

Grado de diferenciación citológica e índice de malignidad por ADN en el adenocarcinoma de próstata.

J. AZÚA, J. VALLE Y P. ROMEO

Departamentos de Ciencias Morfológicas y Fisiología (Biofísica). Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza.

SUMMARY

Cytological differentiation grade and DNA-malignant index in prostatic adenocarcinoma.

Cytological differentiation grade by fine needle aspiration biopsy (FNAB) has been used during many years as a prognostic value in prostatic adenocarcinoma. The actual possibility to quantificate DNA in the cytological smears offers a new instrument to valuate tumoral behaviour.

In this work both procedures are compared, using each time the same smears and an static cytometry sistem to quantificate. Results are shown separatedly for the cytological study and to quantificate the DNA. In both cases, the share validity is statistically studied and posteriorly Kaplan-Meier's survival curves are obtained, been proved with Log-Rank's test the posibilidad to use it over the general population.

The obtained results for both studies are discussed and compared by Chi² test, and by sensibility values, specificity, positive and negative predictive value.

The discussion yields that DNA quantification has better results than cytological grade.

Key Words: FNAB. Prostate. DNA. Prognostic.

INTRODUCCION

La técnica principal para el diagnóstico del adenocarcinoma de próstata lo constituye el tacto rectal efectuado por el urólogo. La fiabilidad de esta exploración no necesita ya de estudios comparativos por haber sido demostrada ampliamente a lo largo de los años. Sin embargo, como todas las técnicas tiene sus limitaciones. Existe un porcentaje de casos en los que es imposible un diagnóstico diferencial entre benignidad o malignidad y no permite una valoración pronóstica en el caso de los adenocarcinomas. La introducción de la citología por punción transrectal con aguja fina vino a confirmar

morfológicamente el diagnóstico clínico y a complementar éste con una mayor precisión en el diagnóstico diferencial. La citología nos permite, además, efectuar una gradación citológica del adenocarcinoma (1-9). De la comparación entre los grados de diferenciación citológica del adenocarcinoma y la evolución clínica de los pacientes se llegó a una valoración pronóstica. Durante años esta gradación citológica ha sido determinante a la hora de instaurar el tratamiento, seleccionando los pacientes que podrían o no beneficiarse de una terapéutica quirúrgica agresiva, así como los casos en los que el tratamiento hormonal o el simple seguimiento podrían ser adecuados. Sin embargo, existían casos en los que la evolución del paciente no coincidía con la esperada. Especialmente en adenocarcinomas bien diferenciados que sin embargo tenían una evolución fatal en corto espacio de tiempo.

Correspondencia: Prof. Dr. Javier Azúa. Departamento de Ciencias Morfológicas. Facultad de Medicina. c/ Domingo Miral s/n. 50008 Zaragoza.

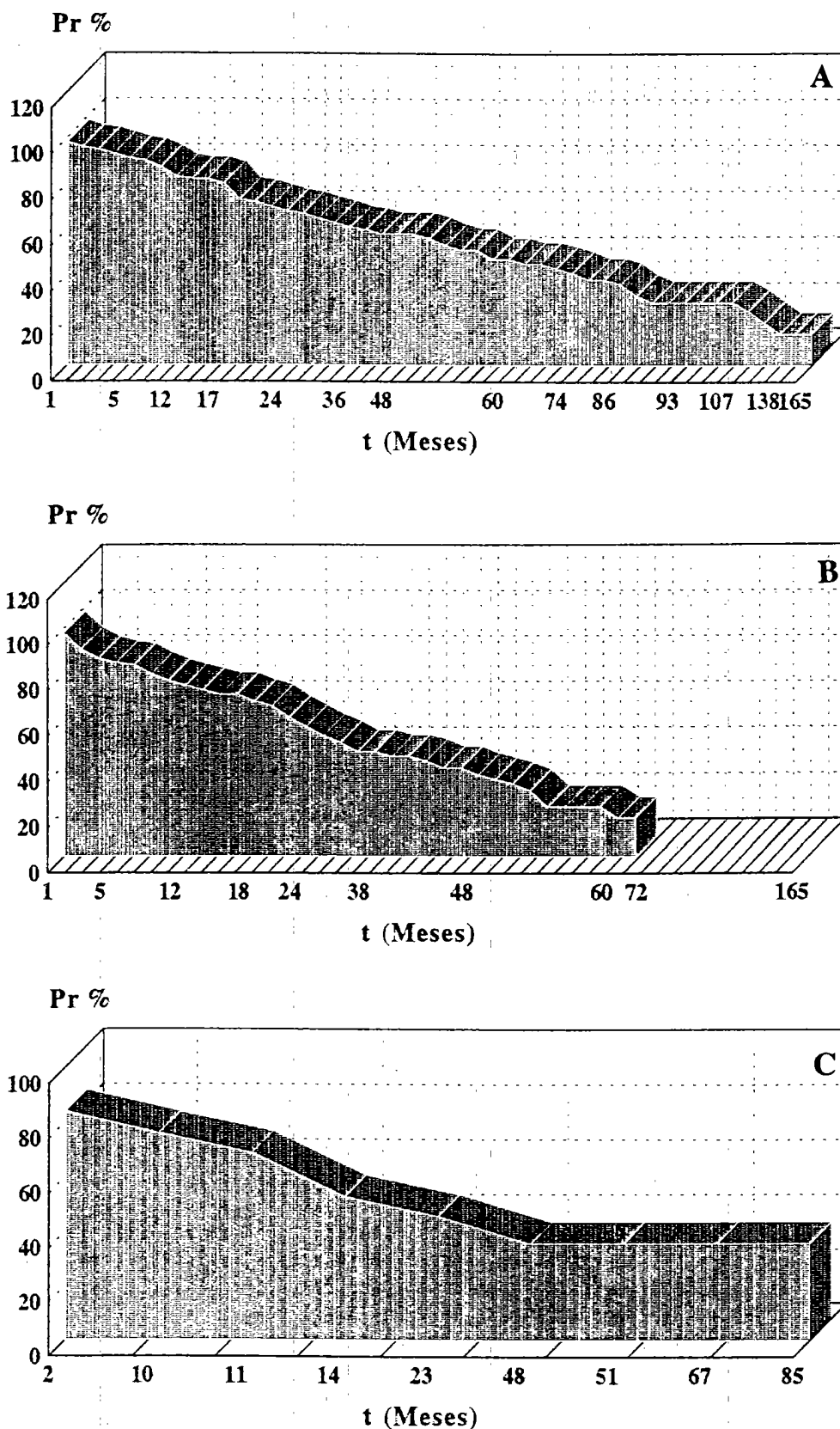


Figura 1. Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier referidas al grado citológico. A) Carcinomas bien diferenciados; B) Carcinomas moderadamente diferenciados; C) Carcinomas indiferenciados.

Tabla I. Resultados de la gradación citológica (total de pacientes)

	casos	%
Bien diferenciado	70	44,8
Moderadamente diferenciado	60	38,46
Indiferenciado	13	8,33
Sin clasificar	13	8,33
Total de casos:	156	

Con la llegada de las técnicas de cuantificación de ADN se obtienen resultados altamente significativos en cuanto a la evolución de estos pacientes, constituyendo en el momento actual el marcador pronóstico de mayor relevancia (10-30).

En el presente trabajo relacionamos el grado de diferenciación citológica con el de malignidad por cuantificación de ADN, tratando de comprobar si existe una relación significativa entre ellos.

MATERIAL Y METODO

La gradación citológica se ha efectuado en 156 pacientes, procedentes de las consultas de Urología del Hospital Clínico Universitario de Zaragoza, a los que se sometió a punción aspiración con aguja fina por vía transrectal. Los frotis fueron teñidos por los métodos de Papanicolau y panóptico rápido.

Para la cuantificación de ADN por citometría estática se seleccionaron 54 de estos pacientes. La reducción tan importante en el número ya ha sido comentada en trabajos anteriores no necesitando un análisis minucioso en esta ocasión, siendo suficiente comentar como causas principales: la homogeneidad necesaria de la muestra clínica y citológica, la imposibilidad de efectuar cuantificación en extendidos que no reúnen las condiciones necesarias y la no existencia de seguimiento clínico en algunos pacientes.

Los frotis seleccionados para cuantificación habían sido teñidos por el método de Papanicolau. Se procedió a desteñirlos y teñirlos de nuevo mediante hematoxilina progresiva (31). La cuantificación se llevó a cabo mediante el programa TEXCAN (32).

Tabla III. Valores asignados a cada tipo de histograma.

Tipo I	Escasa	44,44%
Tipo II	Moderada	5,56%
Tipo III	Marcada	44,44%
Tipo IV	Muy marcada	5,56%

Tabla II. Resultados de la gradación citológica (muestra).

	casos	%
Bien diferenciado	21	38,89
Moderadamente diferenciado	27	50
Indiferenciado	3	5,56
Sin clasificar	3	5,56
Total de casos:	54	

RESULTADOS

Con respecto a la gradación citológica podemos ver los resultados obtenidos en la tabla I, referidos al total de pacientes estudiados. La tabla II refleja los valores obtenidos en la muestra cuantificada.

Para conocer la relación existente entre el grado de diferenciación citológica y la supervivencia confeccionamos las tablas de Kaplan Meier. Consideramos el tiempo de supervivencia en meses, el número de fallecimientos imputables al tumor y los tiempos censurados, que corresponden a pacientes que, o no han fallecido todavía en el momento del estudio, o lo han hecho por causas distintas del tumor. Se ha calculado el Error Estándar (e.e.) de la Probabilidad Estimada (Pr) para cada tiempo (t) y vemos que el valor de $Pr \pm 2$ e.e. se mantiene entre los valores de 0 y +1, lo que da fiabilidad a los datos de probabilidad obtenidos.

En la figura 1 vemos las curvas de supervivencia correspondientes a cada uno de los grupos de diferenciación citológica.

Con respecto al estudio de ADN se han delimitado dos grandes grupos: alto y bajo grado de malignidad. Esta clasificación se basa en los distintos histogramas, con cuatro tipos diferenciados, que llevan aparejado un valor de entropía o de dispersión de dichos histogramas.

Los histogramas se clasifican en tipos de I a IV (33) y a cada uno de ellos le asignamos un significado ascendente en cuanto a la malignidad del tumor. El valor de la entropía (33) se ha mostrado como muy significativo del grado de malignidad, pudiendo ser comparado con factores de proliferación celular (34). Sus valores van de 0 a 5 y muestran también mayor malignidad cuanto más alto sea su valor.

En la tabla III vemos los valores asignados a cada tipo de histograma y la relación porcentual de casos.

En cuanto a la entropía, hemos asignado unos grupos de valores a cada tipo de histograma. Esta valoración se ha basado en el estudio pormenorizado de cada caso en relación con la supervivencia existente. De la unión de estos dos parámetros, tipo de histograma y entropía, obtenemos diferentes valoraciones de la agresividad tumoral que distribuimos en cinco grupos. Se reflejan en la tabla IV.

De la comparación de estos grupos con la super-

Tabla IV. Distribución según agresividad tumoral.

Entropía	Histograma	Agresividad	
0 - 2	Tipo I	Escasa	7,41%
2 - 3	Tipo I	Escasa-moderada	38,39%
No valorable	Tipo II	Moderada	3,70%
2,5 - 3,4	Tipo III	Moderada-marcada	44,44%
3,4 - 4,5	Tipo IV	Marcada	5,56%

de la diferenciación citológica y del grado de malignidad por ADN. Para ello, hemos considerado solamente los pacientes que habían sido cuantificados y excluido los pacientes con tiempos censurados (vivos o fallecidos por otro motivo).

Los resultados se muestran en la tabla VI.

Analizando la discusión de los datos obtenidos llegamos a las siguientes conclusiones:

- 1.- Mediante el estudio del grado citológico podemos establecer diferencias de comportamiento del tumor en los casos bien diferenciados con respecto al resto, pero debido a su grado de significación esta presunción debe de hacerse con reservas. Es obvio que entre los grados moderado e indiferenciado no podemos establecer patrones de comportamiento tumoral.
- 2.- La cuantificación de ADN nos permite separar dos poblaciones tumorales, alto y bajo grado de malignidad, cuyo grado de significación con respecto a la supervivencia es muy superior a la simple diferenciación citológica.
- 3.- No existe relación entre el grado de diferenciación citológica y el de malignidad por cuantificación de ADN, siendo éste más fiable.
- 4.- Esta discordancia explica el porqué en ocasiones encontramos tumores bien diferenciados cuya evolución rápida y mortal no se corresponde con las expectativas citológicas.
- 5.- Los parámetros de diferenciación citológica son en gran parte subjetivos, siendo imposible en muchos casos separar los casos límite entre los tres grados de diferenciación.
- 6.- Sería, tal vez, más razonable, utilizar sólo dos grados citológicos: bien diferenciados y poco diferenciados.
- 7.- Es necesario efectuar una cuantificación de ADN en

Tabla V. Distribución en grados de malignidad.**Bajo grado de malignidad**

(escasa-escasa moderada-moderada)

Total casos controlados: 27 (50%)

Alto grado de malignidad

(moderada marcada-marcada)

Total casos controlados: 27 (50%)

todos los casos de adenocarcinoma de próstata antes de plantear una actitud terapéutica.

RESUMEN

El grado de diferenciación citológica mediante punción aspiración con aguja fina se viene utilizando durante años como marcador pronóstico en el adenocarcinoma de próstata. La posibilidad actual de cuantificar el ADN en los frotis citológicos nos ofrece un nuevo instrumento para la valoración del comportamiento tumoral.

En el presente trabajo se efectúa una comparación de estos dos procedimientos, utilizando en ambos casos los mismos frotis y un sistema de citometría estática para la cuantificación.

Los resultados se muestran de forma separada para el estudio citológico y para la cuantificación de ADN. En ambos casos se ha estudiado estadísticamente la validez de la muestra y posteriormente se obtienen las curvas de supervivencia de Kaplan Meier, comprobándose la posibilidad de aplicación en la población general.

Se discuten los resultados obtenidos para ambos estudios y se comparan mediante el test de Chi², así como por los valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo.

Del resultado de la discusión se desprende el mayor rendimiento de la cuantificación de ADN frente al grado citológico.

Palabras clave: PAAF. Próstata. ADN. Pronóstico.

Tabla VI. Características de los resultados.

	SENSIBIL.	ESPECIFIC.	V. PREDIC. (+)	V. PREDIC. (-)
Grado citológico	62,71%	55,57%	53,62%	64,51%
Grado ADN	80%	72%	74,07%	78,26%

BIBLIOGRAFIA

1. Adolfsson J, Tribukait B. Evaluation of tumor progression by repeated fine needle biopsies in prostate adenocarcinoma: modal DNA value and cytological differentiation. *J Urol* 1990; 144: 1408-1410.
2. Azúa J. Citología por punción aspiración con aguja fina. Salvat Editores, 1987.
3. Bishop D, Olivier JA. A study of transrectal aspiration biopsies of the prostate, with particular regard to prognostic evaluation. *J Urol* 1977; 117: 313.
4. Dekernion JB. Aspiration biopsy of the prostate: the urologist viewpoint. *Semin Urol* 1983; 1: 166.
5. Esposti PL, Franzen S. Transrectal aspiration biopsy of the prostate. *Scand J Nephrol Urol* 1980; 55: 49.
6. Gómez Aracil V, Peg MT, Azúa J. Utilización del análisis de imagen en el diagnóstico de las hiperplasias y carcinomas de próstata. *Citología* 1985; 7: 71-75.
7. Gómez Aracil V, Sanz Esponera J, Azúa Blanco J. Estudio de las hiperplasias y carcinomas de próstata mediante citodiagnóstico por punción transrectal y su correlación con la histopatología. *Patología* 1983; 16: 331-42.
8. Piaton E, Mouriquand J, Berger N, et al. Valeur du grade cytologique dans l'adenocarcinome prostatique. *J d'Urol* 1990; 96: 211-216.
9. Walsh PC. Fine needle aspiration biopsy of the prostate: Why has it taken so long to accept?. *J Urol* 1986; 135: 334.
10. Adolfsson J, Ronstrom L, Hedlund PO, Lowhagen T, Cristensen J, Tribukait B. The prognostic value of modal desoxiribonucleic acid in low grade, low stage untreated prostate cancer. *J Urol* 1990; 144: 1404-1407.
11. Al-Abadi H, Nager R. Nuclear DNA analysis: DNA heterogeneity in the monitoring of patients with locally advanced prostatic carcinoma. *Eur Urol* 1992; 22: 303-310.
12. Auer G, Caspersson T, Wallgren A. DNA content and survival in mammary carcinoma. *Anal Quant Cytol Histol* 1980; 2: 161-165.
13. Babiarz J, Peters JM, Miles B, Crissman JD. Comparison of DNA content in primary and lymph node metastases in prostate adenocarcinoma. *Anal Quant Cytol* 1993; 15: 158-164.
14. Badalament RA, O'toole RV, Young DC, Drago JR. DNA ploidy and prostatic specific antigen as prognostic factors in clinically resectable prostate cancer. *Cancer* 1991; 67: 3014-3023.
15. Bichel P, Frediksen P, Kjaer T, et al. Flow microfluorometry and transrectal fine needle biopsy in the classification of human prostatic carcinoma. *Cancer* 1977; 40: 1206.
16. Fordham MVP, Burdge AH, Matthews J, Williams G, Cooke T. Prostatic carcinoma cell DNA content measured by flow cytometry and its relation to clinical outcome. *Br J Surg* 1986; 73: 400-403.
17. Forsslund G, Esposti PL, Nilsson B, Zetterberg A. The prognosis significance of nuclear DNA content in prostatic carcinoma. *Cancer* 1992; 69: 1432-1439.
18. Geene DR, Taylor SR, Wheeler TM, Scardino PT. DNA ploidy by image analysis of individual foci of prostate cancer: A preliminary report. *Cancer Res* 1991; 51: 4084-4089.
19. Greene D, Taylor S, Wheeler T, Scardino P. DNA ploidy by image analysis of individual foci of prostate cancer: a preliminary report. *Cancer Res* 1991; 51: 4084-4089.
20. Jones EC, McNeal J, Bruchovsky N, De Jong G. DNA content in prostatic adenocarcinoma. *Cancer* 1990; 66: 752-757.
21. Lieber MM. DNA content/ploidy as prognostic factors in prostate cancer. *Prostate* 1992; 4 (suppl): 119-124.
22. Miller J, Horsfall DJ, Marshall VR, Rao DM, Leong SY. The prognostic value of desoxyribonucleic acid flow cytometric analysis in stage D2 prostatic carcinoma. *J Urol* 1991; 145: 1192-96.
23. Persons DL, Gibney Dj, Katzmann JA, Lieber MM, Farrow GM, Jenkins RB. Use of fluorescent in situ hybridization for desoxyribonucleic acid ploidy analysis of prostatic adenocarcinoma. *J Urol* 1992; 150: 120-125.
24. Peters Gee J, Miles B, Cerny J, Gaba A, Jacobsen G, Crissman J. Prognostic significance of DNA quantitation in stage D1 prostate carcinoma with the use of image analysis. *Cancer* 1992; 70: 1159-1165.
25. Ritchie AW, Dorey F, Layfield LJ, Hannah J, Lovrekovich H, Dekernion JB. Relationship of DNA content to conventional prognostic factors in clinically localised carcinoma of the prostate. *Br J Urol* 1988; 62: 254-260.
26. Ronstrom L, Tribukait B, Esposti PL. DNA pattern and cytological findings in fine needle aspiration of untreated prostatic tumors: A flow cytofluorometric study. *Prostate* 1981; 2:79.
27. Seppelt V, Sprenger E, Hedderich J. Investigation of automated DNA diagnosis and grading prostatic cancer. *Anal Quant Cytol Histol* 1986; 8: 152.
28. Stenkvis B, Olding-Stenkvis E. Cytological and DNA characteristics of hiperplasia inflammation and cancer of the prostate. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1990; 26: 261-267.
29. Stephenson RA, James BC, Gay H, Fair WR, Whitmore WF, Melamed MR. Flow cytometry of prostate cancer: Relationship of DNA content to survival. *Cancer Res* 1987; 47: 2504-2509.
30. Tribukait B, Ronstrom L, Esposti PL. Quantitative and qualitative aspects of flow DNA measurements related to the cytologic grade in prostatic carcinoma. *Anal Quant Cytol* 1983; 5: 107.
31. Gill GW, Frots JK, Miller KA. A new formula for half oxidized hematoxylin solution that neither oversteins nor requires differentiation. *Acta Cytol* 1974; 18: 300-311.
32. Ferrer Roca O. Olga' Scan Software de análisis textural con aplicaciones citológicas. I. Cuantificación de ADN. *Citología* 1989; 11: 121-128.
33. Azúa J, Romeo P, Serrano M, Martínez-Tello D. Cuantificación de ADN como factor pronóstico en el cáncer de mama. *Patología* 1995; 28: 133-140.
34. Stenkvis B, Stande G. Entropy as an algorithm for the statistical description of DNA cytometric data obtained by image analysis microscopy. *Anal Cell Pathol* 1990; 2: 159-165.