

## NEOPLASIA INTRA-EPITELIAL PROSTÁTICA: ASPECTOS MORFOLÓGICOS E MOLECULARES

Marcela Marcondes Pinto Rodrigues<sup>1\*</sup>

Giovana Wingeter Di Santis<sup>2</sup>

Veridiana Maria Brianezi Dignani de Moura<sup>3</sup>

Enio Pedone Bandarra<sup>4</sup>

Renée Laufer Amorim<sup>4</sup>

### RESUMO

A neoplasia intra-epitelial prostática (PIN) é uma lesão não-invasiva da próstata que apresenta anormalidades genéticas, perda de controle das funções celulares e características fenotípicas do câncer invasivo. Microscopicamente essa neoplasia consiste de alterações histo e citológicas no epitélio de revestimento ductal ou ácinos pré-existentes, exibindo geralmente distribuição multifocal. A lesão pode ser classificada em PIN de baixo (LGPIN) ou alto grau (HGPN). Os aspectos morfológicos que incluem ruptura da camada de células basais, aumento da capacidade proliferativa epitelial e da densidade microvascular, sugerem que o HGPN é um estágio intermediário de progressão do epitélio benigno a carcinoma.

**Palavras-chave:** neoplasia intra-epitelial prostática (PIN), próstata, cão, imunoistoquímica.

### PROSTATIC INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA: MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR ASPECTS

#### ABSTRACT

Prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) is a non-invasive prostatic lesion that shows genetic abnormalities, cellular functions changes and phenotypic invasive cancer pattern. Histopathological exam shows histo and cytological changes in pre existing ducts and acines, mostly in a multifocal way. The lesion can be classified as low grade PIN (LGPIN) or high grade PIN (HGPN). Morphological aspects, including basal membrane rupture, higher proliferative index and micro vascular density are suggestive that HGPN is an intermediate stage between normal epithelium and carcinoma.

**Key words:** prostatic intraepithelial neoplasia (PIN), prostate, dog, immunohistochemistry.

---

\* Entidade financiadora: FAPESP

1. Pós-graduanda do Departamento de Clínica Veterinária – Serviço de Patologia Veterinária – FMVZ/ UNESP – Distrito de Rubião Júnior, s/n, Departamento de Clínica Veterinária, Botucatu/SP, CEP 18618-000, [macimarcondes@yahoo.com.br](mailto:macimarcondes@yahoo.com.br)

2. Professor Adjunto, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina – Londrina.

3. Professora Assistente Doutora, Faculdade de Medicina Veterinária, Departamento de Medicina Veterinária – UFG, Campus Samabaia, Caixa Postal 131, Goiânia/ GO, CEP 74001-970. Goiânia/GO, [vdmoura@vet.ufg.br](mailto:vdmoura@vet.ufg.br)

4. Professor Doutor do Departamento de Clínica Veterinária – Serviço de Patologia Veterinária – FMVZ/ UNESP- Distrito de Rubião Júnior, s/n, Departamento de Clínica Veterinária, CEP 18618-000, [renee@fmvz.unesp.br](mailto:renee@fmvz.unesp.br)

## LA NEOPLASIA INTRAEPITELIAL PROSTÁTICA: ASPECTOS MORFOLÓGICOS Y MOLECULARES

### RESUMEN

La neoplasia intraepitelial prostática (PIN) es una lesión no invasiva de la próstata que presenta anormalidades genéticas, pérdida de control de las funciones celulares y características fenotípicas del cáncer invasivo. Microscópicamente esta neoplasia consiste de alteraciones histológicas y citológicas en el interior de los ductos o acinos preexistentes, generalmente de distribución multifocal. La lesión puede clasificarse en PIN de bajo (LGPIN) o alto grado (HGPIN). Los aspectos morfológicos que incluyen ruptura de la capa celular de células basales así como aumento de la capacidad proliferativa y de la densidad microvascular, sugieren que la HGPIN es una fase intermedia entre la forma epitelial normal y el carcinoma.

**Palabras-clave:** neoplasia intraepitelial prostática (PIN), próstata, perro, inmunistoquímica.

### INTRODUÇÃO

A neoplasia intra-epitelial prostática (PIN) é uma lesão não-invasiva da próstata que apresenta anormalidades genéticas, perda de controle das funções celulares e características fenotípicas do câncer invasivo. Em humanos há relatos de neoplasia intra-epitelial em outros órgãos como cólon, cérvix, pulmão, pele, glândula mamária, bexiga urinária (1).

Os aspectos morfológicos que incluem ruptura da camada de células basais, aumento da capacidade proliferativa e da densidade microvascular, sugerem que o HGPIN é um estágio intermediário de progressão do epitélio benigno à carcinoma (2).

### REVISÃO DE LITERATURA

Neoplasia intra-epitelial prostática ou displasia intra-ductal é uma lesão considerada precursora do carcinoma invasivo, sendo caracterizada por proliferação e anaplasia celular de ductos e ácinos. Critérios morfológicos foram estabelecidos por McNeal e Bostwick para o diagnóstico desta lesão e, três graus foram identificados (3).

Uma nova graduação foi proposta em 1989, onde o PIN foi dividido em dois grupos. O PIN de baixo grau (LGPIN) e o PIN de alto grau (HGPIN) (4).

A neoplasia intra-epitelial prostática revela à microscopia, alterações cito-histológicas no epitélio de ductos ou ácinos pré-existent, com características multifocais. A LGPIN caracteriza-se por ductos ou ácinos com hiperplasia epitelial, anisocariose, exibindo, núcleos alongados, hiper cromáticos e pequenos, nucléolos às vezes evidentes. A HGPIN se diferencia da LGPIN pela maior celularidade, estratificação celular mais evidente, bem como a variação do volume nuclear entre as células, pois a maioria destas células epiteliais possui núcleo aumentado. A presença de nucléolo proeminente, freqüentemente múltiplo, é típica na HGPIN e de grande utilidade diagnóstica. Em humanos, quatro padrões arquiteturais podem ser observados na HGPIN: sólido, micropapilar, cribiforme e plano (5).

A HGPIN é definida como uma proliferação anormal dos ácinos, com atipia nuclear semelhante à observada no carcinoma prostático humano (6).

Os primeiros dados na literatura mencionando HGPIN em cães descrevem esta lesão em 19 (66%) de 29 glândulas com diagnóstico prévio de adenocarcinoma. As características histopatológicas da HGPIN nas próstatas caninas foram similares àquelas descritas na literatura humana (7). No homem sua incidência varia de 0,7 a 24% (6).

Waters e Bostwick (8) utilizaram 35 cães sem evidências clínicas de doenças prostáticas para avaliar a incidência de HGPIN em glândulas supostamente normais e determinar se a prevalência da lesão era influenciada pela idade ou por andrógenos testiculares. No grupo de animais com idade entre sete e 17 anos e não castrados observaram-se focos de HGPIN em 55% dos cães. Outros dois grupos avaliados incluindo animais não castrados de um a quatro anos de idade, e animais castrados com sete a 17 anos apresentaram menor incidência da lesão: 8 e 9%, respectivamente. Tais resultados sugerem que HGPIN no cão, assim como no homem, é influenciada pela idade e por hormônios androgênicos testiculares.

A PIN no cão apresenta características semelhantes ao homem no que diz respeito à morfologia, imunofenótipo e na associação com o câncer (9, 10). A próstata canina pode ser utilizada como modelo para a determinação dos fatores que regulam a aparente progressão do epitélio benigno para PIN, e deste para o carcinoma invasivo (8).

O desenvolvimento do câncer prostático no homem representa um processo em que há acúmulo de mutações nos genes, resultando em transformação do epitélio benigno em PIN com posterior invasão local e surgimento de metástases (11). Alguns marcadores mostram um aumento progressivo na sua expressão, entre eles as proteínas pró-apoptóticas e anti-apoptóticas, fatores de crescimento e seus receptores, hormônios esteróides, supressores tumorais, oncogenes, figuras de mitose, expressão de antígenos de proliferação nuclear e densidade microvascular (4, 11).

Segundo Helpap (12), em humanos, o mecanismo de proliferação e diferenciação celular está alterado na PIN, pois são observadas células basais atipicamente diferenciadas, com potencial proliferativo, migrando para o compartimento secretor, enquanto no tecido prostático normal ou hiperplásico a capacidade proliferativa está restrita à camada basal. Com esta progressiva indiferenciação celular, tende a ocorrer também a perda gradativa das células basais, facilitando a extensão da lesão para o estroma e sua transformação em carcinoma invasivo (13).

Em cães, comparando-se o imunofenótipo da PIN ao carcinoma e ao epitélio benigno observou-se ruptura parcial da camada de células basais (8). Marcações imunoistoquímicas com anticorpo anti-citoceratina de alto peso molecular (34 $\beta$ E12) revelaram que a camada de células basais se mantém intacta em próstatas normais, enquanto que em 72% das glândulas que apresentavam HGPIN, havia interrupção e, reações negativas estavam presentes nos carcinomas (7).

Marcadores que identificam células em proliferação, oncoproteínas inibidoras de apoptose, proteína p-53 mutante e E-caderina, assim como a determinação de alterações na morfologia nuclear por análise quantitativa computadorizada de imagens (AQCI) são considerados biomarcadores com valor prognóstico nas lesões pré-malignas e malignas de vários tecidos, inclusive da próstata (1, 12, 14).

Stricker et al. (15) examinaram quarenta próstatas de indivíduos com câncer localizado, isto é, sem características clínicas de progressão. Após prostatectomia radical foi efetuado o acompanhamento dos níveis séricos de antígeno prostático específico (PSA) para estimar a progressão da doença. Foram positivos para p-53 80% dos carcinomas, sendo que destes 62,5% mostraram evidência posterior de progressão. Por outro lado, em nenhum dos casos negativos para p-53 o câncer progrediu. Tais resultados sugerem uma correlação entre a capacidade de progressão do carcinoma prostático e a positividade para p-53, reforçando a idéia de que este marcador é útil na avaliação do prognóstico destas lesões.

Moléculas de adesão celular fazem parte de uma classe de proteínas que acredita-se estar envolvida na progressão do câncer prostático. Em humanos, a expressão é uniforme na superfície do epitélio luminal em próstatas normais, na LGPIN, por outro lado encontra-se reduzida na HGPIN e, negativa nos carcinomas (16).

Ross et al. (17) concluíram que uma perda significativa da expressão de E-caderina pode ser observada no carcinoma prostático em relação ao epitélio normal, assim como nos carcinomas pouco diferenciados em relação aos bem diferenciados.

Em estudo realizado, Waters et al. (9) observaram que o índice proliferativo da PIN nos humanos é maior quando comparado ao epitélio de glândulas normais e, menor do que o expresso nos carcinomas. A revelação do marcador Ki-67 no epitélio normal, em áreas de HGPIN e de câncer prostático do homem, segundo Johnson et al. (18) mostrou índice proliferativo de 0,62%, 2,82% e 6,05%, respectivamente. Resultados semelhantes, empregando-se a mesma técnica, foram relatados por Cheng et al. (19), com médias respectivas às lesões citadas de 0,4%, 3,1% e 7,0%, denotando-se também que o aumento da atividade proliferativa nos carcinomas estava associado ao aumento da expressão de p-53.

Na HPB as células imuno-marcadas pelo MIB-1 possuem origem basal, enquanto que no PIN ocorre uma inversão de marcação para as células luminais, particularmente na HGPIN (20).

O bcl-2, gene responsável pela inibição da apoptose, está expresso apenas no citoplasma das células basais ducto-acinares em próstatas humanas normais e hiperplásicas. Johnson et al. (18) notaram que há expressão de bcl-2 no epitélio secretor displásico da HGPIN. Tais resultados confirmaram os achados de McNeal et al. (21) e sugerem que a auto-sustentação das células secretoras, pela expressão aberrante de bcl-2, predispõe o epitélio displásico à instabilidade genética, o que pode gerar um fenótipo invasivo.

Na espécie humana, em tecido prostático normal e hiperplásico, as células basais apresentam positividade para bcl-2, enquanto que no PIN esta marcação se estende para as células luminais (20).

Estudos recentes relacionam a cicloxigenase-2 (COX-2) com o desenvolvimento e prevenção do câncer (22). A COX-2 participa da produção de prostaglandinas que modulam eventos fisiológicos do desenvolvimento, crescimento celular, endotoxinas bacterianas (lipopolissacarídeos), alguns fatores de crescimento, fator de transformação do crescimento (TGF); fator de crescimento epidermal (EGF); fator de crescimento para fibroblastos (FGF) e oncogenes (BREYER M.D. & HARYS R.C., 2001; DONG M. et al, 2003; KHAN K.N.M. et al, 2000; KIRSHENBAUM A. et al, 2000; KUKARNI S. et al, 2001; ZHA S. et al, 2001).

Expressão imunoistoquímica com a COX-2 em tecidos prostáticos humanos demonstram que, em glândulas sem neoplasia, esta expressão limita-se à musculatura lisa e algumas células basais enquanto que as células luminais não expressam esta enzima, porém há positividade em áreas que existam focos inflamatórios (24).

Estas observações sugerem um possível papel da cicloxigenase-2 no processo de progressão da lesão pré-neoplásica ou neoplasia benigna e, em neoplasia maligna (25).

Madaan et al. (29) demonstraram, em humanos, que existem diferenças na expressão de COX-1 e COX-2 nas hiperplasias prostáticas e uma diferença significativa entre a HPB e o carcinoma prostático mediante a expressão da COX-2.

Com relação à expressão de ambas nas células do epitélio prostático normal e no carcinoma, apenas a COX-2 mostra-se significativa, enquanto que não existe diferença na COX-1. Já a COX-2 é claramente expressa nos focos de PIN e na HPB estromal. Em contraste a estas observações, estudos recentes mostram que não há imunomarcagem expressiva de COX-2 tanto no adenocarcinoma como na PIN, comparando-se ao epitélio normal. A marcação é vista em células normais e neoplásicas que estão dispersas, porém muito mais consistente em áreas de atrofia inflamatória proliferativa (22).

Segundo Calux et al. (30) tumores malignos dependem da angiogênese local para proliferar. A neo-angiogênese ocorre na transição do processo hiperplásico para o neoplásico, sugerindo que a indução da angiogênese constitui uma etapa importante na carcinogênese, o que já foi confirmado em estudos sobre neoplasias de colo uterino. O mecanismo pelo qual os

tumores malignos induzem e regulam a angiogênese ainda não é totalmente conhecido, porém existem alguns fatores angiogênicos tumorais, dentre eles a angiogenina, fator de crescimento transformador  $\alpha$  e  $\beta$ , fator de crescimento endotelial e o fator de necrose tumoral.

A expressão do TGF- $\beta$  pode ser vista em várias neoplasias. Estudos imunoistoquímicos revelam marcação intensa em tumores prostáticos quando comparados ao epitélio prostático normal, sugerindo que células epiteliais neoplásicas produzem e secretam TGF- $\beta$  (31).

## CONCLUSÃO

O estudo de lesões prostáticas, pré neoplásicas e neoplásicas em modelos experimentais, como os gerbis e ratos da linhagem Wistar que, quando suplementados com andrógenos apresentam, a depender da idade, lesões hiperplásicas, displásicas como focos de PIN e até adenocarcinoma (32, 33), ou de ocorrência natural como os cães pode ser uma ferramenta importante para a compreensão da patogenia destas afecções no homem, espécie mais acometida pelo câncer prostático.

Estes ainda podem também ser utilizados para testes de medicamentos em busca da cura do câncer prostático. Já o cão pode ser usado como sentinela do ambiente em que vive, pois está exposto as mesmas substâncias que o homem, espécie altamente susceptível à neoplasia prostática.

## REFERÊNCIAS

1. O'shaughnessy JA, Kelloff GJ, Gordon GB, Dannenberg AJ, Hong WK, Fabian CJ, et al. Treatment and prevention of intraepithelial neoplasia: an important target for accelerated new agent development. *Clin Can Res.* 2002; 8: 314-46.
2. Waters DJ, Bostwick DG. Prostatic intraepithelial neoplasia occurs spontaneously in the canine prostate. *J Urol.* 1997b; 157: 713-6.
3. Bostwick DG, Brawer MK. Prostatic intra-epithelial neoplasia and early invasion in prostate cancer. *Cancer.* 1987; 59: 788-94.
4. Bostwick DG. High-grade prostatic intraepithelial neoplasia: the most likely precursor of prostate cancer. *Cancer.* 1995; 75: 1823-36.
5. Bostwick DG. Neoplasms of the prostate. In: Bostwick DE, Eble JN, editors. *Urologic Surgical Pathology.* St. Louis: Mosby; 1997. p.343-421.
6. Gallo F, Chiono L, Gastaldi E, Venturino E, Giberti C. Prognostic significance of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia (HGPIN): risk of prostatic cancer on repeat biopsies. *Urology.* 2008; 72: 628-32.
7. Waters DJ, Hayden DW, Bell FW, Klausner JS, Qian J, Bostwick DG. Prostatic intraepithelial neoplasia in dogs with spontaneous prostate cancer. *Prostate.* 1997;30:92-7.
8. Waters DJ, Bostwick DG. The canine is a spontaneous model of intraepithelial neoplasia and prostate cancer progression. *Anticancer Res.* 1997a; 17: 1467-70.

9. Waters DJ, Sakr WA, Hayden DW, Lang CM, Murphy GP, Radinsky R, et al. Workgroup 4: spontaneous prostate carcinoma in dogs and nonhuman primates. *Prostate*. 1998; 36: 6467.
10. Bostwick DG, Ramnani D, Qian J. Prostatic intraepithelial neoplasia: animal models 2000. *Prostate*. 2000; 43: 286-94.
11. Ahmad I, Sansom OJ, Leung HY. Advances in mouse models of prostate cancer. *Expert Rev Mol Med*. 2008; 10: 1-20.
12. Helpap B. Differential diagnosis of glandular proliferations in the prostate. A conventional and immunohistochemical approach. *Virchows Arc*. 1998; 433: 397-405.
13. Algaba F. Neoplasia intra-epitelial prostática. *Urol Contemp*. 1997; 3: 174-9.
14. Boone CW, Kelloff GJ. Biomarker end-points in cancer chemoprevention trials. *IARC Sci Publ*. 1997; 142: 273-80.
15. Stricker HJ, Jay JK, Linden MD, Tamboli P, Amim MB. Determining prognosis of clinically localized prostate cancer by immunohistochemical detection of mutant p53. *Urology*. 1996; 47: 366-9.
16. Sakr WA, Partin AW. Histological markers of risk and role of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Urology*. 2001; 57: 115-20.
17. Ross JS, Figge HL, Bui HX, Del Rosario AD, Fisher HA, Nazeer T, et al. E-cadherin expression in prostatic carcinoma biopsies: correlation with tumor grade, DNA content, pathologic stage, and clinical outcome. *Mod Pathol*. 1994; 7: 835-41.
18. Johnson MI, Robinson MC, Marsh C, Robson CN, Neal DE, Hamdy FC. Expression of bcl-2, bax, and p-53 in high-grade prostatic intraepithelial neoplasia and localized prostate cancer: relationship with apoptosis and proliferation. *Prostate*. 1998; 37: 223-9.
19. Cheng L, Sebo TJ, Cheville JC, PisanskY TM, Slezak J, Bergstralh EJ, et al. p53 overexpression is associated with increased cell proliferation in patients with locally recurrent prostate carcinoma after radiation therapy. *Cancer*. 2000; 85: 1293-9.
20. Häussler O, Epstein J, Amin M, Heitz P, Hailemariam S. Cell proliferation, apoptosis, oncogene and tumor suppressor gene status in adenosis with comparison to benign prostatic hyperplasia, prostatic intraepithelial and cancer. *Hum Pathol*. 1999; 30: 1086-77.
21. Mcneal JE, Haillot O, Yemoto C. Cell proliferation in dysplasia of the prostate: analysis by PCNA immunostaining. *Prostate*. 1995; 27: 258-68.
22. Hussain T, Gupta S, Mukhtar H. Cyclooxygenase-2 and prostate carcinogenesis. *Cancer Lett*. 2003; 191: 125-35.
23. Khan KNM, Knapp DW, Denicola DB, Harris K. Expression of cyclooxygenase-2 in transitional cell carcinoma of the urinary bladder in dogs. *Am J Vet Res*. 2000; 61: 478-81.

24. Kirshenbaum A, Liotta DR, Yao S, Liu XH, Klausner AP, Unger P, et al. Immunohistochemical localization of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in the human fetal and adult male reproductive tracts. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85: 3436-41.
25. Kulkarni S, Rader JS, Zhang F, Liapis H, Hoki AT, Masferrer JL, et al. Cyclooxygenase-2 is overexpressed in human cervical cancer. *Clin Cancer Res.* 2001; 7: 429-34.
26. Zha S, Gage WR, Sauvageot J, Saria EA, Putzi MJ, Ewing CM, et al. Cyclooxygenase-2 is up-regulated in proliferative inflammatory atrophy of the prostate, but not in prostate carcinoma. *Cancer Res.* 2001; 61: 8617-23.
27. Dong M, Guda K, Nambiar PR, Rezaie A, Belinsky GS, Lambeau G, et al. Inverse association between phospholipase A2 and COX-2 expression during mouse colon tumorigenesis. *Carcinogenesis.* 2003; 24: 307-15.
28. Kraus VB. Cyclooxygenase-2 inhibitors and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the management of arthritis. *Foot Ankle Clin.* 2003; 8: 187-200.
29. Madaan S, Abel PD, Chaudhary KS, Hewitt R, Stott MA, Stamp GWH, et al. Cytoplasmic induction and over-expression of cyclooxygenase-2 in human prostate cancer: implications for prevention and treatment. *BJU Int.* 2000; 86: 736-41.
30. CALux NMCT, Ribalta JCL, Focchi JNSJ, Baracat EC, De Lima GR. Angiogênese na neoplasia escamosa do colo uterino: comparação entre dois marcadores de células endoteliais. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2001; 23: 313-9.
31. Wolff JM, Fandel T, Borchers H, Brehmer B, Jakse G. Transforming growth factor- $\beta$ 1 serum concentration in patients with prostatic cancer and benign prostatic hyperplasia. *BJU Int.* 1998; 81: 403-5.
32. Scarano WR, Vilamaior PSL, Taboga RS. Tissue evidence of the testosterone role on the abnormal growth and aging effects reversion in the gerbil (*Meriones unguiculatus*) prostate. *Anat Rec Part A.* 2006; 228: 1190-200.
33. Justulin JR LA, Ureshino RP, Zanoni M, Felisbino SL. Differential proliferative response of the ventral prostate and seminal vesicle to testosterone replacement. *Cell Biol Int.* 2006; 30: 354-64.

**Recebido em: 08/12/2008**

**Aceito em: 20/11/2009**