y el 9% de las muertes por cáncer en la Unión Europea.

El CP es en la actualidad, el cáncer no cutáneo más frecuente y la segunda

CARCINOMA PROSTÁTICO

causa de muerte por cáncer en hombres en los países occidentales, después del cáncer de pulmón. La incidencia al año es del 9.7 % de cánceres en hombres (15.3% en países desarrollados y del 4.3% en países en desarrollo). Es responsable del 5.6 % de las muertes por cáncer en hombres y 3.2 % de muertes por todos los cánceres. En la Unión Europea, corresponde al segundo tipo de cáncer más común, con unos 135000 casos nuevos y 55700 muertes en 1996. En España es la 3ª causa de cáncer, después del de pulmón y colo-rectal, pero se encuentra entre las 6 que han disminuido en su mortalidad. Además, en la Comunidad Autónoma Canarias, se refiere hasta el 21,7% de las causas globales de muerte por cáncer en el varón ⁵. En los últimos años, esta incidencia refleja la gran cantidad de diagnósticos de cánceres latentes en screening en hombres asintomáticos y detección de CP durante las prostatectomías o por autopsias. Así, en países donde el screening se efectúa (USA, Europa, Australia), la incidencia es muy alta, siendo la supervivencia, significativamente más alta en países con alta incidencia (80%) y más baja en países en desarrollo (40%). Los cánceres latentes son más frecuentes en ancianos. La frecuencia (incidencia y mortalidad) en la raza negra es el doble que en la población blanca.

La incidencia es variable en los distintos países. Es mayor en países occidentales desarrollados, que en países en vías de desarrollo. La incidencia en España es de 21 nuevos casos cada año por cada 100.000 varones.

El aumento de la incidencia se ha visto acompañado, a partir de los años 90 por una disminución de la mortalidad. La disminución de la mortalidad puede ser explicada por la utilización sistemática del PSA (detección de los niveles séricos del antígeno específico de próstata) como método diagnóstico. Así, la determinación en sangre del PSA en la analítica de rutina en hombres mayores de 50 años y la mayor sensibilización con el problema del CP, hace que cada vez más hombres realicen revisiones urológicas periódicas y están aumentando el número de diagnósticos de CP en fases precoces de su evolución. En general, una elevación en el PSA es más sensible que específica para el CP. Aproximadamente el 15 % de los casos de CP, tienen bajos nive-

INTRODUCCIÓN

les séricos del PSA. Casi la mitad de los pacientes con CP tienen niveles por encima de 10 mg/ml²⁰⁰. La elevación del PSA puede ocurrir en las prostatitis, infartos prostáticos e importantes traumas en la próstata, pero estos niveles deberían ser transitorios y resolverse con tratamiento adecuado.

1.3.- ETIOLOGÍA Y FACTORES DE RIESGO:

No se conocen las causas directas responsables de la etiología del cáncer de próstata; aunque sí factores o situaciones que condicionan un mayor riesgo para el desarrollo de la enfermedad. Por ejemplo, tener antecedentes familiares de cáncer prostático, edad avanzada, vivir en culturas occidentales o pertenecer a la raza afro-americana¹⁵⁸.

1.3.1- LA EDAD.

La edad es un factor claramente importante en la aparición de tumores prostáticos. Como ya se ha comentado previamente, la prevalencia del cáncer prostático, ya sea latente, con expresión clínica, aumenta de forma más rápida con la edad que en cualquier otro tipo de cáncer. Menos del 1% de casos de cáncer de próstata se diagnostican antes de los 40 años¹⁵⁸. En EEUU la mortalidad debida a este proceso a partir de los 85 años es de 629 / 100.000 individuos por año, cifra significativamente superior a la correspondiente al cáncer de pulmón, que es el segundo tipo de cáncer más común y cuya mortalidad es de 435 / 100.000 individuos por año.

Casi el 75% de los hombres diagnosticados de CP son mayores de 65 años, pero también se ve en adultos jóvenes, incluso niños y adolescentes^{72, 179}.

Su frecuencia aumenta con la edad, así hay que observar cuidadosamente la próstata en las autopsias. La frecuencia del CP incidental en el examen post-mortem varía entre el 30 y el 40 % de los hombres mayores de 50 años y es aproximadamente el 70% de los hombres mayores de 70 años¹²⁵.

CARCINOMA PROSTÁTICO

1.3.2.- HORMONAS.

Los andrógenos son necesarios para el crecimiento, mantenimiento y funcionamiento de la actividad de las células prostáticas y están implicados en el desarrollo del CP. Así, se ha visto, en estudios con animales, una alta incidencia de carcinomas inducidos por el tratamiento crónico con testosterona. Por otra parte, la incidencia en pacientes con deprivación androgénica, como en individuos cirróticos y en individuos castrados antes de la pubertad, es significativamente inferior⁶⁴. La testosterona difunde en la glándula prostática, donde se convierte en dihidrotestosterona (DHT). La DHT y la testosterona se unen al receptor de andrógeno. Seguidamente hay activación génica con diferentes acciones, incluyendo el control de la división celular. Esta dependencia androgénica ha constituido la base para el tratamiento paliativo del cáncer prostático mediante bloqueo androgénico. El mecanismo por el cual los andrógenos favorecen el desarrollo del cáncer de próstata parece encontrarse en la capacidad anabolizante, promoviendo la proliferación celular e inhibiendo la apoptosis¹⁷⁸. También se ha observado una fuerte relación entre los niveles de IGF-I (*Insuline-like Growth Factor I*), que actuaría promoviendo la actividad mitógena de las células epiteliales prostáticas. En cambio, los niveles de IGF-II están inversamente relacionados con el desarrollo del cáncer de próstata.

1.3.3.- RAZA.

Los hombres afro-americanos presentan tasas más altas de cáncer prostático. Se ha sugerido que es debido a que sus niveles de testosterona en sangre son un 13% más altos que en los caucásicos²⁶⁶. También se ha especulado que la diferente actividad de la 5-alfa-reductasa podría explicar las diferencias raciales, particularmente la incidencia marcadamente baja entre los hombres japoneses²⁶⁷.

INTRODUCCIÓN

1.3.4.- DIETA.

A partir de un estudio prospectivo poblacional con más de 900.000 adultos, se ha podido establecer una asociación entre la obesidad y el riesgo de morir de cáncer, incluido el cáncer prostático ⁴⁸. El exceso de grasa en la dieta favorecería los depósitos grasos corporales, desde los cuales el colesterol se transformaría en andrógenos de origen periférico circulantes aumentando los niveles totales de hormonas sexuales y, con ello, el riesgo de cáncer prostático. Hay una fuerte asociación entre la ingesta de productos animales, especialmente carne roja, y cáncer de próstata. Una alimentación basada en un alto contenido en fibra y un bajo aporte de grasa animal, tendría un efecto protector, es el caso de la dieta vegetariana en Asia.

Además, se ha postulado que las vitaminas A, D y E podrían actuar como factores protectores ^{67, 124}, así como un suplemento en la dieta con selenio ⁶³. Por otro lado, niveles bajos de zinc, cadmio, exposición a hormonas, factores de crecimiento durante la etapa prenatal se han asociado a esta patología ⁹⁵.

1.3.5.- HIPERPLASIA BENIGNA DE PRÓSTATA (HBP).

Existen varias razones para pensar que la HBP no es un precursor del carcinoma prostático. En primer lugar existen diferencias con respecto al carcinoma en cuanto a su ubicación dentro de la glándula prostática. Aproximadamente un 80% de los carcinomas prostáticos se desarrollan en los lóbulos periféricos de la próstata (según el modelo anatómico de McNeal), y la mayoría de los restantes se ubican a nivel periuretral en la llamada zona de transición. Curiosamente, la mayoría de áreas de hipertrofia benigna se originan en la zona transicional. En segundo lugar, el principal componente de la HBP es una proliferación estromal, a diferencia de la proliferación glandular que ocurre en los carcinomas prostáticos. Aunque la HBP y el cáncer de próstata tienen en común una dependencia androgénica, no se ha podido

CARCINOMA PROSTÁTICO

demostrar una relación directa entre el desarrollo de la HBP y del cáncer de próstata. No existe ninguna evidencia de que la HBP sea clonal, solo se han encontrado algunos cambios genéticos que implican inestabilidad genómica.

1.3.6.- INFECCIONES PROSTÁTICAS.

A pesar de que no existen datos concluyentes, parece que existe una relación entre la inflamación prostática y el desarrollo de neoplasia. Efectivamente, hay datos que sugieren que una historia de prostatitis puede estar asociada con un aumento del riesgo de presentar cáncer de próstata ⁸⁵. También se ha determinado un aumento del riesgo de presentar cáncer de próstata en aquellos pacientes con antecedentes de gonorrea y sífilis ¹⁴⁹.

1.3.7.- NEOPLASIA INTRAEPITELIAL PROSTÁTICA (PIN)

La neoplasia intraepitelial prostática (entidad conocida por las siglas en inglés PIN), es una proliferación intraluminal de las células secretoras del sistema ductal-acinar de la próstata, caracterizado por un espectro de rasgos de atipia citológica que oscilan desde mínima hasta carcinoma “in situ”. A este respecto, Franks en 1954, propuso que la “hiperplasia epitelial” es un precursor del carcinoma y en 1965, McNeal acuñó el término de “hiperplasia atípica” para lo que hoy conocemos como PIN. EN 1985, McNeal, conjuntamente con Bostwick, describieron los criterios diagnósticos para su reconocimiento ²⁰⁴.

En la lesión de PIN se distinguen tres grados de malignidad (PIN I, II y III) en función de la severidad de los cambios citoarquitecturales, los cuales incluyen: estratificación celular, aumento del tamaño nuclear, cambio en el patrón cromatínico, pleomorfismo y aparición de nucleolo. Actualmente, los tres grados suelen agruparse en dos: PIN de bajo grado y PIN de alto grado. En el PIN de bajo grado, el núcleo de las células está aumentado, variando en tamaño, tiene modificaciones cromáticas y posee un nucleolo pequeño o poco

INTRODUCCIÓN

visible. El PIN de alto grado se caracteriza por un núcleo grande, más cromatina y con distribución irregular de la cromatina, presentando, un nucleolo prominente similar al de las células del carcinoma (figura 4). La capa de célu-

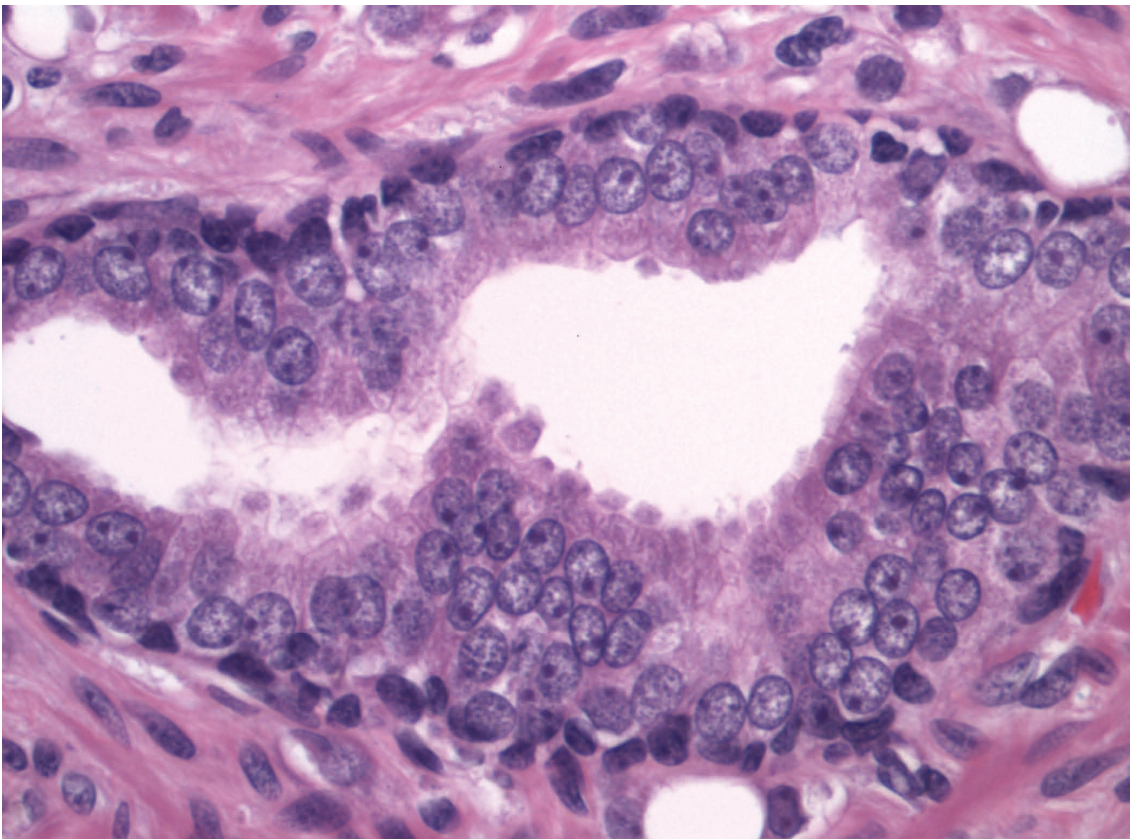


Figura 4. En esta imagen se pone de manifiesto las características típicas de PIN de alto grado. Se puede observar núcleos grandes con nucléolos manifiestos, así como distribución irregular de la cromatina.

las basales está intacta o raramente interrumpida en el PIN de bajo grado, mientras que puede estar frecuentemente interrumpida en las lesiones de alto grado. Estas características citológicas son prácticamente constantes, pero en función de la arquitectura celular se han descrito 4 patrones que frecuentemente coexisten: plano, nodular, micropapilar y cribiforme.

Existen evidencias a favor de la hipótesis del PIN como lesión precursora del CP:

- La incidencia y extensión del PIN de alto grado aumentan con la edad.

CARCINOMA PROSTÁTICO

- Ambas lesiones son multifocales y comparten localizaciones similares dentro de la glándula prostática (áreas periféricas).
- Desde el punto de vista morfológico puede detectarse la transición de PIN a carcinoma.
- La proliferación celular y apoptosis son mayores en el PIN de alto grado y en el carcinoma que en el tejido prostático normal.
- El PIN de alto grado y el carcinoma son simétricamente similares
- El PIN de alto grado presenta un fenotipo y alteraciones genéticas similares que el carcinoma.
- La desaparición progresiva de la capa de células basales, así como la pérdida de marcadores de diferenciación celular secretora, núcleos y nucleolos anormales. Pese a la pérdida de la capa de células basales, la membrana basal permanece intacta. Este hecho es indicativo de que la pérdida de la membrana basal no es un requisito indispensable en el desarrollo temprano de tumor.
- La neovascularización es mayor en el PIN de alto grado y en el carcinoma que en el tejido normal.

Existen datos en contra de la asociación de PIN de alto grado y carcinoma prostático:

- El 70% de próstatas con cáncer precoz no presentan PIN de alto grado en la pieza de prostatectomía.
- Cuando coexisten ambos procesos, sólo están adyacentes en un tercio de los casos.
- Los tumores de la zona de transición raramente presentan PIN de alto

INTRODUCCIÓN

grado.

Parece que el PIN de alto grado sería el precursor de muchos tumores periféricos de riesgo alto o intermedio. Las únicas formas de detección son la biopsia y la resección trans-uretral prostática. El PIN no aumenta la concentración de PSA, no puede ser palpado por tacto rectal ni detectado por ecografía. En un 2-16.5% de las biopsias prostáticas por aguja se identifica PIN de alto grado. Aproximadamente un 50% de los hombres con PIN de alto grado en la biopsia presentarán un carcinoma en biopsias subsiguientes realizadas dentro de los 2 primeros años de seguimiento. Por este motivo se recomienda un seguimiento cada 3-6 meses durante los dos primeros años y posteriormente cada año. No obstante, el identificar PIN en la próstata no es indicativo de la realización de un tratamiento radical.

Previamente al estudio de PIN, se describieron unas lesiones atróficas potencialmente precursoras de cáncer prostático, pueden asociarse lesiones atróficas con cambios altamente proliferantes, los cuales aparecen predominantemente en la zona periférica. A veces se asocian directamente con zonas PIN, o se sitúan adyacentes a pequeños carcinomas. Asimismo, pueden presentar alteraciones genéticas similares a las detectadas en lesiones PIN de alto grado y en los adenocarcinomas⁸¹. Estas áreas se asocian con frecuencia a un componente inflamatorio y muestran signos de daño oxidativo, denominándose **atrofia inflamatoria proliferativa (PIA)**. Se ha sugerido que el componente inflamatorio derivado de un daño oxidativo podría ser la clave del mecanismo patogénico implicado en la carcinomas prostática, igual que se ha descrito en otros cánceres epiteliales, tales como el gástrico y el hepático.

1.3. 8.- FACTORES AMBIENTALES:

Hay un gran número de trabajos que han analizado la posible contribución de múltiples factores ambientales en el desarrollo del CP. Sin embargo, no exis-

CARCINOMA PROSTÁTICO

te una relación clara entre estos factores y el CP. De todos éstos, merece una mayor atención el cadmio. Este último es un antagonista del zinc, el cual es un elemento indispensable para la reparación del DNA dañado. La próstata tiene altas concentraciones de zinc, las cuales disminuyen en el CP y en las prostatitis, respecto a las glándulas normales o con hiperplasia benigna.

1.4.- DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER DE PRÓSTATA

1.4.1.- SEMIOLOGÍA:

Los síntomas más frecuentes son los que hacen referencia a algún grado de alteración miccional. El crecimiento de la glándula prostática, ya sea benigno o maligno, ocasiona alteraciones miccionales secundarias a la obstrucción o infiltración del cuello vesical y del segmento uretral prostático. Este hecho origina unos síntomas dependientes del llenado y vaciado que tradicionalmente se conocía como síndrome prostático. Este término ha sido substituido en el ámbito de habla inglesa por el término LUTS (Lower Urinary Tract Symptoms) o STUI (*Síntomas del Tracto Urinario Inferior*). Otros pacientes pueden referir otra sintomatología como se muestra en la siguiente tabla (tabla 1):

Tabla 1: Primer síntoma del paciente con cáncer de próstata

- Síntomas de vaciado (Instructivos)
 - Chorro miccional fino
 - Retardo en el inicio de la micción
 - Prensa abdominal
 - Chorro intermitente
 - Vaciado vesical incompleto
 - Goteo terminal
- Síntomas de llenado (irritativos)

INTRODUCCIÓN

Polaquiuria

Nicturia

Urgencia miccional

Incontinencia urinaria

Dolor hipogástrico

Goteo terminal

- Disfunción eréctil
- Hematuria
- Síntomas de enfermedad diseminada

Dolor

Síndrome tóxico

1.4.2.-DIAGNÓSTICO PRECOZ DEL CARCINOMA DE PRÓSTATA

Actualmente, la combinación de examen digital rectal, ecografía transrectal y determinación sérica del antígeno específico prostático (PSA), representa una triada diagnóstica poderosa para la detección temprana del carcinoma de próstata

1.4.2.1.- TACTO RECTAL: El tacto rectal (TR) sigue siendo la prueba inicial más utilizada en el diagnóstico del cáncer de próstata. Está muy influenciado por la experiencia del clínico y nivel de sospecha. A esta prueba se le atribuye baja sensibilidad y alta especificidad.

1.4.2.2.- ECOGRAFÍA TRANSRECTAL: Constituye un buen método para la valoración del volumen prostático y para la realización de la biopsia ecodirigida múltiple aleatoria y de las zonas sospechosas (habitualmente son áreas hipoeoicas). No se recomienda como test de cribaje inicial. Se ha estimado que presenta una sensibilidad para el diagnóstico del cáncer de próstata del 70-92%, una especificidad del 40-56% y un valor predictivo positivo

CARCINOMA PROSTÁTICO

(VPP) entre el 17-35%. Constituye el método estándar para detección de CP a través de cilindros prostáticos, guiados en su obtención por ultrasonidos transrectales.

En el protocolo sextante se toman muestras bilaterales del ápice, medio y base de la próstata. El objetivo de las biopsias sextantes es el centro de cada mitad de la próstata equidistante de la línea media y el margen lateral, mientras que la localización más frecuente del CP es en la región dorsolateral de la próstata.

Se han postulado varias modificaciones del protocolo sextante. Recientes estudios han mostrado protocolos con 10 a 13 biopsias sistemáticas, detectando hasta un 35% más de carcinoma prostático que el protocolo sextante ^{11 108, 261}. Este aumento se relaciona con el hecho de que las biopsias son más laterales de la zona periférica, donde están localizadas un número significativo de los CP.

Aproximadamente un 15-22% de los CP aparecen en la zona de transición, mientras que las biopsias sextantes son principalmente de la zona periférica.

Manejo de las biopsias por aguja. Las biopsias prostáticas de diferentes regiones de la glándula deberían ser identificadas por separado. Si se toman dos cilindros de la misma región, deben ir en el mismo bloque. Sin embargo, más de dos muestras en el mismo bloque, aumenta el riesgo de perder tejido en los cortes ¹⁶⁶. En este sentido, la localización y extensión del cáncer puede ser crítico para el clínico, el cual selecciona el tratamiento ²⁶¹.

1.4.2.3.-RESECCIÓN TRANSURETRAL DE PRÓSTATA: Cuando la resección transuretral se hace sin sospecha clínica de CP, se detecta el CP incidentalmente en el 8 -10% de las muestras. La mayoría de los detectados por resección transuretral son de la zona de transición, pero también pueden ser de la zona periférica, particularmente cuando son grandes ^{131 208, 209}. En estos casos se recomienda que la extensión del tumor se informe como porcentaje total del área de la muestra. Si el tumor ocupa menos del 5 % de la

INTRODUCCIÓN

muestra es un estadio T1a; por el contrario si es superior al 5 % es un estadio T1b. Sin embargo, en las situaciones infrecuentes que el área afectada es menor al 5 % pero con grado Gleason igual o superior al 7 %, los pacientes serán tratados como si estuvieran en un estadio T1b.

1.4.2.4.- ANTÍGENO PROSTÁTICO ESPECÍFICO (PSA): El PSA es una proteína producida exclusivamente por las células epiteliales que revisten los conductos y acinos prostáticos y es secretado directamente al sistema ductal prostático, y que se puede cuantificar fácilmente en suero. El gen PSA está localizado en el cromosoma 19. La transcripción del gen PSA es regulada por andrógenos y se traduce en un precursor de PSA de 261 aminoácidos (proPSA). La conversión de proPSA inactivo en PSA activo requiere la acción de proteasas prostáticas exógenas como por ejemplo hk2, prostina (hk15), prostasa (hk4) o tripsina. Estas proteasas cortan un fragmento del extremo aminoterminal de proPSA, activándolo. En el suero existen diferentes formas moleculares de PSA, como resultado de la interacción entre PSA libre y, principalmente, dos inhibidores de proteasas extracelulares de origen hepático. Al igual que ocurre con otras una serin-proteasas, la manera de circular en el suero del PSA es formando complejo con alfa-1-antiquimotripsina (ACT, una glicoproteína monomérica de 67 kDa) y con alfa-2-macroglobulina (AMG, una glicoproteína de 720 kDa). Consecuentemente, sólo una pequeña proporción del PSA detectado en suero está libre. Como esta fracción libre no se une a ACT o AMG, se sospecha que se trata de una forma precursora inactiva (zimógeno) del PSA, o bien de especies de PSA fragmentadas o dañadas de algún modo, originadas en la forma nativa. En resumen, el PSA libre incluye: formas maduras monocadena y multímeros, así como formas fragmentadas del PSA.

Debido a su alta sensibilidad se suele utilizar como test inicial en el diagnóstico del cáncer de próstata ⁴⁰. A diferencia del TR y de la ecografía transrectal, el PSA constituye una prueba cuantitativa, reproducible, fácilmente tolerada y aceptada por el paciente, barata y con resultados independien-

CARCINOMA PROSTÁTICO

tes del observador. La U.S. Food and Drug Administration (FDA) aprueba oficialmente el screening del PSA para el CP, definiendo 4.0 ng/ml como límite superior de lo normal. Sin embargo, el PSA es una prueba poco específica. Puede ser superior a 4 ng/ml en algunas condiciones benignas, como la hiperplasia prostática benigna (prevalencia del 25% en varones mayores de 50 años). En un 25- 50% de los pacientes, la concentración de PSA es > 4 ng/ml ¹⁴ y hasta supera los 10 ng/ml en un 10% de los casos (215). El porcentaje de PSA libre en el cáncer de próstata es mayor que en controles sanos o en varones con HBP, y parece que la existencia de procesos infecciosos a nivel genitourinario o retenciones agudas de orina no modifican el valor de PSA libre a diferencia del PSA total. En un porcentaje elevado de pacientes portadores de cáncer prostático coexiste HBP, originando un porcentaje de PSA libre similar al de pacientes sin cáncer. El CP también puede presentarse en hombres con PSA en suero por debajo de 1 ng/ml. Los test de PSA son útiles para detectar recurrencias y respuestas en el seguimiento de las terapias ⁹⁸.

La detección de PSA libre es especialmente interesante en pacientes con PSA entre 4-10 ng/ml. La selección del nivel de corte del porcentaje de PSA libre (ratio de PSAL/PSAT) más adecuado para indicar la realización de una biopsia prostática es controvertido. En la literatura se han propuesto diferentes porcentajes con especificidad y sensibilidad variables, como se muestra tabla 2.

Además de la ratio de PSA, se han propuesto otros parámetros para intentar ser más precisos en la indicación de la biopsia de próstata, sobretudo en pacientes con PSA entre 4-10 ng/ml y TR negativo. Se han propuesto unos **rangos de PSA específicos por edad** ²⁴¹ con el fin de aumentar la sensibilidad en pacientes jóvenes y la especificidad en pacientes mayores, con lo que se evita la realización de las biopsias.

Tabla 2.. Utilidad del porcentaje de PSA libre/total en el diagnóstico del cáncer de próstata. Niveles de corte utilizados para la indicación de una biop-

INTRODUCCIÓN

sia prostática.

Autor	PSA (ng/ml)	% PSA libre	Sensibilidad	Especificidad
Luderer, 1995	4-10	20%	88%	50%
		25%	100%	31%
Mitrunen, 1995	1-20	21%	70%	73%
		25%	80%	63%
		31%	90%	40%
Oesterling, 1996	2-20	18%	80%	45%
		20%	87%	37%
Partin, 1996	4-10	17%	90%	46%
		20%	91%	28%
		25%	100%	14%
Reissigl, 1997	>2.5	18%	94%	63%
Catalona, 1997	2.6-4	27%	90%	82%
Filella, 1997	4-10	< 10%	47%	10%
		<15%	71%	34%
		<20%	94%	66%

Tabla tomada y modificada de Filella et al.,2003

La **densidad de PSA (DPSA)** corresponde al cociente entre PSA y volumen prostático. Se ha sugerido como punto de corte el valor de 0.15 ng/ml/cc, indicándose la biopsia en pacientes con TR negativo y PSA entre 4-10 ng/ml que lo superan. Algunos autores han propuesto la densidad de PSA de la zona de transición (DPSA-ZT), debido a que esta es la zona donde se origina la hipertrofia benigna de próstata, asignando un punto de corte de 0.35³⁵⁴. Un estudio randomizado muestra que la utilización de la DPSAZT con un punto de corte de 0.17 sería equivalente a la utilización de la DPSA con un valor de corte de 0.1.

Otro parámetro es la **velocidad de incremento PSA**. Se define como el cambio del PSA por año, aceptándose como límite el aumento de 1 ng/ml/año.

CARCINOMA PROSTÁTICO

1.5.- HISTOPATOLOGÍA DEL CÁNCER DE PRÓSTATA

1.5.1.- ASPECTOS GENERALES:

Si tenemos que menos del 1 % de los tumores malignos de la próstata corresponden a sarcomas, y que más del 99 % son carcinomas, se entiende que cuando nos referimos al “cáncer de próstata”, prácticamente hacemos referencia al carcinoma ³⁴¹. Aproximadamente entre el 90% y 95 % de los CP pertenecen a la categoría de adenocarcinoma de tipo acinar, clásico o convencional (figura 5), que son a los que clásicamente se aplica la gradación histológica de Gleason, con connotaciones pronósticas que posteriormente comentaremos. Por tanto, en el diagnóstico de CP, tenemos que considerar en primer lugar, el tipo histológico (adenocarcinoma acinar o convencional o

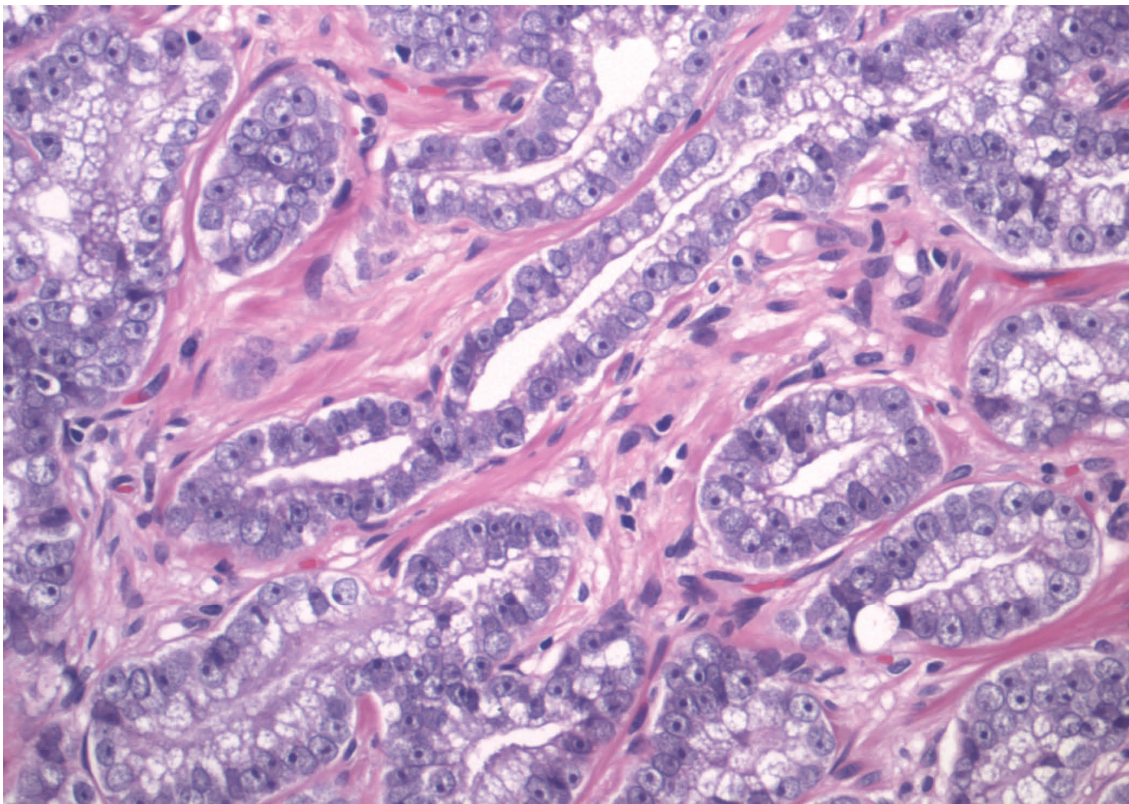


Figura 5. Imagen representativa del patrón de crecimiento acinar. Se observa la distribución de la celularidad tumoral en pequeñas estructuras glandulares.

INTRODUCCIÓN

subtipos o variantes) y el grado histológico de malignidad del tumor según la gradación de Gleason.

Los adenocarcinomas de próstata varían desde bien diferenciados (tumores con componente glandular donde con frecuencia es difícil distinguir las glándulas neoplásicas prostáticas benignas), a pobremente diferenciados, donde lo difícil es diferenciar el origen prostático. Una característica común de todos los carcinomas prostáticos es la presencia de una sola capa celular en las glándulas o acinos, es decir sin capa de células basales. Por el contrario, es conocido que las glándulas prostáticas benignas contienen una capa de células basales subyacente a las células secretoras. No obstante, hay casos de evidentes carcinomas, en los que las células se asemejan a las basales⁹⁸.

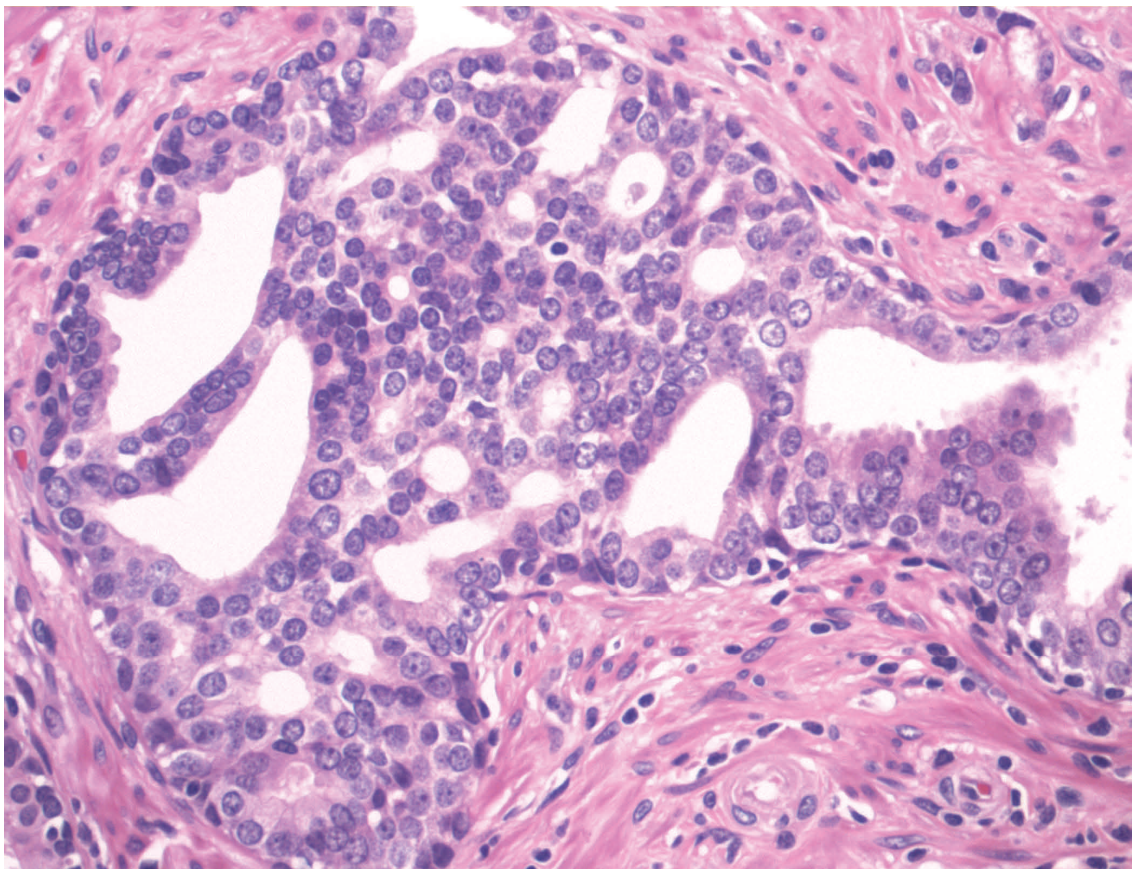


Figura 6. Imagen de microscopía óptica que ofrece patrón de crecimiento cribiforme. Obsérvese la fusión de las glándulas tumorales dejando pequeños oquedades intercaladas al azar.

CARCINOMA PROSTÁTICO

1.5.1.1.-CARACTERÍSTICAS ARQUITECTURALES:

Las glándulas prostáticas benignas tienden disponerse como nódulos circunscritos. En contraste, las glándulas del adenocarcinoma de próstata tienen un patrón de crecimiento desordenado y puede haber formación de estructuras cribiformes y de glándulas fusionadas o pobremente formadas (Figura 6). En el cáncer, las glándulas son típicamente más pequeñas que las benignas, aunque a veces, hay superposición entre las benignas y malignas. En general, la diferencia entre glándulas benignas basada en la arquitectura es más evidente. Los tumores constituidos por sábanas celulares sólidas, cordones de células o células individuales aisladas, caracterizan al cáncer de próstata indiferenciado. Hay que tener presente que estos patrones arquitecturales son la clave para la gradación del cáncer de próstata (Gleason).

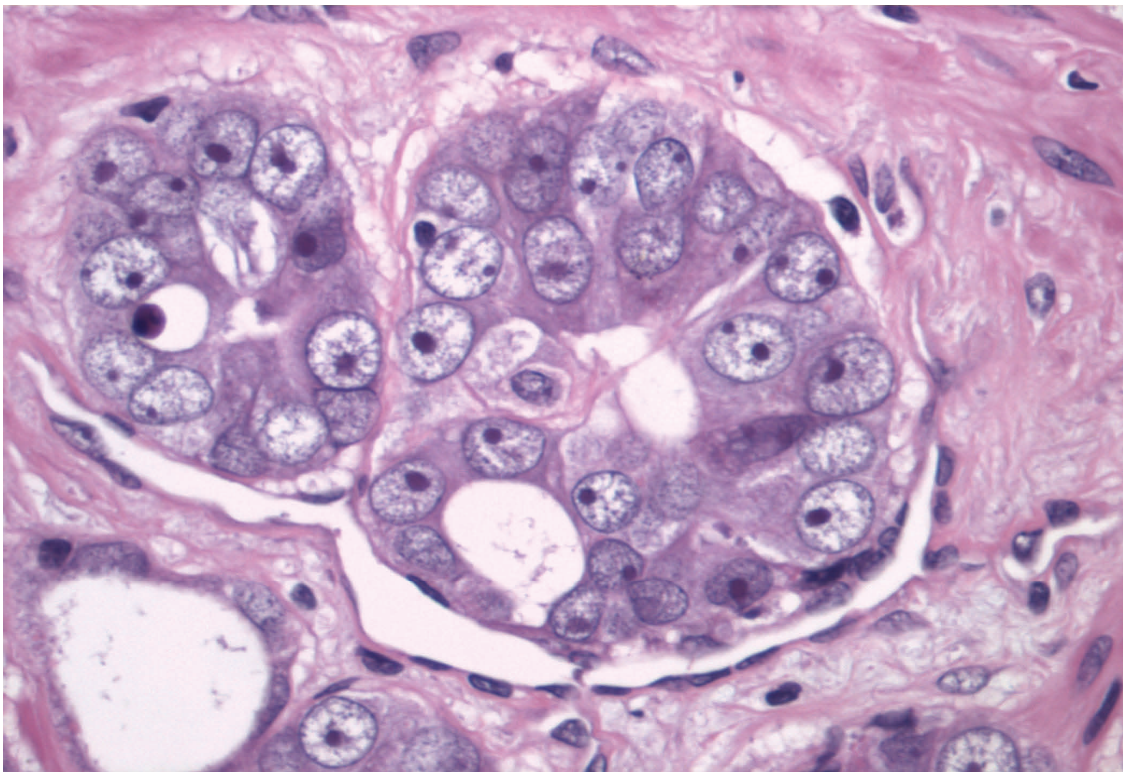


Figura 7. Imagen histológica de dos glándulas tumorales en las que se puede apreciar la atipia celular con grandes núcleos y nucléolos prominentes. X400

INTRODUCCIÓN

1.5.1.2.-CARACTERÍSTICAS NUCLEARES:

Los núcleos en el CP varían desde indistinguibles del epitelio prostático benigno a aquellos con evidentes cambios orientativos de malignidad. Típicamente la atipia nuclear se correlaciona con el grado de diferenciación nuclear, aunque puede haber excepciones. En la mayoría de los CP, hay diferencias citológicas en las glándulas malignas cuando se comparan con glándulas benignas que las rodean. La presencia de grandes núcleos con nucléolos manifiestos son hallazgos frecuentes (figura 7), aunque no todas las células tumorales las muestran. Efectivamente, algunos núcleos neoplásicos no presentan nucléolos prominentes, siendo grandes e hipercromáticos. Las figuras mitóticas pueden ser relativamente comunes en cánceres de alto grado, siendo infrecuentes en tumores de bajo grado.

1.5.1.3.-CARACTERÍSTICAS CITOPLASMÁTICAS.

Las glándulas del adenocarcinoma de próstata tienden a presentar un borde

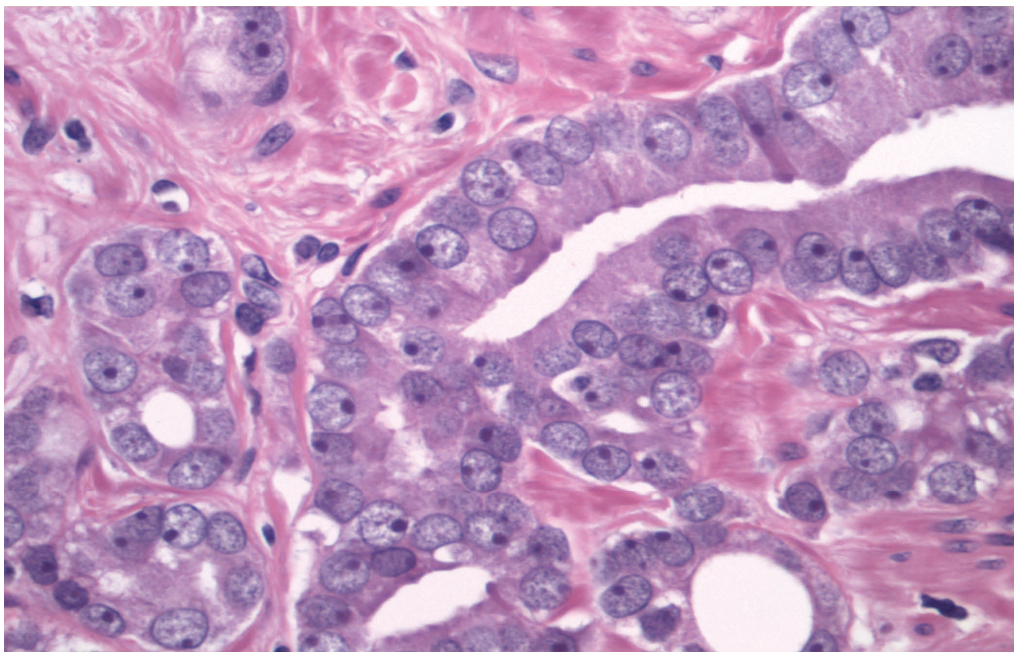


Figura 8. Imagen de microscopía óptica que pone de manifiesto varias glándulas neoplásicas con revestimiento celular atípico. Obsérvese además la atipia nuclear con los nucléolos prominentes. X400

CARCINOMA PROSTÁTICO

luminal cerrado sin ondulaciones del citoplasma. Por contrario, las glándulas benignas tienen una superficie luminal irregular, con pequeñas proyecciones papilares y apariencia “retorcida”. Los citoplasmas de CP de bajo grado son similares a los de las glándulas benignas. Las glándulas no neoplásicas pueden presentar citoplasmas anfófilos, lo cual puede ser útil como criterio diagnóstico (Figura 8). Los citoplasmas de todos los grados de CP típicamente presentan ausencia de lipofuscina, en contraste con las glándulas prostáticas benignas ⁴².

1.5.1.4.-CARACTERÍSTICAS INTRALUMINALES.

El hallazgo más común que se observa en los CP de bajo grado, al contrario que en los CP de alto grado, son los cristaloides prostáticos intraluminales ²⁶⁴. Son estructuras eosinófilas, tipo cristal, que aparecen con formas geométricas variadas, tales como rectángulos, hexágonos o triangular. Los cristaloides, aunque no son diagnósticos de carcinoma, son observados más fre-

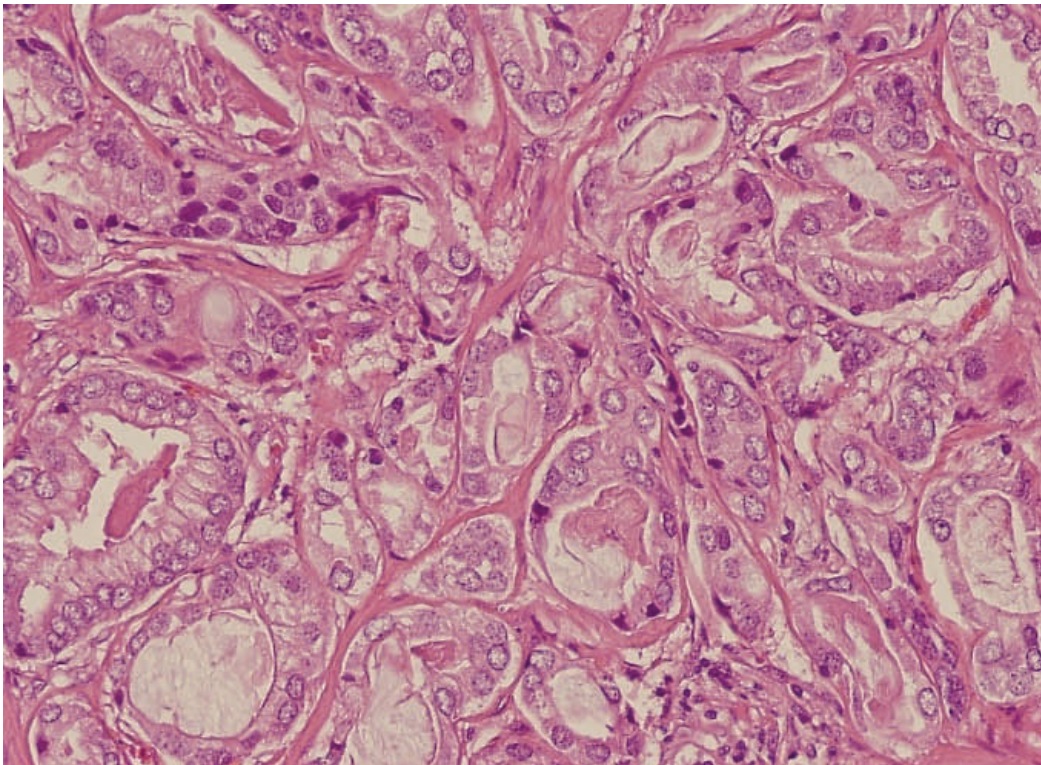


Figura 9. Material mucoide en las luces de las glándulas tumorales.
X200

INTRODUCCIÓN

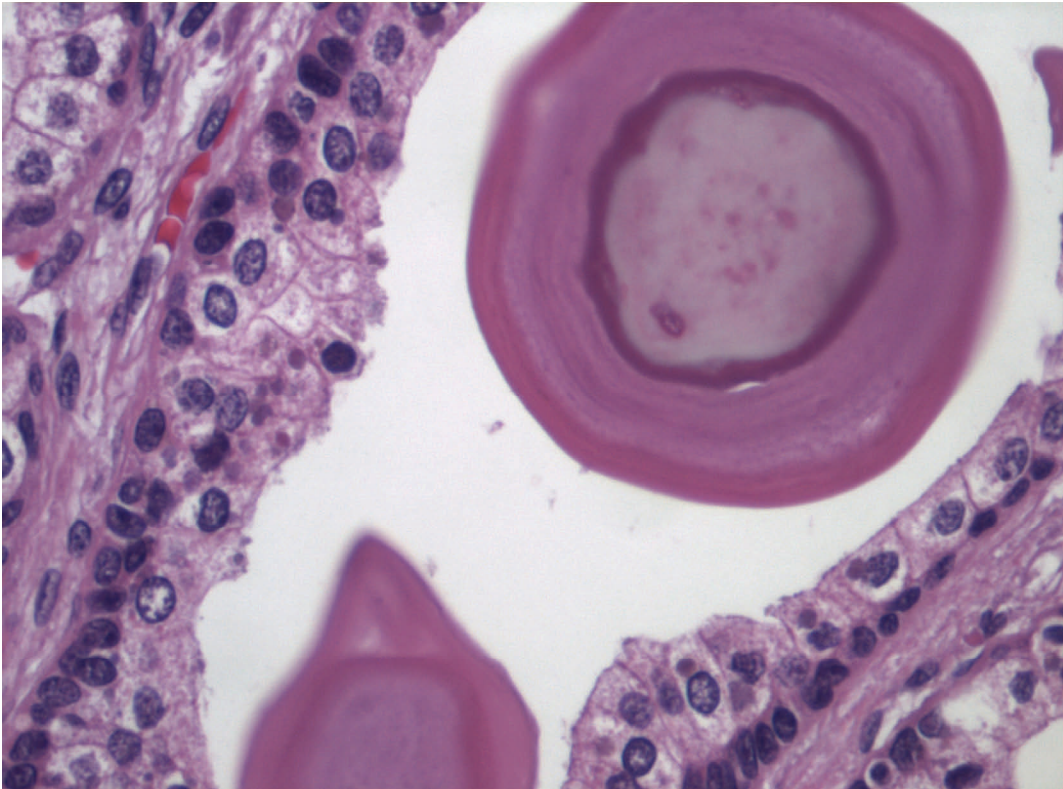


Figura 10. Imagen de microscopía óptica en la que se observa las características histológicas de los cuerpos amiláceos. Se puede apreciar los anillos lamelares concéntricos. X400

cuentemente en este último que en las glándulas benignas. No obstante, es frecuente observarlos en la adenosis (hiperplasia atípica adenomatosa), una de las condiciones que imita el carcinoma ¹²¹. Otros hallazgos que se evidencian en los CP, especialmente en los de bajo grado, son secreciones densas acelulares (de coloración rosada o secreciones mucinosas de tonalidad azul) (Figura 9) ¹⁰⁰. Al contrario, el material amiláceo, consistente en estructuras redondeadas u ovals y con anillos lamelares concéntricos (figura 10), es común en las glándulas benignas y raro en el CP ²⁶⁴.

1.5.1.5.-HALLAZGOS ESPECÍFICOS DE MALIGNIDAD.

En procesos benignos no se descubre la presencia de glándulas pequeñas en el tejido extraprostático (Figura 11), como sí se pueden observar en los casos de malignidad. Es por ello, que la presencia de acinos tumorales en el

CARCINOMA PROSTÁTICO

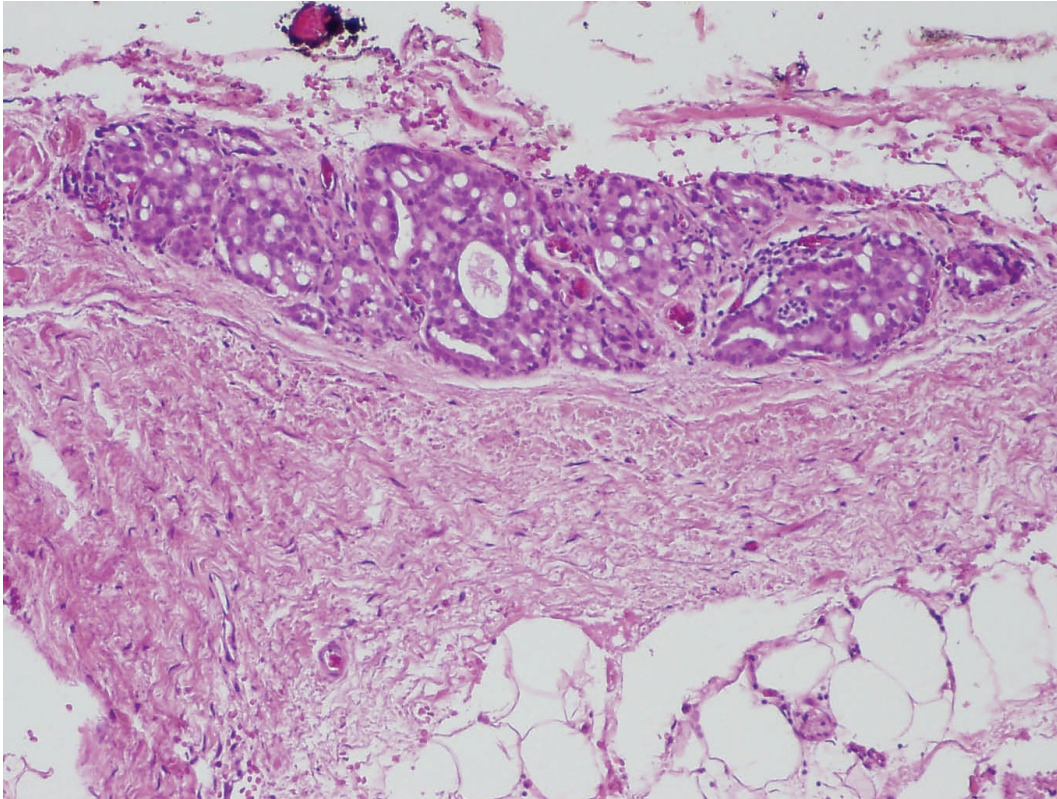


Figura 11. Imagen histológica que revela glándulas tumorales en el tejido extraprostático.

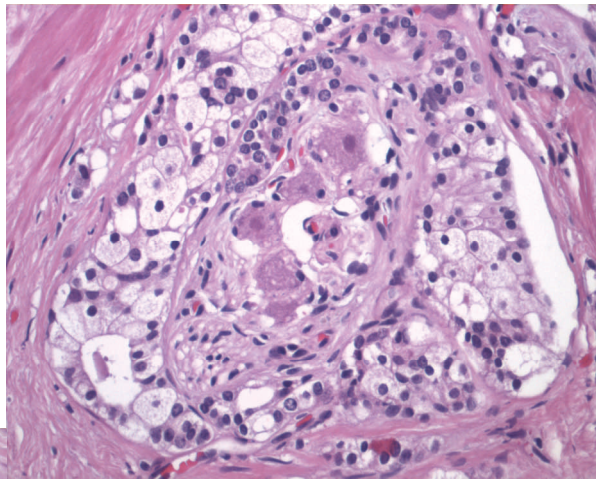
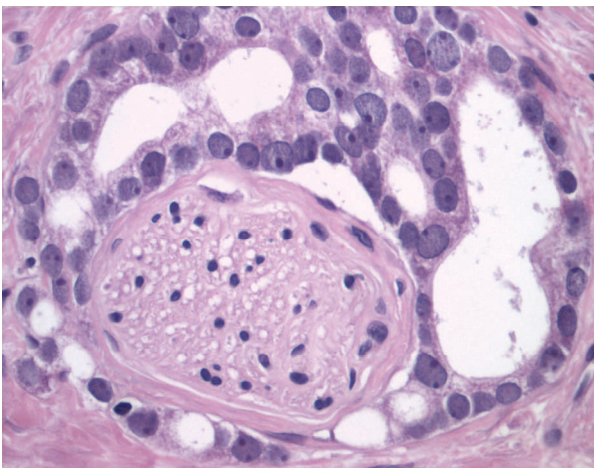


Figura 12. Se pueden observar dos imágenes histológicas que ponen de manifiesto la invasión circunferencial de los acinos tumorales en torno a los plexos nerviosos.



INTRODUCCIÓN

tejido extraprostático, es un hallazgo específico de malignidad. La invasión perineural es también otro hallazgo de estos procesos malignos, aunque se han descrito en las glándulas prostáticas benignas, un hecho para diferenciar claramente la verdadera invasión perineural en el carcinoma, en este tipo de procesos malignos, la invasión es circunferencial, envolviendo todo el nervio (figura 12), mientras que en la pseudoinvasión solo afectaría marginalmente (Figura 8) ^{50, 203} .

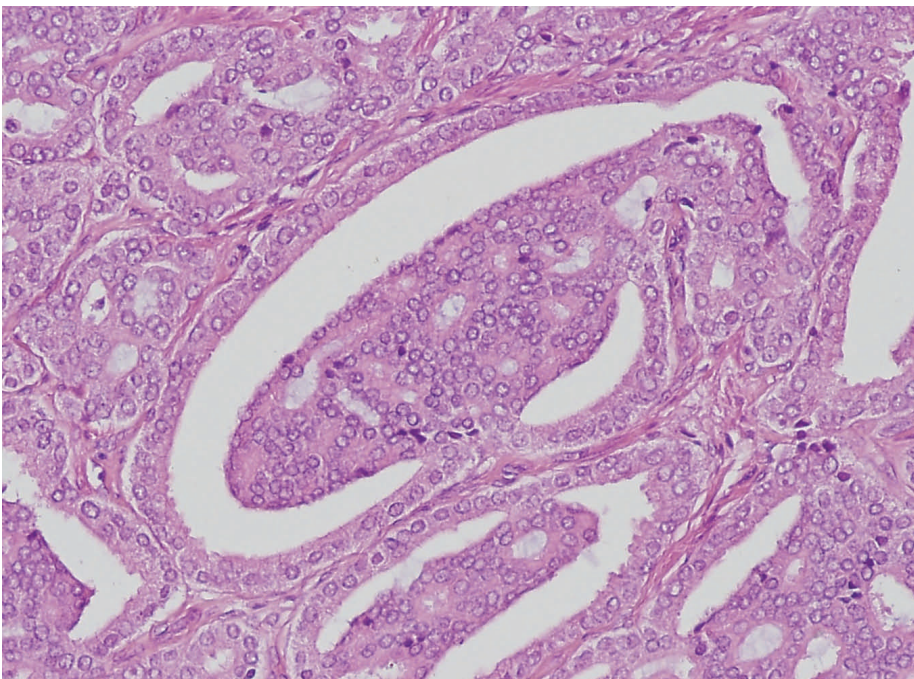


Figura 13.
Glándula tumoral que asemeja la imagen de un glomérulo renal. X200

Otro hallazgo es la fibroplasia mucinosa o micronódulos de colágeno que están constituidos por fino tejido fibroso con fibroblastos. Otro hallazgo es la glomerulación, o sea la presencia de glándulas con proliferación prominente cribiforme intraluminal (Figura 13).

1.5.1.6.-CARACTERÍSTICAS ESTROMALES.

El adenocarcinoma acinar típico carece de un estroma desmoplásico o mixoide, por lo que no es útil en el diagnóstico del CP. Característicamente, el adenocarcinoma de próstata no provoca respuesta estromal inflamatoria (figura 14).

CARCINOMA PROSTÁTICO

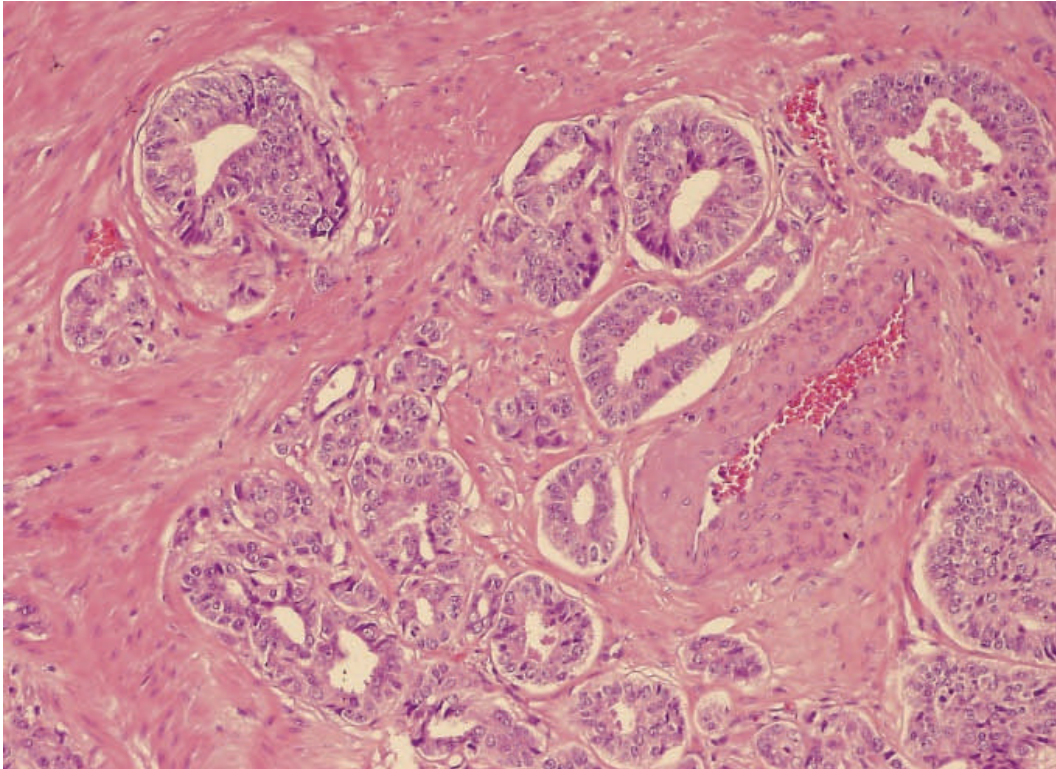


Figura 14. Acinos tumorales con revestimiento celular atípico en un estroma sin respuesta estromal inflamatoria. X200

TABLA 3

CARACTERÍSTICAS RELEVANTES PARA EL DIAGNÓSTICO DE CÁNCER DE PRÓSTATA

I.- *Arquitectura* (usualmente evaluado a bajo o intermedio aumento):

Arquitectura anormal:

- Glándulas pequeñas muy juntas
- Glándulas uniformes
- Glándulas diferentes en apariencia de las glándulas de alrededor
- Estructuras glomeruloides
- Hendiduras periglandulares

INTRODUCCIÓN

Características indicativas de invasión:

- Pequeñas glándulas infiltrando entre glándulas claramente benignas
- Glándulas confluentes, cordones o células sueltas
- División de fibras musculares
- Invasión perineural o intraneural (Preferiblemente circunferencial)
- Extensión extraprostática, por ejemplo en la grasa
- Glándulas inequívocamente en espacios vasculares

II.- *Ausencia de células basales alrededor de glándulas problemáticas*

III.- *Citología* (usualmente evaluado en intermedio a alto aumento)

Núcleos (comparar a glándulas benignas en la biopsia):

- Nucleomegalia
- Hiperchromasia
 - Membrana nuclear irregular
- Aclaramiento paracromatínico
- Figuras mitóticas
- Nucléolos
 - Prominentes (usualmente de color rojo a púrpura)
 - Múltiples
 - Con frecuencia centrales

Citoplasma

- Tintorialmente diferente al de las glándulas claramente benignas

CARCINOMA PROSTÁTICO

- Citoplasma anfófilo
- Citoplasma claro o pálido

IV.- Contenido intraluminal:

- Mucina tenuemente azulada
- Material granular (coloración rosada)
- Cristaloides
- Necrosis

V.- Características auxiliares:

- Micronódulos colagenosos
- Neoplasia intraepitelial prostática de alto grado
- Pérdida de citoqueratina de alto peso molecular en glándulas atípicas

1.5.2.-SUBTIPOS DE CARCINOMA DE PRÓSTATA:

Entre 5 y 10 % de los CP se consideran como subtipos o variantes de adenocarcinoma acinar o convencional, que se reflejan en la tabla 4. El reconocimiento de estas entidades es de interés por sus distintas implicaciones clínicas, y a todos se les atribuye una mayor agresividad que al adenocarcinoma acinar. Sin embargo, las series publicadas son pequeñas, los criterios diagnósticos algo diversos, los seguimientos incompletos y las diferencias sutiles.

1.5.2.1.- Adenocarcinoma de conductos prostáticos:

Inicialmente fue descrito como adenocarcinoma endometrioide (Melicow y Patcher, 1966)³⁴², por su parecido histológico con glándulas endometriales

INTRODUCCIÓN

provistas de epitelio columnar pseudoestratificado. Por ello se invocó un origen mülleriano en el utrículo prostático. Sin embargo, estudios recientes, inmunohistoquímicos y ultraestructurales, parecen demostrar un origen en células epiteliales prostáticas y no müllerianas. Este tipo de tumor representa entre el 0.2 y 1 % de los CP^{32, 97, 129} y hasta un 50% puede asociarse a CP convencional. No ofrece manifestaciones clínicas particulares, con variabilidad de valores de PSA. Desde el punto vista pronóstico, este tipo de carcinoma se consideraba de relativo bajo grado de malignidad. Sin embargo, recientemente hay informes de mayor agresividad que los adenocarcinomas convencionales (hasta un 50% de los casos se diagnostican con metástasis, particularmente cuando se detecta necrosis microscópica tumoral)^{41, 342}.

1.5.2.2- Adenocarcinoma mucinoso (coloide):

Entre el 60 y 65% de los adenocarcinomas prostáticos diagnosticados por RTU y prostatectomía, presentan microscópicamente mucina luminal en glándulas neoplásicas. Sin embargo, el término de “adenocarcinoma mucinoso” se preserva para los pocos casos (0.4% de CP), en los que al menos el 25% del tumor extirpado se compone de lagos de moco extracelular, en los que flotan los elementos neoplásicos, y siempre que se pueda excluir origen extraprostático del tumor³⁴². La configuración del resto del tumor puede adquirir cualquiera de las morfologías habituales y biológicamente la neoplasia suele ser algo más agresiva que las formas convencionales de adenocarcinoma.

1.5.2.3.- Carcinoma de células en anillo de sello:

Este tipo de carcinoma puede surgir focalmente en una adenocarcinoma convencional y la designación “célula en anillo de sello” se reserva para aquellos casos en que más del 25% del tumor ofrece este componente neoplásico³⁴². Es un subtipo tumoral raro, del que se han informado menos de 25 casos. Representan formas agresivas de tumor, con PSA elevado, presencia relativamente frecuente de adenopatías supraclaviculares afectadas y ascitis

CARCINOMA PROSTÁTICO

neoplásica. Se señalan cifras de mortalidad de hasta un 62.5 % entre los 2 y 60 meses después del diagnóstico.

1.5.2.4.- Carcinoma escamoso (epidermoide) y adenoescamoso:

Se habla de carcinoma escamoso cuando se encuentra dicho componente de forma pura, y de adenoescamoso, cuando al componente escamoso se suma el glandular (adenocarcinoma acinar). Son neoplasias muy raras, representando menos del 0.6% de los CP y se suele asociar a terapia endocrina o radioterapia de la próstata, incluso se relaciona con infección por esquistosomiasis. La localización del tumor en zona de transición prostática y su origen periuretral explican su frecuente diagnóstico mediante RTU. Ambas formas de tumor son agresivas y tienden a dar metástasis óseas osteolíticas precoces.

1.5.2.5- Carcinoma urotelial (o de células transicionales) primario de la próstata:

El carcinoma primario urotelial prostático surge del epitelio transicional de glándulas prostáticas o metaplasia transicional de conductos y acinos, lo que explica su accesibilidad diagnóstica a la RTU. Su frecuencia oscila entre 0.7 y 2.8% de los CP primarios. Se precisa excluir neoplasia vesical, con extensión prostática, lo cual puede ocurrir hasta en el 45 % de los casos^{98, 342}. Clínicamente se manifiesta con síntomas obstructivos urinarios y hematuria, incluso con elevación del PSA sérico. Cuando estos tumores invaden el estroma prostático ofrecen pobre pronóstico (supervivencia promedio de 18 meses) con metástasis óseas osteolíticas.

1.5.2.6.- Carcinoma sarcomatoide y carcinosarcoma:

Para algunos autores ambos términos son similares y superponibles. En sentido estricto el carcinosarcoma es aquel tumor en el que, de forma aleatoria, se entremezclan elementos epiteliales malignos con células fusiformes verdaderamente sarcomatosas. Estas últimas por lo general, de tipo heterólogo

INTRODUCCIÓN

condrosarcomatoso o rhabdomyosarcomatoso. En el carcinoma sarcomatoide no se describen elementos heterólogos. Contribuye a facilitar el diagnóstico de estas neoplasias la positividad de las tinciones inmunohistoquímicas para citoqueratinas en áreas sarcomatoide, así como para músculo esquelético en zonas heterológicas. La poca uniformidad de criterios para separar estas entidades en las diferentes series hace difícil determinar su clínica, aunque parece cursar con obstrucción urinaria, siendo en su mayoría detectados por RTU. El pronóstico de estos tumores es pobre (supervivencia media de 12 meses), generalmente con metástasis hemáticas al pulmón y esqueleto.

1.5.2.7.- Carcinoma basaloide y adenoide quístico:

Son neoplasias epiteliales malignas de la próstata que se componen de células basaloideas atípicas (figura 15), con escasa o nula diferenciación luminal

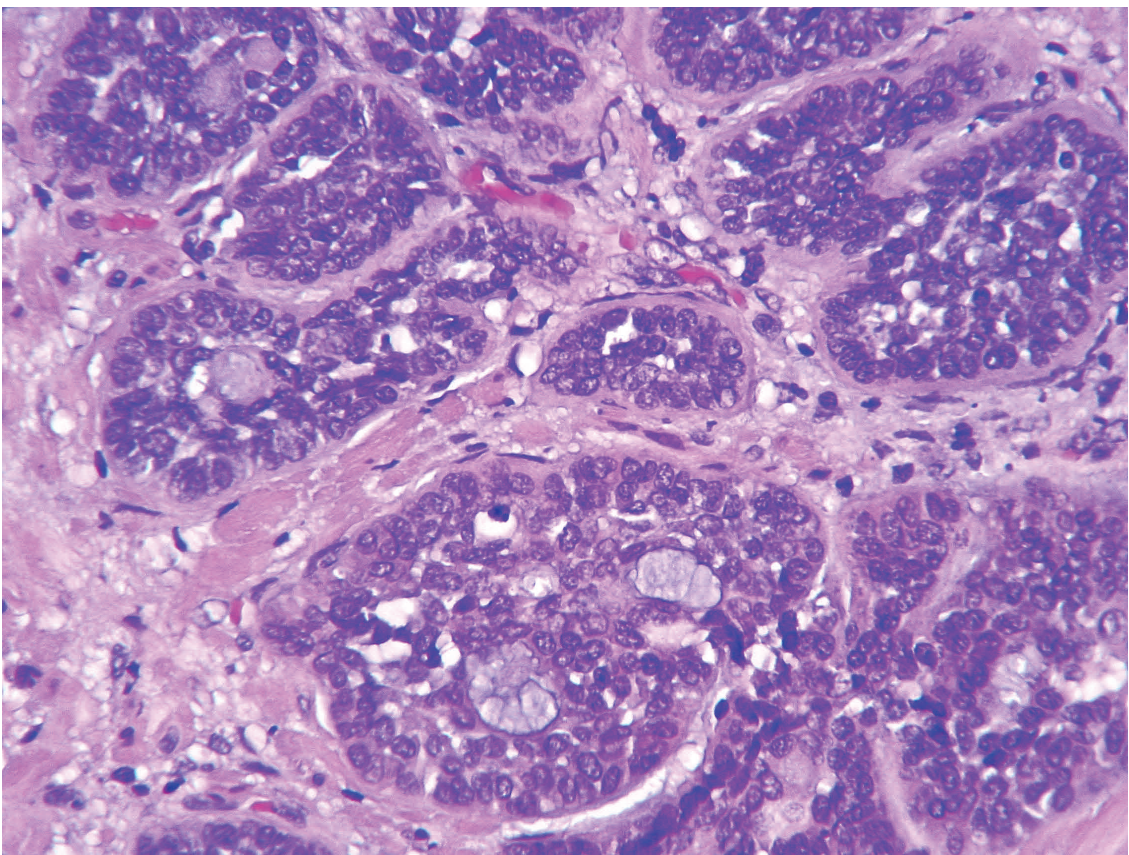


Figura 15. Corte histológico de la variante prostática de carcinoma basaloide. X200

CARCINOMA PROSTÁTICO

(patrón sólido- carcinoma basaloide) o con extensa diferenciación luminal de patrón cribiforme, similar a ciertos tumores de la glándula salival (carcinoma adenoide quístico) (Figura 10). Son neoplasias raras que deben de ser diferenciadas de las hiperplasias de células basales, también incluidas en el espectro de tumores de células basales. Hay escasa información en cuanto al seguimiento de estos tumores, los cuales parecen ser agresivos con recidivas, y metástasis pulmonares y alta tasa de mortalidad ^{98, 342}.

1.5.2.8.- Carcinoma neuroendocrino:

Morfológicamente el aspecto puede oscilar desde el de carcinoma de células pequeñas e intermedias, hasta el de carcinoide. Casi siempre se identifican zonas de adenocarcinoma. Sus células muestran gránulos argirófilos o argentafines y expresan PSA, cromogranina, enolasa neuronal específica y serotonina. Para catalogar un carcinoma como neuroendocrino ha de tener un importante porcentaje de dicho componente.

El carcinoma de células pequeñas ofrece características similares a las de los que ocurren en localizaciones como el pulmón (células linfocitoides en grano de avena o intermedias). Son tumores infrecuentes que se diagnostican en estadios avanzados de enfermedad, con metástasis distantes y asociación a síndromes paraneoplásicos del tipo Cushing (hipersecreción ectópica de ACTH) y Eaton-Lambert (síndrome miasteniforme), entre otros. Su media de supervivencia es inferior al año, por tanto de alta agresividad, superior a los carcinomas prostáticos de alto grado, por lo que no se debe aplicar la gradación de Gleason ^{98, 342}.

1.5.2.9.- Carcinoma linfoepitelioma-like: Carcinomas indiferenciados con profusa respuesta linfoide del estroma (similar al linfoepitelioma nasofaríngeo) son excepcionales en la próstata. Las técnicas inmunohistoquímicas contribuyen al diagnóstico de este agresivo tumor prostático ⁴¹.

1.5.2.10.- Carcinomas indiferenciados sin especificar:

INTRODUCCIÓN

Se trata de carcinomas con falta de diferenciación microscópica, de modo que pueden ser de células pequeñas (sin rasgos neuroendocrinos), intermedias o grandes y gigantes. Son tumores extraordinariamente raros y de mal pronóstico, en los que la inmunotinción focal para PSA y fosfatasa ácida prostática, puede contribuir a establecer su origen prostático ⁴¹.

1.5.3.- SISTEMA DE GRADACIÓN DE GLEASON

Se han diseñado numerosos sistemas para la gradación histopatológica del CP. La principal controversia ha sido si debería basarse solo en la diferenciación glandular o la combinación de diferenciación glandular y atipia nuclear. Asimismo, se considera si debe graduarse de acuerdo a su diferenciación o patrón dominante. El sistema de gradación de Gleason es el que más se usa y fue recomendado por una conferencia de consenso de la OMS en 1993 (Figura 16) ^{224, 354}. Este sistema de gradación fue desarrollado por Donald F. Gleason, conjuntamente con el *Veterans Administration Cooperative Urologic Research Group* (VACURG). Este sistema se basa en la diferenciación glandular, junto al patrón de crecimiento del tumor en relación con el estroma. La atipia nuclear no se evalúa porque no añade información pronóstica a la obtenida por la diferenciación glandular. En el sistema se valoran separadamente los dos patrones de crecimiento más frecuentes. Se considera el patrón primario aquel que representa el mayor porcentaje en la muestra y secundario al segundo más frecuente. Se asigna un valor a cada uno de ellos de 1 a 5, desde mejor a peor diferenciado. El grado total o Score Gleason se expresa como la suma de los dos componentes; si el tumor presenta un solo patrón, el Score Gleason se obtiene doblando ese puntaje, por ejemplo 3+3=6. Para considerar que existe un patrón secundario, éste ha de estar representado al menos en un 3% del tejido, en caso contrario se valora todo como de un solo patrón. Obviamente, así el grado mas bajo sería 1+1 y el más alto 5+5.

CARCINOMA PROSTÁTICO

Las características morfológicas de cada grado son las siguientes:

- GRADO 1: Nódulo bien circunscrito con glándulas uniformes, adosadas entre sí y con muy escasa cantidad de estroma entre ellas, adyacente a tejido benigno prostático. Las glándulas son de mediano tamaño, redondeadas aunque pueden ser levemente ovoides, monoestratificadas y con citoplasma claro.
- GRADO 2: las glándulas son más irregulares, de disposición más laxa y con mayor cantidad de estroma entre ellas. En las luces se puede observar cualquier tipo de material (cristaloides, cuerpos amiláceos).
- GRADO 3: Es el patrón más común. Las glándulas son más infiltrantes y hay más distancia entre ellas. Se distinguen 3 formas microscópicas:
 - 3a: glándulas más irregulares, anguladas en muchas zonas, con amplia separación estromal. El límite está mal definido.
 - 3b: microglándulas, en ocasiones diminutas o en forma de pequeños grupos celulares.
 - 3c: masas circunscritas de epitelio papilar o cribiforme, sin necrosis.
- GRADO 4: Las glándulas aparecen fusionadas o pobremente definidas. Se distinguen 2 formas:
 - 4a: masas infiltrantes de epitelio glandular fusionado, de células más oscuras.
 - 4b: con células claras, de citoplasma pálido (hipernefroide).
- GRADO 5: Es la forma más indiferenciada. Hay casi completa pérdida de las luces glandulares (solo ocasionales luces glandulares). El epitelio forma sábanas y tractos sólidos. Se diferencian 2 formas:
 - 5a: comedocarcinoma
 - 5b: tumor anaplásico, con solo mínima formación de glándulas o va-

INTRODUCCIÓN

Los criterios de gradación de Gleason son perfectamente aplicables a los carcinomas prostáticos acinares o convencionales. Para los subtipos o variantes histológicas se ha establecido equivalencia o fórmulas de conversión que quedan expresadas en la siguiente tabla (tabla 4).

TABLA 4

VARIANTES O SUBTIPOS DE ADENOCARCINOMA PROSTÁTICO Y SU GRADACIÓN CORRESPONDIENTE AL GLEASON

SUBTIPO	GLEASON
Adenocarcinoma endometrioide ductal	Sin necrosis: 3 con necrosis: 5
Adenocarcinoma mucinoso o coloide	4
Carcinoma de células claras	5
Carcinoma escamocelular	N/A
Carcinoma adenoescamoso	Glandular: 3-5
Carcinoma de células transicionales	N/A
Carcinoma sarcomatoide	5
Carcinosarcoma	5
Carcinoma de células basaloide o adenoide-quístico	3-5
Carcinoma de células pequeñas	N/A
Linfoepitelioma – like	5
Carcinoma indiferenciado	N/A

N/A: No se aplica grado de Gleason

CARCINOMA PROSTÁTICO



FIGURA 16. Sistema de gradación de Gleason.

El grado de Gleason constituye uno de los factores pronósticos más importantes en el cáncer de próstata. La fiabilidad puede estar influenciada por lo siguiente ²⁷⁰

1.- La experiencia del patólogo. La concordancia interobservador es alta cuando las muestras son valoradas por uropatólogos; alcanza hasta un 70% en el agrupamiento por grados: 2-4, 5-6,7 y 8-10. En el caso de patólogos generales esta concordancia disminuye y parece que existe una tendencia a asignar un grado de Gleason menor al real ⁷.

2.- Tamaño de la muestra analizada. El tamaño del cilindro de la biopsia, el número de cilindros y el porcentaje de afectación del cilindro van a facilitar o dificultar la determinación del grado Gleason.

3.- Tratamientos previos a la biopsia. La terapia hormonal produce cambios morfológicos en las glándulas del adenocarcinoma que pueden determinar un aumento de la gradación.

1.5.4.- HALLAZGOS INMUNOHISTOQUÍMICOS:

1.5.4.1.- Antígeno prostático específico (PSA): Después de su descubrimiento en 1979, se convirtió en un marcador inmunohistoquímico útil de dife-

INTRODUCCIÓN

renciación prostático, tanto con los anticuerpos policlonales o monoclonales. El PSA se localiza en los citoplasmas de las células glandulares prostáticas no tumorales, pero no se expresa en las células basales, vesículas seminales, células glandulares de conductos eyaculadores, ni células uroteliales. Asimismo, se expresa en la mayoría de los adenocarcinomas prostáticos^{8, 99, 248}. Es especialmente útil para diferenciarlas de otras neoplasias que secundariamente afectan la próstata, permitiendo establecer origen prostático o metastásico de primario desconocido^{99, 226}. Un bajo porcentaje de los adenocarcinomas es PSA negativo, muchos de ellos por la deprivación androgénica o radioterapia.

1.5.4.2.- Fosfatasa ácida alcalina (PAP): la inmunohistoquímica para PAP es activa en parafina. Los anticuerpos policlonales son más sensibles, pero menos específicos que los anticuerpos monoclonales³⁹. PAP y PSA tienen similar utilidad diagnóstica. Se han descrito tumores con inmunorreactividad para PAP como neoplasias neuroendocrinas, carcinoma mamario, adenocarcinoma urotelial, carcinoma cloacogénico, neoplasias de glándulas salivales (varones) y teratomas maduros^{8,99}

1.5.4.3.- Citoqueratinas de alto peso molecular detectadas por 34 β E12 (Citoqueratina).¹²⁷ Las células basales y secretoras prostáticas son inmunorreactivas para citoqueratinas de bajo peso molecular. Sin embargo, solo las células basales expresan citoqueratinas de alto peso molecular.³⁹ Un anticuerpo de citoqueratina de alto peso molecular, la clona 34 β E12, se usa como marcador específico de células basales en tejido en parafina^{8, 39, 151 220, 284}. 34 β E12 es también inmunorreactiva contra el epitelio escamoso, urotelial, bronquial, tímico, intestinal y ductal (cáncer de páncreas, conductos biliares, glándulas salivales, conductos renales colectores) y mesotelio¹²⁸. Un cóctel de inmunoperoxidasa que contiene anticuerpos monoclonales para citoqueratinas 5 y 6 también tiñen las células basales. La capa de células basales puede estar interrumpida o no se puede demostrar en un pequeño

CARCINOMA PROSTÁTICO

número de glándulas benignas, la completa ausencia de capa de células basales en un pequeño foco de acinos no puede usarse solo como un criterio definitivo de malignidad. Así, la ausencia de esta capa de células basales apoya el diagnóstico de carcinoma invasivo solo en aquellos casos de proliferación acinar que ofrecen evidente atipias citológicas y / o arquitecturales con la tinción de H-E ¹⁵¹.

1.5.4.4.-p63: Proteína nuclear codificada por un gen que se encuentra en el cromosoma 3q27-29 que comparte homología con p53 (un gen supresor tumoral), que se ha demostrado como regulador del crecimiento y desarrollo del epitelio cutáneo, del cérvix, de la mama y del tracto urogenital. Un anticuerpo monoclonal es activo en tejido de parafina. El p63 tiene similares aplicaciones que las citoqueratinas de alto peso molecular en el diagnóstico de adenocarcinoma prostático, pero con las siguientes ventajas: a) Tiñe una parte de células basales CK34βE12 negativo, b) es menos susceptible a la variación de las tinciones que Ck 34 β E12 y c) es más fácil de interpretar porque la intensidad de la tinción nuclear es fuerte y hay poco fondo. Las limitaciones interpretativas están relacionadas con la presencia o ausencia de células basales, que requiere la correlación con la morfología ⁸⁴.

1.5.4.4.-α-Methyl-CoA racemase (AMACR). Desgraciadamente, una tinción negativa para células basales, en unas pocas células sospechosas, no es una prueba definitiva de malignidad, debido a que algunas entidades benignas pueden exhibir una distribución de células basales parcheada o discontinua. Por este motivo un marcador “positivo” específico para carcinoma de próstata resultaría muy útil para mejorar el nivel de fiabilidad del diagnóstico. La identificación del marcador de CP α-Methyl-CoA racemase (AMACR), constituye una aportación verdaderamente afortunada. La AMACR es una enzima de 383 aminoácidos, purificada y caracterizada en 1995 en el curso del estudio del metabolismo lipídico tisular en humanos. Ferdinanduse et al. demostraron que la AMACR participa en la beta oxidación de ácidos grasos de

INTRODUCCIÓN

cadena ramificada y de derivados de ácidos grasos. En el año 2000, Xu et al. identificaron 3 genes mediante la técnica de sustracción del cDNA sumada al screening de microarray de cDNA de alto rendimiento: los genes P503s, P504s y P501s que se expresan de modo diferente en tejido prostático maligno y benigno. El gen P504s fue claramente identificado como una AMACR humana³³¹. La AMACR aislada y su mRNA (p504s) aparecieron sobreexpresados en la mayoría de carcinomas prostáticos. Se han comercializado anticuerpos policlonales y monoclonales capaces de identificar la racemasa en tejido incluido en parafina^{22 161, 333 349}. Los estudios inmunohistoquímicos en material de biopsia con anticuerpo dirigidos contra AMACR (p504s) demuestran que un 80% de los adenocarcinomas prostáticos son positivos^{162, 196} y que tiñe el citoplasma de las células intensa y circunferencialmente. No obstante, en determinados subtipos de cáncer de próstata, tales como el carcinoma de glándulas espumosas (12%), carcinoma atrófico, pseudohiperplásicos y carcinomas con tratamiento, la expresión AMACR es muy débil³⁵¹.

Se ha observado positividad para p504s en el 97 % de los cánceres de próstata, con independencia de la suma de Gleason y de la técnica de fijación. La sensibilidad fue superior para la combinación de p504s y p63 (95%) en comparación con CK5/6 (57%) y p36 (86%). De modo similar, la sensibilidad fue superior para la combinación p504s/p63 (95%) en comparación con CK5/6 (88%) y p63 (81%) .

Sin embargo, AMACR no es específica para CP y está presente en hiperplasia nodular (12%), glándulas atróficas, PIN de alto grado (>90%), focos de adenosis³²⁸, adenoma nefrogénico (35%), incluso en un 2% de las glándulas benignas. Molinié et al., han planteado la hipótesis que el aumento de la expresión de AMACR en algunas glándulas prostáticas normales podría representar un cambio preneoplásico temprano, y que podría reflejar una regulación al alza de los patrones metabólicos de las glándulas prostáticas durante el proceso de la carcinogénesis, pudiendo ser el p504s considerado un marcador útil de transformación neoplásica en la glándula prostática, de este modo se confirmaría la ausencia de expresión de p504s en casos de atrofia,

CARCINOMA PROSTÁTICO

hiperplasia postatrofia (o atrofia parcial), metaplasia transicional e hiperplasia de células basales. La AMACR se expresa en otras neoplasias no prostáticas, por ejemplo los tumores uroteliales y colónicos.

La tinción aislada para AMACR no es probatoria de malignidad. Zhou et al. han recomendado la utilización de una mezcla de anticuerpos para células basales que incluye p63 y CK 34 βE12, la razón es que estos marcadores tienen como diana diferentes antígenos dentro de la misma célula y, por tanto, pueden resultar sensibles a diferentes factores técnicos. La sensibilidad es del 97% y la especificidad próxima al 100%.

La inmunorreactividad con AMACR puede disminuir en aquellos casos que le han tratado con terapia hormonal. Beach et al. estudiaron una serie de 186 casos, observaron en un 55% de los casos, ausencia de inmunorreactividad para AMACR ¹⁴³.

1.5.4.5.-Receptor androgénico (AR):

Es un receptor nuclear. La proteína activada hace de factor de transcripción, mediando funciones celulares dependientes de andrógenos, por ejemplo la transcripción de PSA en las células secretoras y la proliferación celular. Hay anticuerpos mono y policlonales activos en tejidos en parafina. La tinción positiva nuclear indica proteína inmunorreactiva, pero no diferencia la proteína activa o inactiva. La mayoría de los adenocarcinomas invasivos prostáticos son inmunorreactivos para AR. Un estudio demostró que el 85 % de los adenocarcinomas exhiben inmunorreactividad en más del 50 % de las células tumorales, con aumento de la heterogeneidad en aquellos casos de más altos estadios patológicos ¹⁹⁷. Algunos estudios han demostrado esta heterogeneidad o pérdida, en aquellos tumores AR resistentes, sugiriendo que un mecanismo de la resistencia androgénica puede ser la pérdida de AR ^{197, 297}. La inmunotinción para AR no se aplica de manera rutinaria en la clínica.

1.5.4.6.- Microseminoproteína beta (MSMB):

La proteína MSMB, también conocida como proteína secretora prostática

INTRODUCCIÓN

(PRPS, PSP o PSP94) es un componente de 14 kDa, abundante en el plasma seminal: la segunda proteína en abundancia, después del antígeno prostático específico (PSA)¹⁸⁷. A diferencia del PSA, MSMB no está directamente regulado por andrógenos y su expresión no se ve afectada por manipulaciones hormonales¹⁵⁷. Aunque se trata de una proteína de expresión predominantemente prostática, también se ha detectado, a niveles bajos, en otros tejidos humanos con capacidad secretora^{18, 90, 318, 322, 334, 335}.

La existencia de receptores para MSMB en la superficie del espermatozoide y en tejido prostático es consistente con la función anti-apoptótica que se le ha atribuido, probablemente mediada por la ruta de MAP kinasa / AKT^{287, 324}.

Los niveles de expresión de MSMB en carcinoma de próstata parecen inferiores a los observados en el tejido normal o hiperplásico^{28, 55, 157, 229, 274, 310}.

En cuanto a su posible implicación en el carcinoma de próstata, llama la atención que dos estudios de asociación con polimorfismos distribuidos a todo lo ancho del genoma (GWAS), buscando alelos de riesgo al desarrollo de cáncer prostático, hayan identificado una fuerte asociación de un locus en 10q, centrado en el polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) rs10993994⁹³. Este SNP (que puede ser T o C en la base polimórfica) se localiza precisamente en la cola 5' no traducida (5'UTR) del gen MSMB, y estudios en cultivo celular han demostrado recientemente que el alelo de riesgo (T) conlleva una

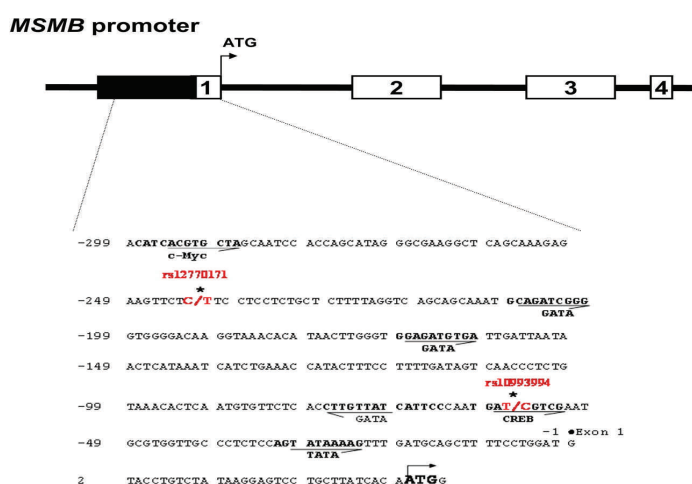


Figura 12.
Esquema del
gen MSMB

CARCINOMA PROSTÁTICO

expresión baja, alrededor del 13% con respecto al alelo C⁵⁶. Parece probable, que esta variación de la secuencia, localizada en zonas de control de expresión génica (promotor), afecte la interacción con factores de transcripción como CREB y consecuentemente frene la expresión de esta proteína reguladora del crecimiento celular, promoviendo de algún modo la tumorigénesis¹⁸⁸.

1.6.- ESTADIAJE DEL CARCINOMA PROSTÁTICO.

Las clasificaciones más importantes y de mayor predicamento sobre extensión de CP, lo constituye el sistema de estadiaje TNM propuesto y publicado en 1978 por el *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) y la *Union Internationale Contre le Cancer* (UICC). Estos sistemas de clasificación indudablemente requieren la valoración patológica de la pieza de prostatectomía, si bien se tratan de estadificaciones del tumor básicamente clínicas, por lo que no se recomienda su aplicación en el informe histopatológico, siendo a lo más, opcional¹³. Lo más deseable, es que la información del patólogo fuese lo más completa posible, y que el clínico reúna y complete todos los datos de estadificación¹³.

Los 3 aspectos que valora este sistema son: el estadio local del tumor, la afectación de los nódulos linfáticos y la presencia de metástasis.

T- Tumor primario (figura 17).

Tx: No se puede valorar el tumor primario

T0: No existe evidencia de tumor primario

T1: Tumor no evidente clínicamente, no palpable ni visible por técnicas de imagen.

T1a: Tumor detectado como hallazgo incidental en una extensión menor o igual al 5% del tejido resecado.

T1b: Tumor detectado como hallazgo incidental en una extensión ma-

INTRODUCCIÓN

por del 5% del tejido reseado.

T1c: Tumor identificado mediante punción biopsica (por ejemplo a con secuencia de un PSA elevado.

T2 Tumor limitado a la próstata:

T2a: Tumor que afecta la mitad o menos de la mitad de un lóbulo.

T2b: Tumor que afecta mas de la mitad de un lóbulo pero no ambos lóbulos.

T2c: Tumor que afecta ambos lóbulos.

T3 Tumor que se extiende a través de la cápsula prostática:

T3a: Extensión extraprostática unilateral o bilateral.

T3b: Tumor que invade la(s) vesícula(s) seminal(es).

T4 Tumor fijo que invade estructuras adyacentes distintas de las vesículas seminales: cuello vesical, esfínter externo, recto, músculos elevadores del ano y/o pared pélvica.

Notas:

1. Un tumor detectado en uno o ambos lóbulos mediante punción biopsia pero no palpable o visible por técnicas de imagen se clasifica como T1c.
2. La invasión del vértice prostático o de la cápsula prostática (pero no más allá de la misma) no se clasifica como T3, sino como T2.

La extensión extraprostática se define como la invasión tumoral al tejido periprostático adyacente.

La invasión de las vesículas seminales se demuestra por la presencia de glándulas tumorales invadiendo dentro de la capa muscular de las mismas.

La invasión de las vesículas se ha demostrado en numerosos estudios como un importante indicador pronóstico ^{52, 73, 82, 299.}

N-Ganglios linfáticos regionales

Nx: No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales.

N0: No se demuestran metástasis ganglionares regionales.

N1: Metástasis en ganglios linfáticos regionales.

CARCINOMA PROSTÁTICO

M-Metástasis a distancia

MX: No se pueden evaluar las metástasis a distancia.

M0: No hay metástasis a distancia

M1: Metástasis a distancia.

M1a: Ganglios linfáticos no regionales

M1b: Hueso

M1c: Otras localizaciones

Nota: Cuando hay más de una localización metastásica se debería usar la categoría más avanzada.

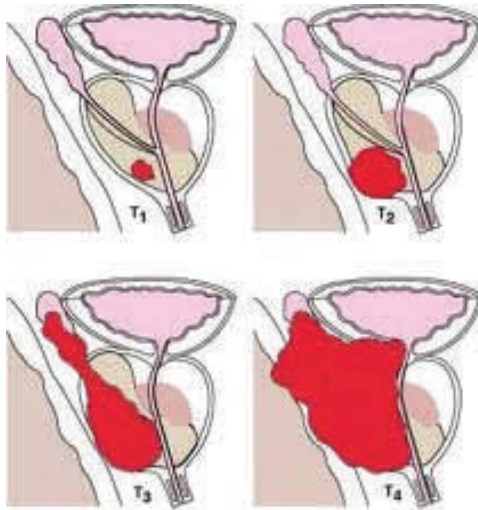


Figura 17. Imagen que representa el estadio local de T

1.7.- OPCIONES TERAPÉUTICAS DEL CARCINOMA DE PRÓSTATA.

Actualmente, los tratamientos curativos del cáncer de próstata localizado aceptados son la prostatectomía radical, la radioterapia externa y la braquiterapia. La ausencia de estudios prospectivos randomizados que comparen los resultados obtenidos con estos tres tratamientos hace que sus indicaciones se basen en estudios comparativos retrospectivos, con estratificaciones

INTRODUCCIÓN

según factores pronósticos conocidos utilizando análisis actuariales.

En algunos casos concretos se puede contemplar la hormonoterapia o la observación como opciones de manejo del paciente. Otros tratamientos que parecen ser efectivos en el control de la enfermedad son la crioterapia, los ultrasonidos de alta frecuencia o la radiofrecuencia intersticial, aunque no están ampliamente aceptados o carecen de un seguimiento adecuado.

1.7.1.-PROSTATECTOMÍA RADICAL

Hoy día, la prostatectomía radical sigue siendo el tratamiento de elección del cáncer de próstata localizado. En Estados Unidos aproximadamente el 50% de los pacientes escogen como tratamiento la prostatectomía radical y en general estos hombres son más jóvenes y gozan de mejor salud que los pacientes que escogen radioterapia ⁴⁴.

La prostatectomía radical ofrece excelentes resultados en los pacientes con cáncer de próstata confinado en la glándula prostática o en el tejido periprostático inmediato. En un ensayo elaborado por múltiples centros, se obtuvo una supervivencia causa específica a 10 años después de prostatectomía radical del 94%, 80% y 77% para los pacientes de bajo, intermedio y alto riesgo respectivamente. Otros estudios en los que se han valorado los resultados en función del control de PSA postcirugía han mostrado una probabilidad actuarial a 10 años de mantener el valor de PSA indetectable del 10-80% ^{145, 155}. Se determinaron el estadio, el volumen tumoral y el Gleason como los factores asociados al éxito de la prostatectomía radical.

En un análisis de 2402 pacientes con cáncer de próstata estadios T1-T2, en el que se evaluaron los resultados según intención de tratar con prostatectomía radical, se obtuvo una supervivencia libre de enfermedad del 84%, 74% y 66% a los 5, 10 y 15 años respectivamente ¹⁴⁵. La probabilidad de recidiva aumentaba en función del estadio, el Gleason y el PSA pretratamiento. Otros autores han presentado resultados similares ^{52, 352}.

La realización de la prostatectomía radical retropúbica ofrece, respecto a la

CARCINOMA PROSTÁTICO

prostatectomía perineal, la ventaja de poder realizar una linfadenectomía en el mismo acto operatorio. Algunos trabajos han determinado un riesgo de afectación ganglionar del 2% en los pacientes con tumores de bajo riesgo y sugieren que en este grupo de pacientes no estaría indicada la linfadenectomía ¹⁵². No obstante, un estudio cooperativo sugirió la capacidad curativa de la linfadenectomía asociada a prostatectomía radical ²¹⁵. En este estudio, la realización de prostatectomía radical con linfadenectomía en pacientes con mínima afectación ganglionar, resultó en un control bioquímico a 5 años del 20%. La prostatectomía radical vía laparoscopia se basa en un abordaje retropúbico y parece que ofrece la ventaja de un postoperatorio más corto que la cirugía abierta ¹³⁸. Un 14%-35% de los pacientes necesitarán un segundo tratamiento después de la prostatectomía dentro de los 2-5 años posteriores a la prostatectomía ^{174, 133, 190}. La tasa de detección de recidiva local con biopsia transrectal es del 38%-55%. Un tercio de estos pacientes requieren múltiples biopsias antes de obtener una biopsia positiva para tumor.

El creciente número de prostatectomías realizadas ha contribuido a mejorar los resultados quirúrgicos. A partir del análisis de series con un número importante de pacientes, se ha estimado que la pérdida de sangre peroperatoria oscila entre 600-1400 ml ⁹². Otras complicaciones posibles durante la intervención también han disminuido según los resultados de las series más recientes, incluyendo la lesión rectal (< 1%), trombosis venosa profunda (1.1%), tromboembolismo pulmonar (1.3%), infección de la herida (1.59%), linfocele (3.4%), pérdida de fluidos por exudación prolongada (0.6%), muerte intraoperatoria (0.3%) ^{10, 89, 184}.

Entre las complicaciones tardías se incluye la estenosis de la anastomosis. La aparición de esta complicación ha disminuido notablemente gracias a modificaciones de la técnica quirúrgica. Su incidencia oscila entre 3% a 9% ^{10, 89, 184}. La incidencia de incontinencia varía ampliamente dependiendo de la población, la época del tratamiento, el cuestionario utilizado y de la definición estricta de incontinencia. Según los datos del *Medicare*, la incidencia de incontinencia de los pacientes operados en la década de los 80 era del 31%

INTRODUCCIÓN

¹¹⁴ .Algunos resultados publicados posteriormente, indican incontinencia del 10% ^{92, 319}. Puede esperarse una mejoría de la incontinencia durante los 2 primeros años. La preservación de la potencia sexual varía notablemente cuando se comparan los resultados de los centros con gran experiencia (> 60%) con los obtenidos a partir de encuestas poblacionales (< 30%) ^{114, 319 260}. Los factores de riesgo de la disfunción eréctil incluyen la edad, estadio y grado de resección de las bandeletas neurovasculares, que probablemente deben resecarse para asegurar la radicalidad de la exéresis aunque ello signifique la pérdida de capacidad eréctil ²⁵⁹ .Se puede esperar una recuperación de la potencia en los dos años siguientes a la prostatectomía. El uso de agentes orales como el sildenafil puede ser muy efectivo en aquellos casos en los que no se hayan resecado las dos bandeletas neurovasculares ³⁵³.

1.7.2.- RADIOTERAPIA EXTERNA

En la década de los 70 - 80 se procedía a un estadiaje de la enfermedad basado en la clínica y el tacto rectal. La planificación del tratamiento se realizaba mediante radiografías simples con ayuda de contraste intravesical e intrarectal. Se utilizaban campos de tratamiento con unos límites estandarizados y sólo podía obtenerse el estudio dosimétrico en 1 plano. Posteriormente, con la aparición de la tomografía computerizada (TC), se han podido reconstruir los campos utilizados y se ha comprobado que los tumores localmente avanzados no quedaban adecuadamente tratados. Con la información obtenida a partir de la TC y la aparición de los bloques de *cerrobend*, surgió lo que se conoce como **RT convencional**. Los pacientes eran tratados con campos individualizados, recibían tratamiento en pelvis mediante 4 campos, 2 campos AP-PA y dos laterales y opuestos.

Posteriormente en 1987 surgió el primer TC-simulador, incorporando las imágenes de la TC a un sistema de planificación tridimensional ²³⁷. En este mismo año, investigadores de la Universidad de Michigan trataron los primeros pacientes con cáncer de próstata con técnicas de radioterapia conformada

CARCINOMA PROSTÁTICO

tridimensional (RTC-3D). Lichter, Frass, Ten Haken exploraron las posibilidades de la RTC-3D y promovieron el primer estudio prospectivo de escalada de dosis en el tumor de próstata estadio C ^{185, 276, 300}. En el *Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC)* trataron su primer paciente en 1988 ¹⁸³ y en 1989 iniciaron este tratamiento en el *Fox Chase Cancer Center (FCCC)* ¹⁴⁶. Desde la aparición de la RTC-3D, los tratamientos con RT han evolucionado persiguiendo dos objetivos: a) disminuir la toxicidad, gracias a la posibilidad de una planificación de campos de irradiación más pequeños, adaptados al volumen tumoral y b) aumentar el control local con la escalada de dosis, hasta llegar a la conformación dinámica de la geometría y de la intensidad del haz de irradiación, lo que constituye la RT con modulación de la intensidad del haz o *Intensity Modulated radiotherapy (IMRT)*.

1.7.3.- TERAPIA HORMONAL

Como se ha explicado, la evolución del tumor está vinculada a la acción de la testosterona, una hormona sexual masculina. El tratamiento hormonal tiene como objetivo reducir los niveles de testosterona en el organismo o bien bloquear los efectos de esta hormona sobre la próstata. Se usan análogos de LHRH, asociados a un antiandrógeno se precisa observación permanente (efectuar controles frecuentes de la zona afectada). Se trata de la observación y vigilancia del estado del cáncer. Esta opción se recomienda especialmente a los pacientes mayores que sufren otro tipo de enfermedades que pueden deteriorar su salud. Es importante destacar el hecho que el cáncer de próstata es una enfermedad muy lenta, y por tanto el tratamiento también se prolongará. Muchos pacientes vivirán con el cáncer, sin que sea éste necesariamente, la causa de su muerte.

En estadios de CP avanzados se puede elegir una segunda línea de manejo hormonal. Los estrógenos a altas dosis pueden reportar estabilizaciones temporales del proceso. El uso de fosfato de estramustina mejora subjetivamente

INTRODUCCIÓN

a estos pacientes unos meses con unos efectos secundarios tolerables. Otros tratamientos hormonales como adrenalectomía bilateral, hipofisectomía, uso de aminoglutetimida o de ketoconazol, no han supuesto beneficios y sí importantes efectos secundarios.

1.7.4.-CAMBIOS HISTOLÓGICOS OBSERVADOS POST-TRATAMIENTO

1.7.4.1.- RADIOTERAPIA:

La radioterapia es el tratamiento usado con más frecuencia en el tratamiento del adenocarcinoma localmente avanzado. La radiación puede inducir necrosis tumoral y fibrosis, pero muchas veces se identifica tumor residual viable después de terminar el tratamiento. Cuando se identifica estructuras cribiformes, glándulas fusionadas, sábanas o cordones celulares, el diagnóstico debe hacerse con precaución. En las biopsias por aguja, el distinguir acinos pequeños con atipia inducida por radiación del carcinoma microacinar puede ser dificultoso. Una distribución irregular de los acinos en el estroma aumenta la sospecha de cáncer. La ausencia de células basales es útil, pero a veces la presencia o ausencia de células basales es difícil de valorar porque se contraen y distorsionan los acinos. La aplicación de citoqueratina de alto peso molecular puede ser útil para identificar células basales residuales, y así poder excluir carcinoma. La atipia nuclear inducida por la radioterapia puede remedar a la del carcinoma, aunque la distribución irregular de la atipia puede ser la clave. La radiación también puede inducir pleomorfismo que, con frecuencia, supera a la del carcinoma. La tinción con inmunohistoquímica para PSA es útil para distinguir células vacuolizadas tumorales que están en el estroma³⁴¹.

CARCINOMA PROSTÁTICO

1.7.4.2.- DEPRIVACIÓN HORMONAL CON ESTRÓGENOS Y ANDRÓGENOS:

Los efectos morfológicos inducidos por los componentes de estrógenos, tales como el dietilestilbestrol se conocen desde hace más de 50 años. Estos cambios consisten en metaplasia escamosa, prominentes citoplasmas, picnosis nuclear y pérdida del nucleolo.

Con la terapia antiandrogénica se observan espacios vacíos que representan glándulas neoplásicas “encogidas”³⁴¹.

1.7.4.3.-CRIOTERAPIA:

En numerosos centros se está utilizando la crioterapia como tratamiento en tumores localmente avanzados. Posteriormente las biopsias muestran numerosos cambios histológicos. El daño agudo consiste en necrosis, hemorragia e inflamación aguda. Los cambios crónicos consisten en fibrosis, hialinización, calcificación, depósitos hemosiderínicos, inflamación granulomatosa, hiperplasia de células basales, metaplasia transicional e escamosa³⁴¹.

1.8.-PRONÓSTICO DEL CARCINOMA PROSTÁTICO:

1.8.1.-FACTORES PREDICTIVOS PRONÓSTICOS:

Muchos parámetros han sido evaluados para predecir el pronóstico de los pacientes con CP, siendo los principales los siguientes:

1.8.1.1.- ESTADIO CLÍNICO:

Es un determinante factor pronóstico, y es probable que sea aún más deter-

INTRODUCCIÓN

minante con la incorporación de las nuevas tecnologías.

1.8.1.2.- ESTADIO PATOLÓGICO:

Este representa el indicador final de extensión del tumor. Como tal, es el factor predictor más exacto del pronóstico disponible actualmente. Naturalmente, hay relación entre el pronóstico y el estado de los factores individuales que determinan el estadio, como lo son, la cápsula prostática, las vesículas seminales y los ganglios linfáticos. De este modo, existe una fuerte asociación entre el nivel de la invasión tumoral y el grado, volumen y tasa de recurrencia del tumor. En los casos de metástasis ganglionar, el pronóstico es peor cuando es múltiple, cuando su volumen es grande y cuando se acompaña de extensión extracapsular²⁶⁵

1.8.1.3.- GRADACIÓN HISTOLÓGICA (GLEASON):

Después de la prostatectomía radical, el sistema de puntuación de gradación microscópica de Gleason es uno de los predictores principales¹⁰¹.

Sumatorio Gleason 2-4: Generalmente son pequeños, incidentales y multifocales, encontrados en la zona de transición tras una resección transuretral (estadios T1a y T1b). Todos los pacientes con un Gleason de 2-4 se curan¹⁰¹.

Sumatorio Gleason 5-6: El comportamiento de estos carcinomas dependen de otras variables, tales como los márgenes quirúrgicos y confinamiento al órgano. La mayoría de estos carcinomas se curan a menos que muestren extensión extraprostática o afectación de márgenes quirúrgicos.

Sumatorio Gleason 7: Tienen peor pronóstico que los tumores del Gleason 6. En estudios realizados en la década de los 90, no observaron diferencias entre 3+4 que 4+3, pero ya estudios de esta década, demuestran peor pronóstico en los carcinomas 4+3 que en los de 3+4. Además, independientemente de la puntuación 4+3, tienen peor pronóstico aquellos que tengan afectación extraprostática o de márgenes quirúrgicos.

CARCINOMA PROSTÁTICO

Sumatorio Gleason 8-10: Esta puntuación afecta solo al 7% de los grandes centros hospitalarios. Típicamente, estos carcinomas son altamente agresivos y se presentan en estadios avanzados. Entre el 70% y el 91% de los pacientes con Gleason 8-10, no están ya confinados al órgano. Solo el 15% de estos pacientes no tienen evidencia de enfermedad a los 15 años de la prostatectomía.

1.8.1.4.- MÁRGENES QUIRÚRGICOS:

Se define como afectación de márgenes quirúrgicos cuando las células tumorales se extienden a la superficie de la pieza quirúrgica pintada con tinta ¹⁰¹.

En un análisis multivariante de 500 muestras de prostatectomías estadios clínicos A y B, los márgenes quirúrgicos afectados se correlacionan con la progresión de la enfermedad. Otros estudios han confirmado que el estado de los márgenes quirúrgicos son un indicador de aumento del riesgo de progresión tumoral ^{30, 58, 105}.

Generalmente, márgenes quirúrgicos positivos son indicativos de que el carcinoma no ha sido completamente extirpado y es un importante parámetro pronóstico después de la cirugía. El lugar de los márgenes quirúrgicos afectados coincide frecuentemente con el mismo lugar de extensión extraprostática, aunque en un 9% a 62 % de los casos descritos en la literatura hay afectación de márgenes sin extensión extraprostática. El lugar más frecuente con afectación de márgenes es el ápex y áreas del paquete neurovascular posterolateral.

1.8.1.5.- VOLUMEN TUMORAL:

Los estudios de McNeal y otros autores habían sugerido que el volumen es una importante predictor del pronóstico. El volumen tumoral se correlaciona con el grado, extensión extraprostática, invasión de vesículas seminales, estado de ganglios linfáticos regionales, tasa de recurrencia y supervivencia. La

INTRODUCCIÓN

mayoría de los adenocarcinomas descubiertos incidentalmente en las autopsias son lesiones pequeñas, de menos de 1 cm^3 ³⁴¹. En un estudio de carcinomas incidentales detectados en las cistoprostatectomías (que se piensa que son similares a los detectados en las autopsias), el volumen medio fue de $0,04 \text{ cm}^3$ ²⁴². Por el contrario, la mayoría de los tumores que presentan clínica son más grandes de $0,5 \text{ cm}^3$ y algunos incluso más de 5 cm^3 . Los tumores mayores de 5 cm^3 tienen mayor tasa de afectación de vesículas seminales y enfermedad metastásica. La importancia del volumen ha llevado a algunos autores a proponer al volumen como un indicador pronóstico³⁵.

El volumen tumoral no puede medirse prospectivamente usando técnicas clínicas o radiológicas, ya que en algunos casos solo pueden obtenerse estimaciones aproximadas. En el material patológico puede medirse por análisis de imagen asistido por ordenador. También se puede medir por un método más simple, como el de Humphrey¹⁵⁶.

Son numerosos los estudios que sugieren que en la era post-screening del PSA y conocido el estado de la extensión o no extraprostática, grado de Gleason y afectación de márgenes, el volumen del tumor no añade valor predictivo pronóstico (aunque había publicado en series obtenidas antes de la era screening PSA, una correlación muy fuerte entre el volumen y el pronóstico).

Las estimaciones generales del porcentaje de superficie afectada por el tumor pueden ser dadas por los patólogos y, por lo tanto, se recomienda informar este resultado en las biopsias con aguja, resección transuretral y piezas de prostatectomías. Estas medidas se correlacionan bastante bien con métodos más sofisticados, por lo que son suficientes para la práctica de rutina en ese momento.

1.8.1.6.- EXTENSIÓN EXTRAPROSTÁTICA:

Se define como extensión más allá de los haces musculares que rodean la

CARCINOMA PROSTÁTICO

próstata. La glándula prostática no tiene una verdadera cápsula, aunque posterolateralmente hay una capa mas fibrosa que sirve para delimitar la próstata. Es por ello que debería usarse el término de extensión extraprostática en lugar de invasión capsular ⁹⁸.

Hay estudios que aconsejan determinar si la extensión es “focal” o “no focal”, ya que se ha visto que tiene significado pronóstico, siendo mejor el pronóstico cuando la extensión es focal ^{103, 105}.

1.8.1.7.- INVASIÓN DE VESÍCULAS SEMINALES:

Se define como la invasión del tumor infiltrando la capa muscular de las vesículas seminales. Los mecanismos por lo cuales puede infiltrar son: a) extensión por el conducto eyaculador; b) extensión a través de la base de la próstata (sin demostrarse extensión extraprostática) o por el tejido adiposo periseminal y c) por depósitos tumorales aislados, sin continuidad con los focos tumorales primarios.

Se ha visto en numerosos estudios que la invasión de las vesículas seminales es un indicador significativo del pronóstico ^{52 73, 82, 299}. Aunque la invasión de las vesículas y extensión extraprostática son variables predictivas en un análisis univariante, en análisis multivariante se ha demostrado que solo la puntuación de Gleason, márgenes quirúrgicos y la invasión vascular tienen valores predictivos pronósticos. Aunque estudios posteriores hacen especial énfasis en la invasión de las vesículas en aquellos pacientes con márgenes afectados. En dos estudios posteriores, se encuentra que los valores de PSA sérico, el porcentaje de glándula afectada por el carcinoma y la edad, en piezas de prostatectomía radical, son variables predictivas independientes en la progresión de los pacientes con invasión de las vesículas seminales ¹⁰¹.

1.8.8.8.- INVASIÓN DE GANGLIOS LINFÁTICOS:

La invasión de los ganglios linfáticos confiere un mal pronóstico, pero afortu-

INTRODUCCIÓN

nadamente la frecuencia de ganglios afectos, es hoy día del 1-2%⁵². La mayoría de esta disminución se debe a la selección de los pacientes que se intervienen.

La detección de los ganglios afectos puede mejorar con técnicas especiales, tales como la inmunohistoquímica para PSA o la detección de mRNA de hK2-L mediante reacción en cadena de polimerasa tras transcripción reversa (RT-PCR), aunque estas técnicas no se utilizan en la rutina clínica diaria.

1.8.1.9.- LA EDAD:

La edad de los pacientes no es un determinante pronóstico importante. Hay muy pocos casos publicados por debajo de los 35 años, siendo éstos pobremente diferenciados y muy agresivos. Sin embargo, en un análisis estadístico de carcinomas prostáticos después de los 40 años no se ha visto relación entre la edad y la supervivencia^{12 147 289}.

1.8.1.10.- INVASIÓN PERINEURAL:

Se observa invasión perineural en los carcinomas prostáticos en un 75-84% de las piezas quirúrgicas. Debido a que en casi todas las piezas quirúrgicas hay invasión perineural y los estudios no han demostrado que sea un parámetro pronóstico independiente, este hallazgo no es imprescindible incluirlo en los informes de forma rutinaria, aunque es conveniente indicarlo cuando está presente⁹⁸.

Algunos estudios han mostrado relación con la extensión extraprostática y con la progresión tumoral después de la prostatectomía radical²⁸¹, pero otros autores no han encontrado tal asociación⁹⁴.

1.8.1.11.- NIVELES SÉRICOS DE PSA:

Los niveles en suero de PSA están relacionados con los carcinomas prostáticos de peor pronóstico, siendo un indicador indirecto del volumen tumoral,

CARCINOMA PROSTÁTICO

extensión tumoral y respuesta al tratamiento ¹⁴⁴.

1.8.1.12.- BIOMARCADORES:

En este apartado se describen los principales parámetros que se han visto relacionados con el pronóstico (progresión) de la enfermedad.

1.8.1.12.1.- Ploidía del DNA: La aneuploidia tumoral, determinada con imagen o citometría de flujo, se correlaciona con la puntuación de Gleason más alta y con metástasis locales y a distancia. No obstante, dos amplios estudios de análisis multivariante no demostraron valor pronóstico independiente ^{52, 101}.

1.8.1.12.2.- Índice proliferativo (ki-67): Ki-67 es un antígeno nuclear que se expresa en las células en fase G1, S, G2 y M y no se expresa en las células en fase G0. Por tanto, da una idea del estado proliferativo de la célula tumoral y su dinámica. Numerosos estudios han mostrado que la fracción primaria proliferativa del carcinoma prostático está asociada con el grado y/o estadio, así como con la enfermedad avanzada, siendo un valor predictivo de supervivencia independiente. Así, la determinación del grado histológico junto con el índice proliferativo parece ser una herramienta pronóstica importante ⁶⁰.

1.8.1.12.3.- Expresión p53: Se trata de un gen supresor tumoral. La detección inmunohistoquímica de la proteína p53 se correlaciona con la mutación del gen p53, observándose en numerosos carcinomas prostáticos avanzados. Diferentes estudios ponen de manifiesto que podría ser de valor pronóstico independiente del estadio y grado de Gleason. Otros estudios también los correlacionan con la edad, raza, volumen tumoral y niveles de PSA preoperatorio, pero también como valor pronóstico independiente. Los resultados de todos estos estudios sugieren que la expresión p53 es un prometedor parámetro pronóstico ^{52, 101}.

1.8.1.12.4.- Diferenciación neuroendocrina: La glándula prostática tiene nu-

INTRODUCCIÓN

meras células neuroendocrinas. En algunos CP se observa diferenciación neuroendocrina de manera focal, siendo más evidente hasta en un 10%^{52, 221}. El resultado de estos hallazgos es controvertido, pero la evidencia actual sugiere que influye en el pronóstico, relacionado con la conversión al fenotipo hormono-resistente. Es por lo que parece que los hallazgos neuroendocrinos en estos tumores se correlacionan con peor pronóstico. No obstante, no está claro si tienen valor pronóstico independiente. En todo casos, es el mejor marcador de diferenciación neuroendocrina es la Cromogranina A.

1.8.1.12.5.-Bcl-2: Es una proteína que bloquea a la célula en fase G0 e impide la muerte celular por apoptosis, lo que lleva al aumento del crecimiento celular^{52, 101}. En numerosos estudios se ha demostrado como valor predictivo independiente del grado, estadio, edad, raza, márgenes quirúrgicos, invasión de vesículas seminales o estado de los ganglios linfáticos. Por lo tanto, la positividad para esta oncoproteína está estadísticamente relacionada con la probabilidad de recurrencia del carcinoma prostático.

1.8.1.12.6.- E-Cadherina: La E-Cadherina es una molécula de adhesión que contribuye al mantenimiento de la normal arquitectura tisular, estando relacionada con la adhesividad de las células tumorales, antimetástasis y buen pronóstico. La disminución de la expresión de la E-Cadherina está asociada con los estadios de CP más avanzados y con poca diferenciación. Sin embargo, la expresión de la E-Cadherina es muy heterogénea, dificultando su valoración en el estudio inmunohistoquímico. Por lo tanto, a pesar de existir esta correlación, no se puede usar como parámetro pronóstico independiente¹⁰¹.

1.8.1.12.7.- c-erbB2: es un gen que codifica el factor de crecimiento epidérmico humano tipo 2. El receptor está involucrado en las respuestas celulares a los factores de crecimiento, se encuentra amplificado hasta en el 30% de los cánceres de mama. El papel de los estrógenos en la próstata es incierto, pero hay evidencia que tienen una función de mantenimiento normal de la próstata. Se han observado casos positivos, pero no son predictivos de progresión de la enfermedad. A pesar del interés de este marcador, hay pocos

CARCINOMA PROSTÁTICO

datos disponibles que sugieran su utilidad en el seguimiento de los pacientes con prostatectomía.

1.8.2.- ESTADIFICACIÓN PATOLÓGICA Y PATRONES DE CRECIMIENTO Y METÁSTASIS

El pronóstico de los pacientes con CP es altamente variable y dependiente de muchos factores. En 1999, en la Conferencia-Consenso del Colegio Americano de Patólogos (CAP: College of American Pathologists) se considera los parámetros pronósticos en tres diferentes categorías (Tabla 5). La **Categoría I** incluye factores bien definidos en la literatura clínica y recomendado para el manejo clínico del paciente; la **Categoría II** comprende factores que han sido extensamente estudiados biológica y clínicamente, que pueden recomendarse para el uso posterior de grandes estudios multicéntricos (por lo tanto, en investigación); La **Categoría III** incluye otros factores no suficientemente estudiados para demostrar su valor pronóstico (Investigación, utilidad desconocida).

Tabla 5

CLASIFICACIÓN DE LOS FACTORES PRONÓSTICOS PARA EL CARCINOMA PROSTÁTICO (CAP):

Categoría I.

- *PSA serológico*
- *Grado Gleason*
- *Estadio Patológico*
- *Márgenes quirúrgicos*

Categoría II.

- *Ploidia DNA*

INTRODUCCIÓN

- Volumen de cáncer en prostatectomía radical
- Volumen de cáncer en biopsias por agujas
- Subtipos histológicos

Categoría III.

- *Invasión perineural*
- Micrometástasis en ganglios linfáticos
- Núcleos redondeados
- Textura cromatina nuclear
- Figuras mitóticas
- MIB-1
- Apoptosis
- Derivaciones de PSA (Velocidad PSA, densidad PSA)
- Receptores androgénicos
- Diferenciación neuroendocrina
- Calicreína 2 humana glandular
- Antígeno membrana prostático específico
- Densidad microvascular
- Integrinas
- TGF-Beta

Tabla tomada de Young et al, 2000 ³⁴¹.

Aunque el riesgo de progresión a los 4 años en el estadio T1a es bajo (2%), entre el 16% y el 25 % de los pacientes en este estadio, en un seguimiento de 10 años, hay progresión evidente de la enfermedad ³²⁵. Debido a esto, algunos autores hacen terapia agresiva, especialmente en pacientes por deba-

CARCINOMA PROSTÁTICO

jo de los 60 años^{104, 125}.

Los tumores en estadio T1b son más heterogéneos en grado, localización y volumen que los carcinomas en estadio T2. Los carcinomas en estadio T1b tienden a ser de más bajo grado y localizarse en la zona de transición. Mientras los tumores en estadio T2 muestran extensión extraprostática con volúmenes pequeños^{62, 130, 207}. El tratamiento óptimo para los pacientes en estadio T1c, no ha sido establecido. En pacientes jóvenes donde el tumor se detecta por el screening PSA y confirma por biopsias de aguja fina, muchos cirujanos recomiendan prostatectomía radical.

En general, los pacientes en estadios más avanzados (T3, T4), no son candidatos para la prostatectomía radical, siendo normalmente tratados con radioterapia local. La deprivación androgénica también ha sido empleada en estos casos y es el tratamiento primario de elección en los pacientes con metástasis ganglionar o a distancia. Entre el 50% y el 60% de los pacientes en estadios T3 tienen metástasis ganglionar en el momento del diagnóstico. Más del 50% de estos pacientes desarrollan metástasis a distancia en los siguientes 5 años, y el 75% mueren por el carcinoma prostático en 10 años. Las metástasis a distancia aparecen en los 5 años siguientes en más del 85% de los pacientes con metástasis ganglionar que no han recibido tratamiento.

En pacientes con metástasis a distancia, la mortalidad es aproximadamente 15% en 3 años, 80% a los 5 años y 90% a los 10 años.

Para resumir, la frecuencia de la supervivencia a los 10 años se muestra en la tabla 6. Los pacientes con estadio T1a tienen una supervivencia del 95 % a los 10 años, lo cual es similar a la supervivencia de los hombres de esa misma edad. Los pacientes con enfermedad localizada que se trataron mediante cirugía o radioterapia, tienen un 80 % de supervivencia a los 10 años, y aquellos con enfermedad avanzada localmente (T3, T4) tienen una supervivencia del 60% a los 10 años. Las frecuencias estimadas curativas son considerablemente más bajas en adenocarcinoma prostático de larga evolución.

INTRODUCCIÓN

Los pacientes con metástasis ganglionar (n+) tienen una supervivencia a los 10 años del 40%, mientras que con metástasis a distancia (M+) muestran un 10% de supervivencia a los 10 años. En general, la tasa de muerte asociado a CP parece disminuir, lo cual puede en parte reflejar el diagnóstico en etapas o estadios tempranos de la enfermedad debido a las estrategias de detección tempranas ^{51, 88, 106.}

Tabla 6

CÁNCER PROSTÁTICO: DISTRIBUCIÓN POR ESTADIOS, PRONÓSTICO, TASA DE SUPERVIVENCIA, Y TASA DE CURACIÓN

ESTADIO	PACIENTES (%)	PRONÓSTICO	TASA SUPERVIVENCIA	TASA CURACIÓN A 10 AÑOS
T1a (A1)	10	Tratamiento innecesario	95	85
T1b-T2 (A2-B2)	30	Frecuentemente curable	80	65
T3-T4 (C1-2)	10	Ocasionalmente curable	60	25
N+ (D1)	40	Rara vez curable	40	< 5%
M+ (D2)	10	Incurable	10	< 1%
Todos los estadios	100		51	32
Excluyendo T1a			45	25

Tabla tomada de Young et al., 2000 ³⁴¹

1.9.-ANÁLISIS DE LOS MECANISMOS IMPLICADOS EN LA PROGRESIÓN TUMORAL. GENES Y MARCADORES TUMORALES DEL CÁNCER DE PRÓSTATA

El cáncer de próstata (CP) es uno de los tumores malignos más frecuentes en Occidente, incluyendo en los factores de riesgo la edad, raza, herencia genética y factores ambientales, tales como la dieta ^{54, 234}. Aunque los mecanismos moleculares precisos que llevan a la carcinogénesis y progresión son conocidos solo parcialmente, estudios histológicos indican que el modelo de progresión conlleva múltiples pasos.

En el CP se han identificado numerosas alteraciones genéticas y epigenéticas ²³⁵. Los análisis citogenéticos han demostrado la prevalencia de aberraciones cromosómicas asociadas con oncogénesis prostática, y muchos genes que se posicionan en regiones amplificadas o deleccionadas, se han visto implicadas en la progresión de la enfermedad. En los últimos años, estudios de perfil genómico de los tumores prostáticos han permitido identificar numerosos biomarcadores y vías que están alteradas en el CP, algunas de las cuales pueden ser dianas moleculares potenciales para el tratamiento. A pesar de los conocimientos avanzados en las alteraciones genéticas en el adenocarcinoma de próstata, las vías moleculares precisas, su relación y el orden de los eventos implicados en el desarrollo de lesiones preneoplásicas y adenocarcinoma, aún están siendo definidos en la actualidad. Asimismo, para conocer mejor los mecanismos de enfermedad y comenzar a probar nuevas terapias y estrategias preventivas para el CP humano, se han desarrollado nuevos modelos animales de CP que están ayudando a definir muchos aspectos de la patogénesis molecular y celular del CP, tales como el papel de la inflamación, angiogénesis e interacciones estromales – epiteliales.

INTRODUCCIÓN

Los carcinomas, incluyendo el de próstata, se desarrollan a partir de un proceso de múltiples etapas que están asociadas a una serie de cambios genéticos que se traducen primero en un aumento de proliferación, seguido de una transformación maligna y finalizando en el fenómeno metastásico ³³. En las últimas décadas se ha intentado establecer algún patrón de alteraciones génicas que definan esta progresión. Sin embargo, ninguno de los patrones descritos es definitivo, ya que continuamente se está ampliando la información en este campo y porque, debido a la heterogeneidad histológica que presenta este tipo de tumor, no existe ningún patrón común que defina el curso de las distintas etapas del cáncer de próstata. El número y tipo de genes implicados en este proceso puede variar entre distintos tumores.

La hipótesis que sustenta que el CP puede progresar a partir de un neoplasia intraepitelial a carcinoma invasivo ³³, con capacidad de dar metástasis y evolucionar a una enfermedad andrógeno independiente letal, está soportada por numerosas evidencias. La neoplasia intraepitelial prostática (PIN) es un término habitualmente usado para describir las lesiones precursoras de carcinoma ²⁰⁶. Los estudios de autopsias sugieren que las lesiones de PIN preceden la aparición de carcinoma ²⁷⁵. Los PIN de alto grado están con frecuencia espacialmente asociados con carcinomas y pueden exhibir alteraciones moleculares similares a las encontradas en las células tumorales prostáticas ²⁰⁶. La atrofia glandular se observa frecuentemente en próstatas envejecidas ²⁰⁵. Las lesiones atróficas se han propuesto como precursores potenciales del CP basándose en parte en su frecuencia en las proximidades a un carcinoma ^{78, 115, 257, 284}. La atrofia proliferativa inflamatoria (PIA) es un término contradictorio que se ha usado para describir un rango de estas lesiones, incluyendo la atrofia simple e hiperplasia post-atrótica. Las lesiones de PIA son altamente proliferativas y con frecuencia están asociadas a la inflamación ²⁷². Estas lesiones se producen habitualmente tras daño celular iniciado por inflamación y / o carcinógenos y con el tiempo pueden evolucionar a PIN de alto grado y, raramente a carcinoma ²⁵⁷. Las células epiteliales dentro de focos PIA expresan tanto marcadores de células luminales como basales y se considera que

CARCINOMA PROSTÁTICO

las lesiones de PIA son la manifestación morfológica de daño epitelial celular y regeneración. Algunas de las alteraciones genéticas y epigenéticas observadas en PIN y adenocarcinoma, también se han encontrado en lesiones PIA, aunque en menor medida ^{25, 141, 192, 228, 283}. Estos hallazgos sugieren un vínculo potencial entre un subgrupo de lesiones atróficas de próstata y adenocarcinoma.

En resumen, se ha propuesto un modelo de múltiples pasos de progresión que conduce un epitelio normal a atrofia focal prostática, luego a PIN y, finalmente, a carcinoma ^{25, 78, 80, 234}. En este modelo, el daño continuo al epitelio prostático, como la inflamación y / o exposición a carcinógenos, resulta en daño celular y muerte celular. Consecuentemente, hay regeneración celular, y esto se manifiesta morfológicamente como atrofia prostática. Estas células atróficas pueden entonces sufrir alteraciones genómicas somáticas durante su división celular, incluyendo la metilación del promotor GSTP1, acortamiento telomérico, y activación de MYC, permitiendo así la transformación neoplásica.

1.9.1.-COMPONENTE HEREDITARIO DEL CÁNCER DE PRÓSTATA.

Solo una pequeña proporción (9%) de los tumores prostáticos derivan de mutaciones en células germinales que se traducirían en una predisposición hereditaria a desarrollar carcinoma. Parece ser que en 1/3 de este porcentaje de CP familiar estaría implicada la región cromosómica HPC1 (1q24-25). Basados en análisis de ligamiento, se posicionó el locus de susceptibilidad a Cáncer Prostático Hereditario 1 (HPC1) en 1q24-25, donde luego fue identificado el gen de la Ribonucleasa L (RNASEL) ^{167, 233, 247}. Las mutaciones germinales en el locus Receptor Scavenger Macrophage 1 (MSR1) también han sido relacionadas con el riesgo de CP ³³² así como otros muchos loci, justificando el componente hereditario de susceptibilidad al desarrollo de CP ¹²³.

INTRODUCCIÓN

La mayoría de los trabajos recientes se basan en estudios de asociación a lo ancho del genoma (Genome Wide Association Studies) (GWAS) para detectar polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) vinculados al riesgo de CP. Varios de estos genes de susceptibilidad se han posicionado en el cromosoma 8q24^{70, 135-137, 191, 293, 338, 344, 346, 347}. Otras regiones igualmente implicadas en el componente hereditario del CP son PCAP (1q42-43), CAPB (1p36) y HPCX (Xq27-28), donde un grupo de polimorfismos y mutaciones se han visto asociadas con un aumento del riesgo de padecer CP.

1.9.2.-ALTERACIONES GENÉTICAS EN CARCINOMA DE PRÓSTATA.

La mayoría de los cambios genéticos descritos en el CP ocurren en células somáticas, y juegan un papel esencial en la evolución tumoral y crecimiento selectivo de clones celulares cada vez más agresivos.

Estas alteraciones genéticas somáticas de las células de CP incluyen alteraciones de la metilación de citosina en dinucleótidos CpG, mutaciones puntuales, deleciones, amplificaciones y acortamiento de telómero^{70, 212, 235}. La inactivación de los genes supresores, por ejemplo *TP53* y *Retinoblastoma* (RB), también se han encontrado en tumores prostáticos¹⁶⁷, pero estas alteraciones son mucho más frecuentes en cánceres avanzados hormono-refractarios y/o metastásicos.

1.9.2.1.-ABERRACIONES CROMOSÓMICAS EN CÁNCER DE PRÓSTATA. DETECCIÓN Y SIGNIFICADO BIOLÓGICO

La utilización de las técnicas de citogenética clásica, análisis de la pérdida de heterocigosidad (LOH), hibridación in situ con fluorescencia (FISH), hibridación genómica comparada (CGH) y recientemente la técnica de microarrays genómicos, convergen en un solo objetivo que es la identificación de genes o regiones cromosómicas alteradas ya sea por deleciones, amplificaciones,

CARCINOMA PROSTÁTICO

translocaciones y que por tanto, pueden considerarse potencialmente implicadas en esta patología tumoral.

En muchos casos, las alteraciones cromosómicas detectadas en neoplasias, como el CP, han sido el punto de partida de estudios moleculares de genes candidatos, localizados en esas regiones, que han resultado en la identificación de genes cuyas mutaciones juegan un papel importante en el desarrollo de la neoplasia.

Las alteraciones cromosómicas más comunes en PIN y CP son pérdidas de 1p, 6q, 8p, 10q, 13q, 16q y 18q y ganancias de 1q, 2p, 7p, 7q, 8q, 18q y Xq⁵⁷. En estas regiones se han identificado genes supresores de crecimiento tumoral y oncogenes²³⁹, que revisaremos posteriormente.

A continuación se presenta una descripción detallada de las alteraciones más comunes asociadas a la patología tumoral del cáncer de próstata:

1.9.2.1.1.-Cromosoma 8: La pérdida en muestras tumorales de las regiones 8p12 (80%) y 8p21-23 (45%), detectado mediante las técnicas anteriormente mencionadas y la reproducibilidad de los resultados obtenidos, hace pensar que es una región que contiene genes supresores del CP¹⁶⁵. En la región 8p21.1 ha sido localizado el gen *CAKb* (quinasa implicada en la adhesión celular). La pérdida de la región 8p12 también ha sido hallada en PIN (63%) lo que hace suponer que sería un suceso temprano en la formación del tumor²⁰¹. Por otro lado, la pérdida de 8p21.3.22 ha sido observada con una mayor frecuencia en casos letales de CP, sugiriendo que lesiones en esta región estarían asociadas a la progresión tumoral²⁹⁵.

La amplificación del brazo largo 8q, se ha encontrado en un 80% de tumores recurrentes y en un 6% de tumores primarios³¹⁴ y sería un suceso tardío en la progresión tumoral. El gen *c-Myc*, localizado en la región 8q24, está amplificado¹⁶⁰ y este evento ha sido asociado a metástasis en nódulos linfáticos. Se ha encontrado una amplificación de la región 8q23 que afecta al gen *EIF3S3* que codifica para la subunidad p40 del factor de inicio de traducción eIF3²³⁹.

INTRODUCCIÓN

1.9.2.1.2.-Cromosoma 13: Existen dos regiones delecionadas mayoritariamente en cáncer de próstata, la región 13q21.1-31 y la región 13q33, cuyas frecuencias de deleción en cáncer de próstata son del 9 % y del 50 %, respectivamente. Ambas se han asociado a estadios avanzados del desarrollo tumoral³¹⁴. El gen del retinoblastoma (*RB1*) se localiza en la región 13q14. La pérdida de esta región se ha asociado a etapas precoces del desarrollo tumoral prostático. Se ha postulado también que en el extremo telomérico de *RB1* podría existir otro gen supresor tumoral cuya deleción estaría asociada con etapas más avanzadas del cáncer de próstata³⁴⁰.

1.9.2.1.3.-Cromosoma 16: Un estudio realizado por Cher y col en 1996 afirma que en un 50% de los CP localizados existe pérdida de la región 16q24 y 16q23.1-23.2. Otros trabajos describen esta pérdida en un porcentaje mayor de tumores metastásicos y recurrentes^{295, 314}. Es importante resaltar que el gen para la E-cadherina, localizado en la región 16q22.1, no muestra ninguna mutación en CP²⁹⁵.

1.9.2.1.4.-Cromosoma 10: La región más afectada es 10q24. La pérdida de esta región se ha relacionado más con etapas avanzadas del tumor y metástasis, así como en carcinomas recurrentes tras tratamiento por supresión de andrógenos. Un gen supresor candidato en esta región es *MXII*, Max-interacting protein-1 (10q24-25) que es un regulador negativo del oncogen Myc. Otro gen localizado en esta región, cuya pérdida de función en cáncer de próstata ya ha sido demostrada, es *PTEN* o MMAC1 (10q23). El gen *PTEN* fue clonado posicionalmente basándose en la pérdida de heterocigosidad en cáncer de mama, cerebro y próstata. Se han encontrado deleciones o mutaciones puntuales de este gen en glioblastomas multiformes, carcinomas de endometrio, carcinomas de ovario endometriode y cáncer de próstata. Concretamente, la pérdida de función sucede en un 10-20% de los tumores órgano-confinados y en más de un 50% de carcinomas de próstata avanza-

CARCINOMA PROSTÁTICO

dos. La transfección del gen *PTEN* in vitro disminuye la proliferación celular y la capacidad tumoral de glioblastomas con mutación en *PTEN*^{47, 295}.

1.9.2.1.5.-Cromosoma 17: Se ha detectado pérdida del brazo corto en un 65% de las metástasis andrógeno independientes⁵⁹ y, por lo tanto, es una región implicada en estadios avanzados del CP. Existen dos genes de interés localizados en esta región, *TP53* (17p13.1) y *ELAC2* (17p11). Este último corresponde al primer gen de susceptibilidad al cáncer (HPC2) de próstata identificado mediante clonación posicional. En *ELAC2* se han encontrado dos mutaciones puntuales que corresponde a cambios de aminoácidos que se asocian con el fenotipo tumoral de cáncer de próstata, un cambio de serina a leucina en la posición 217 (S217L) y otro de alanina a treonina en la posición 541 (A541T). Se ha observado que el riesgo de padecer cáncer de próstata aumenta un 2.9% en los casos S217L y un 31.6% en los casos A541T²⁶². En cuanto al gen *TP53*, las mutaciones más frecuentes son un cambio de los nucleótidos G:C por A:T que dan lugar a mutaciones sin sentido en los *hot spot CpG de dicho gen*. También se ha postulado que las células con el gen *TP53* mutado son seleccionadas clonamente durante el proceso de metástasis prostática²³¹.

En el brazo largo del cromosoma 17, concretamente en la región 17q21, se localiza el gen *BRCA1*. Existe cierta controversia en los estudios realizados en 17q ya que, si bien se ha observado que el gen *BRCA1*, responsable de la predisposición hereditaria al cáncer de mama, se pierde en algunos casos de CP junto a la pérdida también de otra región distinta del mismo brazo, se han observado también ganancias de material genético en 17q⁵⁹.

1.9.2.1.6.-Cromosoma 18: la amplificación de 18q se ha descrito en carcinomas de próstata recurrentes. En este cromosoma se localiza *BCL-2* (18q21.3). Paralelamente, en muchos tipos de carcinomas, entre ellos el prostático, también se ha observado pérdida alélica de la región 18q21 donde se localizan los genes que codifican para las proteínas *Smad2* y *Smad4*

INTRODUCCIÓN

(DPC4)³⁰⁷.

1.9.2.1.7.-Cromosoma 7: Mediante las técnicas de FISH y CGH se han observado tanto una trisomía del cromosoma 7 como una amplificación del brazo largo 7q. Pese a que existen autores que lo consideran una mutación genética neutra por encontrarse también alterado en algunas muestras de tejido benigno, los estudios realizados por Alcaraz y col y otros investigadores sugieren la amplificación de 7q^{4, 188} y la trisomía del cromosoma 7^{19, 188} como factores pronóstico implicados en la progresión y metástasis del carcinoma de próstata. El cromosoma 7 contiene genes conocidos, como el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), la quinasa CLK2, el gen para la glicoproteína P *MDR1* y el factor de elongación 1 - γ . La alteración de la función de estos genes está implicada en la progresión del cáncer de próstata.

1.9.2.1.8.-Cromosoma 6: Se ha observado pérdida de 6q en un 35% de tumores de próstata metastásicos. Existen varios genes candidatos en el cromosoma 6q que podrían estar implicados en la carcinogénesis prostática, como son el IGF-IIIR (*insulin-like growth factor II receptor*, 6q26), la proteína reguladora del ciclo celular ciclina C (6q21) y el gen *TPC* el cual codifica para una proteína similar a la proteína ribosomal S10⁵⁹.

1.9.2.1.9.-Cromosoma X: En un 30% de carcinomas recurrentes se ha observado una amplificación en la región Xq11-13. Esta región incluye al gen para el receptor de andrógenos AR. Se han hallado amplificaciones de dicho gen en pacientes que en el transcurso del tratamiento por supresión androgénica se han hecho resistentes³¹⁴. Por otro lado, estudios de ligamiento genético han identificado la región Xq27-28 como un locus de susceptibilidad al cáncer de próstata (HPCX)²⁵².

CARCINOMA PROSTÁTICO

1.9.2.2.-MUTACIONES Y ANOMALÍAS DE EXPRESIÓN GÉNICA EN CÁNCER DE PRÓSTATA.

En relación con algunas de las aberraciones cromosómicas descritas previamente, o independientemente de las mismas, en el CP se han visto implicados numerosos genes cruciales para el control de la división celular del tejido prostático. A continuación resumimos los principales hallazgos moleculares descritos en los genes más importantes involucrados en el CP.

1.9.2.2.1.- MYC.

La función de la proteína MYC como factor de transcripción nuclear afecta a un amplio rango de procesos celulares incluyendo progresión del ciclo celular, metabolismo, biogénesis de ribosomas y síntesis proteica ⁷⁵. El oncogen MYC está en el cromosoma 8p24 y esta región está amplificada en numerosos tumores humanos ⁷⁵. La complejidad de las vías reguladoras de la transcripción de MYC han sido objeto de intensos estudios desde comienzo de los años 90 y aún sigue siendo desconocido el papel preciso del oncogen MYC durante la transformación neoplásica y sus dianas moleculares directas en la oncogénesis prostática. Inicialmente se publicó que la expresión de gen MYC estaba aumentada en lesiones PIN y en el 30% de los CP ^{236, 258}, en combinación con la correlación de amplificación de 8q24 con grado Gleason alto y carcinoma metastásico, sugiriendo que las alteraciones en MYC fueran asociadas con enfermedad avanzada ^{160, 277}. Esto contradice los hallazgos de otras series en que la mayoría de los CP mostraban niveles aumentados de mRNA MYC, incluyendo los casos de bajo grado ^{46, 112}. Estudios más recientes apoyan esta implicación temprana de MYC, ya que detectan sobreexpresión de MYC (mRNA y proteína) frecuente y tempranamente en el CP primario. Se ha demostrado, con análisis inmunohistoquímicos en microarrays de tejidos, la tinción nuclear MYC aumentada en células epiteliales de PIN, PIA y carcinoma, comparados con tejidos benignos ¹⁴¹.

INTRODUCCIÓN

1.9.2.2.2.-NKX3.1

NKX3.1 es uno de los candidatos a genes tumorales supresores localizado en el brazo corto del cromosoma 8. El gen NKX3.1 codifica un factor de transcripción con dominio “homeo” que es uno de los primeros marcadores conocidos del epitelio prostático durante la embriogénesis ^{27, 150}. Su expresión persiste en el epitelio glandular adulto siendo necesario para el mantenimiento de la morfología ductal y la regulación de la proliferación celular ^{2, 279}. Se ha observado pérdida de heterocigosidad en 8p21 en el 63 % de PIN de alto grado y el 70% de CP ^{25, 96, 315}. Varios estudios han analizado la expresión NKX3.1 mediante inmunohistoquímica en muestras de CP; tanto en PIN como en carcinoma, disminuye la intensidad y llega a perderse la inmunotinción NKX3.1, comparada con el tejido benigno ^{16, 25, 37}. Esta tinción disminuida está correlacionada con el grado de Gleason, estadio tumoral avanzado, presencia de enfermedad metastásica y enfermedad hormono-refractaria ^{25, 37}. Recientemente, análisis inmunohistoquímicos con anticuerpos NKX3.1 revelaron una disminución llamativa de los niveles de NKX3.1 en lesiones PIA ²⁵. Parece pues que NKX3.1 regula negativamente la proliferación celular ^{182, 194}, y su pérdida de la expresión en células epiteliales atróficas puede contribuir a aumentar la capacidad proliferativa del epitelio. Igual que en artículos previos, la intensidad de tinción NKX3.1 también fue significativamente débil en PIN y carcinomas. La disminución de la expresión de la proteína NKX3.1 se correlaciona con la pérdida de 8p en tumores de alto grado, pero no en PIN o PIA ^{25, 345}.

Aunque se desconocen las dianas transcripcionales precisas de NKX3.1, análisis de microarrays sugieren que la pérdida de NKX3.1 resultan en el aumento de daño oxidativo del DNA por su papel en el control de la expresión de las enzimas antioxidantes ²⁴⁵.

1.9.2.2.3.- PTEN.

El gen PTEN es un gen bien definido como supresor tumoral posicionado en región cromosómica 10q23 ³²⁰. La proteína PTEN, de 55 kDa, tiene una acti-

CARCINOMA PROSTÁTICO

vidad proteína tirosina fosfatasa que es capaz de desfosforilar tanto residuos de tirosina como de serina/treonina. La principal función conocida de PTEN es la regulación negativa de la vía de actividad anti-apoptótica de la quinasa AKT mediante su acción sobre los niveles de PIP3^{87, 193, 198, 225}. Los niveles de PIP-3 son muy bajos en las células quiescentes. Tras la estimulación con factores de crecimiento, la proteína PI3-quinasa se activa y en consecuencia, los niveles de PIP-3 aumentan. En respuesta a estos niveles de PIP-3, las proteínas portadoras de un dominio pleckstrina migran a membrana. Una de estas proteínas es el proto-oncogen AKT que es una proteína quinasa (serina/treonina) de actividad antiapoptótica ya que, tras activarse por fosforilación, previene la liberación del citocromo c desde la mitocondria e inactiva los factores de transcripción *Forkhead*, responsables de activar genes implicados en la apoptosis celular. La función de PTEN es mantener los niveles de PIP-3 bajos. Por lo tanto, la pérdida de la función de PTEN se traduce en un aumento de la concentración de PIP-3 y en una hiperactivación de la vía AKT, un inhibidor de la apoptosis y promotor de la proliferación celular.

La actividad de PTEN se ha asociado también a otras funciones celulares como la regulación del ciclo celular mediante la activación post transcripcional de la proteína p27 que se traduce en una parada del ciclo celular en G1. De hecho, se ha observado que, cuando los niveles de PTEN son bajos, el aumento de la actividad de la vía AKT está asociado a una disminución de los niveles celulares de p27. Este efecto de PTEN sobre el ciclo celular parece depender también de la inhibición de la vía AKT ya que los inhibidores de la PI3k, realizan el mismo efecto sobre el ciclo celular y los niveles de p27. También se ha visto que PTEN puede modular la adhesión y migración celular mediante su acción sobre las proteínas quinasa de adhesión focal (FAK) y la proteína transformante Shc. La expresión aberrante de PTEN ha sido implicada en un elevado porcentaje de carcinomas de mama, próstata y glioblastomas. En próstata está asociado a estadios avanzados, metastásicos, los cuales exhiben delecciones homocigóticas de PTEN^{91, 167, 320}. Sin embar-

INTRODUCCIÓN

go, la mayoría de los casos de CP con alteraciones genéticas de PTEN presentan pérdida de heterocigosidad en el locus de PTEN, sin mutaciones en el alelo restante ¹⁵³. Hay sinergia entre NKX3.1 y PTEN en la oncogénesis prostática, tal como se ha demostrado en ratones modificados genéticamente, en los que animales heterocigóticos para ambos genes desarrollan rápidamente carcinoma invasivo y enfermedad andrógeno-independiente ^{21, 120, 171}.

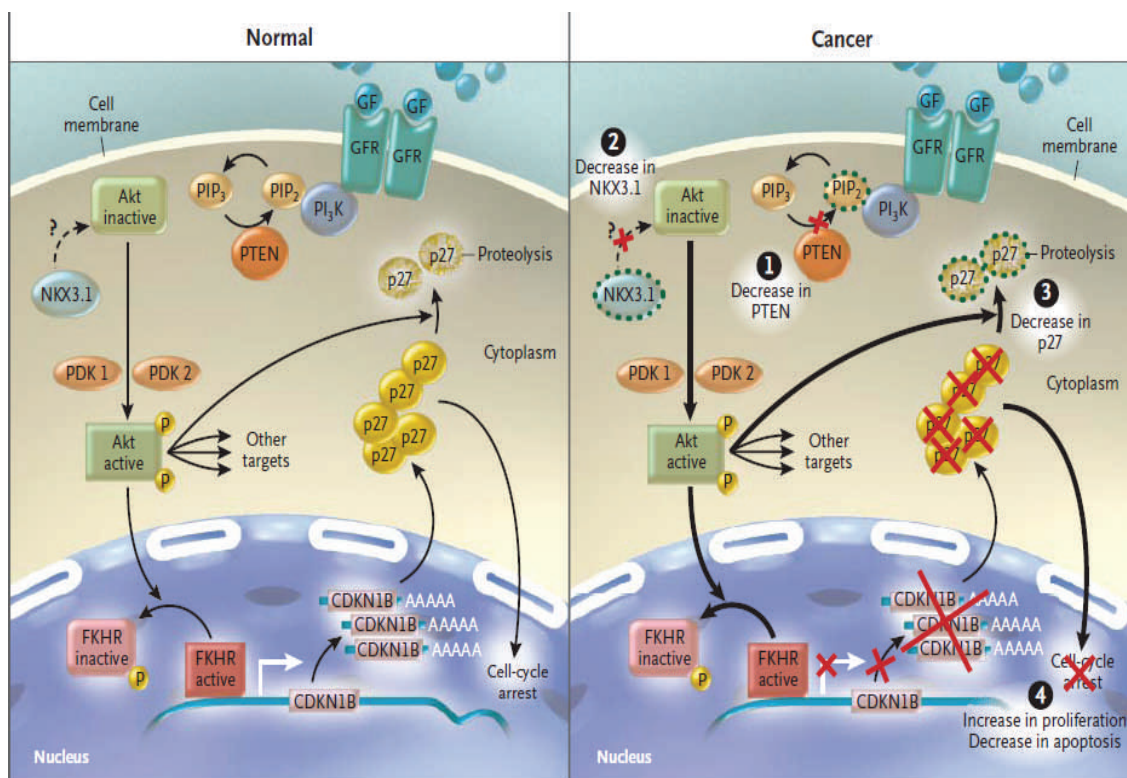


Figura 18. Tomado de Biocarta

CARCINOMA PROSTÁTICO

1.9.2.2.4.- RECEPTOR ANDROGÉNICO:

Tanto el crecimiento normal de la próstata como el desarrollo del CP son dependientes de los andrógenos. Esta dependencia androgénica es el fundamento del tratamiento de supresión androgénica llevado a cabo en pacientes con CP. Desde el descubrimiento de la dependencia hormonal del epitelio y estroma prostáticos, por Huggins y Hodges en 1941, el tratamiento mediante supresión androgénica ha sido considerado como el tratamiento tipo de esta neoplasia. Normalmente se observa una respuesta inicial al tratamiento por supresión hormonal en un 70-80% de pacientes con carcinoma de próstata avanzado. Trascorridos una media de 15 años estos CP desarrollan finalmente clones hormono-independientes que provocarán la progresión de la enfermedad hacia un estado independiente de andrógenos. Estos tumores, definidos como hormono-resistentes, difícilmente responden a otras terapias. Los carcinomas andrógeno-independientes son clínicamente agresivos y de peor pronóstico, con una media de supervivencia de 9 meses. Se asocian a un aumento de la actividad proliferativa y una disminución de la muerte celular por apoptosis. El tratamiento de supresión androgénica provoca un aumento de la expresión Bcl-2 en las células tumorales y este fenómeno se ha asociado con el desarrollo de la independencia androgénica y la quimiorresistencia ¹²⁶. También la frecuencia de mutación en p53 es superior (94%) en los casos de tumores hormonoresistentes respecto a la observada en carcinomas localizados (4-60%) ²²³.

Actualmente, el tratamiento curativo del CP es solo posible a través de terapias radicales como la prostatectomía radical o la radioterapia. No obstante, la experiencia clínica acumulada en los últimos 25 años, ha demostrado que tan solo son curativos los carcinomas órgano-confinados (estadios T1 y T2). En los últimos 10 años y debido a la posibilidad de diagnosticar precozmente el CP, se ha incrementado notablemente el diagnóstico de CP en estadios inicialmente localizados y por este motivo, únicamente alrededor de un 5 %

INTRODUCCIÓN

de los pacientes diagnosticados de CP padecen la enfermedad en un estadio diseminado, presentando ya en el momento del diagnóstico metástasis ósea y/o linfática. En estos casos, las medidas terapéuticas actualmente disponibles son solo paliativas. La identificación de marcadores específicos del CP que permitan su detección en fases tempranas de su progresión maligna y hacia la hormonorresistencia, podrían ser muy útiles para la toma de decisiones terapéuticas que mejoren el pronóstico y evolución de la enfermedad.

Los mecanismos moleculares implicados en la progresión del carcinoma hacia un estadio independiente de andrógenos se desconocen en gran medida. Por ahora la atención se ha centrado en el receptor de andrógenos (AR) y sus vías de señalización.

Receptor de andrógenos. Características moleculares.

El AR es miembro de la familia de receptores esteroideo /tiroideo / ácido retinoico que se unen a elementos de respuesta específicos en genes dianas regulando así la transcripción. En la próstata durante el desarrollo solo las células estromales expresan receptor de andrógenos sugiriendo que la regulación androgénica sería mediada vía las células estromales. En la próstata de un individuo adulto el AR se encuentra principalmente en el epitelio de las glándulas prostáticas aunque también se puede encontrar en el estroma. La expresión es alta en las células epiteliales lumbinales y baja en las células basales. Sin embargo, en muestras de cáncer de próstata la presencia del AR en las células epiteliales es heterogénea y tiende a disminuir notablemente sobretodo en los tumores mal delimitados.

El AR es un factor de transcripción activado por ligando. La proteína es de 105 kDa y está compuesta, como la mayoría de receptores esteroides, de un dominio C-terminal de unión a la hormona, un dominio de unión al DNA y un dominio de transactivación. Está localizado como monómero en el citoplasma de las células positivas, formando un complejo con proteínas de choque térmico (heat-shock proteins, HSPs) que lo mantienen inactivo⁸³. Al unirse los andrógenos, el AR cambia de conformación y se libera de las HSPs. De

CARCINOMA PROSTÁTICO

esta manera puede darse la fosforilación, dimerización y translocación hacia el núcleo, donde el complejo se une a los elementos de respuesta a andrógenos (ARE) de los genes diana (Figura 6). El gen del AR (>90 kb), está localizado en el cromosoma Xq11-12. En el tejido prostático ha sido demostrada la existencia de dos mensajeros, resultado de un “splicing” alternativo en la región no traducida UTR-3'. La secuencia de cDNA del receptor de andrógenos presentan un marco de lectura abierta (ORF) de 2730 pares de bases que codifica para una proteína de 98.5 kDa.

La actividad AR es esencial para el desarrollo del CP y la expresión AR es evidente en los PIN de alto grado y la mayoría de las lesiones adenocarcinomas ²⁷¹.

El mecanismo de progresión hacia la independencia androgénica ^{83, 314} puede ser consecuencia de varios fenómenos como una importante disminución en los niveles de expresión del receptor ³⁰³, una amplificación del receptor ³¹⁴ o mutaciones en la región de unión a ligando que hacen que el AR responda a niveles inferiores de andrógenos, a otros esteroides o a antiandrógenos. Por otro lado, el AR también puede ser activado por factores de crecimiento peptídicos o citoquinas que desencadenen otras vías de señalización (AKT y/o MAPK) que se traduzcan en un incremento de la proliferación y crecimiento del tumor ^{83, 164}. En este campo, cabe destacar un trabajo publicado en el que demuestran que los factores neurotróficos bombesina y neurotensina, juegan un papel importante en la activación del AR en ausencia de andrógenos, a través de proteínas G que se traduce en la activación de las vías de las tirosin quinasas (Etk/BMX, FAK y Scr) ¹⁸⁰.

Existen numerosos trabajos sobre las mutaciones encontradas en la región codificante de unión al ligando del AR; sin embargo, la frecuencia de estas mutaciones no es clara ³⁰². Se han observado mutaciones en un 44% de los tumores primarios analizados. Este dato sería consistente con la hipótesis siguiente: la progresión rápida del CP hacia el estado de andrógeno independencia podría ser debido a mutaciones ya existentes antes de tratamiento de

INTRODUCCIÓN

supresión androgénica, más que a nuevas mutaciones manifiestas posteriormente ¹¹⁸. Estas mutaciones en el dominio de unión al ligando, se han observado tanto en CP andrógeno-independientes como en carcinomas metastásicos. El aumento en el número de copias génicas también ha sido relacionado con la resistencia al tratamiento por supresión androgénica ³¹⁴. Dicho aumento estaría directamente relacionado con una sobreexpresión del receptor, la cual facilitaría el crecimiento de las células tumorales en presencia de niveles bajos de andrógenos.

Se han clonado un importante número de coreguladores del AR que incluyen tanto represores como activadores. Una interacción indebida entre estas moléculas coactivadoras y el AR podría modificar la actividad transcripcional del AR y, por tanto, jugar un papel importante en la progresión del cáncer de próstata. Un ejemplo sería la interacción de la proteína asociada al receptor de andrógenos 70 (*androgen receptor associated protein 70*, ARA 70) con el AR en respuesta a antiandrógenos como la bicalutamida o la flutamida que se traduce en una activación del AR en ausencia de andrógenos.

Estudios in vitro, han demostrado que la vía de señalización del receptor de andrógenos puede ser activada también por otros factores de crecimiento, como el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF) ⁷¹. Estudios han relacionado directamente la expresión del oncogen Her-2/neu (ERBB2) con la adquisición del fenotipo andrógeno independiente y con un incremento de los niveles de expresión del antígeno específico de próstata (PSA) ⁶⁹. Esta inducción de la expresión de PSA podría estar mediada por la vía de señalización de la MAP quinasa. Her-2/neu promovería la interacción entre AR y sus cofactores como ARA 70. De esta manera, podría ser que Her-2/neu y MAP quinasa estuvieran implicadas en el carcinoma de próstata recurrente en presencia de niveles bajos de andrógenos mediante la transactivación del AR ³³⁹.

1.9.2.2.5.- FUSION TMPRSS2-ETS.

El gen “similar a ETS” (Ets-related gene-1, ERG1) es un factor de transcrip-

CARCINOMA PROSTÁTICO

ción oncogénico sobreexpresado en la mayoría de los casos de CP primarios²⁵³. Las bases de esta sobreexpresión fueron descubiertas por Tomlins y cols.³⁰⁵, que encontraron un reordenamiento cromosómico recurrente en el CP. Se hicieron análisis de microarrays de DNA que detectaron fusiones de las regiones reguladoras (promotores y “enhancers”) de un gen de respuesta a andrógenos (*TMPRSS2*) y la zona codificante de genes de factores de transcripción miembros de la familia *ETS*, tales como, *ERG* y *ETV1*. Este hallazgo, junto a la conocida sobreexpresión de *ERG* en aproximadamente el 90% de los tumores prostáticos²⁵³, ha potenciado el interés a caracterizar las implicaciones funcionales de la fusión de cromosomas aberrantes en la progresión tumoral y resultados clínicos^{17, 327}. Mientras que los estudios iniciales sugirieron que estas fusiones no estaban presentes en las lesiones de PIN, se ha hecho evidente que muchas lesiones PIN llevan fusiones *TMPRSS2-ETS*. Por tanto, esta fusión podría llevar a la transformación neoplásica por sí misma y no ser algo que se presenta más tardíamente, asociado al fenotipo invasivo^{222, 251}. Además, la sobreexpresión de *ERG* en próstatas de ratones transgénicos resultan en la pérdida de las células basales y lesiones PIN^{172, 304}, aunque estos últimos hallazgos son polémicos y hay evidencia de que la sobreexpresión de *ERG* pueden contribuir a la transformación de las células epiteliales prostáticas pero son insuficientes para iniciar el cáncer de próstata.

1.9.2.2.6.- p27

p27kip1, codificada por el gen *CDKN1B*, es inhibidora de la quinasa dependiente de ciclina y se comporta como un supresor tumoral, al frenar la progresión del ciclo celular. p27 se une e inhibe el complejo ciclina E/CDK2 y ciclina A/CDK2^{84, 304}. Aunque las mutaciones de p27 son raras, la pérdida de la expresión de p27 se ha visto asociada a hiperplasia y tumores malignos en diferentes órganos, incluyendo la próstata^{169 254}. En el tejido prostático normal y benigno, p27 está altamente expresado en la mayoría de las células epiteliales luminales y más variablemente en las células basales⁷⁹. Sin embargo, la

INTRODUCCIÓN

expresión de p27 disminuye en la mayoría de las lesiones PIN de alto grado y carcinomas ^{79, 110, 140}. Varios estudios han mostrado disminución de p27 en CP, estando correlacionada con aumento de la proliferación, producción de PSA, tumores de alto grado y estados avanzados ^{79, 140, 306}. El mecanismo molecular por el cual la proteína p27 está disminuida en CP no ha sido clarificado, aunque se ha puesto de manifiesto una regulación post-transcripcional de p27 en casos de carcinoma con altos niveles de mRNA de *p27* pero pérdida de la expresión de la proteína ⁶⁸.

Las próstatas de animales con deficiencia de p27 muestran hiperplasia y aumento de su tamaño ⁶⁸. Además, se ha investigado en la oncogénesis, la relación con NKX3 y PTEN con la pérdida de p27; así combinando la pérdida de *p27*, *PTEN* y *NKX3* en ratones modificados en dos y tres genes se ha inducido hiperplasia prostática seguida del desarrollo tumoral ^{86, 119}. Estos hallazgos sugieren que la progresión del CP es sensible a la cantidad de *p27*, siendo un evento temprano en la neoplasia de próstata.

1.9.2.2.7.- **TELOMERASA**

Los telómeros son estructuras especializadas compuestas de secuencias de DNA repetidas unidas a unos complejos multiproteicos localizadas al final de los cromosomas. Juegan un papel esencial en la estabilidad cromosómica, y en su mantenimiento intervienen enzimas denominados telomerasas ²⁹. Esta enzima es una transcriptasa inversa que utiliza su propio componente RNA como doble molde para la síntesis del DNA repetitivo que constituirá el telómero. En ausencia de suficientes niveles de la enzima telomerasa, los telómeros progresivamente se acortan con la división celular, y se dispara una señal de lesión del DNA que prevenga la proliferación, dando como resultado problemas al final de la replicación; se alcanza así el denominado "límite Hayflick" de la replicación celular y las células entran en senescencia. La señal de lesión del DNA induce la expresión de las proteínas p53 y p21; la p21 inhibe la actividad de las quinasas dependientes de la ciclina; estas ciclinas al estar inhibidas no pueden fosforilar la proteína RB, ocasionando todo, la

CARCINOMA PROSTÁTICO

parada del ciclo celular.

En el tejido normal de próstata no se detecta actividad telomerasa, a diferencia de las próstatas tumorales donde la actividad es elevada.

Por otro lado, el acortamiento excesivo de cromosomas asociado a déficit de telomerasa puede llevar a una segregación incorrecta de cromosomas durante la división celular, resultando en inestabilidad genómica, que es un aspecto importante del fenotipo tumoral. Los ratones mutantes dobles, para la telomerasa y p53, muestran mayor incidencia de cánceres epiteliales, sugiriendo un papel los telómeros cortos en la iniciación del cáncer epitelial ¹⁵. La mayoría de los PIN de alto grado y CP tienen los telómeros anormalmente acortados, exclusivamente en las células luminales. Esto apoya la idea que las células luminales pueden ser dianas cruciales en la transformación neoplásica ²¹¹. El daño oxidativo puede resultar en el acortamiento de telómeros y esto encaja con el modelo de estrés inflamación-oxidativo propuesto para explicar la progresión del CP ⁸⁰.

1.9.2.2.8.- MICRORNAS:

MicroRNAS (miRNAs) son pequeñas moléculas no codificantes de RNA que regulan negativamente la expresión de otros genes, interfiriendo con la traducción proteica. Los miRNAs se producen a partir de transcritos primarios (pri-mRNAs), que son procesados por endonucleasas RNase III, Drosha y Dicer para producir la molécula madura de miRNA ^{20, 213}. En el citoplasma, el miRNA maduro se asocia con el complejo de silenciamiento (RISC) que se ensambla en el extremo 3'UT del mRNA, que es degradado, por lo que se silencian específicamente genes diana de ese miRNA ²⁹¹. Desde su descubrimiento hace una década, se ha demostrado que los miRNAs juegan un papel clave en el desarrollo del organismo y, hay evidencia cada vez mayor que está alterado su regulación en el cáncer ³²⁶. Recientemente, algunos estudios han publicado unos niveles predominantemente disminuidos de miRNAs en CP, incluyendo let-7, miR-26a, miR-99 y miR-125-a-b ^{189, 246, 256}.

Existe cada vez más evidencia de que muchos cánceres humanos siguen un

INTRODUCCIÓN

modelo de 'célula madre', en el que una subpoblación celular (CSCs, cancer stem cells) con propiedades totipotenciales es el componente principal del crecimiento tumoral, la invasión y metástasis (*Wicha et al., 2006*). Estas células, típicamente resistentes a tratamientos convencionales, parecen ser responsables de la recurrencia de la enfermedad.

En concreto, el carcinoma de próstata contiene CSCs (*Wang et al., 2009*), que expresan CD44, una molécula de adhesión regulada por la ruta Wnt, importante en la progresión y metástasis (*Tu et al., 2009*).

En un artículo recién publicado, *Liu et al.* demuestran que un microRNA (miR34a) degrada CD44 en CSCs de próstata, lo que disminuye el crecimiento tumoral y reduce las probabilidades de metástasis, en un modelo de cáncer de próstata en ratón. La mejor supervivencia que consiguen mediante el tratamiento sistémico con miR34a, dirigido contra las CSCs, representa una nueva estrategia terapéutica para este tipo de neoplasia maligna.

1.9.2.2.9.- EPIGENÉTICA

Las alteraciones epigenéticas en la carcinogénesis prostática incluyen cambios en estructura cromosómica a través de metilación anormal del DNA en nucleótidos deoxicitidina (dC) y modificaciones en histonas (mediante acetilación y/o metilación). Los eventos epigenéticos ocurren temprano de la

Wicha MS, Liu S, Dontu G. Cancer stem cells: an old idea--a paradigm shift. *Cancer Res.* 2006 Feb 15;66(4):1883-90; discussion 1895-6. PubMed PMID: 16488983.

Wang X, Kruithof-de Julio M, Economides KD, Walker D, Yu H, Halili MV, Hu YP, Price SM, Abate-Shen C, Shen MM. A luminal epithelial stem cell that is a cell of origin for prostate cancer. *Nature.* 2009 Sep 24;461(7263):495-500. Epub 2009 Sep

Tu LC, Foltz G, Lin E, Hood L, Tian Q. Targeting stem cells--clinical implications for cancer therapy. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2009 May;4(2):147-53. Review. PubMed PMID: 19442199; PubMed Central PMCID: PMC3034385.

Liu C, Kelnar K, Liu B, Chen X, Calhoun-Davis T, Li H, Patrawala L, Yan H, Jeter C, Honorio S, Wiggins JF, Bader AG, Fagin R, Brown D, Tang DG. The microRNA miR-34a inhibits prostate cancer stem cells and metastasis by directly repressing CD44. *Nat Med.* 2011 Feb;17(2):211-5. Epub 2011 Jan 16. PubMed PMID: 21240262.

CARCINOMA PROSTÁTICO

progresión de CP. Sin embargo no se conocen en detalle los mecanismos por los cuales estos cambios aparecen. El silenciamiento de genes a través de metilaciones aberrantes puede ocurrir como resultado de actividad metiltransferasa DNA alterada (DNMT). DNMTs establecen y mantienen los patrones de metilación en el genoma por catalización de la transferencia de grupos metilo a dC en dinucleótidos CpG. La expresión de varios genes se ven afectadas por alteraciones epigenéticas.

1.9.2.2.10.- GSTP1

Las especies reactivas de oxígeno (Reactive oxygen species, ROS) se generan en los procesos fisiológicos como la respiración celular, exposición a agentes químicos, o exposición a radiación ionizante, y constituyen un mecanismo importante de daño del DNA. Tal daño lleva a mutaciones y alteraciones de oncogenes o de genes supresores tumorales. Se han descrito compuestos reactivos químicos derivados tanto de la dieta como de producción endógena, que parecen implicados en el proceso inflamatorio y la patogénesis de CP humano.

Las glutathion-transferasas son enzimas responsables de la detoxificación de especies químicas reactivas a través de la conjugación a glutathion reducido. El gen *GSTP1* codifica la glutathion transferasa S clase pi, que fue el primer gen hipermetilado descrito en el CP ¹⁸¹. *GSTP1* se cree que protege a las células epiteliales prostáticas de daño en el DNA asociado a carcinógeno y / o estrés oxidativo. La pérdida de *GSTP1* deja a las células prostáticas desprotegidas frente a este estrés, y por tanto más susceptibles a daños genómicos. Por ejemplo, en líneas de células prostáticas cancerosas (LNCaP), que no expresan *GSTP1* como resultado de silenciamiento epigenético, la recuperación de la función de *GSTP1* permite la protección contra la activación metabólica de un carcinógeno implicado en el CP en modelos de rata ^{232, 286}.

En la carcinogénesis prostática humana se ha observado inactivación del gen GST por hipermetilación del promotor, durante etapas tempranas. El silenciamiento de este gen no se detecta en epitelio prostático benigno, pero sí se

INTRODUCCIÓN

detecta en el PIN y el adenocarcinoma, así como en fluidos de los pacientes (suero, orina...) con CP. Se propone pues que la detección de hipermetilación de GST, mediante PCR, puede ser un biomarcador de etapas tempranas del proceso de CP.

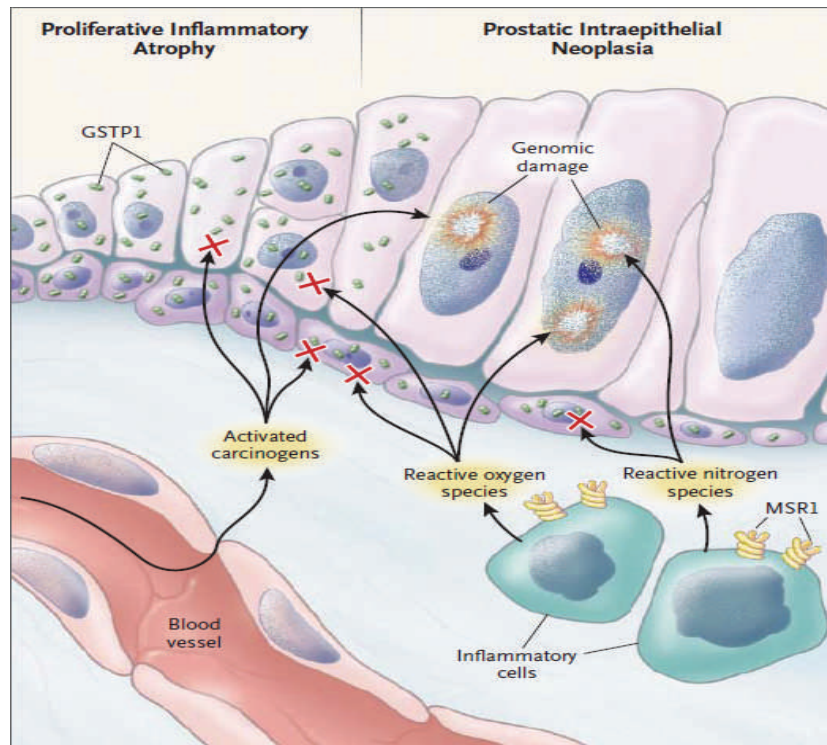


Figura 19. Representación esquemática del gen GSTP1. Tomada de Biocarta

1.9.2.2.11.- APC

La proteína poliposis adenomatosa coli (APC) es un componente de la señal Wnt/ β -catenina que regula negativamente el crecimiento celular. APC típicamente se encuentra en un complejo grande con Glucógeno sintetasa kinasa-3 (GSK3) y Axina. Este complejo APC es responsable de la degradación de la β -catenina en el citosol citoplasmático mediado por la ubiquitina.

Las cateninas son una familia de proteínas que interaccionan con la porción citoplasmática de las cadherinas (proteínas que intervienen en la adhesión

CARCINOMA PROSTÁTICO

célula – célula). La interacción Wnt-receptor induce la actividad de la fosfoproteína citoplasmática “disheveled” la cual activada, inhibe la serina/treonina quinasa y la GSK-3b. Cuando la GSK-3b se inhibe, la catenina se fosforila. La forma hipofosforilada de la b-catenina migra al núcleo e interacciona con factores de transcripción (TCF-1) e inhibe la expresión de varios genes. Por tanto, la pérdida de APC conduciría a la activación de TCF-1 y al crecimiento no restringido.

Hay evidencias indirectas de que la inactivación de APC puede llevar a la progresión del cáncer prostático. Hay estudios que muestran alta incidencia de hipermetilación de su región promotora y una correlación del grado de metilación con el estadio, grado y recurrencia bioquímica (PSA) . Aproximadamente el 5% de CP tienen mutaciones activadoras de APC y la localización nuclear anormal de β -catenina ocurre en un porcentaje similar ³³⁶. Estos hallazgos sugirieron que si APC funciona como gen supresor tumoral en el adenocarcinoma prostático, entonces su papel principal en la próstata puede no relacionarse con la translocación nuclear de β -catenina. Más datos a favor de la idea que APC puede ser gen supresor tumoral en CP, viene por modelos de ratones en los cuales la deleción prostática específica de APC en ratones adultos, llevan a la inducción de carcinoma ⁴³. Independientemente si APC está involucrado en el desarrollo de CP o su progresión o no, la metilación de sus promotores pueden convertirse en un biomarcador útil en el diagnóstico de CP puesto que la metilación puede detectarse en los fluidos corporales tales como la orina o sangre ³³⁶.

ADHESIÓN CELULAR:

1.9.2.2.12.- EL GEN CDH1 (16Q22):

Codifica la proteína E-cadherina. La familia de las cadherinas son glicoproteínas transmembrana cuya variación de la expresión se ha implicado directamente en una variedad de procesos como morfogénesis, supervivencia y desarrollo tumoral. Se ha observado que la disminución de la expresión de E-cadherinas está asociada a la pérdida de diferenciación del tumor, aumento

INTRODUCCIÓN

de metástasis y disminución en la vida media del paciente. Parece ser que en cáncer de próstata esta disminución de expresión se da a nivel de transcripción debido a una metilación del DNA.

1.9.2.2.13.- TP 53

TP 53 (17p13): Codifica la proteína p53 que fue identificada como una proteína celular asociada al antígeno T de SV40 y como producto génico resultante de la transformación adenovírica de células murinas. Se encuentra mutado en un 50% de los carcinomas de colon, pulmón, mama, cerebro y riñón. La función de p53 es parar el ciclo celular en la fase G1 o programar la muerte celular en respuesta a estímulos como son el estrés celular, daño del DNA, hipoxia, choque térmico, cambio de pH, etc. Desde el punto de vista bioquímico, p53 se comporta como un factor de transcripción que controla la expresión de otros genes, entre los que destaca la proteína pro-apoptótica Bax, el inhibidor de CDKs, CDKN1A y la ubiquitina ligasa mdm-2 la cual inhibe a su vez a p53 a modo de feed-back negativo.

A diferencia de otros muchos genes supresores de tumor, la proteína p53 mutada es más estable y se acumula llegando a alcanzar niveles bastante elevados, detectables fácilmente por técnicas de inmunohistoquímica. Los tumores positivos para p53 normalmente expresan un p53 mutado. La mayoría de tumores de próstata positivos corresponden a tumores recurrentes o metástasis hormono independientes. Este hecho sugiere una implicación de p53 en la progresión tumoral en etapas avanzadas. De hecho, se ha sugerido que las células portadoras de p53 mutada son seleccionadas clonalmente durante el proceso de metástasis del CP ²³¹.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

La finalidad del presente trabajo sobre casos de piezas de prostatectomía, pretende cubrir los siguientes objetivos:

- 1.- Revisión de la literatura y obtención de datos genéricos, de incidencia y de distribución del carcinoma prostático en nuestro centro hospitalario, que nos permite emitir conclusiones de talante epidemiológico.
- 2.- Caracterizar ciertos aspectos clínico de la enfermedad de los pacientes estudiados, así como valorar otros exámenes clínicos de tipo analítico y radiológico.
- 3.- Estudio de seguimiento o evolución de los casos evaluando resultados terapéuticos.
- 4.- Revisión de los diagnósticos anatomopatológicos de los casos con el fin de precisar mejor la naturaleza de los tumores y su gradación histológica.
- 5.- Correlacionar los datos patológicos de extensión con los de la clínica a efectos pronósticos.
- 6.- Aplicación de estudios patológicos especiales (biomarcadores) mediante técnicas inmunohistoquímicas y biología molecular, con el fin de obtener resultado de significado pronóstico.
- 7.- Por último, los resultados más relevantes serán sometidos a análisis estadísticos, haciendo especial referencia a intervalo libre de enfermedad y supervivencia de los pacientes.

MATERIAL Y MÉTODO

MATERIAL Y MÉTODO

3.1.- MATERIAL DE ESTUDIO:

1.- Historiales clínicos de 100 pacientes con carcinoma de próstata en estadio clínico T2-3N0M0, que han sido sometido a prostatectomía radical por el Servicio de Urología del Hospital Universitario de Canarias. Fueron intervenidos entre enero de 2002 y julio de 2005. El tiempo medio de seguimiento de los pacientes es de 6,37 años.

2.- Informes y material biopsico (preparaciones histológicas y bloques de inclusión en parafina) de los tumores del archivo del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario de Canarias (Departamento de Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina de la Universidad de La Laguna).

3.2.- MÉTODO DE ESTUDIO:

El método de estudio que seguimos en el trabajo comprende, el análisis de los datos clínicos y correlación anatomoclínico de los casos a efectos pronósticos, así como la valoración estadística de los resultados.

3.2.1.- MÉTODO CLÍNICO: Evaluación de los datos de los pacientes concernientes a: edad, datos analíticos (PSA preoperatorio y PSA a los 5 años de la prostatectomía), hallazgos quirúrgicos y evolución, teniendo especial interés en Metástasis y Mortalidad.

3.2.2.- MÉTODO ANATOMOPATOLÓGICO:

CARCINOMA PROSTÁTICA

3.3.2.1.- ESTUDIO MACROSCÓPICO:

Las piezas de prostatectomía se fijan durante 24 horas en formol tamponado al 4%; se miden tres dimensiones, se pesan y se pintan todos los márgenes quirúrgicos con tinta china, se sumerge en Bouin para fijar la tinta china, con lo que queda perfectamente identificado el margen de resección. Una vez seca, apoyando la pieza sobre su superficie posterior, se secciona dando cortes paralelos cada 4 milímetros en un plano transversal, desde el cuello vesical hasta el ápex. Se incluyen por separado las porciones cónicas resultantes del corte en la zona del ápex y cuello, se cortan de forma perpendicular al corte previo. El muestreo ha de responder a una serie de cuestiones, por ello es imprescindible que además de categorizar en grado, tamaño y localización al adenocarcinoma se han de estudiar:

- Los límites de resección superior e inferior, es decir el cuello vesical y el ápex.
- Los límites laterales de resección, teniendo en cuenta que posiblemente las zonas más proclives a ser inicialmente infiltradas, son los pedículos vasculo-nerviosos postero-laterales superiores y la superficie rectal, es mandatorio tomar representación de ellas.
- El límite anterior o zona fibromuscular anterior, por donde pueden extenderse los carcinomas de la zona de transición.
- Las vesículas seminales.

Con todo este estudio se proporciona una exacta definición de la morfología del tumor.

3.3.2.2.- ESTUDIO MICROSCOPIO ÓPTICO:

Cada bloque de tejido procesado en parafina se le realizan cortes de 4 micras, que se tiñen con hematoxilina – Eosina para el estudio microscópico.

En el estudio microscópico mediante la observación de las preparaciones his-

MATERIAL Y MÉTODO

tológicas, se investigan y se describen los siguientes aspectos en relación con el tumor y la pieza: 1) tipo histológico del tumor y clasificación TNM; 2) Grado Gleason; 3) Volumen o grado de extensión en lóbulos prostáticos 4) focalidad tumoral, identificando el nódulo mayor; 5) localización del tumor y extensión a estructuras vecinas; 6) Unilateralidad o bilateralidad del tumor 7) relación con la cápsula, grasa periprostática, vesículas seminales, plexos neurovasculares, eyaculadores, cuello vesical y ápex; 8) relación del tumor con los márgenes de resección, describiendo la forma de contacto en caso de contacto, y tamaño aproximado.

Se hace la correlación clínico-patológica valorando: 1) Edad con gradación de Gleason y estadio. 2) PSA preoperatorio con la edad del paciente, gradación de Gleason, volumen tumoral, porcentaje tumoral y estadio. 3) Estadio con edad, PSA a los años, gradación de Gleason, volumen tumoral y porcentaje tumoral. 4) Metástasis con grado de Gleason, volumen tumoral, porcentaje tumoral y tratamiento preoperatorio. 5) Mortalidad con grado de Gleason, volumen tumoral y porcentaje tumoral, así como tratamiento preoperatorio 6) Score de Gleason con PSA a los 5 años, estadio, volumen tumoral, porcentaje tumoral, tratamiento preoperatorio; 7) Afectación de márgenes quirúrgicos con grado de Gleason, PSA a los 5 años; 8) Invasión capsular con PSA a los 5 años grado de Gleason 9) Extensión extraprostática con PSA a los 5 años, gradación de Gleason, metástasis y mortalidad. 10) Invasión de vesículas seminales con PSA después de los 5 años y grado de Gleason, 11) Bilateralidad con PSA preoperatorio y grado de Gleason.

3.3.2.3.- ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO.

A partir de inclusiones tumorales en parafina y sobre secciones de 4 micras, se utilizará en todos los casos el siguiente panel de marcadores (biomarcadores) inmunohistoquímicos:

- Marcador de neoangiogénesis tumoral mediante el uso de anticuerpos contra CD 31 (Dako)

CARCINOMA PROSTÁTICA

- Marcadores de proliferación celular del tipo Ki- 67 (Dako).
- Marcador de diferenciación neuroendocrina del tipo cromogranina A (Dako).
- Marcador contra el gen supresor mutado p53 (Dako).
- Marcadores de detección de la oncoproteína inhibidora de la apoptosis bcl-2 (Dako).
- Marcador de factor de crecimiento c-erbB2 (Dako).
- Marcador de moléculas de adhesión de progresión tumoral del tipo E-Cadherina (Dako).
- Marcador diferenciación celular AMACR (Dako).
- Marcador que detecta proteína que procede del gen de supresión tumoral p63 (Dako).
- Marcador de microseminoproteína beta MSMB.

La valoración de los resultados inmunohistoquímicos a efectos pronósticos en los tumores es de tipo semicuantitativo, mediante cuantificación de las células y estructuras.

Se valoran datos clínico-patológicos: PSA a los 5 años, grado de Gleason, metástasis, tratamiento preoperatorio y mortalidad y relacionado con positividad la inmunotinción a los anticuerpos contra: Ki-67, p53, bcl-2, E-cadherina, cromogranina A, AMACR, c-erbB2, CD31, MSMB.

El protocolo inmunohistoquímico utilizado en las técnicas no automatizadas (p63/P504), fue el siguiente.

INMUNOHISTOQUIMIA p63/P504S:

- Fundir la parafina en los portas (hasta 65°C durante 30-60 min).
- Quitar parafina e hidratar, pasando por series de xilol y alcohol, hasta agua.
- Poner en coplin resistente al calor, en solución 10 mM TrisHCl, pH 9.0.

MATERIAL Y MÉTODO

- Meter en olla a presión, en baño de agua que cubra alrededor de la mitad de la altura del coplin. Set temperatura a 123°C y tiempo a 1min. y enjuagar con PBS.
- Poner PBS-0.1% Triton X para permeabilizar los cortes, durante 10 min.
- Lavar brevemente en PBS, y colocar los portas vis-a-vis en rack de incubación capilar, asegurándose que los portas quedan bien alineados.
- Sobre la placa con parafilm, poner 1.5 – 2 ml de anticuerpo primario (diluido 1:100 en PBS-3%BSAazida). Poner el rack con portas sobre el anticuerpo (150ul). Humedecer los papeles de la placa-parafilm, y cubrir todo con una caja limpia. Incubar toda la noche.
- Desmontar los porta y meterlos en PBS. A todo lo largo del proceso, es importante que no se sequen los tejidos. Lavar en PBS 5 min., con agitación.
- Bloqueo de la peroxidasa endógena: tirar PBS, verter metanol-0.3% H₂O₂ en coplin con portas, e incubar 20 min.
- Lavado con PBS, con agitación, 5 minutos, 2 veces y colocar en cámara húmeda.
- Poner anticuerpo secundario (HRP-antiMouse, Dako Envision), suficiente para cubrir el corte, meterlo en cámara húmeda, e incubar durante 30 min.
- Lavado con PBS, con agitación, 5 minutos, 3 veces y colocar en cámara de revelado (DAB).
- Preparar solución de revelado (DAB-Dako: 20 ul de DAB líquida 50X por cada ml de buffer revelado), y pipetear sobre cortes. Esperar 5 min. y meter los portas en agua.
- Contrastar núcleos con hematoxilina Dako, 5 min., lavar con agua grifo, azullear con la misma solución 10 mM TrisHCl pH 9, deshidratar y montar.

CARCINOMA PROSTÁTICA

Tabla 7. Proceso del Autostainer.

Proceso	Nombre	Tiempo de incubación (min)
Lavar	Buffer	0
Enzima bloqueante de peroxidasa	Envision FLEX peroxidasa-blocking reagent	5
Lavar	Buffer	0
Anticuerpo primario	p63/P504s	20
Lavar	Buffer	0
Reactivo secundario (intensificador de anticuerpo)	Envision FLEX + Rabbit/ mouse	15
Lavar	Buffer	0
Sistema de visualización	Envision FLEX /HRP	20
Lavar	Buffer	0
Lavar	Buffer	5
Cromógeno	Diaminobencidina	5
Cromógeno	Diaminobencidina	5
Lavar	Buffer	0
Teñir Hematoxilina-eosina	Envision FLEX hematoxilin	5
Lavar	DI agua	0
Lavar	Buffer	5
Lavar	DI agua	0

MATERIAL Y MÉTODO

Para la detección de los antígenos(p53, Ki-67, E-cadherina, CromograninaA, c-erbB2, BCL-2) se utilizaron anticuerpos comerciales prediluidos (Dako), siguiendo un proceso de inmunotinción similar al descrito previamente, pero automatizado con el procesador "auto stainer" (Tabla 7).

3.3.2.4.- ESTUDIO MOLECULAR:

PCR de tejido y genotipado del polimorfismo del promotor de MSMB (rs10993994) mediante RFLP:

Para genotipar los carcinomas de próstata con respecto al polimorfismo del promotor de MSMB que se ha asociado a variaciones en la expresión del gen, hemos obtenido DNA de los cortes tisulares y este DNA se ha sometido a amplificación por PCR y posterior determinación de la base polimórfica mediante el uso de un enzima de restricción y electroforesis de los productos de digestión. Este tipo de diseño se conoce como PCR-RFLP.

A continuación se describen los pasos fundamentales del proceso.

A) Purificación de DNA de cortes de tejido incluido en parafina:

A partir de bloques de adenocarcinoma de próstata, se obtienen 2 cortes de 10µm.

- Fundir la parafina 58°C durante una hora.
- Desparafinar e hidratar: Xilol 5 min x2, EtOH 100° 5min x2, EtOH 96° 5min x1, EtOH 70° 5min x1, Agua destilada.
- Recoger en tubo de microfuga el material tumoral pipeteando con TENS, hasta 500µl
- añadir 40 µl Proteinasa K 10mg/ml. Incubar a 56°C, durante toda la noche, con agitaciones intermitentes cada 10 minutos.
- inactivar a 90°C, durante 1 hora.
- Añadir Fenol-Cloroformo, 500µl, mezclar bien a mano, hasta que se mezclen las fases.
- Centrifugar a max rpm durante 10 min.
- Pasar fase acuosa (superior), con cuidado de no llevar interfase a tubo de 2 ml

CARCINOMA PROSTÁTICA

- Añadir 50 µl de AcNa y 1500 µl de Etanol abs. Dejar 1 hora a -20°C.
- Centrifugar a max rpm 15 min.
- Tirar sobrenadante. Añadir 500µl de EtOH 70°.
- Centrifugar 5 min.
- Tirar sobrenadante, drenar tubos en papel, quitar gotas de etanol sobre la pared y dejar secar 5-10 min.
- Resuspender pellet en 50ul de TE.

A continuación se mide la concentración de DNA en NanoDrop: hacer blanco con TE, medir la muestra (µl).

2. Amplificación de un fragmento del promotor de MSMB en torno al polimorfismo rs10993994.

La secuencia del promotor del gen MSMB se buscó en bases de datos del genoma, y se posicionó el polimorfismo (SNP) rs10993994 en el contexto nucleotídico siguiente:

CTGAGGCTGT TTCTTTGTGT ATAAAATCGA ATAAGGACAC ATCACGTGCT AGCAATC-CAC

CAGCATAGGG CGAAGGCTCA GCAAAGAGAA GTTCTCTCCT CCTCTGCTCT TTTAGGT-CAG

CAGCAAATGC AGATCGGGGT GGGGACAAGG TAAACACATA ACTTGGGTGG AGATGT-GATT

GATTAATAAC TCATAAATCA TCTGAAACCA TACTTTCCTT TTGATAGTCA ACCCTCTGTA AACACTCAAT GTGTTCTCAC CTTGTTATCA TTCCCAATGA

Y = base polimórfica; puede ser T o C

GTCGAATGCG TGGTTGCCCT CTCCAGTATA AAAGTTTGAT GCAGCTTTGC CTGGATG-TAC

CTGTCTATAA GGAGTCCTGC TTATCACAAT GGTAGGTAAC TGGTTTTATA TATAA-AGGCT

AGAAAAGCAA AAGAGAATAT GTATTCCTAT TTTAATATGC GTGTGCTTCT ACCACA-TAGC

ATTGAATGGT AAATGTGACC TAGTTAGGAA CCTTATGTTA TTACCTGCAA TTCA-ATGTGC

AGAGTATGAG AGTCTGAGAG CTTGCGAAAA TTGTAATGAG TTTAGCACTA

CARCINOMA PROSTÁTICA

PCR: para 20 reacciones de 25 ul

- 300 ul H₂O
- 100 ul 5X polymejor
- 50 ul 10X PCR Bfr (15 mM MgCl₂)
- 20 ul 2.5 mM dNTPs
- 10 ul 25 uM cada primer MSMB-F1 (o F) y MSMB-R1 (o R)
- 1 ul 10 U/ul Taq

aliquotar 30 ul / tubo + 1 ul DNA

- Asegurarse que hay una amplificación robusta, con bandas de 215 bp (primers MSMB-F1/R1) o bien 173 bp (primers MSMB-F/R), corriendo 6 µl de producto de PCR en un gel de acrilamida 5% (ver más abajo).

3. Digestión del producto de PCR del gen MSMB para diagnosticar la presencia del polimorfismo T>C en el promotor del gen.

Digestión: para 20 reacciones de 20 ul

- 372 µl H₂O
- 42 µl 10X Bfr
- 6 µl 10 U/ul Hpy99I (CGWCG)

Alicuotar 10 ul producto PCR por tubo + 10 ul mezcla digestión

Incubación: 37°C, 3 hr.

Electroforesis en geles de acrilamida al 5%:

Se prepara una solución de acrilamida-bisacrilamida (29:1) al 5% en buffer TrisBóricoEDTA (TBE), que se polimeriza en geles verticales con persulfato amónico y TEMED. Los productos de digestión se cargan en los pocillos del gel, junto a un marcador de peso molecular, y se separan por electroforesis en campo eléctrico continuo. Los geles se tiñen con bromuro de etidio (0.5µg/

MATERIAL Y MÉTODO

ml) y se observan y fotografían con luz ultravioleta.

Las bandas esperadas son:

Alelo T (asociado a una actividad baja del promotor, ~13%): 215 bp (F1+R1) o 173 bp (F+R)

Alelo C (actividad normal): 137+78 bp (F1+R1) o 124+49 bp (F+R)

3.2.3.-ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables recogidas se analizaron con el software SPSS 16 para Windows. En una primera fase se computó la estadística descriptiva de las variables, y se realizaron exploraciones sin hipótesis a priori. Los números de casos y los perfiles de las variables no permitieron asumir una distribución normal de las mismas, por lo que se utilizaron test no paramétricos. Las variables cuantitativas se compararon con la U de Mann-Withney, las correlaciones entre variables con la rho de Spearman, y las comparaciones entre variables cualitativas se ejecutaron mediante análisis de tablas de contingencia con el test de Chi-cuadrado o test exacto de Fisher, si existían casillas con valores inferiores a 5.

RESULTADOS

RESULTADOS

Hemos estudiado los siguientes apartados: 1) Aspectos epidemiológicos, clínicos y analíticos de las muestras objeto de nuestro estudio 2) Hallazgos histopatológicos observados en las piezas quirúrgicas 3) Correlación de los hallazgos clínicos y patológicos.

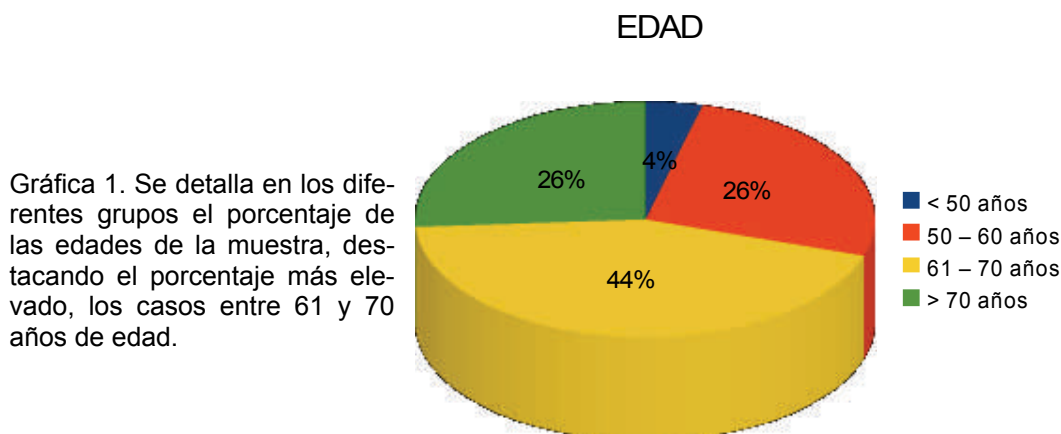
4.1.- ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS Y ANALÍTICOS:

Hemos estudiado los siguientes aspectos:

4.1.1.- LA EDAD:

La edad más joven fue 44 años y la mayor 76 años; la media es de 64.05, siendo la desviación típica, 6.713.

De los 100 casos del estudio, como queda reflejada en la gráfica 1 con menos de 50 años, habían 4 casos; entre 50 y 60 años, se estudiaron 26; entre 60 años, incluido 60 y 70 años habían 44 casos; y con 70 años o mayores de 70 habían 26 casos. El rango de edad más frecuente, como se puede observar en la siguiente figura, lo constituye el grupo entre 60 y 70 años. El 48% de la muestra tiene más de 65 años.



CARCINOMA PROSTÁTICO

4.1.2.- EL PSA PREOPERATORIO:

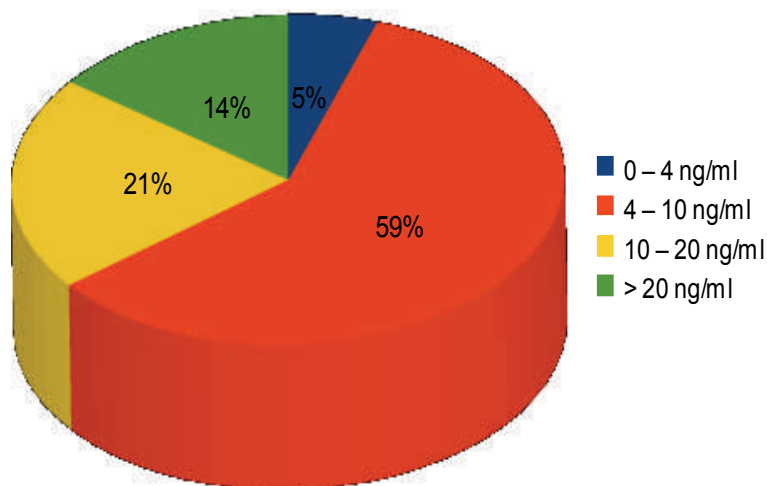
De los 100 casos de nuestro estudio, en 76 casos el valor de PSA preoperatorio estaba disponible. La cifra más baja era de 2,4 ng/ml, siendo la más elevada de 118 ng/ml., con una media de 13.14 y la desviación típica 15.86 (Tabla 8).

TABLA 8. PSA PREOPERATORIO (Estadístico descriptivo)

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típica
PSA PREOPERATORIO	76	2,4	118	13,14	15,86

En función de esta cifra de PSA preoperatoria, se estudiaron 4 grupos diferentes. Uno de ellos fue de 0 hasta 4 ng/l, que eran 4 casos, correspondientes al 5,2% de la muestra; desde 4 hasta 10 ng/ml, en el cual habían 45 casos, siendo el 59,2%; el tercer grupo de 10 hasta 20, se estudiaron 16 casos, correspondiente al 21,2 % de la muestra; y por último, más de 20ng/ml, en el cual habían 11 pacientes, correspondiente al 14,4% (gráfica 2). El rango de cifras de PSA más frecuente fue de 4 hasta 10 ng/ml.

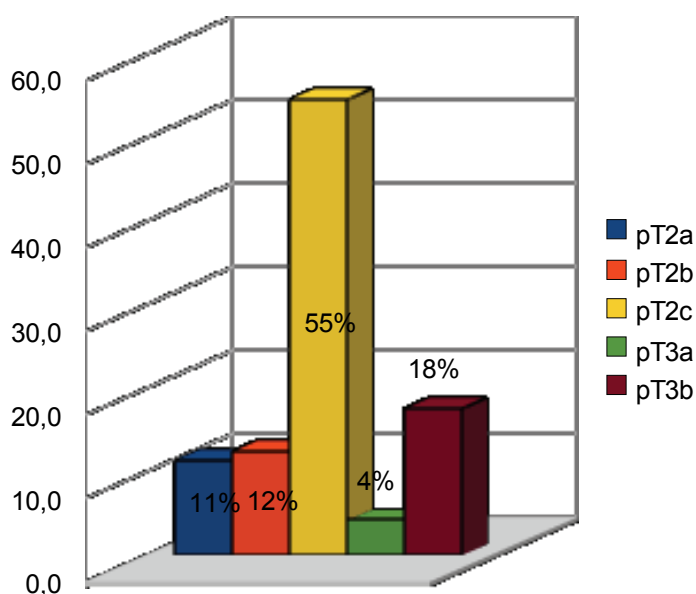
En la gráfica 2 se representa los niveles de PSA antes de la prostatectomía, observando que el rango más frecuente de la muestra es de 4 a 10 ng/ml. Solo el 5% de los pacientes tenían menos de 4 ng/m.



RESULTADOS

4.1.3.- ESTADIO FUNDAMENTADO EN PARÁMETROS PATOLÓGICOS (pT):

De los 100 casos, en tres de ellos no se puede estudiar el estadio, ya que las muestras estaban fragmentadas, lo cual imposibilitaba la correcta estadificación. En los 97 restantes, como se puede comprobar en la siguiente gráfica, se contabilizan con pT2a, 11 casos, correspondientes al 11,3%; pT2b, 12 casos, correspondientes al 12,4%; pT2c: 53 casos, que corresponden al 54,6% (estadio más frecuente); pT3a habían 4 casos que corresponden al 4,2%; y pT3b 17 casos, un 17,5% (Gráfica 3).

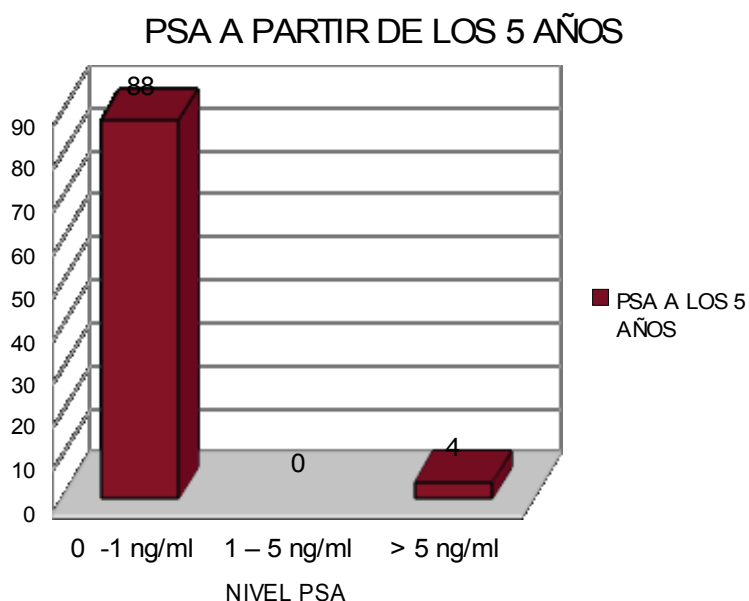


La gráfica 3 representa los diferentes estadios de los pacientes que estudiamos. Destaca que prácticamente 55% de los casos, es pT2c.

4.1.4.- PSA A LOS 5 AÑOS:

Se pudo estudiar las cifras de PSA a los 5 años tras la prostatectomía radical de 92 de los 100 casos, observando en 88 (96,65%) de estos casos el nivel de PSA entre 0 y 1 ng/ml; ningún caso entre 1 y 5 ng/ml; y en 4 (4,35%) casos la cifra de PSA superaba los 5 ng/ml (Gráfica 4), siendo el máximo 284 ng/ml.

CARCINOMA PROSTÁTICO

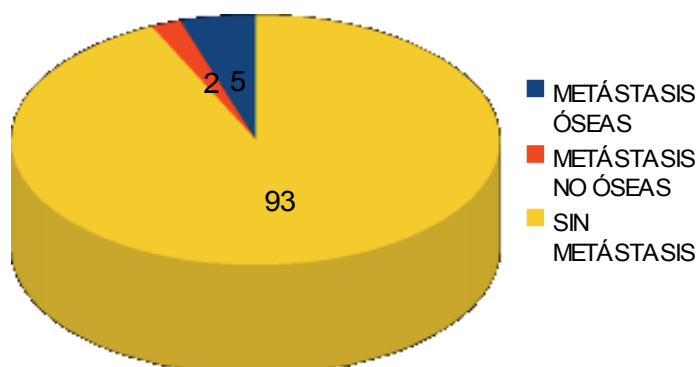


Gráfica 4. Se puede apreciar en esta figura como en 88 casos tienen a los 5 años del diagnóstico entre 0 y 1 ng/ml, y en los 4 restantes, presentan más de 5 ng/ml.

1.5.- METÁSTASIS A DISTANCIA:

Otro de los parámetros clínicos que hemos estudiado es la existencia de metástasis a distancia a los 5 años del diagnóstico (Gráfica 5). De los 100 casos estudiados, se observaron en 5 casos metástasis óseas y en dos metástasis no óseas (hepática y pulmonar). En los 93 restantes, no se detectaron metástasis a distancia.

Gráfica 5. Se puede apreciar en tan solo 7 pacientes que tuvieron metástasis, la mayoría de ellas, metástasis óseas.

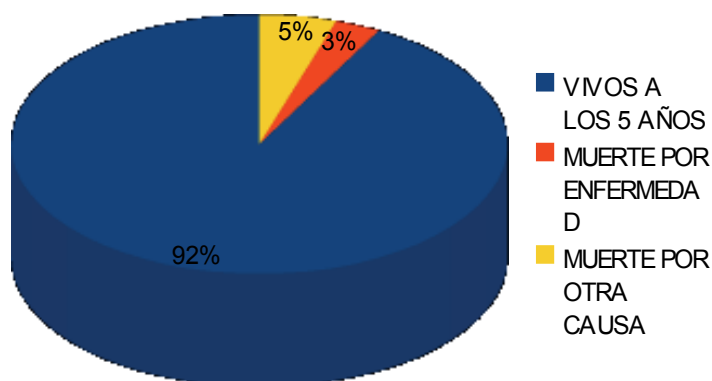


RESULTADOS

4.1.6- MORTALIDAD:

Además, se estudia la mortalidad de los pacientes a los 5 años del diagnóstico. Como se puede comprobar en la figura 6, se advierte que de los 100 casos, antes de los 5 años han muerto 3 de ellos en relación con la enfermedad. Observando que otros 5, han fallecido por causas ajenas a la enfermedad (Gráfica 6)

Gráfica 6. Se expresa el tanto por ciento de los pacientes que han fallecido, por un lado relacionado con la enfermedad (3%) y por otras causas (5%).



4.2.- DATOS PATOLÓGICOS:

Además de los parámetros clínicos, también hemos analizado los siguientes parámetros histológicos.

4.2.1.- GRADACIÓN DE GLEASON:

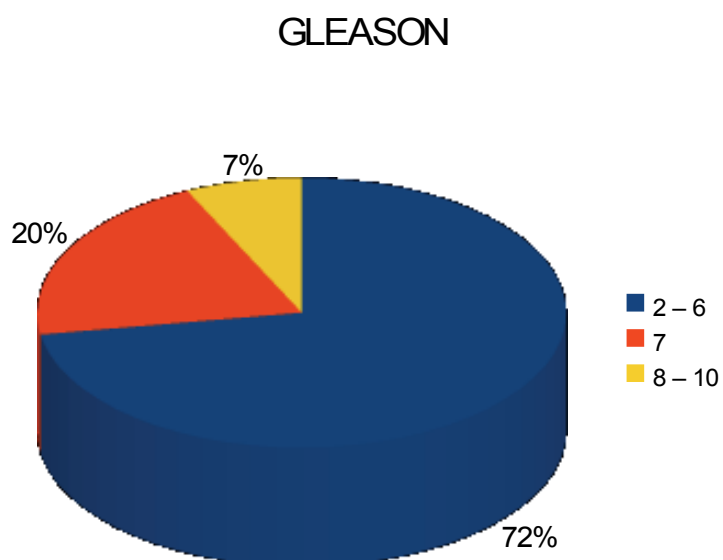
Se realiza una gradación de Gleason en 98 casos, observando 71 casos con grado de Gleason entre 2 y 6; con un Gleason 7, se detectan 20 casos; y con grado Gleason entre 8 y 10, 7 casos. Estos resultados se reflejan en la Tabla 9. Como podemos comprobar en la tabla 9, el porcentaje de casos con Gleason 2 – 6 era 72.4%, con Gleason 7 era 20.4%, y por último con Gleason en-

CARCINOMA PROSTÁTICO

tre 8 y 10 era 7.2 %.

Tabla 9

GLEASON	NÚMERO CASOS (PORCENTAJE)
Gleason 2 - 6	71 (72,4%)
Gleason 7	20 (20,4%)
Gleason 8 - 10	7 (7,2%)



A continuación, se pueden observar diferentes imágenes histológicas de nuestros casos con tinción de Hematoxilina- Eosina, que ponen de manifiesto las características del patrón de gradación Gleason 3, 4 y 5.

RESULTADOS

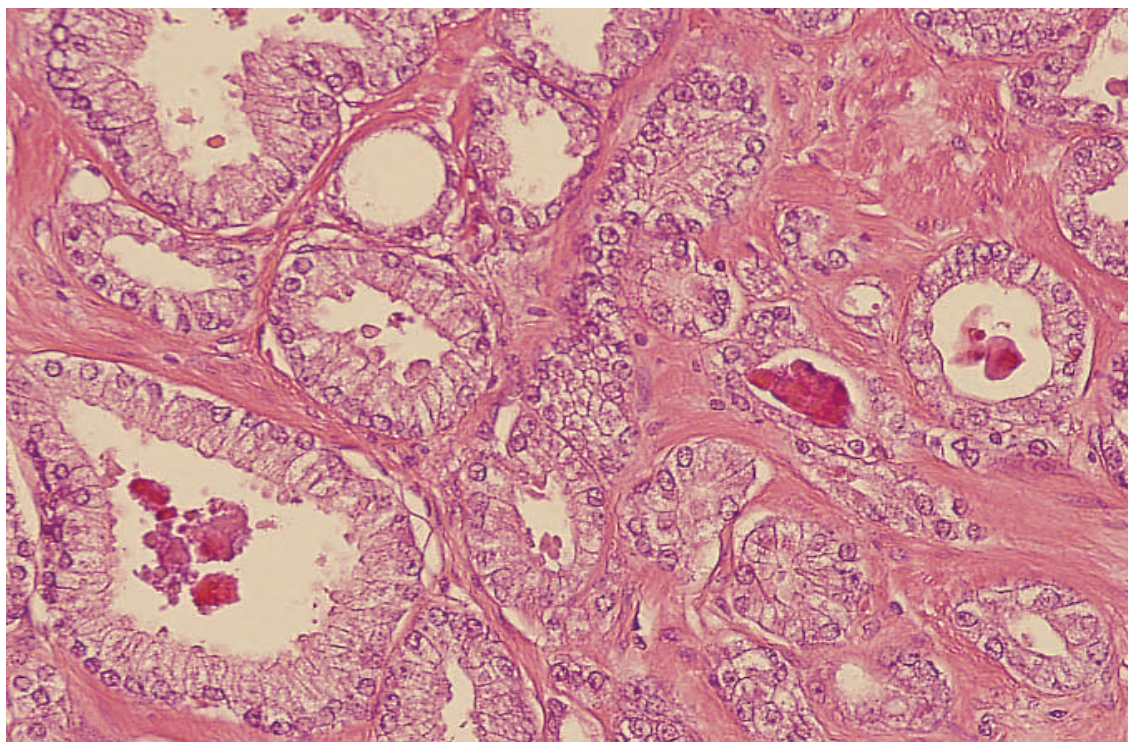


Figura 20. Gleason 3. En este patrón la tumoración presenta un patrón de crecimiento en pequeños acinos. Obsérvese el detalle de material cristalinoide en la luz de algunos de ellos. X200

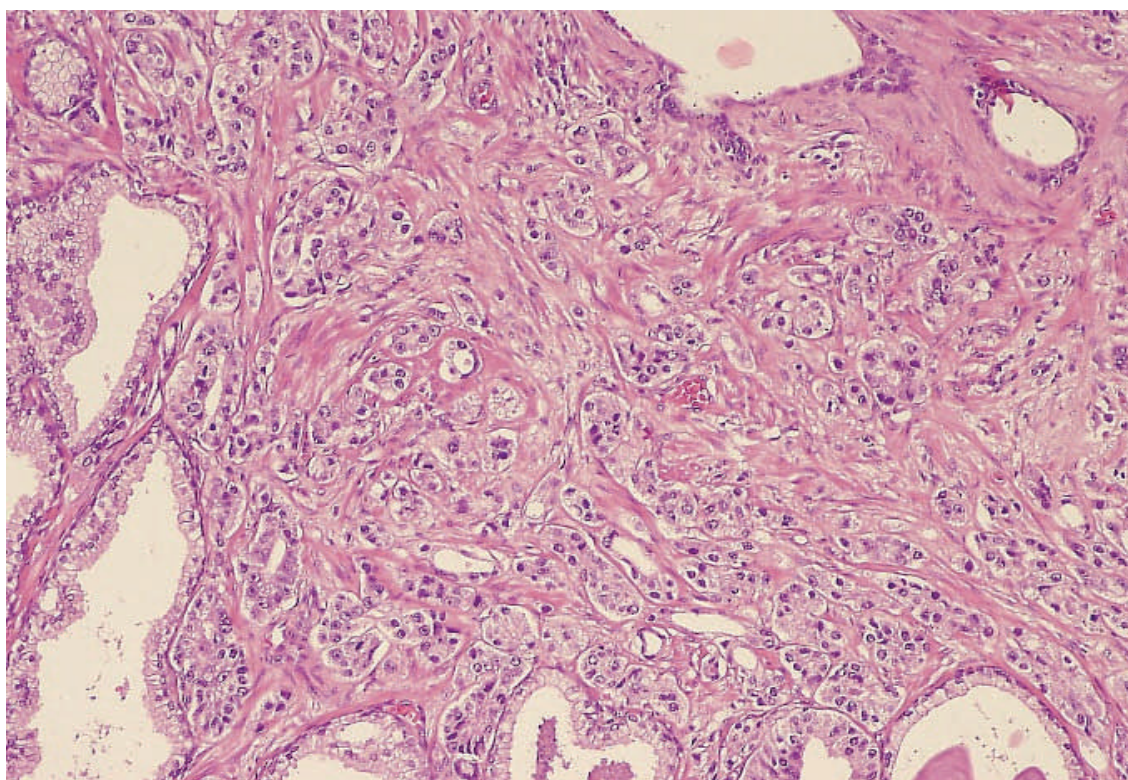


Figura 21 . Otra microfotografía con tinción de Hematoxilina-Eosina donde se puede apreciar esta disposición en acinos de pequeños tamaño, característicos del grado de Gleason 3. X100

CARCINOMA PROSTÁTICO

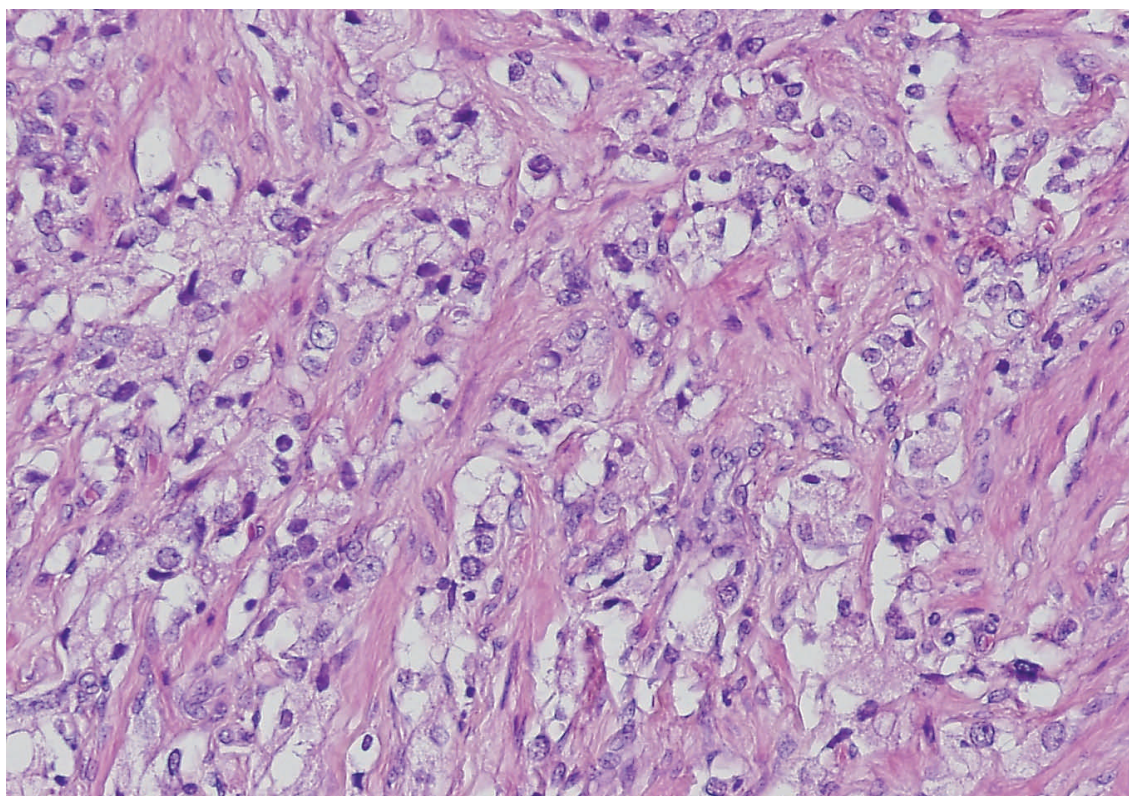


Figura 22. Gleason 4. En esta imagen se pueden apreciar la fusión de los acinos tumorales, así como las atipias citológicas y nucleares de las células. X200

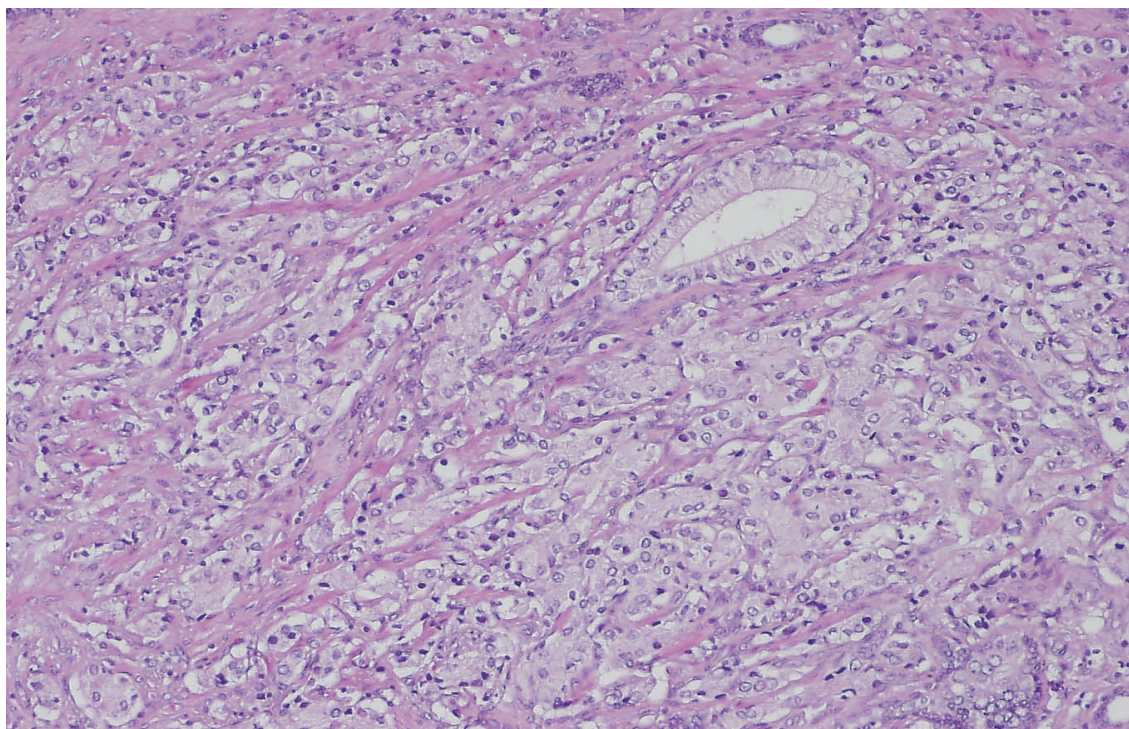


Figura23. Otra microfotografía para apreciar los detalles de esta gradación de Gleason 4 . X100

RESULTADOS

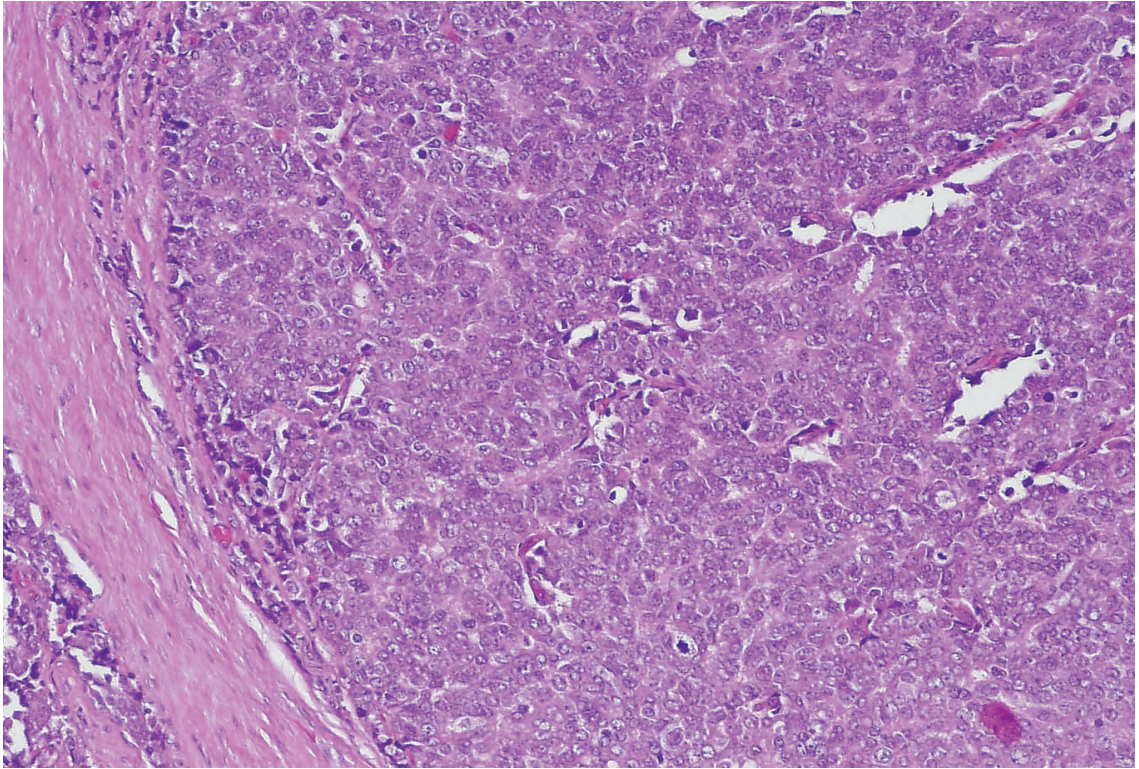


Figura 24. Este caso se corresponde con una forma más indiferenciada, grado de Gleason 5. Observamos un patrón celular sólido con pérdida de la imagen glandular o acinar . X200

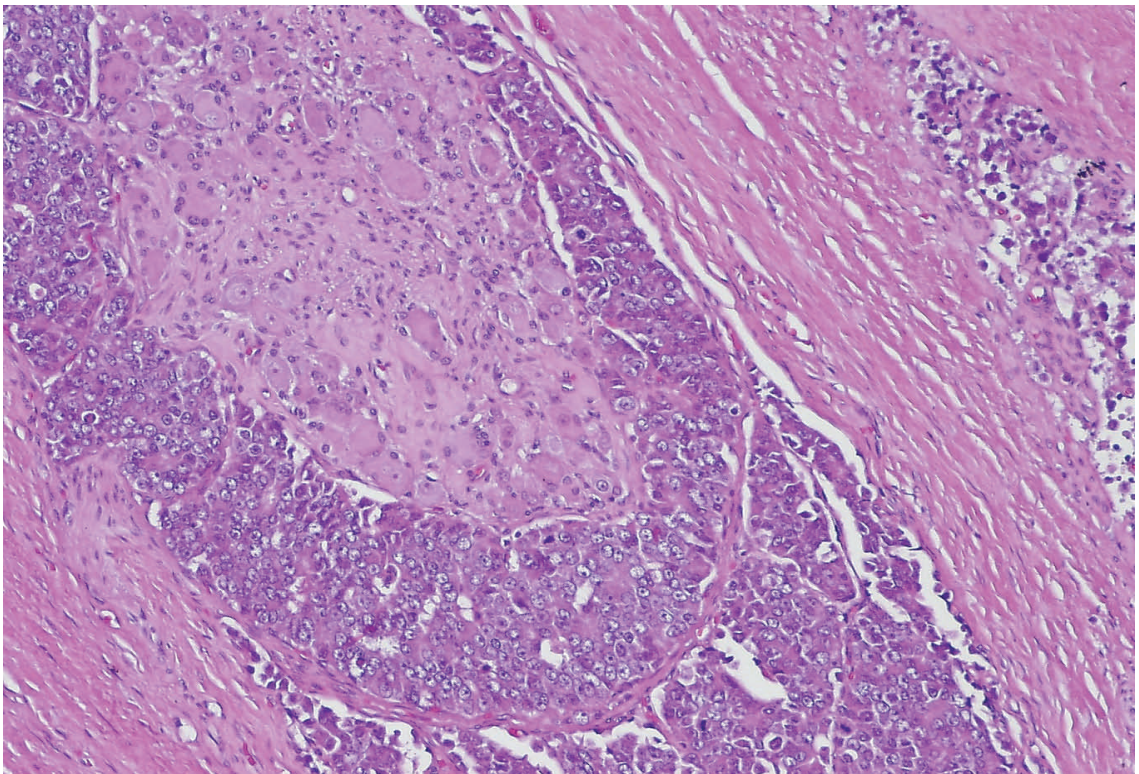
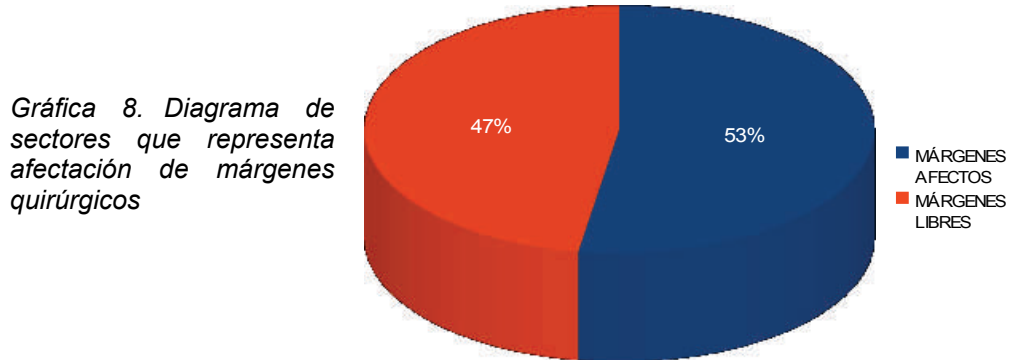


Figura 25. Véase el detalle de la invasión tumoral perineural en un caso con un grado de Gleason 5. X200

CARCINOMA PROSTÁTICO

4.2.2.- MÁRGENES QUIRÚRGICOS AFECTADOS:

Se estudian la afectación de los márgenes quirúrgicos de la muestra, observando afectación de éstos en 53 casos y la no afectación en los 47 restantes. (Gráfica 8).



A continuación se pueden observar varias imágenes de algunos de estos casos donde se aprecia conexión de los acinos tumorales con los bordes quirúrgicos de resección teñidos con tinta china.

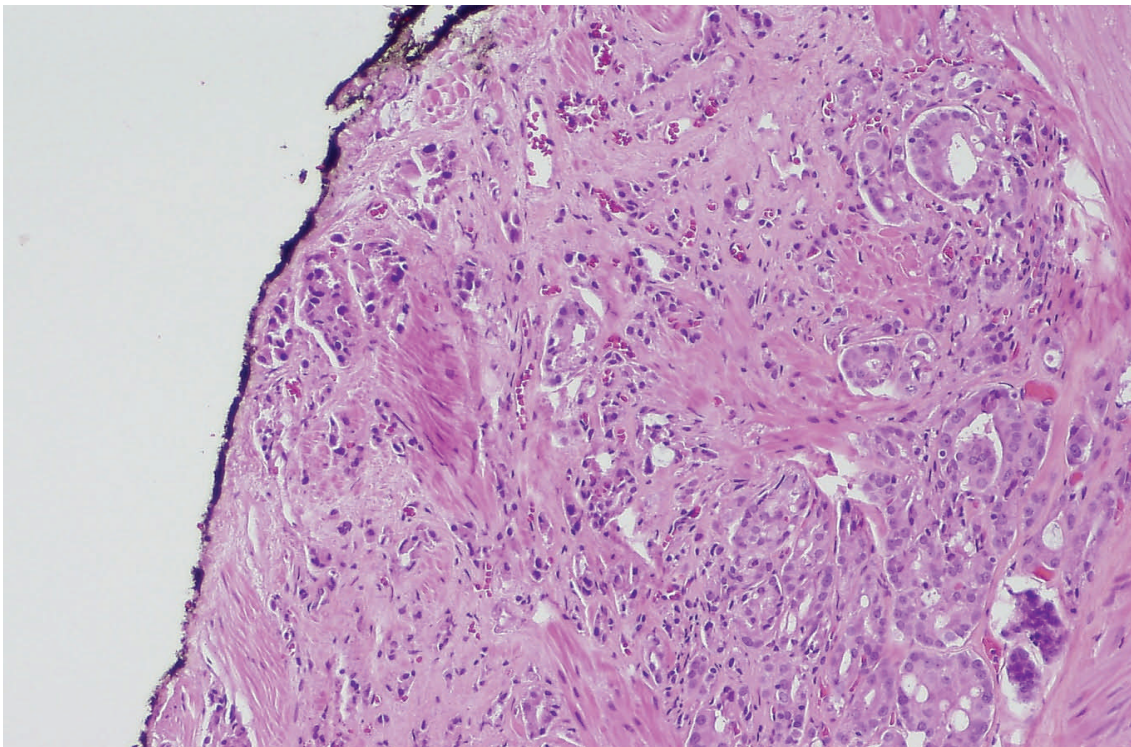


Figura 26. Imagen histológica de adenocarcinoma acinar prostático Gleason 3 donde se puede apreciar el detalle de la afectación de márgenes quirúrgicos por los acinos tumorales, como contactan con la tinta china. X100

RESULTADOS

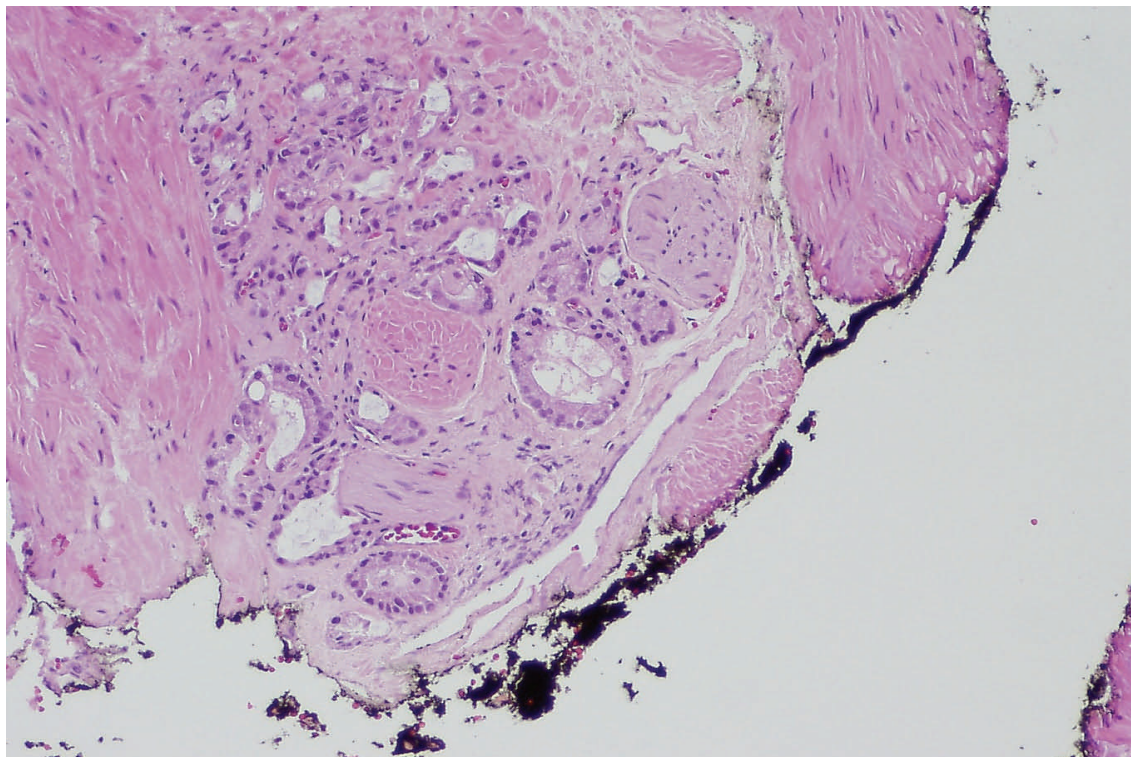
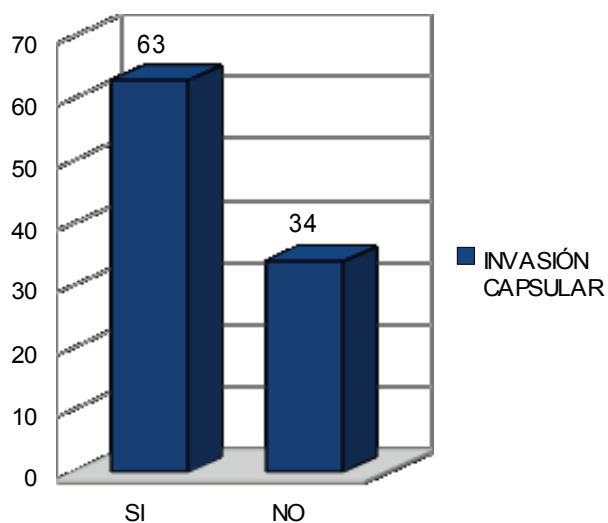


Figura 27. Otra microfotografía con tinción de Hematoxilina-Eosina, con afectación de los márgenes quirúrgicos. Se observa como las glándulas neoplásicas conectan con la tinta chi-

4.2.3.- INVASIÓN CAPSULAR:

De nuestra muestra se pueden estudiar en 97 casos la invasión de la capsular, que eran los que no estaban fragmentados, observando invasión de la misma en 63 de ellos y no invasión capsular en 34 (Gráfica 9).

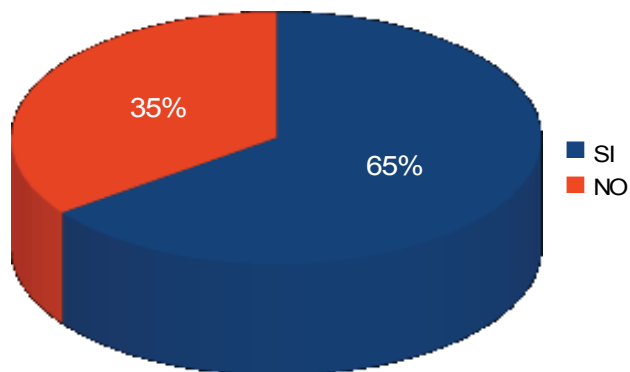


Gráfica 9. Se puede observar la afectación de la cápsula en 34 de los pacientes

CARCINOMA PROSTÁTICO

El porcentaje de los casos en los que se pudo evidenciar invasión de la cápsula fue del 35.1 %, siendo en el 65.1 % de los casos, los que no se observó invasión capsular (Gráfica 10).

Gráfica 10. Se pueden observar como hasta el 35% de los pacientes se observa como la cápsula está afectada por la neoformación



Podemos observar en la siguiente imagen histológica la invasión de la cápsula de algunos de estos casos positivos.

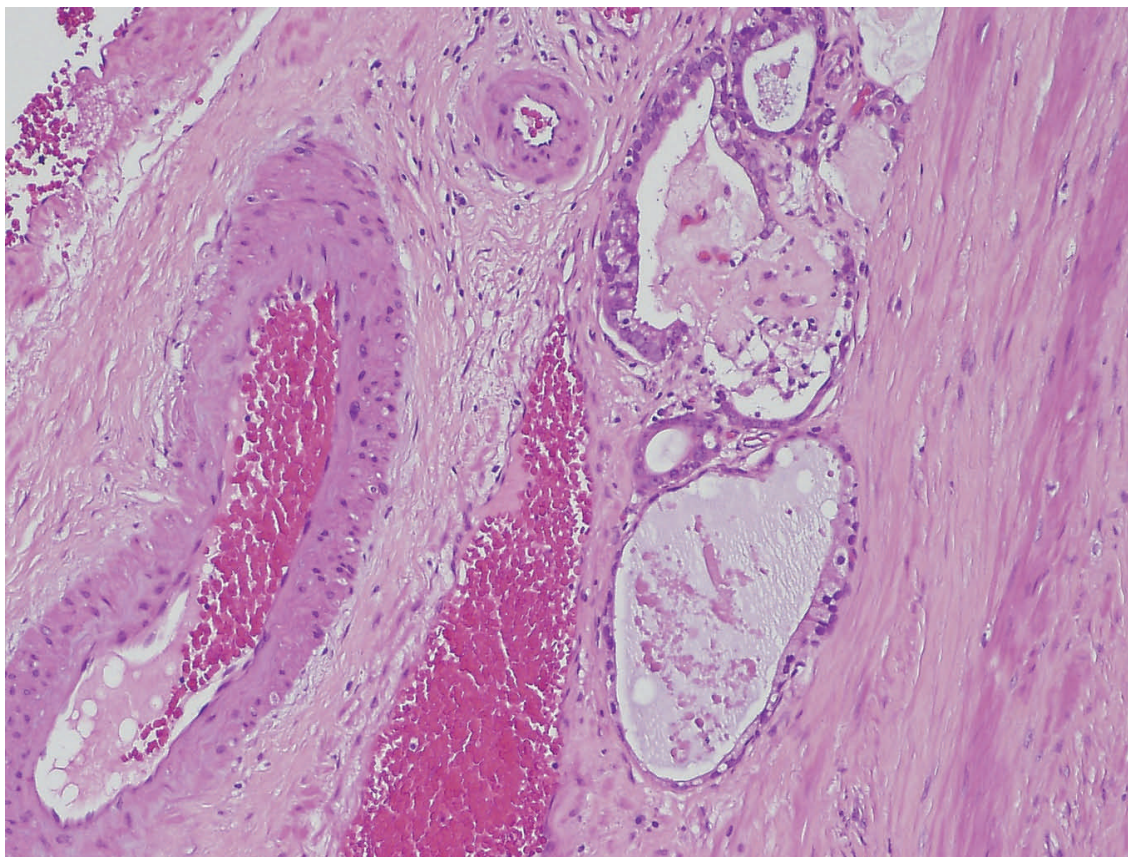
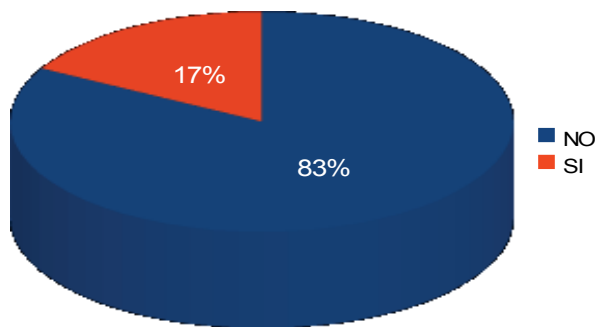


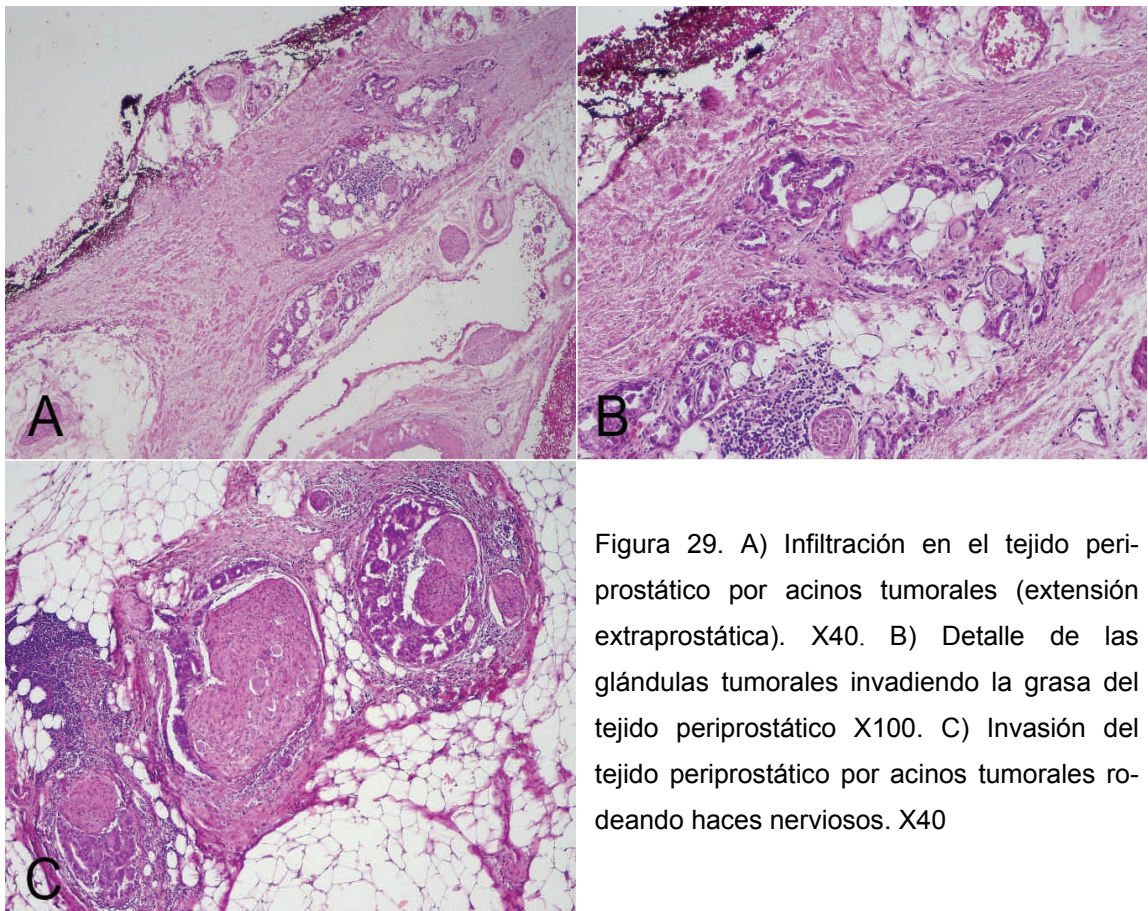
Figura 28. Imagen histológica donde se aprecia con detalle, los acinos tumorales en la cápsula prostática. X 200

4.2.4.- AFECTACIÓN EXTRAPROSTÁTICA:

Se analiza la posible afectación del tejido extraprostático en los 100 casos. Se detectaron en 17 de éstos, extensión extraprostática y, los 83 restantes no se observa afectación de la misma (Gráfica 14).



Gráfica 11. En 83 de los casos no se observa afectación del tejido periprostático, sí en los 17 restantes.



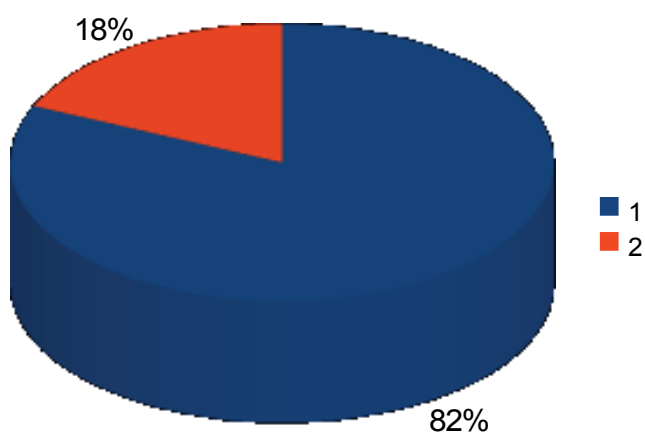
CARCINOMA PROSTÁTICO

4.2.5.- INVASIÓN DE LAS VESÍCULAS SEMINALES:

Se estudia en 98 casos que incluyen las vesículas, si hay afectación de las mismas. En 18 de ellas se observa afectación de una o las dos vesículas; y no afectación de vesículas en 80 casos (Tabla 10), correspondiendo al 18.37% los casos con afectación de las vesículas seminales y en el 81.63%, los casos sin invasión de las vesículas (Gráfica 11).

Tabla 10

Invasión de vesículas seminales	18 (18,4%)
No invasión de vesículas seminales	80 (81,6%)



A continuación presentamos dos imágenes histológicas de uno de estos casos con afectación de las vesículas seminales.

RESULTADOS

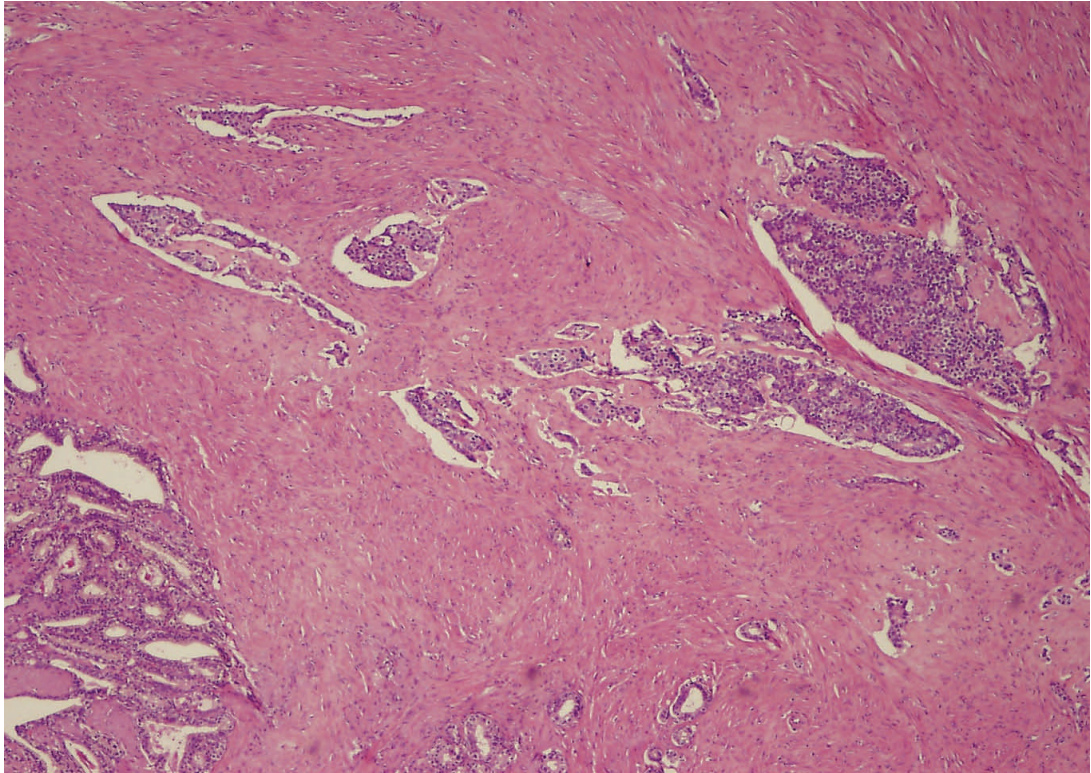


Figura 30 . Microfotografía en la cual podemos apreciar afectación de la pared de las vesículas seminales por acinos tumorales X.40

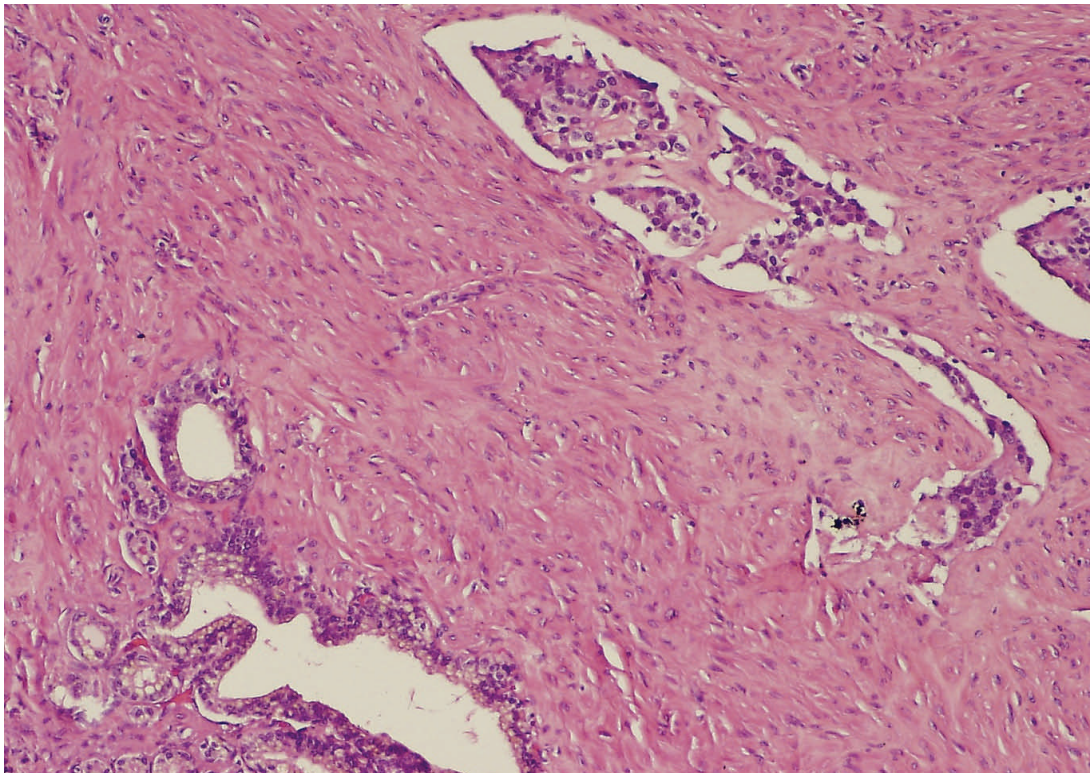
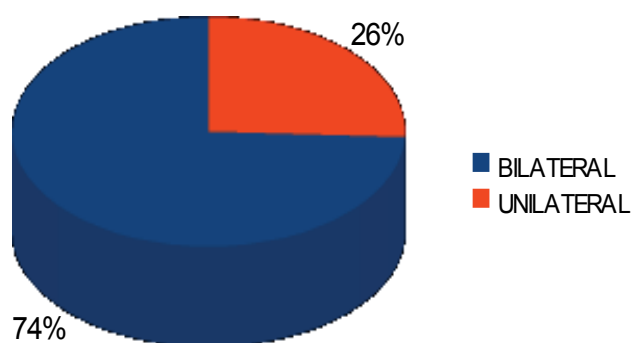


Figura 31 . Imagen con mayor detalle de la afectación de vesículas seminales por los acinos tumorales. X100

CARCINOMA PROSTÁTICO

4.2.6.-AFECTACIÓN UNILATERAL O BILATERAL DE LA PRÓSTATA:

Hemos estudiado la afectación uni o bilateralidad en la próstata. En 3 de los 100 casos no se pudo valorar al estar fragmentada la muestra ya que el tipo de intervención realizado en estos casos no fue una prostatectomía radical, debido a que el diagnóstico de carcinoma prostático fue un hallazgo casual tras una intervención por una hiperplasia benigna prostática. En los 97 casos que se pudo valorar, se observó afectación bilateral en 72 casos y en 25 de ellos, la afectación era unilateral (14 derechas ,11 izquierdas) (gráfica 12).



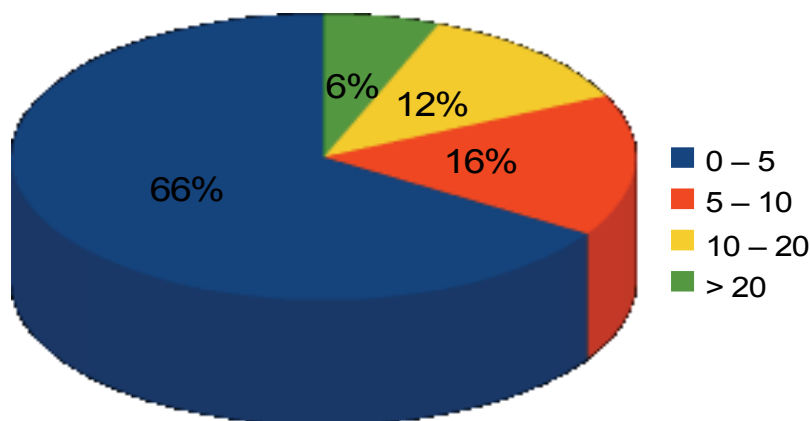
Gráfica 13. En el 72% de los pacientes hay afectación tumoral en ambos hemisferios prostáticos

4.2.7.- VOLUMEN TUMORAL:

Se estudia el volumen tumoral de los 100 casos. Para esto, se ha seguido un cálculo simplificado y aceptado en estudios previos, obteniendo el producto de las medidas de los 2 ejes en milímetros de los focos tumorales , y multiplicado por 3, que correspondería al espesor de la muestra. ($a \times b \times 3$), y el resultado se multiplica por un coeficiente de correlación de 1.5. Haciendo esta operación con todos los focos tumorales de cada caso. El volumen más pequeño fue de 13.5 mm^3 y el mayor de 9544.5 mm^3 . Para su análisis se hacen diferentes grupos: de 13.5 a 1000 mm^3 , se observaron 47 casos, entre $1000 - 2000 \text{ mm}^3$ fueron 26 casos, $2000- 3000\text{mm}^3$, 6 casos, $3000 - 4000 \text{ mm}^3$, se estudiaron 8 casos, entre $4000 - 5000 \text{ mm}^3$, 2 casos, $5000- 6000\text{mm}^3$ se es-

RESULTADOS

tudian 3 casos, entre 6000 – 7000 mm³, hubo 1 caso, 7000 – 8000 mm³ se incluye 1 caso, 8000 - 9000 mm³ también 1 solo caso, y por último de 9000 – 9544.5 mm³, se incluyen 3 casos. A continuación, se calculó el porcentaje del volumen prostático afecto por tumor y se dividió en 4 grupos (gráfica 13): 0 – 5 % se estudiaron 66 casos, entre 5 – 10 % hubo 16 casos, 10 – 20 % se observaron 12 casos, y por último más del 20% del volumen prostático, habían 6 casos.



Gráfica 14. En este diagrama representamos los porcentajes del volumen tumoral. Se observa con el rango más frecuente fue entre el 0 y el 5% del volumen prostático con afectación tumoral, siendo el menos frecuente, más del 20% del volumen total.

4.2.8.-INVASIÓN DE GANGLIOS LINFÁTICOS:

De los 100 casos estudiados tan solo en 58 pacientes se remitieron los ganglios linfáticos. En ninguno de estos casos se observó afectación tumoral linfática (100% no hay afectación).

4.3.- CORRELACIÓN CLÍNICO-PATOLÓGICA:

4.3.1.- EDAD:

Se realizaron estudios de una posible correlación entre la **edad** y las variables de PSA preoperatorio, Gleason y estadio (pT), mediante test no paramétricos

CARCINOMA PROSTÁTICO

(Rho de Spearman) no observando asociación entre ellas como se puede observar en la siguiente tabla (tabla 11):

Tabla 11

EDAD	PSA PREOPERATORIO	GLEASON	ESTADIO
Rho de Spearman	0,120	-0,010	-0,066
P	0,304	0,924	0,520

4.3.2.- PSA PREOPERATORIO:

Se analizó la existencia de una posible correlación entre **PSA preoperatorio** y las variables de edad, grado de Gleason, volumen tumoral, porcentaje tumoral, y estadio pT, utilizando test no paramétricos (Rho de Spearman), resultando estadísticamente significativas las siguientes correlaciones que se representan en la siguiente tabla:

Tabla 12

PSA PREOPERATORIO	EDAD	GLEASON	VOLUMEN TUMORAL	PORCENTAJE TUMORAL	ESTADIO (pT)
<i>Rho de Spearman</i>	0,120	0,542	0,285	0,231	0,417
<i>P</i>	0,304	0,000	0,013	0,046	0,000

Como pueden comprobar en la tabla 12, destaca tanto el grado de Gleason como el Estadio pT, con una correlación muy significativa ($<0,01$) con los niveles de PSA preoperatorio, hecho lógico si consideramos que la producción de PSA es proporcional a la masa tumoral. Además, se advierte una correlación significativa ($<0,05$), tanto con el volumen tumoral como con el porcentaje tumoral.

RESULTADOS

Además, se analiza la posible correlación entre PSA preoperatorio y las variables de mortalidad y metástasis con los test no paramétricos U de Mann-Whitney, no detectando ninguna asociación estadísticamente significativa entre ellas, como se puede comprobar en la siguiente tabla (Tabla 13):

Tabla 13

PSA PREOPERATORIO	MORTALIDAD	METÁSTASIS
<i>U de Mann-Whitney</i>	17,000	181,500
<i>P</i>	0,356	0,618

4.3.3.- ESTADIO:

Se analizó una posible asociación entre **estadio (pT)** y las variables de edad, PSA después de los 5 años, grado de Gleason, volumen tumoral y porcentaje tumoral, utilizando test no paramétricos (Rho de Spearman). Los resultados quedan representados en la siguiente tabla (Tabla 14):

Tabla 14

ESTADIO	EDAD	PSA DESPUÉS DE LOS 5 AÑOS	GLEASON	VOLUMEN TUMORAL	PORCENTAJE TUMORAL
<i>Rho de Spearman</i>	-0,10	0,11	0,436	0,520	0,492
<i>P</i>	0,924	0,268	0,000	0,000	0,000

Como se puede comprobar en esta tabla, tanto el grado de Gleason como el volumen tumoral y porcentaje tumoral, presentan una correlación muy significativa ($<0,01$) con el estadio, hecho razonable si tenemos en cuenta que para estadiar, se valora la "cantidad" de células neoplásicas, por lo que a mayor volumen y porcentaje tumoral, mayor estadio. Indirectamente, esta correlación lógica se puede tomar también como evidencia de que las estimaciones

CARCINOMA PROSTÁTICO

simplificadas de volumen y porcentaje tumoral utilizadas en este trabajo reflejan el parámetro que se desea medir.

4.3.4.- PSA A LOS 5 AÑOS:

Se analizó la existencia de una posible asociación entre **PSA a los 5 años** y las siguientes variables: grado de Gleason, estadio pT, volumen tumoral y porcentaje tumoral, utilizando test no paramétricos (Rho de Spearman), resultando estadísticamente significativas las siguientes correlaciones que se representan en la siguiente tabla (Tabla 15):

Tabla 15

PSA A LOS 5 AÑOS	GLEASON	VOLUMEN TUMORAL	PORCENTAJE TUMORAL	ESTADIO pT
<i>Rho de Spearman</i>	0,542	0,285	0,231	0,417
<i>P</i>	0,000	0,013	0,046	0,000

Destaca tanto el grado de Gleason como el Estadio pT, con una correlación muy significativa ($<0,01$) con los niveles de PSA preoperatorio, hecho lógico si consideramos que la producción de PSA es proporcional a la masa tumoral.

4.3.5.- METÁSTASIS:

Se investigó la posible asociación entre **Metástasis** y las variables de Gleason, volumen tumoral, porcentaje tumoral y tratamiento preoperatorio. Las 3 primeras variables mediante test no paramétricos de Mann – Whitney (Tabla 16) y, el tratamiento preoperatorio (Tabla 17), con Chi-Cuadrado, no detectando asociación entre ellas, como se puede observar en las tablas.

RESULTADOS

Tabla 16

METÁSTASIS	<i>GLEASON</i>	<i>VOLUMEN TUMORAL</i>	<i>PORCENTAJE TUMORAL</i>
<i>U de Mann-Whitney</i>	75,500	307,000	321,000
<i>P</i>	0,090	-250,000	-0,610

Tabla 17

METÁSTASIS	<i>TRATAMIENTO PREOPERATORIO</i>
Chi-Cuadrado	0,189
<i>P</i>	0,663

4.3.6.- MORTALIDAD:

Se analiza la posible asociación entre **Mortalidad** y las variables de Gleason, volumen tumoral y porcentaje tumoral, mediante test no paramétricos de Mann-Whitney, y tratamiento preoperatorio con Chi-Cuadrado no observando correlación entre estas variables. En la tabla 18 y 19 se observan los resultados.

Tabla 18

MORTALIDAD	<i>GLEASON</i>	<i>VOLUMEN TUMORAL</i>	<i>PORCENTAJE TUMORAL</i>
<i>U de Mann-Whitney</i>	75,000	307,000	321,000
<i>P</i>	0,090	0,803	0,952

CARCINOMA PROSTÁTICO

Tabla 19

MORTALIDAD	<i>TRATAMIENTO PREOPERATORIO</i>
Chi- Cuadrado	0,872
P	0,350

4.3.7.- SCORE GLEASON:

Se hizo análisis para comprobar si había correlación entre **Gleason** y las variables de PSA a los 5 años, estadio, volumen tumoral y porcentaje tumoral mediante test no paramétricos con Rho de Spearman (Tabla 20) y con Mann-Whitney para tratamiento preoperatorio (Tabla 21).

Tabla 20

GLEASON	<i>PSA A LOS 5 AÑOS</i>	<i>ESTADIO</i>	<i>VOLUMEN TUMORAL</i>	<i>PORCENTAJE TUMORAL</i>
Rho de Spearman	0,119	0,436	0,360	0,316
P	0,268	000	0,002	0,002

Tabla 21

GLEASON	<i>TRATAMIENTO PREOPERATORIO</i>
U de Mann-Whitney	695,000
P	0,603

Es notable una asociación muy significativa ($P < 0,01$) entre el puntaje de Gleason y las variables de estadio, volumen tumoral y porcentaje tumoral como se puede comprobar en la tabla 20.

RESULTADOS

4.3.8.- AFECTACIÓN DE MÁRGENES QUIRÚRGICOS:

Se analiza la posibilidad de correlación entre **márgenes quirúrgicos** afectos y las variables de Gleason y PSA a los 5 años, utilizando test no paramétricos de Mann-Whitney, no advirtiéndose asociación entre dichas variables, como se observa en la tabla 22.

Tabla 22

MÁRGENES QUIRÚRGICOS	GLEASON	PSA DE LOS AÑOS
U de Mann-Whitney	933,000	834,5
P	-1,629	-1,33

4.3.9.- INVASIÓN CAPSULAR:

Utilizando test no paramétricos de Mann-Whitney, se analiza la posible correlación entre **invasión capsular** y las variables de Gleason y PSA después de los 5 años, no observándose asociación entre Invasión capsular y PSA después de los 5 años, pero resultando estadísticamente significativas la correlación Invasión capsular y Gleason, siendo muy significativa ($P= 0,000$) (Tabla 23). Tal hecho podría interpretarse como que a peor grado de diferenciación (Gleason más alto) del carcinoma, mayor agresividad, y por tanto, más probabilidad de invasión capsular.

Tabla 23

INVASIÓN CAPSULAR	GLEASON	PSA a los 5 años
U de Mann-Whitney	638,500	837,500
P	0,000	0,566

CARCINOMA PROSTÁTICO

4.3.10.- EXTENSIÓN EXTRAPROSTÁTICA:

Se realiza estudio para detectar una posible correlación entre **Extensión Extraprostática** con PSA a los 5 años, Gleason, Metástasis y Mortalidad. Con PSA a los 5 años y Gleason se utilizan test no paramétricos de Mann-Whitney, observando en ambos casos una correlación muy significativa ($P < 0,01$), como se muestra en la siguiente tabla (Tabla 24).

Tabla 24

EXTENSIÓN EXTRAPROSTÁTICA	<i>PSA A LOS 5 AÑOS</i>	<i>GLEASON</i>
U de Mann-Whitney	126,000	424,000
P	0,001	0,009

En cambio, no se detecta correlación con Metástasis y Mortalidad. Para ello, se utilizaron test Chi-Cuadrado (tabla 25)

Tabla 25

EXTENSIÓN EXTRAPROSTÁTICA	<i>METÁSTASIS</i>	<i>MORTALIDAD</i>
Chi-Cuadrado	0,023	0,655
P	0,880	0,418

4.3.11.- INVASIÓN DE VESÍCULAS SEMINALES:

Se realiza estudio entre **Invasión de Vesículas Seminales** y las variables de PSA después de 5 años y Gleason, mediante test no paramétricos (U de Mann-Whitney), y al igual que ocurre con invasión capsular, no se detecta asociación con PSA después de 5 años, pero sí correlación muy significativa con Gleason ($P < 0,01$) (Tabla 26). Probablemente debido a que una peor gradación de Gleason refleja más agresividad, por lo que es más probable que invada las vesículas seminales.

RESULTADOS

Tabla 26

INVASIÓN CAPSULAR	<i>PSA DESPUÉS DE LOS 5 AÑOS</i>	GLEASON
U de Mann-Whitney	527,500	382,500
P	0,568	0,000

4.3.12.- BILATERALIDAD:

Se estudia la correlación entre la **afectación uni o bilateral** de la próstata con las variables de Gleason y PSA preoperatorio, realizando test no paramétricos de Mann-Whitney, no observando asociación entre la bilateralidad y PSA preoperatorio. En cambio, sí se detecta asociación estadísticamente significativa con Gleason, teniendo una P de 0,026. (Tabla 27)

Tabla 27

AFECTACIÓN UNILATERAL O BILATERAL	PSA PREOPERATORIO	GLEASON
U de Mann-Whitney	-377,0000	615,0000
P	0,1310	0,0260

4.3.13.- VOLUMEN TUMORAL:

Por último, se estudia una posible correlación entre el **volumen tumoral** con PSA a los 5 años y gradación de Gleason, realizando test no paramétricos con la Rho de Spearman, no observando asociación entre el volumen y PSA a los 5 años, pero sí, una asociación estadísticamente significativa con la gradación de Gleason (Tabla 28). Además, se estudia la correlación entre el vo-

CARCINOMA PROSTÁTICO

lumen tumoral con márgenes quirúrgicos, invasión de la cápsula, extensión prostática, Mortalidad y Metástasis mediante la U de Mann-Whitney, detectando correlación entre el volumen tumoral y afectación de márgenes, invasión capsular y extensión extraprostática, datos que se muestran en la siguiente tabla (Tabla 29 y 29'), estos tres últimos con una asociación estadística muy significativa.

Tabla 28

VOLUMEN TUMORAL	<i>PSA A LOS 5 AÑOS</i>	<i>SCORE GLEASON</i>
Rho de Spearman	0,080	0,306
P	0,248	0,002

Tabla 29

VOLUMEN TUMORAL	<i>MÁRGENES QUIRÚRGICOS</i>	<i>INVASIÓN CAPSULA</i>
U de Mann-Whitney	787,500	410,000
P	0,005	0,000

Tabla 29'

VOLUMEN TUMORAL	<i>EXTENSIÓN EXTRAPROSTÁTICA</i>	<i>MORTALIDAD</i>	<i>METÁSTASIS</i>
U de Mann-Whitney	217,500	89,000	307,000
P	0,000	0,254	0,803

RESULTADOS

4.4.- PARÁMETROS INMUNOHISTOQUÍMICOS:

Se realizan a los 100 casos que estamos estudiando diferentes técnicas de inmunohistoquímica. Como marcador de proliferación celular se utilizó **Ki-67**; se analizó la expresión de **p53** y **p63** principales genes supresores tumorales; **BCL-2**, oncoproteína antiapoptótica; **AMACR**, que está expresada en la mayoría de los carcinomas prostáticos; **E-Cadherina**, una molécula de adhesión transmembrana en las células epiteliales, la disfunción de esta vía está afectada en la invasión y progresión tumoral; **Cromogranina A**, que confirma un origen neuroendocrino. Se realiza también inmunorreacción para **c-erbB2**, que es una oncoproteína de la familia del receptor de EGF. Además, el **CD 31** como marcador de células endoteliales.

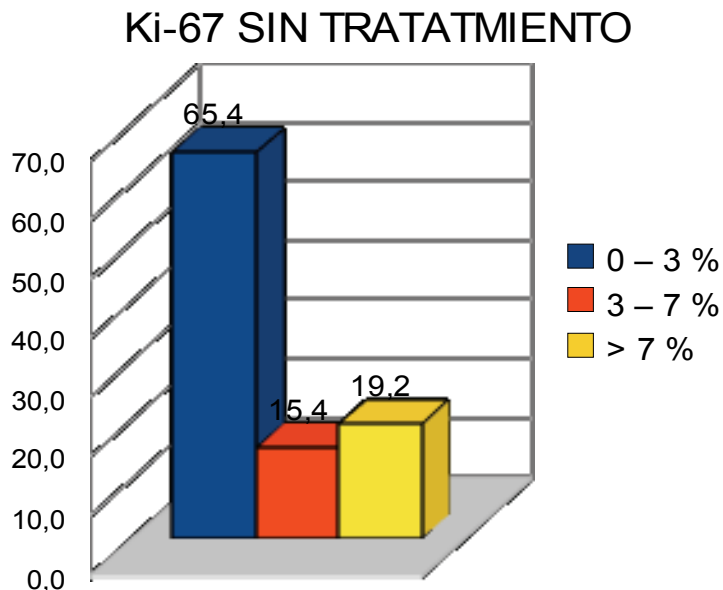
Se estudian los resultados de las técnicas de inmunohistoquímica en dos grupos. Por un lado, los casos que no han recibido tratamiento neoadyuvante que son 78 casos y, por otro, los que han recibido ningún tipo de tratamiento antes de la prostatectomía radical, son los 22 casos restantes.

4.4.1.- EXPRESIÓN DE KI-67:

Se realiza técnica de Ki-67 para cuantificación del índice proliferativo celular cuyo resultado se expresa en porcentaje. Diferenciamos tres grupos, tanto en casos con tratamiento previo a la intervención quirúrgica, como en los que no se realiza tratamiento previo: un grupo que oscilaba entre 0 y el 3% de proliferación, otro entre el 3% y el 7 % (≥ 3 y < 7) y por último, uno con más del 7% (≥ 7).

En los 78 casos de prostatectomía sin tratamiento neoadyuvante, como se puede apreciar en la gráfica 15, se advierte que 51 casos, que corresponde a un 65,4 %, tienen expresión de Ki67 entre 0 y 3 % de las células tumorales; con niveles de expresión entre el 3% y el 7 %, habían 12 casos, correspondientes a un 15,4 %; y por último, con más de un 7% de índice proliferativo, eran 15 casos, que son un 19,2 % de las muestra.

CARCINOMA PROSTÁTICO



Gráfica 15. Se observa que el Ki-67 entre 0% y 3% en la población tumoral, fue el rango más frecuente de la muestra, en torno al 65%.

Se presentan las imágenes histológicas con los resultados de inmunohistoquímica para Ki-67 en aquellos casos que no fueron sometidos a tratamiento antes de la prostatectomía.

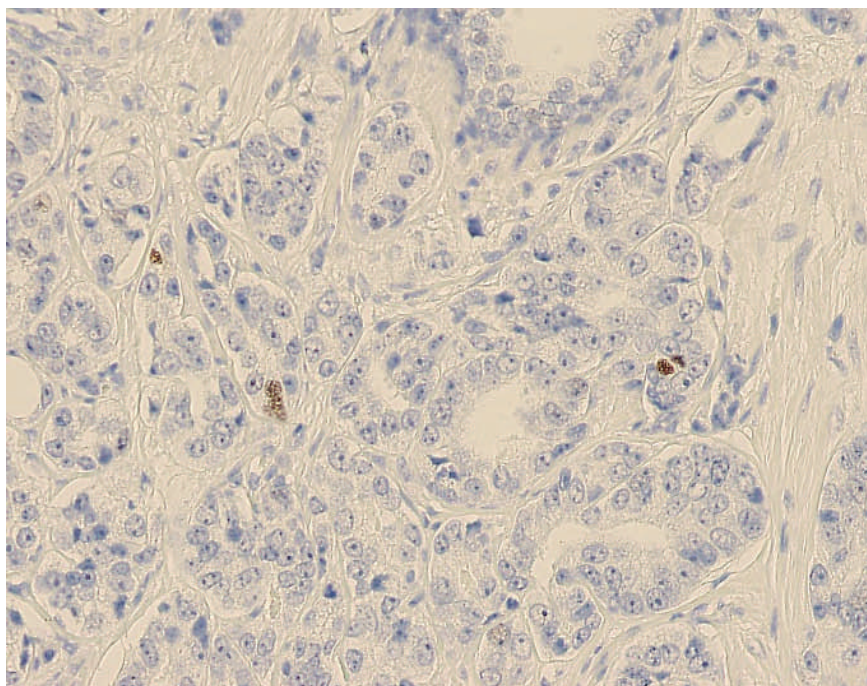


Figura 32: Tinción con Ki-67: 0 - 3 % . Podemos observar con esta técnica inmunohistoquímica, ocasional positividad en los núcleos tumorales, que no supera el 3% de las células tumorales. X100

RESULTADOS

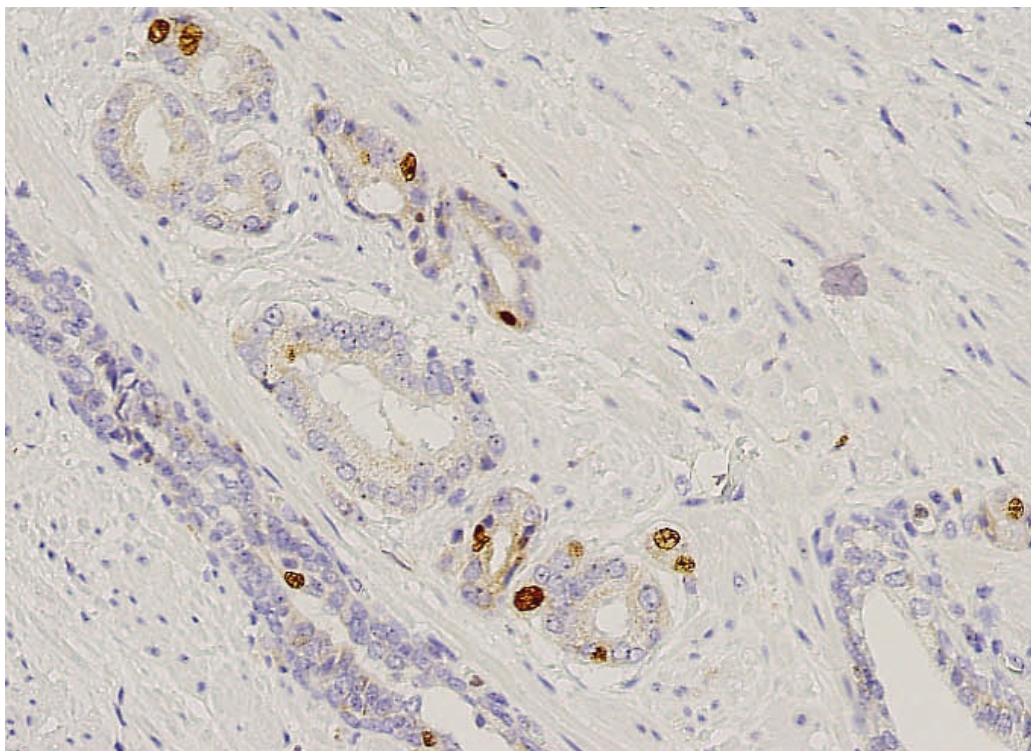


Figura 33. Tinción ki-67: 3% - 7%. Microfotografía donde se puede apreciar en las células tumorales inmunorreacción nuclear característica entre el 3% y el 7%. X100.

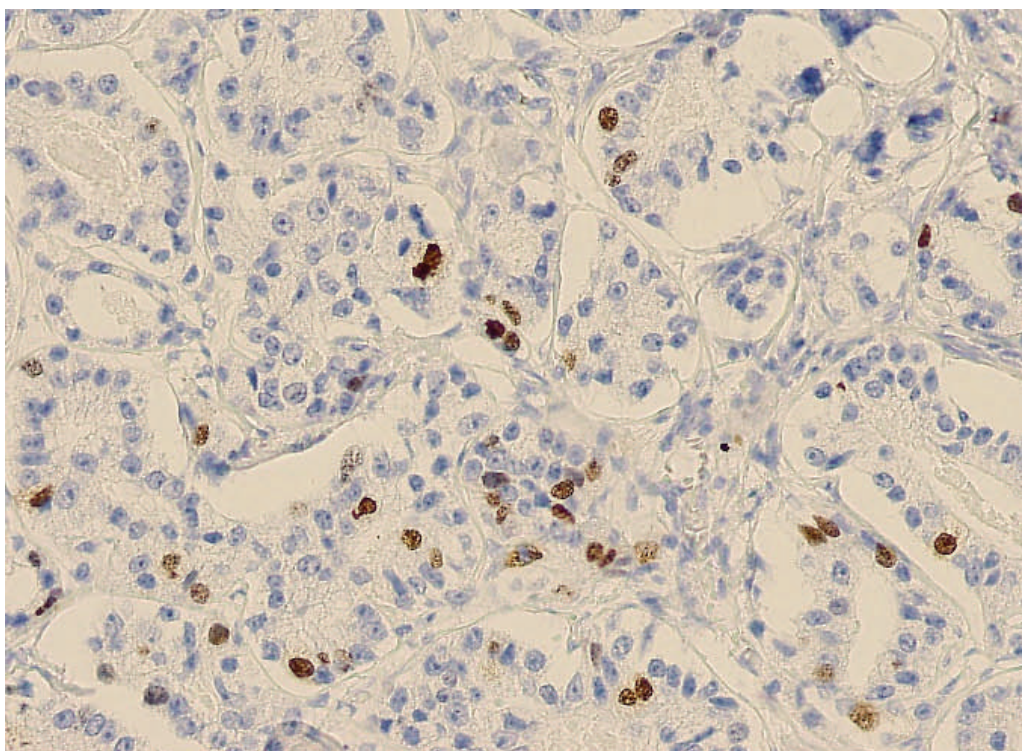
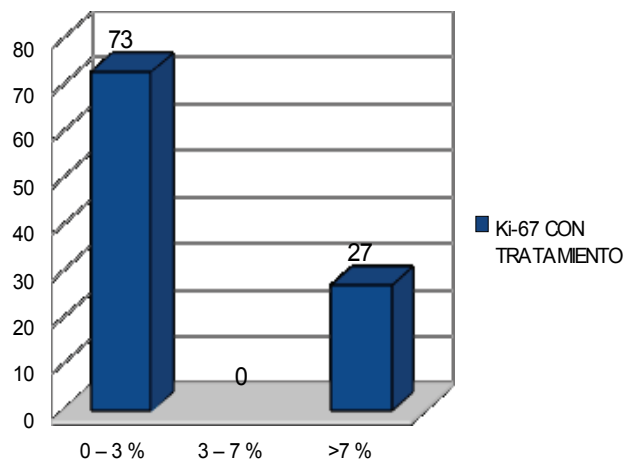


Figura 34. Tinción Ki-67: > 7% . En esta imagen histológica se puede observar inmunotinción en los núcleos tumorales evidente positividad. La positividad con esta técnica supera el 7% de las células tumorales. X200.

CARCINOMA PROSTÁTICO

En los 22 casos que las próstatas habían sido sometidas a tratamiento previo a la extirpación quirúrgica, se observa que tienen expresión Ki-67 inferior al 3% (≥ 0 y < 3) 16 casos, correspondientes al 72,73%; entre el 3% y 7% (≥ 3 y ≤ 7) no se descubre ningún caso; y con más del 7% (> 7) de índice proliferativo, eran los 6 casos restantes, que constituyen el 27,27 % de los 22 casos (Gráfica 16).

Gráfica 16. En este diagrama se presenta en porcentaje los rangos de inmunotinción con Ki-67 en aquellos que habían recibido tratamiento previo a la intervención quirúrgica.



Podemos ver a continuación, diferentes imágenes histológicas con la tinción inmunohistoquímica de Ki-67 en aquellos pacientes con tratamiento al quirúrgico

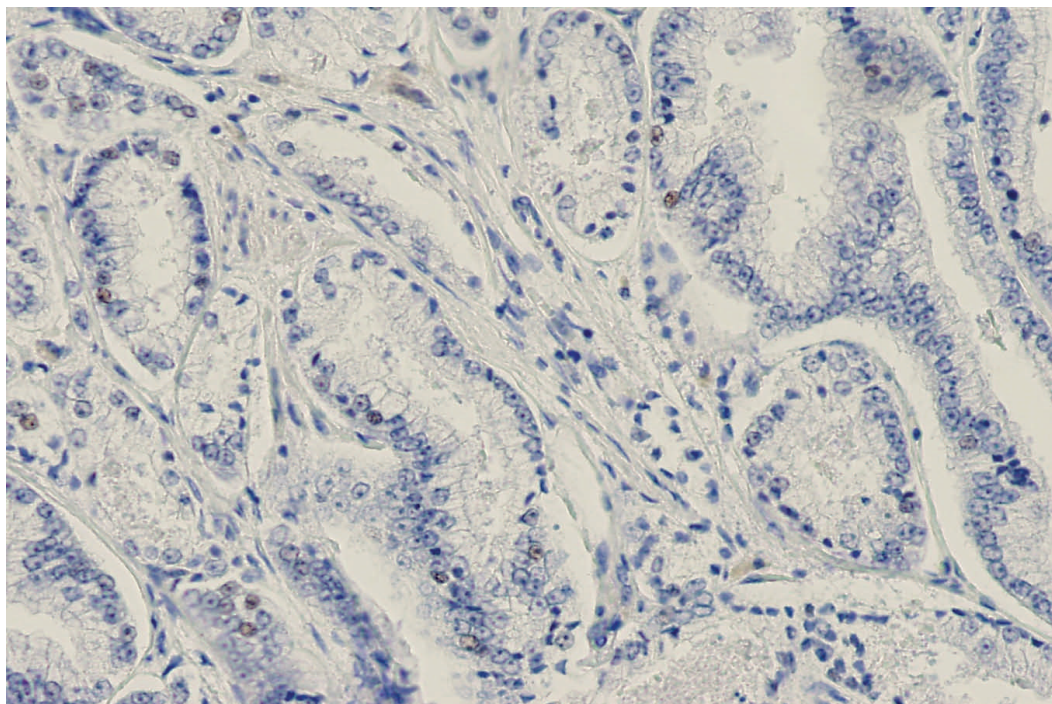


Figura 35. Ki-67: Entre 0% y el 3% de las células tumorales ofrecen inmunorreacción con este marcador inmunohistoquímico. X200

RESULTADOS

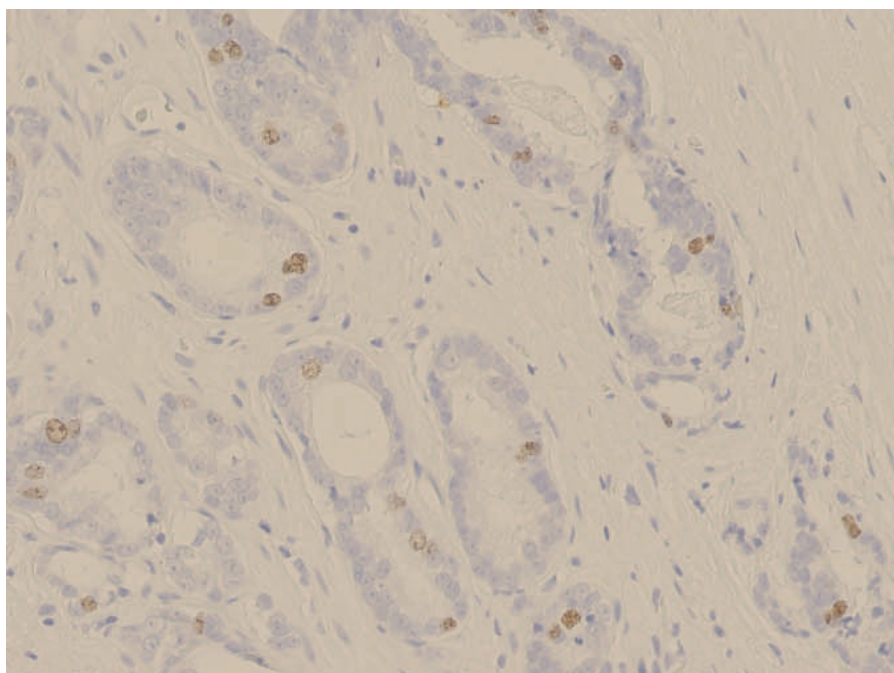
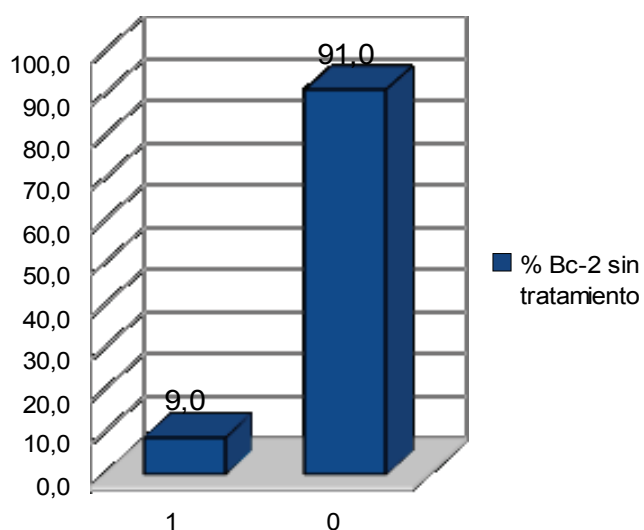


Figura 36. Ki-67: > 7%. Con esta tinción inmunohistoquímica se observa en más del 7% de los acinos tumorales, inmunorreacción en los casos con tratamiento previo a la prostatectomía. X200

4.4.2.- EXPRESIÓN DE BCL-2:

Bcl-2 muestra una tinción citoplasmática. Como se puede observar en el gráfica 17, diferenciamos dos grupos; por un lado, los casos que no se demostró tinción y, por otro, los que sí se demostró tinción. En primer lugar en los 78 casos sin tratamiento previo, no se observó tinción Bcl2 en 71 de ellos, que representan el 91%, y sí hay expresión en 7 casos, que son el 9%.



Gráfica 17. Representa el porcentaje de inmunotinción con Bcl-2, observando como tan solo el 9% de los pacientes presenta dicha tinción inmunohistoquímica

CARCINOMA PROSTÁTICO

Presentamos varias microfotografías de estos dos tipos de inmunorreacción con bcl-2 en los casos sin tratamiento previo a la intervención quirúrgica.

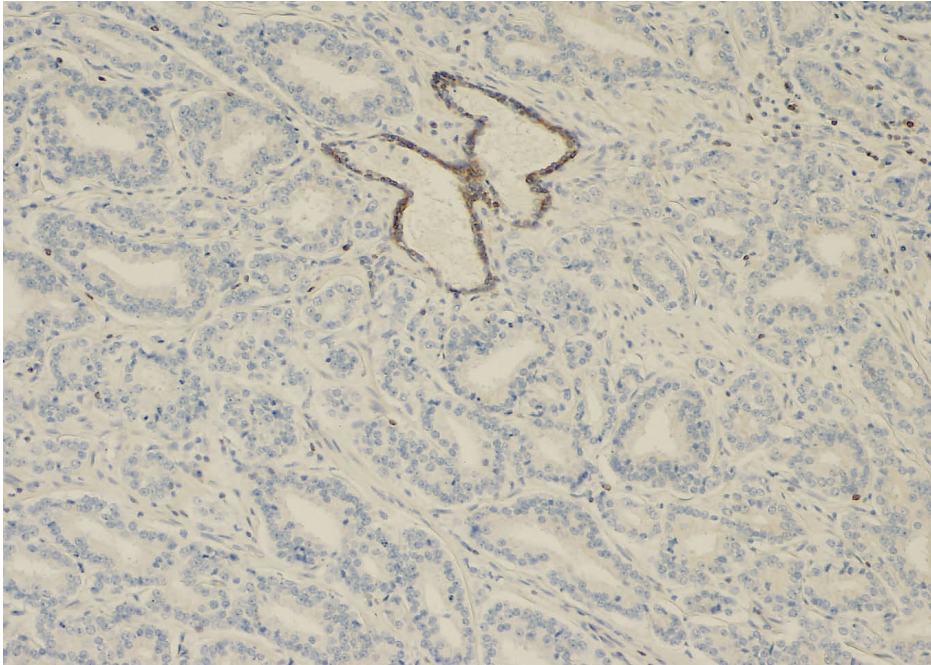


Figura 37 . Bcl-2 negativo. No se advierte inmunorreacción con este marcador en los acinos tumorales. En cambio se puede observar la expresión de este marcador en el citoplasma de las células basales en el tejido glandular benigno. X100

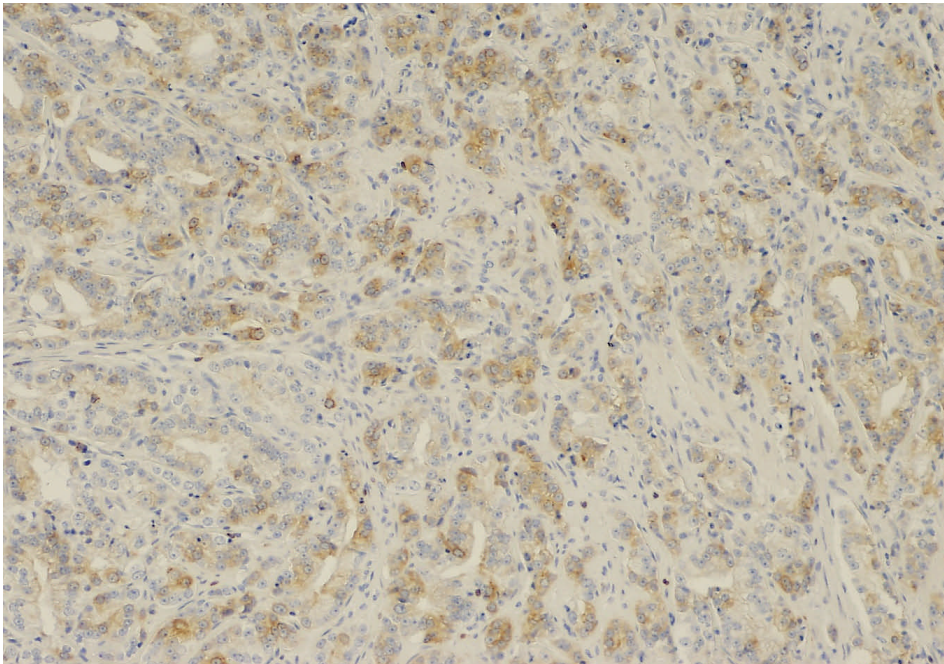
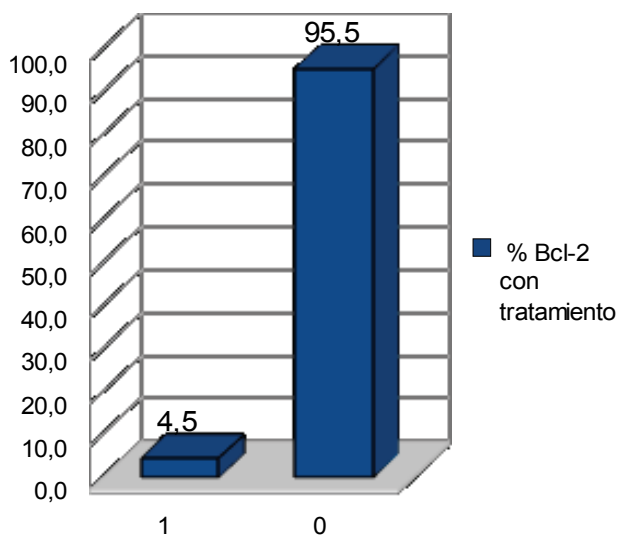


Figura 38 . Bcl-2 positiva. Se puede observar en este caso, como en la práctica totalidad de los acinos tumorales hay positividad citoplasmática para este marcador inmunohistoquímico. X100

RESULTADOS

Para estudiar los resultados en los 22 casos que tienen tratamiento previo a la prostatectomía, también se diferencian dos grupos: en los que se demuestra inmunorreactividad y los que no se demuestra reactividad inmunohistoquímica. Son negativos 21 casos, correspondientes al 95,5% y es positivo un solo caso, que se trata del 4,5% (Gráfica 18).



Gráfica 18. Se aprecia como en los pacientes con tratamiento neoadyuvante el 4,5% presenta inmunorreacción con Bcl-2

Al igual que con los pacientes sin tratamiento previo a la prostatectomía, presentamos las imágenes de casos tanto sin inmunorreacción, como con inmunorreacción con bcl-2.

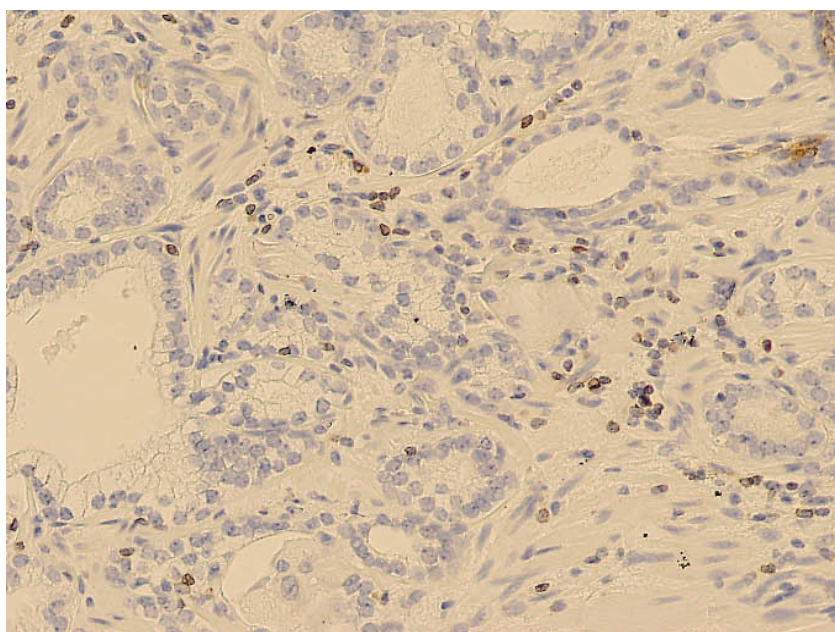


Figura 38. Bcl-2 Negativo. No se detecta tinción inmunohistoquímica para Bcl-2 en las glándulas tumorales en el único paciente con tratamiento preoperatorio. X200

CARCINOMA PROSTÁTICO

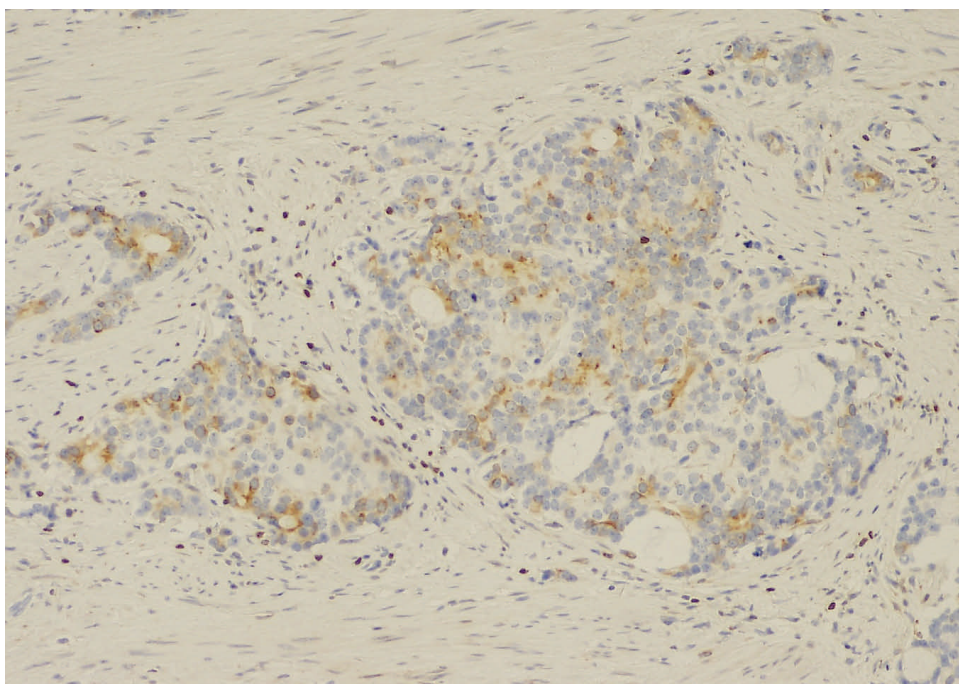


Figura 39. Bcl-2 positivo. Se puede observar positividad citoplasmática en las células prostáticas tumorales. X100

4.4.3.- EXPRESIÓN DE p53:

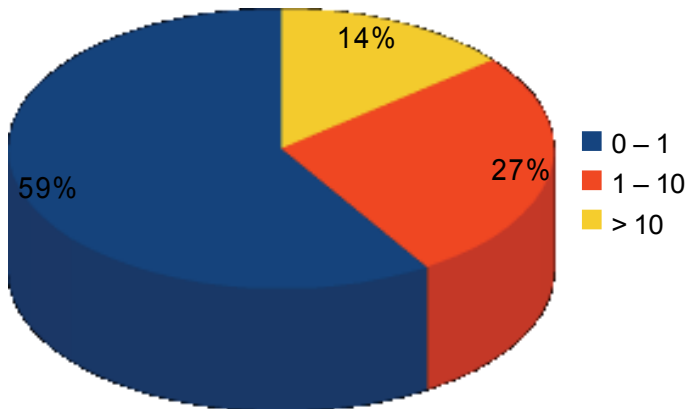
A diferencia de otros marcadores tumorales, en los que la sobretinción refleja mayor producción proteica, la sobretinción de p53 suele ir asociada a mutaciones de este gen, que resultan en una proteína inactiva. Por tanto, a pesar de tratarse de un gen supresor tumoral, la sobretinción de p53 se asocia a mayor proliferación celular.

El resultado viene proporcionado en porcentaje de células con tinción nuclear. Se diferencian en 3 grupos: 0 – 1 % (≥ 0 y <1), 1% -10 % (≥ 1 y <10) y más del 10 % (≥ 10). Y al igual que todas las técnicas inmunohistoquímicas, separando los casos con o sin tratamiento previo.

En los 78 casos sin tratamiento neoadyuvante, en el grupo de 0 – 1 % habían 46 pacientes que corresponden al 59%; entre 1% – 10 % eran 21 casos, correspondientes al 27% y, más del 10% de las células con expresión nuclear para p53, eran 11 casos, que se trata del 14% del total (Gráfica 19).

RESULTADOS

p53 SIN TRATAMIENTO



Gráfica 19. Como podemos observar en este diagrama de sectores, en el 59% de los pacientes presentaban una expresión con p53 entre 0 y 1%

A continuación mostramos imágenes histológicas con estos diferentes patrones de reacción inmunohistoquímica con p53 en los pacientes sin tratamiento neoadyuvante.

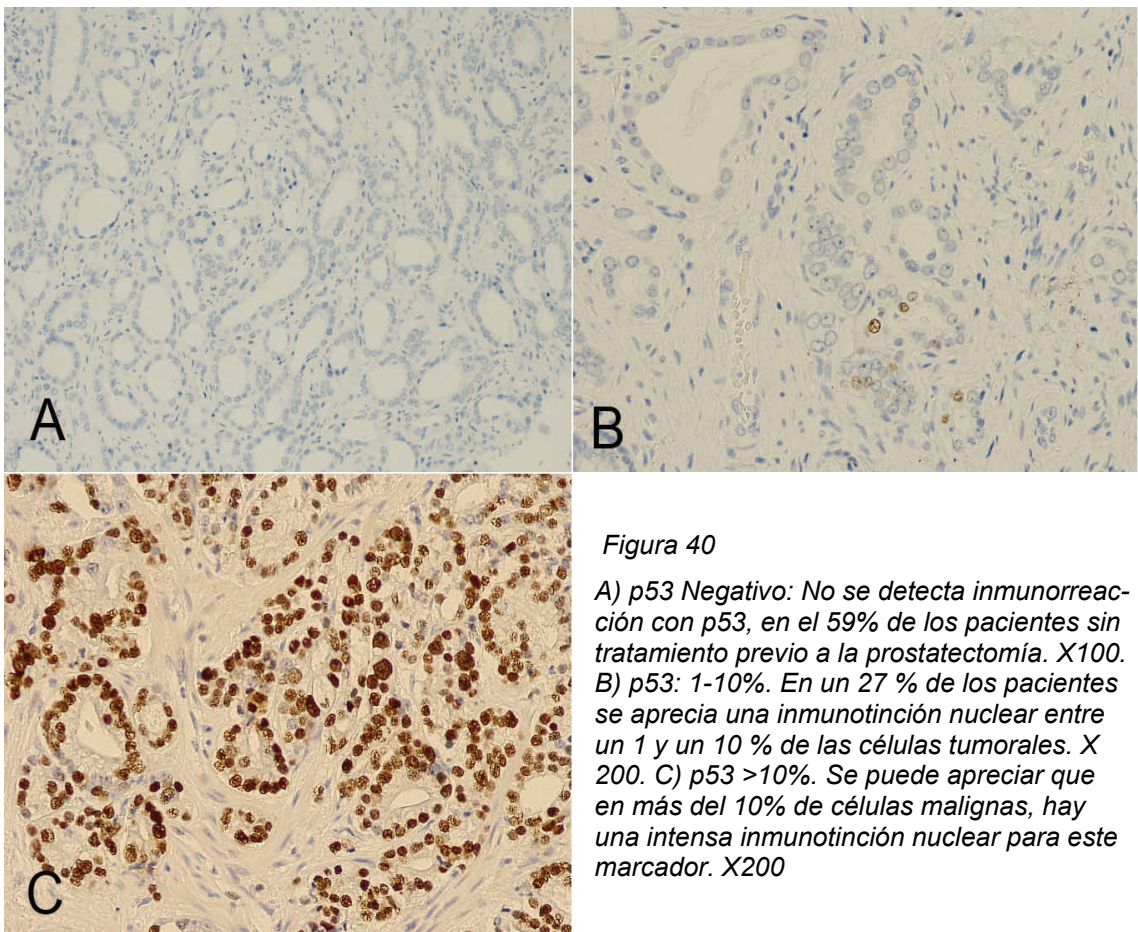


Figura 40

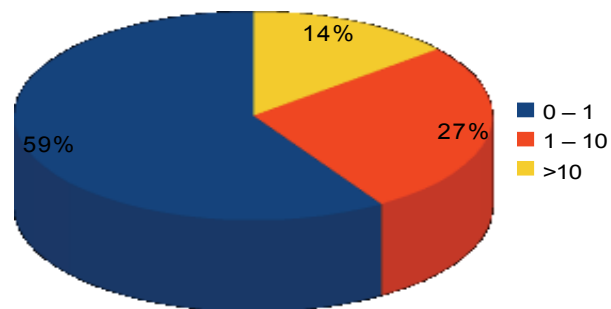
A) p53 Negativo: No se detecta inmunorreacción con p53, en el 59% de los pacientes sin tratamiento previo a la prostatectomía. X100. B) p53: 1-10%. En un 27 % de los pacientes se aprecia una inmunotinción nuclear entre un 1 y un 10 % de las células tumorales. X 200. C) p53 >10%. Se puede apreciar que en más del 10% de células malignas, hay una intensa inmunotinción nuclear para este marcador. X200

CARCINOMA PROSTÁTICO

Al estudiar los 22 casos con tratamiento hormonal previo, como se puede apreciar en el diagrama 20, 13 casos, que se trata del 59%, tienen expresión en el 0 – 1% de los núcleos; hay 6 casos, correspondientes al 27 %, con tinción entre 1 % – 10 %; y 3 casos, que serían el 14% del total, tienen más del 10% de núcleos teñidos. No hay diferencias entre pacientes con tratamiento previo y pacientes sin tratamiento (gráfica 19).

p53 CON TRATAMIENTO

Gráfica 20. En el 59% de los casos, se expresa inmunotinción con el anticuerpo p53



Podemos ver a continuación, los diferentes patrones de inmunorreacción con este anticuerpo en aquellos casos que estudiamos con tratamiento neoadyuvante.

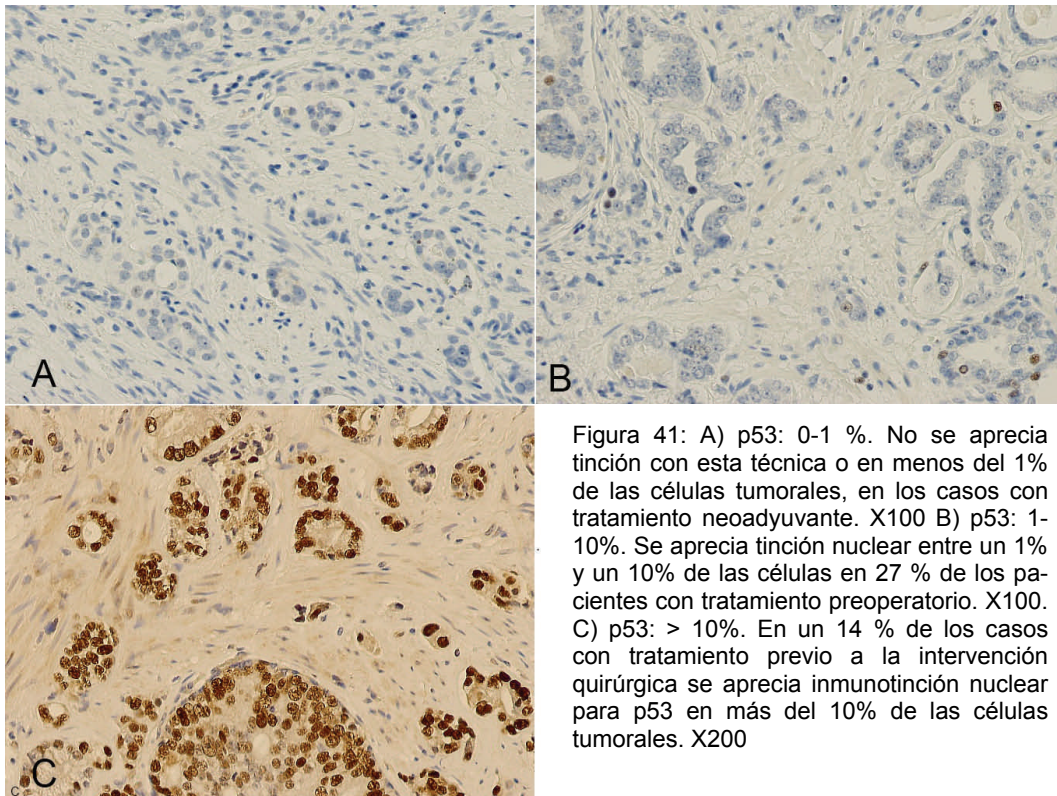


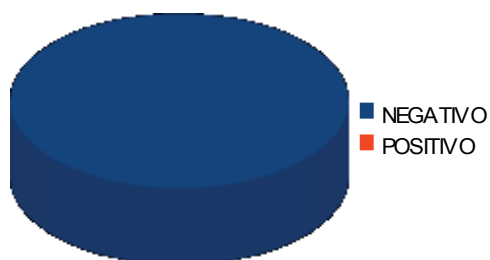
Figura 41: A) p53: 0-1 %. No se aprecia tinción con esta técnica o en menos del 1% de las células tumorales, en los casos con tratamiento neoadyuvante. X100 B) p53: 1-10%. Se aprecia tinción nuclear entre un 1% y un 10% de las células en 27 % de los pacientes con tratamiento preoperatorio. X100. C) p53: > 10%. En un 14 % de los casos con tratamiento previo a la intervención quirúrgica se aprecia inmunotinción nuclear para p53 en más del 10% de las células tumorales. X200

RESULTADOS

4.4.4.- EXPRESIÓN DE p63:

Se trata de otro gen de la familia de supresión tumoral, que codifica la proteína P63, pero la tinción inmunohistoquímica en este caso detecta la proteína no mutada, presente predominantemente en células basales no malignas. Por tanto, una positividad evidente en núcleos de células basales es característica de glándulas no malignas.

La tinción se valora en dos categorías: se demuestra inmunorreacción o no se demuestra inmunorreacción. En los 100 casos no se demuestra ningún tipo de reacción inmunohistoquímica, siendo el 100% de los casos negativos, como queda claramente reflejado en la gráfica 21.



Gráfica 21. La totalidad de los pacientes no ofrecen inmunorreacción con este marcador

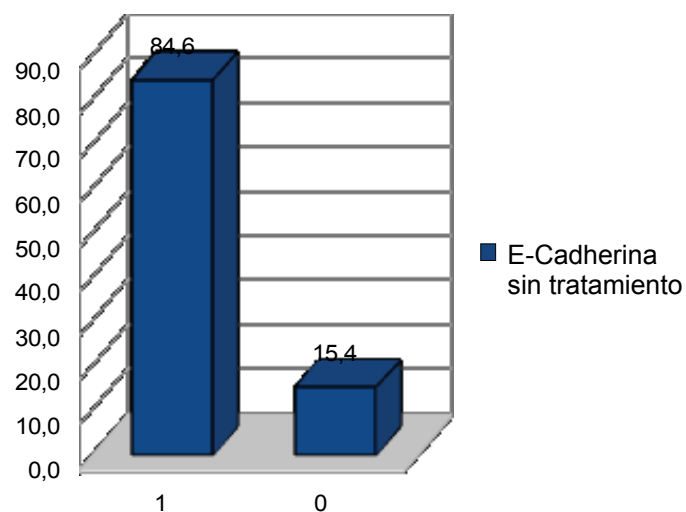
4.4.5.- EXPRESIÓN DE E-CADHERINA:

Se realizó la técnica de E-cadherina a los 100 casos para conocer el nivel de expresión de esta molécula de adhesión de las células epiteliales. Se estudian los resultados en dos grupos: por un lado la inmunotinción está presente o por otro lado, ausente o aberrante. Además, se dividió los resultados en los pacientes con tratamiento neoadyuvante y en los casos sin tratamiento previo a la prostatectomía.

En los 78 casos sin tratamiento neoadyuvante se detectan 66 casos con tinción para la E-Cadherina presente, que corresponden al 84.6 %, y en los 12 casos restantes no se objetiva ningún caso con tinción aberrante o ausente, correspondiente al 15.4% (gráfica 22).

CARCINOMA PROSTÁTICO

Gráfica 22. Prácticamente en el 84% de la muestra se aprecia inmunotinción con este marcador



Mostramos varias imágenes con estos dos tipos de inmunorreacción para la E-cadherina en los casos sin tratamiento previo.

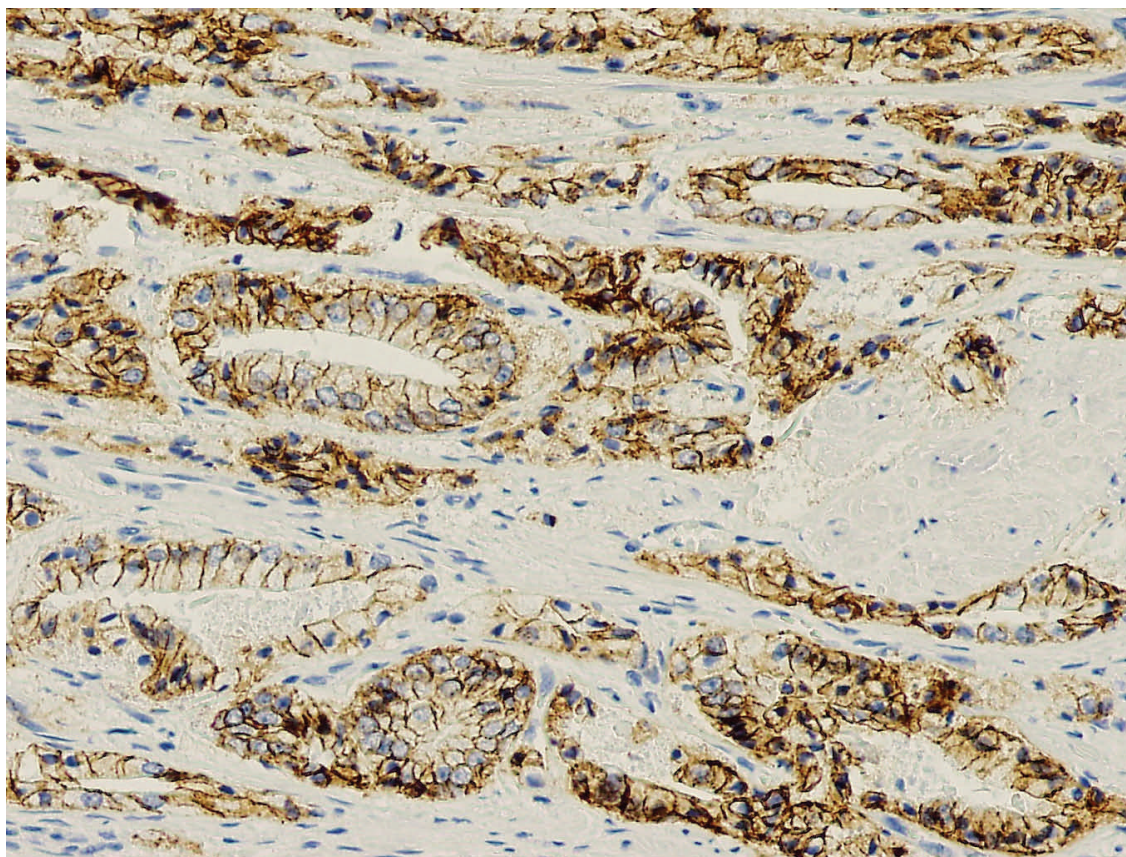


Figura 42. E-Cadherina positiva: Se aprecia clara positividad de membrana en las células tumorales del 85% de los casos sin tratamiento neoadyuvante. X 200

RESULTADOS

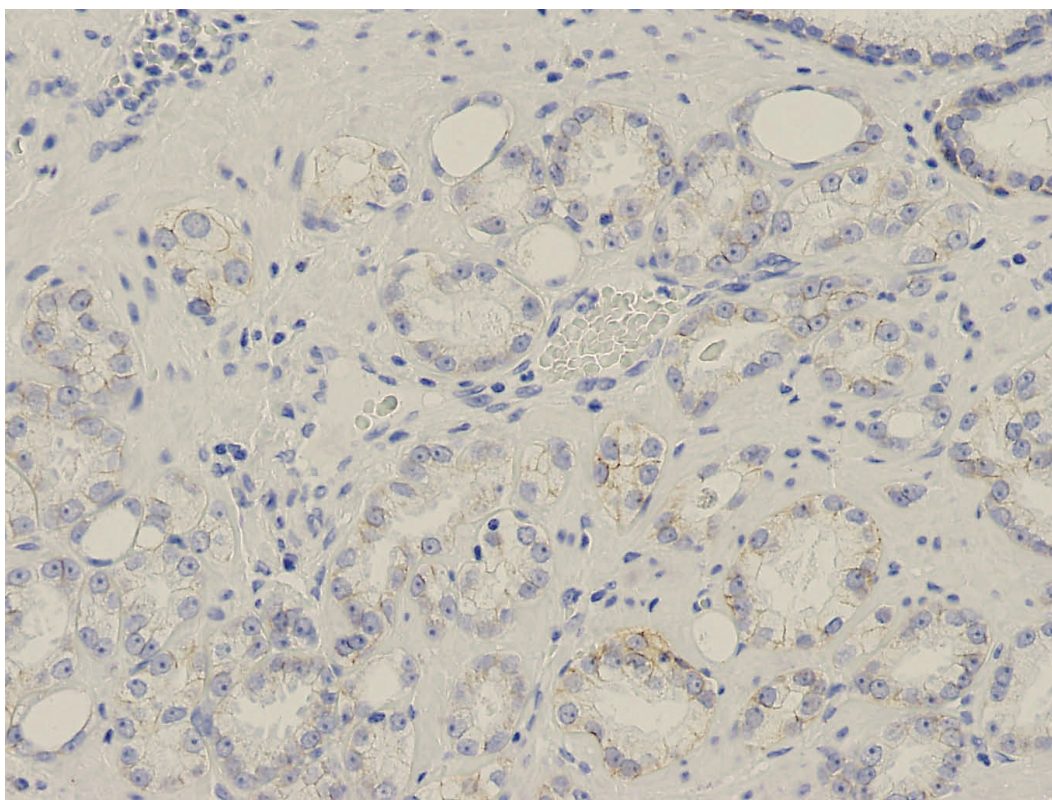
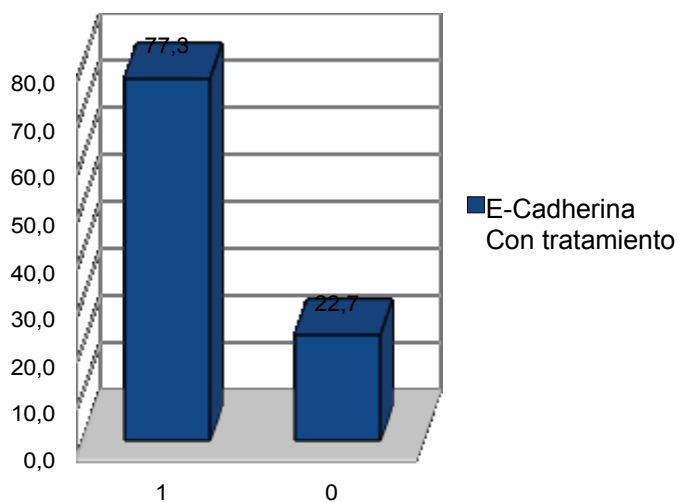


Figura 43. E-Cadherina aberrante o negativa que se detecta en el 15,4% de los casos sin tratamiento. X 200

En los otros 22 casos que recibieron tratamiento previo a la intervención quirúrgica (gráfica 23), se observan 17 casos con inmunorreacción para E-cadherina, que corresponde al 77.3% de la muestra; y 5 casos donde la tinción era aberrante o ausente, correspondiente al 22.7 %.



Gráfica 23. En los casos con tratamiento neoadyuvante se objetiva aproximadamente en un 77% de los pacientes con positividad para este marcador inmunohistoquímico

CARCINOMA PROSTÁTICO

Las siguientes imágenes histológicas corresponden con casos que se les realizó tratamiento previo a la intervención quirúrgica, con inmunotinción para E-cadherina.

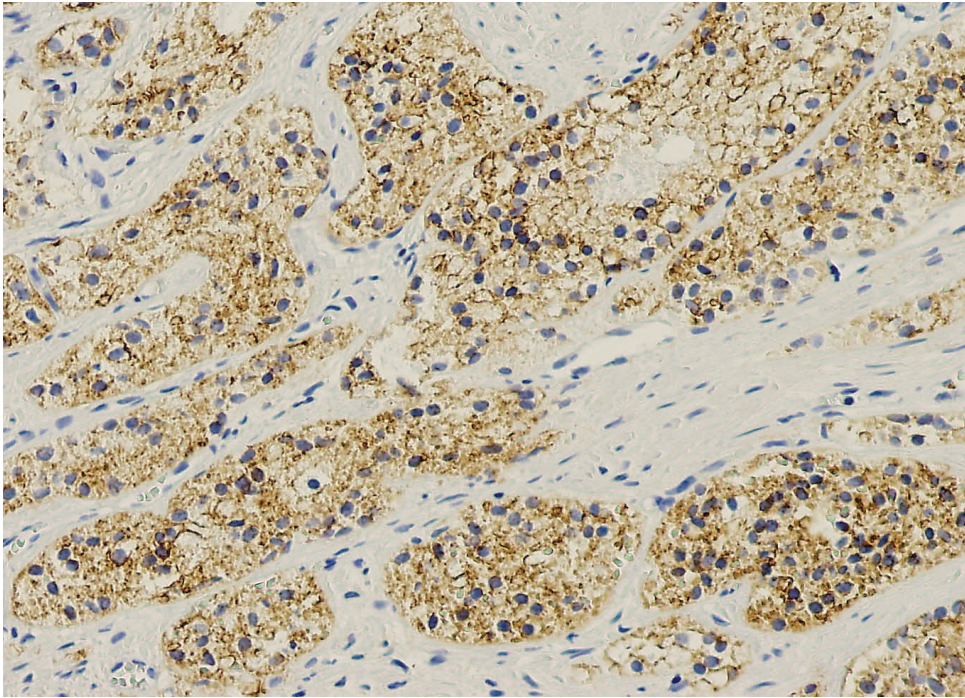


Figura 44. E-cadherina positiva. Imagen demostrativa de la positividad citoplasmática para este marcador inmunohistoquímico X100

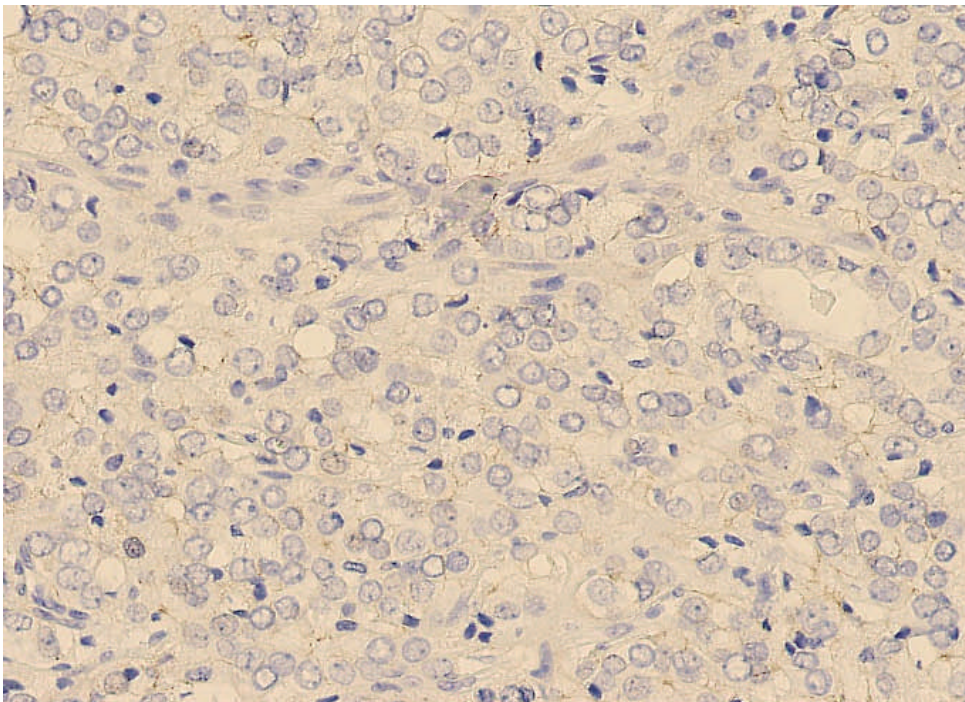
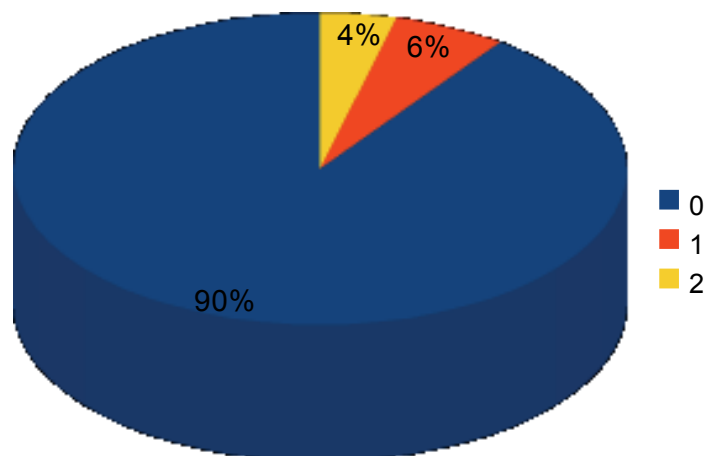


Figura 45. E-Cadherina negativa o aberrante que se advierte en un 22,7 % de los pacientes con tratamiento neoadyuvante. X200

RESULTADOS

4.4.6.- EXPRESIÓN DE CROMOGRANINA A:

Las células con un origen neuroendocrino, muestran tinción nuclear para cromogranina A, definiendo fenotipo particular de carcinoma prostático. Hemos valorado los 100 casos en tres categorías: Por un lado, "ausente" en los casos que no muestran células neuroendocrinas, otro grupo, "baja frecuencia", en los que se advierte células aisladas y, por último "alta frecuencia" a aquellos casos en los que se observó al menos 10 células positivas en un campo (X200). En primer lugar valoramos, como se ha venido exponiendo en las técnicas anteriores, los resultados en los 78 casos sin tratamiento, así se obtuvo en el grupo de cromogranina A ausente 70 casos, que representa un 90 % del total; en el grupo de baja frecuencia, hubo 5 casos, corresponden a un 6% y, en el de alta frecuencia, se detectan 3 casos, que sería un 4% de los pacientes (gráfica 24).



Gráfica 24. En este diagrama de sectores que representa la inmunotinción con la cromogranina A, se puede observar como en un 90% de los casos sin tratamiento previo, este marcador inmunohistoquímico fue completamente negativo.

CARCINOMA PROSTÁTICO

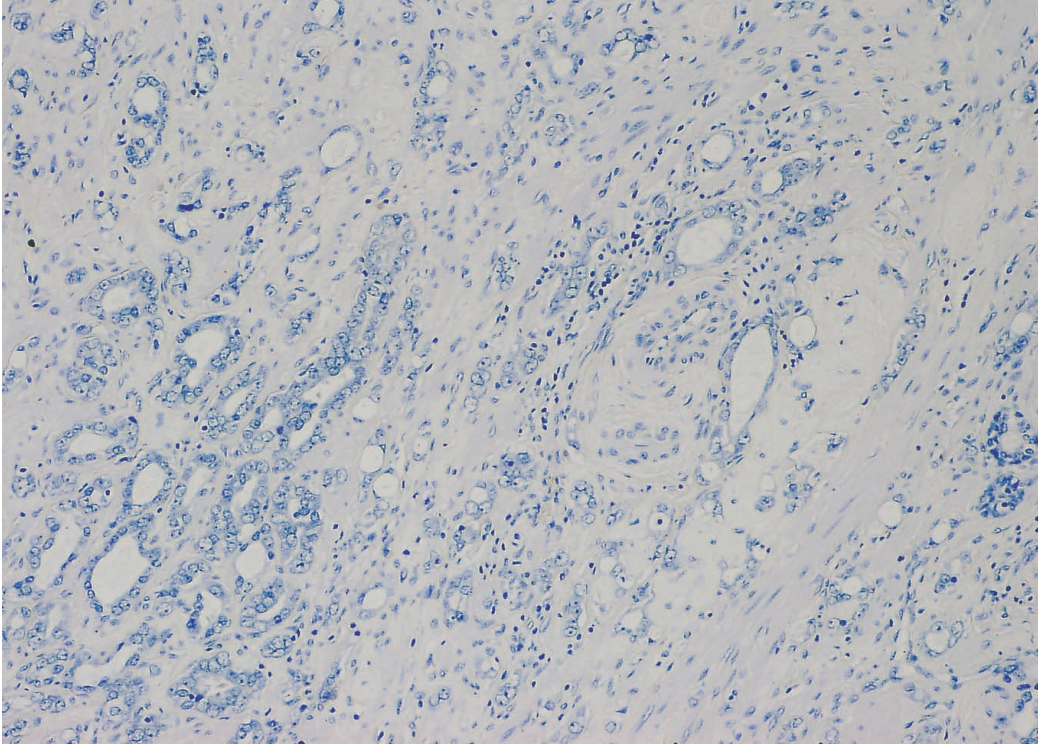


Figura 46. Cromogranina A negativa. No se detecta tinción inmunohistoquímica con Cromogranina A en ningún acino tumoral. X100

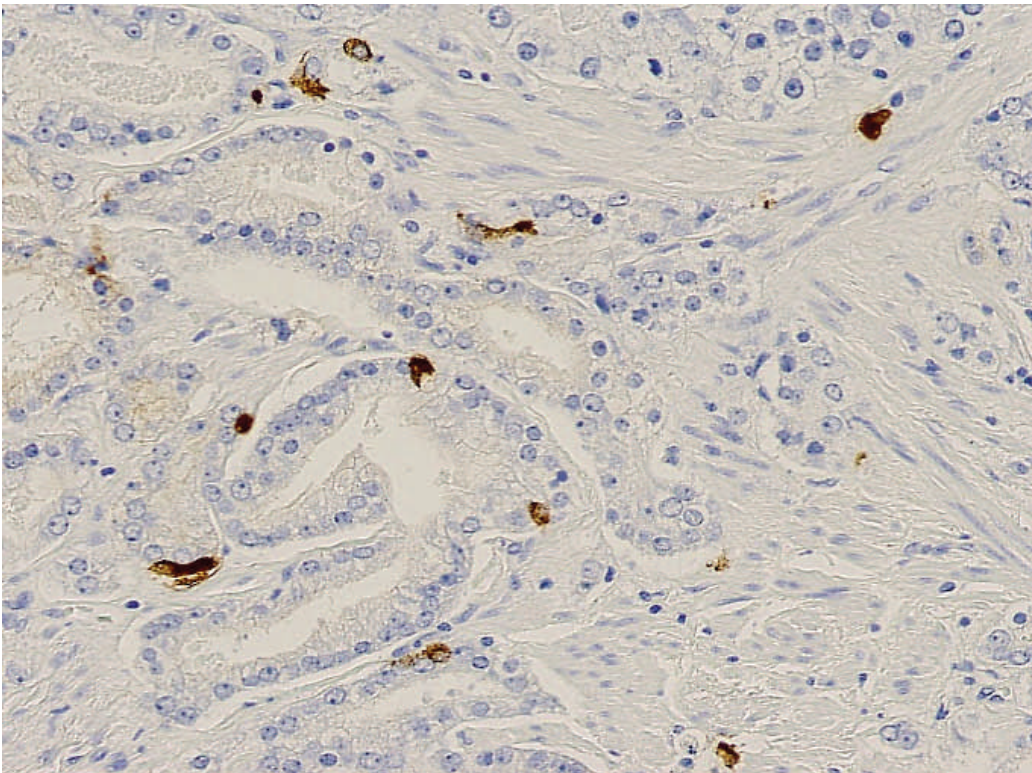


Figura 47 Cromagranina: Se observan ocasionales células positivas en en los acinos tumorales. X200

RESULTADOS

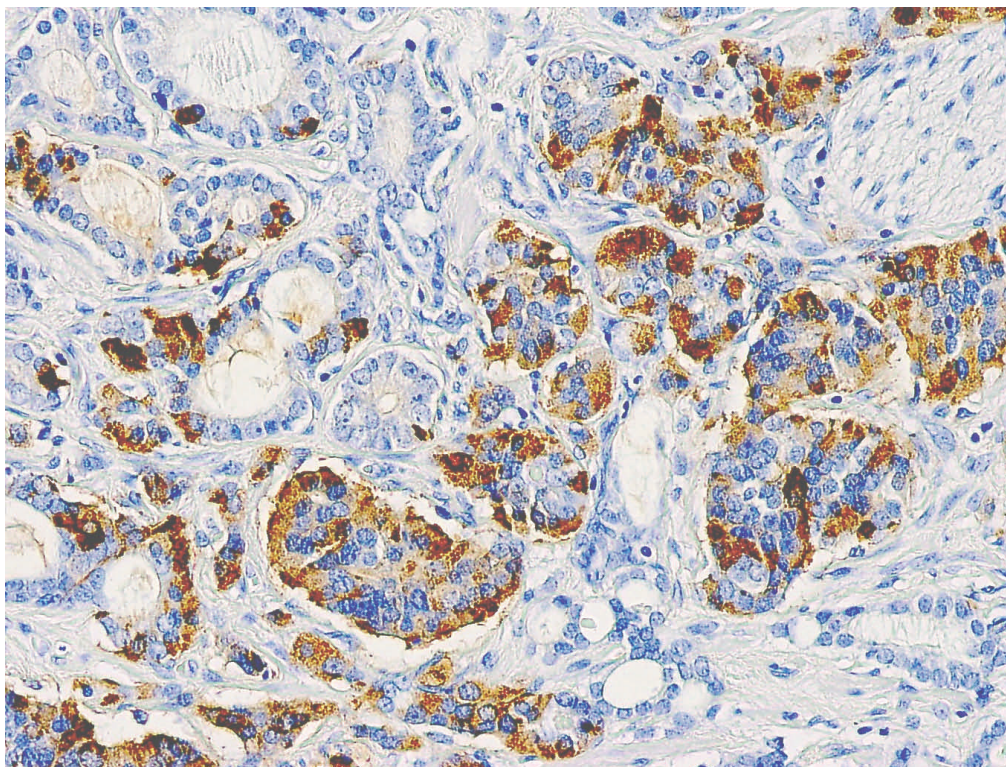


Figura 48. Cromogranina positiva. Se observan más de 10 células con positividad citoplasmática característica de este marcador inmunohistoquímico. X 200

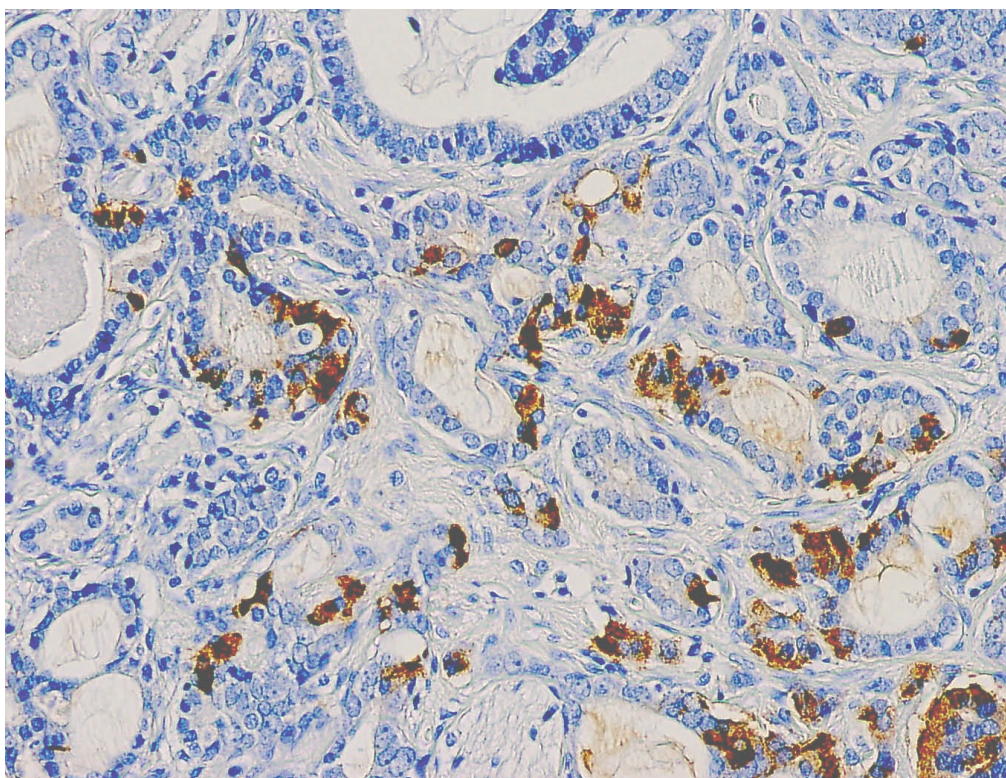
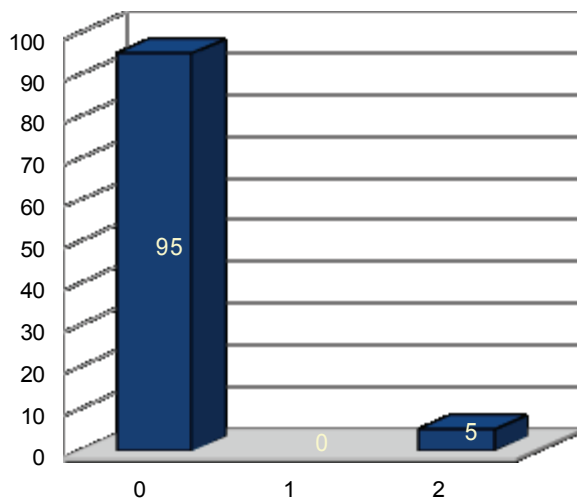


Figura 49 Se pueden observar más de 10 células con positividad citoplasmática para la Cromogranina A en campo de gran aumento. X200

CARCINOMA PROSTÁTICO

Así mismo, se estudian los 22 casos con tratamiento neoadyuvante observado en el grupo de ausencia de tinción, 21 casos (95% de los casos); no se detecta ningún caso con baja frecuencia de inmunotinción, y un solo caso con alta frecuencia de tinción, que representa el 5% del total de estos 22 pacientes tratados previamente a la intervención quirúrgica (gráfica 25).



Gráfica 25. En la práctica totalidad de estos casos la tinción para la cromogranina fue nula

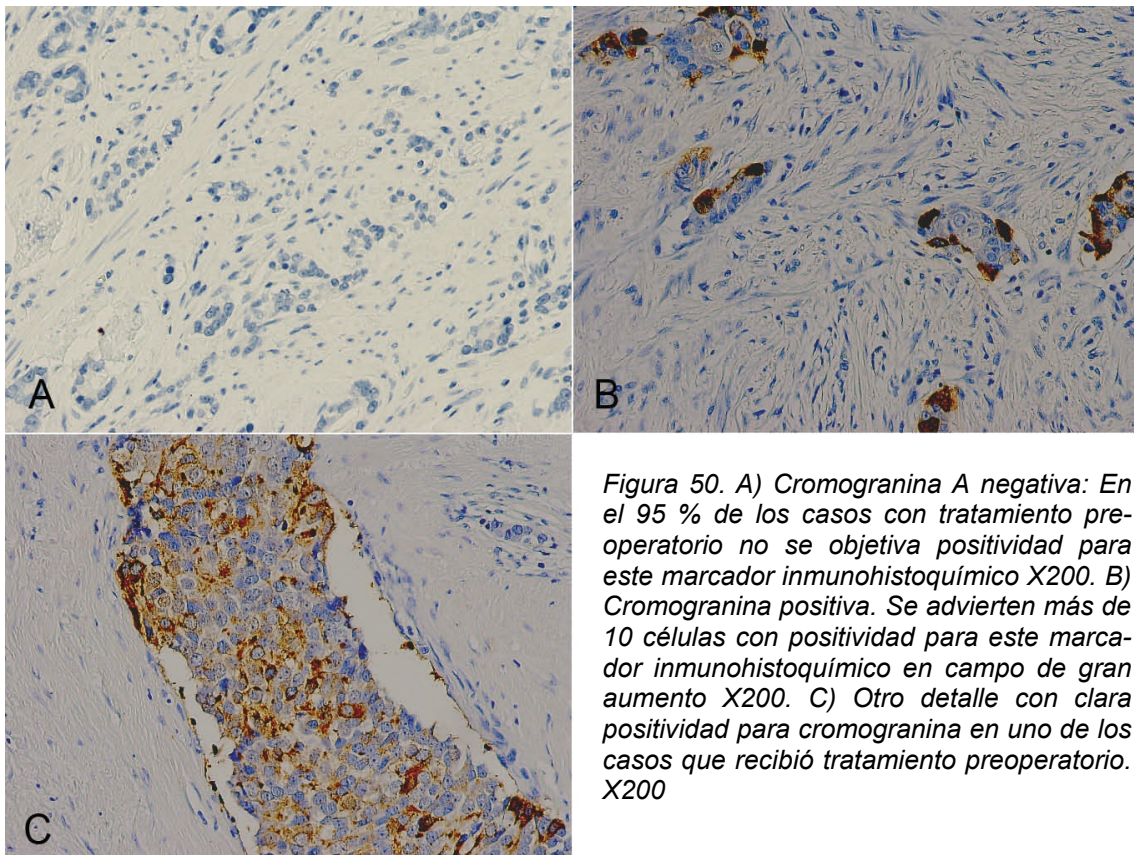


Figura 50. A) Cromogranina A negativa: En el 95 % de los casos con tratamiento preoperatorio no se objetiva positividad para este marcador inmunohistoquímico X200. B) Cromogranina positiva. Se advierten más de 10 células con positividad para este marcador inmunohistoquímico en campo de gran aumento X200. C) Otro detalle con clara positividad para cromogranina en uno de los casos que recibió tratamiento preoperatorio. X200

RESULTADOS

4.4.7.- EXPRESIÓN DE P504S (AMACR):

En las células prostáticas malignas, se demuestra una tinción citoplasmática y circunferencial para este enzima. Se divide en tres grupos: 0, aquellos casos con tinción negativa, 1 para los que demostraron tinción débil y, 2 para los que tenían una clara positividad. En los 78 casos que no se le realiza ningún tipo de tratamiento previo a la intervención quirúrgica, se pone de manifiesto en todos ellos positividad en los focos tumorales (Figuras 51 y 52).

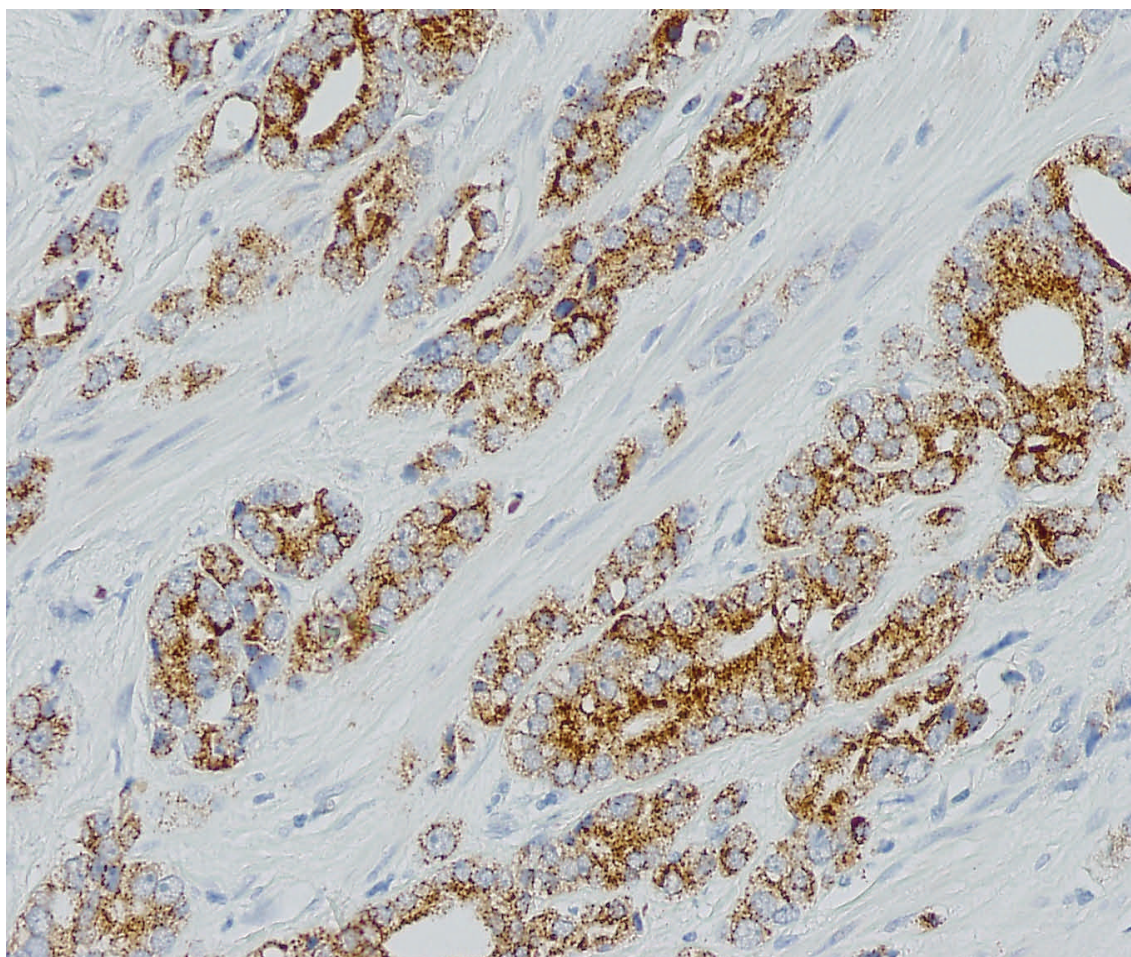


Figura 51. AMACR. Imagen demostrativa característica de positividad citoplasmática circunferencial en las células tumorales que revisten los acinos tumorales. X 200

CARCINOMA PROSTÁTICO

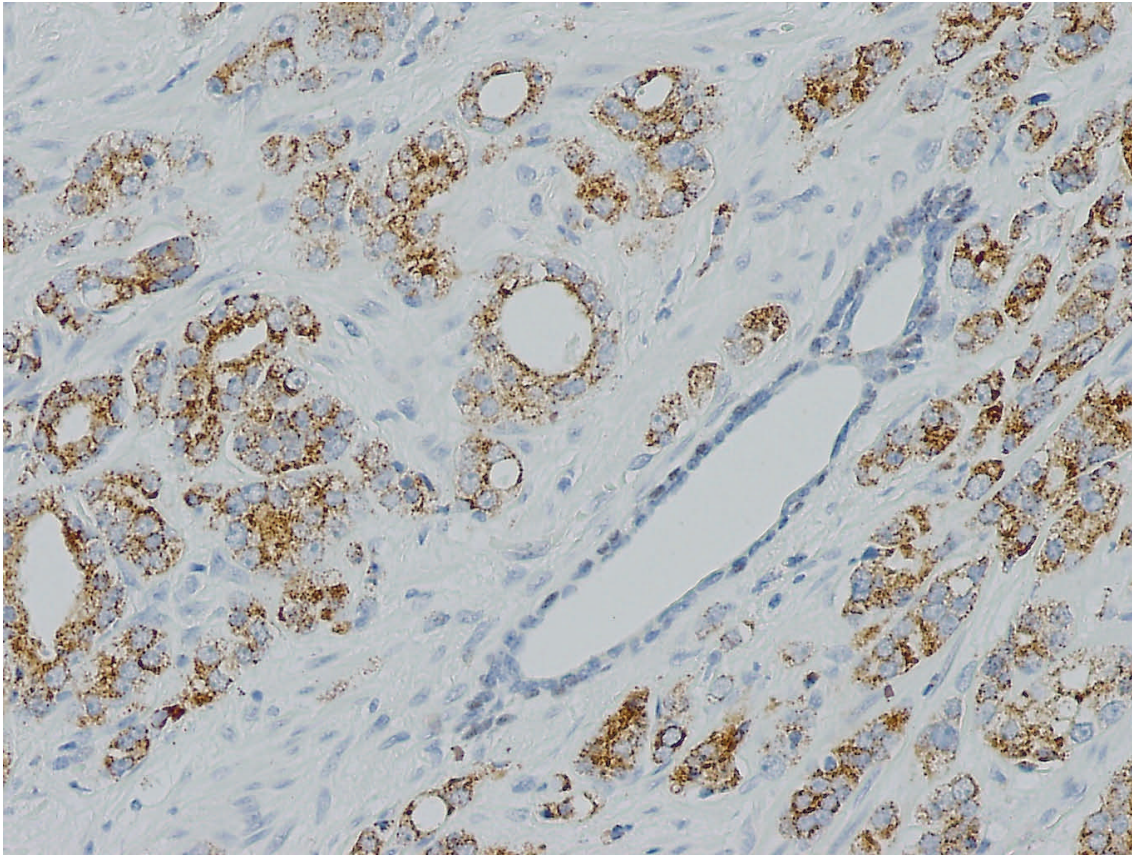
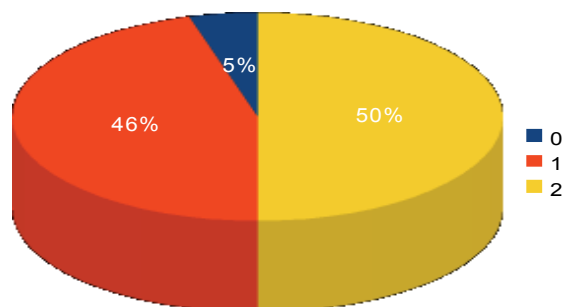


Figura 52. AMACR. Clara positividad para esta tinción en los acinos neoformados, observando negatividad para este marcador inmunohistoquímico, en las glándulas benignas intermedias, en las cuales se aprecia la capa basal teñida con el anticuerpo p63. X 200

En cambio, en los 22 casos que sí tuvieron tratamiento neoadyuvante, se advierte en uno de ellos caso, tinción negativa, correspondiente a un 4,5%; 10 casos con tinción débil, comprende un 45,5% del total; y por último, en 11 casos la tinción fue claramente positiva (50% de los casos). Todas estas variaciones en la tinción de la AMACR se pueden observar en la siguiente figura (Gráfica 26)

Gráfica 26. Diagrama de sectores que refleja el porcentaje con positividad para AMACR en pacientes con tratamiento previo a la prostatectomía (50%), destacando como en el 5% de los pacientes no se demostró inmunorreacción.



RESULTADOS

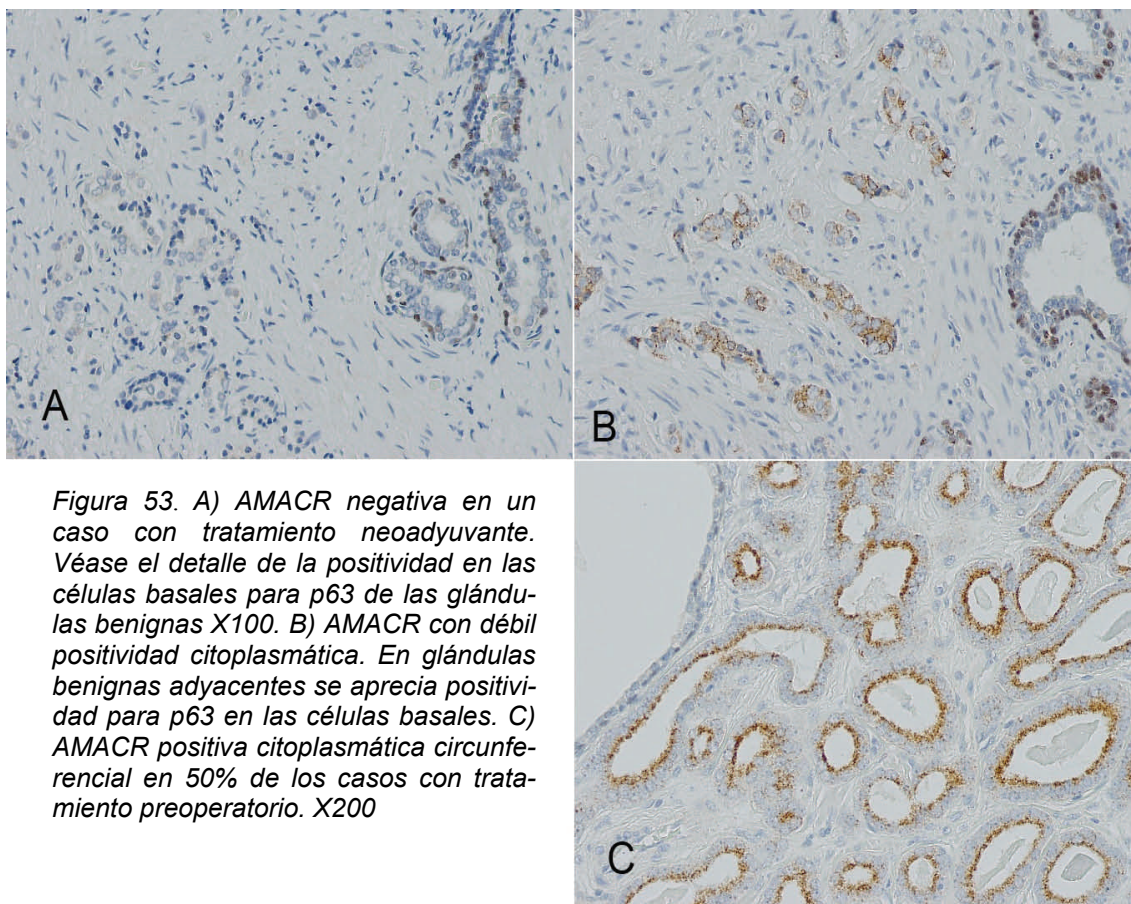
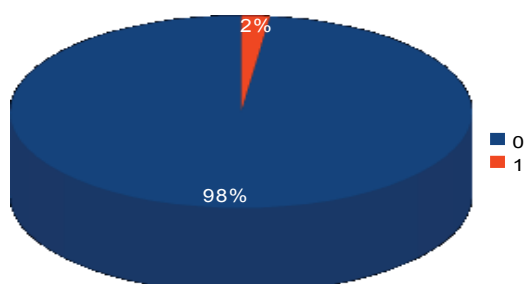


Figura 53. A) AMACR negativa en un caso con tratamiento neoadyuvante. Véase el detalle de la positividad en las células basales para p63 de las glándulas benignas X100. B) AMACR con débil positividad citoplasmática. En glándulas benignas adyacentes se aprecia positividad para p63 en las células basales. C) AMACR positiva citoplasmática circunferencial en 50% de los casos con tratamiento preoperatorio. X200

4.4.8.- EXPRESIÓN DE c-erbB2:

Se analiza en los 100 casos, diferenciando por un lado los que mostraba una tinción nuclear ausente o presente. En los 78 casos que no recibieron tratamiento previo, la tinción fue ausente en 76 de los mismos, correspondientes al 98%, y presente en los 2 restantes, siendo el 2 % del total (gráfica 27).



Gráfica 27. Tan solo en el 2% de la muestra se detecta positividad con este marcador inmunohistoquímico

CARCINOMA PROSTÁTICO

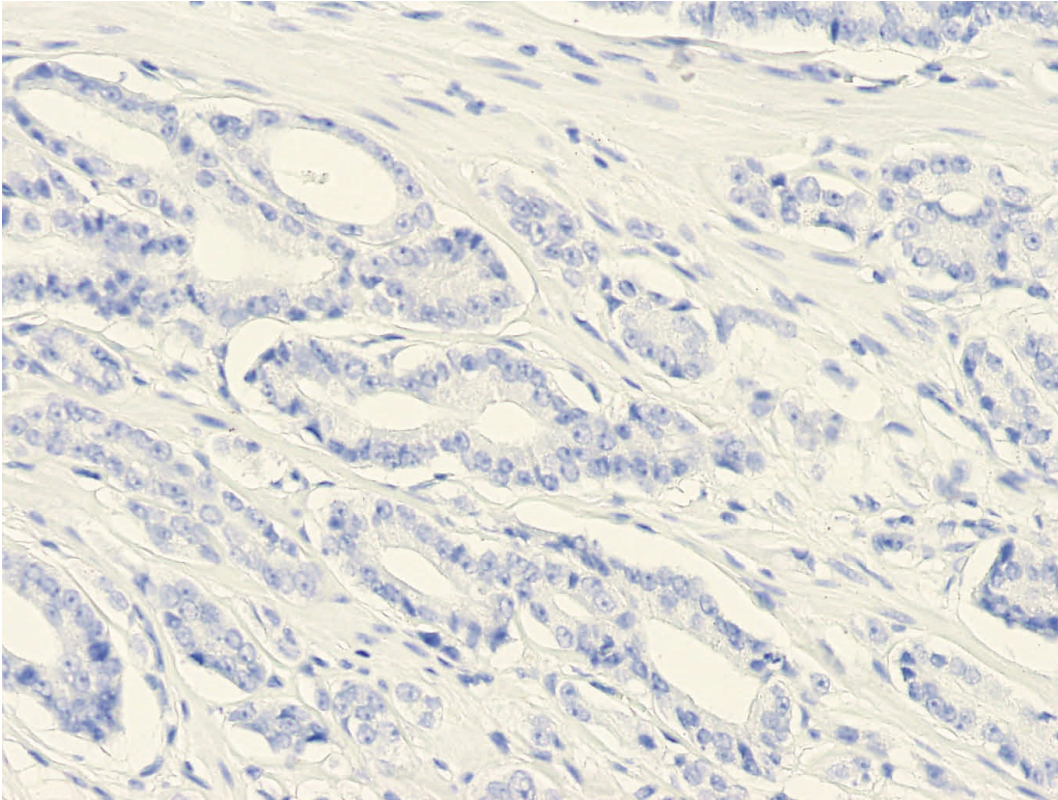


Figura 54. c-erbB2 negativo. Ausencia de inmunorreacción en las células tumorales que constituyen los acinos. X200

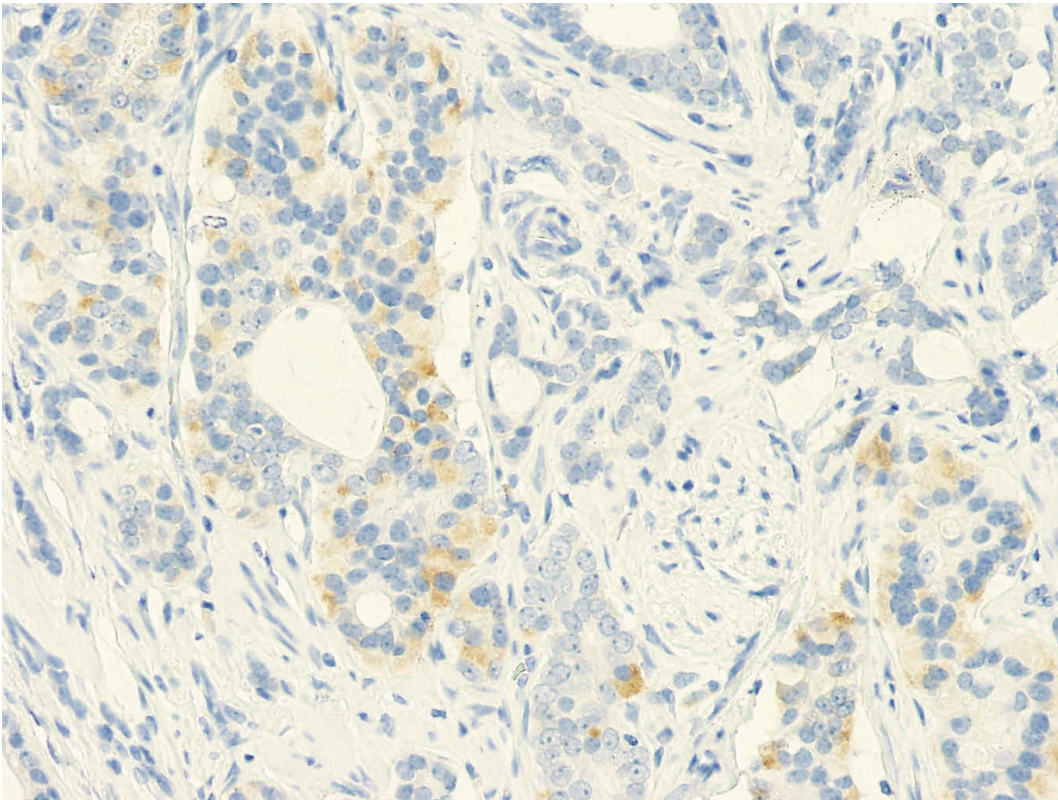


Figura 55 . Imagen de inmunohistoquímica en la que se puede observar positividad en las células tumorales para c-erbB2. X200

RESULTADOS

Por otro lado, se analizó los 22 casos en los que sí tenían tratamiento previo a la intervención quirúrgica, observando como en 21 de éstos no se detectó inmunorreacción (96%) y tan solo en 1 caso, sí se detecta inmunotinción con este marcador (4%), (gráfica 28).

Gráfica 28. En aquellos casos que se trataron previamente al tratamiento quirúrgico, se demuestra positividad en el 5% de la muestra.

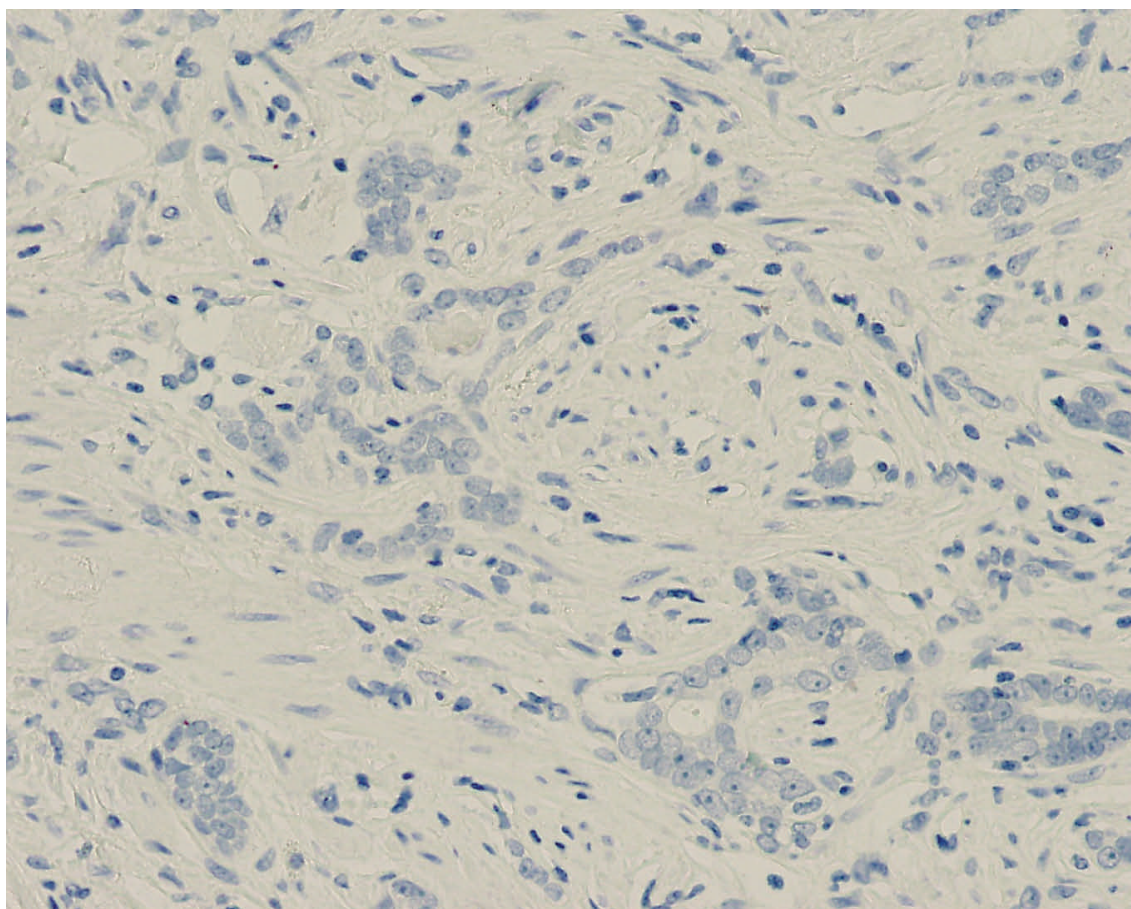
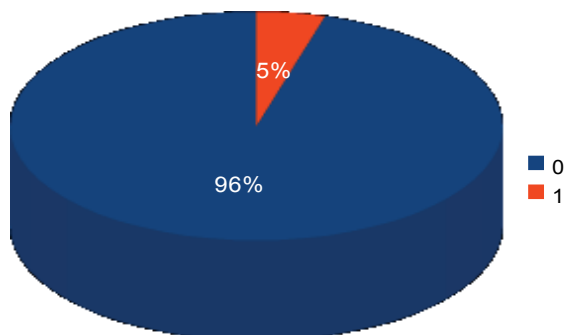


Figura 56. c-erbB2. Clara negatividad en las células tumorales de las pequeñas glándulas neoformadas, imagen que se aprecia en la mayoría de los pacientes con tratamiento neoadyuvante. X200

CARCINOMA PROSTÁTICO

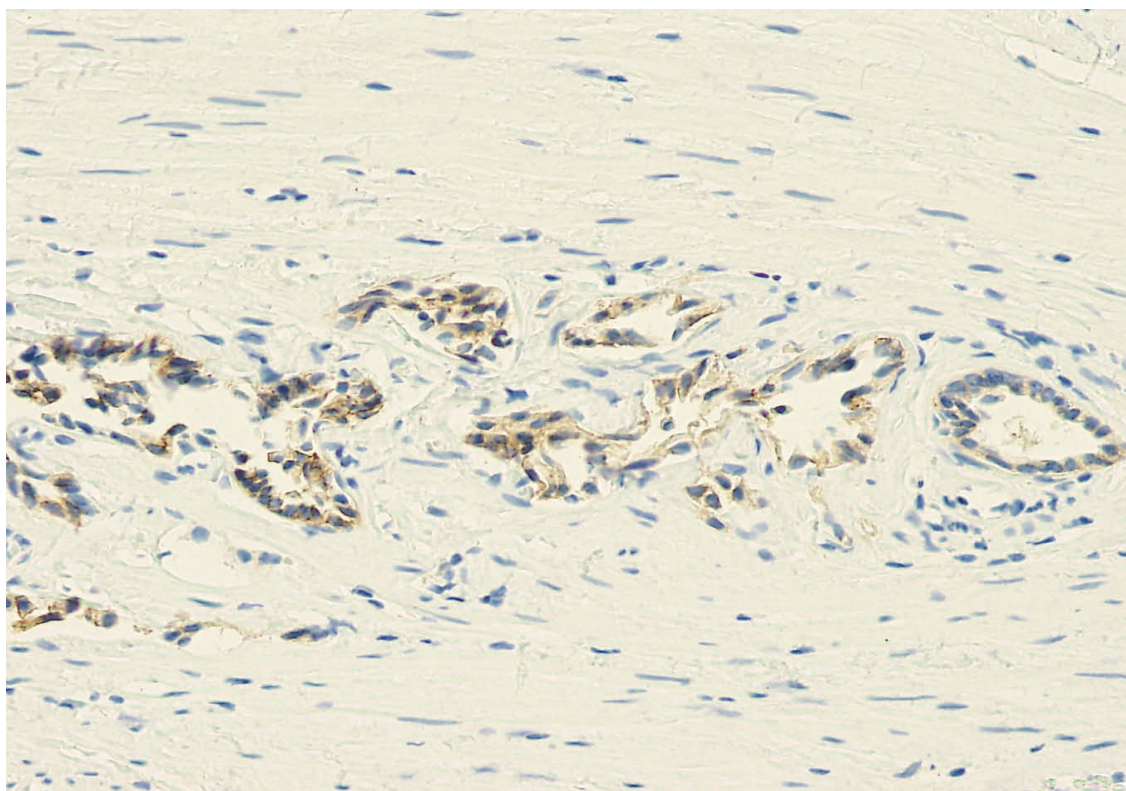
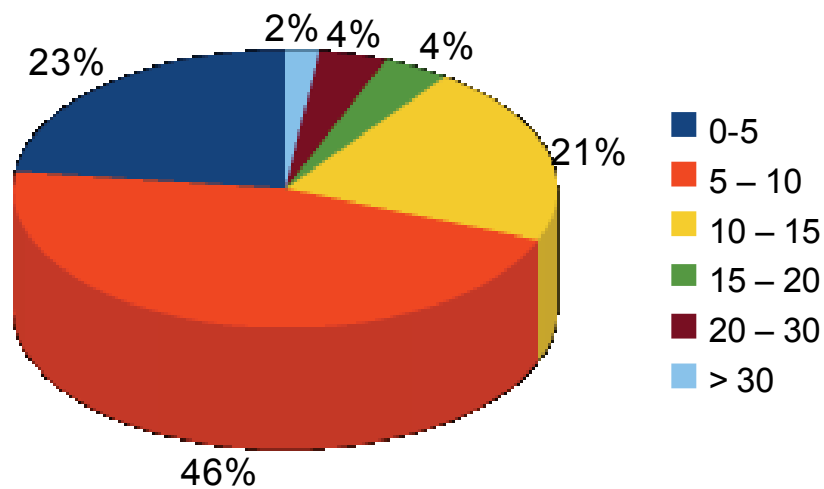


Figura 57 Figura de microscopía óptica en la que se observa positividad para c-erbB2 en las células tumorales. X100

4.4.9.- EXPRESIÓN DE CD31:

Para estudiar la densidad de microvasos hemos realizado el método que usaron Brawer et al.³⁸ hemos contado el número de microvasos, evaluando 5 campos tumorales al azar a medio aumento (X100) en cada caso. Luego hemos calculado el número medio de vasos en un milímetro cuadrado y los hemos agrupado en función del resultado. Así hemos obtenido los diferentes grupos: de 0 a 5 vasos por milímetro cuadrado, 23; de 5 a 10 vasos en milímetro cuadrado hay 46; de 10 a 15 vasos / milímetro cuadrado, 21 casos; de 15 a 20 vasos/milímetro cuadrado hay 4 casos; de 20 a 30 vasos / milímetro cuadrado hay 4 casos; y por último con más de 30 vasos por milímetro cuadrado hay 2 vasos (gráfica 29).

RESULTADOS



Gráfica 29. Representamos los porcentajes de los diferentes grupos con el número de vasos por milímetro cuadrado. Podemos observar como el grupo más frecuente es donde detectamos entre 5 y 10 vasos, el cual representa el 46% de la muestra, siendo tan solo el 2% de la muestra donde el número de vasos por milímetro cuadrado supera los 30 vasos.

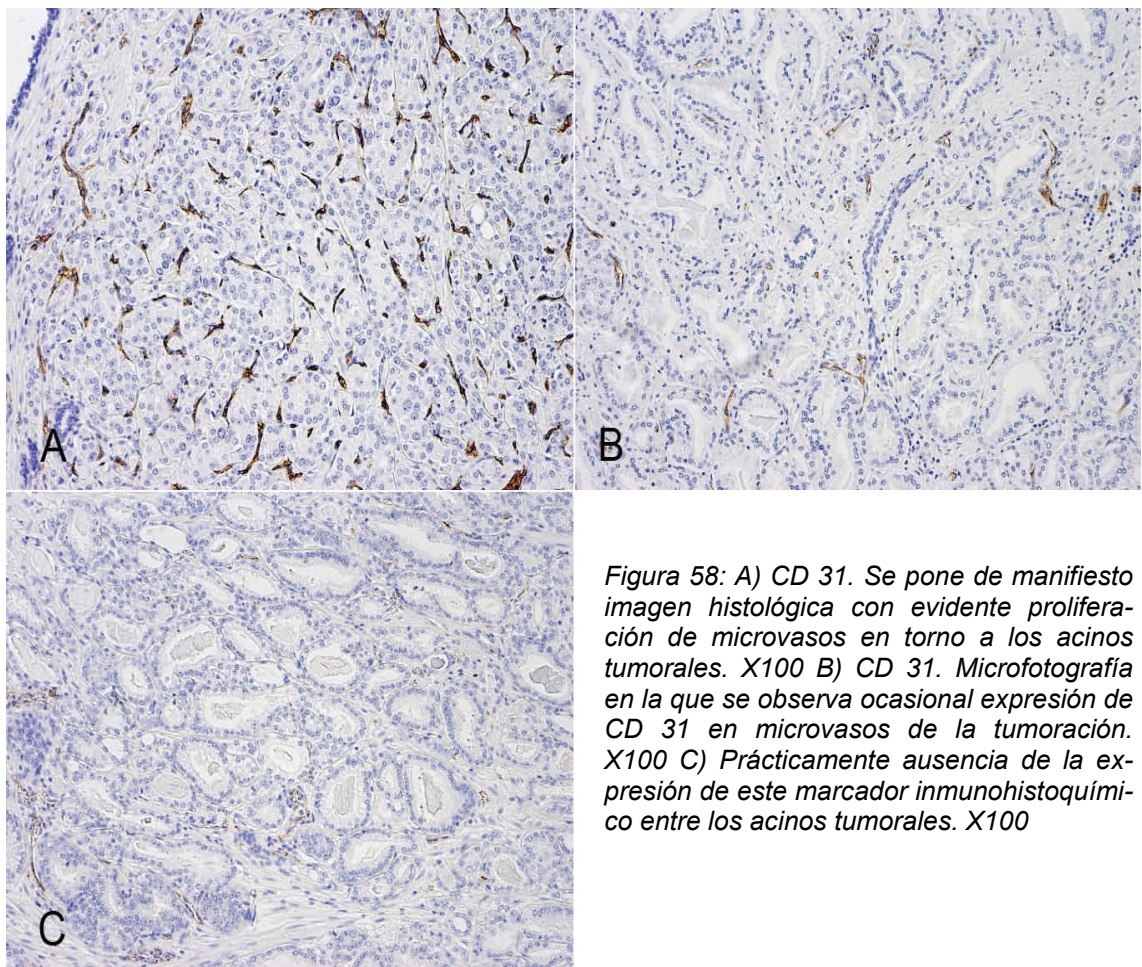


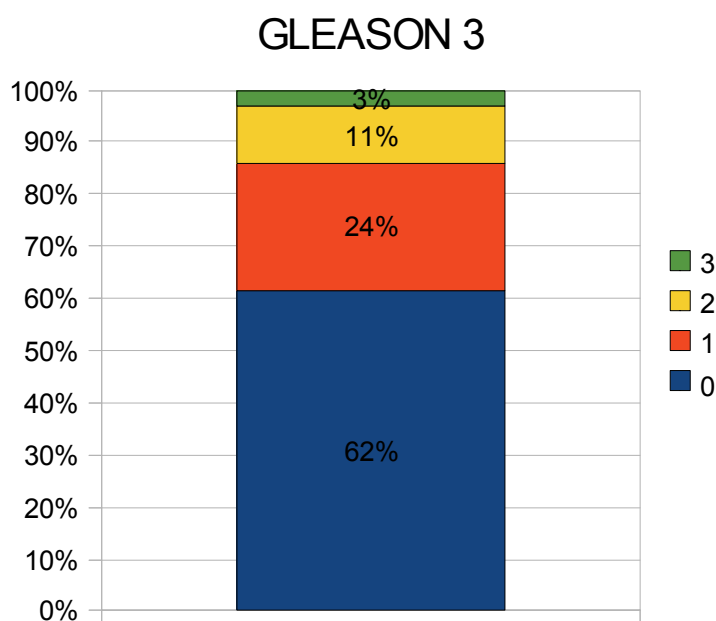
Figura 58: A) CD 31. Se pone de manifiesto imagen histológica con evidente proliferación de microvasos en torno a los acinos tumorales. X100 B) CD 31. Microfotografía en la que se observa ocasional expresión de CD 31 en microvasos de la tumoración. X100 C) Prácticamente ausencia de la expresión de este marcador inmunohistoquímico entre los acinos tumorales. X100

CARCINOMA PROSTÁTICO

4.4.10.- EXPRESIÓN DE MSMB (MICROSEMINOPROTEINA BETA):

Hemos valorado la tinción con esta técnica de inmunohistoquímica y clasificado en 4 grupos. Por un lado los que no ofrecen ningún tipo de inmunoexpresión lo hemos catalogado como 0, los que muestran tinción pálida en algunas células epiteliales como 1, como 2 hemos clasificado los casos en los que en la mayoría de las células se tiñen moderadamente, y por último, como 3 a aquellos casos donde todas las células se tiñen fuertemente.

En primer lugar hemos encontrado en los 99 casos de las áreas neoplásicas con una gradación **Gleason 3**, en 61 casos no se detecta ningún tipo de inmunorreactividad, correspondiente al 62% de la muestra, en 24 de ellos la reacción observada fue catalogada como 1 (24%), como inmunotinción tipo 2 observó en 11 casos (11%) y por último en tan solo 3 casos se observa una tinción difusa, o sea, tipo 3 (3%) (gráfica 30).



Gráfica 30: Representa los porcentajes de tinción con MSMB en los casos de Gleason 3. Se advierte que el grupo más frecuente es donde no se demuestra tinción con MSMB, que corresponde con un 62% de la muestra. En un 3% de los casos se demuestra tinción en todas las células tumorales.

RESULTADOS

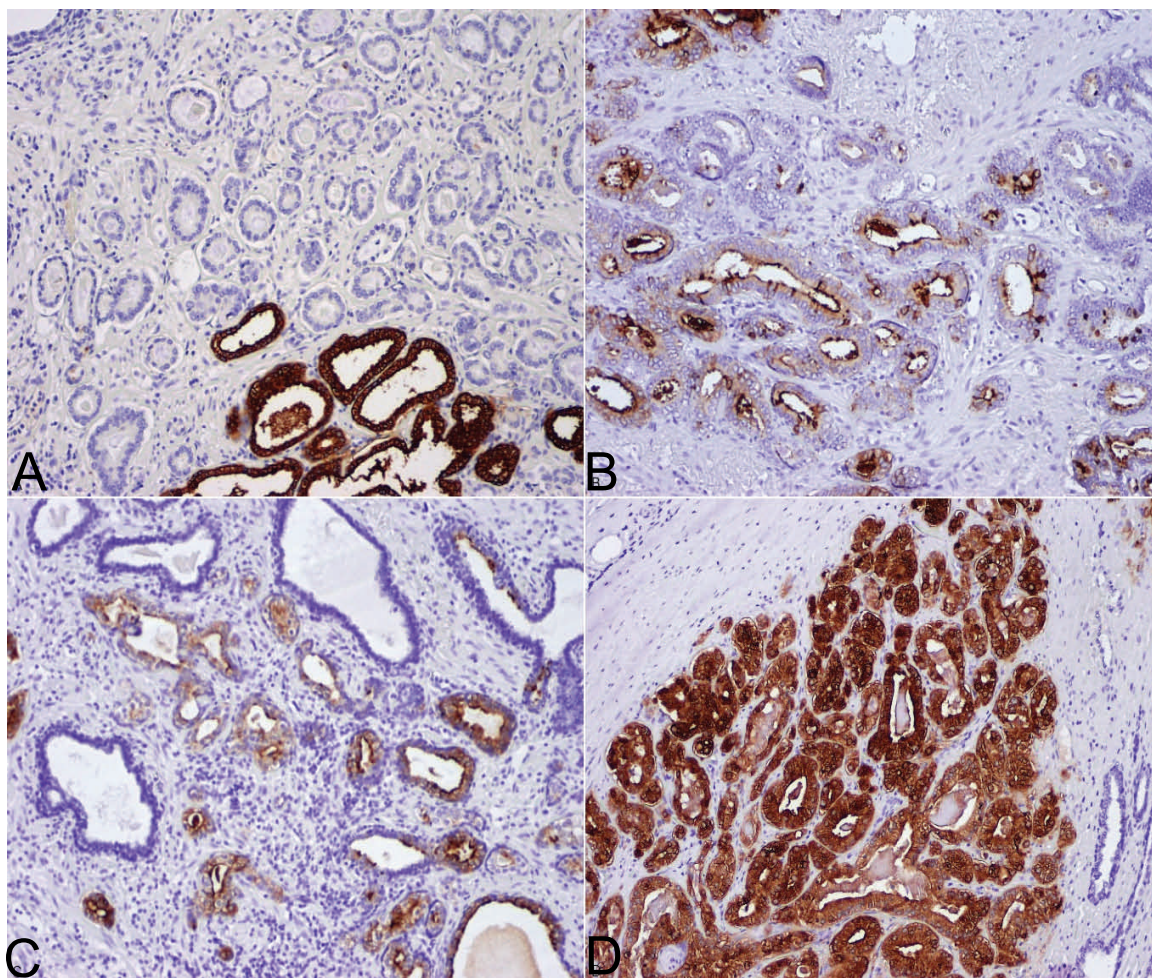


Figura 59. Imágenes demostrativas de las zonas de Gleason 3, con distintos grados de inmunotinción con MSMB. (A) Las células tumorales no ofrecen ningún tipo de inmunotinción. (B) Se aprecia en algunas células epiteliales tumorales tinción pálida. (C) En la mayoría de las células tumorales se observa tinción moderada para este marcador. (D) En esta imagen histológica se puede observar como la tinción es fuerte y difusa en las células neoformadas.

En las áreas neoplásicas con una gradación **Gleason 4** de los 18 pacientes que tenían este score, observamos 11 casos del subgrupo 0, que corresponden al 61%, hemos visto 3 casos del subgrupo 1, correspondiente al 17%, del subgrupo de 2, solo se observan 2 casos, que constituyen el 11%, y por último, también 2 casos en el subgrupo de inmunotinción de 3, correspondiente al 11% (gráfica 31).

Gráfica 31 (Página siguiente). En los casos de Gleason 4, hasta un 61% de la muestra no se demuestra inmunotinción, y en un 11% se observa una tinción en todas o la gran mayoría de las células tumorales.

CARCINOMA PROSTÁTICO

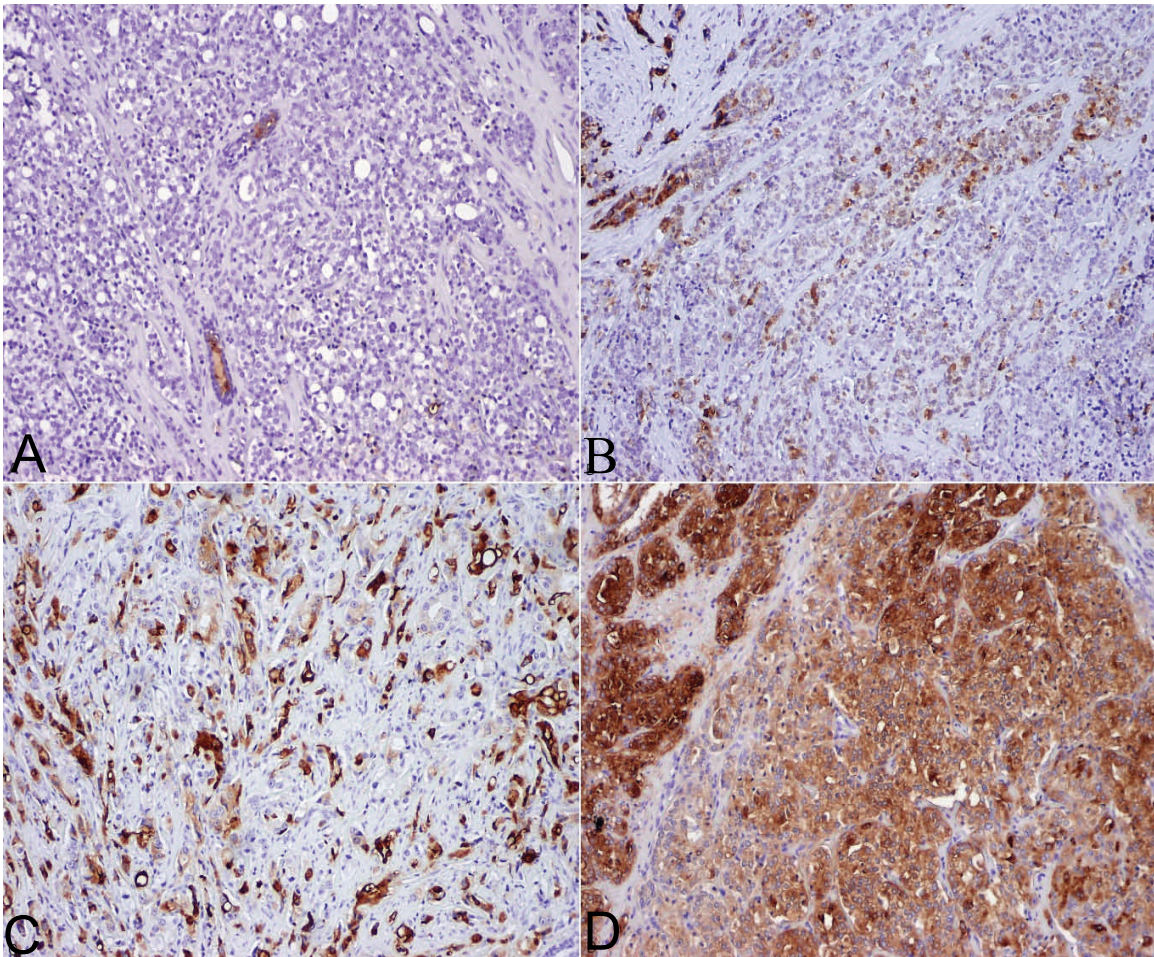
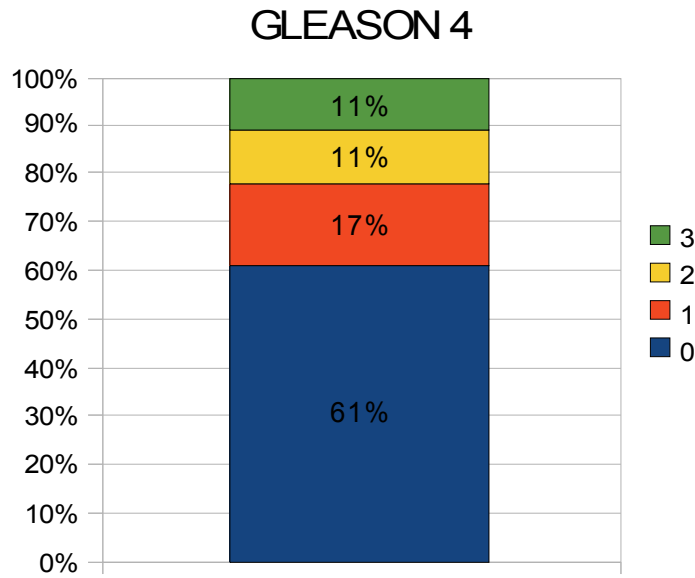
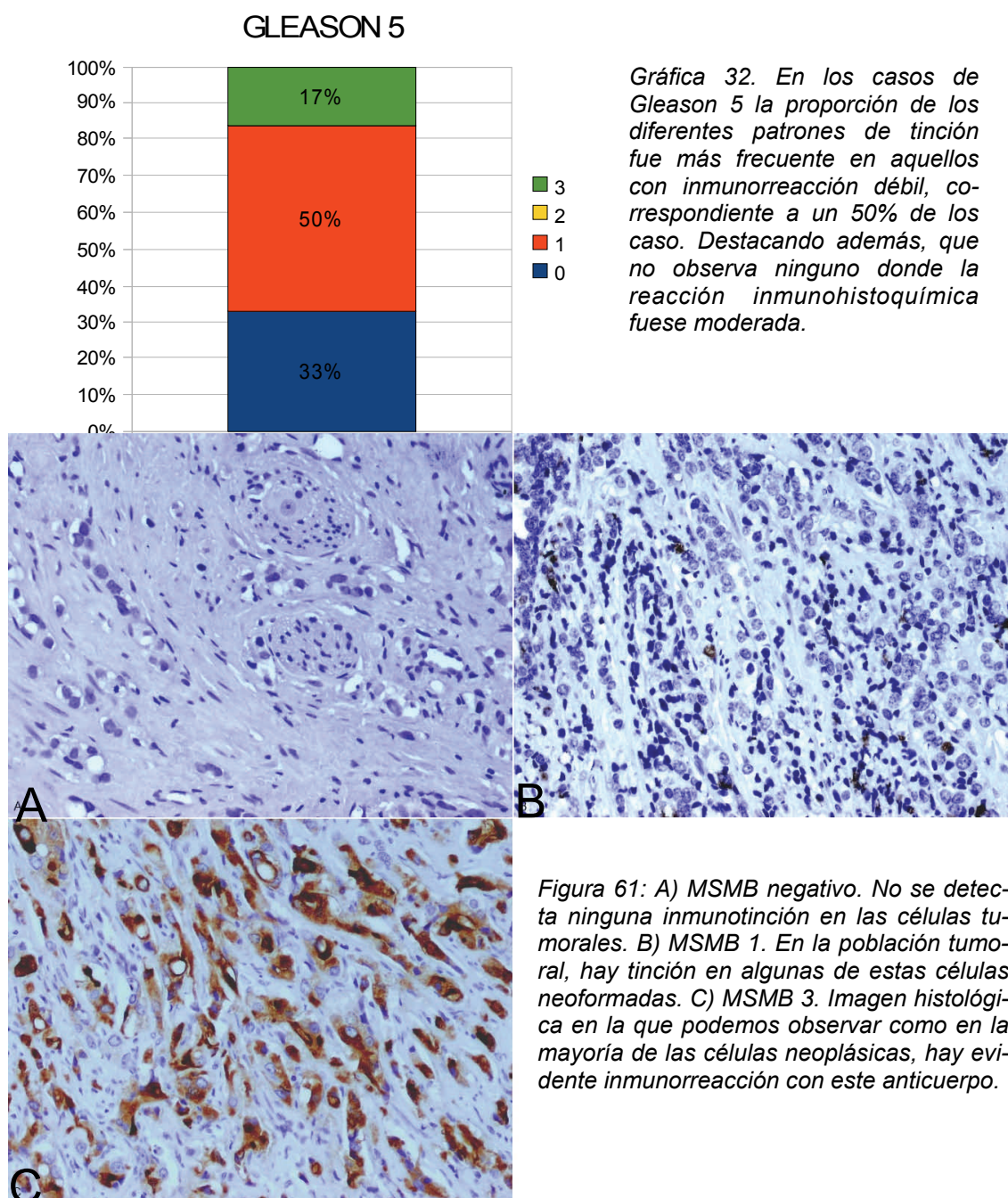


Figura 60 : Imágenes histológicas que muestran zonas de Gleason 4, con los distintos grados de inmunotinción. (A) No se observa tinción inmunohistoquímica en las células tumorales . (B) Se ve en algunas células epiteliales tumorales una tinción pálida con este anticuerpo. (C) La mayor parte de las células tumorales se tiñen con este marcador. (D) En esta imagen histológica se pone de manifiesto una tinción con MSMB fuerte y difusa en las células neoformadas

RESULTADOS

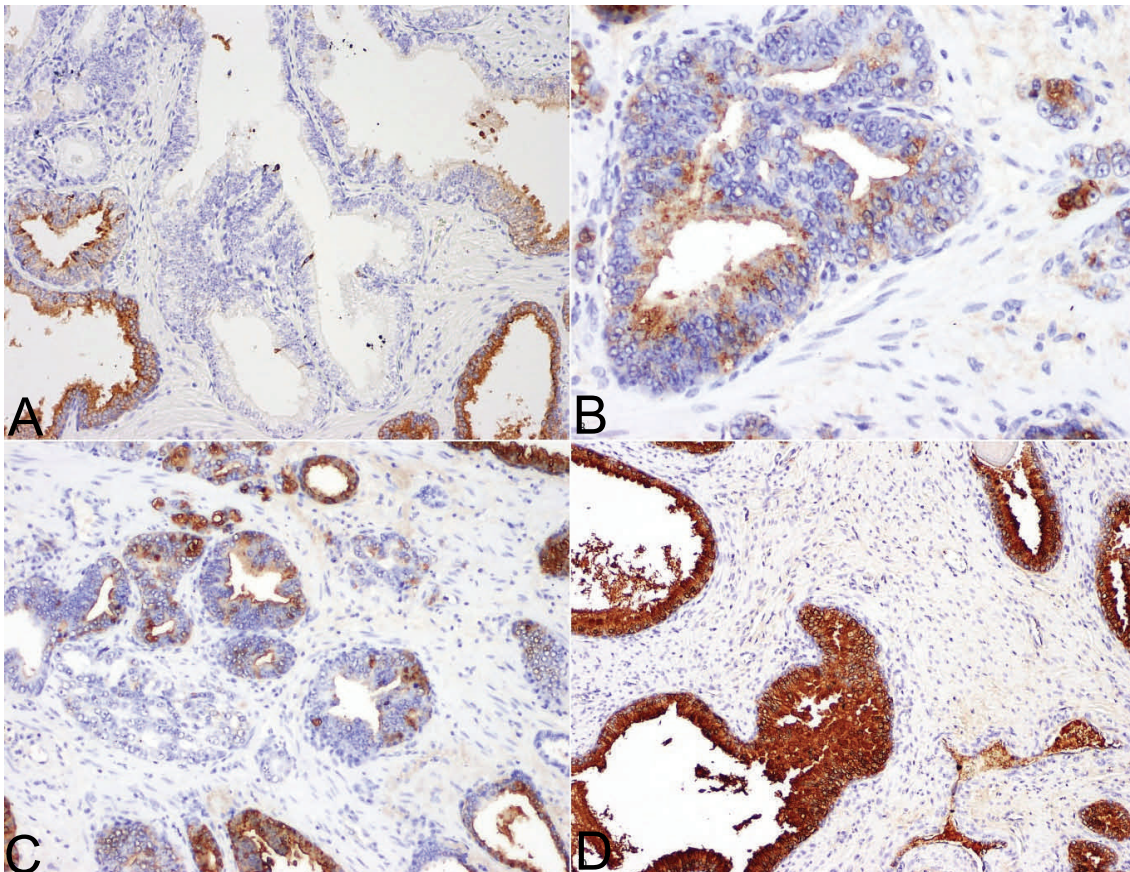
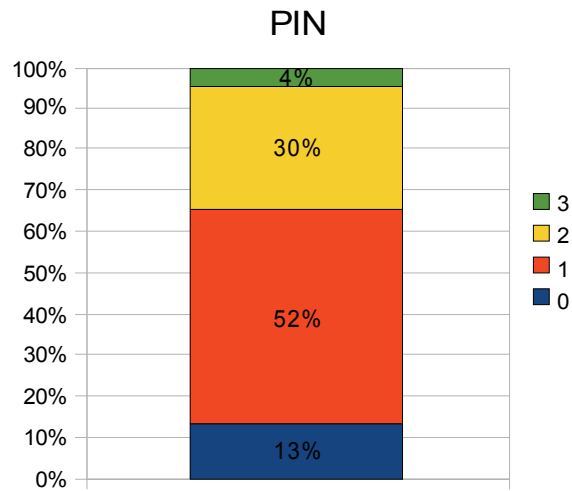
La inmunotinción observada en las áreas neoplásicas con una gradación **Gleason 5** de los 6 paciente que la presentaban fue la siguiente: con una tinción nula hubo 3 casos, siendo el 33% de la muestra, con la tinción de 1, eran 3 casos que constituye el 50% de los casos, no hubo ninguno con inmunorreacción tipo 2, y solo un caso con tinción difusa, correspondiente al 17% (gráfica 32).



CARCINOMA PROSTÁTICO

Además de las áreas claramente malignas, hemos estudiado en 25 casos las áreas con **neoplasia intraepitelial (PIN)** en las que hemos visto que en 3 casos no se observa inmunotinción, corresponden al 13% de la muestra, con inmunorreacción tipo 1 habían 12 casos, que son el 52% del total, con inmunotinción tipo 2 se estudian 7 casos, que corresponden al 30%, y por último 3 casos donde la inmunorreacción en difusa y fuerte, correspondiente al 4% de la muestra (gráfica 33).

Gráfica 33. En un 52% de los casos se observa una tinción débil en la población tumoral y tan solo en un 4% de los casos la tinción es total y difusa.

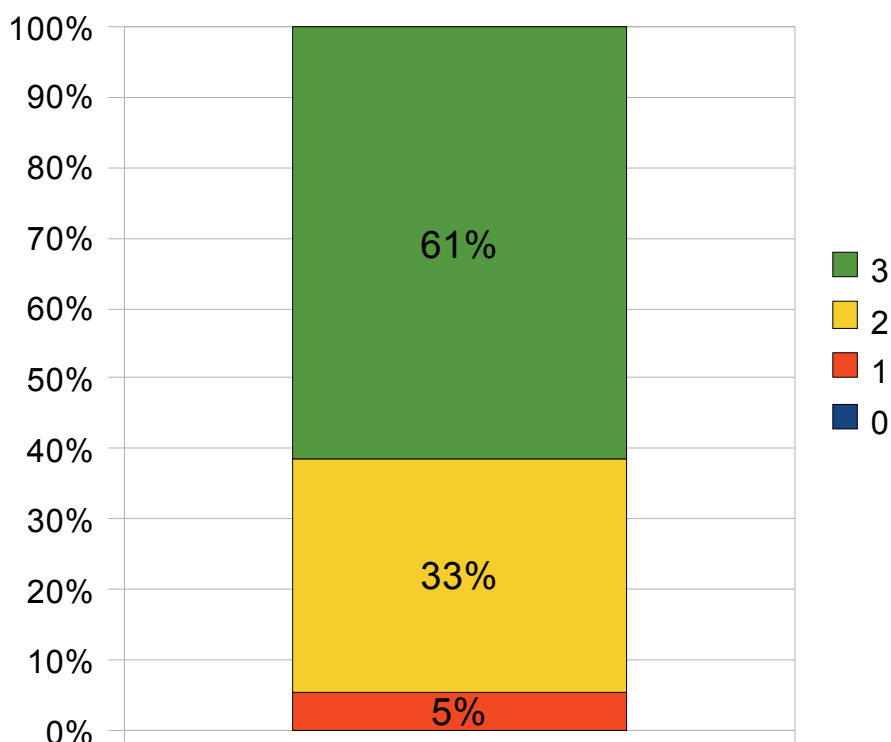


RESULTADOS

Figura 62 (página anterior). Al igual que en las anteriores imágenes, mostramos las distintas intensidades de tinción para la MSMB, en este caso en las áreas de PIN. En la figura A) no se detecta ninguna inmunorreacción. (B) Muestra una débil positividad citoplasmática en las células. (C) Imagen en la que se pone de manifiesto una moderada inmunorreacción con MSMB y (D) Se puede apreciar en esta imagen la característica expresión de MSMB.

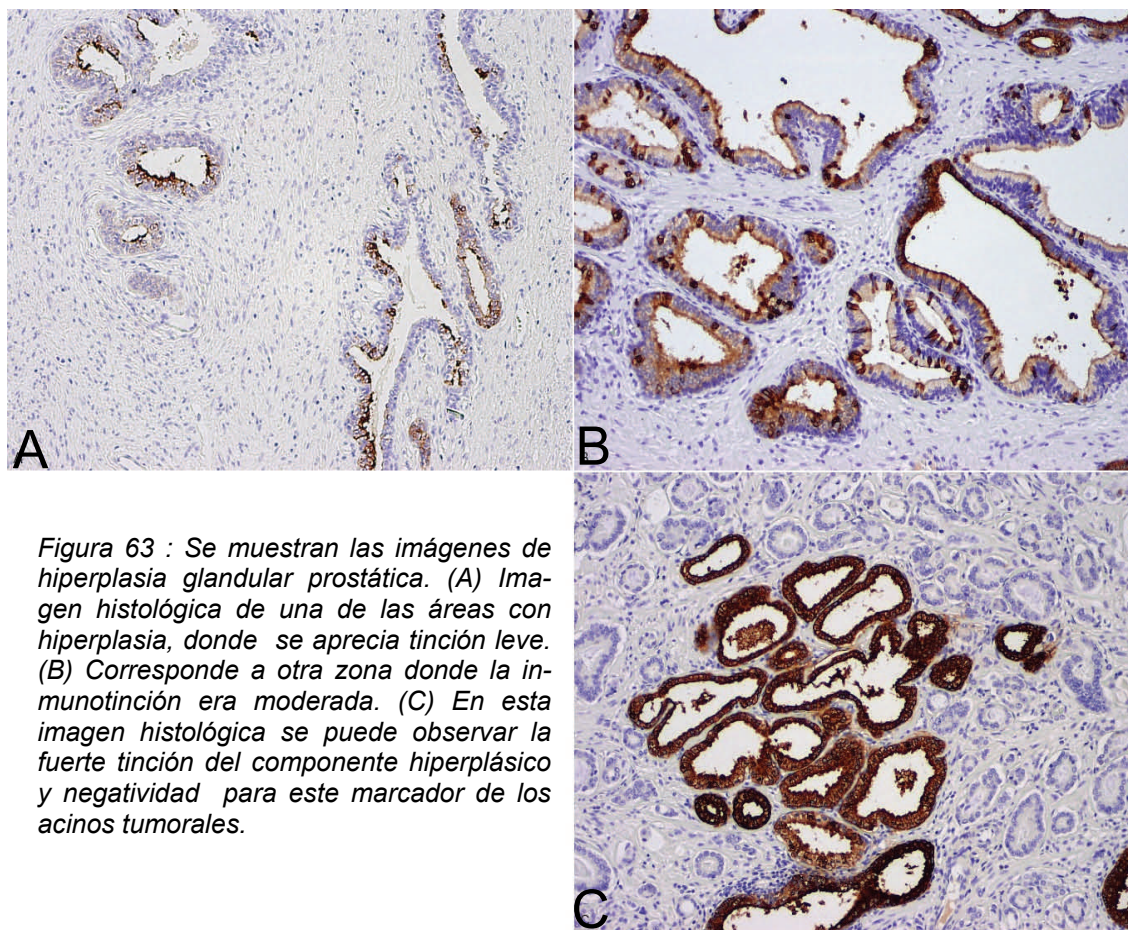
Y por último, se estudian las zonas con **hiperplasia glandular** incluida en las piezas de prostatectomía de 92 casos. No hemos observado ningún caso con tinción negativa para MSMB, 5 casos han mostrado una tinción débil y ocasional, que son el 5% de la muestra, una tinción moderada se apreció en 30 casos, correspondientes al 33% de los casos totales, y por último, con tinción claramente positiva y difusa se advirtió en 57 de los casos, que corresponden al 61% de la muestra (gráfica 34).

HIPERPLASIA GLANDULAR

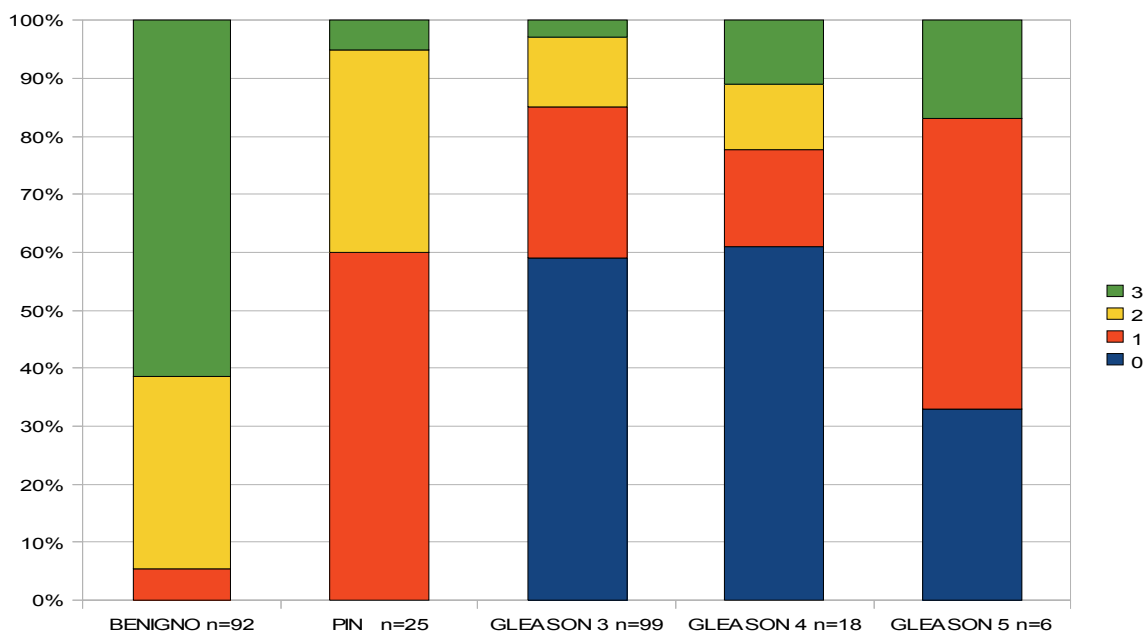


Gráfica 34. Diagrama de barras que representa el porcentaje con los diferentes patrones de inmunotinción en la hiperplasia glandular, siendo evidente que el más frecuente es la tinción total en las glándulas hiperplásicas.

CARCINOMA PROSTÁTICO



En resumen, podemos observar en el siguiente diagrama (gráfica 35), las proporciones de inmunotinciones, que van desde 0 que representa la nula reacción hasta 3, que es la inmunorreacción difusa, según las diferentes patologías estudiadas con el número de casos en cada uno de ellos.



RESULTADOS

4.4.11.- PCR DE TEJIDO Y GENOTIPADO DEL POLIMORFISMO DEL PROMOTOR DE MSMB (RS10993994) MEDIANTE RFLP:

Extracción de DNA de cortes de tejido incluido en parafina.

De los 100 casos incluidos en el estudio, en 99 contamos con dos cortes de tejido para hacer una extracción de DNA, por el procedimiento clásico de digestión con proteinasa K, extracción fenólica y precipitación con etanol. En pruebas preliminares, este procedimiento resultó en mejores rendimientos que el alternativo basado en kits con columnas de afinidad.

En los 99 casos pudimos obtener DNA cuantificable por espectrofotometría, que arrojó concentraciones entre 25 y 274ng/ μ l, con una media de 103ng/ μ l y una desviación estándar de 61ng/ μ l.

Amplificación de la región del promotor de MSMB en torno al polimorfismo rs10993994.

En tres muestras fuimos incapaces de amplificar la región de DNA en torno al polimorfismo, mientras que en las 96 restantes se pudo amplificar, ya fuese con una sola reacción (primers F1+R1) (en 80 casos) o necesitando una segunda reacción (anidada, con primers F+R) en 16 casos.

No hemos observado correlación entre la cantidad de DNA purificado y el éxito de la amplificación. De hecho, los tres fracasos de amplificación tenían cantidades de DNA en torno a la media (86, 134 y 129 ng/ μ l). Por tanto, parece que se trata más bien de la calidad del DNA amplificado o la presencia de contaminantes inhibidores de la reacción de la polimerasa.

Genotipado del polimorfismo rs10993994 de MSMB mediante RFLP (restriction fragment length polymorphism).

En todos los casos que conseguimos amplificar DNA alrededor de la base polimórfica del promotor de MSMB (n=96), fuimos capaces de determinar el genotipo de las muestras (TT, TC o CC), basándonos en la capacidad del enzima Hpy99I de reconocer la secuencia CG(A/T)CG. Por tanto, es capaz de

CARCINOMA PROSTÁTICO

cortar el alelo C (secuencia ...TGACGTCGAA) pero no el alelo T (secuencia ...TGATGTCGAA).

Los fragmentos de restricción los separamos en geles de acrilamida al 5%, y el DNA se visualiza mediante tinción con bromuro de etidio.

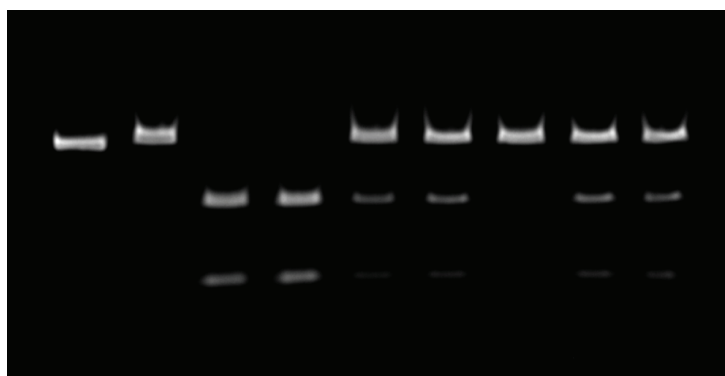


Figura 59. Gel de electroforesis representativo del método de PCR+RFLP. La calle 1 muestra el producto de PCR sin cortar, y las calles 2-9, muestras de CP en las que se observan los genotipos: TT, CC, CC, TC, TC, TT, TC, TC

De igual modo, hemos establecido los genotipos de 50 muestras de DNA anónimas, aleatorias, tomadas de excedentes de banco de sangre y correspondientes a sujetos sanos de nuestra población.

Conseguimos así la distribución de genotipos que se refleja en la tabla 30.

Tabla 30: Distribución de genotipos del polimorfismo rs10993994 de MSMB en las muestras de carcinoma de próstata y controles de banco de sangre.

	CC	TC	TT	frec.C	frec.T
Carcinoma Próstata	22	66	8	0.57	0.43
Controles	22	17	11	0.61	0.39

Las diferencias que observamos entre las frecuencias del alelo T, descrito como de riesgo de carcinoma de próstata, entre nuestros pacientes y la población de referencia son marginales (0.43 vs. 0.39), y tampoco resultan sustan-

RESULTADOS

cialmente diferentes de las descritas para otras 2 poblaciones caucásicas en bases de datos del NCBI (C: 0.6 / T: 0.4 y C: 0.67 / T: 0.33).

4.5.-CORRELACIÓN INMUNOCLÍNICOPATOLÓGICA:

4.5.1.- EXPRESIÓN DE Ki-67:

Se analiza posible relación entre **Ki-67** y las variables clínicas-patológicas Gleason, Mortalidad, Metástasis, PSA a los 5 años y tratamiento preoperatorio. Mediante test no paramétricos (Rho de Spearman) se realiza la correlación con Gleason y PSA a los 5 años, no detectando relación entre éstas, como se puede observar en la siguiente tabla (Tabla 31).

Tabla 31

Ki-67	<i>GLEASON</i>	<i>PSA A LOS 5 AÑOS</i>
Rho de Spearman	0,147	0,280
P	0,150	0,791

Para detectar una posible correlación entre Ki-67 y las variables de Metástasis, Mortalidad y tratamiento preoperatorio, se realizan test no paramétricos de Mann – Whitney, no observando tampoco relación entre éstas (Tabla 32)

Tabla 32

Ki-67	METÁSTASIS	MORTALIDAD	TRATAMIENTO PREOPERATORIO
U de Mann-Whitney	282,000	126,500	775,000
P	0,542	0,690	0,473

CARCINOMA PROSTÁTICO

4.5.2.- EXPRESIÓN DE p53:

Se analiza posible relación entre **p53** y las variables clínicas-patológicas Gleason, Mortalidad, Metástasis, PSA a los 5 años y tratamiento preoperatorio. Mediante test no paramétricos (Rho de Spearman) se estudia la correlación con Gleason y PSA a los 5 años, detectando correlación estadísticamente significativa ($P < 0,05$) entre p53 y PSA a los 5 años, como se puede observar en la tabla 3, pero no observando relación con Gleason (Tabla 33)

Tabla 33

p53	<i>GLEASON</i>	<i>PSA A LOS 5 AÑOS</i>
Rho de Spearman	0,010	0,249
P	0,919	0,017

Para detectar si hay diferencias en los niveles de expresión de p53 en función de las variables de Metástasis, Mortalidad y tratamiento preoperatorio, se realizan test no paramétricos de Mann – Whitney, observando correlación estadísticamente significativa ($P < 0,05$) con Metástasis y ninguna relación con Mortalidad ni tratamiento preoperatorio (Tabla 34)

Tabla 34

p53	METÁSTASIS	MORTALIDAD	TRATAMIENTO PREOPERATORIO
U de Mann-Whitney	194,000	135,000	822,000
P	0,044	0,810	0,735

RESULTADOS

4.5.3.- EXPRESIÓN DE BCL2:

Se analiza posible relación entre **bcl-2** y las variables clínicas-patológicas Gleason, Mortalidad, Metástasis, PSA a los 5 años y tratamiento preoperatorio. Mediante test no paramétricos (Rho de Spearman) se realiza la correlación con Gleason y PSA a los 5 años, no detectando relación entre éstas, como se puede observar en la siguiente tabla (Tabla 35)

Tabla 35

bcl-2	<i>GLEASON</i>	<i>PSA A LOS 5 AÑOS</i>
Rho de Spearman	0,048	0,088
P	0,369	0,402

Se realizan test no paramétricos de Mann- Whitney para detectar si los niveles de expresión de Bcl-2 son diferentes en función de las variables de Metástasis, Mortalidad y tratamiento preoperatorio, no observando relación entre éstas (Tabla 36)

Tabla 36

bcl-2	METÁSTASIS	MORTALIDAD	TRATAMIENTO PREOPERATORIO
U de Mann-Whitney	297,500	133,500	770,000
P	0,421	0,610	0,117

4.5.4.- EXPRESIÓN DE E-CADHERINA.

Se estudia la posible correlación entre **E-Cadherina** y las variables Gleason,

CARCINOMA PROSTÁTICO

PSA a los 5 años, Metástasis, Mortalidad y tratamiento preoperatorio. Para detectar la relación entre E-Cadherina con las variables Gleason y PSA a los 5 años, se realizan test no paramétricos con Mann-Whitney, no observando correlación entre ellas como se puede ver en la tabla 37.

Tabla 37

E-Cadherina	<i>GLEASON</i>	<i>PSA A LOS 5 AÑOS</i>
U de Mann-Whitney	667,500	612,500
P	0,883	0,785

A continuación, se estudia la correlación con Metástasis, Mortalidad y tratamiento preoperatorio, con el test Chi-Cuadrado, no detectando ninguna relación entre éstas y E-cadherina (Tabla 38).

Tabla 38

E-Cadherina	<i>MORTALIDAD</i>	<i>METÁSTASIS</i>	<i>TRATAMIENTO PREOPERATORIO</i>
Chi-Cuadrado	0,633	1,542	0,028
P	0,426	0,214	0,867

4.5.5.- EXPRESIÓN DE CROMOGRANINA A.

Se analiza posible relación entre **Cromogranina A** y las variables clínicas-patológicas Gleason, Mortalidad, Metástasis, PSA a los 5 años y tratamiento preoperatorio. Mediante test no paramétricos (Rho de Spearman) se realiza la correlación con Gleason y PSA a los 5 años, detectando relación con PSA a los 5 años, como se puede observar en la siguiente tabla (Tabla 39) no observando relación con Gleason.

Tabla 39

RESULTADOS

CROMOGRANINA A	<i>GLEASON</i>	<i>PSA A LOS 5 AÑOS</i>
Rho de Spearman	0,154	0,202
P	0,133	0,050

Para detectar una posible correlación entre Ki-67 y las variables de Metástasis y Mortalidad, se realizan test no paramétricos de Mann – Whitney, no observando tampoco relación entre éstas (Tabla 40)

Tabla 40

CROMOGRANINA A	<i>METÁSTASIS</i>	<i>MORTALIDAD</i>
U de Mann-Whitney	294	132,000
P	0,39	0,583

Para la correlación con el tratamiento preoperatorio y Cromogranina A se utiliza test no paramétrico Chi-Cuadrado, observando un valor de 1,474 con una P de 0,474, por lo cual no hay correlación estadísticamente significativa.

4.5.6.- EXPRESIÓN DE AMACR.

Se analiza posible relación entre **AMACR** y tratamiento preoperatorio mediante test no paramétricos (Rho de Spearman) detectando entre éstas, relación estadísticamente muy significativa ($P < 0,01$) como se puede observar en la siguiente tabla (Tabla 41)

Tabla 41

AMACR	<i>TRATAMIENTO PREOPERATORIO</i>
Rho de Spearman	-0,465
P	0,000

CARCINOMA PROSTÁTICO

4.5.7.- EXPRESIÓN DE c-erbB2

Se analiza la asociación estadística entre la expresión de **c-erbB2** y entre las variables de metástasis, mortalidad y score de Gleason. Para detectar una posible correlación entre c-erbB2 y las variables de Metástasis y Mortalidad, se realizan test Chi-Cuadrado no observando relación entre éstas (Tabla 42).

Tabla 42

c-erbB2	<i>METÁSTASIS</i>	<i>MORTALIDAD</i>
Chi-Cuadrado	0,233	0,096
P	0,629	0,757

La correlación entre c-erbB2 y la gradación de Gleason se estudian mediante test no paramétrico U de Mann-Whitney, no detectando asociación estadística entre dichas variables (Tabla 43).

Tabla 43

c-erbB2	<i>GLEASON</i>
U de Mann-Whitney	132
P	0,82

4.5.8.- CD 31:

Se estudia la posible correlación entre **CD31** y las variables PSA a los 5 años, Metástasis, Mortalidad, extensión extraprostática y tratamiento preoperatorio. Para detectar la relación con las variables PSA Metástasis, Mortalidad, extensión extraprostática y tratamiento preoperatorio se realizan test no paramétricos con Mann-Whitney, observando correlación entre CD 31 y metástasis,

RESULTADOS

con una asociación estadísticamente muy significativa ($p=0,021$). Pero no se detecta asociación entre las restantes variables, como se puede comprobar en la tabla 44 y 44'

Tabla 44

CD31	<i>MORTALIDAD</i>	<i>METÁSTASIS</i>
U Mann-Whitney	69,000	153,000
P	0,126	0,021

Tabla 44'

CD31	<i>EXTENSIÓN EXTRAPROSTÁTICA</i>	<i>TRATAMIENTO PREOPERATORIO</i>
U Mann-Whitney	538,500	760,000
P	0,259	0,464

Para analizar la posible relación entre el CD31 y los niveles de PSA a los 5 años, se realiza mediante el test no paramétrico Rho de Spearman, no detectando asociación estadística entre ellas (Tabla 45)

Tabla 45

CD31	<i>PSA A LOS 5 AÑOS</i>
Rho de Spearman	0,088
P	0,540

4.5.9.- MSMB:

Al hacer un análisis estadístico de la correlación entre grado Gleason de las neoplasias estudiadas y abundancia de expresión MSMB, mediante test no

CARCINOMA PROSTÁTICO

paramétricos (rho Spearman), hemos comparado la gradación de Gleason y la tinción de MSMB con las variables de mortalidad, metástasis y con PSA a los 5 años. Utilizando el test chi-Cuadrado para valorar la posible correlación entre Gleason 4 ó 5, la tinción de MSMB 2 ó 3 y mortalidad, así como con las metástasis, no observamos ninguna asociación estadística entre ellas, como se puede apreciar en la siguiente tabla (Tabla 46).

Tabla 46

GLEASON 4 Ó 5 Y MSMB 2 Ó 3	<i>MORTALIDAD</i>	<i>METÁSTASIS</i>
Chi-Cuadrado	0,647	0,932
P	0,421	0,334

Además, estudiamos la posibilidad de asociación entre MSMB y PSA a los 5 años. Para ello, hicimos el estudio mediante test no paramétricos (U de Mann-Whitney), pero diferenciando por un lado un subgrupo que incluía cualquier gradación de Gleason, o sea, Gleason 3, 4 ó 5 con una tinción de MSMB 2 ó 3, y otro subgrupo que incluía solo Gleason 4 ó 5 con una tinción de MSMB 2 ó 3. Encontramos una asociación estadísticamente significativa en el primer subgrupo, esto es que se aprecia correlación entre PSA a los años y cualquier gradación de Gleason (3, 4 ó 5) cuando las tinciones para MSMB son más evidentes (2 ó 3). En cambio, no es así cuando correlacionamos los grados 4 ó 5 de Gleason con dichas tinciones para MSMB (Tabla 47).

Tabla 47

PSA A LOS 5 AÑOS	<i>CUALQUIER GLEASON CON MSMB 2 Ó 3</i>	<i>GLEASON 4 Ó 5 CON MSMB 2 Ó 3</i>
U Mann-Whitney	360,000	38,000
P	0,036	0,534

RESULTADOS

Además, estudiamos mediante test no paramétricos U de Mann-Whitney, la posible correlación entre PSA a los 5 años cuando el Gleason era 3, 4 ó 5 y la tinción para MSMB era positiva en los diferentes grados, o sea 1 ,2 ó 3. En este estudio no observamos correlación para estas variables (Tabla 48).

Tabla 48

PSA A LOS 5 AÑOS	<i>CUALQUIER GLEASON CON MSMB 1 , 2 Ó 3</i>
U Mann-Whitney	997,000
P	0,616

DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

5.1. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, ANALÍTICOS Y CLINICO-PATOLÓGICOS GENERALES:

En este apartado comentaremos o discutiremos aspectos epidemiológicos concernientes a la edad de los pacientes, analítica (PSA) y su correlación clínico-patológica al estadio tumoral, recurrencias y metástasis. Sucesivamente, se analizará el significado pronóstico de aspectos patológicos convencionales concretos de la próstata considerando la gradación de Gleason, afectación de márgenes quirúrgicos, invasión capsular y extensión extraprostática, así como invasión de las vesículas seminales. Con posterioridad se revisarán aspectos inmunohistoquímicos (IHQ) y moleculares de significado pronóstico en el cáncer de próstata. Por último se expondrán esquemáticamente los factores pronósticos de más relevancia en cáncer prostático atendiendo a la extensión y tipo de tratamiento de la enfermedad.

5.1.1.- EDAD

En nuestra serie hemos observado un 4% de pacientes afectados de carcinoma prostático (CP) con edades por debajo de 50 años; entre 50 y 60 años, se engloba el 26 %; entre 60 y 70 años, teníamos el 44% y por último con más de 70 años, encontramos al 26%. Como podemos observar, el rango de edad más frecuente es entre 60 y 70 años, correspondiendo al 44% de los pacientes que forman el estudio. Además, si analizamos la cifra de los mayores 65 años observamos que se trata del 48 % de la muestra.

En el trabajo presentado por Larrañaga et al ¹⁷⁹, describen un 87% de los pacientes con CP con menos de 65 años, para las décadas entre 1975-79 y 1990-94, mientras que en los periodos 1990-94 al 2000-04 había disminuido al 79%.

CARCINOMA PROSTÁTICO

Recientemente, Cooperberg et al.⁶⁶ presentan un amplio estudio con 10627 casos con cáncer de próstata clínicamente localizados, en el cual diseñan un modelo para predecir el riesgo de progresión de la enfermedad. Lo llaman CAPRA (Cancer of the Prostate Risk Assessment), en el cual puntúan en una escala del 0 al 10 basándose en el nivel de PSA preoperatorio, gradación de Gleason, estadio clínico, porcentaje de cilindros por aguja positivos y la edad de paciente. En este estudio recogen las edades de la muestra con los siguientes porcentajes: menor de 50 años tienen el 2,6 %, entre 50 y 65 hay un 43,7 %, de 65 a 75 se englobaban el 39,6% y por último, con más de 75 años eran el 14,2%, con una media de edad de 66,1 años. Si los comparamos con nuestro estudio, obtenemos cifras similares, incluido la media de edad que obtuvimos de 64 años.

También hacer mención que al igual que lo que se recoge en la bibliografía^{66, 72, 179}, los pacientes de menos de 50 años, son escasos, constituyendo un 4% del total de nuestra casuística.

En cuanto a la relación entre la edad y factores pronósticos significativos, es controvertido. Se han realizado varios estudios de éstos. Por un lado, tenemos al realizado por Herold et al.¹⁵⁴, en el que concluyen en un extenso estudio con 567 hombres diagnosticados de carcinoma prostático que en los mayores de 65 años, hay mayor número de fracaso del tratamiento que entre los más jóvenes. También Obek et al.²⁴⁰, sugieren en su estudio con 489 pacientes con carcinoma prostático, que los más jóvenes tienen pronóstico más favorable en cuanto a la recurrencia de la enfermedad que los mayores de 70 años. Similares resultados obtuvieron Freedland et al.²⁵, en una muestra de 1753 pacientes con carcinoma de próstata en la que los más jóvenes obtenían resultados más favorables que los mayores de 70. Recientemente, en el año 2007, Magheli et al.¹⁹⁵ del grupo del John Hopkins publican los resultados de su estudio en 435 pacientes en los que encuentran asociación estadísticamente significativa entre los pacientes más jóvenes (46 a 55 años) con estadio más bajo ($p < 0,001$), menos frecuencia de afectación de los márgenes quirúrgicos ($p = 0,035$) y extensión extraprostática ($p < 0,001$). En dicho artículo conclu-

DISCUSIÓN

yen que el incremento de edad no estaba asociado con recurrencia bioquímica, no debiendo ser considerado como factor pronóstico independiente para la recurrencia de la enfermedad.

5.1.2.- PSA PREOPERATORIO

Pocas áreas en Oncología tienen un marcador tumoral tan valioso para la detección del cáncer como en Urología, lo es el PSA, considerándose el mejor marcador disponible para el carcinoma de próstata. Se trata de una glicoproteína producida específicamente por el tejido prostático, pero aunque es tisular-específico, no es específico de enfermedad cancerosa o neoplásica, porque la elevación del nivel sérico total de PSA también se encuentra en lesiones benignas como la prostatitis y la hiperplasia benigna prostática.

La U.S. Food and Drug Administration (FDA) aprueba oficialmente en 1994 el screening del PSA para el carcinoma prostático, definiendo 4.0 ng/ml como límite superior²⁰⁰. Las características del carcinoma prostático son más favorables cuando la enfermedad se detecta con los niveles bajos de PSA, por lo que, muchos usan el rango de 2.5-3.0 ng/ml para recomendar biopsia prostática.

En 1997 Partin et al.²⁴⁹ hacen una amplia revisión de 4133 pacientes, donde incluyen no solo la cifra de PSA preoperatorio, sino también, el estadio y el score de Gleason. En dicho estudio se observa como un 23% de casos tenían $PSA \leq 4$ ng/ml, entre 4 y 10 ng/ml hay un 48%, un 21% con PSA 10-20 ng/ml y > 20 ng/ml en el 8%.

En el estudio realizado por D'Amico et al. en el año 2000, con 977 pacientes que fueron tratados con prostatectomía radical y disección de ganglios linfáticos pélvicos, incluyen el estadio, gradación de Gleason y PSA entre otros parámetros. Las cifras de PSA preoperatorio fueron de ≤ 4 ng/ml en el 11%, entre 4 y 10 ng/ml en el 60%, de 10-20ng/ml en el 21%, siendo tan solo el 8% de los pacientes los que presentaban el $PSA > 20$ ng/ml.

También Lieberfarb et al. en 2002¹⁸⁶, estudiaron las cifras de PSA, puntua-

CARCINOMA PROSTÁTICO

ción de Gleason y estadio en una muestra de 2099 casos intervenidos con prostatectomía radical, destacamos aquí los porcentajes de las cifras de PSA preoperatorio. Encuentran ≤ 4 ng/ml hay 11,5%, entre 4 y 10 ng/ml encuentran el 60,5%, entre 10-20 ng/ml se observan el 20% y el 8% con PSA > 20 ng/ml.

En el estudio de Cooperberg et al.⁶⁶ mencionado previamente, en el que se propone el score CAPRA, se señala que el 43,9% de los casos tenían valores de PSA < 6 ng/ml, entre 6,01 y 10ng/ml, está el 29,2%, de 10,1 a 20 ng/ml en un 17,2%, un 4,1% entre 20,01 y 30, y por último > 30 ng/ml era un 5,7% de los casos.

Son datos muy similares a los que mostramos en nuestros resultados, donde se destaca que el 59% de nuestros pacientes tenían PSA entre 4 y 10, y un 21% con valores entre 10 y 20. No obstante, llama la atención que en nuestros pacientes el PSA > 20 ng/ml lo tenemos en el 14 % y con ≤ 4 ng/ml hay tan solo un 5% del total, cifras que difieren a la de los estudios que se encuentran publicados, si bien el número de pacientes recogido en nuestro estudio es muy inferior.

En este punto, y teniendo en cuenta las revisiones más recientes haremos mención a las cifra de PSA a partir del cual se plantea la indicación de biopsia prostática. Ya en el año 1997, Catalona et al. publican un estudio en 914 hombres voluntarios con más de 50 años, con niveles de PSA de 2.6 a 4.0 ng/ml, en el que descubren en un 22% de los pacientes carcinoma prostático, todos ellos localizados⁵³. También en un estudio de Nadler et al. en 2005 con 782 sujetos, de más de 40 años que tenían PSA entre 2.6 y 4 ng/ml, y que fueron sometidos a biopsia prostática, se detectó carcinoma prostático en el 16.2% de los casos²²⁷.

En el 2006, Makarov et al., publican un artículo en el cual estudian 2896 hombres tratados con prostatectomía radical y tenían PSA previo entre 2.6 y 6 ng/ml. En dicho estudio, consideran dos grupos, de 2.6 a 4 ng/ml y de 4.1 a 6ng/ml y observan en el grupo primero, asociación estadísticamente significativa entre Gleason menor de 7 ($p=0.004$), disminución de márgenes quirúrgicos

DISCUSIÓN

positivos ($p=0.02$) y disminución de extensión extraprostática ($p=0.001$). Por tanto, son muchos los que sugieren que en lugar de 4 ng/ml, se debería usar como límite el 2.5 ng/ml, debido al mejor pronóstico de los pacientes que se diagnostican con tales cifras más bajas de PSA ¹⁹⁹.

Al respecto y en relación con el diagnóstico de carcinoma prostático en pacientes con PSA por debajo de 4 ng/ml, Thompson et al., en 2004, investigaron la prevalencia de carcinoma prostático en hombres con PSA ≤ 4 ng/ml ³⁰¹, en una muestra de 18.882, observando que el 15.2% de éstos tenían carcinoma prostático, detectando que entre ellos, el 14.9% tenían una gradación Gleason 7. En la tabla 49 se puede observar de una manera más detallada las cifras de PSA 4 ng/ml que obtuvieron.

Tabla 49

<i>Carcinoma prostático en hombres con PSA bajo</i>		
NIVEL PSA (NG/ML)	HOMBRES CON CP (%)	ALTO GRADO DE CP(%)
<0.5	6.6	12.5
0.6-1.0	10.1	10.0
1.1-2.0	17.0	11.8
2.1-3.0	23.9	19.1
3.1-4.0	26.9	25.0

Tabla tomada de Thompson et al, 2004 ³⁰¹

5.1.2.1.-CORRELACIÓN PSA PREOPERATORIO Y EDAD

Oesterling et al. publican los niveles de PSA específicos con respecto la edad ²⁴¹, para ser más precisos, sobre la indicación de las biopsias prostáticas, sobretudo en pacientes con PSA entre 4-10 ng/ml y TR negativo. Se proponen unos **rangos de PSA específicos por edad** ²⁴¹ con el fin de aumentar la sensibilidad en pacientes jóvenes y la especificidad en pacientes más mayores, con lo que se evita la realización de las biopsias.

CARCINOMA PROSTÁTICO

Tabla 50. Rangos de edad-PSA

EDAD (AÑOS)	PSA (ng/ml)
40-49	2.5
50-59	3.5
60-69	4.5
70-79	6.5

Tabla tomada de Oesterling et al, 1993 ²⁴¹.

En el 2006 se publican unos estudios ^{134, 316} donde Vollmer y Grumkemeier, demuestran que la edad del pacientes y los niveles de PSA preoperatorio están relacionados.

Nosotros , en cambio, en nuestro estudio, no detectamos asociación estadística entre PSA y edad del paciente.

5.1.2.2.-CORRELACIÓN PSA PREOPERATORIO Y GLEASON

Vollmer en el año 2008 ³¹⁷ publican un estudio con 526 pacientes encontrando asociación estadísticamente significativa entre PSA y grado de Gleason. Observan que para un Gleason entre 4 y 6, la cifra media de PSA es de 7,3 ng/ml. Para Gleason de 7 a 10, el PSA era de 9,2 ng/ml.

En nuestro estudio hemos encontrado una correlación estadísticamente muy significativa entre el valor de PSA y el grado Gleason (P=0,000).

Si comprobamos las cifras de PSA en relación con la gradación de Gleason que teníamos fue: con Gleason de 4 hasta 6, la cifra media de PSA fue 5,87 ng/ml y con Gleason 7 hasta 10, la cifra media era de 19,31 ng/ml. En este trabajo los valores del PSA con Gleason 4-6 sí son similares a los publicados por Vollmer, pero no son extrapolables los de Gleason 7-10, donde ofrecemos cifras más elevadas (hasta 10 puntos por encima).

Berglund et al. en 2009, publican en un estudio realizado a 6130 pacientes,

DISCUSIÓN

sobre las cifras de recurrencia de la enfermedad según el PSA preoperatorio, así como en el grado de Gleason. Hacen especial hincapié en diferenciar dos grupos, por un lado con PSA < 2.5 ng/ml y por otro lado, PSA > 2.5 ng/ml. Observan como en el grupo < 2.5 ng/ml, el 6.5% tienen carcinoma prostático. Otro dato interesante que se puede extraer de este amplio estudio, es que en el 78% de estos pacientes con <2.5 ng/ml, el grado de Gleason es < 7, frente al 63% de los que presentan PSA > 2.5ng/ml ²³.

En esta misma línea, publican D'Amico et al. ⁷⁴ su artículo en el que encuentran una asociación estadísticamente significativa entre el PSA preoperatorio superior a 20 ng/ml y cualquier grado de Gleason.

5.1.2.3.-CORRELACIÓN PSA PREOPERATORIO Y VOLUMEN TUMORAL

Desde 1990, muchos habían observado que la cantidad de tumor en las biopsias prostáticas por aguja era importante para el diagnóstico ³¹⁷. En el artículo de Vollmer, se demuestra que la longitud total del tumor en la próstata es una variable importante para el pronóstico y que está estrechamente relacionado con la supervivencia global, con la edad del paciente, y con el nivel sérico de PSA.

Como ya hemos expuesto en la introducción, se han publicado en series previas a la "era screening PSA", una correlación muy fuerte entre el volumen tumoral y el pronóstico. También hay autores que encuentran que el PSA sérico se correlaciona con el volumen tumoral ¹⁴. La concentración sérica del PSA se correlaciona con el volumen de la glándula prostática. El PSA sérico aumenta 0,3µg/l por gramo de tejido normal y 3,5 µg/l por gramo de tejido canceroso. Si se expresa como índice, PSA/volumen de tejido prostático, en individuos normales y pacientes con hiperplasia benigna prostática, tienen un ratio de 0.099, pero en pacientes con carcinoma tienen un ratio de 1.7. También las concentraciones séricas de PSA aumentan no solo con el volumen de la glándula prostática, sino también con la edad. Sin embargo, un valor de PSA > 10 µl/l es inusual en ausencia de patología prostática, sea cual sea el

CARCINOMA PROSTÁTICO

volumen de la glándula o la edad. En el estudio se advierte una correlación estadísticamente significativa entre PSA y el volumen tumoral, quizás también apoyando la teoría de que hay más producción de PSA en parte, por el tejido prostático neoformado.

5.1.2.4.-CORRELACIÓN PSA PREOPERATORIO Y ESTADIO (pT)

El PSA es útil en la detección del carcinoma prostático, y sus niveles séricos se correlacionan con la agresividad de la enfermedad ²⁰⁰. En este sentido D. Armbruster en 1993, hace una revisión del PSA, y describe como las concentraciones de PSA son proporcionales al estadio clínico de la enfermedad. El PSA tiene valor pronóstico: Para pacientes en estadios B2 al D1, el aumento del PSA predice un aumento del riesgo de progresión de la enfermedad 2-6 meses antes de la evidencia clínica de la progresión. Chu y Murphy encuentran que en el 50% la supervivencia fue 40 semanas para aquellos pacientes con PSA < 3,6 ng/ml, 25 semanas si el PSA es 3,7-9,0 ng/ml y de 18 semanas si el PSA es > 9,1 ng/ml. Stein et al, encuentran como las concentraciones PSA detectables postoperatoriamente, están relacionadas como la extensa progresión tumoral ¹⁴.

Nosotros hemos estudiado una posible correlación entre las cifras de PSA antes de la intervención con mortalidad, así como la incidencia de metástasis, no observando ninguna asociación estadísticamente significativa con ninguna de éstas.

5.1.3.- ESTADIO FUNDAMENTADO EN PARÁMETROS PATOLÓGICOS:

El principal objetivo del examen patológico es proporcionar la información necesaria para guiar las terapias y evaluar o estudiar el pronóstico de la enfermedad. Incluyendo como características importantes el tipo histológico, la gradación de Gleason, el estadio patológico lo cual incluye el estudio de la

DISCUSIÓN

extensión extraprostática, estado de las vesículas seminales, márgenes quirúrgicos, volumen tumoral y estado de los ganglios e invasión vascular. Es por lo anteriormente descrito, que el estadio es importante en el tratamiento y pronóstico de la enfermedad.

Como hemos comentado con anterioridad, en 2009 Cooperberg et al.⁶⁶ presentan un amplio estudio con 10627 hombres con cáncer de próstata clínicamente localizados, donde definieron el score CAPRA. En lo referente al estadio encuentran un porcentaje de 47,4 de casos en el estadio T1, en el T2 un 50,1% y por último en el T3a, un 2,4%.

En el estudio presentado por Partin et al.²⁴⁹, también ya citado, se mencionan los porcentajes de los estadios que observaron en su serie de 4133 pacientes. Encuentran un 1% para el estadio T1a, para T1b hay un 3%, para T1c un 33% y detectan en el estadio T2a un 29%, un 21% para T2b, un 10% para T2c, y un 3% para un T3a.

Otro artículo ya mencionado con anterioridad que publica D'Amico et al.⁷⁴ en el año 2000, en el cual presentan un estudio con 977 pacientes, en concreto en lo que se refiere al estadio ofrecen unos datos del 31% para el estadio T1c, para el T2a 44%, en un estadio T2b encuentran un 10% y por último, en T2c hay un 15%.

Además, en el estudio ya también mencionado en esta discusión y publicado por Lieberfarb et al.¹⁸⁶ en el que estudian a 2099 pacientes, describen con un estadio T1c un 44%, con T2a un 34,4%, T2b, un 11% y por último, con T2c, un 10,6%.

En nuestro estudio el porcentaje más alto de casos, lo encontramos para el estadio T2c, siendo el 54,6% a diferencia del de D'Amico, que el más frecuente es el T2a, y en el de Lieberfarb y Partin que es el T1c. Además, detectamos para T2a un 11,3%, un 12,4% para T2b, encontramos también una alta frecuencia para T3a, siendo un 4,1% y por último, un 17% para T3b, sin tener ningún caso de estadio T1.

5.1.3.1.-CORRELACIÓN ESTADIO CON GLEASON:

CARCINOMA PROSTÁTICO

La gradación microscópica del adenocarcinoma prostático se ha correlacionado muy bien con los niveles de PSA preoperatorio, así como con el estadio patológico ^{49, 250}.

Partin et al. en su trabajo realizado en un estudio multiinstitucional con más de 4100 pacientes, encuentran que el nivel preoperatorio de PSA, el estadio clínico, así como la gradación de Gleason de las biopsias por cilindros, contribuyen significativamente para predecir el estadio patológico con una $p < 0,001$ ²⁴⁹.

Nosotros cuando estudiado la posible correlación entre estos dos parámetros y encontramos que es estadísticamente muy significativa esta asociación, al igual que se ha descrito en la bibliografía.

5.1.3.2.-CORRELACIÓN ESTADIO CON VOLUMEN TUMORAL:

En nuestro estudio vemos como el volumen tumoral y porcentaje tumoral, presentan una correlación muy significativa ($<0,01$) con el estadio, hecho razonable si tenemos en cuenta cuando estudiamos una pieza de prostatectomía, valoramos la "cantidad" de células neoplásicas, por lo que a mayor volumen y porcentaje tumoral, mayor estadio.

En un estudio que presenta Epstein et al. ¹⁰⁶, en el año 1994 con 660 casos que se hizo basándose en el volumen tumoral, se observó que hay un 10% de posibilidades de invasión capsular en tumores que miden más de 0,5ml, un 10% de probabilidades de invasión de vesículas en tumores que miden más de 4 ml y un 10% de probabilidades de metástasis en tumores con más de 5 ml

5.1.4.- METÁSTASIS.

En nuestro estudio con 100 pacientes que hemos seguidos entre 5 y 10 años

DISCUSIÓN

(media de 7,5 años), 5 de ellos hicieron metástasis antes de los 5 años del diagnóstico de carcinoma prostático, en tres de los cuales les llevo a la muerte. En la siguiente tabla representamos los datos de PSA preoperatorio, el grado de Gleason y el estadio, así como la edad en el momento del diagnóstico (tabla 51), de estos pacientes con metástasis

Tabla 51

EDAD	PSA PREOPERATORIO	GLEASON	ESTADIO
70	15	7	T2c
74	NO DISPONIBLE	6	T2a
69	NO DISPONIBLE	8	T3b
56	6,5	6	T2c
60	4,22	6	T2a
59	8,3	6	T2c
59	6,93	7	T3b

En el año 1993, Zagars et al.³⁴³, publican un artículo con los resultados en un estudio con 874 casos de cáncer prostático en el cual estudian las metástasis y supervivencia en el seguimiento hasta de 15 años de los pacientes. En el informe se refieren cifras de metástasis de 25% a los 5 años, 38% a los 10 años y del 47% a los 15 años. Estos últimos datos están relacionados independientemente con las metástasis, del score elevado de Gleason, altos niveles de fosfatasa ácida y edad por debajo de los 60 años.

En el artículo publicado del 2009 por Cooperberg et al.⁶⁶ (estudio CAPRA) presentan una cifras de desarrollo de metástasis óseas del 2,9%.

En 2003 Tangen et al.²⁹⁸ analizaron la supervivencia a los 10 años en 794 paciente con cáncer de próstata metastásico. De todos los pacientes el 77% vivió menos de 5 años, el 16% vivió entre 5 y 10 años, y tan solo el 7% sobrevivió los 10 años. Observaron que los factores predictores de mejor supervivencia, con una asociación estadísticamente significativa ($P < 0,05$) incluían: enfermedad mínima, no dolor óseo, gradación de Gleason baja y bajos niveles de

CARCINOMA PROSTÁTICO

PSA.

5.1.5.- RECURRENCIA DE LA ENFERMEDAD:

Otro dato importante para evaluar el pronóstico y evolución de la enfermedad es la recurrencia, que se comprueba midiendo los niveles de PSA a los 5 años de la prostatectomía radical.

Cuando analizamos este parámetro en nuestro estudio, observamos que en 9% se aprecia un PSA por encima de 0,2 ng/ml (tabla 52) y en el 4,5% hay un aumento del PSA por encima de 5 ng/ml.

Tabla 52

PSA A LOS 5 AÑOS	EDAD	GLEASON	METÁSTASIS	INVASIÓN VESÍCULAS SEMINALES	EXTENSIÓN EXTRAPROSTÁTICA
0,2	72	7	NO	-	NO
0,25	44	6	NO	NO	SI
0,3	59	7	NO	SI	NO
0,34	50	6	NO	SI	NO
0,73	66	6	NO	SO	NO
0,73	50	6	NO	SI	SI
0,99	63	7	NO	NO	NO
5,1	74	6	SI. PULMÓN	NO	NO
264	59	7	SI. ÓSEA	NO	SI
282	67	8	NO	SI	SI

Una vez realizado el análisis estadístico, se aprecia una correlación muy significativa con el Gleason y el estadio patológico, ambos con una $P=0,000$.

En un reciente estudio realizado en 1384 pacientes intervenidos de carcinoma prostático que presentaron Menon et al.²¹⁴ en el cual analizan la supervivencia libre de enfermedad a los 5 años. Encuentran que un 60,9% tienen Gleason 7-10 y un 25.5% observan un estadio patológico $\geq T3$. La recurrencia bioquímica la marcan con el $PSA \geq 0,2$ ng/ml. La supervivencia libre de recurren-

DISCUSIÓN

cia bioquímica fue del 95,1%, 90,6%, 86,6%, y de 81% a 1, 3, 5, 7 años de la intervención quirúrgica. En el análisis multivariante detectan como los predictores más fuertes de recurrencia bioquímica a la gradación de Gleason grados 8-10 ($p < 0.0001$) y al estadio patológico T3b/T4 ($p < 0.0001$). Datos muy similares a los obtenidos en nuestro estudio.

También Aho et al.³ en el mismo año, publican un estudio de 505 casos tratados con prostatectomía radical por carcinoma prostático. La tasa de supervivencia libre de recurrencia a los 10 años fue del 88%, siendo a los 13 años del 82%. Encuentran igualmente en un análisis multivariante, que los factores que se asocian con fracaso después de los 5 años fueron: gradación de Gleason 7 ($p = 0,036$), Gleason 8-10 ($p = 0,002$), extensión extracapsular ($p = 0,003$) y la invasión de vesículas seminales con una $p = 0,062$.

En el año 2010 Boorjian et al.³¹, presentan en un artículo los resultados obtenidos en su estudio con 11,729 pacientes. En el 31,1% identifican márgenes quirúrgicos positivos, detectando una tasa libre de recurrencia bioquímica a los 10 años, del 56% para los que tenían márgenes positivos y del 77% para los que tenían márgenes negativos. En el estudio multivariante, la presencia de positividad en los márgenes quirúrgicos aumentaba el riesgo de recurrencia bioquímica y recurrencia local, pero no se demostró asociación con el incremento de la mortalidad específica por cáncer.

En este año y en relación con la expresión de genes, Cuzick et al. estudian los genes que se expresan de manera diferente según el ciclo celular, “genes de progresión de ciclo celular” (CCP), cuya expresión se eleva cuando las células se dividen. Estudiaron dos cohortes de pacientes de CP: tratados con prostatectomía radical y otros con tratamiento conservador. El perfil de expresión de 31 genes CCP resultó ser el mejor predictor individual de recurrencia de la enfermedad, y si lo combinan con PSA tienen un predictor pronóstico muy bueno. Proponen que la combinación del CCP score y concentración de PSA es particularmente útil para pacientes en estadios tempranos de la enfermedad porque permite identificar aquellos que se pueden beneficiar más de

CARCINOMA PROSTÁTICO

un tratamiento agresivo de entrada (Cuzick et al., 2011) .

5.1.6.- MORTALIDAD:

Cuando analizamos la mortalidad en nuestra casuística de 100 pacientes diagnosticadas de cáncer prostático, observamos que fallecen tres relacionados con la enfermedad. Además, mueren otros 5 pacientes no relacionados con la enfermedad. En la siguiente tabla exponemos los datos referentes a las edades, grado de Gleason, PSA preoperatorio, estadio y metástasis (tabla 53):

Tabla 53

EDAD	PSA PREOPERATORIO	GLEASON	METÁSTASIS	ESTADIO
70	15	7	HEPÁTICA	T2c
74	NO DISPONIBLE	6	PULMONAR	T2a
69	NO DISPONIBLE	8	ÓSEA	T3b

Desde la década de los 90 se pueden encontrar en la bibliografía, numerosos artículos que hacen referencia a la mortalidad por cáncer de próstata. En este sentido, en el año 1992 ¹⁶³, Johansson et al. publican un estudio, con seguimiento durante 10 años, de 223 pacientes diagnosticados de carcinoma prostático en estadios tempranos de la enfermedad (T0-2, NX, MX). En él encuentran que un 8.5 % del total fallecen del cáncer de próstata, siendo la frecuencia de supervivencia específica de la enfermedad del 86.8%.

Cuzick J, Swanson GP, Fisher G, Brothman AR, Berney DM, Reid JE, Mesher D, Speights V, Stankiewicz E, Foster CS, Moller H, Scardino P, Warren JD, Park J, Younus A, Flake DD2nd, Wagner S, Gutin A, Lauchbury JS, Stone S; on behalf of the Transatlantic Prostate Group. Prognostic value of an RNA expression signature derived from cell cycle proliferation genes in patients with prostate cancer: a retrospective study. *Lancet Oncol.* 2011 Feb 8

DISCUSIÓN

Zagars et al ³⁴³, en un artículo ya comentado sobre las metástasis, publican los resultados en un estudio con 874 casos de cáncer prostático en relación a la supervivencia total. Ésta es del 77% a los 5 años, 49% a los 10 años y del 32% a los 15 años. Se destaca que en los casos de estadio clínico A2/B y bajo grado de Gleason, tienen una alta expectativa de supervivencia de 15 años; mientras que en estadio clínico C y alto grado histológico, la supervivencia a los 10 años es menor del 20%.

Catalona et al., en el año 1998 ⁵², también publican un amplio estudio con 1778 casos. En dicho artículo demuestran una asociación significativa entre PSA preoperatorio y la supervivencia libre de enfermedad a los 7 años; de este modo presentan unas cifras del 76 al 93% de la probabilidad de no progresión cuando el PSA es inferior a 10 ng/ml. Concluyendo que la tasa de supervivencia específica por cáncer de próstata estimada a los 7 años es del 97%.

En el año 2009, Andriole et al. publican los resultados de mortalidad del estudio de screening randomizado del cáncer de próstata ⁹. En este artículo se muestran los resultados del escrutinio en lo que se refiere al cáncer de próstata, porque éste incluye además, el examen del cáncer de pulmón, colorectal y ovario (Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian – PLCO). La muestra incluye 76.693 casos, la mitad de ellos se les hacía el screening anual (PSA y examen digital rectal), y la otra mitad, constituía el grupo control. A los 7 años, el grupo de screening se asoció con un incremento relativo del 22% en la frecuencia del diagnóstico del Cáncer prostático, con respecto al grupo control; sin embargo, el screening no conllevó reducción de la mortalidad por CP durante los 7 primeros años, con similares resultados en los 10 primeros años. Concluyen que después de 7 a 10 años de seguimiento, la tasa de mortalidad por Cáncer prostático, fue muy baja y que no existían diferencias significativas entre los dos grupos.

En el estudio de Cooperberg et al.⁶⁶ sobre 10627 casos con cáncer de próstata recogen un 2,4% de fallecidos por el cáncer de próstata y 14,9 % por otras

CARCINOMA PROSTÁTICO

causas. Comparando estos resultados con los de nuestro estudio, el porcentaje de fallecidos por la enfermedad es muy similar, no siendo tan similar el de los fallecidos por otra causa.

5.1.6.1.- CORRELACIÓN ENTRE MORTALIDAD Y GRADACIÓN DE GLEASON:

En el estudio que llevamos a cabo, en los tres pacientes fallecidos por progresión de la enfermedad, podemos comprobar como en uno de ellos, el Gleason era de 6, en otro fue 7, y por último, el que presentaba la metástasis ósea, ofrecían un grado 8 de Gleason. La correlación entre la gradación de Gleason y la mortalidad es evidente; así, pacientes con Gleason de 2 a 4, casi nunca desarrollan una enfermedad agresiva, mientras que la mayoría de los pacientes con Gleason 8-10 mueren de carcinoma prostático ²¹⁶.

Además, esta correlación de la gradación de Gleason con la mortalidad, también se mantiene con los estadios. De este modo, la combinación del estadio y gradación, constituye el mejor valor predictivo para los pacientes.

En el artículo de Rioja et al., en el 2008 ²⁶³, se presenta una revisión de 781 pacientes, donde refiere que la supervivencia libre de progresión por enfermedad en el grupo de Gleason 8-10 es significativamente peor a la del grupo Gleason 2-7. Además, se afirma que los pacientes con Gleason 8-10 presentan mayor probabilidad de recurrencias. En concreto, la supervivencia libre de enfermedad a los 3 y 5 años para los Gleason 8-10, fue de 56% y 35%, valoración significativamente peor que la del resto del grupo.

5.1.6.2. CORRELACIÓN ENTRE MORTALIDAD Y PSA PREOPERATORIO:

En nuestro caso los tres pacientes que fallecen por la enfermedad, solo en un caso disponíamos de la cifra de PSA preoperatorio, que era de 15 ng/ml.

En el año 2009 Schröder et al. ²⁸⁰ publican un extenso estudio con 182.000 casos entre 50 y 69 años de 7 países europeos, incluyendo España en el que

DISCUSIÓN

evalúan el screening con PSA en las frecuencias de muerte por carcinoma prostático. En el trabajo muestran como el uso de screening con PSA se asoció a una significativa reducción absoluta del 7,1% de muertes por carcinoma prostático después de un seguimiento de 8,8 años. Estos hallazgos correspondieron a una reducción relativa del 20% en frecuencia de muerte por cáncer de próstata entre hombres de 55 a 69 años. Como efecto adverso más importante de este screening con PSA, destacan el sobrediagnóstico y sobretratamiento.

En el estudio ya comentado de Rioja et al.²⁶³ presentado en el año 2008 con 781 casos, se muestra como los pacientes con PSA <11 ng/ml, tienen una supervivencia significativamente mejor que los que presentan PSA > 11 ng/ml. Así, se refiere una supervivencia a 3 y 5 años de 74% y 30% para los que tienen PSA < 11 ng/ml, mientras que para los que tienen PSA > 11 ng/ml, encuentran una supervivencia a los 3 y 5 años de 40% y 7% respectivamente. Se describe cómo los factores influyentes en las supervivencia libre de progresión incluyen, además del PSA, el estadio patológico: Los pacientes con pT2 tienen una supervivencia significativamente mejor que los pT3, de modo que a los 5 y 3 años para los estadio T2 tienen una supervivencia de 80% y 54%, respectivamente, siendo del 40% y 27%, respectivamente, para los estadios T3²⁶³.

FACTORES PRONÓSTICOS ASOCIADOS CON CANCER PROSTÁTICO DE ACUERDO CON EL NIVEL DE EXTENSIÓN.

A) PACIENTES CON ENFERMEDAD CONFINADA AL ÓRGANO Y TRATADOS CON PROSTATECTOMÍA RADICAL.

1.- Factores pronósticos asociados a la supervivencia:

CARCINOMA PROSTÁTICO

Factores pronósticos	p valor	Referencia
Volumen tumoral	<0,009	Salomon et al.
Gradación Gleason	<0,0002	Hoznek et al.
Márgenes quirúrgicos	<0,009	Hoznek et al.
Estadio	<0,02	Kuczyk et al.

2.- Factores pronósticos asociados a la progresión de la enfermedad:

Factores pronósticos	p valor	Referencia
Edad	<0,01	Obek et al.
Gradación Gleason	<0,0001	Epstein et al.
Invasión capsular	<0,001	Wheeler et al.
PSA	<0,001	Salomon et al.
Márgenes quirúrgicos	<0,075	Bloom et al.
Estadio	<0,001	D'Amico et al.

B) PACIENTES CON CÁNCER DE PRÓSTATA CON EXTENSIÓN FUERA DE LA PRÓSTATA (ENFERMEDAD AVANZADA):

1.- Factores pronósticos asociados a la supervivencia:

DISCUSIÓN

Factores pronósticos	p valor	Referencia
Receptor androgénico	<0,01	Segawa et al.
Receptor androgénico	<0,02	Miyoshi et al.
PSA total	<0,001	Bjork et al.

2.- Factores pronósticos asociados a la progresión de la enfermedad:

Factores pronósticos	p valor	Referencia
Gradación Gleason	<0,0001	Vesalainen et al.
Gradación Gleason	<0,007	Shurbaji et al.
Receptor androgénico	<0,03	Sadi et al.

5.2.- SIGNIFICADO PRONÓSTICO DE ASPECTOS PATOLÓGICOS O MORFOLÓGICOS CONVENCIONALES:

5.2.1.- GRADACIÓN DE GLEASON:

Donald F. Gleason en 1966 creó el sistema de gradación para el carcinoma prostático, basándose exclusivamente en el patrón histológico de diferenciación de las células tumorales en cortes teñidos con H & E. Cinco patrones básicos son los utilizados para generar la suma de la gradación histológica (se suman los dos patrones dominantes), los cuales oscilan desde el 2 al 10. Desde los años 80 y 90 se comienzan a publicar estudios, siendo buenos

CARCINOMA PROSTÁTICO

ejemplos los de Bostwick ³⁴ y Epstein ¹⁰⁵ que indican que el grado de Gleason es un predictor significativo de la supervivencia del carcinoma prostático. En conjunto, son numerosos los artículos que se han publicado correlacionando de la gradación de Gleason con la mortalidad, como ya hemos comentado previamente, aunque nuestra serie de casos, probablemente por su bajo número, no permite detectar una asociación significativa entre ambos parámetros ($P=0,09$).

En el artículo que publica Partin et al., en el año 1997 ²⁴⁹, presentan la puntuación de Gleason, además de las cifras de PSA preoperatorio y estadio que ya hemos mencionado. Encuentran un 73% para Gleason 2-6 (de éstos, un 5% es Gleason 2-4, un 17% para Gleason 5 y un 51% para Gleason 6). Para Gleason 7 hay un 22% de la muestra y, por último, para Gleason 8-10 observan un 5%.

D'Amico et al. ⁷⁴ en el artículo que ya hemos comentado anteriormente en el que estudian una muestra de 977 pacientes, encuentran que un 16% se tratan de Gleason 2-6 un 74% (con Gleason 6 son la mayoría, 46%), un 17% son Gleason 7 y, por último, un 7% muestran una puntuación Gleason de 8-10.

Tales cifras similares a las obtenidas en el estudio de Lieberfarb et al. ¹⁸⁶, también ya mencionado previamente, donde encuentran un 72,9% para Gleason 2-6, en 20,2% para Gleason 7 y, para Gleason 8-10, un 6,9%.

En el ya previamente citado estudio de Cooperberg et al. ⁶⁶, encontraron una gradación de Gleason entre 2 y 6 para un 65,5% de los 10627 casos de CP clínicamente localizado, un 16,8% con Gleason 3+4, en un 8,7% de Gleason 4+3 y con un Gleason de 8-10, en un 9% de los casos.

Al igual que en estos cuatro amplios estudios ^{66, 74, 186, 249} que hemos presentado, porcentajes similares se confirman en nuestra serie, donde el rango de Gleason más frecuente es 2-6 que corresponde al 72,4%, siendo el 20,4% Gleason 7 y, con Gleason 8-10 el 7,2% de los casos.

Hay autores que han comprobado como la incidencia actual de carcinoma de próstata con Gleason 8-10 ha descendido a un 6-10%, en comparación con el

DISCUSIÓN

16% de la década de los 80 ²⁶³.

5.2.1.1.-CORRELACIÓN ENTRE GLEASON Y VOLUMEN TUMORAL:

En nuestro estudio con 100 casos, observamos una asociación estadísticamente muy significativa ($P=0,002$) entre gradación de Gleason y la masa del tumor.

En un estudio ya comentado que presentaba Epstein ¹⁰⁶, en 660 hombres diagnosticado de carcinoma prostático en estadios clínicos T1-T2, muestran las relaciones entre el grado de Gleason y el volumen tumoral. Sus resultados reflejaron que el 16% de los tumores fueron insignificantes ($< 0,2 \text{ cm}^3$ y confinados a la próstata, con una gradación de Gleason < 7) y el 10% de los casos eran tumores mínimos: $0,2$ a $0,5 \text{ cm}^3$, confinados a la próstata y con un Gleason < 7 ; el 37% eran tumores avanzados (penetración capsular, con una gradación de Gleason ≥ 7 o márgenes quirúrgicos positivos, afectación de vesículas seminales o ganglios linfáticos).

5.2.2.- VOLUMEN TUMORAL:

Aunque el volumen tumoral parece un importante factor pronóstico en el carcinoma de próstata, no es práctico en la clínica de rutina porque no siempre es palpable ⁴⁵. Quizá el uso de técnicas de imagen más modernas acabe implantando estimaciones de volumen tumoral en un futuro, pero en la actualidad la estimación del volumen tumoral se suele hacer sobre la pieza de prostatectomía.

En nuestro estudio obtuvimos 26 casos con un volumen estimado entre $0,13$ y $0,5 \text{ cm}^3$; 20 casos entre $0,5$ y 1 cm^3 ; 26 casos entre 1 y 2 cm^3 ; hubo 6 casos entre 2 y 3 cm^3 ; 8 entre 3 y 4 cm^3 ; tan solo 2 entre 4 y 5 cm^3 ; y con más de 5 cm^3 fueron 12 casos. Se estudió la posible correlación estadística entre el volumen y mortalidad, metástasis y PSA a los 5 años, sin que se apreciara asociación entre ellas. Esta falta de asociación entre el volumen tumoral estima-

CARCINOMA PROSTÁTICO

do en nuestros casos y las cifras de PSA a los 5 años ($P=0.248$) parece contraintuitiva, y es posible que se deba al hecho que en solo 52 casos contamos con valores de PSA a los 5 años. La falta de asociación del volumen tumoral con la mortalidad y metástasis se puede justificar, con toda probabilidad, con el bajo número de casos fallecidos por la enfermedad y con metástasis.

En el año 1990, McNeal et al.²¹⁰, en un estudio con 176 piezas de prostatectomía, encuentran que la afectación de la cápsula, el volumen tumoral y la afectación de los ganglios, están fuertemente correlacionados. Señalan el volumen crítico en 12 centímetros cúbicos, por encima del cual, están asociados la invasión capsular, márgenes quirúrgicos positivos y / o ganglios positivos.

Posteriormente Epstein et al.¹⁰², evaluaron a 185 pacientes tratados con prostatectomía radical en estadio pT2. A los 5 años observaron como en el 31% de los casos progresaron, tanto en el grado de Gleason, como márgenes quirúrgicos y el volumen tumoral, pero el volumen tumoral no proporciona información pronóstica independiente, más allá de la que da el Gleason y el estado de los márgenes quirúrgicos. Bostwick et al.³⁶ en el año 1993, evalúan la utilidad del volumen tumoral para predecir la progresión del cáncer de próstata, observando que el volumen tumoral es un predictor significativo para la progresión de la enfermedad. Ellos encuentran que había un 10% de probabilidad de invasión de la cápsula en los casos que tenían unos $0,5 \text{ cm}^3$, y un 10% de probabilidad de metástasis a distancia en los tumores que medían alrededor de $5,0 \text{ cm}^3$.

Más recientemente, en el año 2010, fue Wolters et al.³²⁹, quienes presentan un estudio de 344 pacientes con carcinoma prostático donde estudian el valor pronóstico del volumen tumoral en relación con la progresión de PSA, recurrencia local y metástasis a distancia. Encuentran que en tumores $> 0,5 \text{ cm}^3$ son predictores los tres parámetros, pero no añaden valor pronóstico en los estudios de los parámetros patológicos de rutina.

5.2.3.- AFECTACIÓN DE MÁRGENES QUIRÚRGICOS:

DISCUSIÓN

El significado pronóstico de la afectación de márgenes quirúrgicos en la pieza de prostatectomía radical es incierto. Mientras que hay numerosos estudios que han concluido que los márgenes quirúrgicos afectados son un factor pronóstico adverso independiente ¹⁰¹, otros han publicado que el estado de los márgenes quirúrgicos no afecta el pronóstico.

En nuestra serie de 100 pacientes en un 53% de los casos se descubre afectación de márgenes quirúrgicos, encontrándose sin afectación de los mismos en el 47% restante. Después de hacer el análisis estadístico, no detectamos correlación entre el estado de los márgenes quirúrgicos y la gradación de Gleason o los niveles de PSA a los 5 años.

En 1993 Epstein et al. ¹⁰⁵ publican un análisis multivariante en 500 piezas de prostatectomías retropúbicas con carcinoma prostático en estadio clínico A y B, que tenían márgenes quirúrgicos afectados, observando correlación con la progresión. Recientemente Kausik et al. ¹⁶⁸, estudian el significado pronóstico de los márgenes quirúrgicos positivos en 1202 pacientes con carcinoma prostático en estadio pT3a/b N0, datos recogidos del registro de la Clínica Mayo. En dicho estudio encuentran que los márgenes quirúrgicos positivos son un factor predictivo para la recurrencia de la enfermedad en este estadio patológico, independientemente del PSA, gradación de Gleason y ploidia de DNA.

Swindle et al. ²⁹⁶ en una publicación que realizan del carcinoma prostático en estadio T1-T3, confirman que los márgenes quirúrgicos positivos en la pieza de prostatectomía, se asocia con un aumento del riesgo en la recurrencia, además de relacionarse con PSA preoperatorio, estadio clínico, gradación de Gleason, estadio patológico, extensión extracapsular, afectación de vesículas seminales y de ganglios, realizando diferentes métodos estadísticos. Según los autores, de estos factores que influyen en el pronóstico, solo el estado de los márgenes quirúrgicos es el que puede ser influenciado por la técnica quirúrgica.

Wright et al. ³³⁰ en el año 2010 realizan una extensa revisión de los márgenes quirúrgicos en 65.633 pacientes. Un 0,44% de éstos fallecen de cáncer de

CARCINOMA PROSTÁTICO

próstata durante un seguimiento medio de 50 meses. Los márgenes quirúrgicos positivos los observan en el 21,2%, siendo más frecuentes en los estadios pT3a que en el pT2c (44% vs 18%) con una $p > 0,001$. A los 7 años la tasa de supervivencia específica de enfermedad fue de 97,6% para los que tenían márgenes negativos y de 92,4% para los que mostraban márgenes quirúrgicos positivos. Así mismo, los márgenes positivos, en el análisis multivariante se expresaron como predictor independiente de la mortalidad por cáncer de próstata. Estos hallazgos apoyan la importancia de optimizar las técnicas quirúrgicas para conseguir un óptimo resultado quirúrgico oncológico.

5.2.4.- INVASIÓN DE LA CÁPSULA:

Se define la invasión capsular cuando observamos glándulas prostáticas neoplásicas en la cápsula sin extensión extraprostática. Histológicamente, la cápsula prostática está bien definida; en algunas áreas aparece como una banda de tejido fibromuscular, es por lo que este término de invasión de la cápsula, debería sustituirse por “extensión extraprostática”¹⁰¹.

En nuestro estudio se detecta que en el 35,1% de los casos hay invasión de la cápsula prostática. Nuestros resultados son similares a los descritos en la bibliografía, destacando la correlación estadísticamente significativa ($P=0,000$) con la gradación de Gleason.

En 1996, Bostwick et al.³⁶ recogen en un artículo una revisión en 314 casos con carcinoma prostático en estadio T1c-T2c un porcentaje del 33,1%. Realizan un análisis multivariante observando que los factores pronósticos independientes a la invasión de la cápsula fueron el PSA preoperatorio, gradación de Gleason y el porcentaje de las muestras afectadas en las biopsias.

Kumano et al.¹⁷⁷ en el año 2009 estudian en 297 hombres con carcinoma prostático, en los que observan afectación de la cápsula en el 19%, y analizan la asociación estadística entre la recurrencia bioquímica y el PSA preoperatorio, gradación de Gleason, invasión perineural e invasión capsular. En dicho

DISCUSIÓN

análisis, se obtiene asociación significativa con todos los parámetros anteriores, siendo únicamente el PSA preoperatorio, predictor independiente de la recurrencia bioquímica.

5.2.5.- EXTENSIÓN EXTRAPROSTÁTICA:

Es la extensión del tumor fuera de la glándula prostática, que en áreas posteriores, posterolateral y lateral, inducen una respuesta desmoplásica en el tejido adiposo periprostática. Hay autores que afirman que la invasión del tejido extraprostático establece un alto riesgo de progresión de la enfermedad y fracaso del tratamiento, por lo que sería un indicador pronóstico muy importante

113

Gao et al.¹²⁰ estudian la extensión extraprostática y afectación de márgenes quirúrgicos en un grupo de 143 pacientes con carcinoma prostático con PSA ≤ 10 ng/ml, Gleason ≤ 7 y estadio clínico T1c-T2b. Encuentran que el 21% de los pacientes tienen extensión extraprostática y el 32 % afectación de márgenes quirúrgicos. En un análisis multivariante en estos carcinomas de bajo riesgo, la extensión de la biopsia afecta se correlaciona con el riesgo de extensión extracapsular y la afectación de márgenes quirúrgicos.

Ohuri et al.²⁴³ encuentran una probabilidad de supervivencia libre de enfermedad a los 7 años del 65% en los pacientes con extensión extraprostática, márgenes quirúrgicos positivos y gradación de Gleason ≤ 6 ; y una probabilidad del 40% en aquellos que tienen extensión extraprostática, márgenes quirúrgicos positivos y gradación de Gleason ≥ 7 .

Cuando nosotros analizamos este parámetro en nuestros casos, se aprecia en un 17% de los mismos extensión extraprostática. Nosotros al igual que está descrito en la bibliografía, detectamos una asociación estadísticamente significativa entre la extensión extraprostática y PSA a los 5 años, también con el grado de Gleason, hecho que podría interpretarse como que a peor grado de diferenciación (Gleason más alto) del carcinoma, mayor agresividad, y por tanto, más probabilidad de extensión extraprostática. Además, encontra-

CARCINOMA PROSTÁTICO

mos correlación con el volumen tumoral, pero no así con la mortalidad específica por la enfermedad ni con la posibilidad de metástasis, probablemente debido al bajo número de casos positivos para muerte relacionada con la enfermedad y metástasis.

5.2.6.- INVASIÓN DE LAS VESÍCULAS SEMINALES:

La invasión de las vesículas se define cuando el tumor infiltra la capa muscular de las vesículas; dato que en algunos casos, se diagnostica en ausencia de extensión extraprostática ¹⁰¹.

Son numerosos los artículos en la bibliografía que consideran que la invasión de las vesículas seminales tiene significado pronóstico en la evolución del carcinoma prostático. En la actualidad, la incidencia ha disminuido por el programa de detección temprano del antígeno prostático específico en suero (PSA), cuestionándose algunos investigadores la resección completa de las vesículas ²⁸².

Cuando analizamos la afectación tumoral de las vesículas seminales en nuestro estudio la detectamos en el 18,3% de las mismas. Al igual que lo que apreciamos en la invasión de la cápsula, observamos correlación estadísticamente significativa ($P= 0,000$) entre la gradación de Gleason y la invasión de las vesículas seminales. Probablemente debido a que una peor gradación de Gleason refleja más agresividad, por lo que es más probable que invada las vesículas seminales. En cambio, no demostramos asociación entre PSA a los 5 años y la invasión de las vesículas, dato que sí se encuentra recogido en algunas publicaciones.

Bostwick et al. ³⁶ publican un estudio con 314 hombres diagnosticados de carcinoma prostático en el cual encuentran la afectación de las vesículas seminales en un 14,6% de los casos, siendo factores pronósticos independientes a la invasión de las vesículas seminales, el PSA preoperatorio y gradación de Gleason.

En un extenso estudio que realizan Freedland et al. ¹¹⁶ en el 2004 con 1687

DISCUSIÓN

pacientes tratados con prostatectomía radical, los agrupan basados en presencia o ausencia de invasión vesículas. Una vez que realizan análisis multivariante, detectan que dentro del grupo con invasión de vesículas, tienen un curso clínico favorable (PSA libre de progresión a los 5 años), los que tienen Gleason 2-6, márgenes quirúrgicos negativos y ≥ 60 años.

Epstein et al.¹⁰¹ publican un estudio en que evalúan la invasión capsular e invasión de vesículas seminales sin metástasis. Concluyen que los pacientes con invasión de las vesículas seminales tienen peor pronóstico que los que presentan penetración capsular, estando asociada a un riesgo intermedio de progresión.

Así mismo, recientemente Koh et al.¹⁷³ analizan 763 pacientes que fueron diagnosticados de carcinoma prostático y posteriormente tratados con prostatectomía radical. Detectan el 7,9% de los casos con invasión de las vesículas seminales. En el análisis multivariante, observan únicamente como predictores significativos, al PSA preoperatorio y la gradación de Gleason.

5.3.- ASPECTOS INMUNOHISTOQUÍMICOS-MOLECULARES DE SIGNIFICADO PRONÓSTICO EN EL CARCINOMA PROSTÁTICO:

Aunque el cáncer de próstata es muy prevalente entre los hombres, es relativamente poco lo que se sabe acerca de los mecanismos moleculares involucrados en el desarrollo y progresión de esta enfermedad. La falta de conocimiento de la biología del cáncer de próstata ha resultado en numerosas controversias del manejo clínico en estadios tempranos y en la utilidad del screening en la población⁴⁵.

El carcinoma de próstata varía enormemente en el comportamiento biológico desde lentamente progresivo hasta tumores metastásicos muy agresivos. Las ventajas de las tinciones inmunohistoquímicas ha dado lugar a numerosos estudios que utilizan biomarcadores tumorales, pero ningún marcador ha trascendido definitivamente desde el ámbito de la investigación a la evaluación en

CARCINOMA PROSTÁTICO

la rutina diaria del cáncer prostático ⁶¹.

Los marcadores moleculares no se usan de forma rutinaria en el estudio de los casos diagnosticados de cáncer prostático porque su relevancia para predecir el comportamiento y pronóstico del cáncer prostático no está clara ⁶⁵.

Actualmente, hay competición entre un número de pronosticadores potenciales adicionales, por ejemplo E-cadherina, actividad proliferativa de Ki-67, diferenciación neuroendocrina, Her-2-neu y volumen tumoral. Sin embargo, la situación presente es controvertida, y las discusiones que conciernen al valor de estos marcadores pronósticos no están aún resueltas.

Los marcadores moleculares que se estudian tienen valor potencial no solo como factores pronósticos, sino también como nuevas estrategias dianas terapéuticas y predictores a la respuesta del tratamiento.

Se han identificado moléculas que están involucradas en aspectos fundamentales del cáncer de próstata, tales como la proliferación celular, muerte y apoptosis, transducción de señales, señalización de receptor de andrógenos, adhesión celular y angiogénesis.

Es importante en el carcinoma hacer un correcto diagnóstico diferencial entre las lesiones benignas, neoplasia intraepitelial prostática (PIN) y el carcinoma, para ello se han identificado nuevos marcadores inmunohistoquímicos para evitar los falsos positivos o negativos; entre éstos, se encuentran el ampliamente estudiado antígeno prostático específico (PSA), Fosfatasa ácida prostática (PAP), marcadores de células basales como las citoqueratinas de alto peso molecular y p63 (de implantación más reciente) y la racemasa (P504S).

5.3.1.- Ki-67:

Es una de las proteínas reguladoras del ciclo celular que se puede marcar más fácilmente mediante inmunohistoquímica. Se trata de una proteína de unión al DNA, la cual se expresa en todo el ciclo, pero es indetectable cuando están en reposo (G0). El índice Ki-67 (fracción de Ki-67 con positividad

DISCUSIÓN

nuclear in inmunohistoquímica), se ha utilizado para estudiar el pronóstico. Son muchos los trabajos que no encuentran relación o débil correlación entre este marcador de proliferación y la progresión de la enfermedad tras la prostatectomía radical. Hay otros autores que sí encuentran al Ki-67 como buen predictor de la evolución de la enfermedad y lo han correlacionado con enfermedad metastásica en aquellos pacientes con peor pronóstico.

Desde el año 1993 se describe la diferencia entre la expresión de Ki-67 en las hiperplasias prostáticas benignas, donde puede llegar a observarse en hasta el 5% de las células, llegando a ser positivas el 10-40 % en los adenocarcinoma pobremente diferenciados.

Nosotros analizamos la posible relación entre la inmunotinción para Ki-67 en los 100 casos de nuestro estudio, con la gradación de Gleason, mortalidad, metástasis, PSA a los 5 años y tratamiento preoperatorio. En ninguno de estos análisis detectamos correlación estadísticamente significativa. Estos hallazgos negativos contrastan con los resultados de otros trabajos publicados en los que sí encuentran relación estadística.

En el año 2004 Ojea et al.²⁴⁴ publican su estudio donde evalúan la utilidad de la expresión de Ki-67 en las biopsias preoperatorias, para predecir la recidiva bioquímica después de la prostatectomía radical, realizado en 103 pacientes. El PSA preoperatorio medio fue de 13,44 ng/ml. La cifra media de las células con expresión de Ki-67 era de 3,9% en los pacientes que no recidivaron y de 5,05% en los que tuvieron recidiva bioquímica. En el 31% de los pacientes se observa recidiva bioquímica. El análisis multivariante indica que no existe una relación entre el Ki-67 ($> 3\%$ / $\leq 3\%$) del material de las biopsias preoperatorias y la recidiva bioquímica del cáncer de próstata después de la prostatectomía radical.

Posteriormente, Rubio et al.²⁶⁹ llevan a cabo un estudio en 91 pacientes evaluando la expresión de Ki-67, Bcl-2, Cox-2 y Bax. La expresión de Ki-67 se observó en el 42,9% y se relaciona con la tasa de supervivencia libre de enfermedad en un análisis univariante, mientras que en el análisis multivariante, Ki-67 (con un punto de corte $\geq 5\%$) se mantiene como factor pronóstico inde-

CARCINOMA PROSTÁTICO

pendiente en la supervivencia libre de enfermedad.

En un extenso estudio que llevan a cabo May et al.²⁰² en 528 pacientes tratados con prostatectomía radical sin tratamiento neoadyuvante, examinan el valor pronóstico del índice proliferativo mediante Ki-67 y la diferenciación neuroendocrina para predecir la supervivencia libre de recurrencia. Entre los resultados obtenidos detectan una buena correlación como predictores independientes para el pronóstico, entre el índice proliferativo (Ki-67) y gradación de Gleason ($p < 0,001$), estadio patológico ($p < 0,001$), márgenes quirúrgicos ($p = 0,003$) y PSA preoperatorio ($p = 0,023$).

En 2009, Nariculam et al.²³⁰ llevan a cabo un estudio en 82 casos en estadios pT3 para evaluar si los marcadores moleculares podrían mejorar la predicción de enfermedad metastásica oculta. Investigan la expresión de Ki-67, Bcl-2, p53 y E-cadherina. La edad media de los pacientes era de 61 años, el 90% estaban en pT3a y el PSA preoperatorio medio fue 10,7 ng/ml. Se demostró la expresión de Ki-67, pero no se correlacionó con la recaída bioquímica tras la prostatectomía. Concluyen que este biomarcador no tiene valor pronóstico para la recurrencia bioquímica, incluso teniendo en cuenta el estadio patológico, grado de Gleason y niveles de PSA preoperatorio.

Gunia et al.¹³⁹ estudian si la actividad proliferativa estudiada mediante el índice Ki-67 y la diferenciación endocrina podrían agravar otros parámetros pronósticos adversos ya comúnmente utilizados para predecir el comportamiento del cáncer de próstata. En los resultados del análisis multivariante tanto Ki-67 ($p = 0,048$) como la positividad de cromogranina ($p = 0,032$) valor pronóstico sobreañadido a otros parámetros pronósticos clásicos (estado de los ganglios, estadio tumoral, PSA preoperatorio y gradación de Gleason).

Berney et al.²⁴ en el año 2009, publican un extenso estudio de pacientes diagnosticados de carcinoma prostático mediante biopsias de cilindros de próstata. La media del índice de Ki-67 fue de 5,42% en un rango de oscilación entre 0% y 60%. En un análisis multivariante la variable más útil de cara al pronóstico fue la gradación de Gleason, seguida de la extensión de la enfermedad, Ki-67 y el estadio clínico. El índice Ki-67 fue un factor pronóstico sig-

DISCUSIÓN

nificativo en la supervivencia causa-específica ($p < 0,001$) y en la supervivencia total ($P < 0,001$).

Ese mismo año Khatami et al.¹⁷⁰ realizan una correlación en 660 pacientes durante un periodo medio de 63 meses, entre Ki-67, PSA y gradación de Gleason. Dicho estudio confirma la correlación entre Ki-67 y la gradación de Gleason, y demuestran que Ki-67 ($p = 0,0346$), fue un predictor de recaída de PSA después de la prostatectomía radical en estadios bajos.

Referencias asociados a la supervivencia y progresión de la enfermedad:

Referencia	p valor	Año
May	< 0.001	2007
Nariculam	<0.01	2009
Berney et al.	< 0,001	2009
Gunia et al.	0,048	2008
Khatami	0.0346	2009

Miyake et al.²¹⁷ publican en 2010 su estudio realizado en 193 pacientes con carcinoma prostático organoconfinado, tratados solo con prostatectomía sin terapias neoadyuvantes, en el que evalúan los niveles de expresión de marcadores moleculares potenciales en el cáncer de próstata. Entre éstos se incluye Ki-67, p53, bcl-2. En el análisis univariante identifican a Ki-67 y p53 como predictores significativos para la recurrencia bioquímica, junto con PSA, gradación Gleason, invasión de las vesículas seminales, márgenes quirúrgicos positivos, metástasis linfática y volumen tumoral. En el análisis multivariante observan, que la expresión de Ki-67, invasión de vesículas seminales y

CARCINOMA PROSTÁTICO

márgenes quirúrgicos positivos aparecen relacionados independientemente con la recurrencia bioquímica.

5.3.2.- Bcl-2:

Bcl-2 es una oncoproteína que bloquea la célula en fase G0 inhibiendo la muerte celular por apoptosis, por lo que la sobreexpresión de la misma lleva al aumento del crecimiento celular. La sobreexpresión de la proteína, se ha demostrado como factor predictor de progresión de la enfermedad después de la prostatectomía radical independiente del grado, estadio, edad, raza, márgenes quirúrgicos, invasión de las vesículas seminales y el estado de los ganglios linfáticos¹⁰¹. Pero en otros estudios no demuestran que Bcl-2 tengan significancia pronóstica. En el caso de este marcador hay artículos que observan o demuestran la asociación significativa entre Bcl-2 y la recurrencia bioquímica, y son otros los artículos publicados, en los cuales no encuentran asociación estadística significativa entre ambos.

En nuestro estudio realizamos tinciones inmunohistoquímicas con bcl-2, y los resultados obtenidos los estudiamos para comprobar si demostrábamos correlación estadísticamente significativa entre esta inmunotinción y las variables clínico-patológicos de gradación de Gleason, mortalidad, metástasis, así como niveles de PSA a los 5 años. No detectamos asociación significativa en ninguno de estos análisis.

Al igual que nuestro caso, Abaza et al.¹ publican en 2006 un artículo con los resultados realizados en 44 pacientes diagnosticados mediante resección transuretral. Investigan la utilidad de parámetros que puedan asociarse al pronóstico, como la inmunoexpresión de Bcl-2 entre otros, así como la gradación de Gleason, y no demuestran que ningún parámetro como predictor de la supervivencia o de progresión de la enfermedad. La mayoría de los tumores fueron negativos para la inmunotinción. Ningún caso se correlacionó con la evolución de la enfermedad ($p=0,563$ para Bcl-2). Únicamente la gradación de Gleason fue predictor significativo de progresión del cáncer en un análisis

DISCUSIÓN

multivariante y univariante. Concluyen que ninguno de los parámetros estudiados predice la supervivencia o progresión de la enfermedad en los carcinomas prostáticos detectados incidentalmente mediante resección transuretral. Al comparar nuestro estudio y el presentado por Abaza et al., se observa como diferencia más evidente, el hecho de que los estadios patológicos de nuestros casos, en ningún de éstos se trataba de T1a, sino que todas eran igual o superior a T2.

Tampoco Miyake et al.²¹⁷ encontraron asociación significativa de la inmunohistoquímica para Bcl2 con la recurrencia bioquímica, como sí lo demostraron en un análisis univariante que identificó el nivel de PSA preoperatorio, gradación de Gleason, invasión de vesículas seminales, estado de los márgenes quirúrgicos, metástasis ganglionar linfática, y el volumen tumoral asociados a la recurrencia bioquímica.

Continuando con los autores que no encuentran diferencias estadísticamente significativas, está Nariculam et al.²³⁰ quienes después de realizar en 82 pacientes estudios de microarrays en tejido con diferentes biomarcadores, entre los que estaban Bcl-2, Ki-67 y p53, como predictores de recurrencia bioquímica después de la prostatectomía radical, no observaron diferencias estadísticas entre los pacientes que tenían recaída y los que no mostraron recaída.

En oposición a estos artículos previamente citados, son numerosos los autores que si encuentran relación significativa entre Bcl-2 y el pronóstico del carcinoma prostático, referidos a parámetros clínicos como el estadio patológico, Gleason o PSA preoperatorio.

Concato et al.⁶⁵ publicaron un amplio estudio realizado en 1313 pacientes con carcinoma prostático en los que examinaron si había factores moleculares independientes asociados a la muerte en pacientes con cáncer de próstata. En particular, aquellos marcadores relacionados con la apoptosis, supresión tumoral que puede indicar peor pronóstico. Hicieron un seguimiento durante 13 años, en los cuales observan una tasa del 23,2% de fallecidos por el carcinoma prostático. En lo que concierne a Bcl-2, detectan que el 6% de los casos son inmunorreactivos para esta molécula relacionada con la apoptosis

CARCINOMA PROSTÁTICO

y demuestran asociación de este marcador y el fallecimiento por cáncer prostático con una $p = 0,045$. Es por lo que los autores sugieren que los resultados inmunohistoquímicos para Bcl-2 en el momento del diagnóstico del carcinoma prostático, está asociado con el incremento a largo plazo de fallecimiento de esta enfermedad.

Así en esta misma línea, recientemente Cho et al.⁶¹, en su estudio con 171 pacientes coreanos diagnosticados de adenocarcinoma prostático intervenidos con prostatectomía radical, encuentran que la expresión inmunohistoquímica para Bcl-2 se asocia con peor pronóstico, como un factor independiente para la recurrencia bioquímica, sugiriéndolo como marcador potencial para el pronóstico de esta enfermedad. En el mismo trabajo no observan asociación entre Bcl-2 y factores clinicopatológicos convencionales como la gradación de Gleason, extensión extraprostática, invasión de vesículas seminales o invasión linfovascular.

En la bibliografía, se recogen algunos artículos en los que se estudia la expresión de este marcador apoptótico en pacientes diagnosticados de adenocarcinoma prostático localizados en relación con el tratamiento radioterapéutico. Es un buen ejemplo de este caso, el realizado por Vergis et al.³¹² y quienes recientemente estudian a 308 pacientes con carcinoma prostático localizado en dos grupos randomizados con diferentes dosis de radiación. En un análisis multivariante, la expresión de Bcl-2 ($p < 0,001$) asoció significativamente con la recurrencia bioquímica a los 5 años, independientemente de el estadio tumoral, gradación de Gleason, niveles de PSA preoperatorio y dosis de radioterapia. Concluyen que la expresión de Bcl-2 es un factor significativo e independiente para determinar la recurrencia bioquímica en el carcinoma de próstata.

Referencias asociados a la supervivencia y progresión de la enfermedad:

DISCUSIÓN

Referencia	p valor	Año
Abaza et al	0.563	2006
Nariculam et al	<0.01	2009
Concato et al	0.045	2009
Cho et al	0.012	2010
Vergis	<0.001	2010
Miyake et al	No diferencias	2010

5.3.3.- E-CADHERINA:

Las cadherinas son moléculas epiteliales de adhesión que juegan un papel importante en el mantenimiento de la arquitectura del tejido. La E-cadherina forma complejo con la α y β catenina y, así, este complejo formado interactúa con la actina del citoesqueleto y mantiene la arquitectura y polaridad de las células epiteliales en el tejido. La pérdida o reducción de la expresión en membrana de la proteína E-cadherina en las células cancerosas del tumor primario, ha sido ampliamente relacionado con grados histológicos avanzados, estadios clínicos avanzados y mal pronóstico³⁰⁸. Así, la pérdida de expresión de E-cadherina permite el "desprendimiento" de su matriz intercelular y migrar desde el punto primario a focos metastásicos. Es por ello, que se ha propuesto para predecir el pronóstico del adenocarcinoma prostático.

Nosotros estudiamos la posible relación entre la expresión de E-cadherina con los parámetros de gradación de Gleason, PSA a los 5 años de la prostatectomía, así como con metástasis y la mortalidad. En ningún de ellos encontramos correlación estadística significativa.

Haciendo una revisión en la literatura, son muchos los autores que encuentran datos que relacionan la pérdida de expresión de E-cadherina con el pronóstico. De Marzo et al.⁷⁷ correlacionan la disminución de la expresión con el estadio patológico. En un análisis multivariante ellos encuentran que nive-

CARCINOMA PROSTÁTICO

los reducidos de E-cadherina se correlacionan con gradación de Gleason alta ($p=0,003$). En un análisis multivariante, la E-cadherina, PSA preoperatorio, gradación de Gleason, todos contribuyen de manera independiente a la predicción de una enfermedad de alto "riesgo" ($p<0,001$), por lo que proponen al biomarcador como de valor potencial de progresión de la enfermedad. En la práctica clínica diaria, la baja expresión inmunohistoquímica para E-cadherina sugeriría, recurrencia clínica.

En el estudio ya comentado sobre Ki-67 de Nariculam et al.²³⁰ que realizan en 82 pacientes en estadios pT3 evalúan si los marcadores moleculares podrían mejorar la predicción de enfermedad metastásica oculta, investigando la expresión de Ki-67, Bcl-2, p53 y E-cadherina. No demuestran diferencias significativas estadísticamente entre el tejido prostático benigno y el maligno, así como en los pacientes que recaen y los que no recaen. Concluyen que este biomarcador no tiene valor pronóstico para la recurrencia bioquímica, incluso teniendo en cuenta el estadio patológico, grado de Gleason y niveles de PSA preoperatorio.

En relación a la expresión de la E-cadherina y β -catenina en el proceso metastásico del cáncer de próstata en el hueso, Saha et al.²⁷³, publican en el año 2008 un estudio de frecuencia y patrón de la expresión de E-cadherina y β -catenina en hiperplasia prostática benigna y células cancerosas prostáticas. Encuentran positividad homogénea para ambas moléculas en la hiperplasia benigna en un 91% y 82%, respectivamente. En cambio en el carcinoma primario de próstata, se detecta solo el 18% para E-cadherina y del 27% para la β -catenina. Llama la atención que en las células tumorales metastásicas del hueso la positividad sea del 88% y del 82%, sugiriendo, para estos autores, su participación en la adhesión intercelular de las células tumorales en el hueso.

Algaba et al.⁶ estudian la expresión de E-cadherina en relación con la gradación de Gleason. En este estudio verifican la pérdida progresiva de la molécula de adhesión a medida que incrementa el grado de Gleason: es anormal en el 35% en los Gleason menores de 7 versus el 75% en caso de Gleason ma-

DISCUSIÓN

yor de 7. Esta correlación refuerza la idea de utilizar la expresión de las moléculas de adhesión como factor pronóstico.

Pontes et al.²⁵⁵ publican en 2009 un artículo en el que estudian el papel de las moléculas de adhesión en el carcinoma prostático avanzado mediante el estudio de la expresión de E-cadherina y beta-catenina en las metástasis ósea. En las lesiones metastásicas óseas encuentran la pérdida de expresión de la E-cadherina y beta-catenina, así como en los tumores primarios. Por lo que estos autores sugieren que este fenómeno puede relacionarse con el potencial metastásico en el carcinoma de próstata.

Referencias asociados a la supervivencia y progresión de la enfermedad:

Referencia	p valor	Año
De Marzo et al	<0.001	1997
Nariculam et al	No diferencias	2009
Pontes et al	Potencial metástasis	2009

5.3.4.- p53:

Se trata de un gen supresor tumoral cuyas mutaciones pueden resultar en pérdida de regulación del ciclo celular, y se ha implicado en numerosas tumores.

Los anticuerpos de la proteína p53 se unen tanto a la forma normal (wild-type) como a la forma mutada. Sin embargo, la proteína mutada tiene la vida media más larga y no le afecta la fijación en formalina. Consecuentemente, la detección inmunohistoquímica de la proteína p53 en tejido de parafina fijado con formol, se ha visto correlacionada con la mutación del gen p53, y esto explica que, contrariamente a lo esperado la sobreexpresión de p53 es un signo de mal pronóstico²⁴⁴.

Nosotros en los 100 casos que hemos estudiado, una vez realizado técnicas

CARCINOMA PROSTÁTICO

inmunohistoquímicas para p53, demostramos asociación significativamente estadística para la recurrencia bioquímica (PSA a los 5 años) con una $p=0.017$, así como con las metástasis con una $p=0.044$.

Es por lo que con estos resultados, podría plantearse como un parámetro pronóstico, al igual que lo han hecho muchos autores desde la década de los 90. La expresión de la proteína p53, junto a Ki-67 y bcl-2 fue evaluado en muestras de prostatectomía radical en parafina, por Moul et al.²²³ de 162 pacientes con carcinoma prostático localizado. En dicho estudio concluyen que los tres tienen potencial como biomarcadores para predecir la recurrencia en los pacientes con la enfermedad localizada. Los tres marcadores resultaron claramente correlacionados con la recurrencia a los 6 años. Grignon et al.¹³² estudiaron 471 pacientes, investigando como valor pronóstico, la identificación de la proteína p53 anormal en carcinomas prostáticos localmente avanzados y tratados con radioterapia. Encuentran asociación estadísticamente significativa entre la presencia de expresión de proteína p53 anormal y el aumento de la incidencia de metástasis a distancia, así como disminución de la supervivencia libre sin enfermedad y disminución de supervivencia global.

En los últimos años, también se publican estudios con el significado clínico de p53. Un ejemplo de esto es Schlomn et al.²⁷⁸ en una extensa revisión de 2514 cánceres tratados con prostatectomía radical analizando la inmunohistoquímica de p53. Encuentran una fuerte asociación con el estadio patológico ($p<0,0001$), con gradación de Gleason de alto grado ($p<0,0001$), márgenes quirúrgicos positivos ($p=0,03$), así como recurrencia bioquímica temprana ($p<0,0001$). Además, se detecta asociación significativa con el cáncer de próstata metastásico ($p=0,0152$). Concluyen que sus resultados muestran que las mutaciones en p53 caracterizan a un pequeño subgrupo biológicamente agresivo con alto riesgo de progresión después de la prostatectomía. Kudahetti et al.¹⁷⁶ examinan la expresión de p53 mediante inmunohistoquímica en 705 pacientes con cáncer de próstata localizado, estudiando la mortalidad específica por cáncer, así como variables clínicas que incluyen los niveles de PSA preoperatorio, gradación de Gleason, y estadio tumoral; encuentran que

DISCUSIÓN

la expresión de p53 es un predictor significativo para la supervivencia específica con una $p < 0,001$, así como en la supervivencia global, también con una $p < 0,001$, se concluye que la determinación de p53 podría tener un papel en la investigación futura para diagnosticar el cáncer de próstata.

Un estudio ya previamente comentado de Miyake et al. ²¹⁷, en 193 pacientes con carcinoma de próstata confinado al órgano, investigando la expresión de 12 diferentes proteínas, entre las que se encuentra p53, establecen dicha proteína como un predictor significativo para la recurrencia bioquímica.

También hemos mencionado en el apartado del marcador molecular Bcl-2 el trabajo de de Concato et al. ⁶⁵, sobre 1313 pacientes con carcinoma prostático, en los que examinaron factores moleculares independientes asociados a la muerte en pacientes con cáncer de próstata. Durante el seguimiento de 13 años realizados, observan una tasa del 23,2% de fallecidos por el carcinoma prostático. En lo que concierne a p53, detectan que el 21% de los casos son inmunorreactivos para este oncogén supresor tumoral y demuestran una asociación estadística de este marcador y el fallecimiento por cáncer prostático ($p = 0,022$).

Es por lo que, al igual que con bcl-2, los autores sugieren que los resultados inmunohistoquímicos para p53 en el momento del diagnóstico del carcinoma prostático, está asociado con el incremento a largo plazo de fallecimiento por esta enfermedad.

Además de los muchos artículos que hay publicados, en los que nos podemos encontrar asociación estadísticamente significativa entre la proteína p53 y la supervivencia, recurrencia bioquímica y con las metástasis, podemos observar otras revisiones donde no demuestran dicha asociación. Entre estas tenemos una que ya hemos comentado previamente para bcl-2, que llevó a cabo Abaza et al. ¹ y publican en 2006 un artículo realizado en 44 pacientes diagnosticados mediante resección transuretral; investigan la utilidad de parámetros que puedan asociarse al pronóstico, como la inmunoexpresión de p53, Bcl-2, así como la gradación de Gleason, y no demuestran que ningún parámetro como predictor de la supervivencia o de progresión de la enfermedad.

CARCINOMA PROSTÁTICO

La mayoría de los tumores fueron negativos para la inmunotinción. Ningún caso se correlacionó con la evolución de la enfermedad ($p=0,182$ para p53). Concluyen que ninguno de los parámetros estudiados predice la supervivencia o progresión de la enfermedad en los carcinomas prostáticos detectados incidentalmente mediante resección transuretral. Como ya comentamos en el apartado de bcl-2, la diferencia más evidente entre nuestro estudio y el presentado por Abaza et al., es el tipo de muestras quirúrgicas del estudio, ya que nosotros contamos con la pieza de prostatectomía radical y, por tanto, nuestros estadios patológicos, en ningún caso se trataba de T1a, sino todas eran igual o superior a T2. En el mismo sentido, publican Nariculam et al.²³⁰ uno realizado con 82 pacientes, que como ya se ha comentado previamente, analizan los marcadores de p53, Bcl-2, Ki-67 y E-cadherina, para evaluar la predicción de posible enfermedad metastásica. A pesar de que observan sobreexpresión significativa en el tejido maligno prostático, en comparación con el epitelio benigno, no observan diferencia significativa cuando comparan entre los pacientes con recaída y los que no la tuvieron.

Referencias asociados a la supervivencia y progresión de la enfermedad:

Referencia	p valor	Año
Abaza et al	0.182	2006
Schlomn et al	<0.001	2008
Concato et al	0.022	2009
Nariculam et al	No diferencias	2009
Kudahetti	0.001	2009
Vergis	0.017	2010

DISCUSIÓN

5.3.5.- CROMOGRANINA A:

La glándula prostática contiene la mayor población neuroendocrina de los órganos del sistema genitourinario. No hay clara evidencia, que vincule la diferenciación neuroendocrina en el adenocarcinoma de las prostatectomías radicales con las recurrencias. Son muchos los autores que han publicado la correlación entre la diferenciación neuroendocrina y mal pronóstico, así como, los que sugieren que la influencia que tiene con el pronóstico, está en relación a la hormono-resistencia que desarrollan estos tumores.

Nosotros estudiamos la diferenciación neuroendocrina de nuestros casos, utilizando la técnica de inmunohistoquímica de Cromogranina A. Demostramos correlación estadísticamente significativa ($p= 0,05$) entre la cromogranina y el PSA a los 5 años, o sea recurrencia bioquímica; no así con la gradación de Gleason, ni con mortalidad o metástasis.

Si comparamos nuestros resultados con los publicados por otros, encontramos que son similares en cuanto a la recurrencia bioquímica, no así en cuanto a la relación con el PSA o mortalidad.

Gunia et al.¹³⁹ en el año 2008 publican un estudio que llevan a cabo con 528 pacientes intervenidos quirúrgicamente de carcinoma prostático para verificar o aclarar si la diferenciación neuroendocrina y el índice Ki-67 pueden agravar otros parámetros pronósticos ya establecidos, como lo son la gradación de Gleason > 7 , PSA preoperatorio > 20 ng/ml y la invasión de ganglios linfáticos. Los resultados que obtuvieron es que si el tumor presentaba diferenciación neuroendocrina tanto los parámetros de "bajo riesgo" (Gleason < 7 , PSA preoperatorio < 20 ng/ml y ausencia de invasión de ganglios linfáticos), como los de "alto riesgo", agravaban significativamente el pronóstico.

Así mismo, fue May et al.²⁰² quienes estudiaron 528 pacientes tratados con prostatectomía sin tratamiento neoadyuvante encontrando en su serie expresión de Cromogranina A baja (6,1%), en comparación con lo publicado. El 7,9% de sus casos con Gleason ≤ 6 tenían negatividad para la cromogranina y mostraron recurrencia de PSA, en cambio, el 25% con positividad para cro-

CARCINOMA PROSTÁTICO

mogranina y Gleason ≤ 6 presentaron progresión de la enfermedad durante el seguimiento. En el análisis multivariante de sus datos obtienen que Gleason ≥ 7 (4+3), diferenciación neuroendocrina, metástasis ganglionar linfática, PSA ≥ 20 ng/ml y Ki-67 ≥ 5 %, fueron marcadores predictores independiente de recurrencia de PSA después de la prostatectomía.

5.3.6.- Her-2/Neu: (c-erbB2)

El gen Her-2-neu codifica un receptor tirosinkinasa transmembrana, similar al receptor del factor de crecimiento epidérmico. En la actualidad hay pocos datos disponibles que sugieran su utilidad en casos que le hayan realizado una prostatectomía radical.

Veltri et al.³¹¹ encontraron que Her-2/neu era un predictor independiente solo en pacientes con bajo grado de Gleason.

De una manera más específica, hay publicados estudios que relacionan la expresión de Her-2/neu y las metástasis, en este sentido Isharwal, et al.¹⁵⁹ del grupo del Hospital John Hopkins, realizan un estudio en 252 pacientes con cáncer de próstata clínicamente localizado durante un largo tiempo de seguimiento. Se demuestra en el análisis univariante y multivariante, que la expresión de Her-2/neu es un pronosticador significativo para la progresión de la enfermedad ($P \leq 0,001$), de las metástasis ($P \leq 0,01$), así como de la tasa de muerte específica por el carcinoma prostático ($P \leq 0,04$).

Shi et al.²⁸⁵ en un estudio en el que relacionan la expresión de Her-2/neu con la exposición a la terapia hormonal, en 81 pacientes con cáncer de próstata, sin tratamiento previo y 30 con terapia androgénica previa a la cirugía. Encuentran una diferencia significativa entre la expresión de Her-2/neu y los pacientes con tratamiento neoadyuvante con una $p=0,016$. Además observan una asociación significativa con el grado de Gleason en los pacientes sin tratamiento previo ($p=0,038$), pero no en el grupo tratado., llegando a la conclusión que la expresión de Her-2/neu se asocia fuertemente con la exposición a la terapia hormonal.

DISCUSIÓN

En nuestro estudio, al igual que hicimos con las otras técnicas inmunohistoquímicas, separamos dos categorías, por un lado los que recibieron tratamiento previo a la intervención quirúrgica y los que no. Tanto en un grupo como en otro, no observamos asociación significativa entre la expresión de Her-2/neu y grado de Gleason, PSA a los 5 años, metástasis y mortalidad. Probablemente estos resultados se deban al tamaño reducido de la muestra, aunque el número de pacientes es similar al que presentó Shi et al. en su trabajo.

5.3.7.- ANGIOGÉNESIS: (CD31)

La angiogénesis es un factor crítico para la progresión y crecimiento de neoplasias sólidas. La expansión tumoral necesita del crecimiento vascular interno para llevar nutrientes, intercambio de gases y eliminar desechos.

La evaluación de la formación de nuevos vasos (densidad de microvasos intratumoral) se ha propuesto para proporcionar información pronóstica en el cáncer de próstata, sin embargo, este dato no está aún claro en este tipo de neoplasia. Cuando se estudia la neoangiogénesis, existen dos cuestiones a tener en cuenta en la variación de los resultados entre los diferentes estudios. Unos estudios se centran en la cuantificación de la neoangiogénesis en los denominados "puntos calientes" donde hay mayor densidad vascular, mientras que otros hacen una valoración de los vasos existentes a todo lo ancho de la pieza estudiada, o de manera aleatoria. Y otro punto a tener presente a la hora de valorar la densidad de microvasos, es el uso de diferentes anticuerpos (CD31, CD34, Factor VIII) con variabilidad de las sensibilidades para la tipificación de vasos, lo que ha hecho dificultosa la comparación de los diferentes estudios ¹⁰¹.

Desde 1994 Brawer et al. ³⁸ demuestran que la densidad de microvasos es un valor predictor independiente del estadio patológico y que proporciona información pronóstica al igual que Strohmeyer et al. ²⁹² que estudian 98 prostatectomías radicales, y también concluyen que es un parámetro pronóstico independiente. Otro estudio ²⁹⁰ que presentan del Hospital John Hopkins en 87

CARCINOMA PROSTÁTICO

pacientes con carcinoma prostático con gradación de Gleason 5 -7, ausencia de afectación de vesículas seminales y de ganglios linfáticos, el grado de angiogénesis también parece correlacionado con la progresión. Hall et al.¹⁴² en su estudio sobre la neoangiogénesis, concluyen que ésta podría valorarse como un indicador pronóstico negativo en los pacientes con carcinoma de próstata localizado. Más recientemente, Erbersdobler et al.¹⁰⁷, estudian 3261 muestras de prostatectomía con carcinoma prostático usando microarrays de tejido, y encuentran una correlación muy significativa con el estadio patológico y gradación de Gleason ($P < 0,001$). Demostraron además, en un análisis univariante, la alta densidad de microvasos se asociaba con la recurrencia de PSA después de la prostatectomía ($P = 0,03$).

En cambio hay otros estudios en los que no encuentran correlación entre la densidad de microvasos y la recurrencia^{122, 142, 175, 268}, o una débil correlación entre estos parámetros^{26, 76}. En la misma línea, se publican artículos en los que la densidad de microvasos no demuestran que sean pronosticadores de la supervivencia libre de enfermedad. Así por ejemplo, está el estudio de Krupski et al.¹⁷⁵ en un análisis multivariante de 71 casos. Otro estudio de similares resultados es de Gettman et al.¹²² en el cual estudiaron en 211 pacientes con adenocarcinoma prostático con extensión extraprostática. Evaluaron si el estudio de la densidad de microvasos podría utilizarse para predecir la recurrencia de la enfermedad, no demostrando tal asociación.

En nuestro caso, únicamente encontramos asociación estadísticamente significativa con las metástasis, no así con mortalidad, extensión extraprostática ni PSA a los 5 años.

Referencias asociados a la supervivencia y progresión de la enfermedad:

p valor	Referencia	Año
0.001	Concato et al	2009
0.003	Erbersdobler et al	2010

DISCUSIÓN

5.3.8.- p504/p63:

El cribado mediante la determinación del antígeno específico prostático (PSA) como estrategia para la detección precoz del cáncer de próstata ha dado lugar a un aumento en el número de cilindros de biopsia que los anatomopatólogos tienen que examinar. De modo paralelo se ha producido un aumento muy importante en el número de biopsias con lesiones ambiguas, tales como proliferaciones acinares atípicas (ASAP) y microfocos de adenocarcinoma. La inmunohistoquímica representa una técnica auxiliar para facilitar el diagnóstico de cáncer de próstata en biopsias de aguja fina. Tales problemas no suelen encontrarse en el estudio de las piezas de prostatectomía radical, es por ello por lo que en nuestras muestras no realizamos técnicas IHQ diagnósticas.

La presencia de células basales en las glándulas tipifican a las glándulas benignas; dichas células basales se estudian en inmunohistoquímica mediante citoqueratinas de alto peso molecular (34βE12). Un nuevo marcador específico de células basales es p63. En el año 2000, por primera vez ponen de manifiesto la expresión inmunohistoquímica de p63 en los acinos prostáticos que se limitaba a las células basales con un patrón de inmunorreactividad nuclear, y los cánceres de próstata resultaron negativos para p63²⁸⁸. Con posterioridad, numerosos estudios han confirmado que la gran mayoría de los cánceres de próstata (89-94%) no expresan p63²⁹⁹. Desgraciadamente, una tinción negativa para las células basales en unas pocas células sospechosas no es una prueba definitiva de malignidad, dado que algunas entidades benignas pueden exhibir una distribución de células basales parcheada o discontinua. Por este motivo, un marcador positivo específico para carcinoma de próstata resultaría muy útil para mejorar el nivel de fiabilidad del diagnóstico.

La AMACR es una enzima purificada y caracterizada en 1995 en el curso del estudio del metabolismo lipídico tisular en humanos. Ferdinanduse et al. demostraron que la AMACR participa en la beta oxidación de ácido grasos. En el año 2000 Xu et al. identificaron la AMACR y su RNA mensajero (p504s) en

CARCINOMA PROSTÁTICO

la mayoría de los carcinomas de próstata en comparación con el tejido glandular benigno ³³¹. La conclusión de los investigadores fue que el p504s es un marcador para el carcinoma de próstata altamente sensible y específico. En los años posteriores, numerosos estudios han detectado una sobreexpresión de AMACR a nivel proteico y transcripcional en PIN de alto grado y en cáncer de próstata. Estudios posteriores confirman que la AMACR tiñe el citoplasma de aproximadamente el 80% de los carcinomas de próstata en biopsias por aguja ^{219, 348}. Ciertas variantes histológicas (glándulas espumosas y carcinomas atróficos y pseudohiperplásicos), resultaron menos frecuentemente positivas para AMACR ³⁵⁰.

Molinié et al ²¹⁸ observan positividad para p504s en el 97% de los cánceres de próstata, con independencia del grado de Gleason y de la técnica de fijación. La sensibilidad fue superior para la combinación de p504s y p63 (95%) en comparación con p63 (86%). De modo similar, la especificidad fue superior para la combinación p504s / p63 (95%) en comparación con p63 (81%).

Varios estudios han comunicado que el p504s puede ser positivo en el 21%-36% de las glándulas normales ³⁴⁸, sin embargo otros solo observan dicha inmunorreactividad en un 2% de estas glándulas ²¹⁸, siendo una expresión intracitoplasmática granular más débil y focal, en comparación con las glándulas tumorales. En base a estos hallazgos, los investigadores han recomendado que únicamente se considera como positiva la tinción con AMACR en glándulas morfológicamente atípicas cuando esa tinción sea intensa y circunferencial, o significativamente más intensa que el fondo de las glándulas benignas ²⁴⁰. Desde el punto de vista diagnóstico, es importante reconocer que la tinción aislada para AMACR no es probatoria de malignidad ³⁴⁸. En lesiones prostáticas benignas, como la atrofia parcial, la adenosis y en los tejidos prostáticos con escaso estroma por hiperdesarrollo glandular, se produce tinción focal con p504s. En general, la tinción es más débil que en el carcinoma de próstata, creyendo que un fenotipo con un marcador de células basales negativo (p63) y positivo para p504s debe sugerir malignidad ³⁴⁸. Zhou et al. ³⁴⁸ han recomendado la utilización de una mezcla de anticuerpos para células

DISCUSIÓN

basales que incluye p63, y 34βE12; la razón es que estos marcadores tienen como diana diferentes antígenos dentro de la misma célula, y por tanto, pueden resultar sensibles a diferentes factores técnicos.

Tabla 54. Anticuerpos utilizados con mayor frecuencia en el estudio de focos sospechosos prostáticos

Anticuerpo	Antígeno	Patrón de tinción	Diana
34βE12	Ck 1,5,10 y 14	Citoplasmático y membranoso	Células basales
CK 5/6	Ck 5 y 6	Citoplasmático y membranoso	Células basales
p63	Proteína nuclear p63	Nuclear	Células basales
p63/34βE12	Proteína nuclear p63	Nuclear	Células basales
	Ck1,5,10 y14	Citoplasmático y membranoso	
AMACR (p504s)	α-metilacil-Co-A-racemasa	Granular circunferencial	Carcinoma
		Tinción intracitoplasmática	PIN alto grado
		Difusa o apical	Hiperplasia adenomatosa atípica
			Glándulas normales
Cóctel	Combinación de p63 y AMACR	Combinación de tinción p63 y p504s	Cel. basales y malignas

Para Hameed and Humphrey ¹⁴³, la inmunotinción con AMACR es una notable ventaja para el diagnóstico de neoplasia. Aparte de las variantes atróficas, de células espumosas y variantes pseudohiperplásicas de carcinoma prostático, la inmunotinción con AMACR se ha demostrado muy sensible para el diagnóstico de carcinoma (Tabla 55) y proporciona un valor diagnóstico adicional más allá de una inmunotinción negativa en las células basales ³⁴⁸. Sin embargo, el carcinoma prostático puede ser negativo para AMACR, y por tanto no se puede hacer un diagnóstico de benignidad basándose únicamente en una inmunotinción negativa para AMACR. Además, AMACR positiva no es específica exclusivamente para carcinoma prostático, puede detectarse en un

CARCINOMA PROSTÁTICO

56%-100 % de los PIN de alto grado, en un 2%-36% de tejido prostático benigno, así como lesiones prostáticas con patrón glandular pequeño. Es por ello, que estos autores hacen una consideración muy importante en relación a la inmunotinción con AMACR; considerarla positiva cuando la tinción citoplasmática en las células luminales se identifiquen a X100 circunferencial, difusa o apical, granular, mientras que áreas adyacentes de glándulas prostáticas benignas no deberían mostrar ninguna tinción o no más que una tinción débil o parcial (no circunferencial).

Tabla 55. Sensibilidad de α -metilacil-Co-A racemasa en la detección de cáncer de próstata: resumen de los estudios publicado:

Autor	Número de Casos	Sensibilidad	Detalles
Jiang, 2001	137	100%	Tinción fuerte granular en todos casos
Jiang, 2002	73	95%	Carcinoma mínimo
Beach, 2002	186	82%	Incluyen terapia hormonal previa
Luo, 2002	14	88%	Tejido por microarrays
Rubin, 2002	94	97%	Tinción moderada-fuerte
Leav, 2003	25	100%	Carcinoma en zona transición
Magi-Galluzzi, 2003	209	88%	Carcinoma mínimo
Kunju, 2003	20	90%	Carcinoma mínimo- células espumosa
Zhou, 2003	38	71%	Carcinoma células espumosas
Zhou, 2004	215	82%	Casos consulta
Yang, 2003	48	100%	Todos casos postradioterapia
Jiang, 2004	454	97%	Estudio multiinstitucional
Farolina, 2004	23	70%	Carcinoma atrófico
Hameed, 2005	189	94%	Comparación con p63/p504s
Molinié, 2004	150	97%	Comparación con p63/p504s

Por todo lo expuesto previamente es por lo que Molinié et al.²¹⁸ proponen que la asociación de p504s y p63 constituye un marcador útil de transforma-

DISCUSIÓN

ción neoplásica de la glándula prostática, y debe ser propuesto como procedimiento auxiliar al examen de la morfología histológica. Esta combinación tiene una sensibilidad que se acerca al 97% y una especificidad próxima al 100%. Para estos autores, la tinción con p504s se considera positiva en las glándulas ambiguas, únicamente si es intensa y circunferencial, o significativamente más intensa que la del fondo de glándulas benignas. El grupo del John Hopkins interpreta la positividad débil de p504s en las glándulas ambiguas como positiva únicamente si las glándulas benignas son completamente negativas; de modo similar, consideran negativa una tinción de intensidad moderada si las glándulas normales presentan un nivel moderado de positividad para p504s. La mayor parte de esta dificultad puede ser explicada por el hecho de que la inmunotinción con p504s es una tinción que proporciona resultados cuantitativos, mientras que la tinción con marcadores de células basales proporciona resultados cualitativos. Por todas estas razones antes mencionadas, los autores consideran que la inmunotinción de p504s debe ser interpretada junto con los resultados de inmunotinción de células basales. Como p63 es un antígeno nuclear y AMACR es citoplasmática, es posible utilizar una combinación (cóctel) con los anticuerpos en una sola sección histológica. El uso de dicho cóctel facilita la diferencia entre un PIN de alto grado y un carcinoma prostático invasivo ¹⁴³.

Recientemente, Harvey et al ¹⁴⁸ presentan un estudio en 57 pacientes con carcinoma prostático con afectación de vesículas seminales en el que evalúan la utilidad de inmunohistoquímica P504s/p63 en cóctel, así como PSA y PAP (fosfatasa ácida prostática). La totalidad de los casos fueron difusamente positivos para p504s, PSA y PAP y negativos para p63. El tejido prostático benigno fue positivo para PSA y PAP, siendo negativo para P504s. Por lo que, concluyen que esta inmunotinción es superior a la de PSA y PAP, sobre todo cuando afecta vesículas seminales y glándulas benignas, porque ni PSA ni PAP diferencian glándulas benignas de malignas.

Nosotros realizamos tinción en nuestros 100 casos de prostatectomía radical con el cóctel p63/AMACR. En los 78 casos que no tenían tratamiento neoad-

CARCINOMA PROSTÁTICO

yuvante previo a la prostatectomía, observamos en la totalidad de los mismos, inmunotinción positiva para AMACR en las glándulas tumorales, así como clara negatividad con p63 como marcador de células basales.

Patrón inmunohistoquímico en casos con tratamiento previo hormonal:

Como ya hemos comentado, la terapia androgénica previa a la prostatectomía radical puede inducir alteraciones histomorfológicas en el tejido prostático. Estas alteraciones pueden generar dificultad diagnóstica, tomando un aspecto atrófico en las glándulas o en forma de cordones o como células sueltas. Las tinciones inmunohistoquímicas puede ayudar en la detección de estas células sueltas. La aplicación de inmunohistoquímica para PSA y PSAP (fosfatasa ácida prostática específica) después de tratamiento hormonal está muy limitado porque disminuye considerablemente la inmunorreactividad. Los marcadores inmunohistoquímicos de células basales y la AMACR también son muy importantes en el diagnóstico, pero puede disminuir la inmunorreactividad. En un estudio de Hammed et al. ¹⁴³, observaron que la inmunorreactividad para AMACR estaba ausente en el 55% de los casos con carcinoma prostático localizado y tratado con terapia hormonal, cifra muy superior a los carcinomas no tratados.

Sung et al. ²⁹⁴ estudian en 49 pacientes que habían sido tratados con terapia hormonal la inmunotinción con AMACR. Observaron que en el 29% no se demostró expresión de AMACR, pero en los 71% restantes, la inmunotinción fue positiva pero de variable intensidad. Concluyendo que es importante que los patólogos tengan en cuenta los tratamientos hormonales previos a la intervención quirúrgica porque no todos los carcinomas prostáticos expresan inmunotinción para AMACR, por lo que la inmunohistoquímica debe ser interpretada con precaución.

En nuestro caso, había 22 pacientes que recibieron tratamiento neoadyuvante, observando un caso (4,5%) sin inmunotinción para AMACR y 10 casos con tinción débil (45,5%), demostrando en los 11 pacientes restantes (50%), clara positividad con dicho anticuerpo. Al realizar una posible correlación en-

DISCUSIÓN

tre los parámetros AMACR y el tratamiento neoadyuvante, se demuestra una asociación estadísticamente muy significativa con una $p=0,000$. Por tanto, en aquellos casos que antes de la prostatectomía radical se hayan tratado con terapia hormonal, podríamos ver alterado el patrón de inmunotinción con el anticuerpo AMACR, coincidiendo así nuestra experiencia con los hallazgos ya descritos en la bibliografía.

En cambio, con p63, en todos los casos, al igual que los pacientes sin tratamiento previo a la intervención quirúrgica, la inmunohistoquímica con dicho anticuerpo fue claramente negativa.

5.3.9.- MSMB.-

Entre las proteínas que hemos seleccionado para evaluar su expresión en nuestra serie de carcinomas de próstata, se encuentra MSMB (microseminoproteína beta), una proteína abundante del plasma seminal que parece jugar un papel regulador negativo en el desarrollo del cáncer de próstata. Para ello hemos usado un anticuerpo monoclonal de ratón (clona 4A6A6) preparado contra la proteína MSMB humana completa, recombinante, producida en *E.coli*.

Hemos encontrado que en las zonas con hiperplasia glandular incluida en las piezas de prostatectomía, el epitelio expresa abundante MSMB, lo cual es similar a los datos ya publicados^{321, 323, 337}. En el 94% de nuestros casos (esencialmente todos los que incluyen tejido prostático hiperplásico en el bloque analizado) observamos una inmunotinción con este anticuerpo, de nuevo similar a la bibliografía.

En las glándulas con neoplasia intraepitelial (PIN), hemos visto que aproximadamente en la mitad de los casos la tinción fue débil, en el 30% la inmunorreacción fue moderada, siendo infrecuente (un 4%) la inmunotinción MSMB robusta, claramente difusa.

En relación con las áreas neoplásicas de mayor grado Gleason (4 ó 5), hemos observado en la mayoría de los casos (hasta un 78% en los Gleason

CARCINOMA PROSTÁTICO

4, y un 88% en los Gleason 5), nula o escasa inmunotinción para MSMB. En las áreas de carcinoma de bajo grado Gleason (Gleason 3), observamos la misma tendencia, hay un 86% de los casos con ausencia o débil inmunorreacción con dicho anticuerpo.

Puesto que la proteína MSMB se asocia teóricamente a epitelio bien diferenciado, nos planteamos estudiar si la presencia de inmunotinción MSMB en epitelio de carcinoma de próstata (Gleason igual o superior a 3) podría representar un fenotipo relativamente mejor diferenciado. Se plantea pues la hipótesis que los casos de adenocarcinoma con tinción MSMB positiva en áreas de Gleason igual o superior a 3 podrían tener un comportamiento menos agresivo que aquellos casos con similar grado Gleason pero ausencia de expresión MSMB en el epitelio maligno. El número de casos de nuestra serie es muy limitado para hacer un análisis de la correlación expresión MSMB – valores de PSA a los 5 años (como indicador de agresividad) con múltiples niveles, para cada Gleason. Tampoco el número de casos que fallecieron de la enfermedad o tuvieron metástasis fue suficientemente grande para usar estas variables como indicadores de agresividad. Consecuentemente, hicimos un análisis estadístico de los niveles de PSA a los 5 años en función de que las áreas de carcinoma estudiadas tuviesen inmunotinción para MSMB. Consideramos por tanto la inmunorreacción en áreas de Gleason mayor o igual a 3, y clasificamos la inmunotinción MSMB en dos categorías: claramente positiva (tinción 2+ y 3+) y negativa (tinción débil, 1+, y no tinción, 0). Usando test no paramétricos (U de Mann-Whitney), hemos encontrado que los casos con tinción positiva para MSMB en áreas de carcinoma tienen cifras de PSA a los 5 años algo inferiores a los casos negativos ($p=0,019$). Nuestra serie incluye dos pacientes con niveles de PSA a los 5 años de uno o dos órdenes de magnitud por encima del resto de los casos, lo que sesgaba llamativamente los valores de las medias de los grupos. Por tanto, en un segundo análisis, excluimos estos dos casos, resultando ahora un valor $p=0,036$ en la prueba U de Mann-Whitney.

La asociación entre una baja expresión de MSMB y carcinoma de próstata

DISCUSIÓN

podría explicarse al menos de dos modos:

- que MSMB sea simplemente un marcador de epitelio bien diferenciado y el proceso de dediferenciación neoplásica conlleve la pérdida de expresión de este antígeno

- que la pérdida de expresión de MSMB juegue un papel causal en algún paso del proceso de carcinogénesis prostática. Nuestros resultados, confirman la asociación baja expresión MSMB – carcinoma, incluso en los estadios de in situ (PIN), pero al ser un estudio transversal no podemos decir nada sobre el posible papel patogénico de estos cambios en la expresión de MSMB. Además, se puede deducir, con significación estadística no muy fuerte, que los carcinomas que expresan MSMB podrían representar un subgrupo con algo mejor pronóstico (evaluado por los niveles de PSA a los 5 años) que los tumores de similar grado histológico pero negativos para MSMB.

En el presente trabajo hemos estudiado la posibilidad de caracterizar el genotipo del promotor de MSMB usando DNA extraído de los propios bloques de parafina preparados con la pieza de prostatectomía. De los 100 casos incluidos, hemos podido purificar DNA amplificable en 99, mientras que en 1 no fue posible obtener DNA de suficiente calidad para amplificación y análisis de su secuencia. Con el ensayo de PCR+RFLP que hemos diseñado, ha sido posible genotipar 96 de los casos estudiados. Entre estos, hemos encontrado que 22 eran de genotipo CC (ningún alelo de riesgo), mientras que 8 eran TT (homocigotos para el alelo de riesgo) y 66 eran heterocigotos CT. Consecuentemente, la frecuencia del alelo de riesgo (T) es 0.43 en nuestra serie de carcinomas de próstata, siendo la frecuencia del alelo C del 0.57. Estos porcentajes son/no son diferentes de lo encontrado en la población general (entre las 50 muestras DNA del banco de población normal del biobHUC, la frecuencia alélica fue 0.61 para C y 0.39 para T, con genotipos CC= 22 , TT= 11 , y CT= 17). Las frecuencias de genotipos y alelos descritas en bases de datos para varias poblaciones se reflejan en la tabla 33.

En el estudio de Whittaker et al.³²³, observaron que las lesiones PIN son negativas para MSMB, algo congruente con que la pérdida de expresión de

CARCINOMA PROSTÁTICO

MSMB tenga sea un evento patogénico en el desarrollo del carcinoma de próstata. Efectivamente, en nuestra serie, en un 60% (15/25) de los casos que tenían lesiones PIN, las células neoplásicas intraepiteliales no expresaban MSMB, compatible con que la pérdida de expresión de MSMB sea un evento temprano. Sin embargo, hasta un 40% de los casos que incluían lesiones PIN en nuestra serie tenían inmunotinción claramente positiva (niveles 2 y 3 de una escala semicuantitativa entre 0 y 3). El porcentaje de casos en que las células de carcinoma invasor son positivas para MSMB es inferior a lo encontrado en las áreas PIN, correspondiendo en nuestros casos al 14% (14/99), 22% (4/18) y 17% (1/6), en áreas de Gleason 3, 4 y 5, respectivamente. Por tanto, aunque se observa una tendencia a perder la inmunotinción MSMB a medida que progresa el proceso neoplásico, no parece que la pérdida de expresión de MSMB sea un elemento universal en la oncogénesis del carcinoma de próstata.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1.- En nuestro estudio, el rango de edad de los pacientes osciló entre 60 y 70 años (44% del total), siendo escasa su presentación por debajo de los 50 años (4%), lo que es congruente con la bibliografía revisada.

2.- En relación a las cifras de PSA, encontramos coincidencia en nuestro estudio con otros trabajos, obteniendo una incidencia del 59,2% de pacientes con PSA entre 4 y 10 ng/ml, y de 21% entre 10 y 20 ng/ml. No obstante, la incidencia mostró discrepancia para valores mayores de 20 ng/ml (14,4%) e iguales o menores de 4 ng/ml (5,2%). Apreciamos correlación estadísticamente significativa entre el valor de PSA, el grado de Gleason y estadio ($p=0,000$). También hay correlación estadísticamente significativa entre PSA y volumen del tumor ($p=0,03$).

3.- En el estadio tumoral, el porcentaje más elevado fue para pT2c (54% del total). Hay correlación estadísticamente significativa entre el estadio, volumen tumoral y gradación de Gleason.

4.- La presencia de metástasis (en el seguimiento de 5 años) se observó en 7 casos (7%) (5 óseas y 2 extraóseas - hígado y pulmones-). El número de casos no ha permitido precisar correlación de este parámetro con el grado de Gleason, volumen tumoral, porcentaje tumoral y tratamiento preoperatorio.

5.- La recurrencia, dentro del periodo de estudio, se presentó en un 9% de casos con cifras de PSA a los 5 años por encima de 0,2 ng/ml y en un 4 % por encima de 5 ng/ml. En el análisis estadístico se observó correlación muy

CARCINOMA PROSTÁTICA

significativa de la recurrencia con el grado de Gleason y el estadio patológico ($p=0,000$).

6.– El 5% de los pacientes (5 casos) fallecieron durante el periodo de estudio, 3 de ellos en relación con la neoplasia prostática. La cifra no permite poner de manifiesto las posibles asociaciones entre mortalidad y otros parámetros, tales como gradación de Gleason y volumen tumoral.

7.– La incidencia de casos y correlaciones según parámetros patológicos convencionales fue la siguiente: a) según la *GRADACIÓN DE GLEASON* el 74,2% entre los grados 2 y 6, el 20,4% en el grado 7 y el 7,2% entre los grados 8 y 10 (orden de incidencia coincidente con las casuísticas más relevantes revisadas). Hay notable asociación (estadísticamente significativa $-p<0,01$) entre el grado de Gleason y las variables de estadio, volumen y porcentaje tumoral. b) según la *AFECCIÓN DE MÁRGENES QUIRÚRGICOS*, esta ocurrió en algo más de la mitad de nuestros casos (52,6%), cifra elevada con respecto a otros estudios. No encontramos correlación entre márgenes quirúrgicos afectados y las variables de Gleason y PSA a los 5 años. c) según la *INVASION CAPSULAR*, esta se demostró en el 35,1% de nuestros casos, cifra coincidente con la bibliografía revisada. En el análisis estadístico se observó correlación muy significativa de este parámetro con el grado de Gleason ($p<0,01$), no apreciándose asociación con el PSA a los 5 años. d) según la *EXTENSIÓN EXTRAPROSTÁTICA*, esta estuvo presente en el 17% de nuestra casuística. Hay correlación muy significativa entre PSA a los 5 años ($P<0,001$) y el grado de Gleason ($p<0,009$), no existiendo significación estadística para metástasis y mortalidad. e) según la *INVASION DE VESICULAS SEMINALES*, esta se detectó en el 18,37% de nuestros casos. Se demostró correlación muy significativa con el grado de Gleason ($<0,001$), no existiendo relación con PSA después de los 5 años.

CONCLUSIONES

8.- En la detección de células neuroendocrinas en el tumor (*CROMOGRANINA A* positivas) (considerando 3 categorías: ausencia, baja frecuencia -elementos celulares aislados- y alta frecuencia -al menos 10 células en un campo de X200-), se demostró ausencia en el 90%, baja frecuencia en el 6% y alta frecuencia en el 4% de los sujetos sin tratamiento neoadyuvante. En el grupo de neoadyuvancia terapéutica se intensificaron escasamente los casos negativos (95%), sin diferencias estadísticas significativas. Se demostró correlación estadística del parámetro con el PSA a los 5 años y recurrencia bioquímica ($P=0,05$); no así con gradación de Gleason, mortalidad y metástasis.

9.- Se demostró incremento de la microvascularización (vasos con positividad endotelial CD31) en el carcinoma prostático y asociación entre la angiogénesis y la presencia de metástasis, lo que hace considerarle un factor de valor o significado pronóstico en el carcinoma prostático.

10.- Los parámetros pronósticos según los diferentes procedimientos inmunohistoquímicos pusieron de manifiesto lo siguiente: a) El índice proliferativo (*Ki-67*) fue menor del 3% en el 65,4% de los casos, del 3 al 7 % en el 15,4% de los casos y mayor del 7% en el 19,2% de los casos. No encontramos correlación estadística del parámetro con la gradación de Gleason, PSA a los 5 años, metástasis y mortalidad. b) La *E-CADHERINA* se expresó en el 84,6% de los casos sin tratamiento neoadyuvante y en el 0% de los casos con dicho tratamiento, confirmándose la negatividad de esta inmunotinción para este marcador en caso de terapia neoadyuvante. No se evidencia significado estadístico del parámetro con gradación de Gleason, PSA a los 5 años, metástasis y mortalidad. c) No se demostró correlación significativamente estadística entre Bcl-2 con la gradación de Gleason, mortalidad, metástasis y niveles de PSA a los 5 años, a pesar de estar así recogida en otros trabajos. d) Pusimos

CARCINOMA PROSTÁTICA

de manifiesto al igual que numerosos autores, asociación estadísticamente significativa del gen supresor tumoral p53, recurrencia bioquímica (PSA a los 5 años) ($P=0,017$) y metástasis ($P=0.044$). Por lo que lo consideramos como posible factor pronóstico. e) No demostramos asociación estadística significativa de c-erbB2 con gradación de Gleason, PSA a los 5 años, metástasis o mortalidad.

11.- *p504/p63*: En la totalidad de los casos sin tratamiento neoadyuvante, la expresión de p504s fue intensa, así como la negatividad para p63. Por tanto a) podemos utilizar este cóctel como marcador inmunohistoquímico diagnóstico en el carcinoma prostático. b) En los casos con tratamiento previo a la intervención, la tinción con p504s fue variable, desde nula, débil, moderada e intensa, con una asociación estadísticamente muy significativa, por lo que no debería utilizar este anticuerpo en exclusiva para el diagnóstico de malignidad, en cambio, la p63 es claramente negativa en todos ellos. C) Se podría utilizar este cóctel de anticuerpos para diferenciar variantes que planteen diagnóstico diferencial con lesiones glandulares que ofrecen pseudoestratificación nuclear.

12.- *MSMB*.

El porcentaje de casos en que las células de carcinoma invasor son positivas para MSMB es inferior al encontrado en las áreas PIN, por lo que a pesar de observar una tendencia a perder la inmunotinción a medida que progresa el proceso neoplásico, no parece que la pérdida de expresión de MSMB sea un elemento universal en la oncogénesis del carcinoma prostático.

Los carcinomas que expresan MSMB pueden corresponder a un subgrupo con mejor pronóstico (evaluado con los niveles de PSA a los 5 años), que los de similar gradación histológica negativos para MSMB.

En cuanto a los genotipos encontrados para el polimorfismo del promotor del gen MSMB, en nuestra serie hemos encontrado una frecuencia del alelo de

CONCLUSIONES

riesgo (T) en los carcinomas de próstata sólo ligeramente superior (0.43) a la observada en una muestra de la población general (0.39) (diferencias no significativas). Por tanto, nuestros datos tampoco apoyan la idea que este polimorfismo sea un factor de riesgo importante en el desarrollo del carcinoma prostático en nuestra población.

ANEXOS

ANEXOS

Nº CASO	EDAD	PSA PREOP	PT ESTADIO	GLEASON	PSA A LOS 5 AÑOS	HEMISFERIOS
1	66	7,4	T2a	.	0,15	IZQ
2	62	8,92	T2b	6	0	DER
3	61	.	T2a	.	0,02	IZQ
4	53	5,5	T2c	6	0,11	BIL
5	65	3,52	T2a	6	0	DER
6	67	5,67	T2a	6	.	IZQ
7	72	8,6	T2a	6	0	IZQ
8	44	8	T2c	6	0,25	BIL
9	66	30	T3B	7	0	BIL
10	70	15	T2c	7	.	BIL
11	56	6,5	T2c	6	.	BIL
12	74	22,5	T3b	7	0	BIL
13	67	18	T2c	8	0	BIL
14	72	52	FRAG	7	0,2	.
15	72	.	T3b	6	.	BIL
16	63	8,22	T2b	7	0,99	DER
17	54	6,73	T2c	6	0	BIL
18	62	10,4	T3b	6	0	BIL
19	63	26	T2c	7	0	BIL
20	65	10,7	T2c	6	0	BILL
21	55	.	T2c	6	0,12	BIL
22	54	11,2	T2c	6	0	BIL
23	67	2,4	T2c	7	0,01	BIL
24	66	14,8	T2c	6	0	BIL
25	65	5,95	T2c	6	0	BIL
26	55	5,01	T2c	6	0	BIL
27	70	8,2	T2a	6	0	IZQ
28	70	7,72	T2c	6	0	BIL
29	72	5	T2c	6	0	BIL
30	74	5,92	T2a	6	0	IZQ
31	68	11,8	T2c	7	0	BIL
32	56	16,9	T2c	8	0	BIL
33	65	57,56	T3b	8	0	BIL
34	67	9,23	T2c	6	0,03	BIL
35	45	5,76	T2c	6	0,01	BIL
36	70	9,1	T3b	6	0	IZQ
37	69	18,03	T3a	7	.	BIL
38	62	6,5	T2c	6	0	BIL
39	61	.	T2a	6	0	IZQ
40	67	12,7	T3b	8	282	BIL
41	70	8,65	T2a	0	.	BIL
42	63	5,72	T2c	6	0,01	BIL
43	69	.	T2c	6	0,02	BIL
44	74	.	T2a	6	5,1	DER
45	58	40,71	T3b	7	0,3	BIL
46	71	6,5	T2c	6	0	BIL
47	63	25,79	T2c	6	0,03	BIL
48	54	118	T3b	7	0,05	BIL
49	69	7,5	T2c	6	0,03	BIL
50	69	.	T3b	8	0	BIL

Nº CASO	EDAD	PSA PREOP	PT ESTADIO	GLEASON	PSA A LOS 5 AÑOS	HEMISFERIOS
51	68	11,15	T2c	8	0	BIL
52	66	7,81	T2c	6	0	BIL
53	60	4,22	T2a	6	0	DER
54	59	8,3	T2c	6	0	BIL
55	70	2,8	FRAG	6	0	.
56	63	6,7	T2c	6	0	BIL
57	74	27	T2b	6	0,06	DER
58	70	.	T2b	6	0	DER
59	71	18,89	T2c	6	0	BIL
60	56	10,4	T2c	6	0	BIL
61	57	21,55	T3b	7	0	BIL
62	59	6,93	T3a	7	264	BIL
63	58	5,2	T3a	7	0	BIL
64	69	20,82	T3a	7	0	BIL
65	60	12,32	T3b	7	0,03	BIL
66	67	5,94	T2c	6	0,03	BIL
67	59	7,27	T2b	6	0	DER
68	68	7,6	T2c	6	0,02	BIL
69	71	4,6	T2b	6	0	DER
70	57	8,22	T2c	6	.	BIL
71	58	9,83	T2c	6	0,01	BIL
72	70	4,96	T2c	6	0,06	BIL
73	62	7,94	T2b	8	0,03	IZQ
74	69	9,06	T2b	6	0	IZQ
75	56	.	T2c	6	0	BIL
76	66	.	T2c	6	0,73	BIL
77	70	17	T3b	7	.	BIL
78	70	.	T2c	6	0,03	BIL
79	50	.	T3b	6	0,73	DER
80	50	.	T3b	6	0,34	IZQ
81	63	6,1	T2c	6	0	BIL
82	71	8,57	T3b	6	0	BIL
83	62	4,13	T2c	6	0,18	BIL
84	63	8	T2b	6	0	IZQ
85	65	.	T2c	6	0	BIL
86	70	.	T2c	6	0,01	BIL
87	60	5,48	T2c	6	0	BIL
88	67	17,62	T2b	6	0	IZQ
89	61	4,57	T2b	6	0	DER
90	60	.	T2b	6	0	IZQ
91	58	.	T2c	6	0	BIL
92	63	.	T2C	6	0,01	BIL
93	74	.	T2c	6	0,01	BIL
94	66	.	T2c	6	0	BIL
95	74	.	T3b	7	0	BIL
96	53	.	T2c	6	.	BIL
97	63	.	T2c	7	0,02	BIL
98	76	.	T3b	6	0,03	BIL
99	59	.	FRAG	6	0	.
100	62	4,51	T2c	6	0	BIL

Nº CASO	MÁRGENES QUIRÚRGICOS	INVASION CAPSULAR	INVASIÓN VESÍCULAS	AFECTACIÓN EXTRAPROSTÁTICA
1	NO	NO	NO	NO
2	NO	NO	NO	NO
3	NO	NO	NO	NO
4	NO	NO	NO	NO
5	SI	SI	NO	NO
6	NO	NO	NO	NO
7	NO	NO	NO	NO
8	SI	NO	NO	SI
9	NO	SI	SI	NO
10	SI	SI	NO	NO
11	SI	NO	NO	NO
12	SI	NO	SI	NO
13	SI	NO	NO	NO
14	.	.	.	NO
15	SI	NO	SI	SI
16	NO	NO	NO	NO
17	NO	NO	NO	NO
18	SI	SI	SI	SI
19	NO	SI	NO	NO
20	NO	SI	NO	NO
21	NO	NO	NO	NO
22	NO	SI	NO	NO
23	SI	NO	NO	NO
24	SI	NO	NO	NO
25	NO	NO	NO	NO
26	SI	NO	NO	NO
27	NO	NO	NO	NO
28	SI	NO	NO	NO
29	NO	SI	NO	NO
30	NO	NO	NO	NO
31	NO	NO	NO	NO
32	SI	NO	NO	NO
33	SI	SI	SI	SI_ 5DCHO
34	SI	NO	NO	NO
35	SI	SI	NO	NO
36	SI	NO	SI	NO
37	NO	SI	NO	SI_ 5DCHO
38	SI	NO	NO	NO
39	SI	NO	NO	NO
40	SI	SI	SI	SI_4DCHO
41	NO	NO	NO	NO
42	SI	NO	NO	NO
43	NO	SI	NO	NO
44	NO	NO	NO	NO
45	SI	SI	SI	NO
46	NO	NO	NO	NO
47	NO	NO	NO	NO
48	SI	SI	SI	NO
49	SI	SI	NO	NO
50	SI	SI	SI	SI_AI

Nº CASO	MÁRGENES QUIRÚRGICOS	INVASION CAPSULAR	INVASIÓN VESÍCULAS	AFECTACIÓN EXTRAPROSTÁTICA
51	NO	SI	NO	NO
52	SI	NO	NO	NO
53	NO	NO	NO	NO
54	NO	NO	NO	NO
55	.	.	.	NO
56	NO	NO	NO	NO
57	SI	NO	NO	NO
58	SI	NO	NO	NO
59	NO	NO	NO	NO
60	NO	NO	NO	NO
61	SI	SI	SI	NO
62	NO	SI	NO	SI_DP
63	NO	SI	NO	SI_DP
64	NO	NO	NO	SI_DP
65	SI	SI	SI	SI_AD Y PI
66	NO	SI	NO	NO
67	NO	SI	.	NO
68	NO	NO	.	NO
69	NO	NO	NO	NO
70	NO	NO	NO	NO
71	NO	NO	NO	NO
72	SI	NO	NO	NO
73	NO	NO	NO	NO
74	SI	SI	NO	NO
75	NO	NO	NO	NO
76	SI	SI	NO	NO
77	SI	SI	SI	.
78	NO	NO	NO	NO
79	SI	NO	SI	SI_PD
80	SI	NO	SI	NO
81	SI	NO	NO	NO
82	NO	NO	SI	NO
83	SI	SI	NO	NO
84	SI	NO	NO	NO
85	SI	NO	NO	SI_PD
86	NO	NO	NO	NO
87	NO	NO	NO	NO
88	NO	NO	NO	NO
89	NO	NO	NO	NO
90	NO	NO	NO	NO
91	NO	NO	NO	NO
92	NO	NO	NO	NO
93	SI	SI	NO	SI_DA
94	SI	SI	NO	SI_PI
95	SI	SI	SI	.
96	SI	NO	NO	NO
97	SI	SI	NO	NO
98	SI	SI	SI	SI_PD
99	.	.	NO	NO
100	NO	SI	NO	NO

Nº CASO	METÁSTASIS	MORTALIDAD	TRATAMIENTO PREOPERATORIO
1			SI
2			NO
3			SI
4			NO
5			NO
6		FALLECIDO POR OTRA CAUSA	NO
7			NO
8			NO
9			NO
10	MTX HEPATICA Y PERITONEO	FALLECIDO 2007	NO
11	MTX ÓSEA 2010		NO
12			SI
13			SI
14			NO
15		FALLECIDO POR OTRA CAUSA	NO
16		FALLECIDO POR OTRA CAUSA	NO
17			NO
18			NO
19			SI
20			NO
21			NO
22			NO
23			NO
24			NO
25			NO
26			NO
27			NO
28			NO
29			NO
30		FALLECIDO POR OTRA CAUSA	NO
31			NO
32			SI
33			SI
34			SI
35			NO
36			NO
37			SI
38			SI
39			NO
40			NO
41			SI
42			NO
43			NO
44	MTX PULMONAR	FALLECIDO 2006	NO
45			NO
46			SI
47			NO
48			NO
49			SI
50		FALLECIDO	NO

Nº CASO	METÁSTASIS	MORTALIDAD	TRATAMIENTO PREOPERATORIO
51			NO
52		FALLECIDO POR OTRA CAUSA	NO
53	MTX OSEA		NO
54	MTX OSEA		SI
55			SI
56			SI
57			SI
58			SI
59			SI
60	MTX ÓSEA		SI
61			NO
62	MTS ÓSEA 2009		NO
63			NO
64			NO
65			NO
66			NO
67			NO
68			SI
69			NO
70			SI
71			NO
72			NO
73			NO
74			NO
75			NO
76			NO
77			NO
78			NO
79			NO
80			NO
81			NO
82			NO
83			NO
84			NO
85			NO
86			NO
87			NO
88			NO
89			NO
90			NO
91			NO
92			NO
93			NO
94			NO
95			NO
96			NO
97			NO
98			NO
99			NO
100			NO

Nº CASO	Ki-67 (%)	Bcl-2	CROMOGRANINA	E-CADHERINA	p53 (%)
1	0	0	0	1	10
2	1	0	0	1	10
3	1	0	0	1	0
4	0	0	0	1	0
5	0	0	0	1	7
6	0	0	0	1	0
7	0	0	0	1	0
8	0	0	0	1	0
9	5	0	0	1	1
10	1	0	0	1	0
11	2	0	0	1	0
12	1	0	0	1	0
13	2	0	0	1	0
14	0	0	0	1	0
15	5	0	0	1	1
16	0	0	0	0	0
17	0	0	0	1	0
18	1	0	0	1	0
19	0	0	0	1	0
20	3	0	0	0	0
21	2	0	0	1	0
22	0	0	0	1	0
23	1	0	0	0	7
24	0	0	0	0	0
25	10	0	2	1	0
26	0	1	0	1	0
27	1	0	0	1	0
28	2	0	0	0	0
29	0	0	0	1	0
30	15	1	0	0	0
31	0	0	0	1	1
32	0	0	2	0	0
33	0	0	0	0	0
34	1	0	0	0	0
35	0	0	0	0	0
36	0	0	0	0	0
37	15	0	0	1	1
38	0	0	0	1	0
39	0	0	0	1	0
40	20	0	0	1	45
41	0	0	0	1	0
42	0	0	0	1	0
43	0	0	0	1	1
44	0	0	0	1	5
45	0	0	1	1	10
46	5	0	0	1	0
47	1	1	2	1	5
48	1	1	2	1	10
49	14	0	0	0	0
50	22	0	0	1	0

Nº CASO	Ki-67 (%)	Bcl-2	CROMOGRANINA A	E-CADHERINA	p53 (%)
51	5	1	1	1	5
52	7	0	0	1	10
53	0	0	0	1	10
54	0	0	0	1	3
55	0	0	0	1	10
56	6	0	0	1	10
57	1	0	0	1	5
58	7	0	0	1	2
59	1	0	0	1	0
60	1	0	0	1	5
61	15	0	0	1	5
62	7	0	0	1	50
63	1	0	0	1	0
64	2	0	0	1	0
65	7	0	0	1	30
66	0	0	0	1	10
67	4	0	0	1	5
68	1	0	0	1	3
69	1	0	0	1	0
70	0	0	0	1	1
71	2	0	0	1	0
72	7	0	0	1	0
73	5	1	0	1	0
74	1	0	0	1	2
75	0	0	0	1	0
76	4	0	0	1	5
77	0	0	0	1	0
78	0	0	0	1	5
79	7	0	0	1	70
80	1	0	1	1	0
81	5	0	0	1	0
82	0	0	0	1	0
83	5	0	0	0	0
84	3	0	0	1	0
85	7	1	0	0	1
86	0	0	0	1	5
87	4	0	0	0	0
88	0	0	0	1	1
89	1	0	0	1	0
90	0	0	0	0	0
91	0	1	0	1	0
92	0	0	0	1	2
93	15	0	1	1	0
94	2	0	0	1	3
95	4	0	0	0	0
96	2	0	0	1	0
97	8	0	0	1	0
98	8	0	1	1	0
99	15	0	0	1	0
100	20	0	0	1	5

Nº CASO	HER-2-NEU	p63	p504s	VolTum (mm ³)	Porcentaje Tumoral
1	0	0	1	18	0,04
2	0	0	2	1660,5	5,03
3	0	0	2	486	1,16
4	0	0	2	918	3,28
5	0	0	2	999	3,7
6	0	0	2	85,5	0,2
7	0	0	2	1363,5	1,41
8	0	0	2	1327,5	2,46
9	0	0	2	6493,5	8,12
10	0	0	2	6250,5	16,89
11	0	0	2	1633,5	7,78
12	0	0	2	832,5	1,14
13	0	0	2	6435	19,5
14	0	0	2	30	0,06
15	0	0	2	868,5	3,78
16	0	0	2	576	2,74
17	0	0	2	3078	7,89
18	0	0	2	1431	4,21
19	0	0	1	3514,5	10,04
20	0	0	2	3240	12
21	0	0	2	837	4,19
22	0	0	2	1480,5	4,35
23	0	0	2	733,5	2,62
24	0	0	2	540	2,35
25	0	0	2	1233	3,85
26	0	0	2	1557	7,79
27	0	0	2	13,5	0,04
28	0	0	2	1377	3,93
29	0	0	2	1120,5	5,09
30	0	0	0	846	1,3
31	0	0	2	859,5	2,2
32	0	0	1	1714,5	5,91
33	0	0	1	9342	22,24
34	0	0	2	256,5	1,22
35	0	0	2	1219,5	2,84
36	0	0	2	765	0,91
37	0	0	2	9544,5	20,75
38	0	0	2	648	1,96
39	0	0	2	567	1,96
40	0	0	2	5341,5	17,81
41	0	0	1	126	0,42
42	0	0	2	625,5	2,61
43	0	0	2	1800	4,19
44	0	0	2	441	2,21
45	1	0	2	3352,5	9,86
46	1	0	2	126	0,48
47	1	0	2	3100,5	10,34
48	0	0	2	9544,5	22,2
49	0	0	1	450	1,5
50	0	0	2	5287,5	13,56

Nº CASO	HER-2-NEU	p63	p504s	VolTum	Porcentaje Tumoral
51	0	0	2	405	1,27
52	0	0	2	405	1,62
53	0	0	2	180	0,43
54	0	0	1	238,5	0,75
55	0	0	2	927	2,65
56	0	0	2	297	0,71
57	0	0	2	432	1,6
58	0	0	1	711	2,96
59	0	0	1	94,5	0,41
60	0	0	2	994,5	2,21
61	0	0	1	7438,5	33,81
62	0	0	2	2745	6,1
63	0	0	2	1827	6,77
64	0	0	2	5053,5	12,03
65	0	0	2	8941,5	27,94
66	0	0	2	2299,5	7,19
67	0	0	1	1966,5	6,15
68	0	0	2	886	4,43
69	0	0	2	234	0,65
70	0	0	2	112,5	0,24
71	0	0	2	1660,5	3,86
72	0	0	2	3114	7,41
73	0	0	2	30	0,14
74	0	0	2	2187	3,98
75	0	0	2	18	0,09
76	0	0	2	1732,5	4,95
77	0	0	2	30	0,04
78	0	0	2	229,5	0,37
79	0	0	2	3897	7,79
80	0	0	2	1894,5	13,53
81	0	0	2	4657	13,31
82	0	0	2	1423,5	1,9
83	0	0	2	1661	5,54
84	0	0	2	418,5	0,62
85	0	0	2	2074,5	5,93
86	0	0	2	2488,5	3,77
87	0	0	2	585	1,63
88	0	0	2	1278	4,26
89	0	0	2	589,5	1,59
90	0	0	2	351	0,47
91	0	0	2	504	0,6
92	0	0	2	1179	3,47
93	0	0	2	4612,5	20,97
94	0	0	2	1135,5	1,75
95	0	0	2	1300,5	3,42
96	0	0	2	1098	4,58
97	0	0	2	2547	14,15
98	0	0	2	3159	15,8
99	0	0	2	157,5	0,79
100	0	0	2	1134	3,24

ANEXO MSMB

Nº CASO	Gleason 3	Gleason 4	Gleason 5	PIN III	Tejido Benigno
1	1	.	.	.	2
2	0	.	.	.	2
3	0	.	.	.	1
4	0	.	.	.	3
5	1	.	.	.	2
6	0	.	.	.	3
7	0	.	.	1	2
8	2	.	.	.	3
9	0	1	.	.	2
10	0	0	.	.	2
11	0	.	.	.	3
12	1	0	.	.	2
13	1	.	0	.	3
14	0	0	.	1	2
15	3	.	.	.	3
16	0	1	.	.	3
17	0	.	.	.	3
18	0	.	0	.	3
19	1	2	.	2	3
20	0	.	.	.	2
21	1	.	.	.	2
22	0	.	.	.	3
23	0	0	.	1	1
24	0	.	.	2	2
25	1	.	.	2	2
26	0	.	.	1	2
27	0	.	.	.	3
28	1	.	.	.	2
29	0	.	.	.	2
30	2	.	.	.	3
31	0	3	.	1	3
32	0	.	.	.	3
33	0	.	1	.	3
34	2	.	.	.	2
35	0	.	.	1	3
36	2	.	.	.	3
37	0	0	.	0	3
38	0	.	.	2	2
39	0	.	.	0	3
40	3	.	3	.	.
41	0	.	.	.	1
42	1	.	.	.	3
43	0	.	.	1	2
44	2
45	1	0	.	.	2
46	1	.	.	.	2
47	0	.	.	.	3
48	0	0	.	.	.
49	1	.	.	.	3
50	0	0	.	.	3

Nº CASO	Gleason 3	Gleason 4	Gleason 5	PIN III	Tejido Benigno
51	0	0	.	0	3
52	0	.	.	.	3
53	1	.	.	.	3
54	0	.	.	2	3
55	2	.	.	.	3
56	0	.	.	.	3
57	0	.	.	3	3
58	1	.	.	.	2
59	2	.	.	.	2
60	0	.	.	.	3
61	3	3	.	.	.
62	1	2	.	.	2
63	0	0	.	.	3
64	0	0	.	1	3
65	0	1	.	2	.
66	0	.	.	.	3
67	2	.	.	.	3
68	2	.	.	.	3
69	0	.	.	.	1
70	1	.	.	.	3
71	0	.	.	2	.
72	0	.	.	1	1
73	0	.	1	.	2
74	1	.	.	.	3
75	1	.	.	.	3
76	0	.	.	1	2
77
78	1	.	.	.	3
79	0	.	.	.	3
80	0
81	0	.	.	.	2
82	0	.	.	.	3
83	1	.	.	.	2
84	0	.	.	1	3
85	1	.	1	.	2
86	0	.	.	.	3
87	0	.	.	.	3
88	0	.	.	.	2
89	1	.	.	.	3
90	0	.	.	.	3
91	1	.	.	.	3
92	0	.	.	.	3
93	0	.	.	.	3
94	2	.	.	.	2
95	1	.	.	.	3
96	0	.	.	.	3
97	0	.	.	.	3
98	2	.	.	1	3
99	0	.	.	.	3
100	0	.	.	.	3

**Estimación de frecuencias alélicas y
equilibrio de Hardy-Weinberg
MSMB**

Grupo de controles									
Genotipo	número			predicción H-W	obs	exp	obs-exp	(obs-exp) ²	(obs-exp) ² /exp
CC	22	frec. C =	0,61	18,61	22	18,61	3,4	11,53	0,62
CT	17			23,79	17	23,79	-6,79	46,1	1,94
TT	11	frec. T =	0,39	7,61	11	7,61	3,4	11,53	1,52
total	50			50					4,07 X ²
						P values for df=2			
						0,05	0,01	0	0
					X²	6	9,2	13,8	18,5
Grupo de CaP									
Genotipo	número			predicción H-W	obs	exp	obs-exp	(obs-exp) ²	(obs-exp) ² /exp
CC	22	frec. C =	0,57	31,51	22	31,51	-9,51	90,45	2,87
CT	66			46,98	66	46,98	19,02	361,79	7,7
TT	8	frec. T =	0,43	17,51	8	17,51	-9,51	90,45	5,17
total	96			96					15,74 X ²
obs	exp	obs-exp	obs-exp	(obs-exp) ² /exp					
0,23	0,44	-0,21	0,04	0,1					
0,69	0,34	0,35	0,12	0,36					
0,08	0,22	-0,14	0,02	0,08					
				0,54					X ²

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

1. Abaza R, Diaz LK, Jr., Laskin WB, Pins MR. Prognostic value of DNA ploidy, bcl-2 and p53 in localized prostate adenocarcinoma incidentally discovered at transurethral prostatectomy. *J Urol* 2006; 176(6 Pt 1):2701-2705.
2. Abdulkadir SA, Magee JA, Peters TJ et al. Conditional loss of Nkx3.1 in adult mice induces prostatic intraepithelial neoplasia. *Mol Cell Biol* 2002; 22(5):1495-1503.
3. Aho DA, Hoffman KE, Hu JC, Choueiri TK, D'Amico AV, Nguyen PL. Which Patients With Undetectable PSA Levels 5 Years After Radical Prostatectomy Are Still at Risk of Recurrence?- Implications for a Risk-adapted Follow-up Strategy. *Urology* 2010.
4. Alcaraz A, Takahashi S, Brown JA et al. Aneuploidy and aneusomy of chromosome 7 detected by fluorescence in situ hybridization are markers of poor prognosis in prostate cancer. *Cancer Res* 1994; 54(15):3998-4002.
5. Alemán A, García A. Atlas de mortalidad por cáncer en la Comunidad Autónoma de Canarias (1982-1990). Santa Cruz de Tenerife: Dirección de Salud Pública; 1995.
6. Algaba F, Arce Y, Fernandez S, Oliver A, Alcaraz A. Adhesion molecules expression as a potential marker of prostate cancer aggressivity. A TMA study of radical prostatectomy specimens. *Arch Ital Urol Androl* 2006; 78(4):130-134.
7. Allsbrook WC, Jr., Mangold KA, Johnson MH et al. Interobserver reproducibility of Gleason grading of prostatic carcinoma: urologic pathologists. *Hum Pathol* 2001; 32(1):74-80.
8. Allsbrook WC, Jr., Simms WW. Histochemistry of the prostate. *Hum Pathol* 1992; 23(3):297-305.
9. Andriole GL, Crawford ED, Grubb RL, III et al. Mortality results from a randomized prostate-cancer screening trial. *N Engl J Med* 2009; 360(13):1310-1319.
10. Andriole GL, Smith DS, Rao G, Goodnough L, Catalona WJ. Early complications of contemporary anatomical radical retropubic prostatectomy. *J Urol* 1994; 152(5 Pt 2):1858-1860.
11. Applewhite JC, Matlaga BR, McCullough DL. Results of the 5 region prostate biopsy method: the repeat biopsy population. *J Urol* 2002; 168(2):500-503.

CARCINOMA PROSTÁTICO

12. Aprikian AG, Zhang ZF, Fair WR. Prostate adenocarcinoma in men younger than 50 years. A retrospective review of 151 patients. *Cancer* 1994; 74(6):1768-1777.
13. ARIAS FÚÑEZ F, LOVACO CASTELLANO F, GARCIA CUERPO E. Formación Continua en Urología. *Formación Continuada en Urología* 2000; 6(4).
14. Armbruster DA. Prostate-specific antigen: biochemistry, analytical methods, and clinical application. *Clin Chem* 1993; 39(2):181-195.
15. Artandi SE, Chang S, Lee SL et al. Telomere dysfunction promotes non-reciprocal translocations and epithelial cancers in mice. *Nature* 2000; 406(6796):641-645.
16. Asatiani E, Huang WX, Wang A et al. Deletion, methylation, and expression of the NKX3.1 suppressor gene in primary human prostate cancer. *Cancer Res* 2005; 65(4):1164-1173.
17. Attard G, Clark J, Ambrosine L et al. Duplication of the fusion of TMPRSS2 to ERG sequences identifies fatal human prostate cancer. *Oncogene* 2008; 27(3):253-263.
18. Bajjal-Gupta M, Clarke MW, Finkelman MA, McLachlin CM, Han VK. Prostatic secretory protein (PSP94) expression in human female reproductive tissues, breast and in endometrial cancer cell lines. *J Endocrinol* 2000; 165(2):425-433.
19. Bandyk MG, Zhao L, Troncoso P et al. Trisomy 7: a potential cytogenetic marker of human prostate cancer progression. *Genes Chromosomes Cancer* 1994; 9(1):19-27.
20. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116(2):281-297.
21. bate-Shen C, Banach-Petrosky WA, Sun X et al. Nkx3.1; Pten mutant mice develop invasive prostate adenocarcinoma and lymph node metastases. *Cancer Res* 2003; 63(14):3886-3890.
22. Beach R, Gown AM, De Peralta-Venturina MN et al. P504S immunohistochemical detection in 405 prostatic specimens including 376 18-gauge needle biopsies. *Am J Surg Pathol* 2002; 26(12):1588-1596.
23. Berglund RK, Stephenson AJ, Cronin AM et al. Comparison of observed biochemical recurrence-free survival in patients with low PSA values undergoing radical prostatectomy and predictions of preoperative nomogram. *Urology* 2009; 73(5):1098-1103.
24. Berney DM, Gopalan A, Kudahetti S et al. Ki-67 and outcome in clinically localised prosta-

BIBLIOGRAFÍA

- te cancer: analysis of conservatively treated prostate cancer patients from the Trans-Atlantic Prostate Group study. *Br J Cancer* 2009; 100(6):888-893.
25. Bethel CR, Faith D, Li X et al. Decreased NKX3.1 protein expression in focal prostatic atrophy, prostatic intraepithelial neoplasia, and adenocarcinoma: association with gleason score and chromosome 8p deletion. *Cancer Res* 2006; 66(22):10683-10690.
26. Bettencourt MC, Bauer JJ, Sesterhenn IA, Connelly RR, Moul JW. CD34 immunohistochemical assessment of angiogenesis as a prognostic marker for prostate cancer recurrence after radical prostatectomy. *J Urol* 1998; 160(2):459-465.
27. Bieberich CJ, Fujita K, He WW, Jay G. Prostate-specific and androgen-dependent expression of a novel homeobox gene. *J Biol Chem* 1996; 271(50):31779-31782.
28. Bjartell AS, Al-Ahmadie H, Serio AM et al. Association of cysteine-rich secretory protein 3 and beta-microseminoprotein with outcome after radical prostatectomy. *Clin Cancer Res* 2007; 13(14):4130-4138.
29. Blackburn EH. Structure and function of telomeres. *Nature* 1991; 350(6319):569-573.
30. Blute ML, Bostwick DG, Seay TM et al. Pathologic classification of prostate carcinoma: the impact of margin status. *Cancer* 1998; 82(5):902-908.
31. Boorjian SA, Karnes RJ, Crispen PL et al. The impact of positive surgical margins on mortality following radical prostatectomy during the prostate specific antigen era. *J Urol* 2010; 183(3):1003-1009.
32. Bostwick DG. Prostatic adenocarcinoma with endometrioid features. Clinical, pathologic and ultrastructural findings. Kindracchuk RW RR, editor. 9 [*Lancet Oncol*], 595-609.
Ref Type: Generic
33. Bostwick DG, Brawer MK. Prostatic intra-epithelial neoplasia and early invasion in prostate cancer. *Cancer* 1987; 59(4):788-794.
34. Bostwick DG, Foster CS. Predictive factors in prostate cancer: current concepts from the 1999 College of American Pathologists Conference on Solid Tumor Prognostic Factors and the 1999 World Health Organization Second International Consultation on Prostate Cancer. *Semin Urol Oncol* 1999; 17(4):222-272.
35. Bostwick DG, Graham SD, Jr., Napalkov P et al. Staging of early prostate cancer: a propo-

CARCINOMA PROSTÁTICO

sed tumor volume-based prognostic index. *Urology* 1993; 41(5):403-411.

36. Bostwick DG, Qian J, Bergstralh E et al. Prediction of capsular perforation and seminal vesicle invasion in prostate cancer. *J Urol* 1996; 155(4):1361-1367.

37. Bowen C, Bubendorf L, Voeller HJ et al. Loss of NKX3.1 expression in human prostate cancers correlates with tumor progression. *Cancer Res* 2000; 60(21):6111-6115.

38. Brawer MK, Deering RE, Brown M, Preston SD, Bigler SA. Predictors of pathologic stage in prostatic carcinoma. The role of neovascularity. *Cancer*. 1994; 73 (3):678-87

39. Brawer MK, Peehl DM, Stamey TA, Bostwick DG. Keratin immunoreactivity in the benign and neoplastic human prostate. *Cancer Res* 1985; 45(8):3663-3667.

40. Brawer MK, Rennels MA, Nagle RB, Schiffman R, Gaines JA. Serum prostate-specific antigen and prostate pathology in men having simple prostatectomy. *Am J Clin Pathol* 1989; 92 (6):760-764.

41. Brawn P. Histologic features of metastatic prostate cancer. In: Livolsi V, editor. *Pathology of the prostate*. Philadelphia: Saunders Company; 1998 p. 245-252.

42. Brennick JB, O'Connell JX, Dickersin GR, Pilch BZ, Young RH. Lipofuscin pigmentation (so-called "melanosis") of the prostate. *Am J Surg Pathol* 1994; 18(5):446-454.

43. Bruxvoort KJ, Charbonneau HM, Giambernardi TA et al. Inactivation of Apc in the mouse prostate causes prostate carcinoma. *Cancer Res* 2007; 67(6):2490-2496.

44. Bubolz T, Wasson JH, Lu-Yao G, Barry MJ. Treatments for prostate cancer in older men: 1984-1997. *Urology* 2001; 58(6):977-982.

45. Buhmeida A, Pyrhonen S, Laato M, Collan Y. Prognostic factors in prostate cancer. *Diagn Pathol* 2006; 1:4.

46. Buttyan R, Sawczuk IS, Benson MC, Siegal JD, Olsson CA. Enhanced expression of the c-myc protooncogene in high-grade human prostate cancers. *Prostate* 1987; 11(4):327-337.

47. Cairns P, Okami K, Halachmi S et al. Frequent inactivation of PTEN/MMAC1 in primary prostate cancer. *Cancer Res* 1997; 57(22):4997-5000.

48. Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med* 2003; 348

BIBLIOGRAFÍA

(17):1625-1638.

49. Cantrell BB, DeKlerk DP, Eggleston JC, Boitnott JK, Walsh PC. Pathological factors that influence prognosis in stage A prostatic cancer: the influence of extent versus grade. *J Urol* 1981; 125(4):516-520.

50. Carstens PH. Perineural glands in normal and hyperplastic prostates. *J Urol* 1980; 123(5):686-688.

51. Carter HB, Sauvageot J, Walsh PC, Epstein JI. Prospective evaluation of men with stage T1C adenocarcinoma of the prostate. *J Urol* 1997; 157(6):2206-2209.

52. Catalona WJ, Smith DS. Cancer recurrence and survival rates after anatomic radical retro-pubic prostatectomy for prostate cancer: intermediate-term results. *J Urol* 1998; 160(6 Pt 2):2428-2434.

53. Catalona WJ, Smith DS, Ornstein DK. Prostate cancer detection in men with serum PSA concentrations of 2.6 to 4.0 ng/mL and benign prostate examination. Enhancement of specificity with free PSA measurements. *JAMA* 1997; 277(18):1452-1455.

54. Chan JM, Giovannucci EL. Vegetables, fruits, associated micronutrients, and risk of prostate cancer. *Epidemiol Rev* 2001; 23(1):82-86.

55. Chan PS, Chan LW, Xuan JW, Chin JL, Choi HL, Chan FL. In situ hybridization study of PSP94 (prostatic secretory protein of 94 amino acids) expression in human prostates. *Prostate* 1999; 41(2):99-109.

56. Chang BL, Cramer SD, Wiklund F et al. Fine mapping association study and functional analysis implicate a SNP in MSMB at 10q11 as a causal variant for prostate cancer risk. *Hum Mol Genet* 2009; 18(7):1368-1375.

57. Chang BL, Liu W, Sun J et al. Integration of somatic deletion analysis of prostate cancers and germline linkage analysis of prostate cancer families reveals two small consensus regions for prostate cancer genes at 8p. *Cancer Res* 2007; 67(9):4098-4103.

58. Cheng L, Darson MF, Bergstralh EJ, Slezak J, Myers RP, Bostwick DG. Correlation of margin status and extraprostatic extension with progression of prostate carcinoma. *Cancer* 1999; 86(9):1775-1782.

59. Cher ML, Bova GS, Moore DH et al. Genetic alterations in untreated metastases and an-

CARCINOMA PROSTÁTICO

drogen-independent prostate cancer detected by comparative genomic hybridization and allelotyping. *Cancer Res* 1996; 56(13):3091-3102.

60. Chiusa L, Galliano D, Formiconi A, Di PO, Pich A. High and low risk prostate carcinoma determined by histologic grade and proliferative activity. *Cancer* 1997; 79(10):1956-1963.

61. Cho IC, Chung HS, Cho KS et al. Bcl-2 as a predictive factor for biochemical recurrence after radical prostatectomy: an interim analysis. *Cancer Res Treat* 2010; 42(3):157-162.

62. Christensen WN, Partin AW, Walsh PC, Epstein JI. Pathologic findings in clinical stage A2 prostate cancer. Relation of tumor volume, grade, and location to pathologic stage. *Cancer* 1990; 65(4):1021-1027.

63. Clark LC, Dalkin B, Krongrad A et al. Decreased incidence of prostate cancer with selenium supplementation: results of a double-blind cancer prevention trial. *Br J Urol* 1998; 81(5):730-734.

64. Coffey DS, Walsh PC. Clinical and experimental studies of benign prostatic hyperplasia. *Urol Clin North Am* 1990; 17(3):461-475.

65. Concato J, Jain D, Uchio E, Risch H, Li WW, Wells CK. Molecular markers and death from prostate cancer. *Ann Intern Med* 2009; 150(9):595-603.

66. Cooperberg MR, Broering JM, Carroll PR. Risk assessment for prostate cancer metastasis and mortality at the time of diagnosis. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101(12):878-887.

67. Corder EH, Guess HA, Hulka BS et al. Vitamin D and prostate cancer: a prediagnostic study with stored sera. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1993; 2(5):467-472.

68. Cordon-Cardo C, Koff A, Drobnjak M et al. Distinct altered patterns of p27KIP1 gene expression in benign prostatic hyperplasia and prostatic carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90(17):1284-1291.

69. Craft N, Chhor C, Tran C et al. Evidence for clonal outgrowth of androgen-independent prostate cancer cells from androgen-dependent tumors through a two-step process. *Cancer Res* 1999; 59(19):5030-5036.

70. Croce CM. Oncogenes and cancer. *N Engl J Med* 2008; 358(5):502-511.

71. Culig Z, Hobisch A, Cronauer MV et al. Androgen receptor activation in prostatic tumor cell lines by insulin-like growth factor-I, keratinocyte growth factor, and epidermal growth factor.

BIBLIOGRAFÍA

Cancer Res 1994; 54(20):5474-5478.

72. Culkin DJ, Wheeler JS, Jr., Castelli M, Fresco R, Canning JR. Carcinoma of the prostate in a 25-year-old man: a case report and review of the literature. *J Urol* 1986; 136(3):684-685.

73. D'Amico AV, Whittington R, Malkowicz SB et al. A multivariate analysis of clinical and pathological factors that predict for prostate specific antigen failure after radical prostatectomy for prostate cancer. *J Urol* 1995; 154(1):131-138.

74. D'Amico AV, Whittington R, Malkowicz SB et al. Combination of the preoperative PSA level, biopsy gleason score, percentage of positive biopsies, and MRI T-stage to predict early PSA failure in men with clinically localized prostate cancer. *Urology* 2000; 55(4):572-577.

75. Dang CV, O'Donnell KA, Zeller KI, Nguyen T, Osthus RC, Li F. The c-Myc target gene network. *Semin Cancer Biol* 2006; 16(4):253-264.

76. De La TA, Katz AE, Bagiella E et al. Microvessel density as a predictor of PSA recurrence after radical prostatectomy. A comparison of CD34 and CD31. *Am J Clin Pathol* 2000; 113(4):555-562.

77. De Marzo AM, Knudsen B, Chan-Tack K, Epstein JI. E-cadherin expression as a marker of tumor aggressiveness in routinely processed radical prostatectomy specimens. *Urology* 1999; 53(4):707-713.

78. De Marzo AM, Marchi VL, Epstein JI, Nelson WG. Proliferative inflammatory atrophy of the prostate: implications for prostatic carcinogenesis. *Am J Pathol* 1999; 155(6):1985-1992.

79. De Marzo AM, Meeker AK, Epstein JI, Coffey DS. Prostate stem cell compartments: expression of the cell cycle inhibitor p27Kip1 in normal, hyperplastic, and neoplastic cells. *Am J Pathol* 1998; 153(3):911-919.

80. De Marzo AM, Platz EA, Sutcliffe S et al. Inflammation in prostate carcinogenesis. *Nat Rev Cancer* 2007; 7(4):256-269.

81. De Marzo AM, Putzi MJ, Nelson WG. New concepts in the pathology of prostatic epithelial carcinogenesis. *Urology* 2001; 57(4 Suppl 1):103-114.

82. Debras B, Guillonneau B, Bougaran J, Chambon E, Vallancien G. Prognostic significance of seminal vesicle invasion on the radical prostatectomy specimen. Rationale for seminal vesicle biopsies. *Eur Urol* 1998; 33(3):271-277.

CARCINOMA PROSTÁTICO

83. Dehm SM, Tindall DJ. Ligand-independent androgen receptor activity is activation function -2-independent and resistant to antiandrogens in androgen refractory prostate cancer cells. *J Biol Chem* 2006; 281(38):27882-27893.
84. Denicourt C, Dowdy SF. Cip/Kip proteins: more than just CDKs inhibitors. *Genes Dev* 2004; 18(8):851-855.
85. Dennis LK, Lynch CF, Torner JC. Epidemiologic association between prostatitis and prostate cancer. *Urology* 2002; 60(1):78-83.
86. Di CA, De AM, Koff A, Cordon-Cardo C, Pandolfi PP. Pten and p27KIP1 cooperate in prostate cancer tumor suppression in the mouse. *Nat Genet* 2001; 27(2):222-224.
87. Di CA, Pandolfi PP. The multiple roles of PTEN in tumor suppression. *Cell* 2000; 100(4):387-390.
88. Diguseppe JA, Sauvageot J, Epstein JI. Increasing incidence of minimal residual cancer in radical prostatectomy specimens. *Am J Surg Pathol* 1997; 21(2):174-178.
89. Dillioglulugil O, Leibman BD, Leibman NS, Kattan MW, Rosas AL, Scardino PT. Risk factors for complications and morbidity after radical retropubic prostatectomy. *J Urol* 1997; 157(5):1760-1767.
90. Doctor VM, Sheth AR, Simha MM, Arbatti NJ, Aaveri JP, Sheth NA. Studies on immunocytochemical localization of inhibin-like material in human prostatic tissue: comparison of its distribution in normal, benign and malignant prostates. *Br J Cancer* 1986; 53(4):547-554.
91. Dong JT. Chromosomal deletions and tumor suppressor genes in prostate cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2001; 20(3-4):173-193.
92. Eastham JA, Chen SH, Sehgal I et al. Prostate cancer gene therapy: herpes simplex virus thymidine kinase gene transduction followed by ganciclovir in mouse and human prostate cancer models. *Hum Gene Ther* 1996; 7(4):515-523.
93. Eeles RA, Kote-Jarai Z, Giles GG et al. Multiple newly identified loci associated with prostate cancer susceptibility. *Nat Genet* 2008; 40(3):316-321.
94. Egan AJ, Bostwick DG. Prediction of extraprostatic extension of prostate cancer based on needle biopsy findings: perineural invasion lacks significance on multivariate analysis. *Am J Surg Pathol* 1997; 21(12):1496-1500.

BIBLIOGRAFÍA

95. Ekblom A, Hsieh CC, Lipworth L et al. Perinatal characteristics in relation to incidence of and mortality from prostate cancer. *BMJ* 1996; 313(7053):337-341.
96. Emmert-Buck MR, Vocke CD, Pozzatti RO et al. Allelic loss on chromosome 8p12-21 in microdissected prostatic intraepithelial neoplasia. *Cancer Res* 1995; 55(14):2959-2962.
97. Epstein JI. Adenocarcinoma of the prostate with endometrioid features. A light microscopic and immunohistochemical study of ten cases. Woodruff JM, editor. 57[Cancer], 111-119. 1986.
- Ref Type: Generic
98. Epstein JI, Algaba F, Allsbrook WC, Jr. et al. Acinar adenocarcinoma. In: Eble J, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA, editors. *Tumours of the Urinary system and male genital organs*. Lyon: IARC; 2004 p. 159-217.
99. Epstein JI. PSA and PAP as immunohistochemical markers in prostate cancer. *Urol Clin North Am* 1993; 20(4):757-770.
100. Epstein JI. Diagnostic criteria of limited adenocarcinoma of the prostate on needle biopsy. *Hum Pathol* 1995; 26(2):223-229.
101. Epstein JI, Amin M, Boccon-Gibod L et al. Prognostic factors and reporting of prostate carcinoma in radical prostatectomy and pelvic lymphadenectomy specimens. *Scand J Urol Nephrol Suppl* 2005;(216):34-63.
102. Epstein JI, Carmichael M, Partin AW, Walsh PC. Is tumor volume an independent predictor of progression following radical prostatectomy? A multivariate analysis of 185 clinical stage B adenocarcinomas of the prostate with 5 years of followup. *J Urol* 1993; 149(6):1478-1481.
103. Epstein JI, Partin AW, Sauvageot J, Walsh PC. Prediction of progression following radical prostatectomy. A multivariate analysis of 721 men with long-term follow-up. *Am J Surg Pathol* 1996; 20(3):286-292.
104. Epstein JI, Paull G, Eggleston JC, Walsh PC. Prognosis of untreated stage A1 prostatic carcinoma: a study of 94 cases with extended followup. *J Urol* 1986; 136(4):837-839.
105. Epstein JI, Pizov G, Walsh PC. Correlation of pathologic findings with progression after radical retropubic prostatectomy. *Cancer* 1993; 71(11):3582-3593.
106. Epstein JI, Walsh PC, Carmichael M, Brendler CB. Pathologic and clinical findings to

CARCINOMA PROSTÁTICO

predict tumor extent of nonpalpable (stage T1c) prostate cancer. *JAMA* 1994; 271(5):368-374.

107. Erbersdobler A, Isbarn H, Dix K et al. Prognostic value of microvessel density in prostate cancer: a tissue microarray study. *World J Urol* 2010; 28(6):687-692.

108. Eskew LA, Bare RL, McCullough DL. Systematic 5 region prostate biopsy is superior to sextant method for diagnosing carcinoma of the prostate. *J Urol* 1997; 157(1):199-202.

109. Farnsworth WE. Prostate stroma: physiology. *Prostate* 1999; 38(1):60-72.

110. Fernandez PL, Arce Y, Farre X et al. Expression of p27/Kip1 is down-regulated in human prostate carcinoma progression. *J Pathol* 1999; 187(5):563-566.

111. Filella X, Truan D, Alcover J et al. Complexed prostate-specific antigen for the detection of prostate cancer. *Anticancer Res* 2004; 24(6):4181-4185.

112. Fleming WH, Hamel A, MacDonald R et al. Expression of the c-myc protooncogene in human prostatic carcinoma and benign prostatic hyperplasia. *Cancer Res* 1986; 46(3):1535-1538.

113. Foley CL, Feneley MR. The clinical significance and therapeutic implications of extra-prostatic invasion. *Surg Oncol* 2009; 18(3):203-212.

114. Fowler FJ, Jr., Barry MJ, Lu-Yao G, Roman A, Wasson J, Wennberg JE. Patient-reported complications and follow-up treatment after radical prostatectomy. The National Medicare Experience: 1988-1990 (updated June 1993). *Urology* 1993; 42(6):622-629.

115. Franks LM. Atrophy and hyperplasia in the prostate proper. *J Pathol Bacteriol* 1954; 68(2):617-621.

116. Freedland SJ, Aronson WJ, Presti JC, Jr. et al. Predictors of prostate-specific antigen progression among men with seminal vesicle invasion at the time of radical prostatectomy. *Cancer* 2004; 100(8):1633-1638.

117. Froehner M. Age and prostate cancer survival. *JAMA* 2010; 303(1):33-34.

118. Gaddipati JP, McLeod DG, Heidenberg HB et al. Frequent detection of codon 877 mutation in the androgen receptor gene in advanced prostate cancers. *Cancer Res* 1994; 54(11):2861-2864.

119. Gao H, Ouyang X, Banach-Petrosky W et al. A critical role for p27kip1 gene dosage in a

BIBLIOGRAFÍA

mouse model of prostate carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101(49):17204-17209.

120. Gao X, Mohideen N, Flanigan RC, Waters WB, Wojcik EM, Leman CR. The extent of biopsy involvement as an independent predictor of extraprostatic extension and surgical margin status in low risk prostate cancer: implications for treatment selection. *J Urol* 2000; 164(6):1982-1986.

121. Gaudin PB, Epstein JI. Adenosis of the prostate. Histologic features in transurethral resection specimens. *Am J Surg Pathol* 1994; 18(9):863-870.

122. Gettman MT, Pacelli A, Slezak J et al. Role of microvessel density in predicting recurrence in pathologic Stage T3 prostatic adenocarcinoma. *Urology* 1999; 54(3):479-485.

123. Gillanders EM, Xu J, Chang BL et al. Combined genome-wide scan for prostate cancer susceptibility genes. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96(16):1240-1247.

124. Giovannucci E, Clinton SK. Tomatoes, lycopene, and prostate cancer. *Proc Soc Exp Biol Med* 1998; 218(2):129-139.

125. Gittes RF. Carcinoma of the prostate. *N Engl J Med* 1991; 324(4):236-245.

126. Gleave ME, Miyake H, Goldie J, Nelson C, Tolcher A. Targeting bcl-2 gene to delay androgen-independent progression and enhance chemosensitivity in prostate cancer using antisense bcl-2 oligodeoxynucleotides. *Urology* 1999; 54(6A Suppl):36-46.

127. Goldblum JR, Lloyd RV. Primary renal carcinoid. Case report and literature review. *Arch Pathol Lab Med* 1993; 117(8):855-858.

128. Gown AM, Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. *Am J Pathol* 1984; 114(2):309-321.

129. Green LE. Prostatic adenocarcinoma of ductal origin. Farrow GM, Ravits JM, editors. 121 [Journal Urol], 303-305. 1979.

Ref Type: Generic

130. Greene DR, Wheeler TM, Egawa S, Dunn JK, Scardino PT. A comparison of the morphological features of cancer arising in the transition zone and in the peripheral zone of the prostate. *J Urol* 1991; 146(4):1069-1076.

131. Greene DR, Wheeler TM, Egawa S, Weaver RP, Scardino PT. Relationship between

CARCINOMA PROSTÁTICO

clinical stage and histological zone of origin in early prostate cancer: morphometric analysis. *Br J Urol* 1991; 68(5):499-509.

132. Grignon DJ, Caplan R, Sarkar FH et al. p53 status and prognosis of locally advanced prostatic adenocarcinoma: a study based on RTOG 8610. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89(2):158-165.

133. Grossfeld GD, Stier DM, Flanders SC et al. Use of second treatment following definitive local therapy for prostate cancer: data from the caPSURE database. *J Urol* 1998; 160(4):1398-1404.

134. Grunkemeier MN, Vollmer RT. Predicting prostate biopsy results: The importance of PSA, age, and race. *Am J Clin Pathol* 2006; 126(1):110-112.

135. Gudmundsson J, Sulem P, Manolescu A et al. Genome-wide association study identifies a second prostate cancer susceptibility variant at 8q24. *Nat Genet* 2007; 39(5):631-637.

136. Gudmundsson J, Sulem P, Rafnar T et al. Common sequence variants on 2p15 and Xp11.22 confer susceptibility to prostate cancer. *Nat Genet* 2008; 40(3):281-283.

137. Gudmundsson J, Sulem P, Steinthorsdottir V et al. Two variants on chromosome 17 confer prostate cancer risk, and the one in TCF2 protects against type 2 diabetes. *Nat Genet* 2007; 39(8):977-983.

138. Guillonneau B, Cappele O, Martinez JB, Navarra S, Vallancien G. Robotic assisted, laparoscopic pelvic lymph node dissection in humans. *J Urol* 2001; 165(4):1078-1081.

139. Gunia S, Albrecht K, Koch S et al. Ki67 staining index and neuroendocrine differentiation aggravate adverse prognostic parameters in prostate cancer and are characterized by negligible inter-observer variability. *World J Urol* 2008; 26(3):243-250.

140. Guo Y, Sklar GN, Borkowski A, Kyprianou N. Loss of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27(Kip1) protein in human prostate cancer correlates with tumor grade. *Clin Cancer Res* 1997; 3(12 Pt 1):2269-2274.

141. Gurel B, Iwata T, Koh CM et al. Nuclear MYC protein overexpression is an early alteration in human prostate carcinogenesis. *Mod Pathol* 2008; 21(9):1156-1167.

142. Hall MC, Troncoso P, Pollack A et al. Significance of tumor angiogenesis in clinically localized prostate carcinoma treated with external beam radiotherapy. *Urology* 1994; 44(6):869-875.

BIBLIOGRAFÍA

143. Hameed O, Humphrey PA. Immunohistochemistry in diagnostic surgical pathology of the prostate. *Semin Diagn Pathol* 2005; 22(1):88-104.
144. Hammond ME, Sause WT, Martz KL et al. Correlation of prostate-specific acid phosphatase and prostate-specific antigen immunocytochemistry with survival in prostate carcinoma. *Cancer* 1989; 63(3):461-466.
145. Han M, Piantadosi S, Zahurak ML et al. Serum acid phosphatase level and biochemical recurrence following radical prostatectomy for men with clinically localized prostate cancer. *Urology* 2001; 57(4):707-711.
146. Hanks GE, Hanlon AL, Schultheiss TE et al. Conformal external beam treatment of prostate cancer. *Urology* 1997; 50(1):87-92.
147. Harrison GS. The prognosis of prostatic cancer in the younger man. *Br J Urol* 1983; 55(3):315-320.
148. Harvey AM, Grice B, Hamilton C et al. Diagnostic utility of P504S/p63 cocktail, prostate-specific antigen, and prostatic acid phosphatase in verifying prostatic carcinoma involvement in seminal vesicles: a study of 57 cases of radical prostatectomy specimens of pathologic stage pT3b. *Arch Pathol Lab Med* 2010; 134(7):983-988.
149. Hayes RB, Pottern LM, Strickler H et al. Sexual behaviour, STDs and risks for prostate cancer. *Br J Cancer* 2000; 82(3):718-725.
150. He WW, Sciavolino PJ, Wing J et al. A novel human prostate-specific, androgen-regulated homeobox gene (NKX3.1) that maps to 8p21, a region frequently deleted in prostate cancer. *Genomics* 1997; 43(1):69-77.
151. Hedrick L, Epstein JI. Use of keratin 903 as an adjunct in the diagnosis of prostate carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1989; 13(5):389-396.
152. Heidenreich A, Varga Z, von KR. Extended pelvic lymphadenectomy in patients undergoing radical prostatectomy: high incidence of lymph node metastasis. *J Urol* 2002; 167(4):1681-1686.
153. Hermans KG, van A, Veltman JA, van WW, van Kessel AG, Trapman J. Loss of a small region around the PTEN locus is a major chromosome 10 alteration in prostate cancer xenografts and cell lines. *Genes Chromosomes Cancer* 2004; 39(3):171-184.
154. Herold DM, Hanlon AL, Movsas B, Hanks GE. Age-related prostate cancer metastases.

CARCINOMA PROSTÁTICO

Urology 1998; 51(6):985-990.

155. Hull GW, Rabbani F, Abbas F, Wheeler TM, Kattan MW, Scardino PT. Cancer control with radical prostatectomy alone in 1,000 consecutive patients. *J Urol* 2002; 167(2 Pt 1):528-534.

156. Humphrey PA, Vollmer RT. Intraglandular tumor extent and prognosis in prostatic carcinoma: application of a grid method to prostatectomy specimens. *Hum Pathol* 1990; 21(8):799-804.

157. Imasato Y, Xuan JW, Sakai H et al. PSP94 expression after androgen deprivation therapy: a comparative study with prostate specific antigen in benign prostate and prostate cancer. *J Urol* 2000; 164(5):1819-1824.

158. Isaacs W, De MA, Nelson WG. Focus on prostate cancer. *Cancer Cell* 2002; 2(2):113-116.

159. Isharwal S, Miller MC, Epstein JI et al. Prognostic value of Her-2/neu and DNA index for progression, metastasis and prostate cancer-specific death in men with long-term follow-up after radical prostatectomy. *Int J Cancer* 2008; 123(11):2636-2643.

160. Jenkins RB, Qian J, Lieber MM, Bostwick DG. Detection of c-myc oncogene amplification and chromosomal anomalies in metastatic prostatic carcinoma by fluorescence in situ hybridization. *Cancer Res* 1997; 57(3):524-531.

161. Jiang Z, Woda BA, Rock KL et al. P504S: a new molecular marker for the detection of prostate carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2001; 25(11):1397-1404.

162. Jiang Z, Wu CL, Woda BA et al. P504S/alpha-methylacyl-CoA racemase: a useful marker for diagnosis of small foci of prostatic carcinoma on needle biopsy. *Am J Surg Pathol* 2002; 26(9):1169-1174.

163. Johansson JE, Adami HO, Andersson SO, Bergstrom R, Holmberg L, Krusemo UB. High 10-year survival rate in patients with early, untreated prostatic cancer. *JAMA* 1992; 267(16):2191-2196.

164. Kaarbo M, Klok TI, Saatcioglu F. Androgen signaling and its interactions with other signaling pathways in prostate cancer. *Bioessays* 2007; 29(12):1227-1238.

165. Kagan J, Stein J, Babaian RJ et al. Homozygous deletions at 8p22 and 8p21 in prostate cancer implicate these regions as the sites for candidate tumor suppressor genes. *Oncogene* 1995; 11(10):2121-2126.

BIBLIOGRAFÍA

166. Kao J, Upton M, Zhang P, Rosen S. Individual prostate biopsy core embedding facilitates maximal tissue representation. *J Urol* 2002; 168(2):496-499.
167. Karayi MK, Markham AF. Molecular biology of prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2004; 7(1):6-20.
168. Kausik SJ, Blute ML, Sebo TJ et al. Prognostic significance of positive surgical margins in patients with extraprostatic carcinoma after radical prostatectomy. *Cancer* 2002; 95(6):1215-1219.
169. Kawamata N, Seriu T, Bartram CR, Koeffler HP. Molecular analysis of the secretory phospholipase A2 gene, a candidate of Mom1 gene, in neuroblastomas. *Cancer Lett* 1997; 111(1-2):71-75.
170. Khatami A, Hugosson J, Wang W, Damber JE. Ki-67 in screen-detected, low-grade, low-stage prostate cancer, relation to prostate-specific antigen doubling time, Gleason score and prostate-specific antigen relapse after radical prostatectomy. *Scand J Urol Nephrol* 2009; 43(1):12-18.
171. Kim MJ, Cardiff RD, Desai N et al. Cooperativity of Nkx3.1 and Pten loss of function in a mouse model of prostate carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99(5):2884-2889.
172. Klezovitch O, Risk M, Coleman I et al. A causal role for ERG in neoplastic transformation of prostate epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(6):2105-2110.
173. Koh H, Kattan MW, Scardino PT et al. A nomogram to predict seminal vesicle invasion by the extent and location of cancer in systematic biopsy results. *J Urol* 2003; 170(4 Pt 1):1203-1208.
174. Koppie TM, Grossfeld GD, Nudell DM, Weinberg VK, Carroll PR. Is anastomotic biopsy necessary before radiotherapy after radical prostatectomy? *J Urol* 2001; 166(1):111-115.
175. Krupski T, Petroni GR, Frierson HF, Jr., Theodorescu JU. Microvessel density, p53, retinoblastoma, and chromogranin A immunohistochemistry as predictors of disease-specific survival following radical prostatectomy for carcinoma of the prostate. *Urology* 2000; 55(5):743-749.
176. Kudahetti S, Fisher G, Ambrosine L et al. p53 immunochemistry is an independent prognostic marker for outcome in conservatively treated prostate cancer. *BJU Int* 2009; 104(1):20-24.

CARCINOMA PROSTÁTICO

177. Kumano M, Miyake H, Muramaki M, Kurahashi T, Takenaka A, Fujisawa M. Adverse prognostic impact of capsular incision at radical prostatectomy for Japanese men with clinically localized prostate cancer. *Int Urol Nephrol* 2009; 41(3):581-586.
178. Kyprianou N, Isaacs JT. Identification of a cellular receptor for transforming growth factor -beta in rat ventral prostate and its negative regulation by androgens. *Endocrinology* 1988; 123(4):2124-2131.
179. Larranaga N, Galceran J, Ardanaz E et al. Prostate cancer incidence trends in Spain before and during the prostate-specific antigen era: impact on mortality. *Ann Oncol* 2010; 21 Suppl 3:iii83-iii89.
180. Lee LF, Guan J, Qiu Y, Kung HJ. Neuropeptide-induced androgen independence in prostate cancer cells: roles of nonreceptor tyrosine kinases Etk/Bmx, Src, and focal adhesion kinase. *Mol Cell Biol* 2001; 21(24):8385-8397.
181. Lee WH, Morton RA, Epstein JI et al. Cytidine methylation of regulatory sequences near the pi-class glutathione S-transferase gene accompanies human prostatic carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91(24):11733-11737.
182. Lei Q, Jiao J, Xin L et al. NKX3.1 stabilizes p53, inhibits AKT activation, and blocks prostate cancer initiation caused by PTEN loss. *Cancer Cell* 2006; 9(5):367-378.
183. Leibel SA, Ling CC, Kutcher GJ, Mohan R, Cordon-Cordo C, Fuks Z. The biological basis for conformal three-dimensional radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1991; 21(3):805-811.
184. Lerner SE, Blute ML, Lieber MM, Zincke H. Morbidity of contemporary radical retropubic prostatectomy for localized prostate cancer. *Oncology (Williston Park)* 1995; 9(5):379-382.
185. Lichter AS, Lawrence TS. Recent advances in radiation oncology. *N Engl J Med* 1995; 332(6):371-379.
186. Lieberfarb ME, Schultz D, Whittington R et al. Using PSA, biopsy Gleason score, clinical stage, and the percentage of positive biopsies to identify optimal candidates for prostate-only radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002; 53(4):898-903.
187. Lilja H, Abrahamsson PA. Three predominant proteins secreted by the human prostate gland. *Prostate* 1988; 12(1):29-38.
188. Lou H, Yeager M, Li H et al. Fine mapping and functional analysis of a common variant in

BIBLIOGRAFÍA

- MSMB on chromosome 10q11.2 associated with prostate cancer susceptibility. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106(19):7933-7938.
189. Lu J, Getz G, Miska EA et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature* 2005; 435(7043):834-838.
190. Lu-Yao GL, Potosky AL, Albertsen PC, Wasson JH, Barry MJ, Wennberg JE. Follow-up prostate cancer treatments after radical prostatectomy: a population-based study. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88(3-4):166-173.
191. Ma L, Weinberg RA. MicroRNAs in malignant progression. *Cell Cycle* 2008; 7(5):570-572.
192. Macoska JA, Trybus TM, Wojno KJ. 8p22 loss concurrent with 8c gain is associated with poor outcome in prostate cancer. *Urology* 2000; 55(5):776-782.
193. Maehama T, Dixon JE. The tumor suppressor, PTEN/MMAC1, dephosphorylates the lipid second messenger, phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate. *J Biol Chem* 1998; 273(22):13375-13378.
194. Magee JA, Abdulkadir SA, Milbrandt J. Haploinsufficiency at the Nkx3.1 locus. A paradigm for stochastic, dosage-sensitive gene regulation during tumor initiation. *Cancer Cell* 2003; 3(3):273-283.
195. Magheli A, Rais-Bahrami S, Humphreys EB, Peck HJ, Trock BJ, Gonzalzo ML. Impact of patient age on biochemical recurrence rates following radical prostatectomy. *J Urol* 2007; 178(5):1933-1937.
196. Magi-Galluzzi C, Luo J, Isaacs WB, Hicks JL, De Marzo AM, Epstein JI. Alpha-methylacyl-CoA racemase: a variably sensitive immunohistochemical marker for the diagnosis of small prostate cancer foci on needle biopsy. *Am J Surg Pathol* 2003; 27(8):1128-1133.
197. Magi-Galluzzi C, Xu X, Hlatky L et al. Heterogeneity of androgen receptor content in advanced prostate cancer. *Mod Pathol* 1997; 10(8):839-845.
198. Majumder PK, Sellers WR. Akt-regulated pathways in prostate cancer. *Oncogene* 2005; 24(50):7465-7474.
199. Makarov DV, Humphreys EB, Mangold LA et al. Pathological outcomes and biochemical progression in men with T1c prostate cancer undergoing radical prostatectomy with prostate specific antigen 2.6 to 4.0 vs 4.1 to 6.0 ng/ml. *J Urol* 2006; 176(2):554-558.

CARCINOMA PROSTÁTICO

200. Makarov DV, Loeb S, Getzenberg RH, Partin AW. Biomarkers for prostate cancer. *Annu Rev Med* 2009; 60:139-151.
201. Matsuyama H, Pan Y, Skoog L et al. Deletion mapping of chromosome 8p in prostate cancer by fluorescence in situ hybridization. *Oncogene* 1994; 9(10):3071-3076.
202. May M, Siegsmond M, Hammermann F, Loy V, Gunia S. Prognostic significance of proliferation activity and neuroendocrine differentiation to predict treatment failure after radical prostatectomy. *Scand J Urol Nephrol* 2007; 41(5):375-381.
203. McIntire TL, Franzini DA. The presence of benign prostatic glands in perineural spaces. *J Urol* 1986; 135(3):507-509.
204. McNeal JE. Regional morphology and pathology of the prostate. *Am J Clin Pathol* 1968; 49(3):347-357.
205. McNeal JE. Anatomy of the prostate and morphogenesis of BPH. *Prog Clin Biol Res* 1984; 145:27-53.
206. McNeal JE, Bostwick DG, Kindrachuk RA, Redwine EA, Freiha FS, Stamey TA. Patterns of progression in prostate cancer. *Lancet* 1986; 1(8472):60-63.
207. McNeal JE, Price HM, Redwine EA, Freiha FS, Stamey TA. Stage A versus stage B adenocarcinoma of the prostate: morphological comparison and biological significance. *J Urol* 1988; 139(1):61-65.
208. McNeal JE, Redwine EA, Freiha FS, Stamey TA. Zonal distribution of prostatic adenocarcinoma. Correlation with histologic pattern and direction of spread. *Am J Surg Pathol* 1988; 12(12):897-906.
209. McNeal JE, Villers A, Redwine EA, Freiha FS, Stamey TA. Microcarcinoma in the prostate: its association with duct-acinar dysplasia. *Hum Pathol* 1991; 22(7):644-652.
210. McNeal JE, Villers AA, Redwine EA, Freiha FS, Stamey TA. Capsular penetration in prostate cancer. Significance for natural history and treatment. *Am J Surg Pathol* 1990; 14(3):240-247.
211. Meeker AK. Telomeres and telomerase in prostatic intraepithelial neoplasia and prostate cancer biology. *Urol Oncol* 2006; 24(2):122-130.
212. Meeker AK, Hicks JL, Platz EA et al. Telomere shortening is an early somatic DNA alteration in human prostate tumorigenesis. *Cancer Res* 2002; 62(22):6405-6409.

BIBLIOGRAFÍA

213. Meister G, Tuschl T. Mechanisms of gene silencing by double-stranded RNA. *Nature* 2004; 431(7006):343-349.
214. Menon M, Bhandari M, Gupta N et al. Biochemical Recurrence Following Robot-Assisted Radical Prostatectomy: Analysis of 1384 Patients with a Median 5-year Follow-up. *Eur Urol* 2010.
215. Messing EM, Manola J, Sarosdy M, Wilding G, Crawford ED, Trump D. Immediate hormonal therapy compared with observation after radical prostatectomy and pelvic lymphadenectomy in men with node-positive prostate cancer. *N Engl J Med* 1999; 341(24):1781-1788.
216. Mills SE, Bostwick DG, Murphy WM, Weiss MA. A symposium on the surgical pathology of the prostate. *Pathol Annu* 1990; 25 Pt 2:109-158.
217. Miyake H, Muramaki M, Kurahashi T, Takenaka A, Fujisawa M. Expression of potential molecular markers in prostate cancer: correlation with clinicopathological outcomes in patients undergoing radical prostatectomy. *Urol Oncol* 2010; 28(2):145-151.
218. Molinie V, Baumert H. [New markers in prostate biopsies]. *Actas Urol Esp* 2007; 31(9):1009-1024.
219. Molinie V, Herve JM, Leuret T et al. [Value of the antibody cocktail anti p63 + anti p504s for the diagnosis of prostatic cancer]. *Ann Pathol* 2004; 24(1):6-16.
220. Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 1982; 31(1):11-24.
221. Montironi R, Mazzucchelli R, Scarpelli M et al. Prostate carcinoma II: prognostic factors in prostate needle biopsies. *BJU Int* 2006; 97(3):492-497.
222. Mosquera JM, Perner S, Genega EM et al. Characterization of TMPRSS2-ERG fusion high-grade prostatic intraepithelial neoplasia and potential clinical implications. *Clin Cancer Res* 2008; 14(11):3380-3385.
223. Moul JW, Bettencourt MC, Sesterhenn IA et al. Protein expression of p53, bcl-2, and Ki-67 (MIB-1) as prognostic biomarkers in patients with surgically treated, clinically localized prostate cancer. *Surgery* 1996; 120(2):159-166.
224. Murphy GP, Busch C, Abrahamsson PA et al. Histopathology of localized prostate cancer. Consensus Conference on Diagnosis and Prognostic Parameters in Localized Prostate Cancer. Stockholm, Sweden, May 12-13, 1993. *Scand J Urol Nephrol Suppl* 1994; 162:7-42.

CARCINOMA PROSTÁTICO

225. Myers MP, Stolarov JP, Eng C et al. P-TEN, the tumor suppressor from human chromosome 10q23, is a dual-specificity phosphatase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94(17):9052-9057.
226. Nadji M, Tabei SZ, Castro A et al. Prostatic-specific antigen: an immunohistologic marker for prostatic neoplasms. *Cancer* 1981; 48(5):1229-1232.
227. Nadler RB, Loeb S, Roehl KA, Antenor JA, Eggener S, Catalona WJ. Use of 2.6 ng/ml prostate specific antigen prompt for biopsy in men older than 60 years. *J Urol* 2005; 174(6):2154-7, discussion.
228. Nakayama M, Bennett CJ, Hicks JL et al. Hypermethylation of the human glutathione S-transferase-pi gene (GSTP1) CpG island is present in a subset of proliferative inflammatory atrophy lesions but not in normal or hyperplastic epithelium of the prostate: a detailed study using laser-capture microdissection. *Am J Pathol* 2003; 163(3):923-933.
229. Nam RK, Reeves JR, Toi A et al. A novel serum marker, total prostate secretory protein of 94 amino acids, improves prostate cancer detection and helps identify high grade cancers at diagnosis. *J Urol* 2006; 175(4):1291-1297.
230. Nariculam J, Freeman A, Bott S et al. Utility of tissue microarrays for profiling prognostic biomarkers in clinically localized prostate cancer: the expression of BCL-2, E-cadherin, Ki-67 and p53 as predictors of biochemical failure after radical prostatectomy with nested control for clinical and pathological risk factors. *Asian J Androl* 2009; 11(1):109-118.
231. Navone NM, Labate ME, Troncoso P et al. p53 mutations in prostate cancer bone metastases suggest that selected p53 mutants in the primary site define foci with metastatic potential. *J Urol* 1999; 161(1):304-308.
232. Nelson CP, Kidd LC, Sauvageot J et al. Protection against 2-hydroxyamino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine cytotoxicity and DNA adduct formation in human prostate by glutathione S-transferase P1. *Cancer Res* 2001; 61(1):103-109.
233. Nelson WG, De Marzo AM, DeWeese TL. The molecular pathogenesis of prostate cancer: Implications for prostate cancer prevention. *Urology* 2001; 57(4 Suppl 1):39-45.
234. Nelson WG, De Marzo AM, Isaacs WB. Prostate cancer. *N Engl J Med* 2003; 349(4):366-381.
235. Nelson WG, Yegnasubramanian S, Agoston AT et al. Abnormal DNA methylation, epige-

BIBLIOGRAFÍA

- netics, and prostate cancer. *Front Biosci* 2007; 12:4254-4266.
236. Nesbit CE, Tersak JM, Prochownik EV. MYC oncogenes and human neoplastic disease. *Oncogene* 1999; 18(19):3004-3016.
237. Nishidai T, Nagata Y, Takahashi M et al. CT simulator: a new 3-D planning and simulating system for radiotherapy: Part 1. Description of system. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1990; 18(3):499-504.
238. Novis DA, Zarbo RJ, Valenstein PA. Diagnostic uncertainty expressed in prostate needle biopsies. A College of American Pathologists Q-probes Study of 15,753 prostate needle biopsies in 332 institutions. *Arch Pathol Lab Med* 1999; 123(8):687-692.
239. Nupponen NN, Visakorpi T. Molecular cytogenetics of prostate cancer. *Microsc Res Tech* 2000; 51(5):456-463.
240. Obek C, Lai S, Sadek S, Civantos F, Soloway MS. Age as a prognostic factor for disease recurrence after radical prostatectomy. *Urology* 1999; 54(3):533-538.
241. Oesterling JE, Cooner WH, Jacobsen SJ, Guess HA, Lieber MM. Influence of patient age on the serum PSA concentration. An important clinical observation. *Urol Clin North Am* 1993; 20(4):671-680.
242. Ohori M, Wheeler TM, Dunn JK, Stamey TA, Scardino PT. The pathological features and prognosis of prostate cancer detectable with current diagnostic tests. *J Urol* 1994; 152(5 Pt 2):1714-1720.
243. Ohori M, Wheeler TM, Kattan MW, Goto Y, Scardino PT. Prognostic significance of positive surgical margins in radical prostatectomy specimens. *J Urol* 1995; 154(5):1818-1824.
244. Ojea CA, Mosteiro Cervino MJ, Dominguez FF et al. [The usefulness of Ki67 expression in the biopsy specimens, to predict the biochemical progression of the prostate cancer after radical prostatectomy]. *Actas Urol Esp* 2004; 28(9):650-660.
245. Ouyang X, DeWeese TL, Nelson WG, bate-Shen C. Loss-of-function of Nkx3.1 promotes increased oxidative damage in prostate carcinogenesis. *Cancer Res* 2005; 65(15):6773-6779.
246. Ozen M, Creighton CJ, Ozdemir M, Ittmann M. Widespread deregulation of microRNA expression in human prostate cancer. *Oncogene* 2008; 27(12):1788-1793.

CARCINOMA PROSTÁTICO

247. Palapattu GS, Sutcliffe S, Bastian PJ et al. Prostate carcinogenesis and inflammation: emerging insights. *Carcinogenesis* 2005; 26(7):1170-1181.
248. Pan CC, Potter SR, Partin AW, Epstein JI. The prognostic significance of tertiary Gleason patterns of higher grade in radical prostatectomy specimens: a proposal to modify the Gleason grading system. *Am J Surg Pathol* 2000; 24(4):563-569.
249. Partin AW, Kattan MW, Subong EN et al. Combination of prostate-specific antigen, clinical stage, and Gleason score to predict pathological stage of localized prostate cancer. A multi-institutional update. *JAMA* 1997; 277(18):1445-1451.
250. Partin AW, Yoo J, Carter HB et al. The use of prostate specific antigen, clinical stage and Gleason score to predict pathological stage in men with localized prostate cancer. *J Urol* 1993; 150(1):110-114.
251. Perner S, Mosquera JM, Demichelis F et al. TMPRSS2-ERG fusion prostate cancer: an early molecular event associated with invasion. *Am J Surg Pathol* 2007; 31(6):882-888.
252. Peters ME, Ostrander EA. Prostate cancer: simplicity to complexity. *Nat Genet* 2001; 27(2):134-135.
253. Petrovics G, Liu A, Shaheduzzaman S et al. Frequent overexpression of ETS-related gene-1 (ERG1) in prostate cancer transcriptome. *Oncogene* 2005; 24(23):3847-3852.
254. Ponce-Castaneda MV, Lee MH, Latres E et al. p27Kip1: chromosomal mapping to 12p12-12p13.1 and absence of mutations in human tumors. *Cancer Res* 1995; 55(6):1211-1214.
255. Pontes J, Jr., Srougi M, Borra PM, l' Oglio MF, Ribeiro-Filho LA, Leite KR. E-cadherin and beta-catenin loss of expression related to bone metastasis in prostate cancer. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2010; 18(2):179-184.
256. Porkka KP, Pfeiffer MJ, Waltering KK, Vessella RL, Tammela TL, Visakorpi T. MicroRNA expression profiling in prostate cancer. *Cancer Res* 2007; 67(13):6130-6135.
257. Putzi MJ, De Marzo AM. Morphologic transitions between proliferative inflammatory atrophy and high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Urology* 2000; 56(5):828-832.
258. Qian J, Jenkins RB, Bostwick DG. Detection of chromosomal anomalies and c-myc gene amplification in the cribriform pattern of prostatic intraepithelial neoplasia and carcinoma by fluorescence in situ hybridization. *Mod Pathol* 1997; 10(11):1113-1119.
259. Quinlan DM, Epstein JI, Carter BS, Walsh PC. Sexual function following radical prosta-

BIBLIOGRAFÍA

- tectomy: influence of preservation of neurovascular bundles. *J Urol* 1991; 145(5):998-1002.
260. Rabbani F, Stapleton AM, Kattan MW, Wheeler TM, Scardino PT. Factors predicting recovery of erections after radical prostatectomy. *J Urol* 2000; 164(6):1929-1934.
261. Ravery V, Goldblatt L, Royer B, Blanc E, Toub Blanc M, Boccon-Gibod L. Extensive biopsy protocol improves the detection rate of prostate cancer. *J Urol* 2000; 164(2):393-396.
262. Rebbeck TR, Walker AH, Zeigler-Johnson C et al. Association of HPC2/ELAC2 genotypes and prostate cancer. *Am J Hum Genet* 2000; 67(4):1014-1019.
263. Rioja ZJ, Zudaire Berbera JJ, Rincon MA, Rosell CD, Robles Garcia JE, Berian Polo JM. [Gleason score 8-10 prostatic adenocarcinoma: prognostic influence in the biochemical progression free survival]. *Actas Urol Esp* 2008; 32(8):792-798.
264. Ro JY, Ayala AG, Ordonez NG, Cartwright J, Jr., Mackay B. Intraluminal crystalloids in prostatic adenocarcinoma. Immunohistochemical, electron microscopic, and x-ray microanalytic studies. *Cancer* 1986; 57(12):2397-2407.
265. Rosai J. Male reproductive system. In: Rosai J, editor. *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology*. Ninth ed. Mosby; 2004 p. 1361-1465.
266. Ross R, Bernstein L, Judd H, Hanisch R, Pike M, Henderson B. Serum testosterone levels in healthy young black and white men. *J Natl Cancer Inst* 1986; 76(1):45-48.
267. Ross RK, Bernstein L, Lobo RA et al. 5-alpha-reductase activity and risk of prostate cancer among Japanese and US white and black males. *Lancet* 1992; 339(8798):887-889.
268. Rubin MA, Buyyounouski M, Bagiella E et al. Microvessel density in prostate cancer: lack of correlation with tumor grade, pathologic stage, and clinical outcome. *Urology* 1999; 53(3):542-547.
269. Rubio J, Ramos D, Lopez-Guerrero JA et al. Immunohistochemical expression of Ki-67 antigen, cox-2 and Bax/Bcl-2 in prostate cancer; prognostic value in biopsies and radical prostatectomy specimens. *Eur Urol* 2005; 48(5):745-751.
270. Ruijter E, van LG, Miller G, Debruyne F, van de KC. Errors in histological grading by prostatic needle biopsy specimens: frequency and predisposing factors. *J Pathol* 2000; 192(2):229-233.
271. Ruizeveld de Winter JA. Immunocytochemical localization of androgen receptor with po-

CARCINOMA PROSTÁTICO

lyclonal antibody in paraffin-embedded human tissues. *J Histochem Cytochem* 1994; 42 (1):125-126.

272. Ruska KM, Sauvageot J, Epstein JI. Histology and cellular kinetics of prostatic atrophy. *Am J Surg Pathol* 1998; 22(9):1073-1077.

273. Saha B, Chaiwun B, Imam SS et al. Overexpression of E-cadherin protein in metastatic breast cancer cells in bone. *Anticancer Res* 2007; 27(6B):3903-3908.

274. Sakai H, Tsurusaki T, Kanda S, Koji T, Xuan JW, Saito Y. Prognostic significance of beta -microseminoprotein mRNA expression in prostate cancer. *Prostate* 1999; 38(4):278-284.

275. Sakr WA, Haas GP, Cassin BF, Pontes JE, Crissman JD. The frequency of carcinoma and intraepithelial neoplasia of the prostate in young male patients. *J Urol* 1993; 150(2 Pt 1):379-385.

276. Sandler HM, McShan DL, Lichter AS. Potential improvement in the results of irradiation for prostate carcinoma using improved dose distribution. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1992; 22(2):361-367.

277. Sato K, Qian J, Slezak JM et al. Clinical significance of alterations of chromosome 8 in high-grade, advanced, nonmetastatic prostate carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91 (18):1574-1580.

278. Schlomm T, Iwers L, Kirstein P et al. Clinical significance of p53 alterations in surgically treated prostate cancers. *Mod Pathol* 2008; 21(11):1371-1378.

279. Schneider A, Brand T, Zweigerdt R, Arnold H. Targeted disruption of the Nkx3.1 gene in mice results in morphogenetic defects of minor salivary glands: parallels to glandular duct morphogenesis in prostate. *Mech Dev* 2000; 95(1-2):163-174.

280. Schroder FH, Hugosson J, Roobol MJ et al. Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. *N Engl J Med* 2009; 360(13):1320-1328.

281. Sebo TJ, Chevillat JC, Riehle DL et al. Perineural invasion and MIB-1 positivity in addition to Gleason score are significant preoperative predictors of progression after radical retropubic prostatectomy for prostate cancer. *Am J Surg Pathol* 2002; 26(4):431-439.

282. Secin FP, Bianco FJ, Cronin A et al. Is it necessary to remove the seminal vesicles completely at radical prostatectomy? decision curve analysis of European Society of Urologic Oncology criteria. *J Urol* 2009; 181(2):609-613.

BIBLIOGRAFÍA

283. Shah R, Mucci NR, Amin A, Macoska JA, Rubin MA. Postatrophic hyperplasia of the prostate gland: neoplastic precursor or innocent bystander? *Am J Pathol* 2001; 158(5):1767-1773.
284. Shah RB, Zhou M, LeBlanc M, Snyder M, Rubin MA. Comparison of the basal cell-specific markers, 34betaE12 and p63, in the diagnosis of prostate cancer. *Am J Surg Pathol* 2002; 26(9):1161-1168.
285. Shi Y, Brands FH, Chatterjee S et al. Her-2/neu expression in prostate cancer: high level of expression associated with exposure to hormone therapy and androgen independent disease. *J Urol* 2001; 166(4):1514-1519.
286. Shirai T, Sano M, Tamano S et al. The prostate: a target for carcinogenicity of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) derived from cooked foods. *Cancer Res* 1997; 57(2):195-198.
287. Shukeir N, Arakelian A, Kadhim S, Garde S, Rabbani SA. Prostate secretory protein PSP-94 decreases tumor growth and hypercalcemia of malignancy in a syngenic in vivo model of prostate cancer. *Cancer Res* 2003; 63(9):2072-2078.
288. Signoretti S, Waltregny D, Dilks J et al. p63 is a prostate basal cell marker and is required for prostate development. *Am J Pathol* 2000; 157(6):1769-1775.
289. Silber I, McGavran MH. Adenocarcinoma of the prostate in men less than 56 years old: a study of 65 cases. *J Urol* 1971; 105(2):283-285.
290. Silberman MA, Partin AW, Veltri RW, Epstein JI. Tumor angiogenesis correlates with progression after radical prostatectomy but not with pathologic stage in Gleason sum 5 to 7 adenocarcinoma of the prostate. *Cancer* 1997; 79(4):772-779.
291. Sontheimer EJ. Assembly and function of RNA silencing complexes. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005; 6(2):127-138.
292. Strohmeyer D, Rossing C, Strauss F, Bauerfeind A, Kaufmann O, Loening S. Tumor angiogenesis is associated with progression after radical prostatectomy in pT2/pT3 prostate cancer. *Prostate* 2000; 42(1):26-33.
293. Sun J, Lange EM, Isaacs SD et al. Chromosome 8q24 risk variants in hereditary and non-hereditary prostate cancer patients. *Prostate* 2008; 68(5):489-497.
294. Sung MT, Jiang Z, Montironi R, MacLennan GT, Mazzucchelli R, Cheng L. Alpha-

CARCINOMA PROSTÁTICO

methylacyl-CoA racemase (P504S)/34betaE12/p63 triple cocktail stain in prostatic adenocarcinoma after hormonal therapy. *Hum Pathol* 2007; 38(2):332-341.

295. Suzuki H, Emi M, Komiya A et al. Localization of a tumor suppressor gene associated with progression of human prostate cancer within a 1.2 Mb region of 8p22-p21.3. *Genes Chromosomes Cancer* 1995; 13(3):168-174.

296. Swindle P, Eastham JA, Ohori M et al. Do margins matter? The prognostic significance of positive surgical margins in radical prostatectomy specimens. *J Urol* 2008; 179(5 Suppl):S47-S51.

297. Takeda H, Akakura K, Masai M, Akimoto S, Yatani R, Shimazaki J. Androgen receptor content of prostate carcinoma cells estimated by immunohistochemistry is related to prognosis of patients with stage D2 prostate carcinoma. *Cancer* 1996; 77(5):934-940.

298. Tangen CM, Faulkner JR, Crawford ED et al. Ten-year survival in patients with metastatic prostate cancer. *Clin Prostate Cancer* 2003; 2(1):41-45.

299. Tefilli MV, Gheiler EL, Tiguert R et al. Prognostic indicators in patients with seminal vesicle involvement following radical prostatectomy for clinically localized prostate cancer. *J Urol* 1998; 160(3 Pt 1):802-806.

300. Ten Haken RK, Perez-Tamayo C, Tesser RJ, McShan DL, Fraass BA, Lichter AS. Boost treatment of the prostate using shaped, fixed fields. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1989; 16(1):193-200.

301. Thompson IM, Pauler DK, Goodman PJ et al. Prevalence of prostate cancer among men with a prostate-specific antigen level \leq 4.0 ng per milliliter. *N Engl J Med* 2004; 350(22):2239-2246.

302. Tilley WD, Buchanan G, Hickey TE, Bentel JM. Mutations in the androgen receptor gene are associated with progression of human prostate cancer to androgen independence. *Clin Cancer Res* 1996; 2(2):277-285.

303. Tilley WD, Wilson CM, Marcelli M, McPhaul MJ. Androgen receptor gene expression in human prostate carcinoma cell lines. *Cancer Res* 1990; 50(17):5382-5386.

304. Tomlins SA, Laxman B, Varambally S et al. Role of the TMPRSS2-ERG gene fusion in prostate cancer. *Neoplasia* 2008; 10(2):177-188.

305. Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S et al. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science* 2005; 310(5748):644-648.

BIBLIOGRAFÍA

306. Tsihlias J, Kapusta LR, DeBoer G et al. Loss of cyclin-dependent kinase inhibitor p27Kip1 is a novel prognostic factor in localized human prostate adenocarcinoma. *Cancer Res* 1998; 58(3):542-548.
307. Ueda T, Komiya A, Emi M et al. Allelic losses on 18q21 are associated with progression and metastasis in human prostate cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 1997; 20(2):140-147.
308. Umbas R, Isaacs WB, Bringuier PP et al. Decreased E-cadherin expression is associated with poor prognosis in patients with prostate cancer. *Cancer Res* 1994; 54(14):3929-3933.
309. van LG, Dijkman H, Hulsbergen-van de KC, Ruiter D, Schalken J. Demonstration of intermediate cells during human prostate epithelial differentiation in situ and in vitro using triple-staining confocal scanning microscopy. *Lab Invest* 2000; 80(8):1251-1258.
310. Vanaja DK, Cheville JC, Iturria SJ, Young CY. Transcriptional silencing of zinc finger protein 185 identified by expression profiling is associated with prostate cancer progression. *Cancer Res* 2003; 63(14):3877-3882.
311. Veltri RW, Partin AW, Epstein JE et al. Quantitative nuclear morphometry, Markovian texture descriptors, and DNA content captured on a CAS-200 Image analysis system, combined with PCNA and HER-2/neu immunohistochemistry for prediction of prostate cancer progression. *J Cell Biochem Suppl* 1994; 19:249-258.
312. Vergis R, Corbishley CM, Thomas K et al. Expression of Bcl-2, p53, and MDM2 in localized prostate cancer with respect to the outcome of radical radiotherapy dose escalation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010; 78(1):35-41.
313. Verhagen AP, Ramaekers FC, Aalders TW, Schaafsma HE, Debruyne FM, Schalken JA. Colocalization of basal and luminal cell-type cytokeratins in human prostate cancer. *Cancer Res* 1992; 52(22):6182-6187.
314. Visakorpi T, Hyytinen E, Koivisto P et al. In vivo amplification of the androgen receptor gene and progression of human prostate cancer. *Nat Genet* 1995; 9(4):401-406.
315. Vocke CD, Pozzatti RO, Bostwick DG et al. Analysis of 99 microdissected prostate carcinomas reveals a high frequency of allelic loss on chromosome 8p12-21. *Cancer Res* 1996; 56(10):2411-2416.

CARCINOMA PROSTÁTICO

316. Vollmer RT. Predictive probability of serum prostate-specific antigen for prostate cancer: an approach using Bayes rule. *Am J Clin Pathol* 2006; 125(3):336-342.
317. Vollmer RT. Tumor length in prostate cancer. *Am J Clin Pathol* 2008; 130(1):77-82.
318. von der KH, Krauhs E, Aumuller G, Scheit KH. Characterization of a monoclonal antibody specific for prostatic secretory protein of 94 amino acids (PSP94) and development of a two-site binding enzyme immunoassay for PSP94. *Clin Chim Acta* 1990; 187(3):207-219.
319. Walsh PC. Radical prostatectomy for localized prostate cancer provides durable cancer control with excellent quality of life: a structured debate. *J Urol* 2000; 163(6):1802-1807.
320. Wang SI, Parsons R, Ittmann M. Homozygous deletion of the PTEN tumor suppressor gene in a subset of prostate adenocarcinomas. *Clin Cancer Res* 1998; 4(3):811-815.
321. Waters KM, Stram DO, Le ML et al. A common prostate cancer risk variant 5' of microseminoprotein-beta (MSMB) is a strong predictor of circulating beta-microseminoprotein (MSP) levels in multiple populations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19(10):2639-2646.
322. Weiber H, Andersson C, Murne A et al. Beta microseminoprotein is not a prostate-specific protein. Its identification in mucous glands and secretions. *Am J Pathol* 1990; 137(3):593-603.
323. Whitaker HC, Kote-Jarai Z, Ross-Adams H et al. The rs10993994 risk allele for prostate cancer results in clinically relevant changes in microseminoprotein-beta expression in tissue and urine. *PLoS One* 2010; 5(10):e13363.
324. Whitaker HC, Warren AY, Eeles R, Kote-Jarai Z, Neal DE. The potential value of microseminoprotein-beta as a prostate cancer biomarker and therapeutic target. *Prostate* 2010; 70(3):333-340.
325. Whitmore WF, Jr. Expectant management of clinically localized prostatic cancer. *Semin Oncol* 1994; 21(5):560-568.
326. Wiemer EA. The role of microRNAs in cancer: no small matter. *Eur J Cancer* 2007; 43(10):1529-1544.
327. Winnes M, Lissbrant E, Damber JE, Stenman G. Molecular genetic analyses of the TMPRSS2-ERG and TMPRSS2-ETV1 gene fusions in 50 cases of prostate cancer. *Oncol Rep* 2007; 17(5):1033-1036.

BIBLIOGRAFÍA

328. Witjes JA, Kiemeny LA, Schaafsma HE, Debruyn FM. The influence of review pathology on study outcome of a randomized multicentre superficial bladder cancer trial. Members of the Dutch South East Cooperative Urological Group. *Br J Urol* 1994; 73(2):172-176.
329. Wolters T, Roobol MJ, van Leeuwen PJ et al. Should pathologists routinely report prostate tumour volume? The prognostic value of tumour volume in prostate cancer. *Eur Urol* 2010; 57(5):821-829.
330. Wright JL, Dalkin BL, True LD et al. Positive surgical margins at radical prostatectomy predict prostate cancer specific mortality. *J Urol* 2010; 183(6):2213-2218.
331. Xu J, Stolk JA, Zhang X et al. Identification of differentially expressed genes in human prostate cancer using subtraction and microarray. *Cancer Res* 2000; 60(6):1677-1682.
332. Xu J, Zheng SL, Komiya A et al. Germline mutations and sequence variants of the macrophage scavenger receptor 1 gene are associated with prostate cancer risk. *Nat Genet* 2002; 32(2):321-325.
333. Xu J, Zheng SL, Turner A et al. Associations between hOGG1 sequence variants and prostate cancer susceptibility. *Cancer Res* 2002; 62(8):2253-2257.
334. Xuan JW, Wu D, Guo Y, Garde S, Baijal-Gupta M, Chin JL. Analysis of epitope structure of PSP94 (prostate secretory protein of 94 amino acids): (I). Immuno-dominant and immuno-recessive area. *J Cell Biochem* 1997; 65(2):172-185.
335. Yanai I, Benjamin H, Shmoish M et al. Genome-wide midrange transcription profiles reveal expression level relationships in human tissue specification. *Bioinformatics* 2005; 21(5):650-659.
336. Yardy GW, Brewster SF. Wnt signalling and prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2005; 8(2):119-126.
337. Yeager M, Deng Z, Boland J et al. Comprehensive resequence analysis of a 97 kb region of chromosome 10q11.2 containing the MSMB gene associated with prostate cancer. *Hum Genet* 2009.
338. Yeager M, Orr N, Hayes RB et al. Genome-wide association study of prostate cancer identifies a second risk locus at 8q24. *Nat Genet* 2007; 39(5):645-649.
339. Yeh S, Lin HK, Kang HY, Thin TH, Lin MF, Chang C. From HER2/Neu signal cascade to androgen receptor and its coactivators: a novel pathway by induction of androgen target ge-

CARCINOMA PROSTÁTICO

nes through MAP kinase in prostate cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96 (10):5458-5463.

340. Yin Z, Spitz MR, Babaian RJ, Strom SS, Troncoso P, Kagan J. Limiting the location of a putative human prostate cancer tumor suppressor gene at chromosome 13q14.3. *Oncogene* 1999; 18(52):7576-7583.

341. Young R, Srigley J, Amin M, Ulbright T, Cubilla A. Carcinoma of the prostate gland. In *Tumors of the prostate gland, seminal vesicles, male urethra, and penis*. third ed. Washington: AFIP; 2000 p. 111-216.

342. Young R, Srigley J, Amin M, Ulbright T, Cubilla A. Variants of prostatic adenocarcinoma, other primary carcinomas of prostate, and secondary carcinomas. In: Young R, Srigley JR, Amin M, Ulbright T, Cubilla A, editors. *Tumors of the prostate gland, seminal vesicles, male urethra and penis*. Third ed. Washington: AFIP; 2000 p. 217-255.

343. Zagars GK, von Eschenbach AC, Ayala AG. Prognostic factors in prostate cancer. Analysis of 874 patients treated with radiation therapy. *Cancer* 1993; 72(5):1709-1725.

344. Zanke BW, Greenwood CM, Rangrej J et al. Genome-wide association scan identifies a colorectal cancer susceptibility locus on chromosome 8q24. *Nat Genet* 2007; 39(8):989-994.

345. Zheng SL, Ju JH, Chang BL et al. Germ-line mutation of NKX3.1 cosegregates with hereditary prostate cancer and alters the homeodomain structure and function. *Cancer Res* 2006; 66(1):69-77.

346. Zheng SL, Sun J, Cheng Y et al. Association between two unlinked loci at 8q24 and prostate cancer risk among European Americans. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99(20):1525-1533.

347. Zheng SL, Sun J, Wiklund F et al. Cumulative association of five genetic variants with prostate cancer. *N Engl J Med* 2008; 358(9):910-919.

348. Zhou M, Aydin H, Kanane H, Epstein JI. How often does alpha-methylacyl-CoA-racemase contribute to resolving an atypical diagnosis on prostate needle biopsy beyond that provided by basal cell markers? *Am J Surg Pathol* 2004; 28(2):239-243.

349. Zhou M, Chinnaiyan AM, Kleer CG, Lucas PC, Rubin MA. Alpha-Methylacyl-CoA racemase: a novel tumor marker over-expressed in several human cancers and their precursor lesions. *Am J Surg Pathol* 2002; 26(7):926-931.

BIBLIOGRAFÍA

350. Zhou M, Jiang Z, Epstein JI. Expression and diagnostic utility of alpha-methylacyl-CoA-racemase (P504S) in foamy gland and pseudohyperplastic prostate cancer. *Am J Surg Pathol* 2003; 27(6):772-778.
351. Zhou M, Jiang Z, Epstein JI. Expression and diagnostic utility of alpha-methylacyl-CoA-racemase (P504S) in foamy gland and pseudohyperplastic prostate cancer. *Am J Surg Pathol* 2003; 27(6):772-778.
352. Zincke H, Oesterling JE, Blute ML, Bergstralh EJ, Myers RP, Barrett DM. Long-term (15 years) results after radical prostatectomy for clinically localized (stage T2c or lower) prostate cancer. *J Urol* 1994; 152(5 Pt 2):1850-1857.
353. Zippe CD, Kedia AW, Kedia K, Nelson DR, Agarwal A. Treatment of erectile dysfunction after radical prostatectomy with sildenafil citrate (Viagra). *Urology* 1998; 52(6):963-966.
354. Zlotta AR, Djavan B, Marberger M, Schulman CC. Prostate specific antigen density of the transition zone: a new effective parameter for prostate cancer prediction. *J Urol* 1997; 157(4):1315-1321.