

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIRURGIA

**INVASÃO DE NERVOS PELO CARCINOMA DA
PRÓSTATA EM BIÓPSIAS TRANSRETAIS**

ISNARD ELMAN LITVIN

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Porto Alegre, RS
2004

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIRURGIA

**INVASÃO DE NERVOS PELO CARCINOMA DA
PRÓSTATA EM BIÓPSIAS TRANSRETAIS**

ISNARD ELMAN LITVIN

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Cirurgia, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Isabel Albano Edelweiss

Porto Alegre, RS
2004

L782i Litvin, Isnard Elman

Invasão de nervos pelo carcinoma da próstata em biópsias transretais /
Isnard Elman Litvin ; orient. Maria Isabel Albano Edelweiss. – 2004.
137 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação Medicina: Cirurgia.
Porto Alegre, BR-RS, 2004.

1. Neoplasias prostáticas : Cirurgia 2. Carcinoma 3. Biópsia por
agulha 4. Imunohistoquímica 5. Proteína S100 do tecido nervoso I.
Edelweiss, Maria Isabel Albano II. Título.

NLM: WJ 752

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

"A Natureza não esconde seus segredos por malícia, mas sim por causa da própria altivez. No esforço para compreender a realidade, somos como um homem tentando entender o mecanismo de um relógio fechado. Ele vê o mostrador e os ponteiros, ouve o seu tique-taque, mas não tem meios para abrir a caixa. Se ele for perspicaz poderá imaginar um mecanismo para explicar o funcionamento do relógio. Mas nunca poderá ficar completamente seguro de que sua explicação seja a única possível."

Albert Einstein (1879-1955)
Físico Alemão
Prêmio Nobel de Física em 1921

"País sem ciência equivale a país atrasado.

A ciência pura cria as idéias em que se baseia a tecnologia.

Sem idéias não há técnica, sem técnica não há progresso.

Eu diria como Bernardo Alberto Houssay, argentino, prêmio Nobel de Medicina em 1947, que o país pobre não pode se dar ao luxo de não ter ciência.

A ciência pura é um bem cultural como a Arte."

Dr. Antônio L. Cubilla
Professor Emérito de Patologia da Faculdade de Ciências Médicas
Diretor do Instituto de Patologia e Investigação, Assunção, Paraguai
Discurso de aceitação do prêmio nacional de Ciências
Assunção, 13 de Novembro de 2002.

À Professora Dra. Maria Isabel Albano Edelweiss,

minha orientadora exemplo de perseverança e dinamismo na conquista de seus objetivos, agradeço a oportunidade de trabalhar a seu lado. A confiança na minha capacidade científica e profissional que demonstrou, desde o meu começo na patologia, foi estímulo para o meu aperfeiçoamento. Este estudo é fruto dessa caminhada de amizade e aprendizado.

Muito obrigado.

AGRADECIMENTOS

Não poderia deixar de agradecer a algumas pessoas e instituições que foram essenciais para a conclusão deste projeto.

Aos meus pais, Henrique e Léa, pela dedicação e incentivo.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), pública e gratuita, pela excelência nas atividades de pesquisa.

Aos coordenadores do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia, em especial nas figuras dos professores Dr. Luiz Rohde e Dr. Cléber Dario Pinto Krueel, por possibilitarem a realização deste projeto e por manterem um Programa de formação de mestres e doutores de elevada qualidade científica.

Ao professor Dr. Walter J Koff, chefe do Serviço de Urologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, por possibilitar a realização deste projeto em sua linha de pesquisa.

Ao professor Carlos Thadeu Schmidt Cerski, atual chefe do Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, e ao professor Antônio Carlos Krueel Pütten, ex-chefe do Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, por permitirem a utilização das instalações, equipamentos e do acervo do serviço.

Ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação (GPPG) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre pelas orientações na confecção do projeto de pesquisa.

Ao Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE) pelo apoio e financiamento parcial para execução desta Tese.

Ao Dr. Guilherme Portela Coelho, amigo e colega, sua constante busca de aprendizado, qualificação e aprimoramento são contagiantes. Seu comprometimento e respeito, inquestionáveis.

Ao Laboratório Diagnose (Caxias do Sul-RS) por disponibilizar o equipamento para captura de imagem.

Aos professores, médicos contratados, médicos residentes e funcionários do Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pelo apoio, troca de experiências e por contribuírem na minha formação técnica e humana.

Aos colegas pós-graduandos, pela oportunidade de descobrir amigos e superar desafios.

Ao funcionário Adelmo Soliman do Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre pela ajuda na seleção dos casos de punção-biópsia de próstata.

À funcionária Zeli Fogaça Pacheco do Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre pelo interesse e presteza demonstrados na separação dos blocos de parafina e lâminas.

Aos funcionários Flávia Giusti Grossmann, Neiva Copetti e Jorge Lopes do Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e do Centro de Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pela dedicação e empenho na preparação das lâminas.

À Sra. Estela Maris Araripe, secretária do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia, sempre atenciosa e solícita.

Ao Dr. Mário B Wagner e a Dra. Vânia Naomi Hirakata, pela análise estatística criteriosa e importantes sugestões na interpretação e descrição dos resultados.

Ao Professor Jair Ferreira, Coordenador do Registro Hospitalar de Câncer, por disponibilizar dados de câncer no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Ao Sr. Clóvis de Souza Prates fotógrafo da Documentação Científica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

À Sra. Edir Valente da Silva professora de língua portuguesa pelas sugestões.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
1.1	CONSIDERAÇÕES GERAIS	20
1.2	EPIDEMIOLOGIA	21
1.3	ETIOLOGIA	25
	1.3.1 Idade.....	26
	1.3.2 Etnia	27
	1.3.3 Fator Genético.....	28
	1.3.4 Hormônios.....	29
	1.3.4.1 Andrógenos	29
	1.3.4.2 Estrógenos	29
1.4	ASPECTOS CLÍNICOS	29
1.5	TOQUE RETAL	30
1.6	EXAMES DE IMAGEM	30
1.7	TESTES LABORATORIAIS	31
1.8	DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO	34
	1.8.1 Anatomia.....	34
	1.8.2 Histopatologia.....	35
	1.8.3 Graduação Histológica.....	35
	1.8.4 Informações Clínicas	37
	1.8.5 Biópsia Transretal por Agulha	37
	1.8.6 Ressecção Transuretral (RTU).....	39
	1.8.7 Punção Aspirativa com Agulha Fina (PAAF)	39
	1.8.8 Critérios Histopatológicos Relevantes para o Diagnóstico do Carcinoma Prostático.....	39
1.9	COMPORTAMENTO BIOLÓGICO	42
	1.9.1 Extensão Local.....	42
	1.9.2 Extensão Extraprostática.....	42
	1.9.3 Invasão de Vesícula Seminal	43
	1.9.4 Metástase Linfática	44
	1.9.5 Metástase à Distância.....	44
1.10	TRATAMENTO	45
	1.10.1 Cirúrgico.....	45
	1.10.2 Radioterápico.....	46
	1.10.3 Hormonal.....	46

1.10.4	Conservador.....	47
1.10.5	Quimioterápico	47
1.10.6	Imunoterápico	47
1.11	FATORES PROGNÓSTICOS	48
1.11.1	Estadiamento Patológico TNM	49
1.11.2	Classificação do Adenocarcinoma Invasivo da Próstata	49
1.11.3	Margem Cirúrgica	50
1.11.4	Antígeno Prostático Específico Sérico Total (PSA) Pré-Operatório.....	50
1.11.5	Ploidia do DNA	51
1.11.6	Tipo Histológico	51
1.11.7	Volume Tumoral.....	52
1.11.8	Algoritmos	Erro! Indicador não definido.
1.11.9	Invasão de Nervos	54
1.11.10	Imuno-Histoquímica para Identificação de Nervos.....	57
2	JUSTIFICATIVA DO ESTUDO	59
3	OBJETIVO DO ESTUDO	61
4	MATERIAL E MÉTODO.....	62
4.1	POPULAÇÃO ESTUDADA	62
4.2	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	62
4.3	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	63
4.4	PARÂMETROS CLÍNICOS	63
4.5	DELINEAMENTO DO ESTUDO	63
4.6	PREPARAÇÃO DO MATERIAL	63
4.7	TESTE PADRÃO-OURO.....	64
4.8	INSTRUMENTOS DE AFERIÇÃO.....	64
4.8.1	Microscópio Óptico (MO)	64
4.8.2	Régua Milimetrada.....	65
4.8.3	Retículo de Medida Ocular (RMO)	65
4.8.4	Régua Microscópica.....	66
4.9	AValiação HISTOPATOLÓGICA.....	67
4.9.1	Medida da Área dos Fragmentos (AF).....	68
4.9.2	Medida da Área de Carcinoma (AC)	68
4.9.3	Proporção de Carcinoma (PC)	69
4.10	NERVO	69
4.11	INVASÃO DE NERVO.....	71
4.12	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS.....	71
4.12.1	Programas Estatísticos	72
4.12.2	Significância Estatística.....	72
4.13	ASPECTOS BIOÉTICOS	72
4.14	FINANCIAMENTO	73
5	RESULTADOS	74
6	DISCUSSÃO.....	78
7	CONCLUSÕES.....	83
8	REFERÊNCIAS.....	84

9 ARTIGO: INVASÃO DE NERVOS PELO CARCINOMA DA PRÓSTATA EM BIÓPSIAS TRANSRETAIS	101
RESUMO	103
SUMMARY	104
INTRODUÇÃO	105
MATERIAL E MÉTODO.....	107
RESULTADOS	114
DISCUSSÃO.....	117
CONCLUSÃO	121
REFERÊNCIAS	122
ANEXOS	127
ANEXO A: Técnica da imuno-histoquímica	128
ANEXO B: Técnicas histológicas para visualização de nervos.....	132
ANEXO C: Estadiamento patológico	133
ANEXO D: Padronização das unidades do retículo de medida ocular	136

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

AC	Medida da área de carcinoma na biópsia (mm ²)
ADASP	Associação de Diretores de Patologia dos Estados Unidos
AF	Medida da área de fragmentos na biópsia (mm ²)
AJCC	American Joint Committee on Cancer
AMACR	Alfa-metil-CoA-racemase
APTS	3-aminopropiltriétoxissilano
BCG	Bacilo de Calmette-Guerin
CAP	Colégio Americano de Patologistas
DAB	Diaminobenzidina
DNA	Ácido Desoxiribonucleico
EDTA	Solução tampão
EEP	Extensão Extra-Prostática
EMA	Antígeno epitelial de membrana
EsCa	Medida em unidades da maior espessura do fragmento com carcinoma
EsF	Medida em unidades da espessura do maior fragmento
ExCa	Medida em milímetros da extensão do carcinoma nos fragmentos acometidos
ExF	Medida em milímetros da extensão do fragmento

FAMED	Faculdade de Medicina
FCM-UNICAMP	Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Campinas
FIPE	Fundação de incentivo à pesquisa e eventos
GFAP	Proteína glial fibrilar ácida
GPPG	Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação
GSTapi	Glutadiona S-transferase
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
HE	Método de coloração pelos corantes Hematoxilina e Eosina
IH	Imuno-histoquímica
IN	Invasão de nervo
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IVS	Invasão de Vesícula Seminal
KDa	Kilodalton
KLF-6	Fator de Kruppel-like
LH	Hormônio luteizante
LHRH	Hormônio liberador do hormônio luteizante
M+	Presença de metástase à distância
mM	milimol
mm	milímetro
mm ²	milímetro quadrado
MO	Microscópio óptico
n	amostra
ng	nanogramas
N+	Presença de carcinoma em linfonodo
NIP	Neoplasia intraprostática, no inglês: PIN
NKX3.1	Fator homólogo A de transcrição NK3
OMS	Organização Mundial da Saúde

P	Probabilidade de que as diferenças encontradas tenham sido decorrentes do acaso, nível de significância estatística
PAAF	Punção aspirativa com agulha fina
PAP	Fosfatase ácida prostática
PBS	Tampão fosfato salino
PC	Proporção de carcinoma na amostra (%)
PET	Tomografia com emissão de pósitrons
PPG-Cirurgia	Programa de Pós-Graduação em Cirurgia
PSA	Antígeno Prostático Específico
PSMA	Antígeno prostático de membrana
PTEN	Homólogo fosfatase e tensina
RMO	Retículo de medida ocular
RTU	Ressecção transuretral
S	Sensibilidade
SPSS	Statistical Package for Social Science
TC	Tomografia Computadorizada
TR	Toque Retal
RN	Ressonância nuclear magnética
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
μm	Micrômetro/ $1\mu\text{m}=0,001\text{mm}$
US	Ultra-sonografia transretal
VACURG	Veterans Administration Cooperative Urological Research Group
VPN	Valor Preditivo Negativo
VPP	Valor Preditivo Positivo

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Valor preditivo positivo para presença de carcinoma da próstata em biópsias transretais de acordo com os achados do toque retal (TR), ultrasonografia (US) e valor de PSA, isolados ou combinados entre si	21
Tabela 2:	Taxa de mortalidade do carcinoma da próstata por 100.000 habitantes/ano em 2000	22
Tabela 3:	Taxa anual de incidência e mortalidade do carcinoma da próstata por 100.000 habitantes nos EUA	23
Tabela 4:	Taxa estimada de incidência e de mortalidade do carcinoma da próstata por 100.000 habitantes para 2003 no Brasil	25
Tabela 5:	Distribuição das sete neoplasias malignas mais frequentes e das respectivas taxas de óbitos em homens, segundo a localização topográfica no ano de 2000 no HCPA (n=987).....	25
Tabela 6:	Risco para o desenvolvimento de carcinoma da próstata em homens com 50 anos de idade e com mais 25 anos de expectativa de vida.....	27
Tabela 7:	Incidência e taxa de mortalidade do carcinoma da próstata por 100.000 habitantes/ano no período de 1973-1977 nos EUA, conforme a etnia.....	28
Tabela 8:	Níveis de PSA sérico total ajustado por faixa etária	34
Tabela 9:	Localização do carcinoma da próstata na peça radical	35
Tabela 10:	Comparação entre alguns preditores de extensão extracapsular da próstata.....	43
Tabela 11:	Comparação entre alguns preditores de invasão da vesícula seminal	44
Tabela 12:	Fatores prognósticos para recidiva do carcinoma da próstata	48
Tabela 13:	Distribuição histórica do estadiamento no momento do diagnóstico do carcinoma da próstata com taxa de sobrevida e taxa estimada de cura	49
Tabela 14:	Relação entre estadiamento patológico e invasão neural pelo carcinoma da próstata em biópsias por agulha e na peça radical: revisão da literatura.....	55
Tabela 15:	Etapas do trabalho	67
Tabela 16:	Características descritivas dos pacientes com carcinoma de próstata (n=70).....	76

Tabela 17: Distribuição dos pacientes segundo níveis de risco para recidiva bioquímica no carcinoma de próstata (n=70)	76
Tabela 18: Comparação de aspectos relacionados aos nervos observados em biópsias transrretais da próstata entre os métodos de coloração hematoxilina-eosina (HE) e imuno-histoquímica da proteína S-100	77
Tabela 19: Comparação das características descritivas dos pacientes com carcinoma de próstata entre as técnicas de coloração e a invasão de nervo	77
Tabela 20: Comparação de informações clínicas no momento da biópsia e de achados histopatológicos na biópsia corada pelo método do HE: revisão da literatura	82
Tabela 21: Estadiamento do carcinoma da próstata	135

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Taxa de incidência e mortalidade do carcinoma de próstata por 100.000 habitantes em 2000 ^{21,22}	24
Figura 2: Os dez sítios mais frequentes (%) de metástase do carcinoma de próstata em autópsias nos EUA e no Japão ^{81,82}	45
Figura 3: Microscópio óptico de dupla observação com o retículo de medida ocular inserido em uma das oculares.	65
Figura 4: Macroscopia de fragmentos filiformes de biópsia prostática	66
Figura 5: Lâmina corada pela técnica do HE e régua microscópica	66
Figura 6: Medida da extensão do carcinoma com régua microscópica (0 ao 1,7 = 0,17 mm).HE, 10x	69
Figura 7: Medida da extensão do carcinoma com régua microscópica (6,4 a 9,5 = 0,31 mm). HE, 25x	69
Figura 8: Medida do diâmetro de um nervo invadido pelo carcinoma com o retículo de medida ocular (2 ao 5 = 0,1 mm). HE, 10x	70
Figura 9: Secção transversal de nervo (N) envolto por ácinos neoplásicos. HE, 400x.....	75
Figura 10: Secção transversal de nervo (N) envolto por ácinos neoplásicos. Proteína S-100, 400x	75
Figura 11: Secção transversal de nervo (N) envolto por ácinos neoplásicos. HE, 1000x.....	75
Figura 12: Secção transversal de nervo (N) envolto por ácinos neoplásicos. Proteína S-100, 1000x	75

RESUMO

Introdução e Objetivo: A invasão de nervos pelo carcinoma da próstata, em biópsias por agulha, pode ser um preditor independente de extensão extra-prostática e pode influenciar no manejo cirúrgico. Nervos são, algumas vezes, difíceis de serem visualizados em biópsias por agulha da próstata coradas pela técnica da hematoxilina e eosina. É possível que, utilizando-se a técnica da imuno-histoquímica com o anticorpo para a proteína S-100, os nervos e a invasão de nervos sejam mais facilmente detectados, reduzindo-se a quantidade de falso-negativos.

Material e Método: Foram examinados 101 exames de biópsias por agulha, correspondendo a setenta pacientes, com carcinoma da próstata, através de lâminas coradas pela técnica da hematoxilina e eosina, selecionados a partir de 500 exames consecutivos. Obtiveram-se novos cortes dos mesmos blocos de parafina que foram corados pela técnica imuno-histoquímica, utilizando o anticorpo policlonal para a proteína S-100. O número total de nervos, o número de nervos invadidos pelo carcinoma da próstata, o número de nervos por área de tecido, o número de nervos invadidos por área de carcinoma e o diâmetro dos nervos invadidos pelo carcinoma foram determinados por dois investigadores, nas duas técnicas de coloração.

Resultados: Dos 70 pacientes avaliados 31 (44,3%) apresentaram invasão de nervo pelo carcinoma no HE e 43 (61,4%) apresentaram invasão de nervo com a técnica imuno-histoquímica da proteína S-100 ($p < 0,001$). Na área de carcinoma foram detectados mais nervos invadidos no S-100 do que no HE ($p < 0,001$). O diâmetro do menor nervo invadido pelo carcinoma foi menor no S-100 do que no HE ($p = 0,007$).

Conclusão: A coloração com a técnica imuno-histoquímica com o anticorpo para a proteína S-100 aumenta a sensibilidade para reconhecer nervos em material de punção-biópsia da próstata por agulha. Também, com o S-100 se reconhecem mais invasões de nervos pelo carcinoma da próstata, as quais não eram visualizadas quando coradas com o HE. Desta forma reduziu-se a quantidade de casos falso-negativos e demonstrou-se que o exame criterioso de espécimes corados com o HE não é suficiente para detectar todas as invasões de nervos pelo carcinoma da próstata.

PALAVRAS-CHAVE: Carcinoma da próstata; Invasão de nervo; Imuno-histoquímica; Proteína S-100.

ABSTRACT

Background: The identification of perineural invasion in prostate needle biopsies may be an independent predictor of extraprostatic extension of prostatic carcinoma and may also affect surgical management. Nerves are often difficult to recognize on hematoxylin and eosin stained prostate needle biopsies. Perhaps using an immunohistochemical stain for S-100 protein, nerves and the presence of perineural invasion, may be more easily detected.

Methods: We examined 101 (70 patients) cases of prostatic carcinoma by routine HE stain to determine perineural invasion and nerves. Step sections were immunostained for S-100 protein (polyclonal antibody). The total number of nerves, the number of nerves showing perineural invasion, the number of nerves per square millimeter of tissue, the number of nerves showing perineural invasion per square millimeter of prostatic carcinoma and the diameter of perineural invasion were determined by two investigators on the HE and S-100 stained prostate needle biopsies.

Results: Among the 70 patients, perineural invasion was detected in 31 (44,3%) patients on HE stained sections and in 43 (61,4%) on S-100 stained sections ($p < 0,001$). The prostate needle biopsies on median showed more perineural invasion on S-100 stained than on HE ($P < 0,001$). The minimum diameter of perineural invasion was smaller on S-100 stained than on HE ($p = 0,007$).

Conclusions: S-100 staining increases the sensitivity with which nerves are recognized in prostate needle biopsies. More significantly, S-100 staining reveals perineural invasion by prostatic carcinoma that is often unrecognized in HE stained sections. These results support that careful examination of routine HE-stained specimens is not sufficient to detect all important nerve invasion.

KEY WORDS: Prostate carcinoma; Perineural invasion; Immunohistochemistry; S-100 protein

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Desde o final da década de oitenta, o conhecimento sobre o carcinoma da próstata, neoplasia mais comum do órgão, ganhou grande impulso com o auxílio da dosagem sérica do antígeno prostático específico (PSA) e da ultra-sonografia transretal (US), com biópsia, quando indicada. O valor preditivo destes testes varia entre os estudos, dependendo da população de pacientes estudados. Em geral a combinação do toque retal, PSA e US alterados aumentam a probabilidade de diagnóstico de carcinoma da próstata na biópsia, do que apenas se um destes testes estiver alterado ¹⁻⁹.

Magrini E.¹⁰ demonstrou em trabalho de Dissertação de Mestrado, realizado no Departamento de Anatomia Patológica da FCM-UNICAMP, o valor preditivo positivo (VPP) para presença de carcinoma da próstata em biópsias transretais, de acordo com os achados do toque retal (TR), ultra-sonografia (US) e valor de PSA isolados ou combinados entre si (tabela 1).

Tabela 1: Valor preditivo positivo para presença de carcinoma da próstata em biópsias transretais de acordo com os achados do toque retal (TR), ultra-sonografia (US) e valor de PSA, isolados ou combinados entre si¹⁰.

Método	VPP (%)
TR “suspeito”	41,9
US “suspeita”	52,3
TR + US “suspeitos”	67,9
US “suspeita” + PSA > 10,0 ng/ml	71,4
PSA > 10,0 ng/ml	76,9
TR “suspeito” + PSA > 10,0 ng/ml	92,3

A Sociedade Americana do Câncer e a Associação Americana de Urologia recomendam, para homens acima de 50 anos e para aqueles com alto risco, acima dos 40 anos, e que tenham 10 anos de expectativa de vida pelo menos, que lhes seja oferecida a possibilidade de detecção precoce desta neoplasia, através da dosagem do PSA sérico total e do toque retal. Pacientes com alto risco são definidos como os de descendência afro-americana e com um ou mais familiares de primeiro grau com carcinoma da próstata. Embora esta conduta permita a detecção precoce em muitos casos, vários indivíduos serão testados desnecessariamente, pois apenas um em cada seis desenvolverá a doença e somente 3 a 4% irão morrer dela^{1,5-8}.

1.2 EPIDEMIOLOGIA

O carcinoma da próstata é a segunda neoplasia maligna mais freqüente em homens nos Estados Unidos da América do Norte (EUA), logo após as neoplasias malignas da pele⁸. Por ser de evolução mais lenta, em comparação com outras neoplasias, é a terceira causa mais

freqüente de óbito por câncer, em pacientes acima de 55 anos de idade. O câncer de pulmão e o câncer colorretal são mais frequentes. Porém, em homens acima de 75 anos de idade é a principal causa de óbito. A taxa de mortalidade do carcinoma da próstata é muito baixa no Japão e contrasta com as taxas muito altas de países como Suécia, EUA, Austrália e Brasil^{8,10-12} (tabela 2).

Tabela 2: Taxa de mortalidade do carcinoma da próstata por 100.000 habitantes/ano em 2000⁴.

País	Taxa bruta de Mortalidade
Trinida e Tobago	32,3
Suécia	27,3
Noruega	26,8
Dinamarca	23,1
Cuba	22,1
Irlanda	21,6
Nova Zelândia	21,2
Holanda	20,0
Chile	19,9
França	19,2
Estados Unidos	17,9
Grécia	10,7
Japão	5,5

Em 1994, o carcinoma da próstata foi a neoplasia maligna mais freqüentemente diagnosticada nos EUA, representando 32 % de todos os cânceres no sexo masculino¹⁵. Entre 1986 e 1992 a incidência, ajustada pela idade passou de 86 para 179 por 100.000 por ano nos EUA, principalmente no grupo abaixo de 65 anos. A idade média de diagnóstico foi de 71 anos no EUA e de 77 anos na Inglaterra, no período de 1988 a 1990¹⁹. A taxa de incidência

nos EUA começou a cair a partir de 1992, porque carcinomas latentes já haviam sido rastreados (tabela 3).

Tabela 3: Taxa anual de incidência e mortalidade do carcinoma da próstata por 100.000 habitantes nos EUA⁸

Ano	Taxa bruta de Incidência	Taxa bruta de Mortalidade
2002	189,0	30,2
1994	144,0	26,7
1992	190,1	26,7
1990	132,0	26,5
1985	88,0	23,4
1976	73,5	22,1

Há uma grande variação de incidência do carcinoma da próstata com evidências clínicas entre diferentes países, sendo mais elevada nos EUA, intermediária na Europa e considerada baixa na Ásia¹⁷. Existem diferenças entre grupos étnicos que vivem em um mesmo país, por exemplo: japoneses que vivem nos EUA têm incidência intermediária entre americanos brancos e japoneses nativos. As alterações de incidência, nas populações que migram, é de grande interesse, pois apontam para fatores de risco que aumentam a incidência desta neoplasia, assim como para fatores protetores que a reduzem (Figura 1).

O Ministério da Saúde estima que, para o ano de 2003, em todo o Brasil ocorrerão 402.190 casos novos com 126.960 óbitos de neoplasias malignas. Para o sexo masculino são esperados 186.155 novos casos e 68.350 óbitos. A principal neoplasia maligna a acometer a população brasileira será a de pele não-melanoma com 82.155 novos casos; seguidos, no homem, pelo carcinoma da próstata com 35.240 casos.

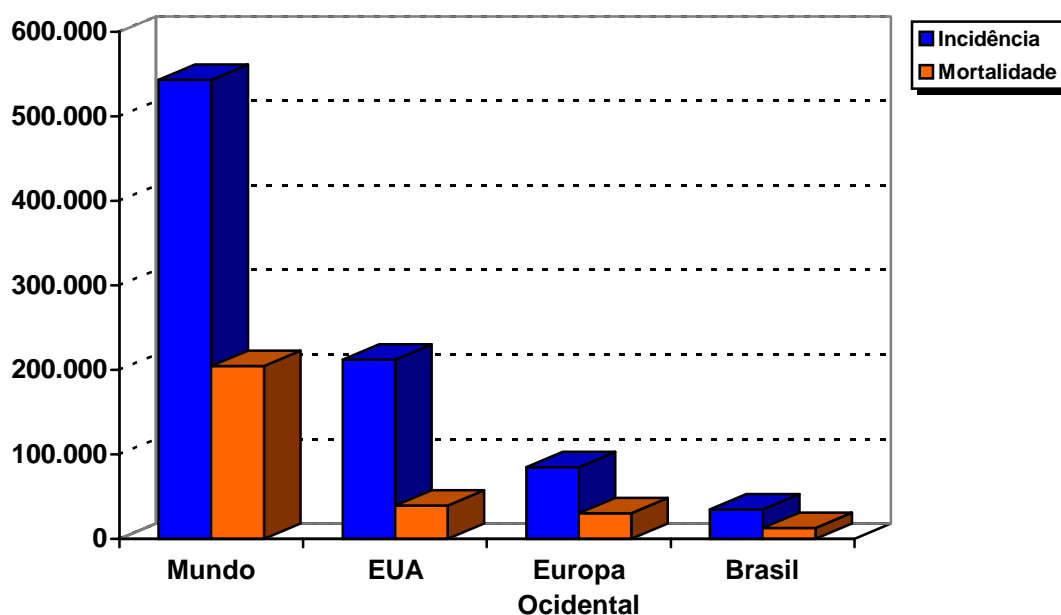


Figura 1: Taxa de incidência e mortalidade do carcinoma de próstata por 100.000 habitantes em 2000 ^{21,22}

A análise da mortalidade mostra que, em 2003, o carcinoma de pulmão (com taxa bruta de 13,00 casos/100.000 habitantes) será a primeira causa de mortalidade para o sexo masculino, seguido pelo carcinoma da próstata (9,47 casos/100.000 habitantes). Na região sul do Brasil, entre os homens, excluindo-se o neoplasia maligna de pele não-melanoma, o carcinoma da próstata será o segundo, como causa de mortalidade (12,58 casos/100.000 habitantes), ficando atrás apenas da neoplasia de pulmão.

No Rio Grande do Sul, o carcinoma da próstata aparecerá como o primeiro em incidência, superando inclusive o câncer de pele não-melanoma, com uma taxa bruta de incidência de 48,45 casos/100.000 habitantes (2.500 casos novos) e com taxa de mortalidade de 15,73 casos/100.000 habitantes (810 casos), vindo logo atrás do câncer de pulmão.

Em Porto Alegre, o carcinoma da próstata em 2003 apresentará uma taxa de incidência de 63,92 casos/100.000 habitantes (420 casos) e uma taxa de mortalidade de 20,75 casos/100.000 habitantes (140 casos) (tabela 4).

Tabela 4: Taxa estimada de incidência e de mortalidade do carcinoma da próstata por 100.000 habitantes para 2003 no Brasil ²²

Local	Taxa bruta de Incidência (Casos)	Taxa bruta de Mortalidade (Casos)
Brasil	40,49 (35.240)	9,47 (8.230)
Região Sul	38,74 (4.980)	12,58 (1.610)
Rio Grande do Sul	48,45 (2.500)	15,73 (810)
Porto Alegre	63,92 (420)	20,75 (140)

No Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), de acordo com o Serviço de Registro Hospitalar de Câncer, o carcinoma da próstata, no ano de 2000, foi a neoplasia maligna mais freqüente em homens com 228 casos (tabela 5).

Tabela 5: Distribuição das sete neoplasias malignas mais frequentes e das respectivas taxas de óbitos em homens, segundo a localização topográfica no ano de 2000 no HCPA (n=987)

Topografia	Casos	Óbitos
Próstata	228	12
Pele	194	9
Brônquios e Pulmão	121	61
Esôfago	73	30
Estômago	67	19
Colorretal	60	18
Boca	24	5

1.3 ETIOLOGIA

A etiologia do carcinoma da próstata é desconhecida. Os principais fatores predisponentes derivam de observações epidemiológicas e os mais importantes são a idade, raça, fator genético e hormônios. Outros fatores como dieta, exposição ocupacional e atividade sexual necessitam de mais investigação científica⁴⁻⁸.

1.3.1 Idade

O carcinoma da próstata aumenta de incidência com a idade, sendo incomum antes dos 40 anos⁴⁻⁸.

A idade é um fator predisponente tanto para o carcinoma clínico como para o carcinoma latente da próstata. O carcinoma clínico é aquele com sinais e sintomas, correspondendo aos estágios T2, T3 ou T4 (sistema TNM – Anexo C) e a maioria dos pacientes com carcinoma clínico está entre a 7^a e 8^a décadas de vida⁴⁻⁸.

O carcinoma latente é o carcinoma apenas histológico que não evolui para a forma clínica ou evolui de forma muito mais lenta que o carcinoma clínico. Pode ser encontrado incidentalmente em autópsias e em RTU (ressecção transuretral) ou em prostatectomia aberta para tratamento de hiperplasia nodular da próstata⁴.

Em autópsias, a prevalência de carcinoma latente da próstata atinge 80% em pacientes com 80 anos e 10 a 30% em pacientes com mais de 50 anos^{13,27,29} indicando que muitos morreram com carcinoma, mas não de carcinoma. Esta neoplasia é, muitas vezes de crescimento lento e, como consequência, o seu diagnóstico determina dificuldade na escolha da terapêutica mais adequada^{18,29}.

Comparando-se a frequência do carcinoma latente (histológico), incidentalmente encontrado em autópsias com a prevalência e a taxa de mortalidade do carcinoma clínico, nota-se uma grande discrepância. Um homem com 50 anos de idade e uma expectativa de vida de mais 25 anos, tem um risco de ter um carcinoma histológico incidentalmente encontrado de 42% enquanto o risco de ter um câncer clínico é de 10% e de morrer deste câncer de 3% ^{4,13,25}. Uma das grandes questões, ainda não resolvida, é saber quais carcinomas latentes (histológico), uma vez detectados, permanecerão latentes e quais vão evoluir para manifestações clínicas ²⁹ (tabela 6).

Tabela 6: Risco para o desenvolvimento de carcinoma da próstata em homens com 50 anos de idade e com mais 25 anos de expectativa de vida ²⁵

Comportamento Biológico	Risco (%)
Carcinoma latente (histológico)	42
Carcinoma clínico	10
Carcinoma fatal	3

1.3.2 Etnia

Nos EUA, homens negros têm risco duas vezes maior de desenvolver e de morrer por carcinoma da próstata quando comparados com homens brancos. Homens hispânicos, termo utilizado na literatura americana que significa de origem espanhola, têm risco menor de desenvolver carcinoma da próstata do que homens caucasianos ^{4,12}. Alterações no gene da enzima esteróide 5-alfa redutase tipo II que converte testosterona em dihidrotestosterona e no gene receptor de andrógeno podem, em parte, explicar a maior susceptibilidade de carcinoma prostático em descendentes de africanos ⁸ (tabela 7).

Tabela 7: Incidência e taxa de mortalidade do carcinoma da próstata por 100.000 habitantes/ano no período de 1973-1977 nos EUA, conforme a etnia¹².

	Taxa bruta de Incidência	Taxa bruta de Mortalidade
Branços	53	18
Negros	90	33

1.3.3 Fator Genético

De acordo com Coffey³² e Montie,³³ o fator genético seria responsável por 90% dos carcinomas da próstata que ocorrem em pacientes com menos de 55 anos de idade. Para Huncharek³⁰ e Grönberg,³¹ aproximadamente 9% dos carcinomas da próstata podem estar relacionados com uma predisposição genética. Homens, com história familiar de carcinoma da próstata, dependendo da idade de início da doença e do número de familiares afetados, apresentam um risco relativo de duas a sete vezes para desenvolver a doença³⁴⁻³⁶. No estudo de Lichtenstein e colaboradores com 44.788 gêmeos escandinavos, foi estimado que o risco da influência genética para carcinoma da próstata seria de 42%³⁷.

Vários genes têm sido implicados na progressão do carcinoma da próstata entre eles: glutadiona S-transferase (GST-pi), fator homólogo A de transcrição NK3 (NKX3.1), homólogo da fosfatase e tensina (PTEN), alfa-metil-CoA racemase (AMACR), hepsin, fator Kruppel-like (KLF-6), EZH2, p27, E-caderina⁸.

1.3.4 Hormônios

1.3.4.1 *Andrógenos*

Há evidência clínica mostrando que o aumento dos andrógenos circulantes são capazes de estimular o câncer prostático e de aumentar a massa tumoral. Eunucos, desde que castrados antes da puberdade, têm baixo risco para desenvolver o carcinoma da próstata. Paradoxalmente, os níveis de testosterona diminuem com a idade enquanto a incidência do carcinoma da próstata aumenta⁴.

1.3.4.2 *Estrógenos*

A menor incidência de carcinoma prostático clínico, em pacientes com cirrose alcoólica, sugere uma possível participação dos estrógenos³⁸. Estes poderiam atuar inibindo a liberação do hormônio luteizante (LH) pela adeno-hipófise (mecanismo de “feedback” negativo), resultando na diminuição dos níveis séricos de andrógenos. Além disso, na senilidade há um aumento relativo de estrógenos por diminuição dos andrógenos circulantes⁴.

1.4 ASPECTOS CLÍNICOS

Antes do uso do rotineiro do PSA, a maioria dos carcinomas prostáticos eram assintomáticos, diagnosticados pelo exame do toque retal. Atualmente, com a utilização do PSA como teste de rastreamento, os carcinomas da próstata tendem a ser diagnosticados em um estágio mais precoce, com menor volume tumoral e menos sinais e sintomas. Carcinomas

da próstata com grande volume tumoral podem apresentar obstrução vesical, dor pélvica, sangramento ou obstrução retal ^{6,8,16}.

Carcinomas da próstata metastáticos podem apresentar dor óssea principalmente na pelve e na medula espinhal. Linfonodos pélvicos, e raramente supraclaviculares ou axilares, podem estar aumentados de tamanho. Ascite e derrame pleural são eventos raros na apresentação da doença ^{6,8}.

1.5 TOQUE RETAL

O toque retal (TR) não permite fazer muitos diagnósticos de carcinoma da próstata devido a sua baixa sensibilidade (elevado falso-negativo). Além disso, tumores estágios T1c situados na zona de transição (anterior) dificilmente são palpados devido a sua localização ⁶.

O tumor palpável e a induração do sulco lateral ³⁹ se correlacionam com extensão extraprostática. Entretanto, o TR isolado não é suficiente para detectar a presença e a extensão do carcinoma da próstata ⁴⁰. Jewett e colaboradores relataram que 50% dos nódulos prostáticos palpáveis eram benignos ⁴¹. Além disso, o TR isolado tinha baixa especificidade para predizer estadiamento patológico, especialmente quando o PSA era baixo. Mais de 60% dos tumores estadiados apenas pelo TR foram subestadiados ⁴². A acurácia para predizer estadiamento se eleva pouco quando se combina TR e PSA ⁴³⁻⁴⁵.

1.6 EXAMES DE IMAGEM

Os resultados da ultra-sonografia transretal (US) dependem em parte do equipamento

utilizado e em parte do seu operador. Atualmente, a principal função da US é direcionar as biópsias transretais e estimar o tamanho da próstata que pode ser utilizado para calcular a densidade do PSA. Entretanto não há uma boa correlação entre o volume estimado pela US e o volume real da próstata ⁶⁻⁸.

O carcinoma da próstata em 70% dos casos se apresenta como uma lesão hipoecóica, porém nem toda a lesão hipoecóica é maligna ⁸.

A US, a ressonância nuclear (RN) e a tomografia computadorizada (TC) têm capacidade moderada para avaliar tumor extraglandular. A sensibilidade é reduzida devido à impossibilidade dessas técnicas em detectar tumor microscópico extraglandular e visualizar uniformemente toda a glândula. A especificidade mostra-se reduzida pela impossibilidade de distinguir entre inflamação periprostática e fibrose tumoral⁴⁶. A tomografia com emissão de positrons (PET) poderá auxiliar no estadiamento do carcinoma da próstata no futuro ⁸.

A cintilografia óssea é o método mais sensível para detecção de metástase óssea ⁸.

1.7 TESTES LABORATORIAIS

O PSA é sintetizado no epitélio ductal e acinar da próstata. Ele é encontrado no tecido prostático normal, hiperplásico ou maligno e apresenta grande utilidade clínica, servindo para a detecção precoce do carcinoma prostático, para a avaliação da extensão da neoplasia, para a previsão prognóstica e para a monitorização da resposta terapêutica, após tratamento dos pacientes ^{51,52}. Em geral o nível sérico do PSA total acima de 4,0 ng/ml é considerado arbitrariamente anormal ⁸. Quando o nível sérico varia de 4,0 a 10,0 ng/ml a detecção do carcinoma na biópsia em homens com TR normal é de 25%. Quando os níveis de PSA sérico

total estão acima de 10,0 ng/ml, a detecção de carcinoma na biópsia é de 40% com o TR normal e de 70% com TR alterado. Entretanto, cerca de 20% dos homens com diagnóstico de carcinoma da próstata têm níveis séricos de PSA total abaixo de 4,0 ng/ml⁶⁻⁸.

Em estudos de rastreamento, cerca de 9% de homens assintomáticos terão PSA elevado, mas somente em 30% destes será detectado carcinoma na avaliação inicial³. Outras condições como: toque retal, prostatite, infarto da próstata, ejaculação, biópsia e ressecção transuretral da próstata e cistoscopia também podem elevar os níveis séricos de PSA^{3,8,47,48}. O PSA parece não detectar neoplasia intraepitelial prostática (NIP) ou mesmo carcinoma incidental, caracterizado por tumor presente em 5% ou menos de tecido ressecado, que não é palpável ao toque retal ou visualizado por exames de imagem, estágio pT1a^{48,49}. As elevações do PSA que eventualmente são observadas nestes casos (estádio pT1a), parecem decorrer mais da concomitância com a hiperplasia nodular. De acordo com Catalona e Epstein, 31% dos carcinomas não palpáveis ao toque retal e não visualizados na ultra-sonografia (estádio T1c), diagnosticados pela biópsia e tratados com prostatectomia radical apresentam volume menor que 0,5 cm³^{5,50}.

Com o objetivo de melhorar a detecção do carcinoma prostático, utilizando-se o PSA, algumas variações no teste são utilizadas^{6,8}:

- 1) densidade do PSA: a densidade do PSA que reflete a quantidade de PSA produzida por grama de tecido é calculada dividindo-se o nível sérico total do PSA pelo volume glandular estimado através da US, este valor não deve ultrapassar a 0,1 ng/ml/cm³ na próstata sem carcinoma. O inconveniente deste método é que o volume, estimado através da US, não se correlaciona bem com o volume real da próstata. Além disso, o volume estimado não se correlaciona necessariamente com

os níveis de PSA, uma vez que o índice epitélio-estroma varia consideravelmente entre os indivíduos, e somente o epitélio produz PSA⁸.

- 2) densidade do PSA na zona de transição: este método é mais acurado do que a densidade do PSA para predizer carcinoma da próstata, quando o nível sérico do PSA total for menor do que 10 ng/ml⁸. Valores acima de 0,34 ng/ml/cm³ são sugestivos de carcinoma.
- 3) PSA livre e combinado: no soro, existem duas formas de PSA: livre e combinado. Em homens, com hiperplasia da próstata, ocorre aumento da fração livre, enquanto em homens com carcinoma ocorre aumento da fração combinada. Quando a fração livre do PSA for superior a 25%, há baixo risco de carcinoma, quando o valor for inferior a 10% o risco é alto. Quando o volume da próstata for menor que 40,0 cm³, a fração livre do PSA consegue distinguir entre carcinoma e hiperplasia da próstata. Entretanto, quando o volume da próstata for maior do que 40,0 cm³ a distinção entre esses grupos não é nítida⁸.
- 4) PSA e idade: Com o avanço da idade, a próstata aumenta de volume devido à hiperplasia e, coseqüentemente, o nível sérico do PSA também. Recomenda-se que o PSA sérico total seja ajustado pela idade, pois, desta forma, far-se-ão mais biópsias em homens jovens com PSA relativamente baixos (aumento da sensibilidade) e menos biópsias em homens idosos com PSA discretamente acima de 4,0 ng/ml (aumento da especificidade)⁸ (tabela 8).
- 5) velocidade do PSA: a produção do PSA é maior no carcinoma da próstata do que em processos benignos da próstata. Quando o aumento médio do PSA total for superior a 0,75ng/ml ao ano, deve-se suspeitar de carcinoma. Para o teste ter validade é necessário pelo menos três medidas do PSA sérico total, num período de um ano e meio a dois anos⁸.

Tabela 8: Níveis de PSA sérico total ajustado por faixa etária ⁸

Idade	PSA sérico total (ng/ml)
40-49	2,5
50-59	3,5
60-69	4,5
70-79	6,5

1.8 DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO

1.8.1 Anatomia

A próstata é um órgão, em forma de pirâmide, que envolve a uretra, localizada entre a bexiga urinária e o diafragma pélvico, posterior ao osso púbico e anterior ao reto ^{4,7}.

É formada por um conjunto de 30 a 50 glândulas tubuloalveolares ramificadas, cujos ductos desembocam na uretra prostática. Essas glândulas são revestidas por dupla camada: uma camada basal de epitélio cúbico achatado que, por sua vez, é recoberta por outra camada de células cilíndricas secretantes ^{6,7}.

O limite da próstata é o próprio estroma glandular, não existe uma cápsula verdadeira. Na base da próstata, há uma continuidade das fibras musculares com o colo vesical e parede das vesículas seminais. Nas regiões anteriores, o estroma prostático confunde-se com a musculatura pélvica, sendo que, no ápice, glândulas prostáticas normais podem ser vistas em meio ao músculo esquelético ^{6,53,54}.

Os vasos sanguíneos e os feixes nervosos principais que suprem a próstata estendem-se ao longo da região póstero-lateral da glândula pelo tecido adiposo periprostático até penetrar o

órgão próximo à base da bexiga, na qual se distribuem por todo o tecido ^{6,7}.

1.8.2 Histopatologia

O carcinoma da próstata tende a ser multifocal e com predileção pela zona periférica, usualmente na região posterior e lateral. Carcinomas periuretrais, em geral, são da variante ductal ou representam extensão de neoplasias da zona periférica. Tumores presentes na zona de transição são neoplasias com pequeno volume e baixo grau histológico, quando comparadas com as da zona periférica ⁶⁻⁸ (tabela 9).

Tabela 9: Localização do carcinoma da próstata na peça radical ⁵⁵

Localização	%
Zona periférica	70-75
Zona de transição	15-20
Zona central	10

1.8.3 Graduação Histológica

A graduação histológica mais utilizada e recomendada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em 1993, foi proposta por Donald Gleason, originalmente em 1974,⁵⁶ em colaboração com o Cooperative Urological Research Group (VACURG), após revisão de 270 casos de carcinoma prostático do “Minneapolis Veterans Administration Hospital”. Os autores se basearam na capacidade de diferenciação glandular e padrões de crescimento da neoplasia, incluindo a infiltração do estroma adjacente e elementos glandulares normais. Desta maneira, os carcinomas foram classificados em cinco padrões arquiteturais, sem levar

em conta as características citológicas do tumor, variando de 1 a 5, do mais diferenciado para o menos diferenciado^{56,57}.

Como mais de 50% dos tumores nas prostatectomias radicais mostrou pelo menos três padrões, o escore (ou grau) inclui um padrão primário predominante e um padrão secundário. O somatório dos dois padrões dá o escore definitivo de Gleason, que varia de 2 a 10⁶⁻⁸. Assim, por exemplo, se o grau histológico de 80% da área examinada for 3 e de 20% for 4, o grau do tecido neoplásico será 3+4 o que daria uma contagem final de 7.

A classificação de Gleason, como todas, tem suas limitações. Depende de um método subjetivo, podendo variar a interpretação inter e intraobservador^{6-8,58}. Ainda assim, esta graduação é recomendada desde 1979, pelo “National Prostate Cancer Detection Project” (NPCDP) dos Estados Unidos⁴.

O Colégio Americano de Patologistas recomenda o uso rotineiro do escore de Gleason em biópsias por agulha sem tratamento neoadjuvante⁵⁹, pois a radioterapia e a hormonioterapia causam efeitos artefatuais que falsamente elevam o escore de Gleason⁸. Nas biópsias por agulha, em 24 a 60% dos casos, os escores encontrados são mais baixos e em 5 a 32% são mais altos que aqueles verificados nos espécimes cirúrgicos de prostatectomia radical⁶²⁻⁶⁷. Em 1996 a Associação de Diretores de Patologia dos Estados Unidos (ADASP) recomendou que, em casos de biópsia prostática por agulha com mais de dois graus de Gleason presentes, seja usado como primeiro grau, o mais extenso e como segundo, o grau menos diferenciado^{4,60}. Assim, por exemplo, se numa biópsia 60% da área examinada for grau 3, 30% grau 2 e 10% grau 4, a contagem final será 3+4=7.

Existem outros métodos de graduação histológica do carcinoma da próstata como o sistema Mostofi, o sistema da Organização Mundial da Saúde (OMS - Broders and Mostofi) e o sistema de Böcking. Os três sistemas consideram como critérios a diferenciação

histológica (glandular) e a citológica ou nuclear (anaplasia/atipia)^{4,6-8}.

O sistema Mostofi que varia do grau 1 ao 3, considera a diferenciação glandular e a nuclear predominantes. Este sistema não considera o arranjo cribriforme como um grau especial, o que é feito no sistema de Gleason⁴.

O sistema de graduação adotado pela OMS que é baseado no sistema de Mostofi varia do grau 2 ao 8. O grau final resulta da soma dos valores da anaplasia nuclear predominante (I, II ou III) e da diferenciação glandular predominante (1,2,3,4 ou 5)⁴.

O sistema Böcking varia do grau I (soma dos critérios de 2 a 3) ao grau III (soma dos critérios de 6 a 7). A contagem final é a somatória do grau histológico e citológico mais indiferenciado e não o predominante⁴.

1.8.4 Informações Clínicas

Nas informações clínicas, devem constar a idade do paciente, os níveis de PSA, achados do TR e da US, o laudo anatomopatológico de biópsia prévia, eventual irradiação prévia e a vigência de hormonioterapia. Estas últimas informações são críticas para a interpretação adequada das lesões. Irradiação e hormonioterapia causam alterações morfológicas que dificultam estabelecer o grau histológico e o próprio diagnóstico de carcinoma^{4,59}.

1.8.5 Biópsia Transretal por Agulha

Os métodos mais utilizados são a biópsia sextante (total de seis fragmentos) ou biópsia sextante estendida (total de oito a doze fragmentos) que consistem em biópsias bilaterais da

porção basal, porção média e porção apical, podendo incluir a zona de transição e as vesículas seminais. As biópsias provenientes das diferentes regiões devem ser acondicionadas e identificadas separadamente ^{4,5,8}.

Na presença de um carcinoma prostático, o patologista deve fornecer ao médico assistente, não somente o diagnóstico de carcinoma, mas também informações que permitam orientar a decisão sobre o tratamento mais apropriado, até informações sobre a estimativa do grau histológico e estadiamento do tumor. Dessa maneira, é importante que o relatório da biópsia ofereça também a descrição sumária da localização das biópsias, de suas dimensões, da presença ou ausência de neoplasia intraepitelial prostática (NIP), da proporção da amostra invadida pelo carcinoma, da presença eventual de extensão extraprostática, da presença de invasão neural e vascular ^{4,5,8}.

A rebiópsia está indicada em casos de neoplasia intraepitelial prostática de alto grau (NIP) e em casos de “suspeito mas não diagnóstico de carcinoma”. Recomenda-se que nas rebiópsias, o número de fragmentos enviados deva ser ampliado, incluindo-se a zona de transição e, quando for o caso, maior representatividade do local onde o laudo foi “suspeito mas não diagnóstico de carcinoma” ^{4,5,8}.

Na literatura, a frequência do laudo “suspeito mas não diagnóstico de carcinoma” varia de 2,9 a 7,1% ⁶. As causas mais frequentes para isto são: foco muito pequeno (70%), foco que desaparece em cortes seriados (61%) e ausência de critérios citológicos (55%) ⁶⁷. Nestes casos a rebiópsia será positiva para carcinoma em 21 a 57,1% dos casos ⁶⁸.

1.8.6 Ressecção Transuretral (RTU)

O carcinoma da próstata é detectado incidentalmente em 8-10% dos espécimes de RTU da próstata. Geralmente são tumores da zona de transição, mas podem ter origem na zona periférica principalmente quando forem de grande volume⁶⁻⁸.

1.8.7 Punção Aspirativa com Agulha Fina (PAAF)

A citologia aspirativa por agulha fina ainda é usada em alguns países, mas foi quase totalmente substituída pela biópsia transretal por agulha. As vantagens da PAAF são a rapidez da técnica, o menor custo, o baixo risco de complicações e pouca dor. Entretanto o diagnóstico diferencial, com a neoplasia intraepitelial prostática, atipias inflamatório-regenerativas e contaminação com epitélio da vesícula seminal, é difícil. Além disso, por se tratar de avaliação de células, não se pode aplicar a graduação histológica de Gleason, pois critérios arquiteturais não ficam bem definidos com a utilização desta técnica⁸.

1.8.8 Critérios Histopatológicos Relevantes para o Diagnóstico do Carcinoma Prostático

O diagnóstico histopatológico do carcinoma da próstata é baseado num conjunto de critérios arquiteturais, citológicos, citoplasmáticos, nucleares e na presença de material intraluminal. Com exceção de achados incomuns como invasão perineural, micronódulos de colágeno e glomerulóides, todos os outros critérios, embora mais frequentemente visualizados no carcinoma, estão presentes em doenças benignas⁴⁻⁸.

I Arquitetura

Alteração arquitetural

- Pequenas glândulas amontoadas
- Glândulas relativamente uniformes
- Glândulas de aspecto diferente das vizinhas
- Estruturas glomerulóides
- Fendas periglandulares

Crítérios indicativos de invasão estromal

- Pequenas glândulas infiltradas em meio a glândulas de aspecto benigno
- Desmoplasia
- Glândulas orientadas perpendicularmente a outras glândulas
- Confluência de glândulas, cordões ou células isoladas
- Rompimento de fibras musculares
- Invasão de nervo
- Invasão de vaso sanguíneo
- Disseminação extra-prostática (Ex. tecido adiposo)

II Ausência da camada de células basais

III Citologia

Núcleo

- Nucleomegalia (> 1,0 a 1,5 μm de diâmetro)
- Hipercromasia
- Irregularidade da carioteca
- Figuras de mitose

Nucléolo

- Proeminente (> 1/3 de uma hemácia)
- Múltiplo
- Excêntrico

IV Citoplasma

- Anfófilico
- Pálido
- Borda luminal sem ondulações

V Conteúdo intraluminal

- Mucina
- Material eosinofílico granular

Cristalóides

Necrose

VI Outros

Micronódulos de colágeno

Neoplasia intraepitelial prostática de alto grau

VII Imuno-histoquímica

Antígeno prostático de membrana (PSMA)	Positivo para células acinares prostáticas benignas ou malignas
Antígeno prostático específico (PSA)	Positivo para células acinares prostáticas benignas ou malignas, e outras neoplasias
α -Metil-CoA-racemase (AMACR)	Confirma diagnóstico de carcinoma, mas não é específica
Citoqueratina 5 e 6	marcador de célula basal, deve ser negativa no carcinoma
Citoqueratina 7 e 20	Negativas no carcinoma da próstata
Citoqueratina de alto peso molecular (34 β E12)	marcador de célula basal, deve ser negativa no carcinoma
Fosfatase ácida prostática (PAP)	Positivo para células acinares prostáticas benignas ou malignas, e outras neoplasias
p63	marcador de célula basal, deve ser negativa no carcinoma
Receptor de andrógeno	Em estudo, não se distingue tumores dependentes de andrógenos

1.9 COMPORTAMENTO BIOLÓGICO

1.9.1 Extensão Local

As estruturas anatômicas peri-prostáticas como a uretra, as vesículas seminais, o colo e o trigono vesicais podem ser atingidos por extensão local do carcinoma da próstata ⁴. A parede do reto é rara e tardiamente atingida devido à barreira física da fásia de Denovillier ⁶⁹. Carcinomas da zona de transição tendem a se estender no sentido da face anterior, enquanto carcinomas da zona periférica tendem para a região póstero-lateral ⁸.

1.9.2 Extensão Extraprostática

Os critérios para extensão extra-prostática (EEP) são: invasão do tecido adiposo peri-prostático, invasão do feixe neurovascular e invasão de músculo esquelético na região anterior⁶⁻⁸. Em pacientes tratados por prostatectomia radical com tumor localizado (estágio T2 pré-operatório) a frequência de extensão extraprostática varia de 23 a 52%⁷⁰⁻⁷⁵. Há forte associação entre volume tumoral, extensão extra-prostática e invasão de vesícula seminal⁷⁰. Pacientes com extensão extra-prostática têm pior prognóstico do que aqueles com neoplasia confinada à glândula ^{74,75}. A combinação de EEP e margens cirúrgicas positivas é um preditor de pior prognóstico do que apenas a EEP ^{74,76,77}.

Por causa das fibras musculares que se estendem para o conjuntivo periprostático, em alguns casos, é difícil avaliar a existência de extensão extra-prostática. A infiltração de tecido adiposo é considerada como evidência desta extensão. Porém, deve-se considerar que o tecido adiposo está raramente presente no parênquima prostático ^{4,6-8}.

A sensibilidade dos exames de imagem é reduzida devido a impossibilidade dessas técnicas em detectar tumor microscópico extraglandular e visualizar uniformemente toda a glândula. A especificidade mostra-se reduzida pela impossibilidade de distinguir entre inflamação periprostática e fibrose tumoral⁵⁰.

Por outro lado, a especificidade da invasão neural na biópsia para predizer a extensão extraprostática na peça radical é elevada, variando de 70% a 96%, porém a sensibilidade é baixa, variando de 27% a 51%. Possíveis explicações para a baixa sensibilidade são: a ausência de nervos em alguns espécimes de biópsias ou a não detecção destes pelo método convencional (coloração pela técnica da hematoxilina e eosina)^{82,83,121}. Esses casos seriam considerados como negativos, elevando a quantidade de casos falso-negativos e reduzindo a sensibilidade¹²¹ (tabela 10).

Tabela 10: Comparação entre alguns preditores de extensão extracapsular da próstata[#]

Teste	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	VPP (%)	VPN (%)
US ⁴⁶	23-91	46-71	50-63	49-90
Doppler 3D ⁴⁶	80	96	90	96
RN ⁴⁶	13-95	49-97	51-90	63-92
TC ⁴⁶	2,5-89	25-92	67	59
Invasão de Nervo ^{78,79}	27-51	70-96	38-93	37-71

US: ultra-sonografia transretal; Doppler 3D: ecografia tridimensional; RN: ressonância nuclear;

TC: tomografia computadorizada; VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo

Foi mantido no texto o termo extensão extra-capsular, pois este era usado na referência original.

1.9.3 Invasão de Vesícula Seminal

A invasão da vesícula seminal pelo carcinoma da próstata ocorre em 12% das prostatectomias radicais⁴. A IVS ocorre por 3 vias: propagação tumoral através dos ductos

ejaculatórios; extensão tumoral extra-prostática com posterior infiltração da parede da vesícula seminal; e implantes tumorais isolados sem continuidade com a neoplasia primária na próstata^{4,8,80} (tabela 11).

Tabela 11: Comparação entre alguns preditores de invasão da vesícula seminal

Teste	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	VPP (%)	VPN (%)
US ⁴⁶	22-75	88-100	67-75	86-98
Doppler 3D ⁴⁶	-	-	-	-
RN ⁴⁶	20-83	92-98	40-75	73-98
TC ⁴⁶	5,8-96	36-99	80	76
Invasão de Nervo ^{78,79}	55	65	23	88

US: ultra-sonografia transretal; Doppler 3D: ecografia tridimensional; RN: ressonância nuclear; TC: tomografia computadorizada; VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo

1.9.4 Metástase Linfática

O comprometimento de linfonodos atinge em ordem decrescente de frequência os linfonodos obturadores, hipogástricos, ilíacos, pré-sacros e para-aórticos⁸. A infiltração das vesículas seminais aumenta a probabilidade de metástase em linfonodo. O carcinoma presente em mais de 5% do tecido ressecado, não palpável ao toque retal e não visualizado em exames de imagem (estádio pT1b), também pode apresentar metástase em linfonodos pélvicos⁴.

1.9.5 Metástase à Distância

Metástase óssea atinge, em ordem decrescente de frequência, os ossos da pelve,

vértebras torácicas e lombares, costelas, vértebras cervicais, fêmur, crânio, sacro e úmero⁸. Na grande maioria das vezes as metástases são osteoblásticas. A fosfatase ácida prostática está elevada em quase todos os casos com metástase óssea⁴.

Em casos de doença disseminada, praticamente todos os órgãos podem ser acometidos^{5,81,82}. É mais freqüente o comprometimento dos pulmões, fígado, supra-renais, pleura e rins⁶.

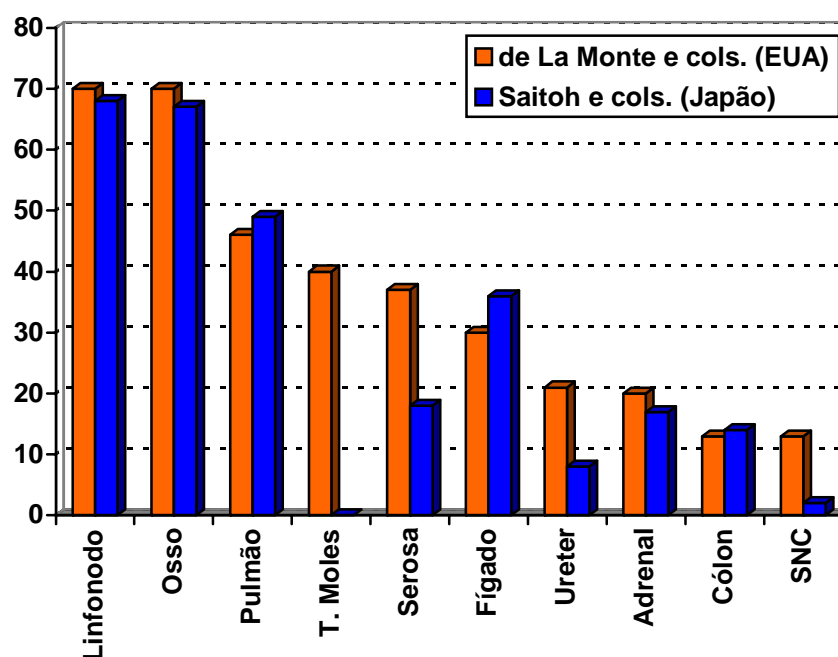


Figura 2: Os dez sítios mais freqüentes (%) de metástase do carcinoma de próstata em autópsias nos EUA e no Japão^{81,82}.

1.10 TRATAMENTO

1.10.1 Cirúrgico

A prostatectomia radical é o tratamento com intenção curativa em pacientes com tumores confinados à próstata (estádios pT1 e pT2)⁸³. A preservação do feixe neurovascular

visa manter a potência sexual pós-cirurgia, justificando identificar fatores adversos como extensão extraprostática no pré-operatório, para selecionar pacientes que serão submetidos à ressecção do feixe neurovascular^{84,85}.

A invasão neural na biópsia ajuda a prever invasão da cápsula, portanto permite planejar a ressecção do feixe neurovascular durante a prostatectomia radical⁷⁸. Em casos de invasão neural na biópsia, a ressecção do feixe neurovascular reduz a incidência de margens cirúrgicas positivas na peça radical em 17,5% dos casos^{84,86}.

1.10.2 Radioterápico

A radioterapia é uma alternativa para a prostatectomia radical em casos de tumores confinados à próstata (estádios pT1 e pT2); terapêutica adjuvante em casos de recidiva local pós prostatectomia radical; e modalidade substitutiva à cirurgia em casos com extensão local inoperável^{4,8}.

1.10.3 Hormonal

Está indicado em casos de doença avançada como tumor extraprostático, metástase em linfonodo ou metástase à distância (pT3, pN ou pM). Em 1941, Huggins recebeu o prêmio Nobel de Medicina, ao demonstrar que o carcinoma prostático respondia à castração ou à administração de estrógenos^{87,88}. Todos os tratamentos que diminuem a testosterona para níveis de castração, apresentam como efeitos colaterais a perda da libido e da potência sexual.

A suspensão hormonal pode ser cirúrgica através da castração (orquiectomia bilateral)

ou ser química, utilizando-se estrógenos (di-etil-stilbestrol), competidores do hormônio liberador de LH (LHRH) e antiandrógenos.

1.10.4 Conservador

Na Europa, principalmente na Escandinávia, o tratamento conservador tem boa aceitação^{89,91}. De acordo com Thompson, os melhores candidatos para este tipo de conduta seriam pacientes com mais de 70 anos de idade; com doenças associadas (coronariopatia aterosclerótica), tumores de baixo grau e volume; e com tumores diplóides⁹⁰. Nestes casos o acompanhamento clínico-radiológico e laboratorial do paciente estaria baseado no fato de que o carcinoma da próstata evolui lentamente, logo uma intervenção terapêutica poderia ser mais agressiva ao paciente do que a neoplasia.

1.10.5 Quimioterápico

Não existe um esquema de quimioterapia eficaz para o tratamento do carcinoma prostático⁶⁻⁸. Entretanto algumas drogas têm sido testadas.

1.10.6 Imunoterápico

Os urologistas já utilizam com sucesso a interleucina-2 no tratamento do carcinoma renal e Bacilos de Calmette-Guérin (BCG) no tratamento do carcinoma da bexiga⁹². O reconhecimento de que o carcinoma da próstata é um tumor imunogênico e um conjunto de novos métodos de ativação do sistema imunológico, tem estimulado o desenvolvimento de

pesquisas na área da imunoterapia para essa neoplasia. As principais linhas de pesquisa estudam citocinas, antígenos, vacinas e células dendríticas⁹³.

1.11 FATORES PROGNÓSTICOS

Numa reunião de consenso realizada em 1999, o Colégio Americano de Patologistas classificou os fatores prognósticos em 3 categorias. Na categoria I foram incluídos fatores de importância prognóstica, comprovada e útil no manejo clínico do paciente; na categoria II, fatores muito estudados, mas cuja importância ainda necessita validação; e, na categoria III, aqueles ainda não suficientemente estudados para demonstrar seu valor prognóstico^{4,6,8,59} (tabela 12).

Tabela 12: Fatores prognósticos para recidiva do carcinoma da próstata⁵⁹

COLÉGIO AMERICANO DE PATOLOGISTAS - CONSENSO 1999	
Categoria 1	Estadiamento TNM Grau histológico de Gleason Margens Cirúrgicas PSA pré-operatório
Categoria 2	Ploidia do DNA Tipo Histológico Volume Tumoral na Biópsia Volume Tumoral na Prostatectomia Radical
Categoria 3	Antígeno Prostático Específico de Membrana Testes bioquímicos (PSM, hK2, IGF) Invasão Perineural Invasão Angiolinfática Densidade Microvascular Fatores Estromais (TGF-Beta, Integrinas) Marcadores de Proliferação (PCNA, Ki-67) Marcadores de Apoptose Morfometria Nuclear Receptores Androgênicos Diferenciação Neuroendócrina Cariometria p53

1.11.1 Estadiamento Patológico TNM

Em 95% dos pacientes com carcinoma incidental estágio pT1a, a doença evolui lentamente. No estágio pT1b, 25% mostram metástase em linfonodos pélvicos e 18% morrem da doença⁹⁴. A sobrevida de 5 anos para pacientes em estágio pT2 é de 20%, quando tratados apenas com RTU. Cerca de 43% dos pacientes em estágio pT3 e com fosfatase ácida prostática elevada, desenvolvem metástase dentro de 2 anos. A grande maioria dos pacientes com metástase não tratados morre num período de 1 ano⁴ (tabela 13) (Anexo C).

Tabela 13: Distribuição histórica do estadiamento no momento do diagnóstico do carcinoma da próstata com taxa de sobrevida e taxa estimada de cura¹³.

Estágio	Pacientes (%)	Taxa de sobrevida em 10 anos (%)	Taxa de cura estimada (%)
T1a	10	95	85
T1b-T2	30	80	65
T3-T4	10	60	25
N+	20	40	<5
M+	30	10	<1
Todos	100	51	32

1.11.2 Classificação do Adenocarcinoma Invasivo da Próstata

A classificação de Gleason é um forte preditor da agressividade tumoral e do estadiamento patológico em biópsias transretais, correlacionando-se positivamente com o volume tumoral e EEP na peça de prostatectomia radical^{39,95-97}. Em 77% dos pacientes com adenocarcinoma da próstata Gleason 2 a 4, a doença está confinada a glândula, por outro lado isso ocorre em apenas 13% dos pacientes com escores de 8 a 10⁹⁸. O escore de Gleason na

biópsia tem um valor preditivo negativo (VPN) nos escores de 2 a 4 e um valor preditivo positivo (VPP) alto nos escores de 8 a 9 para presença de metástase ou EEP. Entretanto para escores de 6 a 7, a grande maioria dos casos, somente o escore de Gleason é um preditor pobre do estadiamento patológico ou da presença de metástase ⁹⁸.

1.11.3 Margem Cirúrgica

Margem cirúrgica positiva significa que o carcinoma da próstata não foi completamente ressecado e pode ser referida na peça de prostatectomia radical como duvidosa, focal ou extensa. A combinação de EEP e margens cirúrgicas positivas é um preditor de pior prognóstico do que apenas a EEP ^{74,76,77}.

1.11.4 Antígeno Prostático Específico Sérico Total (PSA) Pré-Operatório

O PSA tem a capacidade de predizer extensão extra-prostática (EEP), invasão de vesícula seminal (IVS) ou metástase para linfonodo em apenas 50 a 55% dos casos ^{51,99}. Entretanto um PSA elevado não distingue entre as contribuições do componente benigno e maligno da glândula, diminuindo a especificidade e o valor preditivo deste teste, pois cerca de 40% dos pacientes com hiperplasia da próstata apresentam PSA elevado ¹⁰⁰. Em um estudo multi-institucional, envolvendo mais de 4.000 pacientes, houve uma correlação linear entre o nível do PSA e o estadiamento do tumor. Dos pacientes com nível de PSA maior que 50 ng/ml, 9% tinham doença confinada ao órgão e 27% tinham linfonodos positivos. Por outro lado, dos pacientes com nível de PSA menor que 4,0 ng/ml, 64% tinham doença confinada ao órgão e 1% tinham linfonodos positivos ⁹⁵. Assim como este estudo, outros ^{59,99,101} também

confirmaram que o PSA é um excelente preditor de estadiamento patológico, quando se considera níveis muito elevados ou níveis muito baixos.

Com o diagnóstico precoce, o nível sérico médio do PSA tem diminuído, mais de 50% dos pacientes têm níveis entre 4,0 e 10,0 ng/ml. Nestes níveis o PSA não é muito informativo para predizer EEP, invasão de vesícula seminal ou metástase para linfonodos. Com isso, necessita-se de preditores alternativos de estadiamento patológico e risco de progressão da doença.

1.11.5 Ploidia do DNA

A quantidade do DNA no carcinoma da próstata tem sido estudada através da hibridização “in situ”, da citometria de fluxo e da análise de imagem.

A ploidia do DNA não parece ser um fator prognóstico independente. A utilidade da ploidia do DNA como preditor de estadiamento, baseada na análise de punção-biópsias da próstata é questionável, pois a amostragem na biópsia nem sempre representa áreas de carcinoma com pior grau histológico^{6,8}.

1.11.6 Tipo Histológico

As variantes pseudo-hiperplásica, colóide, anel-de-sinete, oncocítica, mucinosa e sarcomatóide tendem a ter um comportamento mais agressivo, quando comparadas com o carcinoma acinar usual e com a variante atrófica⁸.

1.11.7 Volume Tumoral

O volume tumoral na peça de prostatectomia radical correlaciona-se com o grau histológico, a extensão extra-prostática (EEP), o envolvimento de margens cirúrgicas, a invasão de vesícula seminal (IVS), a presença de metástase em linfonodos regionais, a taxa de recorrência e a taxa de sobrevivência^{6,8}. Na análise multivariada (estadiamento, grau histológico, margens cirúrgicas), o volume tumoral não foi um preditor independente para recidiva bioquímica. O volume médio do carcinoma da próstata em exames de rastreamento pelo PSA é de 1,7 cm³.

A estimativa do volume tumoral, através de métodos clínicos e por exames de imagem, apresenta baixa acurácia. No material de prostatectomia radical tem-se demonstrado que a configuração tri-dimensional do tumor é bastante irregular, portanto sua determinação é complexa e demorada, dificultando sua aplicabilidade na prática diária⁸.

A percentagem de tecido prostático envolvido por carcinoma na biópsia pode ser facilmente relatada pelo patologista. Não há uma boa correlação entre a quantidade de câncer relatado em biópsias e o encontrado em peças de prostatectomias radicais; carcinomas extensos na biópsia, em geral, indicam prognóstico adverso. Entretanto, carcinomas mínimos na biópsia não indicam bom prognóstico devido à limitação da amostragem¹⁰²⁻¹⁰⁴.

Técnicas para quantificar o carcinoma da próstata em biópsias por agulha: ^{6,8}

- 1- número de fragmentos positivos;
- 2 - extensão em milímetros do carcinoma em todos os fragmentos;
- 3 - percentagem que o carcinoma ocupa em cada fragmento;
- 4 - percentagem total de carcinoma na amostra;
- 5 - fração de fragmentos positivos.

1.11.8 Algoritmos

Em 1987 Oesterling e colaboradores ⁹⁶ demonstraram, através da análise de regressão logística, que algumas variáveis pré-operatórias poderiam ser utilizadas para prever o estadiamento patológico final em pacientes submetidos à prostatectomia radical. Desde então, outros investigadores têm desenvolvido algoritmos similares, usando diferentes variáveis para prever o estadiamento patológico e envolvimento de linfonodo(s) ¹⁰⁵. Em 1993, Partin e colaboradores ⁹⁵ introduziram um algoritmo para prever estadiamento patológico. Este algoritmo avalia a probabilidade de ter uma doença restrita ao órgão, de extensão extraprostática, envolvimento da vesícula seminal e envolvimento de linfonodos, baseada no escore de Gleason, estadiamento clínico e PSA sérico. O método mais acurado para estimar estadiamento patológico utiliza TR, PSA e escore de Gleason na biópsia. Associando-se estas três variáveis, como no algoritmo de Partin, obtém-se uma boa correlação de estadiamento clínico e patológico ¹⁰⁶.

Após uma extensa coorte de pacientes submetidos à prostatectomia radical, na Clínica Mayo, encontrou-se um índice de concordância de 84% para prever envolvimento de linfonodo e de 76% para prever doença confinada ao órgão ¹⁰⁷. Na Faculdade de Medicina de Baylor desenvolveu-se um algoritmo com a capacidade de prever recidiva bioquímica da doença, pela dosagem sérica do PSA (monitorização da resposta terapêutica após tratamento dos pacientes), com um índice de concordância de 79% ^{105,108}.

A limitação do método é que não permite obter informações preditivas para um paciente individualmente ⁸.

1.11.9 Invasão de Nervos

A invasão de nervos por células de carcinoma já era reconhecida desde 1921 em neoplasias da glândula salivar¹¹⁰. Desde então, tem sido observada em várias neoplasias, inclusive na próstata^{111,112}.

Rodin e colaboradores demonstraram que não haviam vasos linfáticos dentro do perineuro e que o crescimento do tumor no espaço perineural refletia a extensão do carcinoma, através de planos teciduais de menor resistência¹¹³⁻¹¹⁵. Acredita-se que a invasão neural seja a principal rota para disseminação extra-prostática do carcinoma^{43,114-116}. McNeal e colaboradores,⁷³ demonstraram que 85% dos casos de penetração capsular estão relacionados com a invasão neural. De acordo com estas observações Stamey e colaboradores³⁹ demonstraram que 89% da invasão capsular ocorre na região dorsolateral da próstata, em carcinomas de baixo grau e o restante da invasão capsular ocorre por extensão direta¹¹⁵.

Carcinomas volumosos, muito dos quais são pouco diferenciados (padrão 4 ou 5 de Gleason), podem apresentar extensão extra-prostática (EEP) devido à sua agressividade³⁹. Cerca de 50% dos pacientes com invasão neural na biópsia apresentam EEP, provavelmente devido à associação entre invasão neural e maior volume tumoral¹¹⁷.

A invasão neural pelo carcinoma da próstata não é um efeito somente de volume, pois carcinomas pequenos também podem apresentar invasão de nervo. Yang e colaboradores relataram que o componente neural favorece o crescimento da neoplasia inibindo a apoptose, o que facilitaria a disseminação do carcinoma através dos nervos, mesmo em carcinomas considerados pequenos¹¹⁸.

A identificação de invasão neural em punção-biópsia de tecido prostático com carcinoma varia em torno de 20% a 38% e pode ser o único critério diagnóstico de carcinoma nas biópsias ^{78,79,109,119-121}, mas é muito mais freqüente em peças de prostatectomias radicais ^{112,116}.

Na análise univariada, a invasão neural em biópsias pré-tratamento foi preditiva para estadiamento patológico final, EEP da neoplasia, IVS, risco de elevação do PSA após prostatectomia radical e metástase para linfonodos ^{78,79,117,120}. Entretanto seu valor é controverso como fator independente em análises multivariadas, ^{59,79,109,112,116,119,120,122} após consideração do grau de Gleason, PSA sérico e quantidade de tumor na biópsia.

Bastacky, Ohori e Maru demonstraram que o diâmetro do nervo invadido pelo carcinoma é preditor independente de progressão tumoral e de EEP ^{78,128,134}.

Além disso, para alguns autores a invasão neural pode influenciar em escolhas terapêuticas como secção de feixe neurovascular e a dissecação de linfonodos pélvicos durante a prostatectomia radical ¹²³ (tabela 14).

Tabela 14: Relação entre estadiamento patológico e invasão neural pelo carcinoma da próstata em biópsias por agulha e na peça radical: revisão da literatura

Autor	Ano	Nº	IN	Sens.	Espec.	VPP	VPN	Comentários
Bastacky e cols. ⁷⁸	1993	302	20%	27%	96%	93%	37%	Envolvimento de mais de um nervo ou nervo maior do que 0,1 mm aumenta a especificidade.
Ravery e cols. ¹²⁴	1994	100	ND	ND	ND	73%	ND	IN relacionada com EEP (p<0,05) e progressão biológica (p<0,05) na análise univariável.
Yang E cols. ¹¹⁸	1996							A IN está associada com a redução do índice apoptótico.
Egan e cols. ⁷⁹	1997	349	38%	51%	70%	49%	71%	Relação entre IN e EEP na análise univariada (p=0,001), mas não na análise multivariada (p=0,57), quando foram incluídos no modelo o PSA, a proporção de carcinoma na biópsia e o escore de Gleason.

(continua)

Tabela 14: Relação entre estadiamento patológico e invasão neural pelo carcinoma da próstata em biópsias por agulha e na peça radical: revisão da literatura

(continuação)

Autor	Ano	Nº	IN	Sens.	Espec.	VPP	VPN	Comentários
Ukimura e cols. ¹²⁵	1998	84	35%	ND	ND	ND	ND	Relação entre IN e EEP na análise univariada ($p>0,031$), mas não na análise multivariada ($p=0,4$), quando foram incluídos no modelo ultrassonografia e PSA.
Vargas e cols. ¹²⁶	1999	340	17%	32%	88%	42%	82%	Relação entre IN e EEP na análise univariada ($p=0,0004$) e entre IN e margem cirúrgica ($p=0,0361$), mas não na análise multivariada, quando incluído o PSA no modelo.
De la Taille e cols. ¹¹⁹	1999	319	24%	83%	40%	ND	ND	Pacientes com IN na biópsia tinham 3,5x mais chances de ter EEP do que os que não apresentavam IN. Relação entre IN e EEP ($p=0,031$) na análise multivariada (incluindo PSA), mas não foi testado no modelo a extensão tumoral. Pacientes seguidos em média por 25 meses.
Rubin e cols. ¹¹⁷	2000	632	18%	ND	ND	ND	ND	Relação entre IN e EEP na análise univariada ($p=0,001$), mas não na análise multivariada, quando incluídos PSA, escore de Gleason e percentagem de tumor. Ao se excluir a percentagem de carcinoma do modelo, a análise multivariada apresentou significância estatística
Endrizzi e cols. ¹²⁷	2000							IN foi o mais sensível preditor de recidiva bioquímica.
Maru e cols. ¹²⁸	2001							IN > 0,25 mm na peça radical é preditor independente de progressão tumoral. Pacientes seguidos, em média, por 48 meses.
Merrick e cols. ¹⁰⁹	2001	425						IN não foi preditiva de recidiva bioquímica em pacientes tratados por braquiterapia e seguidos em média por 37 meses.
Ozcan e cols. ¹²⁹	2001	191						IN, escore de Gleason e PSA no espécime de prostatectomia radical foram preditores de recorrência.
Sebo e cols. ¹³⁰	2001	454	23%	ND	ND	ND	ND	Relação entre IN e EEP na análise univariada ($p<0,0001$) e na análise multivariada ($p=0,0235$).
Sebo e cols. ¹³¹	2002							Escore de Gleason, IN e expressão de MIB-1 são preditores independentes de recidiva bioquímica ou clínica. Pacientes seguidos, em média, por 24 meses. Amostragem das prostatectomias foi incompleta, tempo de seguimento curto, tratamentos diferentes foram empregados, após a cirurgia, análise multivariada continha muitas variáveis, o que limita o poder estatístico.

(continua)

Tabela 14: Relação entre estadiamento patológico e invasão neural pelo carcinoma da próstata em biópsias por agulha e na peça radical: revisão da literatura

(continuação)

Autor	Ano	Nº	IN	Sens.	Espec.	VPP	VPN	Comentários
Freedland e cols. ¹³²	2002	190	17%	ND	ND	ND	ND	IN foi significativa na análise univariada (p=0,024), mas não na análise multivariável, quando incluído PSA e percentagem de carcinoma no modelo.
O'Malley e cols. ¹²²	2002	156	NA	NA	NA	NA	NA	Não há relação entre IN e EEP (p=0,09). IN não é preditor de recidiva clínica ou bioquímica. Pacientes seguidos, em média, por 7 anos após tratamento cirúrgico.
Zhou e cols. ¹³³	2002	80	11%	27%	93%	48%	83%	NA
Ohuri e cols. ¹³⁴	2002	413	18%	ND	ND	ND	ND	Presença e diâmetro da IN são preditores de presença e do lado da EEP.
Bismar e cols. ¹³⁵	2002	215	11%	16%	91%	30%	19%	Não há relação entre IN e EEP nos modelos univariável e multivariável.

Nº: número de pacientes; IN: invasão de nervo pelo carcinoma da próstata; Sens.: sensibilidade; Espec.: especificidade; VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo; EEP: extensão extra-prostática; PSA: antígeno prostático específico; ND: não disponível; NA: não aplicável

A literatura mostra que a especificidade da invasão neural na biópsia para prever a EEP na peça radical é elevada, variando de 70% a 96%, porém a sensibilidade é baixa, variando de 27% a 51%. O VPP varia de 38-93 %, o VPN varia de 37-71% e acurácia de 49-63 %. A sensibilidade de IN em biópsias, como teste diagnóstico para prever IVS foi de 55%, a especificidade foi 65%, o VPP de 23%, o VPN de 88% e a acurácia, de 64%^{78,79,117,120}. Possíveis explicações para a baixa sensibilidade são: a ausência de nervos em alguns espécimes de biópsias ou a não detecção destes pelo método convencional (coloração pela técnica da hematoxilina e eosina)^{78,79,116}. Esses casos seriam considerados como negativos, elevando a quantidade de casos falso-negativos e reduzindo a sensibilidade¹¹⁶.

1.11.10 Imuno-Histoquímica para Identificação de Nervos

Nervos são algumas vezes difíceis de serem identificados pelo método de coloração da

hematoxilina e eosina, talvez, por este motivo, o valor preditivo da invasão neural apresente baixa sensibilidade em alguns estudos. Com a técnica da imuno-histoquímica usando o anticorpo para a proteína S-100, é provável que os nervos e a presença de invasão neural sejam mais facilmente detectados, reduzindo-se a quantidade de falso-negativos^{112,116}.

A proteína S-100 é uma substância ácida de 20-kDa ligada ao cálcio, seu nome se deve a sua propriedade de ser 100% solúvel no sulfato de amônio. Esta proteína é composta por duas subunidades, α e β , que se combinam para formar três isotipos. O isotipo α - α é normalmente encontrado no miocárdio, músculo esquelético e em neurônios; o isotipo α - β está presente em melanócitos, células gliais, condrócitos e em anexos cutâneos; e o isotipo β - β é encontrado nas células de Langerhans e nas células de Schwann¹³⁷. Inicialmente acreditava-se que a proteína S-100 era produzida pelas células gliais e portanto, seria específica para o sistema nervoso^{138,139}. A proteína S-100, através da técnica de imuno-histoquímica, tem sido demonstrada em vários tecidos, incluindo: alguns neurônios, células gliais, células de Schwann, melanócitos, células de Langerhans, células reticulares em linfonodos, condrócitos, células mioepiteliais, células sustentaculares da medula adrenal, entre outras^{140,141}.

2 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

A maioria dos pacientes com adenocarcinoma da próstata apresenta nível sérico de PSA entre 4,0 a 10,0 ng/ml e escore de Gleason entre 6 a 7. Para estes valores, tanto o nível sérico de PSA quanto o escore de Gleason são pouco informativos para predizer extensão extra-prostática (EEP), invasão de vesícula seminal (IVS) ou metástase para linfonodos. Sabe-se também que não há uma boa correlação entre a quantidade de carcinoma da próstata relatado em biópsias e o encontrado em peças de prostatectomias radicais ^{8,102,103}.

Os exames de imagem apresentam sensibilidade reduzida devido à impossibilidade dessas técnicas em detectar tumor microscópico extraglandular e visualizar uniformemente toda a glândula. A especificidade mostra-se reduzida pela impossibilidade de distinguir entre inflamação periprostática e fibrose tumoral ⁸.

Com isso, necessita-se de preditores alternativos do estadiamento patológico e do risco de progressão da doença ⁹⁸.

A utilidade da imuno-histoquímica deriva de um certo número de fatos: alguns fenótipos teciduais têm uma proteína marcadora identificável, as proteínas marcadoras são quase sempre preservadas em blocos de tecidos incluídos em parafina, a sensibilidade e a especificidade dos marcadores têm sido razoavelmente boas ¹³⁶.

A expressão do marcador, isolada, não leva a uma interpretação correta. Padrões morfológicos como: a localização da reatividade (membrana citoplasmática, citoplasma ou núcleo), a arquitetura da lesão, o aspecto da célula e do núcleo devem ser integrados com os resultados da imunocoloração ¹³⁶.

3 OBJETIVO DO ESTUDO

- Avaliar a frequência de invasão neural, pela técnica da hematoxilina e eosina em biópsias por agulha da próstata com carcinoma;
- Comparar em biópsias por agulha da próstata com carcinoma as técnicas da hematoxilina e eosina com a de imuno-histoquímica pelo anticorpo para a proteína S-100 através da:
 - a) a presença de nervos;
 - b) a presença de nervos invadidos pelo carcinoma da próstata;
 - c) o diâmetro dos nervos invadidos.

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 POPULAÇÃO ESTUDADA

O presente estudo avaliou 70 pacientes, submetidos a biópsias transretais da próstata com carcinoma, no período de seis meses realizadas no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Estes casos foram selecionados a partir de 500 exames consecutivos de biópsias por agulha, dos quais 101 (provenientes de 70 pacientes) apresentaram carcinoma da próstata. A técnica da biópsia, incluindo o número de fragmentos obtidos e locais biopsiados, variou de acordo com a indicação do médico urologista e/ou radiologista. Não foi definido um único médico que efetuará as biópsias, nem uma padronização da técnica.

Os fragmentos biopsiados foram encaminhados e processados no Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. A técnica da imuno-histoquímica foi efetuada no Centro de Pesquisa Experimental do HCPA.

4.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Todos os casos de biópsias por agulha da próstata do arquivo do Serviço de Patologia

do Hospital de Clínicas de Porto Alegre no período de 26 de abril de 2000 a 15 de setembro do mesmo ano.

4.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Casos de biópsias por agulha da próstata sem carcinoma da próstata.
- Casos de biópsias por agulha da próstata “suspeito, mas não diagnóstico de carcinoma”.

4.4 PARÂMETROS CLÍNICOS

Foram analisados, após consulta do prontuário médico do paciente, parâmetros prévios a biópsia, como idade do paciente e PSA sérico total.

4.5 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Estudo transversal contemporâneo de base populacional.

4.6 PREPARAÇÃO DO MATERIAL

Todas as biópsias foram fixadas em formalina tamponada a 10%, processadas (desidratação em álcool etílico de concentrações crescentes, clareamento em xilol,

impregnação pela parafina fundida) e incluídas em parafina. Os blocos de parafina contendo os tecidos incluídos foram seccionados pela navalha de aço do micrótomo, obtendo-se cortes com 5 μm (5 micrômetros = 0,005 milímetros) de espessura. As lâminas preparadas foram coradas pela técnica da hematoxilina e eosina (HE). Numa segunda etapa, os mesmos blocos de parafina foram novamente seccionados no micrótomo, obtendo-se novos cortes com 5 μm de espessura. Estes foram corados pela técnica imuno-histoquímica (complexo streptavidina-biotina-peroxidase), utilizando o anticorpo policlonal para a proteína S-100 (Novocastra, policlonal líquida, diluição de 1:200). Cortes de tecido intestinal (plexo nervoso mioentérico), incluídos em parafina, serviram de controle positivo para toda a bateria de testes (Anexo A).

4.7 TESTE PADRÃO-OURO

O teste considerado como “padrão-ouro” foi o exame da lâmina com os fragmentos de biópsia corados com o HE que apresentavam carcinoma, após avaliação de consenso de dois patologistas, com o qual foram comparados os achados do exame imuno-histoquímico.

4.8 INSTRUMENTOS DE AFERIÇÃO

4.8.1 Microscópio Óptico (MO)

Microscópio óptico de dupla observação, da marca Zeiss modelo Standard 20 com quatro objetivas (2,5, 10, 20 e 100 aumentos) e ocular com aumento de dez vezes (figura 3).



Figura 3: Microscópio óptico de dupla observação com o retículo de medida ocular inserido em uma das oculares.

4.8.2 Régua Milimetrada

Régua milimetrada transparente de 30,0 centímetros.

4.8.3 Retículo de Medida Ocular (RMO)

Instrumento que substitui uma das oculares do microscópio, apresenta ocular própria com aumento de 12,5x. Está subdividido em 12 unidades padrão. Estas unidades foram transformadas em milímetros com o auxílio da régua microscópica. Em cada objetiva verificou-se quanto, em milímetros, dez unidades representavam. Esta aferição foi repetida três vezes. Com estes valores e efetuando-se a regra de três, foi montada uma tabela de 0 a 10 unidades nas quatro objetivas (Anexo D).

O uso do retículo de medida ocular permitiu uma medida mais precisa da espessura dos fragmentos e do diâmetro dos nervos.

Exemplo:

Objetiva/Unidades	2,5x	10x	20x	40x
10 U	1,1818	0,333	0,1666	0,0833

Para objetiva de 10x:

Se	10 U ----- 0,333 mm
	5 U ----- x
	$x = 0,1666 \text{ mm}$

4.8.4 Régua Microscópica

Régua milimetrada transparente de 2,0 centímetros (figura 4 e 5).

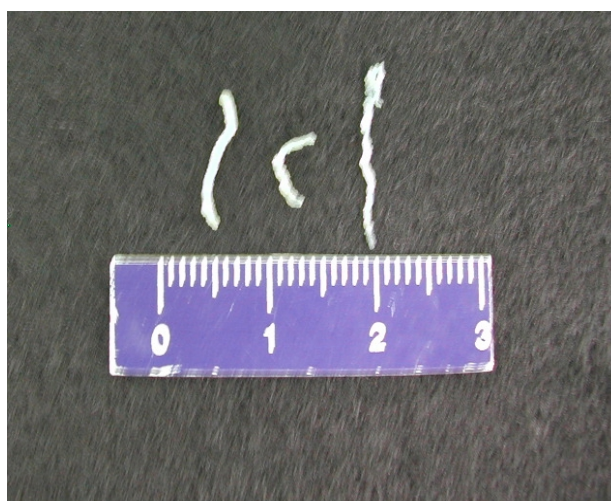


Figura 4: Macroscopia de fragmentos filiformes de biópsia prostática

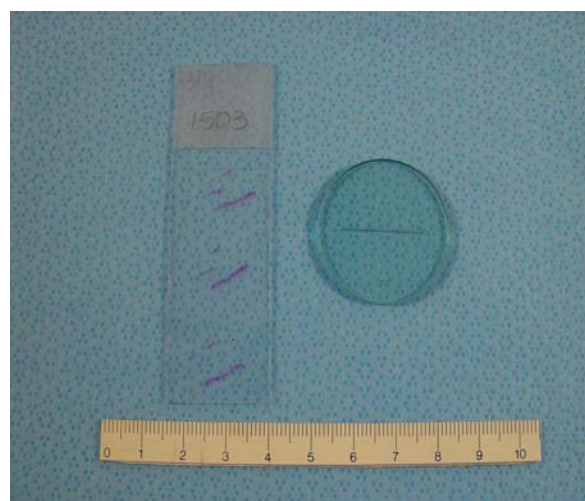


Figura 5: Lâmina corada pela técnica do HE e régua microscópica

4.9 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

Todas as biópsias foram avaliadas simultaneamente por dois patologistas, em um microscópio óptico de dupla observação e as discordâncias, resolvidas por consenso.

Inicialmente foram estudadas todas as biópsias coradas pelo HE e, numa segunda etapa com intervalo de três meses, foram observadas todas as biópsias coradas pela imunohistoquímica para a proteína S-100 (tabela 15).

Tabela 15: Etapas do trabalho

Etapas do Trabalho	Instrumento de Aferição
1 Confirmar a presença de adenocarcinoma	MO
2 Contar o número de fragmentos na lâmina	
3 Efetuar graduação histológica de Gleason	MO
4 Medir a extensão dos fragmentos (ExF)	Régua milimetrada
5 Medir a espessura do maior fragmento (EsF)	MO + RMO
6 Medir a extensão do carcinoma nos fragmentos acometidos (ExCa)	MO + Régua microscópica
7 Medir a maior espessura do fragmento com carcinoma (EsCa)	MO + RMO
8 Contar o número de nervos, medir o maior diâmetro e situá-los	MO + RMO
9 Contar o número de nervos invadidos pelo tumor e medir o maior diâmetro	MO + RMO

MO: microscópio óptico; RMO: retículo de medida ocular; ExF: medida em milímetros da extensão do fragmento; EsF: medida em unidades da espessura do maior fragmento; ExCa: medida em milímetros da extensão do carcinoma nos fragmentos acometidos; EsCa: medida em unidades da maior espessura do fragmento com carcinoma.

4.9.1 Medida da Área dos Fragmentos (AF)

A extensão dos fragmentos foi medida a olho nu com a régua milimetrada, colocada sobre a lâmina de vidro. A espessura do maior fragmento foi obtida em unidades padrão do RMO. Após transformar as unidades em milímetros, somou-se todas as extensões dos fragmentos e multiplicou-se pela espessura, como se fosse um retângulo (base x altura).

Exemplo:

$$\mathbf{AF = (ExF_1 + ExF_2 + ExF_3, ..) X EsF}$$

AF, área dos fragmentos em mm²

ExF, medida em milímetros da extensão do fragmento.

EsF, medida em unidades da espessura do maior fragmento.

Antes do cálculo as unidades foram transformadas em milímetros.

4.9.2 Medida da Área de Carcinoma (AC)

A extensão do carcinoma da próstata foi medida sob microscopia óptica com a régua milimetrada, colocada sobre a lâmina de vidro, entre esta e a objetiva. A espessura do maior carcinoma foi obtida em unidades padrão do RMO. Após transformar as unidades em milímetros, somou-se todos os focos de carcinoma e multiplicou-se pela espessura, como se fosse um retângulo (base x altura) (figuras 6 e 7).

Exemplo:

$$\mathbf{AC = (ExCa_1 + ExCa_2 + ExCa_3, ..) X EsCa}$$

AC, área de carcinoma em mm²

ExCa, medida em milímetros da extensão do carcinoma nos fragmentos acometidos.

EsCa, medida em unidades da maior espessura do fragmento com carcinoma.

Antes do cálculo as unidades foram transformadas em milímetros.

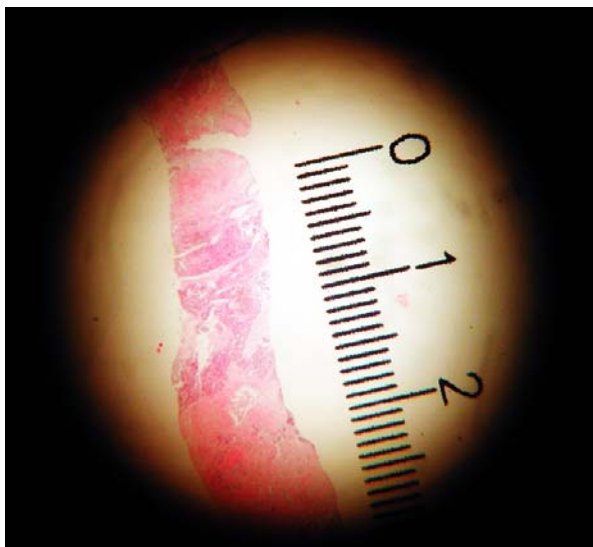


Figura 6: Medida da extensão do carcinoma com régua microscópica (0 ao 1,7 = 0,17 mm).HE, 10x

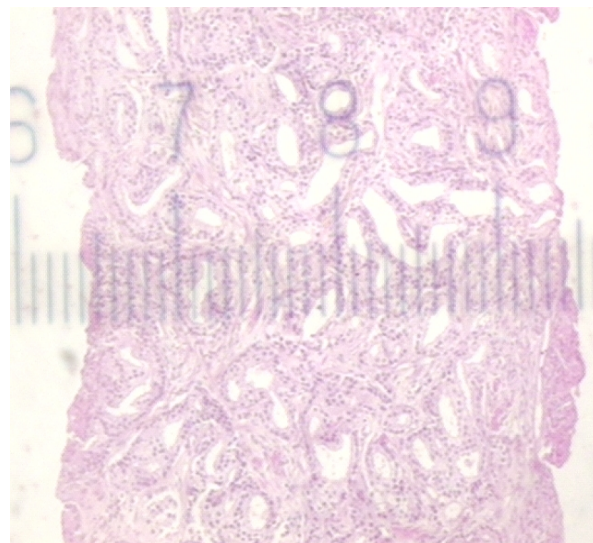


Figura 7: Medida da extensão do carcinoma com régua microscópica (6,4 a 9,5 = 0,31 mm). HE, 25x

4.9.3 Proporção de Carcinoma (PC)

A proporção de carcinoma do paciente foi obtida dividindo-se a área total de carcinoma pela área total de fragmentos.

Exemplo:

$$\text{PC} = \text{AC} / \text{AF}$$

PC, proporção de carcinoma em %.

AC, área de carcinoma em mm²

AF, área dos fragmentos em mm²

4.10 NERVO

Os nervos foram definidos como bandas de, pelo menos, três células de espessura, paralelas, com configuração fascicular. Não foram considerados nervos qualquer marcação positiva do S-100 em um fascículo com menos de 3 células paralelas ou menor do que 0,0083

milímetros de diâmetro, pois poderiam representar células dendríticas. A medida só foi utilizada como critério, quando houve controvérsia entre os patologistas sobre quantas células paralelas havia. Esta medida, 0,0083 mm, foi utilizada como limítrofe, pois representava a menor medida que o RMO permite fazer (1 unidade padrão) na objetiva de 40x e por corresponder a aproximadamente, três células paralelas.

Os nervos foram medidos com o RMO nos dois maiores eixos, independentemente da sua morfologia (o nervo que é tridimensional pode assumir diversos formatos nos preparados histológicos, em virtude da incidência do corte). O menor eixo foi considerado como o diâmetro. Reconheceu-se que um único nervo pode aparecer seccionado em várias porções, produzindo uma contagem maior de número absoluto de nervos (figura 8).

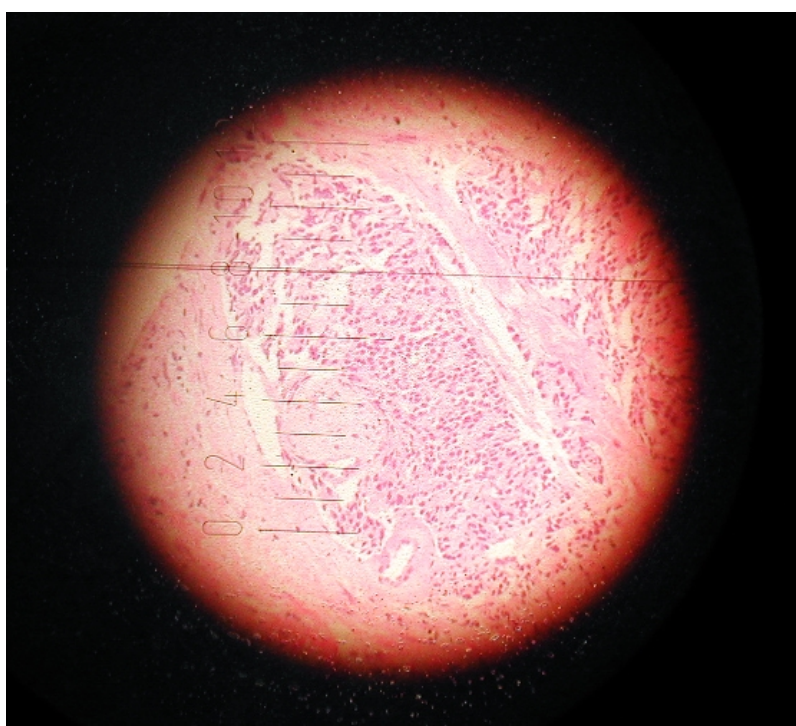


Figura 8: Medida do diâmetro de um nervo invadido pelo carcinoma com o retículo de medida ocular (2 ao 5 =0,1 mm). HE, 10x

4.11 INVASÃO DE NERVO

A invasão neural foi definida como glândulas de carcinoma da próstata circundando parcial ou totalmente um fascículo neural^{82,117}. Também foi considerada invasão de nervo a presença de glândulas ou grupos de células epiteliais atípicas no interior dos nervos. A distinção entre invasão e justa-posição perineural foi considerada. Justa-posição foi definida como glândulas benignas ou neoplásicas extrínsecas ao espaço perineural que focalmente comprimem o nervo^{142,143}.

Para a análise da invasão de nervos, os casos foram divididos em três grupos:

- I - ausência de invasão de nervo no H.E. e no S-100
- II - presença de invasão de nervo no H.E. e no S-100
- III - presença de invasão de nervo somente no S-100

4.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Os dados quantitativos foram descritos como média e desvio padrão. Na presença de assimetria utilizou-se a mediana e a amplitude interquartil. Nas variáveis categóricas, foi utilizada a frequência e o percentual.

A comparação dos dois grupos (técnica do HE e técnica imuno-histoquímica) foi realizada pelo teste t de Student e na assimetria pelo teste t de Wilcoxon. Nos dados categóricos utilizou-se o teste qui-quadrado de Mc Nemar.

Para a comparação, quanto à invasão de nervos (Grupo I: ausência de invasão de nervo no HE e no S-100; Grupo II: presença de invasão de nervo no HE e no S-100 e Grupo III: presença de invasão de nervo somente no S-100) foi realizada para as variáveis assimétricas transformação de *rank* previamente a ANOVA e, após o teste de Tuckey, nas variáveis com distribuição normal foi realizada a ANOVA.

Em alguns cálculos, para variáveis quantitativas, não foram utilizados todos os 70 pacientes, pois em avaliação prévia, com cálculo de tamanho de amostra, pôde se reduzir o número de casos avaliados sem perda do poder estatístico.

4.12.1 Programas Estatísticos

SPSS (Statistical Package for Social Science versão 11.0 - Chicago, IL).

EPI-INFO (versão 6.04B).

4.12.2 Significância Estatística

Um valor de $\alpha = 0,05$ foi considerado como estatisticamente significativo.

4.13 ASPECTOS BIOÉTICOS

O projeto foi submetido e aprovado pelo Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (GPPG-HCPA). Considerando-se que o estudo não

interferiria no tratamento e prognóstico dos pacientes, não foi necessária a apresentação do termo de consentimento informado do paciente.

4.14 FINANCIAMENTO

O estudo foi parcialmente financiado pelo FIPE e pelo PPG de Cirurgia.

5 RESULTADOS

Este estudo avaliou amostras de tecido prostático em 101 procedimentos consecutivos de biópsias transretais com carcinoma da próstata de 70 pacientes. A maioria dos pacientes (85,7%) tinha idade acima de 60 anos. Em 44, 28% dos pacientes o nível sérico do PSA total estava entre 4,0 a 10,0 ng/ml. Dos 70 pacientes, 29 (41,4%) tinham escore 7 de Gleason. Em todos os casos com invasão de nervo, outros critérios histológicos foram utilizados para determinar o diagnóstico de carcinoma da próstata. As tabelas 16 e 17 descrevem as características clínicas e histopatológicas dos pacientes estudados.

Dos 70 pacientes avaliados 31 (44,3%) apresentaram invasão de nervo pelo carcinoma da próstata no HE e 43 (61,4%) apresentaram invasão de nervo com a técnica imuno-histoquímica para a proteína S-100 ($p < 0,001$). Na área de carcinoma foram detectados mais nervos invadidos no S-100 do que no HE ($p < 0,001$) (figura 9, 10, 11 e 12) (tabela 18).

O diâmetro do maior nervo invadido pelo tumor não apresentou diferença estatística quando avaliado pelas duas colorações. Entretanto, o diâmetro do menor nervo invadido pelo carcinoma foi menor no S-100 do que no HE ($p = 0,007$), indicando que, com a técnica da imuno-histoquímica encontram-se mais nervos de menor tamanho invadidos, os quais

difícilmente são encontrados em lâminas coradas pela técnica do HE, explicando, em parte, os casos falso-negativos (tabela 18).

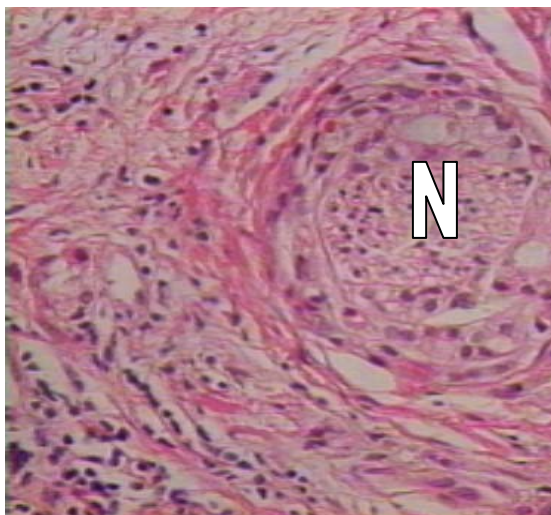


Figura 9: Secção transversal de nervo (N) envolto por ácinos neoplásicos. HE, 400x

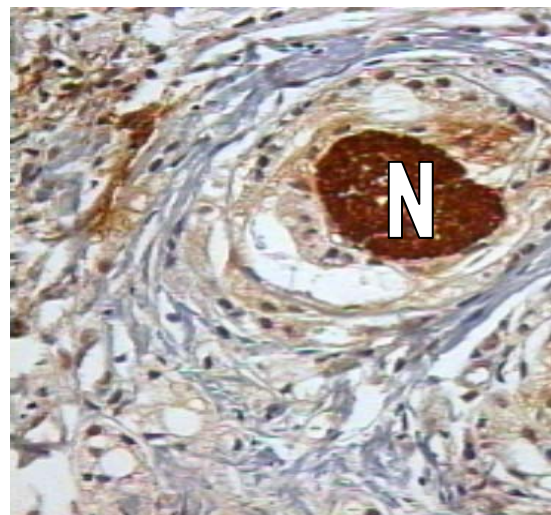


Figura 10: Secção transversal de nervo (N) envolto por ácinos neoplásicos. Proteína S-100, 400x

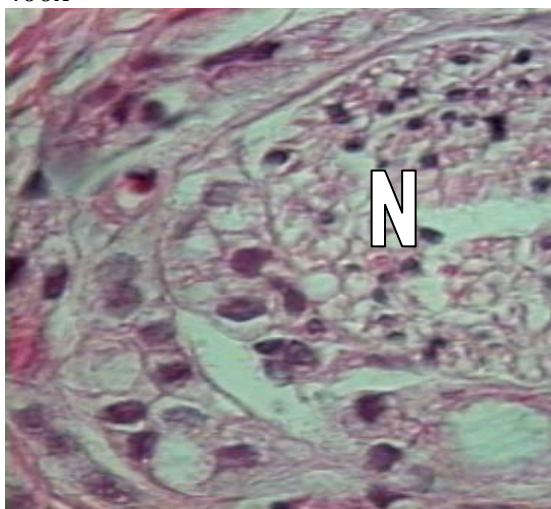


Figura 11: Secção transversal de nervo (N) envolto por ácinos neoplásicos. HE, 1000x

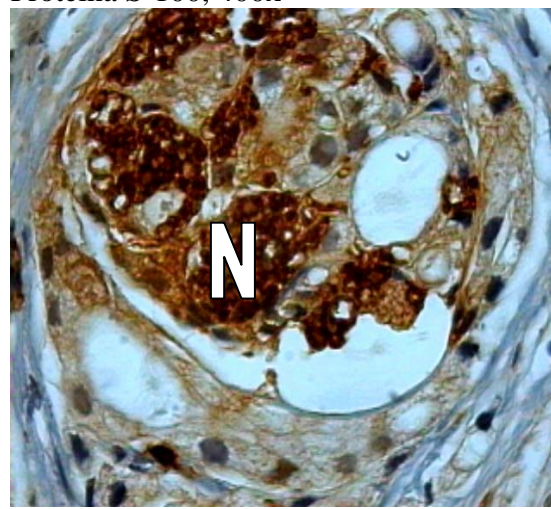


Figura 12: Secção transversal de nervo (N) envolto por ácinos neoplásicos. Proteína S-100, 1000x

Na comparação entre os pacientes que não apresentaram invasão de nervo, pacientes que apresentaram invasão de nervo somente no S-100 e pacientes que apresentaram invasão de nervo, tanto no HE, quanto no S-100, não houve diferença estatística para a variável idade. No exame das variáveis escore de Gleason, área de carcinoma, PSA e proporção de

carcinoma, não foi detectada diferença estatística entre os grupos I e III, mas o grupo II atingiu diferença estatística (tabela 19).

Tabela 16: Características descritivas dos pacientes com carcinoma de próstata (n=70)

Característica	Medida de sumário
Idade, anos	68,5±8,2
PSA sérico total, ng/ml	8,8 (6,2 – 20,0)
Escore de Gleason	6,8±1,0
Área de fragmentos, mm ² , HE	43,2 (30,1 – 64,5)
Área de carcinoma, mm ² , HE	13,5 (2,7 - 32,5)
Proporção da área de carcinoma, HE	0,31 (0,09 – 0,64)

Os dados são apresentados como média±desvio padrão ou mediana (amplitude interquartil: P25 – P75). PSA: antígeno prostático específico

Tabela 17: Distribuição dos pacientes segundo níveis de risco para recidiva bioquímica no carcinoma de próstata (n=70)¹⁴⁴

Nível de risco	f	%
Baixo: PSA ≤ 10 e Gleason ≤ 6	26	37,1
Intermediário: PSA 10 a 20 ou Gleason = 7	35	50,0
Alto: PSA > 20 ou Gleason ≥ 8	9	12,9

PSA: antígeno prostático específico (ng/ml)

Tabela 18: Comparação de aspectos relacionados aos nervos observados em biópsias transretais da próstata entre os métodos de coloração hematoxilina-eosina (HE) e imunohistoquímica da proteína S-100

Característica	HE	S-100	P
	n=16	n=16	
n° total de nervos/área, n°/mm ²	0,17±0,11	0,78±0,39	<0,001
	n=70	n=70	
n° nervos invadidos/área de carcinoma, n°/mm ²	0,0 (0,0 – 0,07)	0,13 (0,0 – 0,37)	<0,001
n° nervos invadidos	31 (44,3%)	43 (61,4%)	<0,001
	n=24	n=24	
diâmetro maior do nervo invadido, µm	0,0 (0,0 – 79,1)	50,0 (0,0 – 66,6)	0,84
	n=12	n=12	
diâmetro menor do nervo invadido, µm	33,3 (33,3 – 58,3)	16,6 (16,6 – 33,3)	0,007

Os dados são apresentados como média±desvio padrão, mediana (amplitude interquartil: P25 – P75) ou frequência (percentual).

Tabela 19: Comparação das características descritivas dos pacientes com carcinoma de próstata entre as técnicas de coloração e a invasão de nervo

Característica	Grupo I (n=27)	Grupo II (n=31)	Grupo III (n=12)	p
Idade, anos	66,1±8,3	70,0±8,7	70,3±5,2	0,15
PSA sérico total, ng/ml	7,7 (5,7-10,8)	17,5 (6,9-39,2)	7,3 (6,3-14,3)	0,03
Escore de Gleason	6,1±0,9	7,4±0,8	6,6±0,9	<0,001
Área de carcinoma, mm ² , HE	2,48 (0,95-10,07)	32,35 (21,57-51,34)	5,15 (2,66-19,21)	<0,001
Proporção da área de carcinoma, HE	0,08 (0,03-0,30)	0,60 (0,33-0,83)	0,14 (0,07-0,44)	<0,001

Os dados são apresentados como média±desvio padrão ou mediana (amplitude interquartil: P25 – P75).

PSA: antígeno prostático específico.

Grupo I: Ausência de invasão de nervo no H.E. e no S-100.

Grupo II: Presença de invasão de nervo no H.E. e no S-100.

Grupo III: Presença de invasão de nervo somente no S-100.

6 DISCUSSÃO

O estadiamento pré-operatório do carcinoma da próstata é baseado no toque retal, no PSA sérico, nos achados histopatológicos da biópsia e em exames de imagem. O toque retal, freqüentemente, subestima a extensão do tumor, e os exames de imagem acrescentam pouco para a acurácia do estadiamento pré-operatório. A interpretação pré-operatória do PSA sérico é confundida pela hiperplasia glandular e estromal da próstata e pelo grau de diferenciação do tumor¹⁴⁵. Portanto o PSA sérico não é suficientemente adequado para predizer estadiamento patológico final em um indivíduo com doença localizada. O escore de Gleason na biópsia é fortemente associado com estadiamento patológico final para pacientes que apresentam escores extremos (escores de 2 a 4 e de 8 a 10)⁵⁹. Entretanto, mais de 75% dos pacientes com carcinoma da próstata apresentam escore de Gleason entre 5 a 7, valores que não são bons preditores de estadiamento patológico. O estadiamento pré-operatório do carcinoma da próstata necessita de melhorias.

A invasão neural pelo carcinoma da próstata na biópsia, como preditor para estadiamento tumoral, tem sido examinada por vários estudos. Entretanto, o valor preditivo positivo encontrado é muito variado, uma das explicações para este fato é o modo como a peça de prostatectomia radical é examinada: inclusão parcial versus inclusão total. Outra

explicação a ser considerada é a quantidade de pacientes com doença confinada à próstata, o que também varia entre os estudos, podendo estar relacionada ao modo como a peça radical é examinada. A frequência de invasão neural também varia nos estudos de 20 a 38%, logo não é surpreendente que haverá diferenças entre os estudos quanto à especificidade, sensibilidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo ¹³⁵.

A invasão neural é um critério diagnóstico de carcinoma prostático e pode ter valor preditivo nesta doença. Entretanto, a detecção de invasão neural na biópsia é complicada por alguns fatores.

Primeiro, a distinção entre invasão e justa-posição perineural. Na justa-posição ocorre compressão focal do nervo por glândulas benignas ou neoplásicas extrínsecas ao espaço perineural ^{142,143}. Enquanto na invasão neural o fascículo nervoso está circundado parcial ou totalmente por glândulas de carcinoma ^{78,112} ou grupos de células epiteliais atípicas estão presentes no interior dos nervos.

Segundo, a extensão do carcinoma, medida não padronizada pela literatura, também pode afetar a detecção de invasão neural. Alguns estudos não mediram a extensão de carcinoma, outros mediram em forma de número de fragmentos atingidos pelo tumor. O presente estudo mediu a extensão tumoral quantitativamente, através de uma régua milimetrada. Acredita-se que esta forma seja mais adequada para estudos comparativos pois, tanto a medida subjetiva da extensão tumoral, quanto a contagem do número de fragmentos envolvidos pelo carcinoma, podem apresentar diferenças. Parece difícil estimar adequadamente a extensão de tumores pequenos, principalmente havendo muitos fragmentos. Quando se determina a extensão tumoral pela contagem de fragmentos envolvidos não se leva em consideração a possibilidade de que alguns destes fragmentos sejam repartidos durante o processamento, havendo diferenças na quantidade de fragmentos biopsiados, quantidade de

fragmentos examinados no exame macroscópico e, finalmente, quantidade de fragmentos na lâmina para avaliação histológica.

Terceiro, nervos são algumas vezes difíceis de serem detectados pelo método do HE, constituindo diagnósticos falso-negativos, talvez por este motivo o valor preditivo da invasão neural apresente baixa sensibilidade em alguns estudos ^{112,116}.

O presente estudo alocou 70 pacientes e comparou em punção-biópsia da próstata com carcinoma, as técnicas da HE com a imuno-histoquímica da proteína S-100, método mais sensível para identificar nervos.

Foi detectado, pelo presente estudo, que nos 70 pacientes avaliados 31 (44,3%) apresentaram invasão de nervo pelo carcinoma no HE e 43 (61,4%) apresentaram invasão de nervo com a técnica imuno-histoquímica para a proteína S-100 ($p<0,001$). Na área de carcinoma foram detectados mais nervos invadidos no S-100 do que no HE ($p<0,001$).

Estes achados são semelhantes aos encontrados por Aufranc e colaboradores, o qual avaliou 45 biópsias de próstata com carcinoma e encontrou 19 casos (42%) com invasão de nervo pelo carcinoma no HE e 32 casos (71%) no S-100 ¹⁴⁶.

A técnica da imuno-histoquímica com S-100 permitiu a detecção de nervos invadidos de menor diâmetro, os quais dificilmente são detectados nas lâminas coradas pelo HE. Estes casos não podem ser excluídos quando se quer avaliar a capacidade preditiva da invasão neural na biópsia.

O estudo de Zhou ¹¹⁶ não detectou mais invasão de nervo na técnica do S-100 do que no HE, entretanto foram examinadas apenas 27 biópsias de próstata com carcinoma em 11 pacientes, e destas apenas 3 apresentaram invasão de nervo.

Ao avaliar estudos que apresentam informações clínicas no momento da biópsia e de achados histopatológicos na biópsia corada pelo HE (Tabela 20), deve-se considerar que o número de pacientes, alocados nestes estudos, varia muito. Considerando como medida de tendência central a mediana, não há grandes diferenças entre os estudos, em relação ao escore de Gleason. Este estudo alocou pacientes mais idosos, com uma proporção maior de carcinoma na biópsia e encontrou mais nervos invadidos no HE do que os outros estudos. Inicialmente, pode-se considerar que a maior proporção de carcinoma foi determinante para termos encontrado mais invasão de nervos. Entretanto, o estudo de Zhou e colaboradores¹³³ tinha uma proporção semelhante de carcinoma e foi encontrada menos invasão de nervos. Além disso, os estudos de Sebo e colaboradores¹³⁰ e o de Freedland e colaboradores¹³² tinham uma proporção relativamente pequena de carcinoma e encontraram mais invasão de nervos do que os estudos de Zhou e colaboradores¹³³ e o de Bismar e colaboradores¹³⁵. Isso reforça a idéia de que nervos são, algumas vezes, difíceis de serem encontrados na coloração do HE.

No presente estudo, o grupo sem invasão de nervos apresentou parâmetros clínicos e histopatológicos semelhantes ao grupo com invasão de nervos somente no S-100 e estes grupos foram estatisticamente diferentes do grupo que apresentou invasão de nervos no HE e no S-100. Isso permite sugerir que em casos com PSA sérico elevado, escore de Gleason e proporção de carcinoma maior encontrar-se-á invasão de nervos, tanto no HE, quanto no S-100 (tabela 19). Entretanto, casos com PSA sérico, escore de Gleason e proporção de carcinoma menores, justamente os que serão mais diagnosticados com o incremento das técnicas diagnósticas, o estudo imuno-histoquímico é útil na detecção de nervos invadidos.

Tabela 20: Comparação de informações clínicas no momento da biópsia e de achados histopatológicos na biópsia corada pelo método do HE: revisão da literatura

Autor	Ano	Nº	Idade	PSA sérico, ng/ml	Escore de Gleason	Extensão do Carcinoma (%)	Invasão de Nervos (%)
Bastacky e cols. ⁷⁸	1993	302	ND	ND	< 7	ND	20
Egan e cols. ⁷⁹	1997	349	66	9,3	6	ND	38
de la Taille e cols. ¹¹⁹	1999	319	61	8,0	6	ND	24
Vargas e cols. ¹²⁶	1999	340	60,4	6,9	6	ND	17
Aufranc e cols. ¹⁴⁶	2000		ND	ND	ND	ND	42
Rubin e cols. ¹¹⁷	2000	632	61	6,2	ND	ND	18
Sebo e cols. ¹³⁰	2001	454	65	6,3	6	8,3	23
Fredland e cols. ¹³²	2002	190	62,5	8,7	6,1	12	17
Zhou e cols. ¹³³	2002	80	ND	10,2	ND	27	11
Bismar e cols. ¹³⁵	2002	215	64	ND	6	5	11
Litvin e cols.	2004	70	69	8,8	7	31	44

Os dados são apresentados como mediana.

ND: não disponível.

7 CONCLUSÕES

A coloração com a técnica imuno-histoquímica para a proteína S-100 aumenta a sensibilidade para reconhecer nervos em material de punção-biópsia de próstata. Além disso, com a técnica do S-100 se reconhecem mais invasões de nervos pelo carcinoma, as quais não eram visualizadas, quando coradas pela técnica do HE. Desta forma reduziu-se a quantidade de casos falso-negativos e demonstrou-se que o exame criterioso, de material de punção-biópsia de próstata coradas pela técnica do HE, não é suficiente para detectar todas as invasões de nervos pelo carcinoma da próstata.

Não se pode, portanto, desprezar esse achado histopatológico e novos estudos, para avaliar a capacidade preditiva da invasão neural na biópsia por agulha, devem ser realizados, considerando-se o exame imuno-histoquímico pelo anticorpo para a proteína S-100.

8 REFERÊNCIAS

1. American Cancer Society. Atlanta, GA, 2002. Disponível em: www.cancer.org. Acesso em 18 set. 2004.
2. Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, Dodds KM, Coplen DE, Yuan JJ, et al. Measurement of prostate-specific antigen in serum as screening test for prostate cancer. *N Engl J Med* 1991;324:1156-61.
3. Catalona WJ. Screening for prostate cancer: enthusiasm. *Urol* 1993;42:113-5.
4. Billis A. Patologia Cirúrgica da Próstata. Campinas: IDB; 2003. p. 83-205.
5. Epstein JI. Prostate biopsy interpretation. In: Silverberg SG (eds.). *Biopsy interpretation series*. New York: Raven Press; 1989.
6. Young RH, Srigley JR, Amin MB, Ulbright TM, Cubilla AL. Carcinoma of the prostate gland. In: Rosai J (ed), *Tumors of the prostate gland, seminal vesicles, male urethra and penis, Atlas of Tumor Pathology, Armed Forces Institute of Pathology, Third Series, Fascicle 28*, Washington DC, 2000. p. 111-216.
7. Bostwick DG. Neoplasms of the prostate. In: Bostwick DG, Eble JN (eds.). *Urologic Surgical Pathology*. St Louis: Mosby-Year Book, Inc; 1997. p. 343-422.

8. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA (eds.). World Health Organization Classification of tumors. Pathology and Genetics of tumours of the urinary system and male genital organs. Lyon: IARC Press; 2004. p. 159-92.
9. Frankel S, Smith GD, Donovan J, Neal D. Screening for prostate cancer. *Lancet* 2003;361:1122-8.
10. Oota K. Latent carcinoma of the prostate among japanese. *Acta Un Int Cancer* 1961;17: 952-7.
11. Akazaki K, Stemmermann GN. Comparative study of latent carcinoma of the prostate among japanese in Japan and Hawaii, *JNCI* 1973;50:1137-44.
12. Hutchison GB. Epidemiology of prostatic cancer. *Semin Oncol* 1976;3:151-9.
13. Scardino PT, Weaver R, Hudson MA. Early detection of prostate cancer. *Hum Pathol* 1992;23:211-22.
14. Postoky AL, Miller BA, Albertsen PC, Kramer B. The role of increasing detection in the rising incidence of prostate cancer. *JAMA* 1993;273:548-52.
15. Montie JE. Observations on the epidemiology and natural history of prostate cancer. *Urol* 1994;44:2-8.
16. Jacobsen SJ, Katusic SK, Bergstralh EJ, Oesterling JE, Ohrt D, Klee GG, et al. Incidence of prostate cancer diagnosis in the eras before and after serum prostate-specific antigen-testing. *JAMA* 1995;274:1445-9.
17. Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Raymond L, Young J, editors. Cancer incidence in five continents, Vol. 7, Lyon, France; International Agency for Research on Cancer; 1997.

18. Lu-Yao GL, Yao SL. Population-based study of long-term survival in patients with clinically localised prostate cancer. *Lancet* 1997;349:906-10.
19. Boyle P, Severi G. Epidemiology of prostate cancer chemoprevention. *Eur Urol* 1999; 35:370-6.
20. Gohagan JK, Prorok PC, Hayes RB, Kramer BS. The Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial of the National Cancer Institute: history, organization, and status. *Control Clin Trials* 2000;21:251-72.
21. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. Cancer incidence, mortality and prevalence world wide. *Globocan 2000*. Lyon, France: IARC Press; 2001.
22. INCA. Instituto Nacional do Câncer. Ministério da Saúde. [sem data]. Estimativas da incidência e mortalidade por câncer no Brasil, 2003. Disponível em: www.inca.org.br. Acesso em 18 set. 2004.
23. Magi-Galluzzi, Epstein JI. Thershold for diagnosing prostate cancer over time. *Hum Pathol* 2003;34:1116-8.
24. Gronberg H. Prostate cancer epidemiology. *Lancet* 2003;361:859-64.
25. Whitmore WF. Localized prostatic cancer: management and detection issues. *Lancet* 1994;343:1263-7.
26. Seidman H, Mushinski MH, Gelb SK, Silverberg E. Probalities of eventually developing or dying of cancer-Unitaded States, 1985. *CA Cancer J Clin* 1985;35:36-56.
27. Yatani R, Chigusa I, Akazaki K, Stemmermann GN, Welsh RA, Correa P. Geographic pathology of latente prostatic carcinoma. *Int J Cancer* 1982;29:611-6.
28. Seldomn CA, Williams RD, Fraley EE. Incidental carcinoma of the prostate: a rewiew of the literature and critical reappraisal of classification. *J Urol* 1980;124:626-31.

29. Breslow N, Chan CW, Dhom G, Drury RA, Franks LM, Gellei B, et al. Latent carcinoma of prostate at autopsy in seven areas. The international Agency for Research on Cancer, Lyons, France. *Int J Cancer* 1977;20:680-8.
30. Huncharek M, Muscat J. Genetic characteristics of prostate cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev* 1995;4:681-687.
31. Grönberg H, Isaacs SD, Smith JR. Characteristics of prostate cancer in families potentially linked to the hereditary prostate cancer 1 (HPC1) locus. *JAMA* 1997;278:1251-5.
32. Coffey DS. Prostate cancer. An overview of an increasing dilemma. *Cancer* 1993;71 (suppl.):880-6.
33. Montie JE. Observations on the epidemiology and natural history of prostate cancer. *Urol* 1994;44:2-8.
34. Carter BS, Bova GS, Beaty TH. Hereditary prostate cancer: epidemiological and clinical features. *J Urol* 1993;150:797-802.
35. Lesko SM, Rosenberg L, Shapiro S. Family history and prostate cancer risk. *Am J Epidemiol* 1996;144:1041-7.
36. Walsh PC, Partin AW. Family history facilitates the early diagnosis of prostate carcinoma. *Cancer* 1997;80:1871-4.
37. Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK, Iliadou A, Kaprio J, Koskenvuo M, et al. Environmental and heritable factors in the causation of cancer-analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark and Finland. *N Engl J Med* 2000;343:78-85.
38. Lloyd CW, Williams RH. Endocrine changes associated with Laennec's cirrhosis of the liver. *Am J Med* 1948;4:315-30.

39. Stamey TA, McNeal JE, Freiha FS, Redwine E. Morphometric and clinical studies on 68 consecutive radical prostatectomies. *J Urol* 1988;139: 1235-41.
40. Schröder FH, van der Maas P, Beemsterboer P, Kruger AE, Hoedemaeker R, Rietbergen J, et al. Evaluation of the digital rectal examination as a screening test for prostate cancer. Rotterdam section of the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:1817-23.
41. Jewett HJ, Bridge RW, Gray Jr GF, Shelley WM. The palpable nodule of prostate cancer. Results 15 years after radical excision. *JAMA* 1968;203:403-6.
42. Thompson IM, Ernst JJ, Gangai MP, Spence CR. Adenocarcinoma of the prostate: results of routine urological screening. *J Urol* 1984;132:690-2.
43. Rees MA, Resnick MI, Oesterling JE. Use of prostate-specific antigen, Gleason score, and digital rectal examination in staging patients with newly diagnosed prostate cancer. *Urol Clin North Am* 1997;24:379-88.
44. Mueller EJ, Crain TW, Thompson IM, Rodriguez FR. An evaluation of serial digital rectal examination in screening for prostate cancer. *J Urol* 1988;140:1445-7.
45. Thompson IM, Rounder JB, Teague JL, Peek M, Spence CR. Impact of routine screening for adenocarcinoma of the prostate on stage distribution. *J Urol* 1987;137:424-6.
46. Purohit RS, Shinohara K, Meng MV, Carroll PR. Imaging clinically localized prostate cancer. *Urol Clin N Am* 2003;30:279-93.
47. Oesterling JE, Rice DC, Glenski WJ, Bergstralh EJ. Effect of cystoscopy, prostate biopsy, and transurethral resection of prostate on serum prostate-specific antigen concentration. *Urol* 1993;42:276-82.

48. Monda JM, Barry MJ, Oesterling JE. Prostate specific antigen cannot distinguish stage T1a (A1) prostate cancer from benign prostatic hyperplasia. *J Urol* 1994;151:1291-5.
49. Ronnett BM, Carmichael MJ, Carter HB, Epstein JI. Does high grade prostatic intraepithelial neoplasia result in elevated serum prostate specific antigen level? *J Urol* 1993;150:386-9.
50. Epstein JI, Chan DW, Sokoll LJ, Walsh PC, Cox JL, Rittenhouse H, et al. Nonpalpable stage T1c prostate cancer: prediction of insignificant disease using free/total prostate specific antigen levels and needle biopsy findings. *J Urol* 1998;160: 2407-11.
51. Oesterling JE, Chan DW, Epstein JI, Kimball AW Jr, Bruzek DJ, Rock RC, et al. Prostate specific antigen in the preoperative and postoperative evaluation of localized prostatic cancer treated with radical prostatectomy. *J Urol* 1988;139:766-72.
52. Srougi M. Antígeno prostático específico: aspectos clínicos. *J Conselh Bras Saúde Prost*, 1992;1:5-7.
53. Ayala AG, Ro JY, Babaian R, Troncoso P, Grignon DJ. The prostatic capsule: Does it exist ? Its importance in the staging and treatment of prostatic carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1989;13:21-7.
54. Sakr WA, Wheeler TM, Blute M, Bodo M, Calle-Rodrigue R, Henson DE, et al. Staging and reporting of prostate cancer sampling of the radical prostatectomy specimen. *Cancer* 1996;78:366-8.
55. McNeal JE. Origin and development of carcinoma in the prostate. *Cancer* 1969;23:24-34.
55. Gleason DF, Mellinger GT, the Veterans Administration Cooperative Urological Research Group. Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging. *J Urol* 1974;111:58-64.

57. Gleason DF. Histologic grading of prostatic carcinoma, from Pathology of the prostate, Bostwick DG (Ed.), In: Contemporary Issues in Surgical Pathology, Vol. 15, Roth LM (Ed.), New York: Chuchill Livingstone; 1990.
58. Glaessgen A, Hamberg H, Pihl CG, Sundelin B, Nilsson B, Egevad L. Interobserver reproducibility of percent Gleason grade 4/5 in prostate biopsies. *J Urol* 2004;171:664-7.
59. Bostwick DG, Grignon DJ, Hammond EH, Amin MB, Cohen M, Crawford D, et al. Prognostic factors in prostate cancer. College of American Pathologists Consensus statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124: 995-1000.
60. Association of Directors of anatomic and surgical Pathology – Recommendations for the reporting of resected prostate carcinomas. *Hum Pathol* 1996;27:321-3.
61. Bostwick DG. Gleason grading of prostatic needle biopsies. Correlation with grade in 316 matched prostatectomies. *Am J Surg Pathol* 1994;18:796-803.
62. Spires SE, Cibull ML, Wood DP Jr, Miller S, Spires SM, Banks ER. Gleason histologic grading in prostatic carcinoma. Correlation of 18-gauge core biopsy with prostatectomy. *Arch Pathol Lab Med* 1994; 118:705-8.
63. Kojima M, Troncoso P, Babaian RJ. Use of prostate-specific antigen and tumor volume in predicting needle biopsy grading error. *Urol* 1995;45:807-12.
64. Thickman D, Speers WC, Philpott PJ, Shapiro H. Effect of the number of core biopsies of the prostate on predicting Gleason score of prostate cancer. *J Urol* 1996;156:110-3.
65. Cookson MS. Correlation between Gleason score of needle biopsy and radical prostatectomy specimen: accuracy and clinical implications. *J Urol* 1997;157:559-62.

66. Steinberg DM. Correlation of prostate needle biopsy and radical prostatectomy Gleason grade in academic and community settings. *Am J Surg Pathol* 1997;21:566-76.
67. Iczkowski KA, MacLennan GT, Bostwick DG. Atypical small acinar proliferation suspicious for malignancy in prostate needle biopsies: clinical significance in 33 cases. *Am J Surg Pathol* 1997;21:1489-95.
68. Orozco R, Schwob V, Bassler T, Egan A, O'Dowd G, Bostwick DG. The diagnosis of "suspicious" for adenocarcinoma in prostate biopsies: Evaluation of follow-up biopsies (abstract). *Mod Pathol* 1997;10:84A.
69. Rodrigues Netto Jr N. Manual de Urologia, Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, Campinas, 1981.
70. Bostwick DG. Significance of tumor in prostate cancer. *Urol Ann (Paris)* 1994;8:1-22.
71. Ohori M, Wheeler TM, Kattan MW, Goto Y, Scardino PT. Prognostic significance of positive surgical margins in radical prostatectomy specimens. *J Urol* 1995;154:1818-24.
72. Theiss M, Wirth MP, Manseck A, Frohmuller HG. Prognostic significance of capsular invasion and capsular penetration in patients with clinically localized prostate cancer undergoing radical prostatectomy. *Prostate* 1995;27:13-7.
73. Mc Neal JE, Bostwick DG. Anatomy of the prostate: implications for disease. In: Bostwick DG, editor. *Pathology of the prostate*. New York: Churchill Livingstone; 1990. p. 1-14.
74. Cheng L, Darson MF, Bergstralh EJ, Slezak J, Myers RP, Bostwick DG. Correlation of margin status and extraprostatic extension with progression of prostate carcinoma. *Cancer* 1999;86:1775-82.

75. Epstein JI, Partin AW, Sauvageot J, Walsh PC. Prediction of progression following radical prostatectomy. A multivariate analysis of 721 men with long-term follow-up. *Am J Surg Pathol* 1996;20:286-92.
76. Paulson DF, Moul JW, Walther PJ. Radical prostatectomy for clinical stage T1-2N0M0 prostatic adenocarcinoma: long-term results. *J Urol* 1990;144:1180-4.
77. Epstein JI, Carmichael M, Partin AW, Walsh PC. Is tumor volume an independent predictor of progression following radical prostatectomy ? A multivariate analysis of 185 clinical stage B adenocarcinomas of the prostate with 5 years of follow-up. *J Urol* 1993;149:1478-81.
78. Bastacky SI, Walsh PC, Epstein JI. Relationship between perineural tumor invasion on needle biopsy and radical prostatectomy capsular penetration in clinical stage B adenocarcinoma of the prostate. *Am J Surg Pathol* 1993;17:336-41.
79. Egan AJM , Bostwick DG. Prediction of extraprostatic extension of prostate cancer based on needle biopsy findings: perineural invasion lacks significance on multivariate analysis. *Am J Surg Pathol* 1997;21:1496-500.
80. Ohori M, Scardino PT, Lapin SL, Seale-Hawkins C, Link J, Wheeler TM. The mechanisms and prognostic significance of seminal vesicle involvement by prostate cancer. *Am J Surg Pathol* 1993;17:1252-61.
81. Saitoh H, Hida M, Shimbo T, Nakamura K, Yamagata J, Satoh T. Metastatic patterns of prostatic cancer. Correlation between sites and number of organs involved. *Cancer* 1984;54:3078-84.
82. de la Monte SM, Moore GW, Hutchins GM. Metastatic behavior of prostate cancer. Cluster analysis of patterns with respect to estrogen treatment. *Cancer* 1986;58:985-93.

83. Walsh PC. Radical prostatectomy for the treatment of localized prostatic carcinoma. *Urol Clin North Am* 1980;7:583-91.
84. Walsh PC, Epstein JI, Lowe FC. Potency following radical prostatectomy with wide unilateral excision of the neurovascular bundle. *J Urol* 1987;138:823-7.
85. Walsh PC. Nerve sparing radical prostatectomy for early stage prostate cancer. *Semin Oncol* 1988;51:351-8.
86. Epstein JI. The role of perineural invasion and other biopsy characteristics as prognostic markers for localized prostate cancer. *Semin Urol Oncol* 1998;16:124-8.
87. Huggins C , Hodges CV. Studies in prostate cancer. I. The effect of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in mnetastatic carcinoma of the prostate. *Cancer Res* 1941;1:293-7.
88. Huggins C, Stevens Jr RE , Hodges CV. Studies in prostate cancer. II. The effects of castration on advanced carcinoma of the prostate gland. *Arch Surg* 1941;43:209-23.
89. Adolfsson J, Rönström L, Löwhagen T, Carstensen J , Hedlund PO. Deferred treatment of clinically localized low grade prostate cancer: The experience from a prospective series at the Karolinska Hospital. *J Urol* 1994;152:1757-60.
90. Thompson IM. Observation alone in the management of localized prostate cancer. The natural history of untreated disease. *Urol* 1994;43 (suppl.):41-6.
91. Adolfsson J, Steineck G, Hedlund PO. Deferred treatment of locally advanced nonmetastatic prostate cancer: a long term follow-up. *J Urol* 1999;161(2):505-8.
92. Krejei KG, Markiewicz MA, Kwon ED. Immunotherapy for urological malignancies. *J urol* 2004;171(2Pt1):870-6.

93. Freddland SJ, Pantuck AJ, Weider J, Zisman A, Belldegrun AS. Immunotherapy of prostate cancer. *Curr Urol Rep* 2001;2:242-7.
94. Humphrey P, Vollmer RT. The ratio of prostate chips with cancer: a new measure of tumor extent and its relationship to grade and prognosis. *Hum Pathol* 1988;19: 411-8.
95. Partin AW, Kattan MW, Subong EN, Walsh PC, Wojno KJ, Oesterling JE, et al. Combination of prostate-specific antigen, clinical stage, and Gleason score to predict pathological stage of localized prostate cancer. A multi-institutional update. *JAMA* 1997;277:1445-51.
96. Oesterling JE, Brendler CB, Epstein JI, Kimball AW Jr, Walsh PC. Correlation of clinical stage, serum prostatic acid phosphatase and preoperative Gleason grade with final pathological stage in 275 patients with clinically localized adenocarcinoma of the prostate. *J Urol* 1987;138:92-8.
97. Hull GW, Rabbani F, Abbas F, Wheeler TM, Kattan MW, Scardino PT. Cancer control with radical prostatectomy alone in 1,000 consecutive patients. *J Urol* 2002;167:528-34.
98. Carter HB, Partin AW. Diagnosis and staging of prostate cancer. In: Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED, Wein AJ, editors. *Campbell's urology*. 8TH edition. Philadelphia: WB Saunders; 2002; 3055-79.
99. Stamey TA, Johnstone IM, McNeal JE, Lu AY, Yemoto CM. Preoperative serum prostate specific antigen levels between 2 and 22 ng/ml correlate poorly with post-radical prostatectomy cancer morphology: prostate specific antigen cure rates appear constant between 2 and 9 ng/ml. *J Urol* 2002;167:103-11.
100. Carter HB, Pearson JD, Metter EJ, Brant LJ, Chan DW, Andres R, et al. Longitudinal evaluation of prostate specific antigen levels in men with and without prostate disease. *JAMA* 1992;267:2215-20.

101. Stamey TA, Yang N, Hay AR, McNeal JE, Freiha FS, Redwine E. Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *N Engl J Med* 1987;317:909-16.
102. Stamey TA. Localized prostate cancer. Relationship of tumor volume to clinical significance for treatment of prostate cancer. *Cancer* 1993;71:933-8.
103. Cupp MR, Bostwick DG, Myers RP, Oesterling JE. The volume of prostate cancer in the biopsy specimen cannot reliably predict the quantity of cancer in the radical prostatectomy specimen on an individual basis. *J Urol* 1995;153:1543-8.
104. Noguchi M, Stamey TA, McNeal JE, Yemoto CM. Preoperative serum prostate specific antigen does not reflect biochemical failure rates after radical prostatectomy in men with large volume cancers. *J Urol* 2000;164:1596-600.
105. Ross PL, Scardino PT, Kattan MW. A catalog of prostate cancer nomograms. *J Urol* 2001;165:1562-8.
106. Partin AW, Mangold LA, Lamm DM, Walsh PC, Epstein JI, Pearson JD. Contemporary update of prostate cancer staging nomograms (Partin Tables) for the new millennium. *J Urol* 2001;58:843-8.
107. Blute ML, Bergstralh EJ, Partin AW, Walsh PC, Kattan MW, Scardino PT, et al. Validation of Partin tables for predicting pathologic stage of clinically localized prostate cancer. *J Urol* 2000;164:1591-5.
108. Kattan MW, Eastham JA, Stapleton AM, Wheeler TM, Scardino PT. A preoperative nomogram for disease recurrence following radical prostatectomy for prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90:766-71.

109. Merrick GS, Butler WM, Galbreath RW, Lief JH, Adamovich E. Perineural invasion is not predictive of biochemical outcome following prostate brachytherapy. *Cancer J* 2001;7:404-12.
110. Shattock SG. Invasion of the nerves in carcinoma of the sublingual salivary gland associated with carcinoma of the tongue. *Proc R Soc Med* 1921;15:13-6.
111. Ballantyne AJ, McCarten AB, Ibanez ML. The extension of cancer of the head and neck through peripheral nerves. *Am J Surg* 1963;106:651-67.
112. Byar DP, Mostofi FK, the VA Cooperative Urological Research Group. Carcinoma of the prostate: prognostic evaluation of certain pathologic features in 208 radical prostatectomies. *Cancer* 1972;30:5-13.
113. Rodin AE, Larson DL, Roberts DK. Nature of the perineural space invaded by prostatic carcinoma. *Cancer* 1967;20:1772-9.
114. Hassan MO, Maksem J. The prostatic perineural space and its relation to tumor spread. An ultrastructural study. *Am J Surg Pathol* 1980;4:143-8.
115. Villers A, McNeal JE, Redwine EA, Freiha FS, Stamey TA. The role of perineural space invasion in the local spread of prostatic adenocarcinoma. *J Urol* 1989;142:763-8.
116. Zhou M, Patel A, Rubin MA. Prevalence and location of peripheral nerve found on prostate needle biopsy. *Am J Clin Pathol*. 2001;115:39-43.
117. Rubin MA, Bassily N, Sanda M, Montie J, Strawderman MS, Wojno K. Relationship and significance of greatest percentage of tumor and perineural invasion on needle biopsy in prostatic adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 2000;24:183-9.

118. Yang G, Wheeler TM, Kattan MW, Scardino PT, Thompson TC. Perineural invasion of prostate carcinoma cells is associated with reduced apoptotic index. *Cancer* 1996;78:1267-71.
119. de la Taille A, Katz A, Bagiella E, Olsson CA, O'Toole KM, Rubin MA. Perineural invasion on prostate needle biopsy: an independent predictor of final pathologic stage. *Urol* 1999;54:1039-43.
120. de la Taille A, Rubin MA, Bagiella E, Olsson CA, Buttvan R, Burchardt T, et al. Can perineural invasion on prostate needle biopsy predict prostate specific antigen recurrence after radical prostatectomy ? *J Urol* 1999;162:103-6.
121. Varma M, Lee MW, Tamboli P, Zarbo RJ, Jimenez RE, Salles PG, Amin MB. Morphologic criteria for the diagnosis of prostatic adenocarcinoma in needle biopsy specimens. A study of 250 consecutive cases in a routine surgical pathology practice. *Arch Pathol Lab Med* 2002; 126:554-61.
122. O'Malley KJ. Influence of biopsy perineural invasion on long-term biochemical disease-free survival after radical prostatectomy. *Urol* 2002;59:85-90.
123. Epstein JI. The role of perineural invasion and other biopsy characteristics as prognostic markers for localized prostate cancer. *Semin Urol Oncol* 1998;16:124-8.
124. Ravery V, Boccon-Gibod LA, Dauge-Geffroy MC, Billebaud T, Delmas V, Meulemans A, et al. Systematic biopsies accurately predict extracapsular extension of prostate cancer and persistent/recurrent detectable PSA after radical prostatectomy. *Urol* 1994;44:371-6.
125. Ukimura O, Troncoso P, Ramirez EJ. Prostate cancer staging: correlation between ultrasound determined tumor contact length and pathologically confirmed extraprostatic extension. *J Urol* 1996;159:1251-9.

126. Vagas SO, Jiroutek M, Welch WR, Nucci MR, D'Amico AV, Renshaw AA. Perineural invasion in prostate needle biopsy specimens: correlation with extraprostatic extension at resection. *Am J Clin Pathol* 1999;111:223-8.
127. Endrizzi J, Seay T. The relationship between early biochemical failure and perineural invasion in pathological T2 prostate cancer. *BJU Int* 2000;85:696-8.
128. Maru N, Ohori M, Kattan MW, Scardino PT, Wheeler TM. Prognostic significance of the diameter of perineural invasion in radical prostatectomy specimens. *Hum Pathol* 2001;32:828-33.
129. Ozcan F. Correlation of perineural invasion on radical prostatectomy specimens with other pathologic prognostic factors and PSA failure. *Eur Urol* 2001;40:308-12.
130. Sebo TJ, Cheville JC, Riehle DL, Lohse CM, Pankratz VS, Myers RP, et al. Predicting prostate carcinoma volume and stage at radical prostatectomy by assessing needle biopsy specimens for percent surface area and cores positive for carcinoma, perineural invasion, Gleason score, DNA ploidy and proliferation, and preoperative serum prostate specific antigen: a report of 454 cases. *Cancer* 2001;91:2196-204.
131. Sebo TJ, Cheville JC, Riehle DL, Lohse CM, Pankratz VS, Myers RP, et al. Perineural invasion and MIB-1 positivity in addition to Gleason score are significant preoperative predictors of progression after radical retropubic prostatectomy for prostate cancer. *Am J Surg Pathol* 2002;26:431-9.
132. Freedland SJ, Csathy GS, Dorey F, Aronson WJ. Percent prostate needle biopsy tissue with cancer is more predictive of biochemical failure or adverse pathology after radical prostatectomy than prostate specific antigen or Gleason score. *J Urol* 2002;167:516-20.

133. Zhou M, Shah R, Ingold C. Simultaneous evaluation for presence of nerve and perineural invasion on prostate needle biopsy improve predictability for extraprostatic extension on radical prostatectomy [Abstract]. *Mod Pathol* 2002;15:189.
134. Ohori M, Maru N, Scardino PT. Significance of perineural invasion (PNI) by prostate cancer in systematic needle biopsy [Abstract]. *J Urol* 2002;167(suppl):229.
135. Bismar TA, Lewis JS, Vollmer RT, Humphrey PA. Multiple measures of carcinoma extent versus perineural invasion in prostate needle biopsy tissue in prediction of pathologic stage in a screening population. *Am J Surg Pathol* 2003;27:423-40.
136. Brooks JSJ. Prostate. In: Stenberg SS (ed.). *Diagnostic Surgical Pathology*. 3 ed. Philadelphia: Lippincott; 1999. p. 1893-42.
137. Enzinger, Weiss. *Soft tissue tumors*. Sharon Weiss, John R Goldblum (eds.), 4ed, 2001, St Louis, Missouri: Mosby Inc; p. 216.
138. Moore BW. A soluble protein characteristics of the nervous system. *Biochem Biophys Res Commun* 1965;19:739-44.
139. Benda P, Lightbody J, Sato G, Levine L, Sweet E. Differentiated rat glial cell stain in tissue culture. *Science* 1968;161:370-1.
140. Kahn HJ, Marks A, Heather T, Reuben B. Role of antibody to S-100 protein in diagnostic pathology. *Am J Clin Pathol* 1983;79:341-7.
141. Vanstapel MJ, Gatter KC, De Wolf-Peeters C, Mason DY, Desmet VD. New sites of human S-100 immunoreactivity detected with monoclonal antibodies. *Am J Clin Pathol* 1986;85:160-8.
142. Carstens PHB. Perineural glands in normal and hyperplastic prostates. *J Urol* 1980;123:686-8.

143. McIntire TL, Franzina DA. The presence of benign prostate glands in perineural spaces. *J Urol* 1986;135:507-9.
144. D'Amico AV, Whittington R, Malcowicz SB, Schultz D, Blank K, Broderik GA, et al. Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer. *JAMA* 1998; 280:969-74.
145. Partin AW, Yoo J, Carter HB, Pearson JD, Chan DW, Epstein JI, et al. The use of prostate-specific antigen, clinical stage and Gleason score to predict pathologic stage in men with localized prostate cancer. *J Urol* 1993;150:110-4.
146. Aufranc S, Rosen S, Li T, Balk S, Upton M. Unrecognized perineural invasion in prostate needle biopsies is revealed by staining for S-100 protein[abstract]. *Mod Pathol* 2000;13:92A.
147. Junqueira LC, Carneiro J. *Histologia básica*. 6ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan SA. Copyright; 1985. p. 163-96.
148. Hidalgo CA, Weller RO. Peripheral nervous system. In: Sternberg SS (ed). *Histology for Pathologists*. 2 ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1997. p. 285-311.
149. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 1981;29:577.

**9 ARTIGO: INVASÃO DE NERVOS PELO CARCINOMA DA
PRÓSTATA EM BIÓPSIAS TRANSRETAIS**

**INVASÃO DE NERVOS PELO CARCINOMA DA PRÓSTATA EM BIÓPSIAS
TRANSRETAIS**

Litvin IE*, Coelho GP[§], Edelweiss MIA[†]

* Médico patologista, mestrando do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Cirurgia da UFRGS.

§ Médico patologista, mestrando do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Cirurgia da UFRGS.

† Professora Adjunto do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da UFRGS.

Serviço de Patologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

Correspondência para: Isnard Elman Litvin
Rua Felipe de Oliveira, 400/402
90630-000 – Porto Alegre, RS – Brasil
e-mail: ielitvin@aol.com

RESUMO

Introdução e Objetivo: A invasão de nervos pelo carcinoma da próstata, em biópsias por agulha, pode ser um preditor independente de extensão extra-prostática e pode influenciar no manejo cirúrgico. Nervos são, algumas vezes, difíceis de serem visualizados em biópsias por agulha da próstata coradas pela técnica da hematoxilina e eosina. É possível que, utilizando-se a técnica da imuno-histoquímica com o anticorpo para a proteína S-100, os nervos e a invasão de nervos sejam mais facilmente detectados, reduzindo-se a quantidade de falso-negativos.

Material e Método: Foram examinados 101 exames de biópsias por agulha, correspondendo a setenta pacientes, com carcinoma da próstata, através de lâminas coradas pela técnica da hematoxilina e eosina, selecionados a partir de 500 exames consecutivos. Obtiveram-se novos cortes dos mesmos blocos de parafina que foram corados pela técnica imuno-histoquímica, utilizando o anticorpo policlonal para a proteína S-100. O número total de nervos, o número de nervos invadidos pelo carcinoma da próstata, o número de nervos por área de tecido, o número de nervos invadidos por área de carcinoma e o diâmetro dos nervos invadidos pelo carcinoma foram determinados por dois investigadores, nas duas técnicas de coloração.

Resultados: Dos 70 pacientes avaliados 31 (44,3%) apresentaram invasão de nervo pelo carcinoma no HE e 43 (61,4%) apresentaram invasão de nervo com a técnica imuno-histoquímica da proteína S-100 ($p < 0,001$). Na área de carcinoma foram detectados mais nervos invadidos no S-100 do que no HE ($p < 0,001$). O diâmetro do menor nervo invadido pelo carcinoma foi menor no S-100 do que no HE ($p = 0,007$).

Conclusão: A coloração com a técnica imuno-histoquímica com o anticorpo para a proteína S-100 aumenta a sensibilidade para reconhecer nervos em material de punção-biópsia da próstata por agulha. Também, com o S-100 se reconhecem mais invasões de nervos pelo carcinoma da próstata, as quais não eram visualizadas quando coradas com o HE. Desta forma reduziu-se a quantidade de casos falso-negativos e demonstrou-se que o exame criterioso de espécimes corados com o HE não é suficiente para detectar todas as invasões de nervos pelo carcinoma da próstata.

PALAVRAS-CHAVE: Carcinoma da próstata; Invasão de nervo; Imuno-histoquímica; Proteína S-100.

SUMMARY

Background: The identification of perineural invasion in prostate needle biopsies may be an independent predictor of extraprostatic extension of prostatic carcinoma and may also affect surgical management. Nerves are often difficult to recognize on hematoxylin and eosin stained prostate needle biopsies. Perhaps using an immunohistochemical stain for S-100 protein, nerves and the presence of perineural invasion, may be more easily detected.

Methods: We examined 101 (70 patients) cases of prostatic carcinoma by routine HE stain to determine perineural invasion and nerves. Step sections were immunostained for S-100 protein (polyclonal antibody). The total number of nerves, the number of nerves showing perineural invasion, the number of nerves per square millimeter of tissue, the number of nerves showing perineural invasion per square millimeter of prostatic carcinoma and the diameter of perineural invasion were determined by two investigators on the HE and S-100 stained prostate needle biopsies.

Results: Among the 70 patients, perineural invasion was detected in 31 (44,3%) patients on HE stained sections and in 43 (61,4%) on S-100 stained sections ($p < 0,001$). The prostate needle biopsies on median showed more perineural invasion on S-100 stained than on HE ($P < 0,001$). The minimum diameter of perineural invasion was smaller on S-100 stained than on HE ($p = 0,007$).

Conclusions: S-100 staining increases the sensitivity with which nerves are recognized in prostate needle biopsies. More significantly, S-100 staining reveals perineural invasion by prostatic carcinoma that is often unrecognized in HE stained sections. These results support that careful examination of routine HE-stained specimens is not sufficient to detect all important nerve invasion.

KEY WORDS: Prostate carcinoma; Perineural invasion; Immunohistochemistry; S-100 protein.

INTRODUÇÃO

A invasão de nervos por células de carcinoma já era reconhecida desde 1921 em neoplasias da glândula salivar¹. Desde então, tem sido observada em várias neoplasias, inclusive na próstata^{2,3}.

Rodin e colaboradores demonstraram que não havia vasos linfáticos dentro do perineuro e que o crescimento do tumor, no espaço perineural, refletia a extensão do carcinoma da próstata, através de planos teciduais de menor resistência⁴⁻⁶. Acredita-se que a invasão neural seja a principal rota para disseminação extra-prostática do carcinoma⁵⁻⁸. McNeal e colaboradores demonstraram que 85% dos casos de penetração capsular estão relacionados com a invasão neural⁹. De acordo com estas observações, Stamey e colaboradores⁴³ demonstraram que 89% da invasão capsular ocorre na região dorsolateral da próstata, em carcinomas de baixo grau e o restante da invasão capsular ocorre por extensão direta^{6,7}.

Carcinomas volumosos, muitos dos quais são, em geral, pouco diferenciados (padrão 4 ou 5 de Gleason), podem apresentar extensão extra-prostática devido a sua agressividade⁷. Cerca de 50% dos pacientes com invasão neural na biópsia apresentam extensão extra-prostática, provavelmente devido à associação entre invasão neural e volume tumoral¹⁰.

A invasão neural pelo carcinoma da próstata não é um efeito somente de volume, pois carcinomas pequenos também podem apresentar invasão de nervo. Yang e colaboradores relataram que o componente neural favorece o crescimento da neoplasia, inibindo a apoptose, o que facilitaria a disseminação do carcinoma, através de nervos, mesmo em carcinomas considerados pequenos¹¹.

A identificação de invasão neural em punção-biópsia de tecido prostático com adenocarcinoma, varia em torno de 20% a 38% e pode ser o único critério diagnóstico de carcinoma nas biópsias¹²⁻¹⁷, mas é muito mais freqüente em peças de prostatectomias radicais^{3,8}.

Na análise univariada, a invasão neural em biópsias pré-tratamento foi preditiva para estadiamento patológico final, extensão extraprostática da neoplasia, invasão de vesículas seminais, risco de elevação do PSA, após prostatectomia radical e metástase para linfonodos^{10,13,14,16}. Entretanto, seu valor é controverso como fator independente em análises multivariadas,^{3,8,12,14-16,18,19} após consideração do grau de Gleason, PSA sérico e quantidade de tumor na biópsia.

Bastacky¹³, Ohori²⁰, e Maru²¹ demonstraram que o diâmetro do nervo invadido é um preditor independente de progressão tumoral e de extensão extra-prostática.

Além disso, para alguns autores, a invasão neural pode influenciar em escolhas terapêuticas como secção de feixe neurovascular e a dissecação de linfonodos pélvicos, durante a prostatectomia radical¹².

A literatura mostra que a especificidade da invasão neural, na biópsia, para prever a extensão extraprostática na peça radical, é elevada, variando de 70% a 96%, porém a sensibilidade é baixa, variando de 27% a 51%. O valor preditivo positivo varia de 38-93 %, o valor preditivo negativo varia de 37-71% e acurácia de 49-63 %. A sensibilidade de invasão de nervos, observada nas biópsias, como teste diagnóstico para prever invasão de vesícula seminal, foi de 55%, a especificidade foi 65%, o valor preditivo positivo de 23%, o valor preditivo negativo de 88% e a acurácia de 64%^{10,13,14,16}. Possíveis explicações para a baixa sensibilidade são: a ausência de nervos em alguns espécimes de biópsias, ou a não detecção destes pelo método convencional (coloração pela técnica da hematoxilina e eosina)^{8,13,14}.

Esses casos seriam considerados como negativos, elevando a quantidade de casos falso-negativos e reduzindo a sensibilidade ⁸.

Nervos são, algumas vezes, difíceis de serem detectados pelo método da hematoxilina e eosina, talvez por este motivo, o valor preditivo da invasão neural apresente baixa sensibilidade em alguns estudos. É possível que, utilizando-se a técnica da imunohistoquímica com a proteína S-100, nervos e a presença de invasão neural sejam mais facilmente detectados, reduzindo-se a quantidade de falso-negativos ^{3,8}.

MATERIAL E MÉTODO

População estudada

O presente estudo avaliou 70 pacientes submetidos a biópsias transretais da próstata com carcinoma, no período de seis meses, no ano de 2000, realizadas no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Estes casos foram selecionados a partir de 500 exames consecutivos de biópsias por agulha, dos quais 101 (provenientes de 70 pacientes) apresentaram carcinoma. A técnica da biópsia, incluindo o número de fragmentos obtidos e locais biopsiados variou de acordo com a indicação do médico urologista e/ou radiologista. Não foi definido um único médico que efetuará as biópsias, nem uma padronização da técnica.

Os fragmentos biopsiados foram encaminhados e processados no Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. A técnica da imunohistoquímica foi efetuada no Centro de Pesquisa Experimental do HCPA.

Critérios de inclusão

Todos os casos de biópsias por agulha da próstata do arquivo do Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, no período de 26 de abril de 2000 até 15 de setembro do mesmo ano.

Critérios de exclusão

1 - Casos de biópsias por agulha da próstata sem carcinoma da próstata.

2 - Casos de biópsias por agulha da próstata “suspeito mas não diagnóstico de carcinoma”.

Parâmetros clínicos

Foram analisados, após consulta do prontuário médico do paciente, parâmetros prévios à biópsia, como idade do paciente e PSA sérico total.

Delineamento do estudo

Estudo transversal contemporâneo de base populacional

Preparação do material

Todas as biópsias foram fixadas em formalina tamponada a 10%, processadas (desidratação em álcool etílico de concentrações crescentes, clareamento em xilol, impregnação pela parafina fundida) e incluídas em parafina. Os blocos de parafina, contendo os tecidos incluídos, foram seccionados pela navalha de aço do micrótomo, obtendo-se cortes com 5 μ m (5 micrômetros = 0,005 milímetros) de espessura. As lâminas preparadas foram coradas pela técnica da hematoxilina e eosina (HE). Numa segunda etapa, os mesmos blocos de parafina foram novamente seccionados no micrótomo, obtendo-se novos cortes com 5 μ m

de espessura. Estes foram corados pela técnica imuno-histoquímica (complexo streptavidina-biotina-peroxidase), utilizando o anticorpo policlonal para a proteína S-100 (Novocastra, policlonal líquida, diluição de 1:200). Cortes de tecido intestinal (plexo nervoso mioentérico), incluídos em parafina, serviram de controle positivo para toda a bateria de testes.

Teste padrão-ouro

O teste considerado como “padrão-ouro” foi o exame da lâmina com os fragmentos de biópsia corados pela técnica de HE que apresentavam carcinoma após avaliação de consenso de dois patologistas.

Inicialmente foram estudadas todas as biópsias coradas com HE e, numa segunda etapa, com intervalo de três meses, foram observadas todas as biópsias coradas pela imuno-histoquímica para a proteína S-100.

– Etapas do Trabalho	Instrumento de Aferição
1 Confirmar a presença de carcinoma	MO
2 Contar o número de fragmentos na lâmina	
3 Efetuar graduação histológica de Gleason	MO
4 Medir a extensão dos fragmentos (ExF)	Régua milimetrada
5 Medir a espessura do maior fragmento (EsF)	MO + RMO
6 Medir a extensão do carcinoma nos fragmentos acometidos (ExCa)	MO + Régua microscópica
7 Medir a maior espessura do fragmento com carcinoma (EsCa)	MO + RMO
8 Contar o número de nervos, medir o maior diâmetro e situá-los	MO + RMO
9 Contar o número de nervos invadidos pelo tumor e medir o maior diâmetro	MO + RMO

MO: microscópio óptico; RMO: retículo de medida ocular.

ExF: medida em milímetros da extensão do fragmento.

EsF: medida em unidades da espessura do maior fragmento.

ExCa: medida em milímetros da extensão do carcinoma nos fragmentos acometidos.

EsCa: medida em unidades da maior espessura do fragmento com carcinoma.

Medida da área dos fragmentos (AF)

A extensão dos fragmentos foi medida a olho nu com a régua milimetrada, colocada sobre a lâmina de vidro. A espessura do maior fragmento foi obtida em unidades padrão do retículo de medida ocular. Após transformar as unidades em milímetros, somou-se todas as extensões dos fragmentos e multiplicou-se pela espessura, como se fosse um retângulo (base x altura).

Exemplo:

$$AF = (ExF_1 + ExF_2 + ExF_3, \dots) \times EsF$$

AF, área dos fragmentos em mm²

ExF, medida em milímetros da extensão do fragmento.

EsF, medida em unidades da espessura do maior fragmento.

Antes do cálculo as unidades foram transformadas em milímetros.

Medida da área de carcinoma (AC)

A extensão do carcinoma da próstata foi medida sob microscopia óptica com a régua milimetrada, colocada sobre a lâmina de vidro, entre esta e a objetiva. A espessura do maior carcinoma foi obtida em unidades padrão do retículo de medida ocular. Após transformar as unidades em milímetros, somou-se todos os focos de carcinoma e multiplicou-se pela espessura, como se fosse um retângulo (base x altura).

Exemplo:

$$AC = (ExCa_1 + ExCa_2 + ExCa_3, \dots) \times EsCa$$

AC, área de carcinoma em mm²

ExCa, medida em milímetros da extensão do carcinoma nos fragmentos acometidos.

EsCa, medida em unidades da maior espessura do fragmento com carcinoma.

Antes do cálculo as unidades foram transformadas em milímetros.

Proporção de carcinoma (PC)

A proporção de carcinoma do paciente foi obtida dividindo-se a área total de carcinoma pela área total de fragmentos.

Exemplo:

$$PC = AC / AF$$

PC, proporção de carcinoma em %.

AC, área de carcinoma em mm²

AF, área dos fragmentos em mm²

Nervo

Nervos foram definidos como bandas de, pelo menos, três células de espessura, paralelas, com configuração fascicular. Não foram considerados nervos qualquer marcação positiva do S-100, em um fascículo com menos de 3 células paralelas ou menor do que 0,0083 milímetros de diâmetro, pois poderiam representar células dendríticas. A medida só foi utilizada como critério, quando houve controvérsia entre os patologistas sobre quantas células paralelas havia. Esta medida, 0,0083 mm, foi utilizada como limítrofe por dois motivos: representa a menor medida que o retículo de medida ocular permite fazer (1 unidade padrão) na objetiva de 40x e corresponde a, aproximadamente, três células paralelas.

Os nervos foram medidos com o retículo de medida ocular nos dois maiores eixos, independentemente da sua morfologia. O nervo, que é tridimensional, pode assumir diversos formatos nos preparados histológicos, em virtude da incidência do corte. O menor eixo foi considerado como o diâmetro. Reconhece-se que um único nervo pode aparecer seccionado em várias porções, produzindo uma contagem maior de número absoluto de nervos.

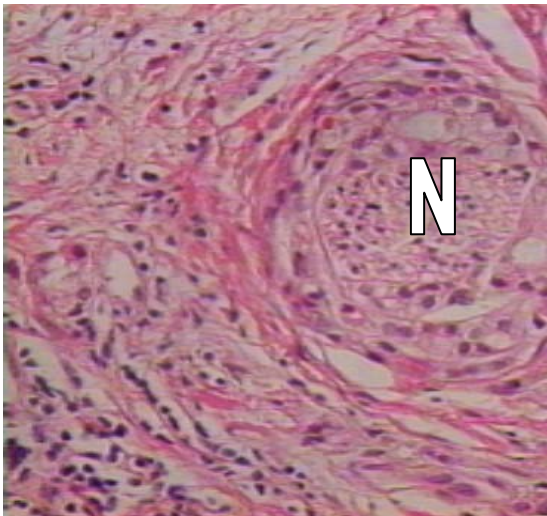


Figura 1: Secção transversal de nervo (N) envolto por ácidos neoplásicos. HE, 400x

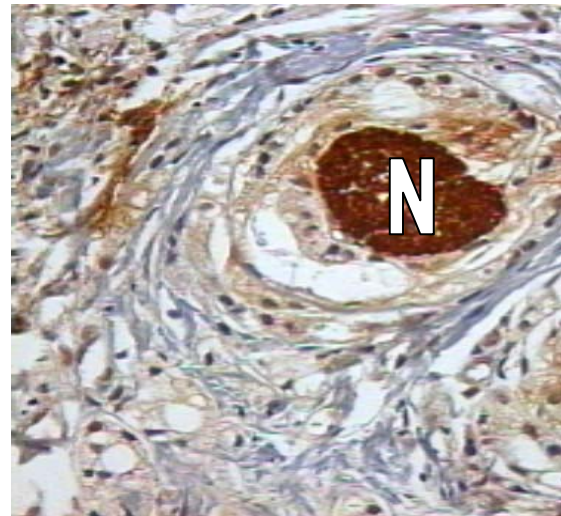


Figura 2: Secção transversal de nervo (N) envolto por ácidos neoplásicos. Proteína S-100, 400x

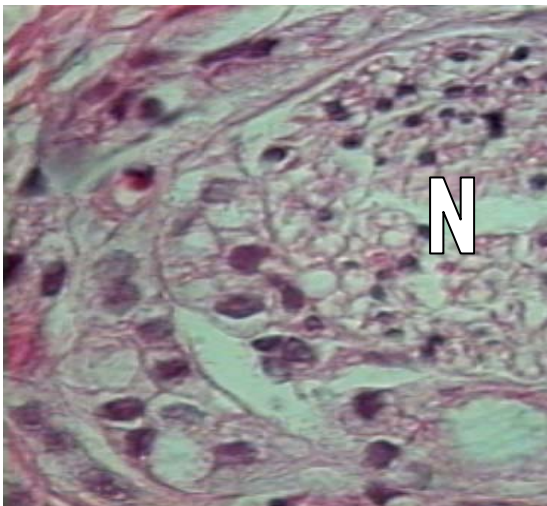


Figura 3: Secção transversal de nervo (N) envolto por ácidos neoplásicos. HE, 1000x

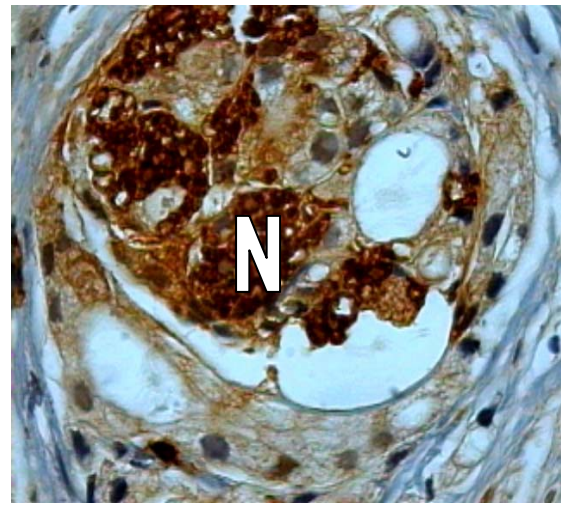


Figura 4: Secção transversal de nervo (N) envolto por ácidos neoplásicos. Proteína S-100, 1000x

Invasão de nervo

A invasão neural foi definida como glândulas de carcinoma da próstata, circundando parcial ou totalmente um fascículo neural^{3,13}. Também foi considerada invasão de nervo a presença de glândulas ou grupos de células epiteliais atípicas no interior dos nervos. A distinção entre invasão e justa-posição perineural foi considerada. Justa-posição foi definida como glândulas benignas ou neoplásicas extrínsecas ao espaço perineural que focalmente comprimem o nervo^{27,28}.

Para a análise da invasão de nervos, os casos foram divididos em três grupos:

- 1 - Ausência de invasão de nervo no H.E. e no S-100.
- 2 - Presença de invasão de nervo no H.E. e no S-100.
- 3 - Presença de invasão de nervo somente no S-100.

Análise estatística dos dados

Os dados quantitativos foram descritos como média e desvio padrão. Na presença de assimetria, utilizou-se a mediana e a amplitude interquartil. Nas variáveis categóricas foram utilizadas a frequência e o percentual.

A comparação dos dois grupos (técnica de HE e técnica imuno-histoquímica) foi realizada pelo teste t de Student e na assimetria pelo teste t de Wilcoxon. Nos dados categóricos utilizou-se o teste qui-quadrado de Mc Nemar.

Para a comparação quanto à invasão de nervos (Grupo I: ausência de invasão de nervo no HE e no S-100; Grupo II: presença de invasão de nervo no HE e no S-100 e Grupo III: presença de invasão de nervo somente no S-100) foi realizada para as variáveis assimétricas

transformação de *rank* previamente a ANOVA e após o teste de Tuckey, nas variáveis com distribuição normal, foi realizada a ANOVA.

Em alguns cálculos, para variáveis quantitativas, não foram utilizados todos os 70 pacientes, pois em avaliação prévia com cálculo de tamanho de amostra, pode se reduzir o número de casos avaliados, sem perda do poder estatístico.

Foram utilizados os programas estatísticos SPSS (Statistical Package for Social Science versão 11.0 - Chicago, IL) e o EPI-INFO (versão 6.04B). Um valor de $\alpha = 0,05$ foi considerado como estatisticamente significativo.

RESULTADOS

Este estudo avaliou amostras de tecido prostático em 101 procedimentos consecutivos de biópsias transretais com carcinoma de 70 pacientes. A maioria dos pacientes (85,7%) tinha idade acima de 60 anos. Em 44, 28% dos pacientes, o nível sérico do PSA total estava entre 4,0 a 10,0 ng/ml. Dos 70 pacientes, 29 (41,4%) tinham escore 7 de Gleason. Em todos os casos com invasão de nervo, outros critérios histológicos foram utilizados para determinar o diagnóstico de carcinoma da próstata. As tabelas 1 e 2 descrevem as características clínicas e histopatológicas dos pacientes estudados.

Dos 70 pacientes avaliados, 31 (44,3%) apresentaram invasão de nervo pelo carcinoma da próstata no HE e 43 (61,4%) apresentaram invasão de nervo com a técnica imunohistoquímica da proteína S-100 ($p < 0,001$). Na área de carcinoma foram detectados mais nervos invadidos no S-100 do que no HE ($p < 0,001$).

Tabela 1: Características descritivas dos pacientes com carcinoma de próstata (n=70)

Característica	Medida de sumário
Idade, anos	68,5±8,2
PSA sérico total, ng/ml	8,8 (6,2 – 20,0)
Escore de Gleason	6,8±1,0
Área de fragmentos, mm ² , HE	43,2 (30,1 – 64,5)
Área de carcinoma, mm ² , HE	13,5 (2,7 - 32,5)
Proporção da área de carcinoma, HE	0,31 (0,09 – 0,64)

Os dados são apresentados como média±desvio padrão ou mediana (amplitude interquartil: P25 – P75). PSA: antígeno prostático específico

Tabela 2: Comparação de aspectos relacionados aos nervos observados em biópsias transretais da próstata entre os métodos de coloração hematoxilina-eosina (HE) e imunohistoquímica da proteína S-100

Característica	HE	S-100	P
	n=16	n=16	
nº total de nervos/área, nº/mm ²	0,17±0,11	0,78±0,39	<0,001
	n=70	n=70	
nº nervos invadidos/área de carcinoma, nº/mm ²	0,0 (0,0 – 0,07)	0,13 (0,0 – 0,37)	<0,001
nº nervos invadidos	31 (44,3%)	43 (61,4%)	<0,001
	n=24	n=24	
diâmetro maior do nervo invadido, µm	0,0 (0,0 – 79,1)	50,0 (0,0 – 66,6)	0,84
	n=12	n=12	
diâmetro menor do nervo invadido, µm	33,3 (33,3 – 58,3)	16,6 (16,6 – 33,3)	0,007

Os dados são apresentados como média±desvio padrão, mediana (amplitude interquartil: P25 – P75) ou frequência (percentual).

Os diâmetro do maior nervo invadido pelo tumor não apresentou diferença estatística, quando avaliado pelas duas colorações. Entretanto, o diâmetro do menor nervo invadido pelo carcinoma foi menor no S-100 do que no HE ($p=0,007$), indicando que, com a técnica da imuno-histoquímica, encontram-se mais nervos de menor tamanho invadidos, os quais dificilmente são encontrados em lâminas coradas pelo método do HE, devido, em parte, aos falso-negativos

Tabela 3: Comparação das características descritivas dos pacientes com carcinoma de próstata entre as técnicas de coloração e a invasão de nervo

Característica	Grupo I (n=27)	Grupo II (n=31)	Grupo III (n=12)	p
Idade, anos	66,1±8,3	70,0±8,7	70,3±5,2	0,15
PSA sérico total, ng/ml	7,7 (5,7-10,8)	17,5 (6,9-39,2)	7,3 (6,3-14,3)	0,03
Escore de Gleason	6,1±0,9	7,4±0,8	6,6±0,9	<0,001
Área de carcinoma, mm ² , HE	2,48 (0,95-10,07)	32,35 (21,57-51,34)	5,15 (2,66-19,21)	<0,001
Proporção da área de carcinoma, HE	0,08 (0,03-0,30)	0,60 (0,33-0,83)	0,14 (0,07-0,44)	<0,001

Os dados são apresentados como média±desvio padrão ou mediana (amplitude interquartil: P25 – P75).

PSA: antígeno prostático específico.

Grupo I: Ausência de invasão de nervo no H.E. e no S-100.

Grupo II: Presença de invasão de nervo no H.E. e no S-100.

Grupo III: Presença de invasão de nervo somente no S-100.

Na comparação entre os pacientes que não apresentaram invasão de nervo, pacientes que apresentaram invasão de nervo somente no S-100 e pacientes que apresentaram invasão de nervo, tanto no HE, quanto no S-100, não houve diferença estatística para a variável idade. No exame das variáveis escore de Gleason, área de carcinoma, PSA e proporção de carcinoma não foi detectada diferença estatística entre os grupos I e III, mas o grupo II atingiu diferença estatística.

DISCUSSÃO

O estadiamento pré-operatório do carcinoma da próstata é baseado no toque retal, no PSA sérico, nos achados histopatológicos da biópsia e em exames de imagem. O toque retal freqüentemente subestima a extensão do tumor. A interpretação pré-operatória do PSA sérico é confundida pela hiperplasia glandular e estromal da próstata e pelo grau de diferenciação do tumor²⁹.

A maioria dos pacientes com carcinoma da próstata na biópsia, apresenta nível sérico de PSA entre 4,0 a 10,0 ng/ml e escore de Gleason entre 6 a 7. Para estes valores, tanto o nível sérico de PSA, quanto o escore de Gleason são pouco informativos para predizer extensão extraprostática, invasão de vesícula seminal ou metástase para linfonodos. Sabe-se também que não há uma boa correlação entre a quantidade de carcinoma, relatado em biópsias e o encontrado em peças de prostatectomias radicais^{21,24,25}.

Os exames de imagem apresentam sensibilidade reduzida, devido à impossibilidade dessas técnicas em detectar tumor microscópico extraglandular e visualizar uniformemente toda a glândula. A especificidade mostra-se reduzida pela impossibilidade de distinguir entre inflamação periprostática e fibrose tumoral²¹.

Com isso, necessita-se de preditores alternativos de estadiamento patológico e risco de progressão da doença²⁶.

A capacidade da invasão neural na biópsia para predizer estadiamento tumoral tem sido examinada por vários estudos. Entretanto, o valor preditivo positivo encontrado é muito variado, uma das explicações para este fato é o modo como a peça de prostatectomia radical é examinada: inclusão parcial versus inclusão total. Outra explicação a ser considerada é a quantidade de pacientes com doença confinada à próstata, o que também varia de estudo para

estudo e pode estar relacionada ao modo como a peça radical é examinada. A frequência de invasão neural também varia nos estudos de 20 a 38%, logo não é surpreendente que haverá diferenças entre os estudos quanto à especificidade, sensibilidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo.

A invasão neural é um critério diagnóstico de carcinoma prostático e pode ter valor preditivo nesta doença. Entretanto, a detecção de invasão neural, na biópsia, é complicada por alguns fatores.

Primeiro, a distinção entre invasão e justa-posição perineural. Na justa-posição ocorre compressão focal do nervo, por glândulas benignas ou neoplásicas extrínsecas ao espaço perineural^{27,28}. Enquanto na invasão neural o fascículo nervoso está circundando parcial ou totalmente por glândulas de carcinoma,^{3,13} ou grupos de células epiteliais atípicas estão presentes no interior dos nervos.

Segundo, a extensão do carcinoma da próstata, medida não padronizada pela literatura, também pode afetar a detecção de invasão neural. Alguns estudos não mediram a extensão de carcinoma, outras mediram em forma de número de fragmentos atingidos pelo tumor. O presente estudo mediu a extensão tumoral, através de uma régua milimetrada. Acredita-se que esta forma seja mais adequada para estudos comparativos, pois tanto a medida subjetiva da extensão tumoral, quanto à contagem do número de fragmentos, envolvidos pelo carcinoma, podem apresentar vieses. Parece difícil estimar adequadamente a extensão de tumores pequenos, principalmente havendo muitos fragmentos. Quando se determina a extensão tumoral pela contagem de fragmentos envolvidos, não se leva em consideração a possibilidade de que alguns destes fragmentos sejam repartidos, durante o processamento, havendo diferenças na quantidade de fragmentos biopsiados, quantidade de fragmentos

examinados no exame macroscópico e, finalmente, quantidade de fragmentos na lâmina para avaliação histológica.

Terceiro, nervos são algumas vezes difíceis de serem detectados pelo método da hematoxilina e eosina, constituindo diagnósticos falso-negativos, talvez por este motivo o valor preditivo da invasão neural apresente baixa sensibilidade em alguns estudos^{3,8}.

Tabela 4: Comparação de informações clínicas no momento da biópsia e de achados histopatológicos na biópsia corada pelo método do HE: revisão da literatura

Autor	Ano	Nº	Idade	PSA sérico, ng/ml	Escore de Gleason	Extensão do Carcinoma (%)	Invasão de Nervos (%)
Bastacky e cols. ¹³	1993	302	ND	ND	< 7	ND	20
Egan e cols. ⁴	1997	349	66	9,3	6	ND	38
de la Taille e cols. ¹⁵	1999	319	61	8,0	6	ND	24
Vargas e cols. ³⁵	1999	340	60,4	6,9	6	ND	17
Aufranc e cols. ³⁰	2000	ND	ND	ND	ND	ND	42
Rubin e cols. ¹⁰	2000	632	61	6,2	ND	ND	18
Sebo e cols. ³²	2001	454	65	6,3	6	8,3	23
Fredland e cols. ³³	2002	190	62,5	8,7	6,1	12	17
Zhou e cols. ³¹	2002	80	ND	10,2	ND	27	11
Bismar e cols. ³³	2002	215	64	ND	6	5	11
Litvin e cols.	2004	70	69	8,8	7	31	44

Os dados são apresentados como mediana.

Foi detectado, pelo presente estudo, nos 70 pacientes avaliados, 31 (44,3%) apresentaram invasão de nervo pelo carcinoma da próstata no HE e 43 (61,4%) apresentaram invasão de nervo com a técnica imuno-histoquímica da proteína S-100 ($p < 0,001$). Na área de carcinoma foram detectados mais nervos invadidos no S-100 do que no HE ($p < 0,001$).

Estes achados são semelhantes aos encontrados por Aufranc e colaboradores, o qual avaliou 45 biópsias de próstata com carcinoma e encontrou 19 casos (42%) com invasão de nervo pelo carcinoma no HE e 32 casos (71%) no S-100³⁰.

A técnica da imuno-histoquímica com S-100 permitiu a detecção de nervos invadidos de menor diâmetro, os quais dificilmente são encontrados nas lâminas coradas pelo HE. Estes casos não podem ser excluídos, quando se quer avaliar a capacidade preditiva da invasão neural na biópsia.

O estudo de Zhou⁸ não detectou mais invasão de nervo no S-100 do que no HE, entretanto, foram examinadas apenas 27 biópsias de próstata com carcinoma, em 11 pacientes, e destas, apenas 3 apresentaram invasão de nervo.

Ao avaliar estudos que apresentam informações clínicas no momento da biópsia e de achados histopatológicos na biópsia corada pelo HE (Tabela 4), deve-se considerar que o número de pacientes alocados nestes estudos varia muito. Considerando como medida de tendência central a mediana não há grandes diferenças entre os estudos, em relação ao escore de Gleason. O nosso estudo alocou pacientes mais idosos, com uma proporção maior de carcinoma na biópsia e encontrou mais nervos invadidos no HE do que os outros estudos. Inicialmente, poder-se-ia considerar que a maior proporção de carcinoma foi determinante para termos encontrado mais invasão de nervos. Entretanto, o estudo de Zhou e colaboradores³¹ tinha uma proporção semelhante de carcinoma, e foi encontrada menos invasão de nervos. Além disso, os estudos de Sebo e colaboradores³² e o de Freedland e colaboradores³³ tinham uma proporção relativamente pequena de carcinoma e encontraram mais invasão de nervos do que os estudos de Zhou e colaboradores³¹ e o de Bismar e colaboradores³⁴. Isso reforça a idéia de que nervos são, algumas vezes, difíceis de serem encontrados na coloração do HE.

No presente estudo, o grupo sem invasão de nervos apresentou parâmetros clínicos e histopatológicos semelhantes ao grupo com invasão de nervos somente no S-100 e estes grupos foram estatisticamente diferentes do grupo que apresentou invasão de nervos no HE e no S-100. Isso permite sugerir que em casos com PSA sérico, escore de Gleason e proporção de carcinoma maior, iremos encontrar invasão de nervos, tanto no HE, quanto no S-100. Entretanto, casos com PSA sérico, escore de Gleason e proporção de carcinoma menores, justamente os que serão mais diagnosticados com o incremento das técnicas diagnósticas, o estudo imuno-histoquímico é útil na detecção de nervos invadidos.

CONCLUSÃO

A coloração com a técnica imuno-histoquímica da proteína S-100 aumenta a sensibilidade para reconhecer nervos em material de punção-biópsia de próstata. Além disso, com a técnica do S-100 se reconhecem mais invasões de nervos pelo carcinoma da próstata, as quais não eram visualizadas, quando coradas pela técnica do HE. Desta forma reduziu-se a quantidade de casos falso-negativos e demonstrou-se que o exame criterioso de material de punção-biópsia de próstata, coradas pela técnica do HE não é suficiente para detectar todas as invasões de nervos.

Não se pode, portanto, desprezar esse achado histopatológico e novos estudos para avaliar a capacidade preditiva da invasão neural, na biópsia por agulha, devem ser realizados.

REFERÊNCIAS

1. Shattock SG. Invasion of the nerves in carcinoma of the sublingual salivary gland associated with carcinoma of the tongue. *Proc R Soc Med* 1921;15:13-6.
2. Ballantyne AJ, McCarten AB, Ibanez ML. The extension of cancer of the head and neck through peripheral nerves. *Am J Surg* 1963;106:651-67.
3. Byar DP, Mostofi FK, the VA Cooperative Urological Research Group. Carcinoma of the prostate: prognostic evaluation of certain pathologic features in 208 radical prostatectomies. *Cancer* 1972;30:5-13.
4. Rodin AE, Larson DL, Roberts DK. Nature of the perineural space invaded by prostatic carcinoma. *Cancer* 1967;20:1772-9.
5. Hassan MO, Maksem J. The prostatic perineural space and its relation to tumor spread. An ultrastructural study. *Am J Surg Pathol* 1980;4:143-8.
6. Villers A, McNeal JE, Redwine EA, Freiha FS, Stamey TA. The role of perineural space invasion in the local spread of prostatic adenocarcinoma. *J Urol* 1989;142:763-8.
7. Stamey TA, McNeal JE, Freiha FS, Redwine E. Morphometric and clinical studies on 68 consecutive radical prostatectomies. *J Urol* 1988;139: 1235-41.
8. Zhou M, Patel A, Rubin MA. Prevalence and location of peripheral nerve found on prostate needle biopsy. *Am J Clin Pathol*. 2001;115:39-43.
9. Rodrigues Netto Jr N. Manual de Urologia, Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, Campinas, 1981.

10. Rubin MA, Bassily N, Sanda M, Montie J, Strawderman MS, Wojno K. Relationship and significance of greatest percentage of tumor and perineural invasion on needle biopsy in prostatic adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 2000;24:183-9.
11. Yang G, Wheeler TM, Kattan MW, Scardino PT, Thompson TC. Perineural invasion of prostate carcinoma cells is associated with reduced apoptotic index. *Cancer* 1996;78:1267-71.
12. Merrick GS, Butler WM, Galbreath RW, Lief JH, Adamovich E. Perineural invasion is not predictive of biochemical outcome following prostate brachytherapy. *Cancer J* 2001;7:404-12.
13. Bastacky SI, Walsh PC, Epstein JI. Relationship between perineural tumor invasion on needle biopsy and radical prostatectomy capsular penetration in clinical stage B adenocarcinoma of the prostate. *Am J Surg Pathol* 1993;17:336-41.
14. Egan AJM, Bostwick DG. Prediction of extraprostatic extension of prostate cancer based on needle biopsy findings: perineural invasion lacks significance on multivariate analysis. *Am J Surg Pathol* 1997;21:1496-500.
15. de la Taille A, Katz A, Bagiella E, Olsson CA, O'Toole KM, Rubin MA. Perineural invasion on prostate needle biopsy: an independent predictor of final pathologic stage. *Urol* 1999;54:1039-43.
16. de la Taille A, Rubin MA, Bagiella E, Olsson CA, Buttvan R, Burchardt T, et al. Can perineural invasion on prostate needle biopsy predict prostate specific antigen recurrence after radical prostatectomy? *J Urol* 1999;162:103-6.

17. Varma M, Lee MW, Tamboli P, Zarbo RJ, Jimenez RE, Salles PG, Amin MB. Morphologic criteria for the diagnosis of prostatic adenocarcinoma in needle biopsy specimens. A study of 250 consecutive cases in a routine surgical pathology practice. *Arch Pathol Lab Med* 2002; 126:554-61.
18. Bostwick DG, Grignon DJ, Hammond EH, Amin MB, Cohen M, Crawford D, et al. Prognostic factors in prostate cancer. College of American Pathologists Consensus statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124: 995-1000.
19. O'Malley KJ. Influence of biopsy perineural invasion on long-term biochemical disease-free survival after radical prostatectomy. *Urol* 2002;59:85-90.
20. Ohori M, Maru N, Scardino PT. Significance of perineural invasion (PNI) by prostate cancer in systematic needle biopsy [Abstract]. *J Urol* 2002;167(suppl):229.
21. Maru N, Ohori M, Kattan MW, Scardino PT, Wheeler TM. Prognostic significance of the diameter of perineural invasion in radical prostatectomy specimens. *Hum Pathol* 2001;32:828-33.
22. Epstein JI. The role of perineural invasion and other biopsy characteristics as prognostic markers for localized prostate cancer. *Semin Urol Oncol* 1998;16:124-8.
23. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA (Eds.). World Health Organization Classification of tumors. Pathology and Genetics of tumours of the urinary system and male genital organs. Lyon: IARC Press; 2004. p. 159-92.
24. Stamey TA. Localized prostate cancer. Relationship of tumor volume to clinical significance for treatment of prostate cancer. *Cancer* 1993;71:933-8.

25. Cupp MR, Bostwick DG, Myers RP, Oesterling JE. The volume of prostate cancer in the biopsy specimen cannot reliably predict the quantity of cancer in the radical prostatectomy specimen on an individual basis. *J Urol* 1995;153:1543-8.
26. Carter HB, Partin AW. Diagnosis and staging of prostate cancer. In: Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED, Wein AJ, editors. *Campbell's urology*. 8TH edition. Philadelphia: WB Saunders; 2002; 3055-79.
27. Carstens PHB. Perineural glands in normal and hyperplastic prostates. *J Urol* 1980;123:686-8.
28. McIntire TL, Franzina DA. The presence of benign prostate glands in perineural spaces. *J Urol* 1986;135:507-9.
29. Partin AW, Yoo J, Carter HB, Pearson JD, Chan DW, Epstein JI, Walsh PC. The use of prostate-specific antigen, clinical stage and Gleason score to predict pathologic stage in men with localized prostate cancer. *J Urol* 1993;150:110-4.
30. Aufranc S, Rosen S, Li T, Balks S, Upton M. Unrecognized perineural invasion in prostate needle biopsies is revealed by staining for S-100 protein[abstract]. *Mod Pathol* 2000;13:92A.
31. Zhou M, Shah R, Ingold C. Simultaneous evaluation for presence of nerve and perineural invasion on prostate needle biopsy improve predictability for extraprostatic extension on radical prostatectomy [Abstract]. *Mod Pathol* 2002;15:189.
32. Sebo TJ, Cheville JC, Riehle DL, Lohse CM, Pankratz VS, Myers RP. Predicting prostate carcinoma volume and stage at radical prostatectomy by assessing needle biopsy specimens for percent surface area and cores positive for carcinoma, perineural invasion,

Gleason score, DNA ploidy and proliferation, and preoperative serum prostate specific antigen: a report of 454 cases. *Cancer* 2001;91:2196-204.

33. Freedland SJ, Csathy GS, Dorey F, Aronson WJ. Percent prostate needle biopsy tissue with cancer is more predictive of biochemical failure or adverse pathology after radical prostatectomy than prostate specific antigen or Gleason score. *J Urol* 2002;167:516-20.
34. Bismar TA, Lewis JS, Vollmer RT, Humphrey PA. Multiple measures of carcinoma extent versus perineural invasion in prostate needle biopsy tissue in prediction of pathologic stage in a screening population. *Am J Surg Pathol* 2003;27:423-40.
35. Vagas SO, Jiroutek M, Welch WR, Nucci MR, D'Amico AV, Renshaw AA. Perineural invasion in prostate needle biopsy specimens: correlation with extraprostatic extension at resection. *Am J Clin Pathol* 1999;111:223-8.

ANEXOS

ANEXO A: Técnica da imuno-histoquímica

Método da Estreptavidina-biotina-peroxidase (StreptABC), de acordo com princípio proposto por Hsu e colaboradores (1981)¹⁴⁹, adaptado às condições do laboratório de patologia do Centro de Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre

1) Preparo das lâminas:

- mergulhar as lâminas em solução de detergente neutro Extran (Merck 7553) a 0,5% em água, por 30 minutos;
- lavar em água corrente por 120 minutos para remoção do detergente;
- lavar as lâminas em água quente;
- secar na estufa;
- guardar as lâminas limpas, em caixas, para evitar contaminações por poeira.

Nota: manipular lâminas com luvas para evitar a contaminação das mesmas pela oleosidade da pele.

2) Sinalização das lâminas:

- imersão das lâminas em acetona por 2 minutos;
- imersão em 3-aminopropiltriétoxissilano (APTS) a 4% por 2 minutos;
- imersão em acetona por 4 vezes;
- secar em estufa, deixar esfriar e guardar em caixas fechadas.

3) Cortes histológicos:

- As fitas de parafina obtidas no processo de corte pela microtomia, são cuidadosamente colocadas em banho-maria histológico e os cortes depositados em lâminas previamente tratadas com APTS. As lâminas com os cortes são levadas à estufa, a 60°C e lá deixadas por 24 horas, para melhorar a adesão do tecido.

4) Preparação do corte histológico:

- xilol 60°C por 15 minutos;
- xilol à temperatura ambiente por 15 minutos;
- etanol a 100% (3x) por 30 segundos cada;
- etanol 95% por 30 segundos;
- etanol 80% por segundos;
- etanol 70% por 30 segundos;
- lavar em água corrente e destilada.

5) Bloqueio da Peroxidase Endógena:

- três banhos de 10 minutos cada com peróxido de hidrogênio a 3% em metanol;
- lavar por três minutos em água corrente;
- deixar um minuto em água destilada.

6) Recuperação Antigênica:

- colocar as lâminas no forno de microondas, em potência máxima, por 9 minutos (2x), imerso em tampão citrato 10mM pH 6,0 e tampão EDTA 1mM pH 8,0;
- deixar esfriar por sessenta minutos;
- lavar em água corrente e água destilada.

7) Bloqueio da Avidina Endógena:

- colocar por quinze minutos, em solução com clara de ovo e água destilada (clara de um ovo para duzentos ml de água destilada);
- lavar em água corrente e destilada.

8) Bloqueio das Reações Inespecíficas:

- colocar em solução de leite desnatado a 5% em tampão fosfato salino (PBS), durante 30 minutos;
- lavar em água corrente por 4 minutos e água destilada por 1 minuto;

- colocar no PBS por 5 minutos.

9) Incubação com Anticorpo Primário:

- secar cuidadosamente as lâminas;
- colocá-las em uma câmara úmida sobre uma esponja umedecida;
- pingar 70-100 microlitros do anticorpo primário na diluição 1:200 a 1:400 , sobre os cortes;
- deixar incubando dentro da geladeira a 4°C, por 16 horas;
- interromper a reação, lavando cada lâmina delicadamente com um jato de solução tampão;
- transferir as lâminas para um recipiente, contendo tampão PBS, dando 3 banhos, de 5 minutos cada;
- secar as lâminas.

10) Incubação com o Anticorpo Secundário:

- incubar com o anticorpo secundário, conjugado com a biotina (anti-Ig da espécie animal em que foi obtido o anticorpo específico), deixando 30 minutos, a 37°C, na estufa e em câmara úmida;
- interromper a reação, lavando cada lâmina delicadamente com um jato de solução tampão;
- transferir as lâminas para um recipiente, contendo tampão PBS, dando três banhos de 5 minutos cada.

11) Complexo Avidina-Biotina-Peroxidase:

- pingar o complexo avidina-biotina-peroxidase, deixando na estufa a 37°C, em câmara úmida, durante 30 minutos;
- lavar cada lâmina delicadamente com um jato de solução tampão;

- transferir as lâminas para um recipiente contendo tampão PBS, dando 3 banhos de 5 minutos cada.

12) Cromógeno:

- incubar as lâminas em solução substrato, o cromógeno (Diaminobenzidina – DAB – 60mg%) por 3 minutos a 37°C no escuro;
- lavar bem com água corrente e transferir para água destilada.

13) Contracorar:

- contracorar com hematoxilina de Harris por 2 minutos;
- lavar em água corrente.

14) Montagem:

- desidratar as lâminas em etanol 50%, etanol 80%, etanol 95% , etanol 100% (3x) e xilol (3x);
- colocar a lamínula sobre a lâmina com Entellan (Merck 1.07961) para leitura em microscopia óptica e preservação da amostra.

ANEXO B: Técnicas histológicas para visualização de nervos

GERAL	Hematoxilina e Eosina
	Hematoxilina van Giesen
	Reticulina
	Tricrômico de Masson
	Alcian blue
	Azul de toluidina
COLORAÇÕES PARA MIELINA	Luxol
	Loyez
	Ósmio
	Ácido Periódico de Schiff
	Luz polarizada (congelção)
	Marchi
	Oil Red O (congelção)
IMUNO-HISTOQUÍMICA	Proteína S-100
	Leu-7
	Proteína glial fibrilar ácida (GFAP)
	Proteína mielínica básica
	Neurofilamentos
	Antígeno epitelial de membrana (EMA)
	CD-34
	LN-5
	CD-68

Hidalgo CA, Weller RO. In: Sternberg SS (ed), Histology for Pathologists, 2 edition, Lippincott-Raven, Philadelphia, 1997 ¹⁴⁸.

A proteína S-100 foi escolhida, porque esta técnica de coloração é conhecida e utilizada no laboratório de Pesquisa Experimental do HCPA. Além disso, outros trabalhos feitos com próstata utilizaram este método ^{116,146}.

ANEXO C: Estadiamento patológico

Sistema TNM proposto pela AJCC (American Joint Committee on Cancer)⁸. O estadiamento clínico (T, N ou M0 se refere à extensão da moléstia no pré-operatório, estabelecida através de exames clínico, radiológico e laboratorial. O estadiamento patológico (pT, pN ou pM) refere-se à extensão da doença estabelecida através do exame anatomopatológico. As categorias pT, pN e pM correspondem às categorias T, N e M. Não há, entretanto, a categoria pT1 (pT1a, pT1b ou pT1c) porque o tecido amostrado é insuficiente para determinar a maior categoria pT.

A partir da versão de 1992, o sistema TNM introduziu o estágio T1c, que corresponde a casos de carcinoma diagnosticados em biópsias de agulha, de pacientes com PSA elevado, porém não palpáveis ao toque retal e não visualizados em ultra-sonografia.

Tumor Primário (T)

- TX Tumor primário não pode ser avaliado.
- TO Não há evidência de tumor primário.
- T1 Tumor é um achado histológico incidental, não é palpável ao toque retal ou visualizado por técnicas de imagem:
- T1a tumor em 5% ou menos do tecido ressecado;
 - T1b tumor em mais de 5% do tecido ressecado;
 - T1c tumor identificado em biópsia por agulha (PSA elevado, porém tumor não palpável ao toque retal e não visualizado em ultra-sonografia).
- T2 Tumor limitado à próstata sem evidências de extensão extraprostática: #
- T2a tumor compromete até metade de 1 lobo, ou menos;
 - T2b tumor compromete mais da metade de 1 lobo, porém não ambos os lobos;
 - T2c tumor compromete ambos os lobos.

- T3 Tumor extraprostático: ##
- T3a extensão extra-capsular (unilateral ou bilateral);
- T3b tumor invade vesícula seminal.
- T4 Tumor está fixo ou invade estruturas adjacentes outras que não a vesícula seminal, colo vesical, esfíncter externo, reto, músculos elevadores ou parede pélvica. ###

Linfonodos regionais (N)

- NX Linfonodos regionais não podem ser avaliados.
- NO Ausência de metástase em linfonodos regionais.
- N1 Metástase em linfonodo regional.
- N1(mi) micrometástase de até 0,2 cm.

Metástase à distância (M)

- MX Presença de metástase à distância não pode ser avaliada.
- MO Ausência de metástase à distância.
- M1 Presença de metástase à distância:
- M1a linfonodo não regional;
- M1b osso;
- M1c outra localização.

Gradação histopatológica (G)

- GX Gradação não pode ser avaliada.
- G1 Bem diferenciado (Gleason 2-4).
- G2 Moderadamente diferenciado (Gleason 5-6).
- G3-4 Pouco diferenciado/indiferenciado (Gleason 7-10).

Tabela 21: Estadiamento do carcinoma da próstata

	T	N	M	G
Estágio I	T1a	N0	M0	G1
Estágio II	T1a	N0	M0	G2,3-4
	T1b,c	N0	M0	Qualquer G
	T1, T2	N0	M0	Qualquer G
Estágio III	T3	N0	M0	Qualquer G
Estágio IV	T4	N0	M0	Qualquer G
	Qualquer T	N1	M0	Qualquer G
	Qualquer T	Qualquer N	M1	Qualquer G

Tumor encontrado em um ou dois lobos, por biópsia de agulha, mas não palpável ou visualizado por técnicas de imagem, é classificado como T1c.

Invasão do ápice prostático, mas não extraprostática é classificado como T2.

Invasão microscópica do colo vesical, na prostatectomia radical, é classificado como T3a.

ANEXO D: Padronização das unidades do retículo de medida ocular

Linhas: unidades do retículo de medida ocular

Colunas: aumento das objetivas

	2,5x	10x	20x	40x
1	0,1181	0,0333	0,0166	0,0083
2	0,2363	0,0666	0,0333	0,0166
3	0,3545	0,1	0,05	0,025
4	0,4727	0,1333	0,0666	0,0333
5	0,5909	0,1666	0,0833	0,04166
6	0,7090	0,2	0,1	0,05
7	0,8272	0,2333	0,1166	0,0583
8	0,9454	0,2666	0,1333	0,0666
9	1,0636	0,3	0,15	0,075
10	1,1818	0,333	0,1666	0,0833
11	1,3	0,3666	0,1833	0,0916
12	1,4181	0,4	0,2	0,1
13	1,5363	0,4333	0,2166	0,1083
14	1,6545	0,4666	0,2333	0,1166