



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
CENTRO MEDICO NACIONAL 20 DE NOVIEMBRE
I.S.S.S.T.E

Análisis semicuantitativo de la diferenciación
neuroendocrina en adenocarcinoma acinar de
próstata y su relación con el índice histológico de
Gleason.

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN ANATOMÍA
PATOLÓGICA

PRESENTA:

DR. AURELIANO MAURICIO PLÁCIDO MÉNDEZ.



MÉXICO. D.F.

AGOSTO 2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**CENTRO MEDICO NACIONAL 20 DE NOVIEMBRE
I.S.S.S.T.E**

**Análisis semicuantitativo de la diferenciación neuroendocrina
en adenocarcinoma acinar de próstata y su relación con el
índice histológico de Gleason.**

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN ANATOMÍA PATOLÓGICA**

PRESENTA:

DR. AURELIANO MAURICIO PLÁCIDO MÉNDEZ.

MÉXICO. D.F.

AGOSTO 2007

REGISTRO DE PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN NÚMERO: 226.2207.

Dr. Muricio Di Silvio López.
Subdirector de Educación Médica e Investigación.

Dra. María Teresa Gorráez de la Mora.
Titular del curso de la especialidad en Anatomía Patológica.
Jefe del servicio de Anatomía Patológica.

Dra. Elvira Olivia Bieletto Trejo.
Tutor y asesora de tesis.
Médico adscrito al Servicio de Anatomía Patológica.

Dr. Aureliano Mauricio Plácido Méndez.
Autor.

AGRADECIMIENTOS.

**A mi madre y a mi padre.
Que siempre estarán conmigo y a quienes debo todo lo que soy.**

**A mi esposa Gina y a mi hijo Mauricio.
Por su cariño y apoyo incondicional.**

**A mis hermanos Selene, Luis y Jesús.
A la familia Plácido y a la familia Méndez.
Por el cariño que me tienen.**

**A la Dra. Maria Teresa Gorráez de la Mora.
Por su profesionalismo, comprensión y compromiso con los jóvenes.**

**A la Dra. Elvira Olivia Bieletto Trejo.
Por su asesoría en la realización de este trabajo.**

**A el Lic. Jorge Galicia y a la Lic. Celia Plácido.
Por su apoyo en el análisis estadístico de este trabajo.**

INDICE.

RESUMEN	6
ANTECEDENTES	7
MARCO TEÓRICO	9
HIPOTESIS	10
OBJETIVOS	11
JUSTIFICACION	12
MATERIAL	13
METODOLOGÍA	14
CRITERIOS DE INCLUSION.	15
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	15
CRITERIOS DE ELIMINACIÓN	15
RESULTADOS	16
ANALISIS ESTADISTICO	19
OTROS RESULTADOS	21
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	22
ANEXO	23
BIBLIOGRAFIA	28

RESUMEN.

Objetivo: Establecer si en el adenocarcinoma acinar de próstata el porcentaje de células con diferenciación neuroendocrina es directamente proporcional al grado histológico del índice de Gleason.

Métodos: Se analizó la expresión de Cromogranina A, como marcador de diferenciación neuroendocrina en 30 casos de adenocarcinoma acinar de próstata, en tejido de prostatectomía radical, mediante pruebas de inmunohistoquímica y se evaluó la concordancia entre la positividad de esta prueba y el grado histológico del índice de Gleason.

Resultados: De los 30 casos, el 30% expresaron Cromogranina A, y la frecuencia con la que se expresó en cada grado histológico fue: grado bajo 0%, grado intermedio bajo 9.1%, grado intermedio alto 43.8% y grado alto 50%.

Conclusiones: En el adenocarcinoma acinar de próstata la presencia de diferenciación neuroendocrina se observa en mayor cantidad en las zonas con grado histológico más alto según el índice de Gleason, por lo que se sugiere sea un parámetro para medir riesgo y pronóstico.

MARCO TEORICO.

¿Existe alguna relación entre el porcentaje de diferenciación neuroendocrina del adenocarcinoma acinar de próstata y el grado de histológico, medido por el índice histológico de Gleason?

HIPOTESIS.

En el adenocarcinoma acinar de próstata la presencia de diferenciación neuroendocrina se observa en mayor cantidad en las zonas con grado histológico más alto según el índice de Gleason.

OBJETIVOS.

Principal: Establecer si en el adenocarcinoma acinar de próstata el porcentaje de células con diferenciación neuroendocrina es directamente proporcional al grado histológico del índice de Gleason.

Secundarios: Correlacionar la diferenciación neuroendocrina con el riesgo de presentar metástasis ganglionares.

JUSTIFICACIÓN.

Actualmente el carcinoma de próstata representa la cuarta neoplasia más frecuente a nivel mundial, en nuestro país es la neoplasia más frecuente en hombres y la primera causa de muerte en esta población.

El grado de diferenciación, que se encuentra determinado por el índice histológico de Gleason, marca la pauta terapéutica y pronóstica para estos tumores, sin embargo existen otros factores histológicos, como lo es la diferenciación neuroendocrina, que parecen expresarse en las zonas de más alto grado histológico según dicho índice, por lo que en su caso se podría manejar como un factor predictivo más, que amplíe el margen de las decisiones terapéuticas.

MATERIAL.

Material de laboratorio.

1. Porta objetos y cubreobjetos.
2. Olla de presión.
3. Dako Autostainer.
4. Monoclonal mouse anti-human Chromogranin A, Clone DAK-A3, Dilución 1:100 en 30 min.
5. Medio recuperador.
6. Tris burffer.
7. Kit de visualizacion Biotinylated Lint LSAB2.
8. Burffer DAB-Substrat.
9. Medio de contraste, Hematoxilina de Harris.

Nota: El laboratorio de inmunohistoquímica cuenta con el equipo y material necesario para este estudio.

METODOLOGÍA.

1. Se revisaron la totalidad de las distintas secciones de los adenocarcinomas acinares, que fueron tratados mediante prostatectomía radical, en ellas se identificó el patrón de Gleason predominante, y el patrón de mayor grado, de cuya suma se obtuvo el índice de Gleason, posteriormente se agruparon en alguna de las 4 categorías que considera este índice, denominándolos como, A al grupo de tumores de bajo grado, B al grupo de tumores de grado intermedio bajo, C al grupo de tumores de grado intermedio alto y D al grupo de tumores de grado alto.
2. Se eligió de cada tumor, una sección, que representara mejor el índice de Gleason asignado a la totalidad del tumor, y que tuviera tejido suficiente para analizarse mediante la técnica de inmunohistoquímica, dicha cantidad de neoplasia correspondió a un mínimo de 10 campos de alto poder de microscopio fotonico.
3. En estas secciones, se realizaron las pruebas de inmunohistoquímica con Cromogranina A, considerándose positivas aquellas en las que se expresara este marcador en el 30% o más del tejido neoplásico, de uno o de los dos patrones histológicos que forman el índice de Gleason.
4. La información obtenida se analizó con métodos estadísticos, especificados más adelante, para establecer si existe mayor porcentaje de expresión de Cromogranina A en los casos con mayor índice de Gleason.
5. Paralelamente al estudio principal, se revisó la totalidad de las secciones histológicas de las 30 linfadenectomías bilaterales complementarias a las prostatectomías radicales, buscando intencionadamente la presencia de metástasis, los casos encontrados se sometieron a análisis por

inmunohistoquímica con Cromogranina A para determinar el porcentaje de expresión.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

1. Casos de pacientes con adenocarcinoma acinar de próstata sometidos a prostatectomía radical y linfadenectomía bilateral, en CMN 20 de noviembre.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

1. Casos en los que no exista tumor residual en el material de prostatectomía radical.
2. Casos en los que no se realizó linfadenectomía bilateral.
3. Casos de neoplasias distintas al adenocarcinoma acinar.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN.

1. Casos en que el material presentaba alteraciones técnicas que impedían su adecuado proceso para el estudio.

RESULTADOS.

Se analizaron un total de 30 muestras de casos de pacientes con adenocarcinoma acinar, obtenidos por prostatectomía radical, a los cuales se les asignó un valor de acuerdo con el índice histológico de Gleason, para agruparlos en alguna de las 4 categorías que considera este índice, denominándolos como, A al grupo de tumores de bajo grado, B al grupo de tumores de grado intermedio bajo, C al grupo de tumores de grado intermedio alto y D al grupo de tumores de grado alto. Además se registró cuáles de ellos resultaron positivos a Cromogranina A mediante pruebas de inmunohistoquímica. Los datos se concentraron en la tabla 1.

CASOS	GRUPO	CROMOGRANINA A
1	A	negativo
2	B	negativo
3	B	negativo
4	B	negativo
5	B	negativo
6	B	negativo
7	B	negativo
8	B	negativo
9	B	negativo
10	B	negativo
11	B	negativo
12	B	positivo
13	C	negativo
14	C	negativo
15	C	negativo
16	C	negativo
17	C	negativo
18	C	negativo
19	C	negativo
20	C	negativo
21	C	negativo
22	C	positivo
23	C	positivo
24	C	positivo
25	C	positivo
26	C	positivo
27	C	positivo
28	C	positivo
29	D	negativo
30	D	positivo

TABLA 1.

Concentrado general de datos.

A. Índice de Gleason bajo.

B. Índice de Gleason intermedio bajo.

C. Índice de Gleason intermedio alto.

D. Índice de Gleason alto.

Los datos se ordenaron en grupos y se calculó el porcentaje de células positivas con Cromogranina A, del total de cada grupo y del total de los 30 casos, de los que se obtuvieron las tablas 2, 3 y 4.

GRUPO	CROMOGRANINA NEGATIVA	CROMOGRANINA POSITIVA	TOTAL
A	1	0	1
B	10	1	11
C	9	7	16
D	1	1	2
TOTAL	21	9	30

TABLA 2. Datos ordenados por grupo y número de casos.

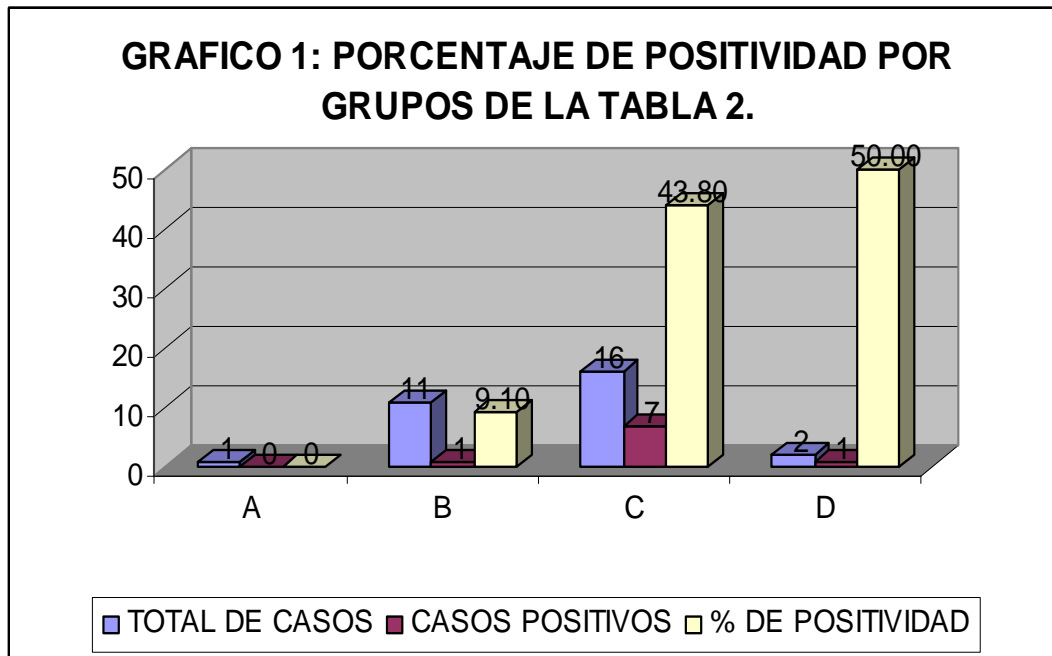
GRUPO	CROMOGRANINA NEGATIVA	CROMOGRANINA POSITIVA	TOTAL %
A	100.0%	0.0%	100.0%
B	90.9%	9.1%	100.0%
C	56.3%	43.8%	100.0%
D	50.0%	50.0%	100.0%
TOTAL	70%	30%	100.0%

TABLA 3. Datos ordenados por porcentaje de cada grupo.

GRUPO	CROMOGRANINA NEGATIVA	CROMOGRANINA POSITIVA	% TOTAL DE LOS 30 CASOS
A	4.8%	0.0%	3.3%
B	47.6%	11.1%	36.7%
C	42.9%	77.8%	53.3%
D	4.8%	11.1%	6.7%
TOTAL	100.0%	100.0%	100%

TABLA 4. Datos ordenados por porcentaje de positividad y negatividad por grupos.

Con los porcentajes de positividad de la expresión de Cromogranina A para cada grupo se elaboro el grafico 1, el cual muestra una tendencia ascendente conforme aumenta el índice de Gleason.



ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Para el análisis estadístico se utilizaron los software:

- Epi info 6.04.
- Primer biostatistics 3.07

Métodos matemáticos para el análisis de datos.

1. Estadística descriptiva.

- Tablas de frecuencia y contingencia.
- Medidas de resumen estadístico.
- Gráficas de barras.

2. Estadística inferencial.

- Construcción de intervalos de confianza para proporción poblacional.
Método binomial exacto.
- Método para calcular la diferencia entre proporciones χ^2 .

Dada la tendencia ascendente de los datos ilustrados en el gráfico 1, se construyeron intervalos de confianza para cada uno de los 4 grupos (A, B, C y D), tomando 30 como número total de casos y así determinar el valor de cada dato, obteniendo:

Grupo A. Método binomial exacto 95% IC (0.0000-11.5703).

Grupo B. Método binomial exacto 95% IC (0.0844-17.2169).

Grupo C. Método binomial exacto 95% IC (9.9338-42.2837).

Grupo D. Método binomial exacto 95% IC (0.0844-17.2169).

Es decir que para cada grupo se calculó el intervalo de porcentajes en los que resultaría positivo cada uno de ellos, con una confiabilidad del 95% en cada caso.

Para calcular la diferencia entre proporciones, o entre los porcentajes de positividad de cada grupo, se utilizó la prueba de χ^2 , sin embargo dado que el grupo A y el grupo D contaban con solo 1 y 2 casos respectivamente, restarían importancia estadística a la prueba de ser considerados individualmente, por lo que los datos se reagruparon en 2 grupos principales, a los que llamamos theta1 (A o B) y theta2 (C o D), lo cual se justifica considerando que los grupos A y B tuvieron un comportamiento porcentual semejante entre si, y los grupos C y D también, con lo que el análisis arrojó lo siguiente:

GRUPO	POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
THETA 1 (A o B)	1	11	12 (40%)
THETA 2 (C o D)	8	10	18 (60%)
TOTAL	9	21	30 (100%)

TABLA 5. Datos ordenados por grupos y casos positivos y negativos.

Datos del test de hipótesis usados.

Hipótesis nula= $0.2 = 20\% = \text{Theta } 2 - \text{Theta } 1$

Hipótesis alterna: $\text{no} = 0.2$

Valor de $Z = -3.16228$

Valor de $p = 0.00156553$

Valor para rechazar la hipótesis nula por $\alpha = 0.05$

El resultado del análisis fue:

Calculado con un IC de 95%, la hipótesis nula (0.2), fue aceptada.

Con una $p = (-0.447918 \text{ y } 0.0479185)$.

Lo que significa que es posible afirmar, que la diferencia entre el porcentaje de positividad entre los grupos (A y B) y (C y D), es por lo menos de 20% entre si, con una confiabilidad mayor al 95%.

OTROS RESULTADOS.

Como estudio adicional se revisaron un total de 30 linfadenectomias bilaterales, que corresponden a los casos de prostatectomía radical, en los que se encontró un total de 4 ganglios linfáticos con metástasis, a los que se realizaron pruebas de inmunohistoquímica con Antígeno Prostático Específico (APE) y Cromogranina A en solo 2 de ellos, ya que en el resto por ser micrometastasis el tejido no fue suficiente para las pruebas, de los 2 casos mencionados, los 2 (100%) fueron positivos a APE y 1 (50%) fue positivo a Cromogranina A. Estos resultados no fueron sujetos de análisis estadístico, por ser una muestra pequeña y no representativa.

CASOS	CROMOGRANINA POSITIVA	CROMOGRANINA NEGATIVA	*GRUPO HISTOLÓGICO. +/- CROMOGRANINA	TOTAL
1	1	0	D (+)	1
2	0	1	C (-)	1
TOTAL	1	1		2

TABLA 6. Datos ordenados por casos positivos y negativos.

* Grupo histológico +/- a Cromogranina A en el material de prostatectomía correspondiente a las linfadenectomias.

Ambos casos se presentaron en los grupos C y D, antes agrupados como THETA 2, con alto grado histológico, lo cual aportaría un valor adicional aunque no concluyente en este estudio, para afirmar que los tumores con mayor grado histológico, presentan más frecuentemente metástasis y diferenciación neuroendocrina, sin embargo para establecer si estos dos factores se relacionan entre sí, el estudio se debe ampliar.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.

Nuestra hipótesis fue aceptada, en el adenocarcinoma acinar de próstata la presencia de diferenciación neuroendocrina se observa en mayor cantidad en las zonas con grado histológico más alto según el índice de Gleason.

Con los resultados antes analizados, es posible determinar el comportamiento de los porcentajes de positividad de los grupos (A o B) y (C o D), entre los cuales existe una diferencia constante de 20% en sentido ascendente hacia los mayores grados histológicos según el índice de Gleason, calculada con un intervalo de confianza del 95%.

Por lo tanto se infiere que la diferenciación neuroendocrina en los adenocarcinomas acinares de próstata aumenta en forma proporcional al índice histológico de Gleason, por lo que este cambio en estos tumores debe de considerarse como un factor desfavorable en el pronóstico del paciente y ser tomado en cuenta como un parámetro de apoyo en el margen de las decisiones terapéuticas para cada caso.

Si bien solo se realizaron pruebas de inmunohistoquímica con Cromogranina A en dos de los ganglios linfáticos con micrometástasis, uno (50%) de los casos fue positivo para dicho marcador, por lo que se sugiere, pero no se concluye, que la diferenciación neuroendocrina en el adenocarcinoma acinar de próstata se relaciona con un mayor riesgo de presentar metástasis a ganglios regionales, lo cual resulta fundamental en la elección del tratamiento para los pacientes.

Finalmente se espera que el llevar estas aportaciones a la práctica, otorgue beneficios significativos a los pacientes, y sirva como base para ampliar este estudio, como podría ser, realizarlo en biopsias transrectales, lo cual significaría ampliar los beneficios antes

citados, otro estudio sugerido es someter a pruebas de inmunohistoquímica con Cromogranina A, a todas las metástasis ganglionares o a otros sitios.

ANEXO.

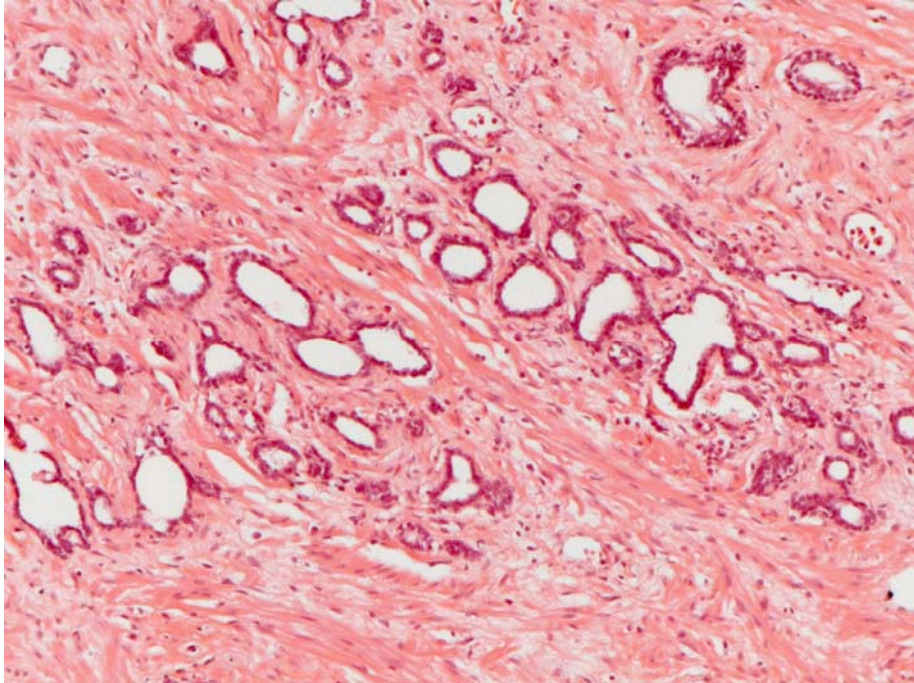


FIGURA 1. Adenocarcinoma acinar, Suma de Gleason de 4 (2+2), Grpo A (grado bajo).

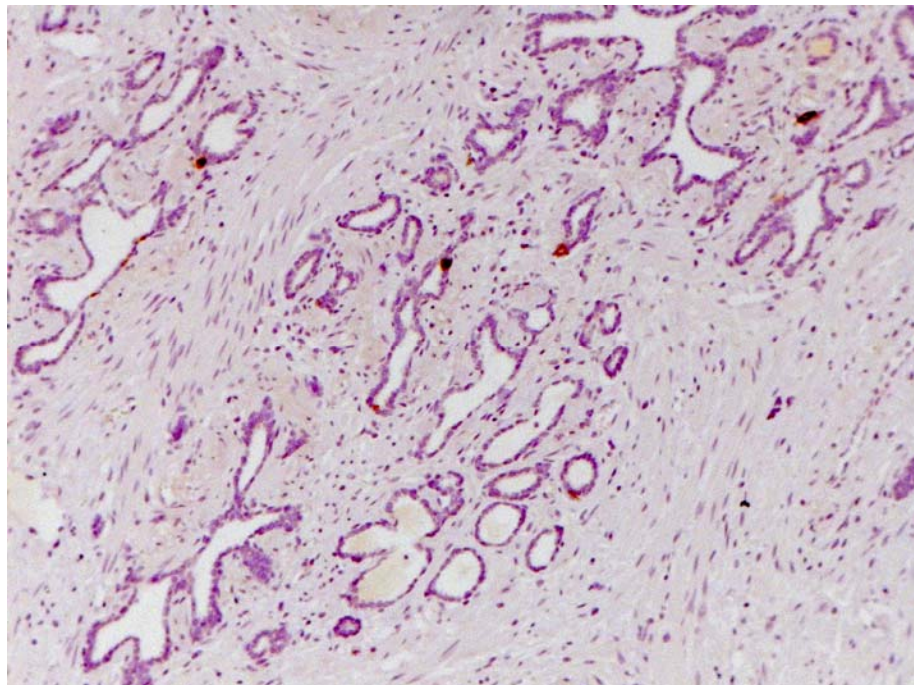


FIGURA 2. Adenocarcinoma acinar. Suma de Gleason 4 (2+2), Grupo A (grado bajo).

Estudio de inmunohistoquímica con Cromogranina A negativo.

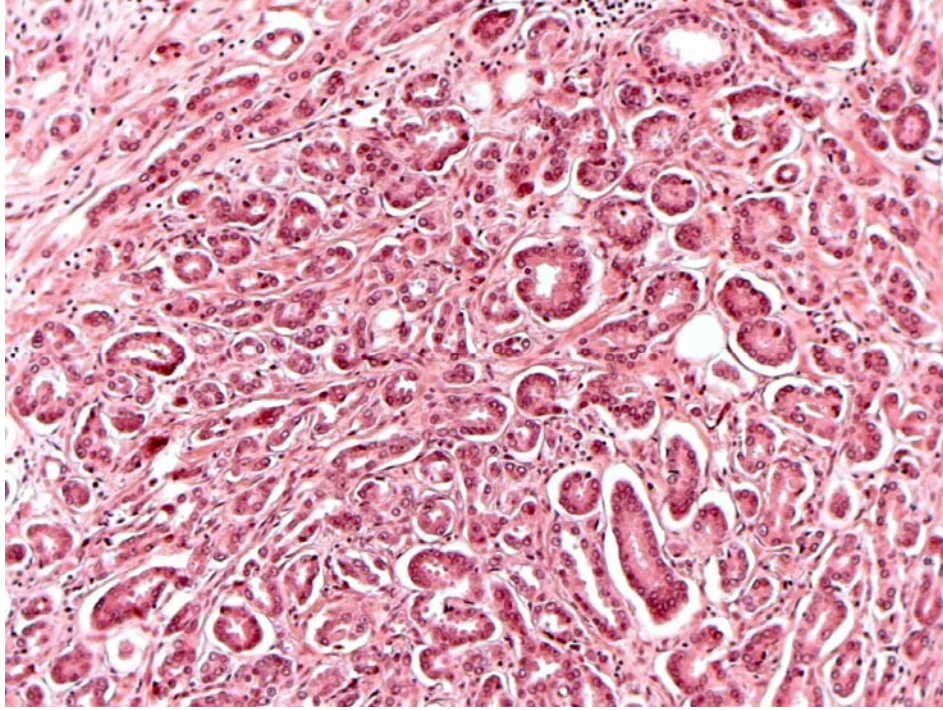


FIGURA 3. Adenocarcinoma acinar. Suma de Gleason de 6 (3+3), Grupo B (grado intermedio bajo).

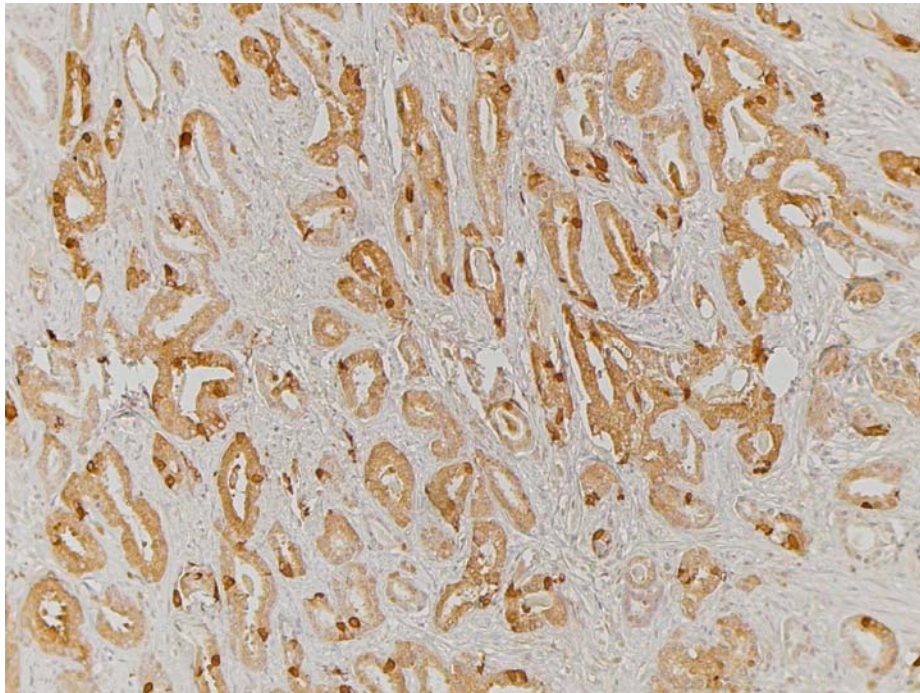


FIGURA 4. Adenocarcinoma acinar. Suma de Gleason de (3+3), Grupo B (grado intermedio bajo). Estudio de inmunohistoquímica con Cromogranina A positivo en el 40%.

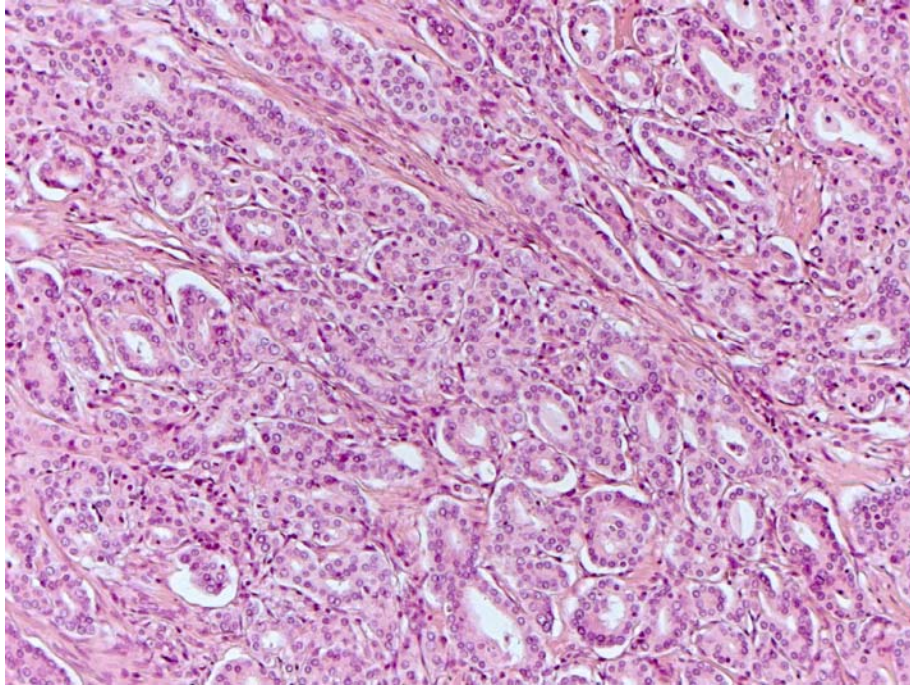


FIGURA 5. Adenocarcinoma acinar. Suma de Gleason de 7 (3+4). Grupo C (grado intermedio alto).

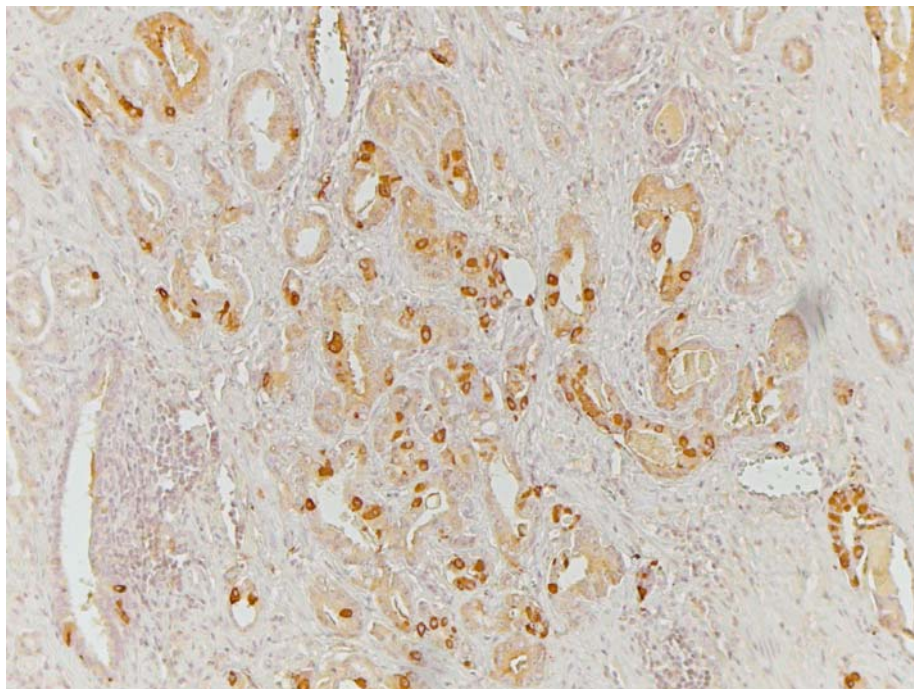


FIGURA 6. Adenocarcinoma acinar. Suma de Gleason de 7 (3+4), Grupo C (grado intermedio alto). Estudio de inmunohistoquímica con Cromogranina A positivo en el 50%.

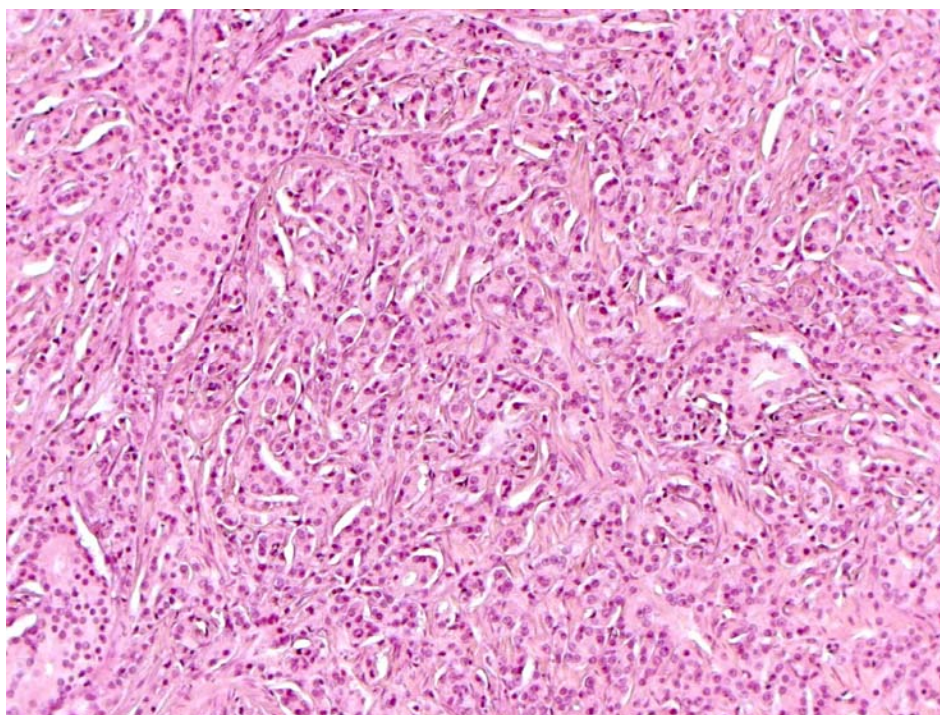


FIGURA 7. Adenocarcinoma acinar. Suma de Gleason de 9 (4+5). Grupo D (grado alto).

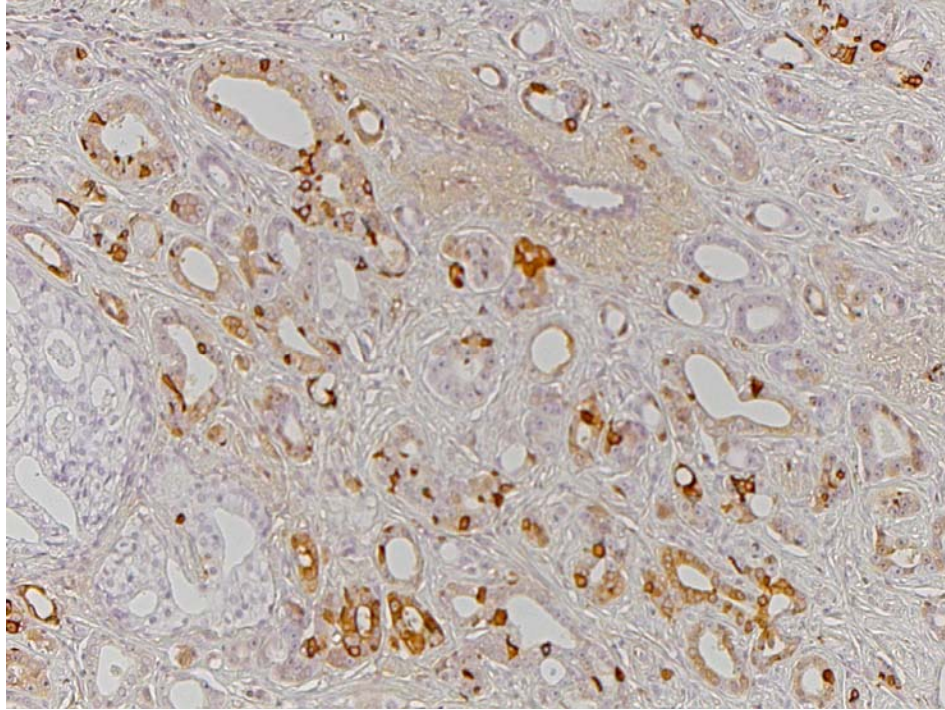


FIGURA 8. Adenocarcinoma acinar. Suma de Gleason de 9 (4+5). Grupo D (grado alto).
Estudio de inmunohistoquímica con Cromogranina A positivo en el 40%.

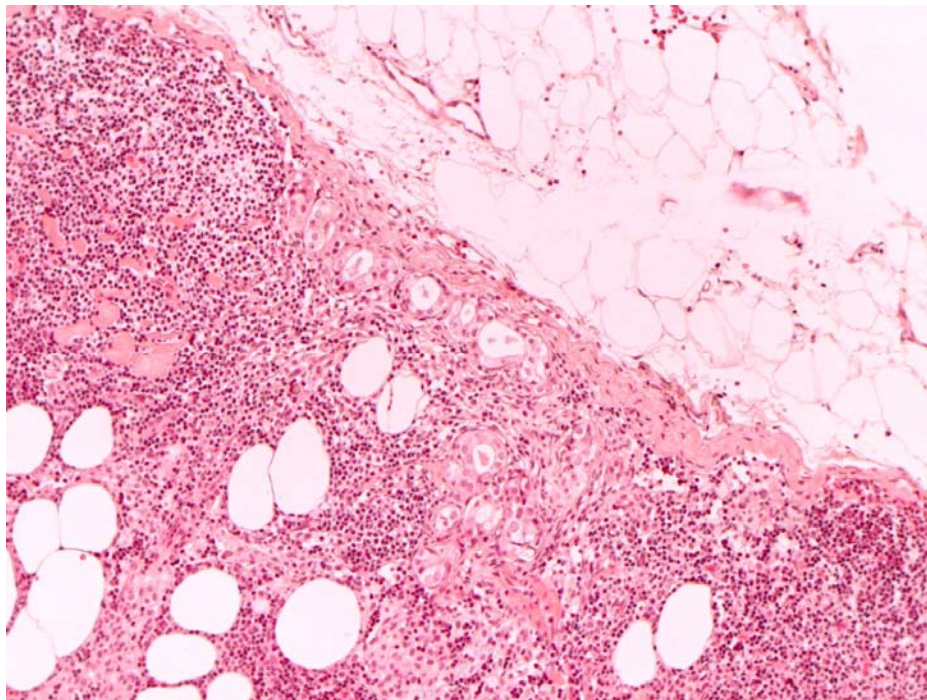


FIGURA 9. Micrometástasis de adenocarcinoma acinar en ganglio linfático.

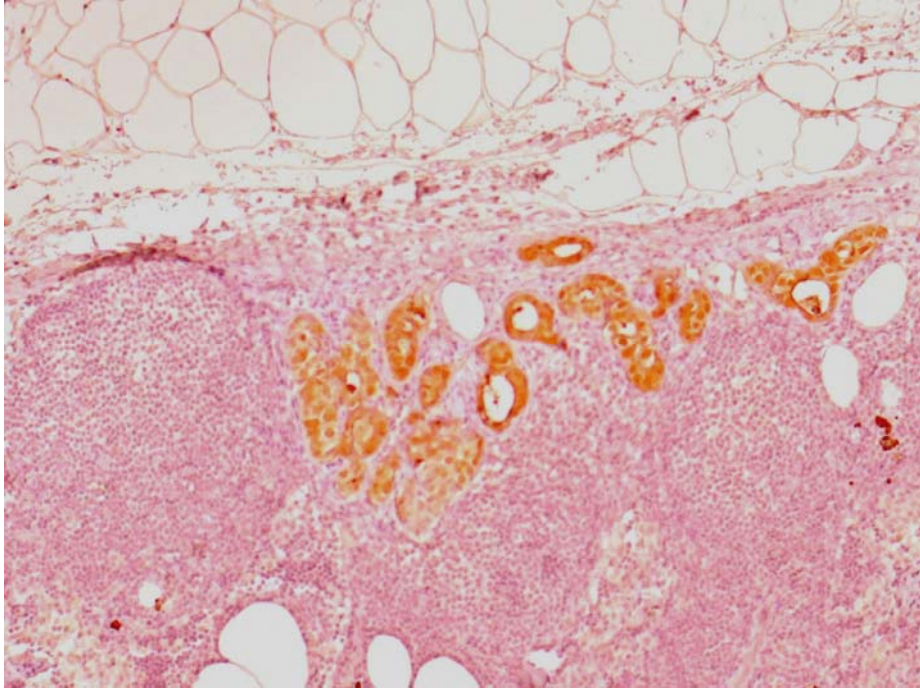


FIGURA 10. Micrometástasis de adenocarcinoma acinar en ganglio linfático Estudio de inmunohistoquímica con Cromogranina A positivo.

BIBLIOGRAFIA.

1. Ather M, Abbas F. Expression of pS2 in prostate cancer correlates grade and Chromogranin A expression but not with stage. *BMC Urology*. 2004; 4: 1-5.
2. Boswich D, Qian J. Neuroendocrine expresión in node positive prostatic cancer: Correlacion with systemic progression and patient survival. *The Journal of Urology*. 2002; 168: 1204-1211.
3. Dall M, True L. Differential expression of CD10 in prostate cancer and its clinical implication. *BMC Urology*. 2007; 7: 1-11.
4. Dunn T, Chen S. A novel role of myosin VI in human prostate cancer. *Am J Surg Pathol*. 2006; 169:1843-1854.
5. Epstein J, Allsbrook W. The 2005 international society of urological pathology (ISUP) consensus conference on Gleason grading of prostatic carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2005; 29: 1228-1242.
6. Evans J, Humphrey P. Large cell neuroendocrine carcinoma of prostatic, a clinicopathologic summary of 7 cases of a rare manifestation of advanced prostatic cancer. *Am J Surg Pathol*. 2006; 30: 684-693.
7. Gong J, Lee J. Attenuation of apoptosis by Chromogranin A induced Akt and surviving pathways in prostatic cancer cells. *Endocrinology*. 2007; 10: 1-46.
8. Islam a, Kato H. Prostatic adenocarcinoma with marked neuroendocrine differentiation. *International Journal of Urology*. 2001; 8: 412-415.
9. Marques R, Matsushita M. Prostate carcinoma with neuroendocrine differentiation: case report and literature review. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo*. 2001; 56: 153-158.
10. Noordzij M, Van Weerden W. Neuroendocrine differentiation in human prostate tumor models. *Am J Surg Pathol*. 1996; 149: 859-871.

11. Roudier M, True L. Metastatic conventional prostatic adenocarcinoma with diffuse Chromogranina A and androgen receptor positivity. *J Clin Pathol.* 2004; 57: 321-323.
12. Tamas E, Epstein J. Prognostic significance of Paneth Cell-like neuroendocrine differentiation in adenocarcinoma of the próstata. *Am J Surg Pathol.* 2006; 30: 980-985.
13. William L, Manson C. Neuroendocrine differentiation and prognostic in prostatic adenocarcinoma. *British Journal of Urology.* 1997; 80: 287-290.
14. Yu D, Hsieh D. The expression of neuropeptides in hyperplastic and malignant prostate tissue and its possible clinical implications. *The Journal of Urology.* 2001; 166: 871-875.