

EVALUAREA EXPRESIEI ALPHA METHYLACYL COARACEMAZA ÎN LEZIUNILE PREMALIGNE ȘI ADENOCARCINOMUL DE PROSTATĂ

Ludmila Violeta Marin^{1,2}, D. Ferariu³, Maria Sultana Mihailovici²

1. Spitalul Județean de Urgență „Sf. Pantelimon” Focșani
2. Universitatea de Medicină și Farmacie „Gr. T. Popa” Iași
Facultatea de Medicină, Disciplina de Morfopatologie
3. Spitalul Clinic Județean de Urgență „Sf. Spiridon” Iași,
Serviciul de Anatomie Patologică și Prosectură

THE EVALUATION OF ALPHA METHYLACYL COA RACEMASA (AMACR) EXPRESSION IN PREMALIGNANT LESIONS AND ADENOCARCINOMA OF THE PROSTATE (ABSTRACT): The positive expression of AMACR in the prostatic cells in morphological context support malignant diagnostic. *Aim:* The purpose of our study was the evaluation intensity of AMACR expression in prostatic glands benign, high grade prostatic intraepithelial neoplasia, atypical adenomatous hyperplasia and prostatic adenocarcinoma. *Material and Methods:* The study was realized on 56 cases analysed in Pathology Laboratory of Emergency County Hospital Focșani, Romania. *Results:* The AMACR expression was positive 4% in benign glands, 55% in high grade prostatic intraepithelial neoplasia, 8% in atypical adenomatous hyperplasia and 100% in prostatic adenocarcinoma. *Conclusion:* The AMACR expression must be correlation with morphological evaluation and this specificity increase the security of positive diagnostic. The positive expression of AMACR supports malignant diagnostic only for the phenotype P63-/AMACR+.

KEYWORDS: AMACR, HIGH GRADE PROSTATIC INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA, ATYPICAL ADENOMATOUS HYPERPLASIA, PROSTATIC ADENOCARCINOMA.

Correspondență: Dr. Marin Ludmila Violeta, doctorand Universitatea de Medicină și Farmacie „Gr. T. Popa” Iași, Facultatea de Medicină, Disciplina de Morfopatologie, medic primar anatomie patologică, Spitalul Județean de Urgență „Sf. Pantelimon” Focșani, tel: 0721217818; e-mail: marinlud@yahoo.com*

INTRODUCERE

În cercetările pentru identificarea unui biomarker specific pentru adenocarcinomul de prostată (ACP), AMACR (alpha methylacyl CoA racemasa) a generat un interes extraordinar, fiind considerat un biomarker tisular excelent [1-4]. Studii recente indică utilitatea diagnosticului histopatologic utilizând AMACR și în leziunile premaligne: neoplazia intraepitelială de prostată de grad înalt (HPIN) și hiperplazia adenomatoasă atipică (AAH). Expresia AMACR a fost identificată și în nodulii de hiperplazie hipertrofică benignă adiacenți ACP, confirmând astfel că AMACR este un marker util în transformarea neoplazică a prostatei, reflectând un proces de carcinogeneză [1-3].

* received date: 11.09.2010

accepted date: 24.10.2010

AMACR, proteină citoplasmatică localizată la nivel de peroxizomi și mitocondrii, a fost identificată în citoplasma celulelor epiteliale secretorii prostatice transformate malign [5-8], abilitatea acestui marker în susținerea diagnosticului de malignitate, fiind demonstrată în special când este asociat cu fixarea negativă pentru markerii celulari bazali. Ulterior, alte studii au raportat că expresia AMACR nu este specifică ACP, datorită prezenței sale și în HPIN, AAH și leziuni benigne [9], precum și a detectării în alte cancere umane: colorectal, mamă, ovarian, carcinom renal papilar, melanom malign. [10-12]. Deși rolul AMACR în carcinogeneza prostatică este încă neclar, expresia pozitivă a proteinei în 82-100% din ACP [13,14] fiind interpretată ca având semnificație diagnostică în asociere cu markerii celulari bazali negativi.

Scopul acestui studiu a constat în evaluarea intensității expresiei AMACR în glandele prostatice benigne, HPIN, AAH și ACP, în vederea urmăririi secvențelor evolutive care caracterizează transformarea malignă.

MATERIAL ȘI METODĂ

Au fost investigate un număr de 240 cazuri de prostatectomii radicale diagnosticate în Laboratorul de Anatomie Patologică al Spitalului Județean de Urgență Focșani în perioada octombrie 2006 – noiembrie 2008. Dintre acestea, au fost selectate 56 de cazuri care au fost investigate prin examen imunohistochimic (IHC), cu o tehnică bazată pe metoda streptavidină-biotină-peroxidază. Anticorpul primar utilizat a fost P63 (Anti-Human P63 Protein Monoclonal Mouse, Clona 4A4, cod M7247, DAKO, Denmark), CK5/6 (Anti-Human CK5/6 Monoclonal Mouse; Clona D5/16B4, cod M7237, DAKO, Denmark) și AMACR (Anti-Human P504S Monoclonal Rabbit, Clona 13H4, Cod N1609, DAKO, Denmark). Ca anticorp secundar s-a folosit Biotinylated Goat Anti-Polivalent (Ultra Vision Large Volume Detection System Anti-Polyvalent, Lab Vision Corporation), iar pentru evidențierea antigenului s-a aplicat DAB (Liquid DAB Substrate Chromogen System Cod K3466, DAKO Danemarca).

Prin utilizarea markerilor pentru celule bazale (P63 și Ck5/6), 12 cazuri au fost diagnosticate HPIN asociat cu AAH (grup 1) și 44 cazuri diagnosticate ACP asociat cu HPIN (grup 2). Suplimentar, ca marker specific pentru celule prostatice maligne, a fost analizată expresia AMACR.

Fixarea P504S a fost citoplasmatică granulară, cu o colorație brună. Pentru analiza semi-cantitativă am aplicat următorul scor: 0 - expresie negativă (pentru control negativ în glandele benigne adiacente cu absența expresiei P504S); 1 - expresie scăzută (pentru cazurile în care expresia P504S a fost focală și apicală); 2 - expresie moderată (pentru cazurile în care expresia P504S a fost difuză și apicală); 3 - expresie crescută (pentru control pozitiv în glandele prostatice maligne, în care expresia P504S a fost difuză citoplasmatică).

REZULTATE

În lotul de studiu de 56 cazuri, analiza expresiei P504S în glandele prostatice benigne și în leziunile de tip premalign și malign a condus la următoarele rezultate.

1. Expresia P504S în glandele benigne

În grupul 1, caracterizat prin leziuni premaligne în asociere cu glande benigne adiacente, nici unul din cele 12 cazuri nu a prezentat expresie P504S pozitivă la nivelul acestor glande (scor 0). În grupul 2, cu leziuni maligne, au fost identificate glande benigne adiacente în 14 cazuri din totalul celor 44. Expresia P504S a fost pozitivă cu nivel de scor 1, în glandele benigne adiacente, numai într-un singur caz (Fig. 1).

Raportând cele 26 cazuri cu glande benigne adiacente (12 cazuri în grupul 1 și 14 cazuri în grupul 2) la lotul total de studiu de 56 cazuri, intensitatea expresiei P504S în glandele benigne a fost evaluată ca expresie pozitivă scăzută (scor 1) în 4% din cazuri (1/26).

2. Expresia P504S în HPIN

În grupul 1, nici unul din cele 12 cazuri nu a prezentat expresie P504S pozitivă în zonele cu leziuni HPIN (scor 0). În grupul 2, 31 din cele 44 cazuri au relevat expresia pozitivă a P504S în HPIN (scor 1 și scor 2) (Fig. 2).

În ansamblul lotul general de studiu, cele 31 cazuri cu leziuni HPIN pozitive pentru P504S reprezintă 55% din cazuri (31/56).

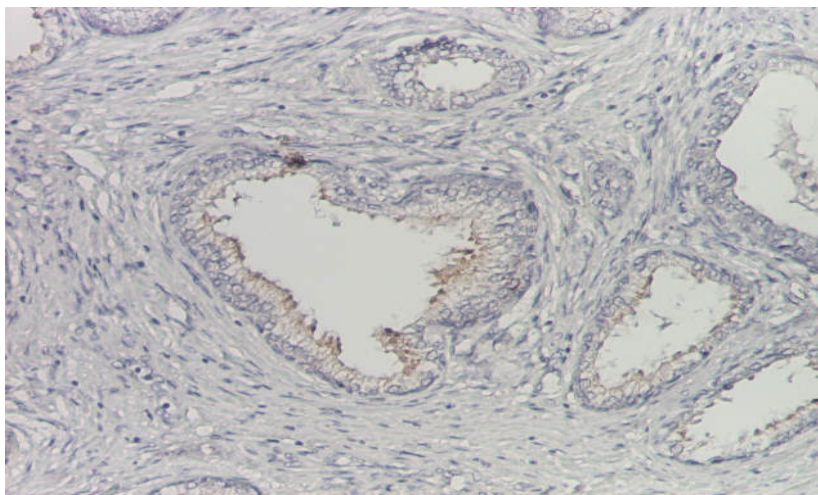


Fig. 1 Reacție P504S pozitivă în glande benigne, scor 1 (IHC, x10)

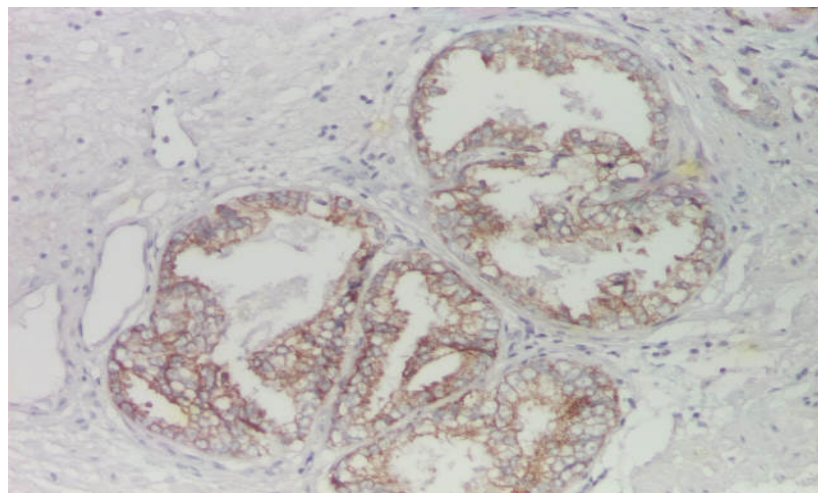


Fig.2 Reacție P504S pozitivă în HPIN, scor 2 (IHC, x10)

3. Expresia P504S în AAH

Analizând expresia P504S în zonele AAH din grupul 1 (leziuni premaligne), am identificat o expresie pozitivă (scor 1) în 8% din cazuri (1/12) (Fig. 3). Deși AAH a

prezentat o expresie P504S pozitivă scăzută, diagnosticul final AAH a fost menținut, în baza criteriilor histologice susținute de examenul calitativ în colorația standard Hematoxilină-Eozină și a criteriilor IHC, care au relevat markeri celulari bazali cu expresie pozitivă discontinuă la nivelul stratului celular bazal.

4. Expresia P504S în ACP

Analizând P504S în zonele ACP din grupul 2 (leziuni maligne), am identificat o expresie pozitivă în toate cele 44 cazuri (100%), cu următoarea distribuție: 5% (2/44) cu expresie scăzută în ACP grad Gleason 1 (scor 1), 27% (12/44) cu expresie moderată în ACP grad Gleason 2 (scor 2) și 68% (30/44) cu expresie crescută în ACP grad Gleason 3 și 4 (scor 3) (Fig.4).

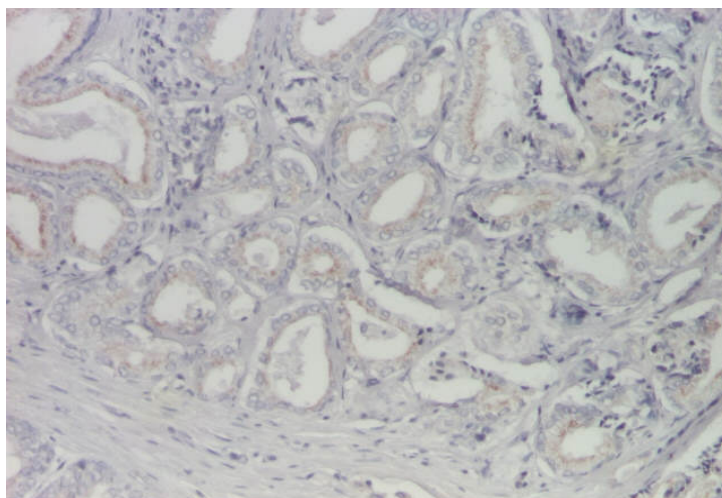


Fig. 3 Reacție P504S pozitivă în AAH, scor 1 (IHC, x10)

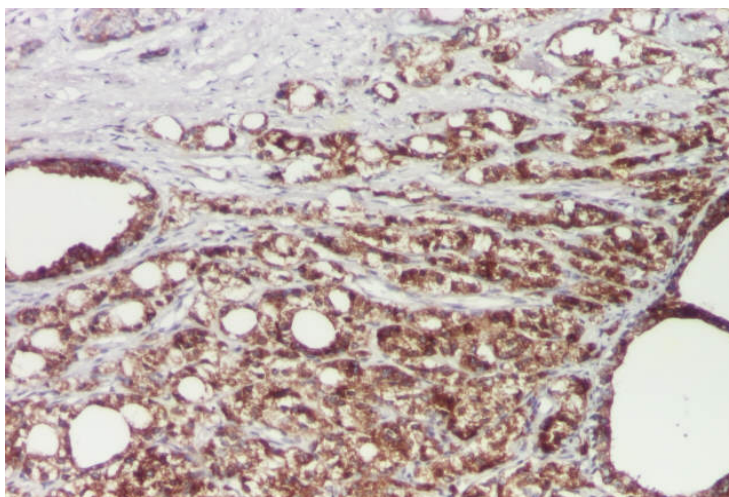


Fig. 4 Reacție P504S pozitivă în ACP, scor 3 (IHC, x10)

DISCUȚII

Studiul IHC al expresie P504S a permis identificarea unor aspecte relevante pentru evoluția procesului de carcinogeneză la nivel prostatic. Am observat că glandele benigne din grupul malign sunt mai frecvent pozitive la P504S decât glandele benigne din grupul premalign, fapt care sugerează un debut al carcinogenezei.

Rezultatele noastre sunt în concordanță cu datele din literatură, Ananthanarayanan et al. [15] raportând că glandele benigne adiacente ACP sunt pozitive la AMACR, spre deosebire de glandele benigne localizate la distanță de ACP. În studiul nostru glandele benigne au avut imunoreactivitate pozitivă pentru P504S în 4% din cazuri. Această valoare se situează între rezultatele obținute de Molinie et al. [16], care indică o expresie AMACR pozitivă în glandele benigne în 2% din cazuri, și rezultate publicate de Hameed et al., [17], conform cărora expresia AMACR este pozitivă în glandele benigne în 36% din cazuri.

Investigația IHC a evidențiat faptul că HPIN din grupul malign este mai frecvent pozitiv la P504S comparativ cu HPIN din grupul premalign, aceste evidențe susținând încadrarea HPIN ca leziune precursoră ACP. Expresia P504S în HPIN în lotul studiat, identificată ca pozitivă în HPIN în 55% din cazuri, se suprapune peste datele obținute în alte studii similare, publicate în fluxul principal de publicații, și anume: Paner et al. [18], cu 53% AMACR pozitiv în HPIN, Stewart et al. [19], cu 44% AMACR pozitiv în HPIN.

Imunoreactivitate pozitivă a P504S în AAH, decelată numai în 8% din cazuri, nu se suprapune peste datele altor studii: Kunju et al. [20] indică valori de 14%, iar Molinie et al. [16] raportează valori de 23%. Cu toate acestea, în baza rezultatelor personale, putem afirma că AAH este o leziune heterogenă, cu majoritatea cazurilor negative la P504S (92%), putând fi considerată o leziune premalignă doar datorită prezenței discontinue a stratului celular bazal, pus în evidență cu markeri celulari bazali.

În gama leziunilor prostatice premaligne și maligne, analiza expresiei AMACR în ACP a fost de asemenea în atenția grupurilor de cercetare axate pe acest domeniu de patologie, care au raportat pozitivitatea markerului cu diferențe mici procentuale între diferitele studii. Astfel, Kunju et al. [20] au identificat AMACR pozitiv în ACP în 100% din cazuri, Molinie et al. [16] – în 97% din cazuri, iar Jiang et al. [14] – în 93% din cazuri. Rezultatele noastre sunt în concordanță cu valorile sus-menționate. Trebuie însă subliniat faptul că expresia pozitivă P504S, prezentă în 100% din cazuri, a prezentat intensitate diferită în funcție de gradul Gleason. Rezultatele noastre sunt o dovadă a faptului că expresia P504S în celulele epiteliale secretorii prostatice crește ca intensitate direct proporțional cu gradul Gleason, ceea ce demonstrează specificitatea acestui marker în ACP.

CONCLUZII

Analiza imunohistochimică a pattern-ului P504S relevă că reacția pozitivă nu este echivalentă întotdeauna cu statusul malign, pentru confirmarea acestuia fiind necesară identificarea fenotipului P63-/AMACR+. Confirmarea prezenței markerului P504S se repercutează direct în creșterea facilității de identificare a celulelor prostatice maligne, în scăderea riscului unui diagnostic fals negativ și, implicit, în creșterea preciziei diagnosticului pozitiv.

BIBLIOGRAFIE

1. Jiang Z, Wu CL, Woda BA, Dresser K, Xu J, Fanger GR, Yang XJ. P504S/AMACR, a useful marker for diagnosis of small foci of prostatic carcinoma on needle biopsy. *Am J Surg Pathol* 2002; 26(9):1169-1174.
2. Yang XJ, Wu CL, Woda BA, Dresser K, Tretiakova M, Fanger GR, Jiang Z. Expression of alpha-Methylacyl-CoA racemase (P504S) in atypical adenomatous hyperplasia of the prostate. *Am J Surg Pathol* 2002; 26(7): 921-925.
3. Leav I, McNeal JE, Ho SM, Jiang Z. Alpha-methylacyl-CoA racemase (P504S) expression in evolving carcinomas within benign prostatic hyperplasia and in cancers of the transition zone. *Hum Pathol* 2003, 34(3): 228-233.
4. Rubin MA, Zhou M, Dhanasekaran SM, Varambally S, Barrette TR, Sanda MG, Pienta KJ, Ghosh D, Chinnaiyan AM. Alpha-Methylacyl coenzyme A racemase as a tissue biomarker for prostate cancer. *JAMA* 2002, 287(3): 1662-1670.
5. Jiang Z, Woda BA, Rock KL, Xu Y, Savas L, Khan A, Pihan G, Cai F, Babcook JS, Rathanaswami P, Reed SG, Xu J, Fanger GR. P504S a new molecular marker for the detection of prostate carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2001; 25(11): 1397-1404.
6. Kuefer R, Varambally S, Zhou M, Lucas PC, Loeffler M, Wolter H, Mattfeldt T, Hautmann RE, Gschwend JE, Barrette TR, Dunn RL, Chinnaiyan AM, Rubin MA. alpha-Methylacyl-CoA racemase: expression levels of this novel cancer biomarker depend on tumor differentiation. *Am J Pathol* 2002, 161(3): 841-848.
7. Evans AJ. Alpha-methylacyl CoA racemase (P504S): overview and potential uses in diagnostic pathology as applied to prostate needle biopsies. *J Clin Pathol* 2003; 56(12): 892-897.
8. Kumar-Sinha C, Shah RB, Laxman B, Tomlins SA, Harwood J, Schmitz W, Conzelmann E, Sanda MG, Wei JT, Rubin MA, Chinnaiyan AM. Elevated alpha-methylacyl-CoA racemase enzymatic activity in prostate cancer. *Am J Pathol* 2004, 164(3): 787-793.
9. Zhou M, Chinnaiyan AM, Kleer CG, Lucas PC, Rubin MA. Alpha-Methylacyl-CoA racemase: a novel tumor marker over-expressed in several human cancers and their precursor lesions. *Am J Surg Pathol* 2002, 26(7): 926-931.
10. Jiang Z, Fanger GR, Woda BA, Banner BF, Algate P, Dresser K, Xu J, Chu PG. Expression of alpha-methylacyl-CoA racemase (P504s) in various malignant neoplasms and normal tissues: a study of 761 cases. *Hum Pathol* 2003, 34(8): 792-796.
11. Jiang Z, Iczkowski KA, Woda BA, Tretiakova M, Yang XJ. P504S immunostaining boosts diagnostics resolutions of suspicious foci in prostatic needle biopsy specimens. *Am J Clin Pathol* 2004, 121(1): 99-107.
12. T Tretiakova MS, Sahoo S, Takahashi M, Turkyilmaz M, Vogelzang NJ, Lin F, Krausz T, Teh BT, Yang XJ. Expression of alpha-methylacyl-CoA racemase in papillary renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2004; 28(1): 69-75.
13. Epstein JI. Diagnosis and reporting of limited adenocarcinoma of the prostate on needle biopsy. *Mod Pathol* 2004, 17: 307-315.
14. Jiang Z, Li C, Fischer A, Dresser K, Woda BA. Using an AMACR (P504S)/34betaE12/p63 cocktail for the detection of small focal prostate carcinoma in needle biopsy specimens. *Am J Clin Pathol* 2005; 123(2): 231-236.
15. Ananthanarayanan V, Deaton RJ, Yang XJ, Pins MR, Gann PH. Alpha-methylacyl-CoA racemase (AMACR) expression in normal prostatic glands and high-grade prostatic intraepithelial neoplasia (HGPIN): association with diagnosis of prostate cancer. *Prostate* 2005; 63(4): 341-346.
16. Molinié V, Fromont G, Sibony M, Vieillefond A, Vassiliu V, Cochand-Priollet B, Hervé JM, Leuret T, Baglin AC. Diagnostic utility of a P63/AMACR cocktail in atypical foci in the prostate. *Mod Pathol* 2004; 17(10): 1180-1190.
17. Hameed O, Humphrey PA. Immunohistochemistry in diagnostic surgical pathology of the prostate. *Semin diagnostic pathol* 2005; 22(1): 88-104.
18. Paner GP, Luthringer DJ, Amin MB. Best practice in diagnostic immunohistochemistry prostate carcinoma and its mimics in needle core biopsies. *Arch Pathol* 2008, 132(9): 1388-1396.
19. Stewart J, Fleshner N, Cole H, Toi A, Sweet J. Prognostic significance of alpha-methylacyl-coA racemase among men with high grade prostatic intraepithelial neoplasia in prostate biopsies. *J Urol* 2008; 179(5): 1751-1755.