



DETERMINACIÓN RETROSPECTIVA DE MARCADORES DE CÉLULAS BASALES ÚTILES EN EL DIAGNÓSTICO DEL ADENOCARCINOMA PROSTÁTICO EN BIOPSIAS PROSTÁTICAS CON DIAGNÓSTICO DUDOSO¹

RETROSPECTIVE DETERMINATION OF BASAL CELL MARKERS IN DIAGNOSIS OF PROSTATIC ADENOCARCINOMA IN PROSTATE BIOPSIES WITH DOUBTFULLY DIAGNOSIS

Benedetti Padrón Inés², Barrios García Lía², Arroyo Salgado Bárbara³, De Oro Blanca⁴, Beleño José⁵, Meza Mauricio⁵.

Correspondencia: inebenedetti@hotmail.com

Recibido para evaluación: Marzo-1-2010 - Aceptado para publicación: Mayo-6-2010

RESUMEN

El diagnóstico del cáncer de próstata en una cantidad mínima de tejido como el obtenido en las biopsias transrectales, es un reto para el patólogo que con frecuencia se enfrenta a casos difíciles por la presencia de lesiones benignas que imitan adenocarcinoma. Actualmente se dispone de marcadores para las células basales de la próstata, ausentes en el adenocarcinoma, como el anticuerpo contra citoqueratina de alto peso molecular, 34BE12 y el anticuerpo p63 que facilitan su identificación y permiten llegar a un diagnóstico al evaluar la lesión en el contexto del patrón morfológico, con la coloración de rutina. En nuestra ciudad se realiza un alto número de biopsias transrectales de próstata y su evaluación patológica se llevan a cabo con coloraciones de rutina, llevando en la mayoría de los casos a un diagnóstico; sin embargo, existe dificultad en los casos con lesiones que imitan adenocarcinoma y pueden llevar a errores de diagnósticos por falta de una técnica objetiva para diferenciarlas. El objeto del presente estudio es implementar la utilización de los anticuerpos antiqueratina de alto peso molecular 34BE12 y p63 en el Laboratorio de Histotecnología de la Universidad de Cartagena.

Un total de veinte casos de muestras de tejidos de biopsias de próstata del Laboratorio de Patología y Citología de la ciudad de Cartagena diagnosticados como sugestivos de adenocarcinoma o en los que se describen cambios atróficos, focos de hiperplasia de células basales o de adenosis sospechosos de lesión tumoral maligna fueron seleccionados, tomando nuevos cortes y realizando coloraciones de inmunohistoquímica con los marcadores: 34BE12 y p63.

En la mitad de los casos al realizar los nuevos cortes, desapareció la lesión por agotamiento del tejido, por lo que no fue posible evaluarlos adecuadamente.

En dos de los casos (10%) no fue posible evaluar la inmunohistoquímica por falla en la tinción con ambos marcadores, evidenciada en la ausencia de tinción en todas las glándulas benignas usadas como control interno positivo, esto sugiere pérdida de la

¹ Un producto del Grupo de Investigación: Microbiología clínica y ambiental.

² MD Patólogo, Grupo de Microbiología clínica y ambiental, Grupo de Histopatología, Docente Facultad de Medicina, Universidad de Cartagena

³ MSc, Grupo de Microbiología clínica y ambiental, Docente Facultad de Medicina, Universidad de Cartagena.

⁴ Estudiante de Postgrado, Especialización en Patología, Facultad de Medicina Universidad de Cartagena.

⁵ Estudiante de Pregrado, Facultad de Medicina, Universidad de Cartagena.

antigenicidad del tejido, probablemente como consecuencia de la fijación y el procesamiento del mismo.

De los ocho casos en los que la lesión sospechosa fue evaluada, por inmunohistoquímica, con ambos marcadores, en un caso 34BE12 y p63 fueron negativos en la mayoría de las glándulas en el foco atípico, con tinción focal débil en algunas glándulas para 34BE12, y positivos en las glándulas benignas vecinas. En los siete casos restantes, ambas tinciones fueron positivas en las glándulas sospechosas, lo que confirmó el diagnóstico de lesión benigna.

Se resalta la importancia del uso de 34BE12 y p63 como herramientas invaluable en el diagnóstico diferencial de lesiones prostáticas benignas y malignas, sin dejar de lado la morfología, teniendo en cuenta que en algunas lesiones benignas atípicas se puede presentar tinción parcial con estos marcadores. **Rev.cienc.biomed. 2010, 1(1): 10- 22.**

PALABRAS CLAVES

Adenocarcinoma prostático. Células basales. 34BE12, p63.

SUMMARY

Diagnosis of prostate cancer in a minimum tissue amount like the one coming from transrectal biopsies is a challenge for the pathologist who frequently faces difficult cases due to the presence of benign lesions that imitate adenocarcinoma.

Nowadays there are prostate basal cells markers not present in the adenocarcinoma, like the high molecular weight cytokeratin antibody, 34BE12 and the p63 antibody which facilitate its identification and help making a diagnosis by evaluating the lesion in the context of the morphological pattern, with the routine staining. There is a high number of prostate transrectal biopsies performed in our city and their pathologic evaluation is made with routine staining, nevertheless, there is some difficulty in the case of lesions that imitate adenocarcinoma and could lead to diagnostic errors because of the lack of an objective technique to differentiate them. The objective of this study is to implement the use of the high molecular weight cytokeratin antibody, 34BE12 and the p63 antibody in the "Laboratorio de Histotecnología" of the "Universidad de Cartagena".

Twenty cases of tissue samples of prostate biopsies from the "Laboratorio de Patología y Citología" at Cartagena, diagnosed as Suggestive of adenocarcinoma, or with findings of atrophic changes, basal-cells hyperplasia or adenosis suspicious of malignant tumor lesion were chosen, taking new cuts and performing immunohistochemical colorations with markers: 34BE12 and p63.

In half of cases the lesion disappeared due to the lack of tissue, when the new cuts were performed, making it impossible to evaluate them appropriately.

In two cases (10%) it was not possible to evaluate the immunohistochemistry due to the lack of staining with both markers, noticed in the absence of staining on all benign glands used as internal positive control, which suggests loss of tissue's antigenicity, probably as a result of its fixation and processing.

From the eight cases where the suspicious lesion was evaluated, by immunohistochemistry, with both markers, in one case 34BE12 and p63 were negative on most of the glands in the atypical focus, with poor staining on some glands for 34BE12, and both of them were positive on benign neighboring glands. On the remaining seven cases, both stains were positive on suspicious glands, which confirms the diagnosis of a benign lesion.

It is highlighted the importance of the 34BE12 y p63 use as invaluable tools on the benign and malignant prostate lesions differential diagnosis, taking always into account the morphology, being aware that in some atypical benign lesions there could be partial staining with these markers.

KEYWORDS

Prostatic adenocarcinoma. Basal cells. 34BE12, p63

INTRODUCCIÓN

El cáncer de próstata es un problema de salud pública en los países desarrollados. En el 2002, el cáncer de próstata fue la quinta causa más común de cáncer en el mundo y el segundo en frecuencia en hombres con 679000 nuevos casos. Esto representa 19% de todos los cánceres diagnosticados en países desarrollados y 5.3% en países en desarrollo (1,2).

En nuestro país el cáncer de próstata es la neoplasia más frecuente en la población masculina (27.5 casos por 100.000 habitantes), (3). En Estados Unidos la Sociedad Americana de Cáncer estima que durante el 2005 se diagnosticaron algo más de 232.000 nuevos casos, y aproximadamente 30.000 enfermos murieron por enfermedad metastásica en el mismo periodo (4).

Esto revela que la incidencia de esta neoplasia ha aumentado en forma notoria en los últimos años, en ello han influido diversos factores como: la puesta en marcha de medidas de detección precoz en revisiones rutinarias, el advenimiento del Antígeno prostático específico (PSA) y sus fracciones como método rutinario fiable de tamizaje (5,6), y, la accesibilidad y eficacia diagnóstica de la biopsia transrectal.

Sumado al hecho que esta neoplasia es mucho más frecuente a partir de la sexta década de la vida y por tanto el aumento en la expectativa de vida en las sociedades occidentales ha traído consigo un mayor número de pacientes diagnosticados con esta patología. Todo ello ha llevado a que el volumen de pacientes sometidos a biopsia transrectal esté creciendo en los últimos años.

A su vez el uso frecuente de la biopsia transrectal como método de detección de este cáncer ha traído consigo problemas con el diagnóstico del mismo, convirtiéndose en un reto para los patólogos establecer claramente la malignidad en una pequeña cantidad de tejido como el obtenido en dicho procedimiento, para lo cual se deben usar criterios bien definidos que permitan llegar a un diagnóstico de adenocarcinoma (7,8).

De la misma manera, la amplia variabilidad histológica del carcinoma prostático, la profusión de lesiones benignas que simulan cáncer, y viceversa, los carcinomas que simulan en ocasiones lesiones benignas, producen con frecuencia dificultad en la evaluación por el patólogo que puede llevar a diagnósticos errados (9,10).

Para entender esto es necesario conocer la histología normal de los acinos prostáticos los cuales poseen dos tipos de células epiteliales: las células secretoras que producen el Antígeno prostático específico (PSA) las cuales carecen de inmunorreactividad con citoqueratinas de alto peso molecular; y, las células basales localizadas debajo de las secretoras, menos diferenciadas, no producen Antígeno prostático específico, no dependen de los andrógenos, (11 9), poseen núcleos acigarrados semejantes a los fibroblastos que se orientan en forma paralela a la membrana basal, expresan las citoqueratinas de alto peso molecular y por tanto responden a los anticuerpos contra ellas (anticuerpo monoclonal p63) (9,12). Estas últimas son importantes dado que no se encuentran en el adenocarcinoma y su identificación en las lesiones que lo imitan es de mucho valor al realizar el diagnóstico diferencial (13)

Así mismo el epitelio luminal está separado del estroma por una membrana basal y la capa de células basales descritas, unidas por uniones intercelulares y moléculas de adhesión formando una capa continua; la membrana basal está compuesta por colágeno, lamininas y otras moléculas que rodean y unen las células basales de modo que ambas regulan la comunicación y el intercambio de moléculas entre el epitelio y el estroma subyacente, y, además las células luminales de las que se origina el adenocarcinoma prostático deben atravesar la capa de células basales y la membrana basal para invadir el estroma y producir metástasis (14).

El diagnóstico del adenocarcinoma prostático se establece con el examen histopatológico de las biopsias transrectales con aguja y requiere una serie de características histológicas que se pueden dividir en criterios mayores y menores. (15,16,17).

Los criterios mayores incluyen: un patrón de crecimiento infiltrativo con glándulas pequeñas malignas extendiéndose entre otras grandes y complejas, ausencia de células basales y atipia nuclear con nucleolos agrandados. Los criterios menores incluyen: mucina intraluminal basófila, secreción amorfa eosinófila, figuras de mitosis, cristaloides intraluminales, áreas de neoplasia intraepitelial prostática (PIN) adyacentes, citoplasma anfofílico e hiper cromasia nuclear (1).

Como vemos uno de los criterios importantes en el diagnóstico del adenocarcinoma de la próstata es la ausencia de células basales, (11) sin embargo, en los cortes coloreados de rutina con hematoxilina-eosina la identificación de la capa de células basales con mucha frecuencia es difícil y ambigua pues pueden ser confundidas con fibroblastos o con una doble capa de células neoplásicas (12).

Igualmente en algunas lesiones benignas las células basales pueden no ser evidentes haciendo sospechar la presencia de una lesión maligna. (12,1) entre éstas las que con mayor probabilidad pueden ser diagnosticadas como adenocarcinoma son: la atrofia, las proliferaciones microacinares conocidas en la literatura como adenosis atípicas y la hiperplasia de células basales (13,18).

En estos casos difíciles la inmunohistoquímica actualmente es la herramienta más útil para el diagnóstico diferencial, debido a que el adenocarcinoma prostático carece de células basales, ayuda a distinguir entre este y las lesiones que lo imitan, utilizando anticuerpos que reaccionan con las células basales de las glándulas prostáticas benignas para su detección en casos dudosos como los mencionados previamente (9,19).

El uso de esta técnica permite una evaluación objetiva de las lesiones dudosas pues sin ellas en muchos casos el diagnóstico de adenocarcinoma prostático de bajo grado puede ser subjetivo y controversial (12). De hecho su uso ha aumentado siendo utilizada actualmente en más del 44% de los casos revisados para una segunda opinión,

comparado con menos del 3% de los mismos en la década pasada (20).

Para esto se usan los anticuerpos 34BE12 y el anticuerpo contra la proteína P63, que son los marcadores de células basales más frecuentemente utilizados (9,1,21).

El anticuerpo monoclonal 34BE12, reacciona con la citoqueratina de alto peso molecular (polipéptidos 1,5,10 y 14), produciendo reactividad citoplasmática, reconoce específicamente las células basales en las glándulas prostáticas benignas y no reacciona con las que forman parte de un adenocarcinoma prostático, por lo tanto es muy útil para distinguir glándulas benignas de malignas (21). Su efectividad para demostrar la presencia de células basales y la utilidad en el estudio de focos sospechosos en biopsias transrectales de próstata han sido descritas en muchos estudios (22,23,24,20,9,12,25,26,27,28,29,30,19,31).

El anticuerpo p63, un factor de transcripción nuclear usado recientemente para la identificación de células basales (32), es considerado un homólogo del gen supresor de tumor p53, juega un papel crítico en la regulación del crecimiento de células epiteliales, detecta la proteína p63 en el núcleo de las células basales (33,20,34,35,36,14,37,38), y se ha demostrado en muchos estudios su expresión en ellas con un patrón nuclear de inmunorreactividad mientras que está ausente en las células secretoras (19).

En general los dos marcadores tienen sensibilidad y especificidad similares, aunque muchos estudios han informado un mayor porcentaje de tinción con el p63 y menor variabilidad técnica como resultado de la fijación del tejido, llevando a que en algunas ocasiones las células basales son negativas para la citoqueratina y positivas para el p63 (6,35,21,37).

Algunos han combinado los anticuerpos p63 y 34BE12 en un cóctel (32,10) mostrando aumento de la sensibilidad en la detección de células basales y reducción de la variabilidad (32) en unos casos, mientras otros no mostraron ventaja en el uso del

cóctel comparado con la tinción con p63 únicamente (10)

Sin embargo, para una correcta interpretación de ésta técnica, debe conocerse que el patrón de reactividad de las glándulas normales es variable, pues las células basales pueden estar ausentes en algunas glándulas benignas como las atróficas o formar una capa fragmentada en las hiperplasias adenomatosas atípicas o adenosis (12,1) por lo que debe ser evaluada dentro del contexto del corte histológico, teniendo en cuenta al estudiar un grupo de glándulas sin reactividad al anticuerpo para distinguir entre adenosis atípica y adenocarcinoma de bajo grado, el referente de la morfología de éstas en comparación con las que muestran reactividad en su capa basal (19).

Además, el patrón de reactividad y tinción en las glándulas prostáticas en el tejido fijado con formalina con frecuencia es discontinuo y en los cortes congelados es continuo, esto implica que la fijación o el procesamiento del tejido afecta la antigenicidad con relación a la tinción con estos anticuerpos, lo que debe ser tenido en cuenta antes de hacer un diagnóstico de adenocarcinoma temprano (18)

Por todo lo anterior, la tinción con el anticuerpo 34BE12 es útil como una medida confirmatoria sólo en casos específicos, como los mencionados previamente, en los que el diagnóstico diferencial debe ser orientado por el aspecto histológico con la coloración de rutina (1).

Otro marcador diagnóstico útil por inmunohistoquímica es la Metilacil coenzima A (AMACR), una enzima involucrada en la beta-oxidación de los ácidos grasos que se expresa en forma selectiva en el carcinoma prostático, también conocida como P504S o Racemasa en referencia a una familia de enzimas. (39,40,41).

Una ventaja de este marcador es que el diagnóstico se hace por una respuesta positiva y no por ausencia de respuesta como en los marcadores de células basales, en diferentes estudios su sensibilidad varía entre 82% y 100% (42,43,44,45,46,47,32,

21,37) y su mayor valor es ser una prueba diagnóstica adicional a la negatividad de los marcadores de células basales (48,49,50).

La principal utilidad de la tinción con AMACR es la evaluación de focos sospechosos por la morfología en los que la ausencia de tinción con marcadores de células basales por si sola es insuficiente para establecer un diagnóstico de adenocarcinoma, en su uso se debe tener en cuenta que es positivo en los focos de neoplasia intraepitelial prostática de alto grado y su inmunoreactividad en el cáncer muchas veces es heterogénea (51,49,19).

También se usan cócteles de anticuerpos dirigidos contra los marcadores de células basales y AMACR siendo muy útiles para evaluar pequeñas proliferaciones glandulares atípicas (52,53,54,49,1,42).

Finalmente el uso de estos marcadores a través de una técnica de inmunohistoquímica bien implementada, es un procedimiento útil en el diagnóstico diferencial de las lesiones sospechosas de adenocarcinoma en las biopsias transrectales de próstata, las cuales desde hace varios años se realizan en forma rutinaria en la detección de esta neoplasia en la mayor parte de los países (1,19,21).

Al igual que en el resto del mundo, en nuestra ciudad se realiza un alto número de biopsias transrectales de próstata y su evaluación patológica se realiza con coloraciones de rutina, que en la mayoría de los casos permite un adecuado diagnóstico, sin embargo, existe dificultad en algunos casos en que se encuentran lesiones que imitan adenocarcinoma y pueden llevar a errores diagnósticos por falta de una técnica objetiva para diferenciarlas.

El objeto del presente estudio es implementar la utilización de los anticuerpos antiqueratina de alto peso molecular y p63 en el Laboratorio de Histotecnología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Cartagena y aplicarlos a las muestras obtenidas por biopsia transrectal durante el período 2005-2006, analizados en el Laboratorio de Patología y Citología, con lesiones sospechosas de adenocarcinoma e interpretar la reactividad con la inmunotinción para llegar a un diagnóstico definitivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección de casos

Un total de 20 casos de muestras de tejidos de biopsias de próstata del Laboratorio de Patología y Citología de la ciudad de Cartagena diagnosticados como sugestivos de adenocarcinoma o en los que se describen cambios atróficos, focos de hiperplasia de células basales o de adenosis sospechosos de lesión tumoral maligna en el mismo laboratorio fueron seleccionados. Se les realizó coloración de inmunohistoquímica: a cada corte se le aplicó por separado cada uno de los marcadores: 34BE12 y p63,

Inmunohistoquímica

A los nuevos cortes se les realizó coloración de inmunohistoquímica: a cada corte se le aplicó por separado cada uno de los marcadores: 34BE12 y p63. Los anticuerpos monoclonales anti-p63 y 34BE12 fueron utilizados a una dilución de 1:100 (DAKO). Los cortes fueron desparafinados e hidratados, inmersos en buffer de citrato de sodio 10mM, colocados en Olla de Pascal con recuperador antigénico, calentados en micro-ondas por 15 minutos. Se aplicó el anticuerpo, con incubación del anticuerpo primario a temperatura ambiente por 45 minutos y del anticuerpo secundario a temperatura ambiente por 30 minutos, seguido por la aplicación del cromógeno, los cortes fueron contrastados con hematoxilina.

Evaluación de inmunohistoquímica

La evaluación de las coloraciones de inmunohistoquímica, se hizo con base en la intensidad y distribución de las glándulas inmunopositivas para 34BE12 y p63 como evidencia de presencia de células basales en las mismas

Se valoró la tinción de células basales en todos los casos y se clasificaron de acuerdo a su categoría diagnóstica, comparándolos

con los cortes coloreados con hematoxilina-eosina (HE). Para ambos marcadores la tinción positiva (color marrón) en los focos dudosos se tomó como evidencia de benignidad. La ausencia de tinción en focos dudosos se tomó como evidencia presuntiva de un proceso maligno siempre que los aspectos morfológicos con HE fuesen compatibles

Se evaluó la presencia de células basales por tinción positiva con los dos marcadores. La reacción se consideró positiva cuando las células mostraron una coloración marrón a nivel nuclear con el p63 o citoplasmático con el anticuerpo 34BE12.

Dificultades en la interpretación

La mayor dificultad fue la desaparición de los focos sospechosos en los nuevos cortes por agotamiento del tejido (50%), seguida por la falla en la coloración con 34BE12 y p63, definida como ausencia de un control interno positivo (10%). El pequeño tamaño de los focos sospechosos también produjo dificultad en la interpretación de las coloraciones con los anticuerpos (10%).

RESULTADOS

En este estudio se evaluaron 20 muestras de biopsias de próstata que presentaban focos sospechosos diagnosticados como sugestivos de adenocarcinoma, cambios atróficos, focos de hiperplasia de células basales o de adenosis sospechosos de lesión tumoral maligna.

Al excluir los casos en los que la lesión desapareció en los nuevos cortes y los dos en los que la tinción fue negativa con control interno negativo, se estudiaron los ocho casos en los que fue posible evaluar la lesión sospechosa por inmunohistoquímica, con ambos marcadores (Tabla 2)

CASO	TINCIÓN CK34BE12	% GLÁNDULAS POSITIVAS	TINCIÓN p63	%GLANDULAS POSITIVAS
2	+	90-100	+	70-80
3	-	5-10	-	5-10
4	+	80-90	+	80-90
12	+	80-90	+	80-90
14	+	80-90	+	80-90
17	+	70-80	+	70-80
18	+	90-100	+	60-70
20	+	90-100	+	90-100

La estandarización de la técnica, mostró en la muestra seleccionada, en la mayoría de las glándulas prostáticas benignas tinción intensa en las células basales para ambos anticuerpos, con coloración marrón localizada en el citoplasma para 34BE12 y en el núcleo para p63 (Figura 1).

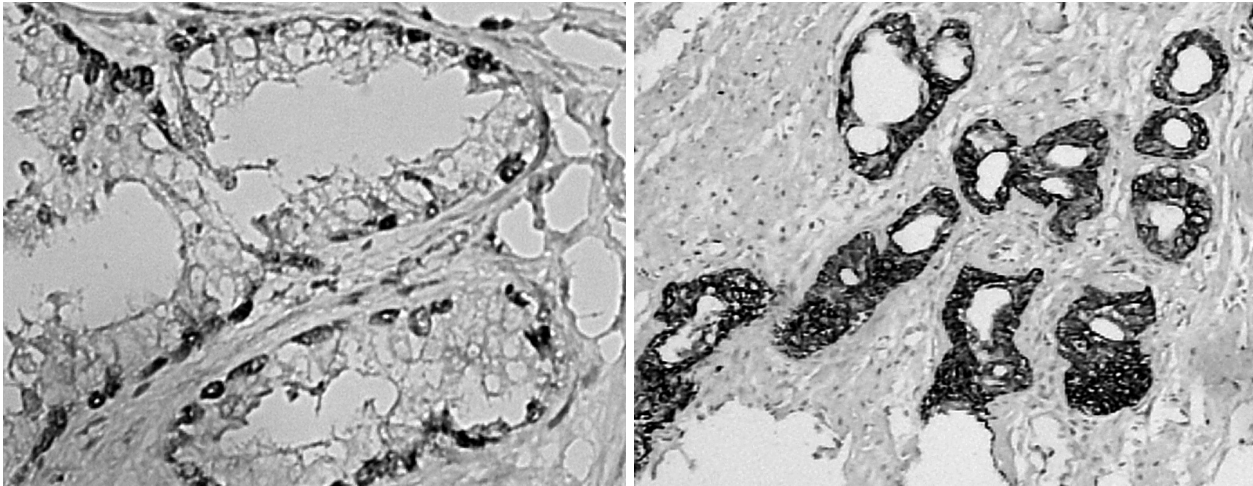


Figura1. Control positivo. Tejido prostático con glándulas benignas que muestran y tinción nuclear positiva fuerte para P63, 10X (izq) y tinción citoplasmática positiva fuerte para CK34BE12, 40X (der)

En algunos cortes se evidenció algo de tinción de fondo a nivel del epitelio glandular, que fue intensa en uno de los casos, sobre todo en la coloración con el marcador p63, (Figura 2). Hubo escasa tinción estromal.

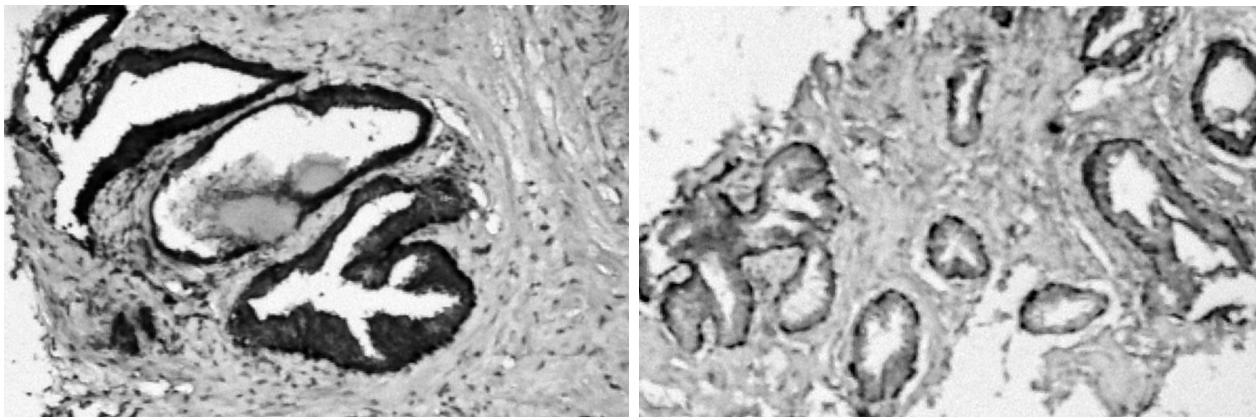


Figura 2. Caso 4. Tinción citoplasmática de fondo y escasa tinción estromal observada en algunos casos, con el marcador p63, 40X (izq) 10X(der).

En siete casos, ambas tinciones fueron positivas en las glándulas sospechosas, lo que confirmó el diagnóstico de lesión benigna, en algunos en forma completa y en otros con tinción focal y control interno positivo (Figura 3). Uno de estos casos había sido categorizado como "sugestivo de hiperplasia de células basales", al realizar la inmunohistoquímica se confirmó el diagnóstico, al observar positividad para ambos marcadores en el foco sospechoso (Figura 4).

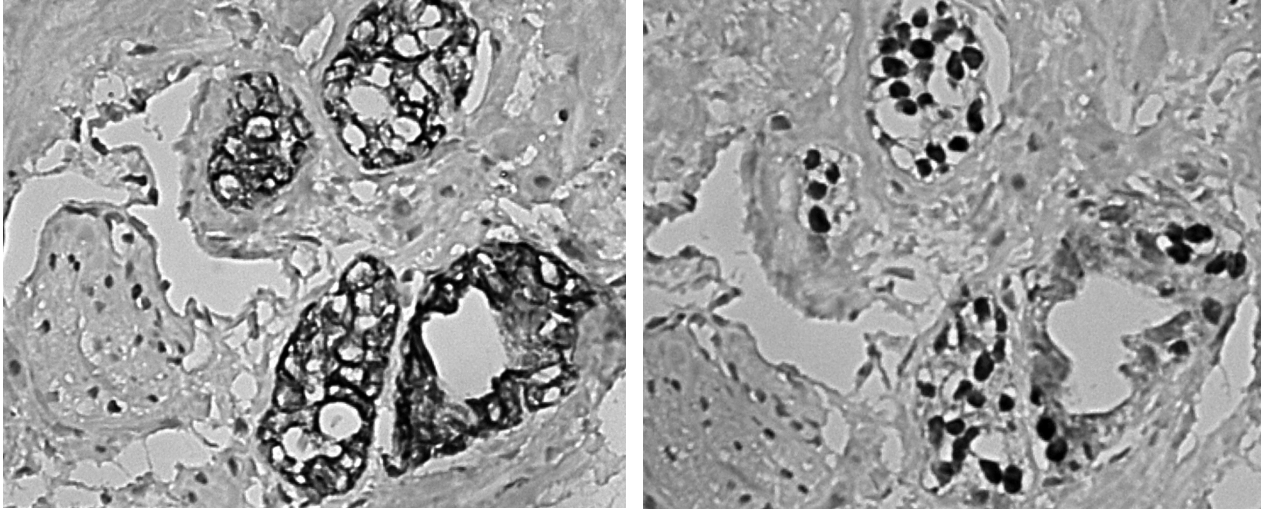


Figura 3. Caso 12. Proliferación microacinar con tinción citoplasmática positiva fuerte para CK34BE12, 40X (izq) y tinción nuclear positiva fuerte para P63, 40X (der).

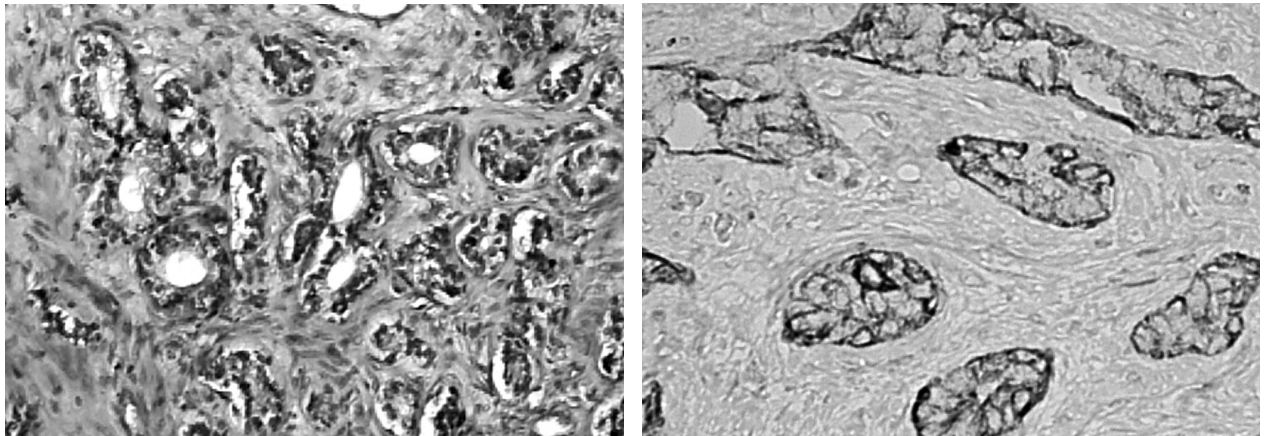


Figura 4, Caso18, Foco sugestivo de hiperplasia de células basales,HE,40X (izq), confirmado por tinción citoplasmática fuerte con CK34BE12, 40X (der)

En un caso (Caso 3) CK34BE12 y p63 fueron negativos en la mayoría de las glándulas en el foco atípico (90 a 95%), con tinción citoplasmática débil focal para CK34BE12 en algunas glándulas, y positivos en las glándulas benignas vecinas, (control interno positivo) lo que sugiere una lesión atípica, de difícil diagnóstico por inmunohistoquímica, se revisó nuevamente comparando con la morfología de la lesión en los cortes de rutina, sin embargo a pesar de esta revisión no se pudo llegar a un diagnóstico conclusivo, y se considera una lesión atípica cuyas características morfológicas e inmunohistoquímicas no permiten establecer una clasificación diagnóstica precisa. (Figura 5).

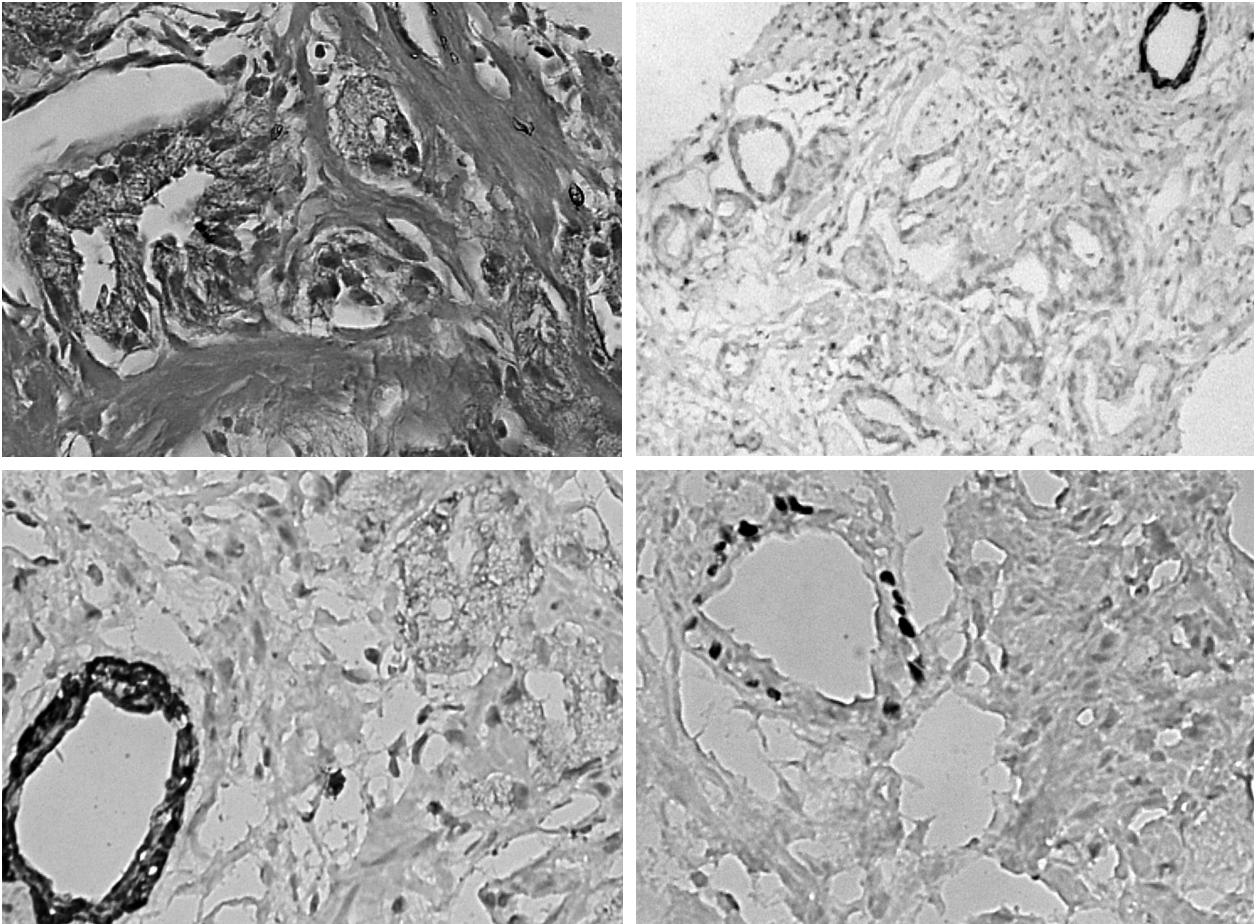


Figura 5. Caso 3. Proliferación microacinar, HE 40X (izq arriba), tinción negativa para CK34BE12, 10X (der, arriba) con control interno positivo(arriba, der), tinción citoplasmática débil para CK34BE12 en escasas glándulas, control interno positivo (abajo, izq) tinción negativa con control interno positivo para p63 40X(abajo, der).

DISCUSIÓN

El diagnóstico de lesiones malignas de la próstata, en muchos casos presenta alto grado de dificultad representado en la escasa cantidad de tejido evaluado en las biopsias, y, en la similitud morfológica que puede presentarse entre lesiones benignas atípicas y lesiones malignas (49,55). Ante esta situación el uso de marcadores que permiten evidenciar la presencia de células basales en el área sospechosa es de gran valor, dado que éstas no se encuentran en el adenocarcinoma infiltrante.

Nuestros resultados confirman la utilidad diagnóstica de estos marcadores en la diferenciación entre lesiones benignas atípicas y lesiones malignas de la próstata.

Se encontró tinción positiva para 34BE12 y p63 en la mayor parte de las lesiones atípicas estudiadas, esta tinción citoplasmática para 34BE12 y nuclear para p63 constituye una ayuda invaluable en el estudio de estos casos en los que la morfología no es suficiente para establecer un diagnóstico diferencial entre lesiones atípicas o sospechosas y malignas.

La valoración de la tinción permite fácilmente definir la presencia de células basales en las glándulas benignas en forma completa y en algunas con tinción focal tanto para 34BE12 como para p63, como se observa en las tinciones realizadas.

La estandarización de la técnica mostró en la mayoría de las glándulas prostáticas benignas inmunotinción intensa en las células

basales para ambos anticuerpos, la cual está localizada exclusivamente en el citoplasma para 34BE12 y en el núcleo para p63, lo que comprueba un funcionamiento adecuado de la tinción, imprescindible al evaluar una lesión sospechosa, pues, la ausencia de tinción presenta la dificultad de definir si se debe a una lesión maligna, o, a falta de respuesta del tejido ante el anticuerpo 34BE12 y p63, debido al efecto nocivo de la fijación (56). Por tanto, para saltar este obstáculo es importante evaluar la tinción de las glándulas benignas vecinas (control interno positivo) lo que permite confirmar la respuesta tisular a los anticuerpos.

En dos de los casos (10%) no fue posible evaluar la inmunohistoquímica por falla en la tinción con ambos marcadores, evidenciada en la ausencia de tinción en todas las glándulas benignas usadas como control interno positivo, esto sugiere pérdida de la antigenicidad del tejido, probablemente como consecuencia de la fijación y el procesamiento del mismo. En algunos cortes se evidenció algo de tinción de fondo a nivel del epitelio glandular y escasa tinción estromal

La mayor limitación encontrada fue el escaso tejido presente en los bloques de parafina, en muchos debido a los múltiples cortes realizados para coloración con HE, con el fin de estudiar la lesión sospechosa, llevando a desaparición del foco sospechoso en los nuevos cortes realizados, a pesar de los intentos por obtener el escaso tejido restante, y por tanto a incapacidad de evaluar la coloración con los marcadores aplicados.

Esta limitación ha sido citada en trabajos similares (57,8,6,56,58,59) y en algunos casos ha llevado a la realización rutinaria de cortes alternos no teñidos que se reservan para ser usados en la inmunohistoquímica de ser necesario. En nuestro estudio estuvo

presente en el 50% de los casos estudiados, similar a lo descrito en la literatura donde se produce pérdida del tejido al realizar nuevos cortes hasta en un 60% de los casos.

Delosochocasosenlosquelalesiónsospechosa fue evaluada, por inmunohistoquímica, con ambos marcadores, en un caso CK34BE12 y p63 fueron negativos en la mayoría de las glándulas en el foco atípico, con tinción focal débil en algunas glándulas para CK34BE12, y, positivos en las glándulas benignas vecinas, situación que ha sido documentada en algunas lesiones atípicas en las que este patrón de tinción inusual hace parte de la atipicidad de la lesión, por lo cual se requiere hacer una revisión detallada y comparar con la morfología de la lesión en los cortes de rutina, y en algunas ocasiones, como en nuestro caso, no es posible llegar a una clasificación diagnóstica exacta de la lesión.

En los siete casos restantes, ambas tinciones fueron positivas en las glándulas sospechosas, lo que confirmó el diagnóstico de lesión benigna, uno de estos casos había sido categorizado como "sugestivo de hiperplasia de células basales", diagnóstico que fue confirmado con la positividad de las tinciones.

Se resalta la importancia del uso de 34BE12 y p63 como herramientas invaluable en el diagnóstico diferencial de lesiones prostáticas benignas y malignas, sin dejar de lado la morfología, teniendo en cuenta que en algunas lesiones benignas atípicas se puede presentar tinción parcial con estos marcadores.

CONFLICTOS DE INTERESES: Ninguno que declarar.

FINANCIACIÓN: Vicerectoría de Investigaciones. Universidad de Cartagena.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Humphrey P A, Diagnosis of Adenocarcinoma in prostate needle biopsy tissue, *J Cliical Pathology* 2007, 60 :35-42
2. Parkin DM, Bray F, Ferlay J. et al., Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55:74-108
3. Registro de cáncer de Cali 1997, Instituto Nacional de Cancerología 1995-1999
4. American Cancer Society, Inc, *Cancer Facts and Figures*, Atlanta 2005
5. Chodak Gerald, Prostate cancer: epidemiology, screening and biomarkers, *Reviews in Urology*, Vol 8, Suppl2, S3-S8, 2006
6. Shah R.B., M. Zhou, M. LeBlanc, M. Snyder and M.A. Rubin, Comparison of the basal cell-specific markers, 34betaE12 and p63 in the diagnosis of prostate cancer, *Am J Surg Pathol* 26 (2002), pp. 1161-1168.
7. Boccon-Gibod Liliane et al., Handling and Pathology Reporting of Prostate Biopsies, *European Urology*, Volume 46 Issue 2, Agosto 2004, Pág 177-181.
8. czkowski A. Kenneth, MacLennan G, Bostwick D, Atypical Small Acinar Proliferation Suspicious for Malignancy in Prostate Needle Byopsies, *The American journal of Surgical Pathology*, 21(12) 1489-1495, 1997
9. Hameed Omar and Humphrey, Immunohistochemistry in the diagnosis of minimal prostate cancer *Current diagnostic pathology*, Vol 12, Issue 4, Agosto 2006, Pág. 279-291
10. Shah Rajal, Lakshmi P Kunju , Shen R, Leblanc M, Zhou M, Rubin M Usefulness of Basal Cell Cocktail (34BE12 + P63) in the Diagnosis of Atypical Prostate Glandular Proliferation, *American Journal of Clinical Pathology*, 2004; 122(4): 517-523
11. Collins Anne T. AND Maitland Norman J, Prostate cancer stem cells, *European journal of cancer*, Vol 42, Issue 9, Junio 2006, Pág 1213-1218.
12. Hedrick Lora, Epstein J, Use of Keratin 903 as an Adjunct in the Diagnosis of Prostate Carcinoma, *The American Journal of Surgical Pathology*, 13(5): 389-396, 1989
13. Epstein J, Yang X, *Prostate Biopsy Interpretation*, 2002,
14. Yan Gao Man, C Zhao, X Chen, A subset of prostate basal cell lacks the expression of corresponding phenotyping markers, *Pathology Research and Practice* 202 (2006) 651-662
15. Algaba F, Epstein JI, Aldape HC, et al., Assessment of prostate carcinoma in core needle biopsy—definition of minimal criteria for the diagnosis of cancer in biopsy material. *Cancer* 1996; 78:376-8
16. Montironi Rodolfo et al., 2005 Update on Pathology of Prostate Biopsies with Cancer, *European Urology*, Vol 49, Issue 3, Marzo 2006, pág 441-447.
17. Totten RS, Heinemann MW, Hudson PB, et al., Microscopic differential diagnosis of latent carcinoma of prostate. *Arch Pathol* 1953; 55:131-41.
18. Gaudin Paul, Epstein J, Adenosis of the Prostate, *The American Journal of Surgical Pathology* 18 (9) 863-870, 1994
19. Varma M, Jasani B, Diagnostic utility of immunohistochemistry in morphologically difficult prostate cancer: review of current literature, *Histopathology* 2005, 47, 1-16
20. Hameed O, Humphrey PA. Immunohistochemistry in diagnostic surgical pathology of the prostate. *Semin Diagn Pathol* 2005 ; 2:88-104
21. Zhou Ming, Magi-Galluzi C, Epstein J, Prostate basal cell lesions can be negative for Basal cell Keratins, *Analytical and Quantitative Cytology and Histology*, Vol 8, Number 3, June 2006
22. Brawer M.K., D.M. Peehl, T.A. Stamey and D.G. Bostwick, Keratin immunoreactivity in the benign and neoplastic human prostate, *Cancer Res* 45 (1985), pp. 3663-3667.
23. Goldstein N.S., J. Underhill, J. Roszka and J.S. Neill, Cytokeratin 34betaE-12 immunoreactivity in benign prostatic acini: quantitation, pattern assessment, and electron microscopic study, *Am J Clin Pathol* 112 (1999), pp. 69-74.
24. Gown A.M. and A.M. Vogel, Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins, II: distribution of filament proteins in normal human tissues, *Am J Pathol* 114 (1984), pp. 309-321.
25. Helpap B, J. Kollermann and U. Oehler, Limiting the diagnosis of atypical small glandular proliferations in needle biopsies of the prostate by the use of immunohistochemistry, *J Pathol* 193 (2001), pp. 350-353.
26. Kahane H., J.W. Sharp, G.B. Shuman, G. Dasilva and J.I. Epstein, Utilization of high molecular weight cytokeratin on prostate needle biopsies in an independent laboratory, *Urology* 45 (1995), pp. 981-986.
27. Okada H., A. Tsubura and A. Okamura et al., Keratin profiles in normal/hyperplastic prostates and prostate carcinoma, *Virchows Arch A: Pathol Anat Histopathol* 421 (1992), pp. 157-161.
28. Samaratunga H. and M. Singh, Distribution pattern of basal cells detected by cytokeratin 34betaE12 in primary prostatic duct adenocarcinoma, *Am J Surg Pathol* 21 (1997), pp. 435-440
29. Shah I.A., M.O. Schlageter, P. Stinnett and J. Lechago, Cytokeratin immunohistochemistry as a diagnostic tool for distinguishing malignant from benign epithelial lesions of the prostate, *Mod Pathol* 4 (1991), pp. 220-224.

30. Shin M., M.Q. Fujita, Y. Yasunaga, T. Miki, A. Okuyama and K. Aozasa, Utility of immunohistochemical detection of high molecular weight cytokeratin for differential diagnosis of proliferative conditions of the prostate, *Int J Urol* 5 (1998), pp. 237–242.
31. Wojno K.J. and J.I. Epstein, The utility of basal cell-specific anti-cytokeratin antibody (34betaE12) in the diagnosis of prostate cancer: a review of 228 cases, *Am J Surg Pathol* 19 (1995), pp. 251–260.
32. Zhou M., Z. Jiang and J.I. Epstein, Expression and diagnostic utility of alpha-methylacyl-CoA-racemase (P504S) in foamy gland and pseudohyperplastic prostate cancer, *Am J Surg Pathol* 27 (2003), pp. 772–778
33. Davis L.D, W. Zhang and A. Merseburger et al., p63 expression profile in normal and malignant prostate epithelial cells, *Anticancer Res* 22 (2002), pp. 3819–3825
34. Molinie V., G. Fromont and M. Sibony et al., Diagnostic utility of a p63 alpha-methyl-CoA-racemase (p504s) cocktail in atypical foci in the prostate, *Mod Pathol* 17 (2004), pp. 1180–1190
35. Weinstein M.H., S. Signoretti and M. Loda, Diagnostic utility of immunohistochemical staining for p63, a sensitive marker of prostatic basal cells, *Mod Pathol* 15 (2002), pp. 1302–1308
36. Wu H.H., O. Lapkus and M. Corbin, Comparison of 34betaE12 and P63 in 100 consecutive prostate carcinoma diagnosed by needle biopsies, *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 12 (2004), pp. 285–289.
37. Zhou Ming, Shah R, Shen R, Rubin M, Basal Cell Cocktail (34BE12+P63) improves the detection of Prostate Basal Cells, *The American Journal of Surgical Pathology* 27(3) 365-371, 2003
38. Ute M. Moll et al., p53, p63 and p73 – solos, alliances and feuds among family members , *Biochimica et Biophysica acta*, volume1552 issue 2:47-59 december 2001
39. Ferdinandusse S, S. Denis, L. IJlst, G. Dacremont, H.R. Waterham and R.J. Wanders, Subcellular localization and physiological role of alpha-methylacyl-CoA racemase, *J Lipid Res* 41 (2000), pp. 1890–1896.
40. Xu J, J.A. Stolk and X. Zhang et al., Identification of differentially expressed genes in human prostate cancer using subtraction and microarray, *Cancer Res* 60 (2000), pp. 1677–1682.
41. Zhou M., A.M. Chinnaiyan, C.G. Kleer, P.C. Lucas and M.A. Rubin, Alpha-methylacyl-coA racemase: a novel tumor marker over-expressed in several human cancers and their precursor lesions, *Am J Surg Pathol* 26 (2002), pp. 926–931.
42. Beach R, A.M. Gown and M.N. De Peralta-Venturina et al., P504S immunohistochemical detection in 405 prostatic specimens including 376 18-gauge needle biopsies, *Am J Surg Pathol* 26 (2002), pp. 1588–1596
43. Farinola M.A., and J.I. Epstein, Utility of immunohistochemistry for alpha-methylacyl-CoA racemase in distinguishing atrophic prostate cancer from benign atrophy, *Hum Pathol* 35 (2004), pp. 1272–1278
44. Jiang Z., C. Li, A. Fischer, K. Dresser and B.A. Woda, Using an AMACR (P504S)/34betaE12/p63 cocktail for the detection of small focal prostate carcinoma in needle biopsy specimens, *Am J Clin Pathol* 123 (2005), pp. 231–236
45. Jiang Z., C.L. Wu and B.A. Woda 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* 26 (2002), pp. 1169–1174
46. Kunju L.P, M.A. Rubin, A.M. Chinnaiyan and R.B. Shah, Diagnostic usefulness of monoclonal antibody P504S in the workup of atypical prostatic glandular proliferations, *Am J Clin Pathol* 120 (2003), pp. 737-745..
47. Magi-Galluzzi C., J. Luo, W.B. Isaacs, J.L. Hicks, A.M. de Marzo and J.I. Epstein, Alpha-methylacyl-CoA racemase: a variably sensitive immunohistochemical marker for the diagnosis of small prostate cancer foci on needle biopsy, *Am J Surg Pathol* 27 (2003), pp. 1128–1133
48. Browne T.J., M.S. Hirsch, G. Brodsky, W.R. Welch, M.F. Loda and M.A. Rubin, Prospective evaluation of AMACR (P504S) and basal cell markers in the assessment of routine prostate needle biopsy specimens, *Hum Pathol* 35 (2004), pp. 1462–1468
49. Zhou M., H. Aydin, H. Kanane and J.I. Epstein, 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* 28 (2004), pp. 239–243
50. Andres M.W., M.A. Amin, T. Freidman, R. Malhotra and A.R. Prasad, Characterization of small foci of atypical glands in prostate needle biopsies using double immunostaining with polyclonal α -methylacyl-CoA racemase and high molecular weight cytokeratin, *Mod Pathol* 17 (2004), p. 138A.
51. Halushka Marc K. MD, PhD, Negative 34 β E12 staining in a small focus of atypical glands on prostate needle biopsy: a follow-up study of 332 cases , *Human Pathology*, Vol 35, Issue 1, Enero 2004, pág 43-46
52. Jiang Z., C.L. Wu and B.A. Woda et al., Alpha-methylacyl-CoA racemase: a multi-institutional study of a new prostate cancer marker, *Histopathology* 45 (2004), pp. 218–225.
53. 52. Jiang Z., B.A. Woda and K.L. Rock et al., P504S: a new molecular marker for the detection of prostate carcinoma, *Am J Surg Pathol* 25 (2001), pp. 1397–1404
54. 54. Ming-Tse Sung MD et al., α -methylacyl-CoA racemase (P504S)/34 β E12/p63 triple cocktail stain in prostatic adenocarcinoma after hormonal therapy, *Human Pathology*, Vol 38, Issue 2,

- Febrero 2007, Pág 332-341.
55. Jiang Z., K.A. Iczkowski, B.A. Woda, M. Tretiakova and X.J. Yang, P504S immunostaining boosts diagnostic resolution of "suspicious" foci in prostatic needle biopsy specimens, *Am J Clin Pathol* 121 (2004), pp. 99-107
 56. Varma M, M.D. Linden and M.B. Amin, Effect of formalin fixation and epitope retrieval techniques on antibody 34betaE12 immunostaining of prostatic tissues, *Mod Pathol* 12 (1999), pp. 472-478
 57. Green R, and Epstein J, Use of intervening unstained slides for immunohistochemical stains for high molecular weight cytokeratin on prostate needle biopsies,,*Am J Surg Pathol* 1999,23 (5):567-570
 58. Van Der Kwast et al, Variability in Diagnostic Opinion Among Pathologists for Single Small Atypical Foci in Prostate Biopsies, (*Am J Surg Pathol* 2010;34:169-177
 59. O'Malley F.P., D.J. Grignon and D.T. Shum, Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland, *Virchows Arch A: Pathol Anat Histopathol* 417 (1990), pp. 191-196.



FACULTAD DE MEDICINA

VISIÓN

La visión de la Facultad de Medicina de la Universidad de Cartagena, al año 2014 es posicionarse como una de las mejores alternativas en la formación de médicos y demás recurso humano en salud, manteniendo para ello una estructura administrativa y un currículo flexible al ritmo de la vida, para que el proceso enseñanza-aprendizaje sea el más grande exponente de nuestra tradición.

MISIÓN

La misión de la Facultad de Medicina de la Universidad de Cartagena, líder desde su fundación en 1827, es formar recurso humano en salud, a nivel de Pregrado, Postgrados Médico Quirúrgicos, Maestrías y Doctorados, con enfoque de educación integral en el desarrollo de competencias para generar y aplicar conocimientos, en un contexto ético-humanístico, orientado hacia una cultura investigativa y un enfoque biosociosociospiritual, al proceso salud-enfermedad del individuo, la familia y la comunidad; para que nuestro egresado lidere procesos proactivos dirigidos al tema de salud, con un claro sentido de la ética y responsabilidad social.

VALORES

- Responsabilidad
- Trascendencia
- Honestidad
- Solidaridad
- Respeto
- Espiritualidad
- Servicio

PRINCIPIOS

- Calidad
- Equidad
- Universalidad
- Pertinencia
- Relevancia
- Transparencia
- Autonomía