LUCIANA RODRIGUES DE MEIRELLES

Este exemplar corresponde à versão final da Tese de Doutorado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, para obtenção do título de Doutor em Ciências Médicas, Área de Concentração em Anatomia Patológica do(a) aluno(a) Luciana Rodrigues de Meirelles.

Campinas, 30 de julho de 2003.

Prof(a). Dr(a). Athanase Billis Orientador(a)

"Atrofia prostática.

Contribuição à etiopatogênese de uma lesão que se confunde com adenocarcinoma"

CAMPINAS

2003

UNICAMP BIBLIOTECA CENTRAL UNICAMP BIBLIOTECA CENTRAL SEÇÃO CIRCULANTE

LUCIANA RODRIGUES DE MEIRELLES

"Atrofia prostática.

Contribuição à etiopatogênese de uma lesão que se confunde com adenocarcinoma''

Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, para a obtenção do Título de Doutor em Ciências Médicas, área de Anatomia Patológica.

ORIENTADOR – PROF. DR. ATHANASE BILLIS

CAMPINAS

2003

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS UNICAMP

M478at

Meirelles, Luciana Rodrigues de

Atrofia prostática. Contribuição à etiopatogênese de uma lesão que se confunde com adenocarcinoma / Luciana Rodrigues de Meirelles. Campinas, SP : [s.n.], 2003.

Orientador : Athanase Billis Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

 Próstata. 2. Atrofia. 3. Imunohistoquímica. I. Athanase Billis.
II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título. Banca examinadora da Tese de Doutorado

Orientador: Prof. Dr. Athanase Billis

Mambuage
VIETINFOS'
1
1.
2
3
5.
4
•
5
5.

Curso de pós-graduação em Ciências Médicas, Área de Concentração em Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Dedicatória

À minha mãe e melhor amiga, Nilma, pelo exemplo, amor e dedicação imfinitos.

À minha avó, Noemia, que embora, não mais fisicamente presente, viverá sempre no meu coração.

Ao meu amor e amigo, Adriano, por todos os momentos ...

Dedicatória

Ao mestre, orientador e amigo, Professor Athanase, pelo constante incentivo, confiança e por todos os ensinamentos pelos quais lhe serei eternamente grata. À grande amiga e Professora Cecilia Amelia Fazzio Escanhoela, pelo incentivo, paciência e companheirismo infinito.

Ao Professor José Vassallo, mestre e amigo, pelo inestimável auxílio no desenvolvimento da técnica de imunoistoquímica deste trabalho.

Ao Professor Luiz Alberto Magna, do Departamento de Genética Médica da FCM/UNICAMP, pelo inestimável auxílio na interpretação estatística do trabalho.

À Professora Maria Letícia Cintra, pelo apoio, atenção e auxílio nos momentos de dificuldade.

Aos demais Docentes do Departamento de Anatomia Patológica da FCM/UNICAMP, pelo exemplo e confiança.

À Marisa de Almeida Matsura e a toda equipe do Laboratório de Imunoistoquímica e Hibridização in situ, do CAISM/UNICAMP, pelo inestimável auxílio no desenvolvimento deste trabalho.

Às companheiras e amigas Maria do Carmo Machado da Silva e Elisabeth Justi Rodrigues, pela enorme contribuição e amizade conquistada.

Ao Adilson Abilio Piaza, pela criatividade, dedicação e grande auxílio na etapa áudio-visual deste trabalho.

À todos os funcionários do Laboratório de Anatomia Patológica do HC/UNICAMP, pela amizade, paciência e contribuição diárias.

"Epur si Muove" ("e com tudo ela se move")

Galileu Galilei (1564-1642)

PÁG.

RESUMO	xxxv
ABSTRACT	xxxix
1- INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA	43
1.1- Histórico e Nomenclatura	45
1.2- Morfologia	46
1.3- Comportamento e significado biológico	49
1.4- Etiopatogênese	56
2- JUSTIFICATIVA	63
3- OBJETIVOS	67
4- MATERIAL E MÉTODOS	71
4.1- Material (Grupos 1 e 2)	73
4.2- Ultra-som e estudo do fluxo sanguíneo com Doppler colorido	74
4.3- Estudo histológico	76
4.3.1- Grupo 1	76
4.3.2- Grupo 2	93
4.4- Estudo Imunoistoquímico	100
4.5- Estudo quantitativo	101
4.5.1- Grupo 1	104
4.5.2- Grupo 2	106
4.6- Análise estatística	110

4.6.1- Grupo 1 vs Grupo 2	110
4.6.2- Grupo 1	110
4.6.3- Grupo 2	111
5. RESULTADOS	113
5.1- Doppler colorido	115
5.2- Estudo histológico	115
5.3- Fluxo sanguíneo ao Doppler colorido vs atrofia prostática (subtipo histológico)	116
5.4- Estudo imunoistoquímico	117
5.4.1- HIF- 1 alfa	117
5.4.2- VEGF	121
6- DISCUSSÃO	127
6.1- Doppler colorido	129
6.2- Estudo histológico	131
6.3- Estudo imunoistoquímico	131
7- CONCLUSÕES	135
8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	139
9- ANEXOS	149

AA	Ácinos atróficos
ACM	Ácinos com metaplasia escamosa
ANA	Ácinos não atróficos
AP	Atrofia prostática
APS	Atrofia prostática simples
ASM	Ácinos sem metaplasia escamosa
BSA	Soroalbumina bovina
CSA	Catalyzed signal amplification (Sistema catalizador de amplificação de sinal)
DAB	Agente cromógeno diaminobenzidina
DP	Desvio padrão
HE	Hematoxilina-eosina
HIF-1α	Hypoxia-inducible factor-1alpha (Fator induzido por hipóxia 1alfa)
HNP	Hiperplasia nodular da próstata
HPA	Hiperplasia pós-atrófica
Kit ABC	Avidina-biotina-peroxidase
n	Número amostral
NIP	Neoplasia intraepitelial prostática
PBS	Tampão fosfato salino
PCR	Polimerase chain reaction (reação de cadeia longa de polimerase)

pO ₂	Pressão parcial	de oxigênio
P ^O ²	ressue puierui	

- PSA Prostate-specific antigen (antígeno prostático específico)
- RNA Ácido ribonucleico
- RTU Ressecção transuretral
- TGF-β1 Tumor growth factor beta 1 (Fator de crescimento tumoral beta 1)

Tris-HCI Tris [Hidroximetil] aminometano – ácido clorídrico

- VEGF Vascular endothelial growth factor (Fator de crescimento vascular endotelial)
- VEGFR Vascular endothelial growth factor receptor (receptor do fator de crescimento vascular endotelial)
- ZP Zona periférica
- ZPD Zona periférica direita
- ZPE Zona periférica esquerda
- ZTD Zona de transição direita
- ZTE Zona de transição esquerda

PÁG.

TABELA 1-	Fluxo sangüíneo avaliado pelo Doppler colorido em 40 lesões suspeitas mostrando apenas AP na biópsia	115
TABELA 2-	Freqüência de atrofia prostática em 40 lesões suspeitas biopsiadas	116
TABELA 3-	Fluxo sangüíneo ao Doppler colorido e AP (subtipo histolólogico) em 40 lesões suspeitas – teste do qui- quadrado	116
TABELA 4-	Grupos 1 e 2 (ácinos atróficos e ácinos com metaplasia) – teste <i>t</i> de Student para amostras independentes	117
TABELA 5-	Grupos 1 e 2 (ácinos não atróficos e ácinos sem metaplasia) – teste <i>t</i> de Student para amostras independentes	118
TABELA 6-	Grupo 1 (atrofia prostática) – comparação de médias	119
TABELA 7-	Grupo 1 (atrofia prostática) – comparação de proporções	119
TABELA 8-	Grupo 1 (atrofia prostática) – análise da variância	120
TABELA 9-	Grupo 1 (atrofia prostática) – teste <i>t de Student</i>	120
TABELA 10-	Grupo 1 (atrofia prostática) – teste t de Student	121
TABELA 11-	Grupo 1 e 2 (ácinos atróficos e ácinos com metaplasia teste <i>t</i> de Student para amostras independentes	122
TABELA 12-	Grupo 1 e 2 (ácinos não atróficos e ácinos sem metaplasia)teste <i>t</i> de Student para amostras independentes	122
TABELA 13-	Grupo 1 (atrofia prostática) – comparação de médias	123
TABELA 14-	Grupo 1 (atrofia prostática) – comparação de proporções	124

TABELA 15-	Grupo 1 (atrofia prostática) – análise da variância	124
TABELA 16-	Grupo 1 (atrofia prostática) – teste <i>t</i> de Student	125
TABELA 17-	Grupo 2 (infarto da próstata) – comparação de médias	125

PÁG.

FIGURA 1-	Nódulo suspeito sem fluxo ao Doppler colorido	74
FIGURA 2-	Doppler colorido com fluxo de padrão normal	75
FIGURA 3-	Nódulo suspeito em zona periférica direita com hiperfluxo ao	
	Doppler colorido	75
FIGURA 4-	Atrofia prostática simples com fibrose (HE 100x)	77
FIGURA 5-	Atrofia prostática simples com fibrose (HE 100x)	78
FIGURA 6-	Atrofia prostática simples sem fibrose (HE 50X)	79
FIGURA 7-	Atrofia prostática simples sem fibrose (HE 50X)	80
FIGURA 8-	Atrofia prostática simples sem fibrose (HE 100X)	81
FIGURA 9-	Atrofia prostática simples sem fibrose (HE 100X)	82
FIGURA 10-	Atrofia prostática simples sem fibrose (HE 400X)	83
FIGURA 11-	Atrofia prostática hiperplásica com discreta fibrose do estroma	
	(HE 100x)	84
FIGURA 12-	Atrofia prostática hiperplásica com discreta fibrose do estroma	
	(HE 100x)	85
FIGURA 13-	Atrofia prostática hiperplásica com discreta fibrose do estroma	
	(HE 100x)	86
FIGURA 14-	Atrofia prostática hiperplásica (HE 1000x)	87
FIGURA 15-	Atrofia prostática hiperplásica (HE 1000x)	88
FIGURA 16-	Atrofia prostática hiperplásica (HE 1000x)	89
FIGURA 17-	Atrofia prostática esclerosante (HE 100x)	90
FIGURA 18-	Atrofia prostática esclerosante (HE 100x)	91
FIGURA 19-	Atrofia prostática esclerosante (HE 100x)	92
FIGURA 20-	Infarto agudo da próstata (HE 50x)	93
FIGURA 21-	Infarto agudo da próstata (HE 50x)	94
FIGURA 22-	Infarto agudo da próstata (HE 100x)	95

FIGURA 23-	Ácinos com metaplasia escamosa (ACM) circunjacentes à área	
	de infarto (HE 100x)	96
FIGURA 24-	Ácinos com metaplasia escamosa (ACM) circunjacentes à área	
	de infarto (HE 100x)	97
FIGURA 25-	Ácino sem metaplasia escamosa (ASM) (HE 400x)	98
FIGURA 26-	Ácinos sem metaplasia escamosa (ASM) (HE 400x)	99
FIGURA 27-	Ácino com metaplasia escamosa (ACM) com núcleos positivos	
	e negativos para o HIF-1alfa (400x)	102
FIGURA 28-	Ácino com metaplasia escamosa (ACM) com núcleos positivos	
	e negativos para o HIF-1alfa (1000x)	103
FIGURA 29-	Ácinos atróficos (AA) com núcleos negativos para o HIF-1	
	alfa (1000x)	104
FIGURA 30-	Ácinos atróficos (AA) com núcleos negativos para o VEGF	
	(1000x)	105
FIGURA 31-	Ácinos com metaplasia escamosa (ACM) com núcleos	
	positivos e negativos para o VEGF (400x.)	106
FIGURA 32-	Ácino com metaplasia escamosa (ACM) com núcleos positivos	
	e negativos para o VEGF (1000x)	107
FIGURA 33-	Ácino sem metaplasia escamosa (ASM) com núcleos positivos	
	e negativos para o HIF-1alfa (400x)	108
FIGURA 34-	Ácino sem metaplasia escamosa (ASM) com núcleos positivos	
	e negativos para o HIF-1alfa (1000x)	109

LISTA DE ESQUEMA

PÁG.

PLANILHA 1-	Subtipos histológicos de atrofia prostática, fluxo sangüíneo,	
	ecogenicidade, localização de nódulos suspeitos ao ultra-	
	som, raça e idade de 33 pacientes	151
	(Grupo 1)	151
PLANILHA 2A-	Número de ácinos com metaplasia escamosa (ACM) e	
	número absoluto de núcleos positivos e negativos para o	
	HIF-1alfa e VEGF em 8 pacientes com infarto agudo da	153
	próstata. (Grupo 2)	155
PLANILHA 2B-	Número de ácinos sem metaplasia escamosa (ASM) e	
	número absoluto de núcleos positivos e negativos para o	
	HIF-1alfa e VEGF em 8 pacientes com infarto agudo da	154
	próstata. (Grupo 2)	134
PLANILHA 3A-	Número de ácinos atróficos (AA) e número absoluto de	
	núcleos positivos e negativos para o HIF-1alfa e VEGF em	155
	33 pacientes. (Grupo 1)	
PLANILHA 3B-	Número de ácinos não atróficos (ANA) e número absoluto	
	de núcleos positivos e negativos para o HIF-1alfa e VEGF	157
	em 33 pacientes. (Grupo 1)	



RESUMO

A atrofia prostática (AP) é uma das lesões que mais se confunde com carcinoma. AP aumenta com a idade e sua etiopatogênese é desconhecida. Isquemia local é um fator que pode ter papel na patogênese da lesão. O presente trabalho teve como objetivos estudar o fluxo sangüíneo, pelo Doppler colorido, de nódulos e/ou áreas suspeitas cujas biópsias tenham mostrado AP como única lesão e comparar a expressão imunoistoquímica dos marcadores de hipóxia tecidual HIF-1 α e VEGF entre áreas com AP e áreas de infarto agudo da próstata. O material obtido corresponde a biópsias prostáticas por agulha de 33 pacientes entre 43 e 86 anos (média: 69) com lesões suspeitas ao ultra-som, correspondendo a 40 áreas nodulares. Estudaram-se também 8 pacientes com áreas de infarto agudo em hiperplasia nodular da próstata. A expressão imunoistoquímica do HIF-1 α e do VEGF foi quantificada e comparada entre os grupos. AP foi a única lesão presente nas 40 áreas biopsiadas. O fluxo estava ausente em 24/40 (60%), presente em 12/40 (30%) e aumentado em 4/40 (10%). A quantidade de células expressando o HIF-1a e o VEGF foi significativamente maior nas áreas de infarto agudo (p<0,001). Concluímos que a ausência de fluxo em 60% das lesões estudadas e a menor expressão dos marcadores de isquemia tecidual (HIF-1a e VEGF) nas áreas de AP parecem apoiar a isquemia local crônica como um dos importantes fatores na etiopatogênese desta lesão.



ABSTRACT

Prostatic atrophy (PA) is one of the most frequent mimics of prostatic adenocarcinoma. The frequency of PA increases with age and its etiopathogenesis is unknown. Local ischemia seems to be a potential factor for its pathogenesis. The aims of this study were to study prostatic blood flow on color Doppler transrectal ultrasound examination of nodules and / or suspicious areas that showed prostatic atrophy as the only diagnosis on biopsy and compare the imunnohistochemical expression of hypoxia induced factors such as hypoxiainducible factor-1alpha (HIF-1 α) and vascular endothelial growth factor (VEGF). between areas of prostatic atrophy and areas of prostatic infarcts. The material was obtained from transrectal prostatic core biopsies of 33 men whose age ranged from 43 to 86 (average 69) years with suspicious lesions on transrectal ultrasound, corresponding to 40 areas. We have also studied 8 patients with prostatic nodular hyperplasia and areas of acute ischemia on biopsy. The expression of HIF-1 α and VEGF was analysed and compared between the groups. PA was the only lesion present in all 40 suspicious lesions biopsied at ultrasound. On color Doppler the suspicious areas showed absent flow in 24/40 (60%), present flow in 12/40 (30%), and increased flow in 4/40 (10%) of the lesions. HIF-1 α and VEGF were strongly expressed in areas of prostatic infarcts. In contrast, less frequently staining was observed in areas of PA (p < 0.001). Absent flow in the majority of the lesions studied (60%) and the weaker expression of HIF-1 α and VEGF in atrophic areas may be a further evidence for a possible role of local chronic ischemia in the etiopathogenesis of prostatic atrophy.



1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

1.1- HISTÓRICO E NOMENCLATURA

A atrofia prostática (AP) é uma das lesões que mais freqüentemente são confundidas com adenocarcinoma. Os ácinos prostáticos apresentam-se atróficos, simulando um adenocarcinoma microacinar (CHEVILLE e BOSTWICK, 1995). AP ocorre com maior freqüência no lobo posterior ou zona periférica e ganhou importância maior com o aumento do uso das biópsias por agulha na detecção do carcinoma prostático.

MOORE (1936) foi um dos primeiros autores a descrever a atrofia prostática em um estudo sistemático em autópsias. Ele observou que havia uma forte correlação com a idade e, de acordo com o seu estudo, a atrofia prostática inicia-se na 5ª década e continua como um processo progressivo até a 8ª década. MOORE (1936) classificou a AP em **atrofia acinar simples** e **atrofia esclerosante**. A atrofia acinar simples geralmente envolvia o lóbulo inteiro embora ácinos isolados também pudessem ser afetados. O estroma circunjacente não mostrava fibrose e as fibras musculares eram abundantes envolvendo os ácinos na maneira usual. A atrofia esclerosante foi descrita como um processo muito mais complexo. As lesões mais iniciais podiam resultar da atrofia simultânea do epitélio com uma proliferação de fibroblastos junto ao ácino. Progressivamente havia hialinização do colágeno e dilatação, não raro acentuada, dos ácinos ou ductos. Em fases mais avançadas, o tecido fibroso hialinizado substituía o ácino original resultando uma lesão de contornos pregueados. O epitélio tornava-se extremamente achatado podendo, inclusive, desaparecer.

FRANKS (1954) acrescentou à atrofia simples e atrofia esclerosante uma lesão à qual deu o nome de **hiperplasia pós-atrófica**. Em alguns casos, o epitélio prostático atrófico sofria alteração hiperplásica. De acordo com este autor, a hiperplasia podia comprometer áreas de atrofia simples (**hiperplasia lobular**) ou esclerosante (**hiperplasia pós-esclerosante**). Em ambos os casos, havia proliferação do epitélio dos ácinos ou ductos atróficos. A hiperplasia lobular seguia-se à atrofia simples e, em geral, comprometia todo o lóbulo glandular. Um ducto ou alvéolo central, geralmente alongado e freqüentemente mostrando alguma alteração cística, era rodeado por ácinos neoformados. A atrofia esclerosante com hiperplasia era semelhante à hiperplasia lobular, porém, mais irregular e, como regra, comprometia o ácino terminal. A hiperplasia envolvia, também, o epitélio do ácino atrófico central. Em alguns casos, os ácinos hiperplásicos podiam mostrar as características morfológicas do carcinoma de pequenos ácinos, porém, conservavam o arranjo relativamente ordenado da hiperplasia pós-esclerosante.

A nomenclatura da AP é problemática e confusa. Desde os primeiros trabalhos, os autores descreveram entidades morfológicas semelhantes com nomes diferentes. Apesar de não usar o termo *hiperplasia*, a figura 14 do trabalho de MOORE (1936) é idêntica à lesão mostrada na figura 8 do trabalho de FRANKS (1954). MOORE (1936) denomina esta lesão **atrofia acinar simples**, enquanto que FRANKS (1954), a chama de **hiperplasia lobular**.

Atrofia prostática é um termo genérico para uma lesão que pode ser subtipada histologicamente, de acordo com BILLIS (1998), em simples, hiperplásica e esclerosante. A denominação **hiperplasia pós-atrófica** (HPA) de FRANKS (1954) é a utilizada por autores americanos e corresponde ao subtipo denominado de **atrofia hiperplásica**. BILLIS (1998) prefere esta última denominação porque se trata de um termo puramente descritivo, enquanto que a **hiperplasia pós-atrófica** tem conotação patogenética. Não há evidências de que a hiperplasia, cronologicamente, ocorra após a atrofia. Os dois processos (atrofia e hiperplasia) poderiam ocorrer concomitantemente.

1.2- MORFOLOGIA

A AP pode ser classificada em três subtipos histológicos: **simples**, **hiperplásica** (**ou hiperplasia pós-atrófica**) e **esclerosante** (BILLIS, 1998). Fibrose do estroma pode estar presente ou não na atrofia simples e hiperplásica. A atrofia hiperplásica corresponde à hiperplasia pós-atrófica de FRANKS (1954) e é a lesão que, quando associada à fibrose, mais freqüentemente se confunde com o adenocarcinoma. Na atrofia esclerosante, há sempre fibrose do estroma (vide esquema 1).



ESQUEMA 1- Subtipos histológicos de atrofia prostática: simples, hiperplásica (ou hiperplasia pós-atrófica) e esclerosante (BILLIS, 1998). Notar que as atrofias simples e hiperplásica podem apresentar ou não fibrose, enquanto que a atrofia esclerosante sempre apresenta fibrose (representada em amarelo).

A atrofia hiperplásica associada com fibrose é a que mais freqüentemente simula o adenocarcinoma (EPSTEIN, 1989). O diagnóstico histológico diferencial com adenocarcinoma é feito com base em aspectos microscópicos próprios da AP (BILLIS, 1997):

- a) apesar do caráter aparentemente infiltrativo dos ácinos atróficos, sua disposição conserva a arquitetura lobular da glândula prostática, isto é, nota-se a tendência de os ácinos se disporem ao redor de um ducto ou ácino que, em geral, está dilatado. Este aspecto deve ser observado em pequeno aumento;
- b) aspecto simulando infiltração em bloco e, não, glândulas individuais se infiltrando de permeio a glândulas benignas maiores;

- c) aspecto basófilo das glândulas atróficas devido à escassez de citoplasma e predomínio de células basais;
- núcleos irregularmente dispostos, ao contrário da tendência de ordenação em fila no adenocarcinoma;
- e) na AP, nota-se a ausência de atipias celulares, particularmente a ausência de nucléolos proeminentes. Não raro, os ácinos atróficos podem mostrar núcleos hipercromáticos e citoplasma escasso, indicando apenas uma alteração regressiva;
- f) a presença de camada de células basais é o critério mais importante para o diagnóstico diferencial. As células secretoras atróficas podem ficar com a mesma altura das células basais e, em alguns casos, confundem-se com estas últimas. Nesta eventualidade, a pesquisa imunoistoquímica de anticorpos monoclonais, particularmente de citoqueratinas de alto peso molecular como 34βE12, que coram células basais, pode ser de grande valia (WOJNO e EPSTEIN, 1995).
 - g) freqüente elastose do estroma (BILLIS e MAGNA, 2000).

A presença de elastose caracterizada por uma tonalidade basófila do estroma é um achado freqüente em áreas de atrofia, sendo um achado útil e muito prático para o diagnóstico diferencial, não sendo necessária a realização de colorações especiais. Foi descrita por BILLIS e MAGNA (2000) e observada em 64/85 (75,29%) das próstatas com atrofia estudadas em autópsias.

A **atrofia parcial** é uma variante de atrofia que particularmente também traz dificuldades no diagnóstico diferencial com o adenocarcinoma (CINA e EPSTEIN, 1997). À semelhança da atrofia convencional, na parcial, há preservação da estrutura lobular, porém, não se nota o aspecto de basofilia porque os núcleos estão mais espaçados e, caracteristicamente, o citoplasma está relativamente preservado, conferindo aos ácinos aspecto claro que se confunde com o adenocarcinoma. Nesta variante, o emprego de imunoistoquímica para a confirmação da presença de células basais é também de grande utilidade.

De acordo com EPSTEIN e YANG (2002), algum grau de atipia pode ser observado em glândulas atróficas, sendo interpretado como de natureza degenerativa. Nada impede, entretanto, que em glândulas atróficas haja concomitância de NIP.

De acordo com CINA e EPSTEIN (1997) e EGAN et al. (1997), a variante atrófica do adenocarcinoma da próstata pode ser confundida com atrofia. Frente a esta possibilidade, deve-se atentar para eventual presença de adenocarcinoma com feições usuais na vizinhança. Na ausência deste achado a pesquisa imunoistoquímica de células basais é imprescindível para o diagnóstico diferencial.

Adenocarcinoma pode infiltrar áreas de atrofia prostática. Esta é uma possibilidade que requer atenção para que os ácinos neoplásicos possam ser identificados de permeio aos atróficos. A presença de núcleos ordenados e vesiculosos com nucléolos proeminentes e de ácinos de aspecto claro deve fazer suspeitar de adenocarcinoma infiltrando área de atrofia. A imunoistoquímica também é de grande valia nesta eventualidade.

CHEVILLE e BOSTWICK (1995) identificaram **hiperplasia pós-atrófica** em 18 (18%) espécimes cirúrgicos totalmente processados de prostatectomias radicais, sendo que 10 casos eram unicêntricos e 8 multicêntricos. HPA estava presente na zona periférica de todos os casos exceto em dois, os quais mostravam comprometimento adicional da zona de transição. De acordo com os autores, a hiperplasia pós-atrófica corresponde ao extremo de um contínuo morfológico de atrofia acinar, sendo a lesão que mais se confunde com adenocarcinoma. Eles questionam a idéia de que HPA seja uma entidade distinta, argumentando que não há uma separação nítida neste contínuo entre atrofia e HPA. Também preferem não subtipar a HPA. Consideram que a divisão da HPA em subtipos lobular e pós-esclerosante é útil apenas para permitir o reconhecimento de HPA e fazer a distinção desta lesão com outras que a simulam.

1.3- COMPORTAMENTO E SIGNIFICADO BIOLÓGICOS

Há controvérsias no que se refere ao eventual potencial da HPA como lesão pré-cancerosa. A relação da AP com neoplasia é instigante e foi estudada por muitos autores (AMIN et al., 1999; ANTON, 1999; MOORE, 1935; O'MALLEY et al., 1990; OERTEL, 1926; OPPENHEIMER et al., 1998).

OERTEL (1926) descreveu evidência de uma relação entre atrofia e neoplasia na próstata e mama feminina. O autor observou que havia regressão de órgãos e tecidos com o aumento da idade, um declínio estrutural e funcional e perda associada com "proliferação e regressão" celular.

MOORE (1935) acreditava que o carcinoma da próstata, na maioria dos casos, resultava da estimulação e proliferação autônoma do epitélio previamente atrófico.

RICH (1935) sugeriu que localizações preferenciais do carcinoma latente da próstata eram o tecido senil não hipertrofiado e as glândulas atróficas comprimidas que margeavam nódulos hiperplásicos.

De acordo com FRANKS (1954), a hiperplasia pós-esclerosante era um processo irregular e, histologicamente, parecia existir evidência satisfatória de que o carcinoma de pequenos ácinos poderia se originar dela.

LIAVAG (1968) sugeriu que a atrofia dava origem às pequenas proliferações alveolares, as quais poderiam evoluir para carcinoma. Estas pequenas proliferações na atrofia prostática poderiam representar um mecanismo de regeneração: seriam um "crescimento de substituição" que ocorreria a partir das células "sobreviventes" nas glândulas atróficas. De acordo com os achados deste autor, havia uma correlação significante entre atrofia, proliferação de pequenos ácinos e carcinoma.

HPA é considerada por alguns autores como lesão potencialmente precursora do adenocarcinoma, devido às semelhanças morfológicas entre estas duas lesões e à sua maior atividade proliferativa em comparação à AP simples (TSUJIMOTO et al., 2002). Estudos imunoistoquímicos com marcador de proliferação celular, Ki-67, antígeno nuclear (MIB-1), demonstraram atividade proliferativa consideravelmente maior na HPA em relação à AP simples e os ácinos normais (FENELEY et al., 1996). Estudos com o anticorpo p53 demonstraram mutação presente em 5,3% das HPA e em 4,2% das NIP de alto grau, enquanto que em glândulas normais a mutação estava ausente. Segundo TSUJIMOTO et al. (2002), estes achados sugerem que a HPA possa ser uma lesão prémaligna e precursora do adenocarcinoma.

Outros trabalhos, entretanto, não apóiam estas hipóteses (AMIN et al., 1999; BILLIS, 1998; BILLIS e MAGNA, 2000; CHEVILLE e BOSTWICK, 1995; KOVI, 1985; MOSTOFI e PRICE, 1973; TOTTEN et al., 1953). Um ano antes do trabalho de FRANKS (1954), TOTTEN et al. (1953) descreveram uma lesão semelhante a qual foi chamada de **hiperplasia lobular prostática com esclerose variável**. Estes autores não observaram em seu estudo nenhuma evidência definitiva de que a hiperplasia lobular pudesse se comportar como lesão maligna. Em pelo menos 4 instâncias, uma quantidade moderada de hiperplasia lobular foi vista juntamente com carcinoma. Porém, em nenhum caso foi possível demonstrar continuidade entre estas lesões.

KOVI (1985), estudando cortes seriados de 173 próstatas com carcinoma, não observou nenhuma glândula atrófica mostrando evidência inequívoca de transição para um carcinoma de pequenos ácinos. O autor sugeriu que o carcinoma da próstata se origina do epitélio glandular, provavelmente como resultado de mutação.

CHEVILLE e BOSTWICK (1995) estudaram a relação topográfica entre a neoplasia intraepitelial prostática (NIP) de alto grau e adenocarcinoma com HPA em 100 espécimes consecutivos de prostatectomia radical, os quais foram totalmente processados para histologia. Estes autores não consideram que a HPA seja uma lesão pré-maligna. Concordam com TOTTEN et al. (1953) e SEMENZA et al. (2000) que a presença de adenocarcinoma no interior ou adjacente à HPA seja um epifenômeno.

Em estudo realizado no Brasil com autópsias, BILLIS (1998) testou a possível relação da atrofia prostática com o carcinoma histológico (incidental) e NIP de alto grau. A análise estatística demonstrou não haver diferença significante quanto à freqüência do carcinoma histológico (incidental) em pacientes com e sem atrofia prostática. Carcinoma histológico estava presente em 5 (33,33%) pacientes sem AP e em 24 (28,23%) pacientes com AP (0,95<p<0,99). Não se observou também diferença significante quanto à freqüência de NIP de alto grau. Esta lesão atípica estava presente em 12 (80%) pacientes sem AP e em 72 (84,70%) pacientes com AP (0,50<p<0,95). Estes resultados não apóiam a hipótese de a atrofia prostática ser uma lesão pré-maligna.

AMIN et al. (1999) e ANTON et al. (1999) também não encontraram correlação entre atrofia prostática e câncer. ANTON et al. (1999), em estudo com prostatectomias radicais, não encontraram correlação entre a presença de HPA e carcinogênese e também não observaram associação topográfica entre HPA e focos de

carcinoma prostático. Os autores concluíram que a HPA é uma lesão freqüente, encontrada em cerca de 1/3 das próstatas, com ou sem carcinoma associado.

BAKSHI et al. (2000) realizaram estudo prospectivo com biópsias de próstata, tendo encontrado lesões benignas em 54% das biópsias iniciais. Carcinoma estava presente em 42% destas biópsias e NIP de alto grau ou atipia, em 4%. HPA foi observada em 17% das biópsias iniciais com lesões benignas, das quais 75% apresentavam inflamação associada. No seguimento dos pacientes, não se observou diferença significante entre o surgimento de carcinoma e a presença prévia de HPA, atrofia parcial ou atrofia. Os autores, consideram, portanto, que os subtipos de atrofia não estão associados com maior risco de desenvolvimento de carcinoma.

DE MARZO et al. (1999), entretanto, admitem a possibilidade de a atrofia prostática associada à inflamação (**atrofia inflamatória**) ter um papel na carcinogênese prostática.

Inflamação crônica de longa data e proliferação celular são fatores associados à carcinogênese em vários órgãos, como fígado, intestino grosso, bexiga urinária e estômago. O mecanismo de carcinogênese proposto envolve o dano tecidual contínuo e conseqüente regeneração na presença de moléculas reativas de oxigênio e compostos de nitrogênio (WEITZMAN e GORDON, 1990). Moléculas reativas, como o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e óxido nítrico (NO) são liberadas pelas células inflamatórias e podem, então, interagir com o DNA no epitélio em proliferação, o que pode ocasionar alterações genômicas irreversíveis como mutações em ponto, deleções e rearranjos. Esta seqüência: inflamação crônica \rightarrow carcinoma já foi considerada como potencial mecanismo na carcinogênese da próstata (LIAVAG, 1968).

No epitélio normal da próstata, a maioria das divisões celulares ocorre na porção basal das glândulas, onde provavelmente estão localizadas células totipotentes ("stem cells"). As células apicais secretoras são consideradas como produtos da diferenciação das células basais (BONKHOFF et al., 1994; DE MARZO et al., 1999; MCNEAL et al., 1995). São estas células maduras que, sob regulação dos andrógenos, exercem as funções glandulares da próstata e também produzem e secretam o PSA ("prostate-specific antigen"). Tanto a NIP de alto grau como o carcinoma prostático apresentam características fenotípicas e morfológicas de células secretoras, assim como, têm propriedades biológicas semelhantes às das *"stem cells"*, como capacidade de replicação do DNA, imortalidade e expressão da telomerase (SOMMERFELD et al., 1996; KOENEMAN et al., 1998). Com base nestes achados, considera-se que células prostáticas intermediárias, ou seja, com características gênicas e morfológicas de células basais e de células secretoras, sejam o alvo inicial da transformação neoplásica (DE MARZO et al., 1998).

Na próstata, a inflamação crônica está associada com HPA e com AP simples focal. DE MARZO et al. (1999) propuseram agrupar estas lesões em uma única categoria, denominada **atrofia proliferativa inflamatória (API).** Segundo os autores, a API precisa ser diferenciada da atrofia da próstata difusa de causa hormonal (DE MARZO et al., 2001). Ao contrário da API, esta ocorre de forma homogênea na glândula e mostra alto índice de apoptose. A API, por sua vez, representa um dos espectros de lesões focais da próstata, não estando associada ao decréscimo dos níveis de andrógenos e também não apresentando apoptose freqüente. MCNEAL (1997) se referiu a esta lesão como **atrofia pósinflamatória.** Mais recentemente, RUSKA et al. (1998) dividiram as lesões atróficas focais em dois tipos, a **atrofia simples** e a **hiperplasia pós-atrófica**. A API está, em geral, associada a inflamação crônica e, às vezes, a inflamação aguda. Observa-se ruptura do epitélio, em geral, em áreas adjacentes a corpos amiláceos, com infiltrado inflamatório composto por linfócitos e macrófagos no lúmen como também na espessura do epitélio glandular e no estroma.

HPA apresenta características morfológicas que, com freqüência, se sobrepõem às do adenocarcinoma prostático, como a proliferação de pequenos ácinos com núcleos aumentados e nucléolos proeminentes, podendo causar dificuldades no diagnóstico diferencial destas lesões, principalmente nas biópsias por agulha. Por outro lado, HPA distingue-se histologicamente da AP simples, a qual apresenta glândulas de tamanho intermediário, escasso citoplasma e nucléolos inconspícuos. Apesar das semelhanças morfológicas entre a HPA e o adenocarcinoma prostático, a NIP de alto grau é atualmente considerada como a única lesão pré-maligna e precursora do adenocarcinoma (SHAH et al., 2001). As enzimas do grupo das Glutationa-S-transferases (GSTs) catalizam a destruição de moléculas reativas e oxidantes, protegendo as células da transformação neoplásica (PARSONS et al., 2001). Descrevem-se alterações na atividade destas enzimas, particularmente da enzima glutationa-*S*-transferase Pi (GSTP1) no adenocarcinoma da próstata e na NIP de alto grau, o que parece estar associado à metilação do seu gene promotor, uma alteração somática considerada, então, como etapa crítica no processo de carcinogênese da próstata. Na atrofia simples e na HPA associadas à inflamação crônica, demonstraram-se elevados níveis de GSTP1, indicando provável resposta celular ao estresse oxidativo aumentado.

PUTZI e DE MARZO (2000) consideram que a API seja uma lesão precursora do adenocarcinoma e que se observam alterações morfológicas de transição entre NIP e API dentro do mesmo ácino/ducto, o que apóia a idéia de que a API possa sofrer transformação para NIP. DE MARZO et al. (1999) e PUTZI e DE MARZO (2000) sugerem que a API possa dar origem ao carcinoma diretamente ou através de sua transformação para NIP. De acordo com estes autores, esta hipótese é baseada em diferentes achados :

- em comparação com o epitélio normal, a API tem maior atividade proliferativa;
- API contém muitas células luminais em proliferação, o que também se observa na NIP;
- muitas das células luminais na API têm redução da expressão do inibidor da enzima quinase ciclina-dependente (p27^{Kip1}), que parece estar envolvida no início e progressão do carcinoma prostático;
- o fenótipo de várias células na API é compatível com o de células secretoras imaturas, semelhante ao das células da NIP;
- na API há poucas células que sofrem apoptose, enquanto muitas das células luminais expressam bcl-2;
- 6) na maioria das células na API há maior expressão da enzima GSTP1, que tem ação anti-carcinogênica. Isto indica uma resposta celular ao estresse oxidativo aumentado;

- freqüente sobreposição das características morfológicas com transição entre API e NIP;
- API, NIP e carcinoma ocorrem com maior prevalência na zona periférica e têm baixa prevalência na zona central da próstata em humanos.

Irregularidades na expressão do gene p63 no epitélio da próstata podem estar associadas com a carcinogênese neste órgão (WEINSTEIN et al., 2002). Estudo imunoistoquímico com a pesquisa do p63 em diferentes lesões da próstata demonstrou intensa positividade para este marcador em células epiteliais basais no epitélio glandular normal, hiperplasia nodular da próstata (HNP), API e NIP de alto grau. As células basais na API expressaram o p63 com distribuição mais esparsa em relação ao epitélio normal. As células luminais na API foram negativas para o p63. Estes achados sugerem que o p63 tenha ação anti-carcinogênica, protegendo as células epiteliais da transformação neoplásica. De acordo com WEINSTEIN et al. (2002), as células diferenciadas e de localização luminal na API, por não expressarem o p63, constituem o alvo inicial da carcinogênese na próstata.

BILLIS e MAGNA (2003), em estudo realizado em autópsias, encontraram atrofia associada à inflamação crônica (ou atrofia inflamatória) em 65% das próstatas examinadas e atrofia sem inflamação, em 22%. Não observaram diferenças estatisticamente significantes entre AP com inflamação e AP sem inflamação em relação à idade, raça, presença de carcinoma histológico (incidental) carcinoma extenso ou NIP de alto grau. Quanto aos subtipos histológicos da AP, o esclerosante (puro ou combinado) foi o único que se associou, com maior freqüência, à inflamação, sendo um achado morfológico marcante a presença de infiltrado inflamatório em áreas de atrofia esclerosante com erosão do epitélio. Estes achados não apóiam os resultados de DE MARZO et al. (1999). Os autores sugerem que o processo inflamatório seja secundário ao extravasamento da secreção prostática em áreas onde o epitélio sofreu erosão, achado este freqüente na variante esclerosante da atrofia. Os demais subtipos histológicos da AP não apresentaram diferenças estatisticamente significantes quanto à presença ou ausência de inflamação. A atrofia prostática inflamatória, segundo BILLIS e MAGNA (2003), não está associada com o carcinoma histológico incidental ou com a NIP de alto grau.

1.4- ETIOPATOGÊNESE

A etiopatogênese da AP é desconhecida. Compressão devida a nódulos hiperplásicos, inflamação, hormônios, deficiência nutricional e isquemia sistêmica ou local, são fatores que podem ter papel na patogênese da lesão (FRANKS, 1954; LIAVAG, 1968; MOORE, 1936; RICH, 1935). AP relacionada ao envelhecimento da glândula é, em geral, difusa e acomete principalmente a zona periférica. AP focal envolvendo as zonas periférica e de transição também pode ser observada.

MOORE (1936) mostrou que a lesão tinha relação com a idade. Segundo o autor, a involução da próstata teria início na 5^a década da vida e continuaria como um processo progressivo até a 8^a década. As evidências eram de que a involução era o resultado da redução e parada de produção de uma secreção interna produzida no testículo sob estimulação da glândula pituitária. Quanto ao subtipo esclerosante, em particular, o fator etiológico não ficou claro para o autor. Ele especulou que a lesão poderia ser análoga à atrofia e fibrose que ocorrem no coração, rins e outros órgãos como resultado de doença vascular. Como este espessamento vascular não estava associado com aterosclerose generalizada e hipertensão arterial, o autor concluiu que poderia corresponder a uma esclerose por involução, semelhante à que ocorre no útero após a menopausa.

FRANKS (1954) admitiu que a atrofia esclerosante poderia ser secundária a um aumento relativo (pela redução de andrógenos) ou absoluto de estrógenos circulantes.

BILLIS (1998) demonstrou, em trabalho com autópsias, aumento da freqüência de AP com a idade. Quase a metade dos homens (44,70%) com AP tinham mais de 65 anos de idade e somente 16,47% estavam na faixa de 40-50 anos (p<0,001). Isto foi enfatizado por MOORE (1936) e está de acordo, também, com LIAVAG (1968).

Em seu trabalho realizado em autópsias, BILLIS (1998) observou AP em 85 de um total de 100 próstatas examinadas. Na maioria das vezes (76,47%), os subtipos estavam combinados, apoiando a hipótese de que representam um contínuo morfológico de uma única lesão. Não houve correlação da AP com carcinoma histológico, NIP, prostatite, hiperplasia nodular da próstata (HNP), aterosclerose generalizada e nefrosclerose. Houve, entretanto, correlação estatisticamente significante com arteriosclerose local de artérias situadas no interior do parênquima prostático ou nos tecidos moles que rodeiam a glândula, sugerindo um possível efeito da isquemia crônica local na etiopatogênese da AP.

Elastose da próstata pode ser observada em biópsias por agulha ou em material de prostatectomia radical, porém, seu significado é desconhecido. Em outros órgãos, há evidências de que a elastose seja secundária à isquemia. Elastina é o principal componente das fibras elásticas e é produzida por fibroblastos em cultura de células (STARCHER e MECHAM, 1981). A elastina é uma proteína altamente hidrofóbica, não-glicosilada, rica em prolina e glicina. É excretada nos espaços intercelulares, onde forma filamentos e bainhas, nos quais as moléculas se ligam umas às outras por ligações cruzadas transversais semelhantes às existentes no colágeno. Estudos com infarto do miocárdio demonstraram que a necrose isquêmica causa ruptura da matriz extracelular com conseqüente estímulo à produção de colágeno e elastina (CAMICI e LORENZONI, 1994; TYAGI et al., 1996). Isquemia também está relacionada a neoplasias pulmonares com origem em cicatrizes fibróticas (KOULIN e KOUTOULAKIS, 1988).

Cicatrizes centrais, pigmentadas e ricas em fibras elásticas são encontradas, com maior freqüência, em adenocarcinomas com padrão de disseminação intra-alveolar predominante. Em seu trabalho em autópsias, BILLIS e MAGNA (2000) observaram correlação estatisticamente significante entre elastose, atrofia prostática e aumento da idade. Arteriosclerose local intensa (artérias com redução de 75% ou mais do diâmetro do lume) também apresentou forte correlação com a atrofia prostática e elastose, o que, segundo os autores, favorece o possível papel da isquemia local crônica na sua etiopatogênese. Não houve correlação entre a elastose e lesões pré-neoplásicas e neoplásicas da próstata, o que confere à elastose importância no diagnóstico diferencial entre estas lesões e a atrofia prostática.

Uma célula submetida a hipóxia apresenta modificações metabólicas progressivas, que incluem a transcrição de genes envolvidos em processos adaptativos, como glicólise, eritropoese, alterações do metabolismo energético e angiogênese. A concentração de oxigênio deve ser finamente regulada para garantir substrato adequado à fosforilação oxidativa e a outras reações metabólicas essenciais. Em mamíferos, há sistemas intracelulares altamente sensíveis às concentrações de oxigênio e que regulam a
expressão de diversos grupos de genes cujas proteínas promovem maior aporte celular de oxigênio ou facilitam a adaptação metabólica à hipóxia. Muitos destes genes têm sua expressão aumentada em neoplasias malignas (SEMENZA, 2000; TALKS et al., 2000; ZHONG et al., 1999).

Fator induzido por hipóxia 1 (HIF-1) é um fator de transcrição gênica que desempenha papel fundamental no desenvolvimento e fisiologia dos mamíferos, regulando as respostas celulares adaptativas às baixas concentrações de oxigênio. HIF-1 é um heterodímero composto por duas subunidades, HIF-1alfa (HIF-1 α) e HIF-1beta (HIF-1 β). A expressão e a atividade da subunidade HIF-1 α são rigorosamente controladas pelas concentrações de oxigênio na célula, enquanto a subunidade HIF-1 β faz parte da constituição da molécula (SEMENZA, 2000). Esta proteína tem importante papel na resposta celular à hipóxia, através de vários mecanismos de adaptação celulares e sistêmicos, em situações como hipertensão pulmonar, isquemia miocárdica e câncer (SEMENZA et al., 2000).

Em condições de hipóxia, o HIF-1 ativa a transcrição de genes que regulam a síntese de eritropoetina, transportadores de glicose, enzimas glicolíticas, fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), transferrina, heme-oxigenase, óxido nítrico sintetase e de outras proteínas que promovem maior aporte celular de oxigênio ou facilitam a adaptação metabólica às suas baixas concentrações. A atividade do HIF-1 também é modulada pelas concentrações de monóxido de carbono e de óxido nítrico (SEMENZA, 2000).

Os mecanismos celulares de detecção da redução das concentrações de oxigênio e a transdução deste sinal com ativação do HIF-1 não são ainda bem conhecidos. De acordo com SEMENZA (2000), baixas concentrações de oxigênio poderiam resultar na produção de superóxido e/ou peróxido de hidrogênio, os quais alterariam as vias normais de transdução celular e induziriam, então, a ativação do HIF-1.

A indução de genes regulados pelo HIF-1 parece estar aumentada como conseqüência de alterações genéticas ou do microambiente, tendo importante papel no crescimento de tumores experimentais (TALKS et al., 2000). Há uma hiperexpressão do HIF-1 α em neoplasias malignas em humanos e em suas metástases, devida a condições de

hipóxia intratumoral e como resultado de mutações em genes que determinam a síntese de oncoproteínas e de supressores tumorais (TALKS et al., 2000; ZHONG et al., 1999).

Estudos imunoistoquímicos envolvendo a pesquisa destas proteínas em tumores cerebrais (glioblastomas e hemangioblastomas) demonstraram estar a expressão do HIF-1 correlacionada com o grau de neovascularização, sendo a meia-vida da proteína aumentada na hipóxia (ZAGZAG et al., 2000). Em condições de hipóxia aguda, as proteínas HIF-1 α e HIF-2 α se acumulam rapidamente no núcleo e suas concentrações decrescem após a reoxigenação. Os níveis destas proteínas são regulados principalmente pela velocidade de sua degradação nos proteossomos (SEMENZA et al ., 2000).

CHAVEZ et al. (2000), através de análises em Western blot e imunoistoquímica, demonstraram que há aumento rápido das concentrações de HIF-1 α no início da hipóxia, permanecendo estes níveis aumentados no tecido por cerca de 14 dias, porém, decrescendo e retornando às concentrações basais após a terceira semana, apesar da manutenção das condições de hipóxia. Os autores sugerem que ocorram alterações metabólicas e de remodelação vascular que sejam capazes de promover a adaptação à isquemia tecidual.

O fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) é um mitógeno endotelial específico que desempenha importante papel no processo de angiogênese, promovendo tanto a proliferação de células endoteliais como aumento da permeabilidade vascular. O VEGF se liga a receptores específicos do tipo tirosina-quinase (VEGFR-1 e VEGFR-2) expressos por células endoteliais durante o seu desenvolvimento normal e em processos de cicatrização. Estudos experimentais prévios demonstraram aumento da expressão do VEGF e de seus receptores em modelos de infarto agudo do miocárdio em ratos (LI et al., 1996). O VEGF parece promover neovascularização miocárdica durante a isquemia aguda e crônica (BANAI et al., 1994). A expressão de seu RNA mensageiro, analisada pela técnica de PCR, assim como de sua proteína, analisada por Western blot, mostrou-se aumentada após isquemia aguda do miocárdio em humanos (XU et al., 2001).

A angiogênese consiste na formação de novos vasos a partir de brotamentos de vasos preexistentes nos tecidos adjacentes. Para algumas neoplasias malignas (p. ex., melanoma, carcinoma de mama), quanto maior o grau de vascularização do tumor, pior é o

prognóstico. Além disso, a neoformação vascular é obviamente importante para a disseminação das células malignas. A neoformação de vasos nos tumores é controlada pela ação de fatores angiogênicos e antiangiogênicos liberados pelas próprias células neoplásicas, por leucócitos (sobretudo macrófagos) ou por mastócitos nas proximidades ou na intimidade do tumor (FILHO et al., 2000). Os principais fatores angiogênicos são o fator de crescimento de fibroblastos básico (FGFb), o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), interleucina-8 (IL-8), fator de necrose tumoral alfa (TNF α) e o fator de crescimento tumoral beta (TGF β). O VEGF, mitogênico para células endoteliais, é produzido por estímulos variados como hipóxia, deficiência de glicose, estrógenos e citocinas. O FGFb é quimiotático e mitogênico para células endoteliais, além de induzir a liberação de enzimas hidrolíticas que favorecem a penetração de brotamentos endoteliais no estroma. O TGF β atua sobretudo por sua ação quimiotática sobre macrófagos. A IL-8 induz proliferação, migração e "invasão" das células endoteliais. O TNF α , por sua vez, atrai macrófagos e células endoteliais.

O crescimento e a disseminação de tumores sólidos estão diretamente relacionados ao processo de angiogênese. Em neoplasias malignas, a hipóxia parece estar associada tanto a um pior prognóstico como a maior risco de desenvolvimento de metástases. Em uma série de tumores em humanos, incluindo mama, trato gastrintestinal e bexiga, demonstrou-se correlação entre o aumento da densidade microvascular e maior agressividade tumoral (WEIDNER, 1995). Em carcinomas da próstata, tanto a expressão do VEGF como a densidade microvascular têm correlação com menor sobrevida (WEIDNER et al., 1993; JACKSON et al., 2002). De acordo com SILBERMAN et al. (1997), a densidade microvascular está associada à progressão do carcinoma de próstata após prostatectomia radical, descrevendo-se, inclusive, aumento dos níveis plasmáticos de VEGF em pacientes com metástases (DUQUE et al., 1999).

As células neoplásicas se adaptam à hipóxia através da síntese de proteínas angiogênicas em resposta à ativação do HIF-1 (ZHONG et al., 1999).

O VEGF é um fator promotor de neovascularização sintetizado em várias células tumorais por ativação do HIF-1. FERRER et al. (1997) e JACKSON et al. (2002) demonstraram a expressão imunoistoquímica do VEGF em células epiteliais malignas de

carcinomas de próstata, em contraste com sua pouca ou nenhuma expressão em áreas de hiperplasia nodular da próstata (HNP).

HARPER et al. (1996) demonstraram associação entre o aumento da expressão imunoistoquímica do VEGF e da desdiferenciação tumoral. FERRER et al. (1998) também observaram correlação entre esta e o aumento da expressão de IL-8.

FERRER et al. (1999) e JACKSON et al. (2002) detectaram a expressão de receptores do VEGF células de carcinoma prostático em humanos, sugerindo um possível mecanismo de estimulação parácrina das células endoteliais no interior da neoplasia.

De acordo com CVETKOVIC et al. (2001), a análise comparativa entre os níveis de oxigênio tecidual (pO2), medidos por microeletrodos, e a expressão imunoistoquímica do VEGF em carcinomas de próstata demonstrou associação estatisticamente significante entre o grau de hipóxia tecidual e o aumento da expressão deste marcador na neoplasia.

KOZLOWSKI et al. (2001), em estudo experimental com isquemia crônica da próstata em coelhos, demonstraram alterações histológicas como espessamento e fibrose do estroma do órgão e atrofia do epitélio. As alterações estruturais apresentaram correlação direta com redução da expressão do fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) e aumento do fator de crescimento tumoral 1 beta (TGF-β1). Os autores sugerem que, neste modelo, em condições de hipóxia crônica, a redução dos níveis de VEGF possa ter algum papel na atrofia do epitélio e no espessamento fibroso do estroma.

O fluxo sangüíneo para a próstata ventral em ratos sofre acentuada redução logo após a sua castração, o que coincide com o surgimento de alterações vasculares degenerativas marcadas na próstata destes animais. Os efeitos precoces destas alterações parecem estar vinculados à regressão da próstata ventral em resposta à castração (BURCHARDT et al., 2000).



2. JUSTIFICATIVA

A etiopatogênese da AP é desconhecida. Em trabalho baseado em autópsias (BILLIS, 1998), houve forte evidência de que a isquemia crônica devido a arteriosclerose local intensa seja um dos fatores potenciais para a sua etiopatogênese. Com base nestes achados, este estudo tem como um dos objetivos a análise do fluxo sangüíneo, através do Doppler colorido, de nódulos e/ou áreas suspeitas de carcinoma, com a eventual demonstração de redução ou ausência de fluxo sangüíneo nas áreas de atrofia. Isto reforçaria a etiologia isquêmica da AP.

A expressão imunoistoquímica de marcadores de hipóxia tecidual (HIF-1 α e VEGF) foi demonstrada em condições de hipóxia aguda, tendo negativado mesmo com a persistência da isquemia (CHAVEZ et al., 2000; KOZLOWSKI et al., 2001). Tem-se como objetivo, portanto, a análise e comparação da expressão imunoistoquímica do HIF-1 α e do VEGF em áreas de AP sob possível hipoxemia crônica, realizando-se um estudo comparativo com áreas de infarto agudo da próstata.



3. OBJETIVOS

- 1- Estudar o fluxo sangüíneo, através do Doppler colorido, de nódulos e/ou áreas suspeitas de carcinoma ao ultra-som transretal, cujas biópsias dirigidas tenham demonstrado AP como única lesão presente.
- Verificar a possível associação entre o fluxo sangüíneo pelo Doppler colorido e os subtipos histológicos de AP nas áreas estudadas.
- **3-** Análise imunoistoquímica dos marcadores de isquemia tecidual HIF-1α e VEGF nas áreas de AP e em áreas de infarto agudo da próstata, com estudo comparativo de sua expressão entre estes grupos.



3. MATERIAL E MÉTODOS

4.1- O MATERIAL OBTIDO CORRESPONDE A DOIS GRUPOS DISTINTOS DE PACIENTES E DENOMINADOS: GRUPO 1 (ATROFIA PROSTÁTICA) E GRUPO 2 (INFARTO AGUDO DA PRÓSTATA):

GRUPO 1: o material foi obtido de biópsias prostáticas guiadas por ultra-som transretal de homens com mais de 40 anos que apresentaram toque retal alterado e/ou aumento do PSA total no soro (acima de 4ng/ml), com suspeita de carcinoma, atendidos no Hospital das Clínicas da UNICAMP e submetidos a biópsia prostática com agulha em sextante ou ampliada. Nenhum dos pacientes estudados apresentava diagnóstico ou tratamento anteriores de carcinoma de próstata. No período de 1998 a 2001, um total de 298 pacientes submetidos a ultra-som transretal com biópsias dirigidas da próstata, mostraram ao estudo histopatológico atrofia prostática como única lesão presente. Destes 298 pacientes, 33 com idade entre 43 e 86 anos (média de 69 anos) apresentavam lesões suspeitas ao ultra-som (37 nódulos hipoecóicos e 3 lesões heterogêneas), que foram também estudadas através do Doppler colorido e constituem o propósito deste trabalho (planilha 1). De acordo com a raça os pacientes foram considerados brancos e não brancos. Nestes últimos foram incluídos os negros e mulatos (pardos).

GRUPO 2: o material obtido corresponde a 7 pacientes com infarto agudo da próstata em material obtido de ressecção transuretral (RTU) por hiperplasia nodular da próstata (HNP) e de 1 paciente submetido a prostatectomia radical por adenocarcinoma, que também apresentava HNP com áreas de infarto agudo. Nas áreas estudadas, observaram-se como únicas lesões histologicamente presentes, necrose coagulativa com metaplasia escamosa de ácinos circunjacentes e ácinos viáveis sem metaplasia.

GRUPOS 1 E 2: Os pacientes do presente estudo fizeram parte de procedimentos de rotina em avaliação de lesões suspeitas da próstata, não necessitando de nenhum procedimento extra para o propósito deste trabalho. Os blocos de parafina e as lâminas correspondentes às biópsias estudadas estão disponíveis no arquivo do Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas e correspondem a material retrospectivo.

4.2- ULTRA-SOM E ESTUDO DO FLUXO SANGÜÍNEO COM DOPPLER COLORIDO

No grupo 1, os 40 nódulos e/ou áreas suspeitas (correspondentes a 33 pacientes) foram estudados através do Doppler colorido. O fluxo sangüíneo nos nódulos hipoecóicos foi classificado radiologicamente como **ausente, presente** ou **aumentado** (figuras 1-3).



Figura 1- Nódulo suspeito sem fluxo ao Doppler colorido (seta).



Figura 2- Doppler colorido com fluxo de padrão normal. Observar a simetria dos vasos capsulares.



Figura 3- Doppler colorido. Nódulo suspeito em zona periférica direita com hiperfluxo. (seta)

4.3.- ESTUDO HISTOLÓGICO

- 4.3.1- GRUPO 1: todos os 33 pacientes foram submetidos a biópsia em sextante ou ampliada, incluindo as lesões suspeitas demonstradas pelo ultrasom. Os fragmentos de próstata foram enviados em frascos separados, de acordo com sua localização, fixados em formol a 10% durante, pelo menos, 12 horas. Após fixação, os fragmentos foram incluídos em parafina separadamente, cada qual com sua localização especificada. Foram cortados com espessura de 6 micrômetros e corados pela hematoxilina-eosina (HE). No exame microscópico foram observados:
 - Presença de atrofia prostática (AP). A AP será subtipada, a) histologicamente, em atrofia simples, atrofia hiperplásica (ou hiperplasia pós-atrófica) e atrofia esclerosante (BILLIS, 1998). A atrofia simples (figuras 4-10) geralmente envolve o lóbulo inteiro embora ácinos isolados possam ser afetados. Os ácinos são pequenos havendo diminuição da altura das células epiteliais. O estroma envolvente pode ou não apresentar fibrose. A atrofia hiperplásica (figuras 11-16) mostra pequenos ácinos com diferentes graus de proliferação e revestidos por epitélio atrófico. O estroma pode ou não mostrar fibrose. Quando presente, a proliferação é irregular notando-se eventual distorção do lume acinar. А atrofia esclerosante (figuras 17-19) mostra simultaneamente atrofia do epitélio e proliferação de fibroblastos ao redor do ácino. A persistência da proliferação resulta na hialinização do colágeno e, em alguns casos, elastose. À medida que a hialinização se torna mais intensa, os ácinos ou ductos se dilatam, às vezes acentuadamente, e o epitélio se torna extremamente achatado e, eventualmente, desaparece. Quando isto ocorre, o lume é substituído por um tecido frouxo lembrando mesênquima com presença de infiltrado inflamatório de células redondas.

- b) Ausência de carcinoma, portanto, não foram incluídos no estudo os casos que apresentaram adenocarcinoma à análise histológica.
- c) Ausência de neoplasia intraepitelial prostática (NIP) de alto grau (EPSTEIN, 1989).

Nos laudos anatomopatológicos das biópsias de próstata, os fragmentos foram especificados separadamente, de acordo com a identificação prévia do radiologista, assim como os nódulos ou áreas suspeitas. Cada área biopsiada teve, portanto, seu diagnóstico discriminado no laudo.



Figura 4- Atrofia prostática simples com discreta fibrose (HE 100x).



Figura 5- Atrofia prostática simples com discreta fibrose (HE 100x).



Figura 6- Atrofia prostática simples sem fibrose (HE 50x). Observar a preservação da arquitetura lobular.



Figura 7- Atrofia prostática simples sem fibrose (HE 50x). Observar a preservação da arquitetura lobular.



Figura 8- Atrofia prostática simples sem fibrose (HE 100x).



Figura 9- Atrofia prostática simples sem fibrose (HE 100x).



Figura 10- Atrofia prostática simples sem fibrose (HE 400x).



Figura 11- Atrofia prostática hiperplásica com discreta fibrose do estroma (HE 100x).



Figura 12- Atrofia prostática hiperplásica com discreta fibrose do estroma (HE 100x).



Figura 13- Atrofia prostática hiperplásica com discreta fibrose do estroma (HE 100x).



Figura 14- Atrofia prostática hiperplásica (HE 1000x).



Figura 15- Atrofia prostática hiperplásica (HE 1000x).



Figura 16- Atrofia prostática hiperplásica (HE 1000x). Observar a presença de células basais. (setas)



Figura 17- Atrofia prostática esclerosante (HE 100x).



Figura 18- Atrofia prostática esclerosante (HE 100x).



Figura 19- Atrofia prostática esclerosante (HE 100x).

4.3.2- GRUPO 2: O material foi fixado em formol a 10% durante, pelo menos, 12 horas. Após fixação, os fragmentos foram incluídos em parafina, cortados com espessura de 6 micrômetros e corados pela hematoxilina-eosina (HE). No exame microscópico, estudaram-se as áreas que histologicamente apresentavam como únicas lesões, necrose coagulativa com metaplasia escamosa de ácinos circunjacentes (figuras 20-24) e ácinos viáveis sem metaplasia escamosa (figuras 25 e 26).



Figura 20- Infarto agudo da próstata (HE 50x). Observar ácinos com metaplasia escamosa (ACM) circunjacentes à área de infarto. (setas)



Figura 21- Infarto agudo da próstata (HE 50x).



Figura 22- Infarto agudo da próstata (HE 100x). Transição entre ácinos com metaplasia escamosa (ACM) e ácinos sem metaplasia (ASM).



Figura 23- Ácinos com metaplasia escamosa (ACM) circunjacentes à área de infarto (HE 100x).



Figura 24- Ácinos com metaplasia escamosa (ACM) circunjacentes à área de infarto (HE 400x).



Figura 25- Ácino sem metaplasia escamosa (ASM) (HE 400x).



Figura 26- Ácinos sem metaplasia escamosa (ASM) (HE 400x).
4.4- ESTUDO IMUNOISTOQUÍMICO

Os espécimes em parafina foram processados para imunoistoquímica, utilizando-se anticorpos primários: HIF-1 alpha67-sup (Novus Biologicals) e VEGF SC-152 (Santa Cruz), marcadores de isquemia tecidual. Foi utilizado para revelação da reação de imunoistoquímica o Kit avidina-biotina-peroxidase (ABC) e o sistema catalizador de amplificação de sinal (CSA), Dako (K 1500).

Os cortes foram mantidos em estufa a 110°C durante uma hora, e posteriormente submetidos à desparafinização com xilol e reidratação com álcool em seqüência decrescente de diluição (Xilol I, Xilol II, Álcool I, Álcool II, Álcool 50%, Água destilada em intervalos de 5 minutos).

Segue-se o protocolo empregado:

- a) Imersão em solução de peróxido de hidrogênio (30 vol.), 3 lavagens e 5 minutos cada, durante 15 minutos, para bloqueio da peroxidase endógena dos tecidos, seguido de lavagem em água corrente e água destilada.
- b) Recuperação antigênica em panela a vapor por 30 minutos a 95°C com tampão citrato 10mM pH 6,0.
- c) Esfriamento em temperatura ambiente, por no mínimo 20 minutos, seguido de lavagem em água destilada e colocar em PBS.
- d) Pingar os anticorpos primários específicos diluídos em soroalbumina bovina (BSA): HIF-1α na diluição de 1:600 e VEGF na diluição de 1:1000.
- e) Incubação em câmara úmida 30 minutos a 37°C. Colocar na geladeira a 4°C overnight.
- f) Retirar as lâminas da incubação com anticorpo primário e fazer 3 lavagens de 5 minutos cada em PBS com agitação à temperatura ambiente.
- g) Secar as lâminas com papel de filtro e pingar o anticorpo secundário biotinilado (multi-link) diluído em PBS 1:80. Incubá-los em câmara úmida a 37°C durante 1 hora.

- h) Terminada a incubação, fazer 3 lavagens de 5 minutos cada em Tris-HCl com agitação à temperatura ambiente, sendo 1 lavagem com Tris-HCl contendo Tween 20 e 2 lavagens somente em Tris-HCl.
- i) Secar com papel de filtro e pingar o complexo ABC (CSA). Incubar em câmara úmida durante 15 minutos à temperatura ambiente.
- j) Fazer 3 lavagens em Tris-HCl, sendo 1 lavagem com Tween 20 e 2 lavagens somente em Tris-HCl.
- k) Pingar o reagente de amplificação nº 8 do kit CSA. Incubar em câmara úmida durante 15 minutos à temperatura ambiente.
- 1) Fazer 3 lavagens de 5 minutos cada em PBS a temperatura ambiente.
- m) Agente cromógeno Diaminobenzidina DAB, Sigma (D5637), durante 5 minutos a 37°C.
- n) Lavagem em água corrente e passagem em água destilada.
- o) Contra-coloração com Hematoxilina de Harris durante 1 minuto.
- p) Lavagem em água amoniacal e passar em água corrente e água destilada.
- q) Desidratação e montagem com lamínula em Entellan.

4.5- ESTUDO QUANTITATIVO

Os anticorpos estudados (HIF-1 α e VEGF) apresentam padrão predominantemente nuclear de coloração (figuras 27 e 28). Para análise dos resultados do estudo imunoistoquímico, utilizou-se um método manual e sistemático de contagem de núcleos baseado em alguns princípios de estereologia (VAN DIEST et al., 1997). Com um contador manual (Taiwan LBC) e ocular com gratícula quadriculada, para orientação em quadrantes, a contagem dos núcleos foi realizada no aumento de 100x (imersão) e no sentido horário.



Figura 27- Ácino com metaplasia escamosa (ACM) mostrando núcleos positivos (seta vermelha) e negativos (seta azul) para o HIF-1alfa (400x).



Figura 28- Pormenor da figura 27 - Ácino com metaplasia escamosa (ACM) mostrando núcleos positivos (seta vermelha) e negativos (seta azul) para HIF-1alfa (1000x). 4.5.1- GRUPO 1: discriminaram-se os ácinos atróficos (AA) dos ácinos não atróficos (ANA) em toda a extensão do material (figuras 29 e 30). Procedeu-se com a contagem total dos núcleos positivos e negativos para os marcadores estudados nestes dois subgrupos de ácinos (planilhas 3a e 3b).



Figura 29- Ácinos atróficos (AA) com núcleos negativos para o HIF-1 alfa (1000x).



Figura 30- Ácinos atróficos (AA) com núcleos negativos para o VEGF (1000x).

4.5.2- GRUPO 2: foram contados os núcleos positivos e negativos para estes marcadores, em ácinos com metaplasia escamosa (ACM) (figuras27-28, 31-32); e nos ácinos sem metaplasia (ASM), (figuras 33 e 34) nas áreas circunjacentes à necrose; (planilhas 2a e 2b).



Figura 31- Ácinos com metaplasia escamosa (ACM) com núcleos positivos e negativos para o VEGF (400x).



Figura 32- Ácino com metaplasia escamosa (ACM) com núcleos positivos (seta vermelha) e negativos (seta azul) para o VEGF (1000x).



Figura 33- Ácino sem metaplasia escamosa (ASM) com núcleos positivos e negativos para o HIF-1alfa (400x).



Figura 34- Ácino sem metaplasia escamosa (ASM) com núcleos positivos (seta vermelha) e negativos (seta azul) para o HIF-1 alfa (1000x).

4.6- ANÁLISE ESTATÍSTICA

Em cada grupo estudado, calcularam-se as variáveis *número médio de núcleos positivos* e *número médio de núcleos negativos* para o HIF-1 α e para o VEGF, separadamente, por subgrupo de ácino (AA, ANA, ACM e ASM).

4.6.1- GRUPO 1 vs GRUPO 2: A comparação das médias entre os grupos 1 e 2 foi feita através do teste t de Student para amostras independentes. As variáveis número médio de núcleos positivo e número médio de núcleos negativos para o HIF-1α e para o VEGF foram comparadas entre ácinos atróficos (AA) e ácinos com metaplasia escamosa (ACM) e entre ácinos não atróficos (ANA) e os ácinos sem metaplasia (ASM).

4.6.2- GRUPO 1: as variáveis número médio de núcleos positivos e número médio de núcleos negativos para os marcadores HIF-1α e VEGF foram calculadas nos ácinos atróficos (AA) e nos ácinos não atróficos (ANA), sendo comparadas em relação à atrofia acinar por meio do teste t de student para amostras correlacionadas.

Em relação ao subtipo histológico da atrofia e o fluxo sangüíneo, a comparação das médias foi feita através da análise da variância. A comparação de proporções neste grupo foi feita mediante o teste do qui-quadrado ($\chi 2$) ou teste exato de Fisher conforme a situação.

4.6.3- GRUPO 2: calcularam-se as variáveis número médio de núcleos positivos e número médio de núcleos negativos para o HIF-1α e para o VEGF em ácinos com metaplasia escamosa (ACM) e nos ácinos sem metaplasia (ASM), circunjacentes às áreas de infarto, utilizando-se o mesmo método de comparação de médias para amostras correlacionadas.

Em todos os casos, para a declaração de significância, adotou-se o nível de 5% (p<0,05).



5. RESULTADOS

5.1- DOPPLER COLORIDO

Ao estudo do ultra-som em escala de cinza convencional, as áreas com atrofia se apresentaram como nódulos hipoecóicos ou como alterações focais da ecotextura. O fluxo sangüíneo destas áreas foi avaliado em todas as 40 lesões biopsiadas: 37 localizadas na zona periférica e 3, na zona de transição. O Doppler colorido demonstrou ausência de fluxo em 24/40 (60%), fluxo presente em 12/40 (30%) e fluxo aumentado em 4/40 (10%) nas áreas estudadas (**Tabela 1**).

TABELA 1- FLUXO	SANGÜÍNEO AVA	ALIADO PELO D	OOPPLER COL	ORIDO EM
40 LESÕ	ES SUSPEITAS M	OSTRANDO API	ENAS AP NA BI	IÓPSIA.

FLUXO	N ^O	%
Aumentado	4/40	10
Presente	12/40	30
Ausente	24/40	60

5.2- ESTUDO HISTOLÓGICO

AP foi a única lesão presente em todas as 40 lesões suspeitas estudadas ao ultra-som e biopsiadas. Adenocarcinoma, neoplasia intraepitelial (NIP) de alto grau ou outras lesões atípicas não foram observadas em nenhum dos pacientes. Em 2/40(5%) apenas atrofia prostática do tipo esclerosante foi observada; em 7/40(17,5%), apenas atrofia do tipo hiperplásico (ou hiperplasia pós-atrófica); em 14/40(35%) havia dois ou mais subtipos combinados (mais freqüentes simples/esclerosante ou simples/hiperplásica). Em 17/40(42,5%) apenas o subtipo simples estava presente (**Tabela 2**).

TABELA 2- FREQÜÊNCIA DE ATROFIA PROSTÁTICA EM 40 LESÕESSUSPEITAS BIOPSIADAS.

SUBTIPO	N ^O	%
Esclerosante	2/40	5.0
Hiperplásica	7/40	17.5
Combinada (2 ou 3 subtipos)	14/40	35.0
Simples	17/40	42.5

5.3- FLUXO SANGÜÍNEO AO DOPPLER COLORIDO *vs* ATROFIA PROSTÁTICA (SUBTIPO HISTOLÓGICO)

Não se observou associação entre o fluxo sangüíneo ao Doppler colorido e o subtipo histológico da AP nas 40 lesões suspeitas estudadas (**Tabela 3**).

TABELA 3- FLUXO SANGÜÍNEO AO DOPPLER COLORIDO E AP (SUBTIPO HISTOLÓGICO) EM 40 LESÕES SUSPEITAS – TESTE DO QUI-QUADRADO

FLUXO	AP	AP	AP SIMPLES	TOTAL	
	HIPERPLÁSICA	COMBINADA			
AUSENTE	4 (18,2%)	7 (31,8%)	11 (50%)	22 (64,7%)	
PRESENTE	5 (41,7%)	2 (16,7%)	5 (41,7%)	12 (35,3%)	
TOTAL	9 (26,5%)	9 (26,5%)	16 (47,1%)	34 (100%)	
					0,30

OBSERVAÇÃO: Os 2 casos de AP esclerosante não foram incluídos devido à sensibilidade do teste. Pelo mesmo motivo, não foram incluídos também os casos com fluxo aumentado ao Doppler colorido.

5.4- ESTUDO IMUNOISTOQUÍMICO

5.4.1- HIF-1α

A- GRUPO 1 VS GRUPO 2 - ÁCINOS ATRÓFICOS VS ÁCINOS COM METAPLASIA ESCAMOSA

COMPARAÇÃO DE MÉDIAS

A comparação de médias demonstrou diferenças estatisticamente significantes quanto à expressão imunoistoquímica do HIF-1 α entre os grupos 1 e 2. Foram comparados os ácinos atróficos (AA) e os ácinos com metaplasia escamosa (ACM).

Nos ácinos com metaplasia escamosa (grupo 2), a positividade do HIF-1 α mostrou-se significativamente maior quando comparada à sua positividade nos ácinos atróficos (grupo 1); (p<0,001). A negatividade do HIF-1 α , por sua vez, foi significativamente maior no grupo 1 em relação ao grupo 2 (p=0,045) (**Tabela 4**).

TABELA 4- GRUPOS 1 E 2 (ÁCINOS ATRÓFICOS E ÁCINOS COM METAPLASIA) – TESTE t DE STUDENT PARA AMOSTRAS INDEPENDENTES.

VARIÁVEL	GRUPOS	MÉDIA	DP	р
N ^o médio de	Ácinos atróficos	0,16	0,45	
Núcleos HIF ⁺	Ácinos com metaplasia	55,47	29,31	<0,001
N ^o médio de	Ácinos atróficos	50,84	21,62	
Núcleos HIF ⁻	Ácinos com metaplasia	33,90	18,58	0,045

HIF = fator induzido por hipóxia

DP = desvio padrão

B- GRUPO 1 VS GRUPO 2 - ÁCINOS NÃO ATRÓFICOS VS ÁCINOS SEM METAPLASIA

COMPARAÇÃO DE MÉDIAS

A positividade do HIF-1 α foi significativamente maior nos ácinos sem metaplasia em relação aos ácinos não atróficos (p<0,001). Por outro lado, sua negatividade foi maior nos ácinos não atróficos (p=0,014) (**Tabela 5**).

TABELA 5- GRUPOS 1 E 2 (ÁCINOS NÃO ATRÓFICOS E ÁCINOS SEM METAPLASIA) TESTE t DE STUDENT PARA AMOSTRAS INDEPENDENTES.

VARIÁVEL	GRUPOS	MÉDIA	DP	р
N ^{o.} médio de	Ácinos não atróficos	0,37	0,91	
Núcleos HIF ⁺	Ácinos sem metaplasia	65,15	20,36	<0,001
Nº.médio de	Ácinos não atróficos	78,61	41,84	
Núcleos HIF	Ácinos sem metaplasia	38,69	20,00	0,014

HIF = fator induzido por hipóxia

DP = desvio padrão

C- GRUPO 1 (ATROFIA PROSTÁTICA) - ÁCINOS ATRÓFICOS vs ÁCINOS NÃO ATRÓFICOS

COMPARAÇÃO DE MÉDIAS

Não houve diferença estatisticamente significante quanto à positividade do HIF-1 α entre os ácinos atróficos e os ácinos não atróficos. Por outro lado, a negatividade do HIF-1 α apresentou diferença significante entre estes subgrupos de ácinos, sendo maior nos ácinos não atróficos; p<0,001 (**Tabela 6**).

VARIÁVEL	GRUPOS	MÉDIA	DP	р
N ^{o.} médio de	Ácinos atróficos	0,19	0,51	
Núcleos HIF ⁺	Ácinos não atróficos	0,38	0,91	0,203
N ^{o.} médio de	Ácinos atróficos	51,75	21,85	
Núcleos HIF	Ácinos não atróficos	78,62	41,85	0,001

TABELA 6- GRUPO 1 (ATROFIA PROSTÁTICA) – COMPARAÇÃO DE MÉDIAS.

HIF = fator induzido por hipóxia

DP = desvio padrão

COMPARAÇÃO DE PROPORÇÕES

Não demonstrou diferenças significantes quanto à positividade e a negatividade do HIF-1 α entre os ácinos atróficos e os ácinos não atróficos (p=0,5905) (**Tabela 7**).

TABELA 7- GRUPO 1 (ATROFIA PROSTÁTICA) - COMPARAÇÃO DE
PROPORÇÕES.

VARIÁVEL	GRUPOS	FREQUÊNCIA	%	
	Ácinos atróficos	12	30	
				,5905
Núcleos HIF ⁺	Ácinos não atróficos	7	17,5	
				,5905

HIF = fator induzido por hipóxia

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Não demonstrou associação entre a expressão imunoistoquímica do HIF-1α e o subtipo histológico da AP (**Tabela 8**). Também não se observou associação com o fluxo sangüíneo ao Doppler colorido (**Tabela 9**).

AP (subtipo)	Média de núcleos HIF+	DP	n	р
Hiperplásica	0,18	0,26	7	
Combinada	0,08	0,15	14	0,76
Simples	0,21	0,64	17	_

TABELA 8- GRUPO 1 (ATROFIA PROSTÁTICA) – ANÁLISE DA VARIÂNCIA.

HIF = fator induzido por hipóxia

DP = desvio padrão

n = número amostral

OBSERVAÇÃO: Os 2 casos de AP esclerosante não foram considerados, devido à limitação da sensibilidade do teste.

TABELA 9- GRUPO 1 (ATROFIA PROSTÁTICA) – TESTE t DE STUDENT.

Fluxo ao Doppler	Média de núcleos HIF+	DP	n	р
Ausente	0,09	0,16	24	
				0,11
Presente	0,36	0,78	12	

HIF = fator induzido por hipóxia

DP = desvio padrão

n = número amostral

OBSERVAÇÃO: Não se observou positividade para o HIF no grupo com fluxo sangüíneo aumentado ao Doppler colorido.

D- GRUPO 2 (INFARTO AGUDO DA PRÓSTATA) - ÁCINOS COM METAPLASIA ESCAMOSA vs ÁCINOS SEM METAPLASIA

COMPARAÇÃO DE MÉDIAS

Não houve diferenças estatisticamente significantes quanto à positividade e a negatividade do HIF-1 α entre os ácinos com metaplasia escamosa e os ácinos sem metaplasia (**Tabela 10**).

Tabela 10- GRUPO 2 (INFARTO DA PRÓSTATA) – COMPARAÇÃO DE MÉDIAS.

VARIÁVEL	GRUPOS	MÉDIA	DP	р
N ^o médio de	Ácinos com metaplasia	55,47	29,31	
Núcleos HIF ⁺	Ácinos sem metaplasia	65,15	20,36	0,337
N ^{o.} médio de	Ácinos com metaplasia	33,90	18,59	
Núcleos HIF	Ácinos sem metaplasia	38,70	20,00	0,383

HIF = fator induzido por hipóxia

DP = desvio padrão

5.4.2- VEGF

A- GRUPO 1 VS GRUPO 2 - ÁCINOS ATRÓFICOS VS ÁCINOS COM METAPLASIA ESCAMOSA

COMPARAÇÃO DE MÉDIAS

A positividade do VEGF foi significativamente maior nos ácinos com metaplasia escamosa (p<0,001). Não se observou, porém, diferença estatisticamente significante quanto à sua negatividade entre os ácinos atróficos e os ácinos com metaplasia escamosa; p=0,432 (**Tabela 11**).

TABELA 11- GRUPOS 1 E 2 (ÁCINOS ATRÓFICOS E ÁCINOS COM
METAPLASIA)- TESTE t DE STUDENT PARA AMOSTRAS
INDEPENDENTES.

VARIÁVEL	GRUPOS	MÉDIA	DP	р
N ^{o.} médio de	Ácinos atróficos	0,26	0,27	
Núcleos VEGF ⁺	Ácinos com metaplasia	49,90	26,27	<0,001
N ^{o.} médio de	Ácinos atróficos	48,66	22,81	
Núcleos VEGF	Ácinos com metaplasia	41,82	19,04	0,432

VEGF = fator de crescimento vascular endotelial

DP = desvio padrão

B- GRUPO 1 VS GRUPO 2 - ÁCINOS NÃO ATRÓFICOS VS ÁCINOS SEM METAPLASIA

COMPARAÇÃO DE MÉDIAS

A positividade do VEGF foi significativamente maior nos ácinos sem metaplasia escamosa, quando comparada à sua positividade nos ácinos não atróficos (p<0,001). Não se observou, porém, diferença significante quanto à negatividade do VEGF entre estes subgrupos de ácinos; p=0,120 (**Tabela 12**).

TABELA 12- GRUPOS 1 E 2 (ÁCINOS NÃO ATRÓFICOS E ÁCINOS SEM
METAPLASIA) TESTE t DE STUDENT PARA AMOSTRAS
INDEPENDENTES.

VARIÁVEL	GRUPOS	MÉDIA	DP	р
N ^{o.} médio de	Ácinos não atróficos	0,41	0,51	
Núcleos VEGF ⁺	Ácinos sem metaplasia	46,90	21,05	<0,001
N ^{o.} médio de	Ácinos não atróficos	79,19	41,17	
Núcleos VEGF	Ácinos sem metaplasia	54,29	29,78	0,120

VEGF = fator de crescimento vascular endotelial

DP = desvio padrão

C- GRUPO 1 (ATROFIA PROSTÁTICA) - ÁCINOS ATRÓFICOS *vs* ÁCINOS NÃO ATRÓFICOS

COMPARAÇÃO DE MÉDIAS

Não houve diferença estatisticamente significante quanto à positividade do VEGF entre os ácinos atróficos e os ácinos não atróficos (p=0,158). Entretanto, a negatividade deste marcador foi significativamente maior nos ácinos não atróficos; p<0,001 (**Tabela 13**).

TABELA 13- GRUPO 1 (ATROFIA PROSTÁTICA) – COMPARAÇÃO DE MÉDIAS.

VARIÁVEL	GRUPOS	MÉDIA	DP	р
N ^{o.} médio de	Ácinos atróficos	0,28	0,29	
Núcleos VEGF ⁺	Ácinos não atróficos	0,41	0,51	0,158
Nº.médio de	Ácinos atróficos	48,02	22,94	
Núcleos VEGF	Ácinos não atróficos	79,19	41,17	0,001

VEGF = fator de crescimento vascular endotelial

DP = desvio padrão

COMPARAÇÃO DE PROPORÇÕES

Não se observaram diferenças estatisticamente significantes quanto à positividade e a negatividade do VEGF entre os ácinos atróficos e os ácinos não atróficos; p=0,7445 (**Tabela 14**).

TABELA 14- GRUPO 1 (ATROFIA PROSTÁTICA) - COMPARAÇÃO DE PROPORÇÕES.

VARIÁVEL	GRUPOS	FREQUÊNCIA	%	р
	Ácinos atróficos	25	62,5	
Núcleos VEGF ⁺	Ácinos não atróficos	17	42,5	0,7445
	Ácinos atróficos	15	37,5	
Núcleos VEGF	Ácinos não atróficos	23	57,5	0,7445

VEGF = fator de crescimento vascular endotelial

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Não demonstrou associação entre a expressão do VEGF e o subtipo histológico da AP (**Tabela 15**). Também não houve associação entre a positividade do VEGF e o fluxo sangüíneo ao Doppler colorido (**Tabela 16**).

TABELA 15- GRUPO 1 (ATROFIA PROSTÁTICA) – ANÁLISE DA VARIÂNCIA.

AP (subtipo)	Média de núcleos VEGF+	DP	n	р
Hiperplásica	0,26	0,19	7	
Combinada	0,18	0,22	14	0,53
Simples	0,30	0,35	17	-

VEGF = fator de crescimento vascular endotelial

DP = desvio padrão

n = número amostral

OBSERVAÇÃO: Os 2 casos de AP esclerosante não foram considerados, devido à limitação da sensibilidade do teste.

Fluxo ao Doppler	Média de núcleos VEGF+	DP	n	р
Ausente	0,21	0,16	24	
Presente	0,38	0,78	12	0,22
Aumentado	0,23	0,25	4	-

TABELA 16- GRUPO 1 (ATROFIA PROSTÁTICA) – TESTE t DE STUDENT

VEGF = fator de crescimento vascular endotelial

DP = desvio padrão

n = número amostral

D- GRUPO 2 (INFARTO AGUDO DA PRÓSTATA) - ÁCINOS COM METAPLASIA ESCAMOSA VS ÁCINOS SEM METAPLASIA

COMPARAÇÃO DE MÉDIAS

Não demonstrou diferença estatisticamente significante quanto à positividade do VEGF entre os ácinos com metaplasia escamosa e os ácinos sem metaplasia (p=0,769). Por outro lado, observou-se maior negatividade deste marcador nos ácinos sem metaplasia; p=0,039 (**Tabela 17**).

TABELA 17- GRUPO 2 (INFARTO DA PRÓSTATA) – COMPARAÇÃO DE MÉDIAS.

VARIÁVEL	GRUPOS	MÉDIA	DP	р
N ^{o.} médio de	Ácinos com metaplasia	49,90	26,27	
Núcleos VEGF ⁺	Ácinos sem metaplasia	46,90	21,05	0,769
N ^{o.} médio de	Ácinos com metaplasia	41,83	19,04	
Núcleos VEGF	Ácinos sem metaplasia	54,30	29,78	0,039

VEGF = fator de crescimento vascular endotelial

DP = desvio padrão



6. DISCUSSÃO

6.1- DOPPLER COLORIDO

O ultra-som com Doppler foi descrito pela primeira vez há 30 anos e tornou-se atualmente de grande utilidade clínica. As imagens com a técnica do Doppler colorido permitem a visualização do fluxo sangüíneo em tempo real em imagens convencionais em escala de cinza, mostrando uma estimativa da velocidade de fluxo médio como uma cobertura de cor, através da codificação da alteração de freqüência dos sinais de Doppler pulsados (CAVALLIERI et al., 1999).

Sabe-se que o crescimento tumoral em geral depende de neovascularização e, com base nesta hipótese, assume-se que o tecido maligno na próstata tenha perfusão alterada. Assim, o exame da próstata com Doppler colorido pode auxiliar na identificação de áreas suspeitas de carcinoma (AARNINK et al., 1998). A hipervascularização na zona periférica ao Doppler colorido transretal vem sendo associada com maior probabilidade de carcinoma de próstata ou prostatite no material de biópsia (KELLY et al., 1993; NEWMAN et al., 1995).

BERGONZI et al. (1993) descreveram sua experiência com o Doppler colorido transretal, relatando que os carcinomas geralmente exibem aumento na vascularização nas áreas peri e intra-lesionais, característica valiosa no diagnóstico das lesões nodulares da próstata. Estes autores sugerem que a integração dos dados clínicos, laboratoriais e ultrasom com Doppler colorido permitem maior acurácia no diagnóstico do carcinoma.

CAVALLIERI et al. (1999), em seu estudo com biópsias prostáticas e Doppler colorido transretal, demonstraram excelente sensibilidade (92%) deste exame no diagnóstico dos carcinomas, através do achado de hipervascularização no câncer de próstata. De acordo com os resultados do seu estudo, 50% dos casos com aumento (focal ou difuso) da vascularização ao Doppler colorido revelaram adenocarcinoma na biópsia (verdadeiros-positivos). De acordo com LEE et al. (1989) e NEWMAN et al. (1995), em nódulos hipoecóicos, comprovadamente neoplásicos vistos ao ultra-som, o fluxo sangüíneo está aumentado em cerca de 85% dos casos.

BILLIS (1998), em seu trabalho sistemático com próstatas de autópsias, observou arteriosclerose local de artérias situadas no interior do parênquima prostático ou nos tecidos moles que rodeiam a glândula. Dos pacientes que apresentaram AP à biópsia,

86,66% tinham arteriosclerose local leve a moderada e 52,94%, arteriosclerose local intensa (redução de 75% ou mais do diâmetro do lume vascular). A análise estatística revelou associação significante entre arteriosclerose local intensa e AP (p<0,001), o que, segundo o autor, favorece o possível efeito isquêmico local secundário a arteriosclerose intensa como um dos fatores potenciais para a sua etiopatogênese.

Os resultados deste estudo também parecem apoiar a isquemia local crônica como um dos importantes fatores envolvidos na etiopatogênese da AP. O estudo do fluxo sangüíneo pelo Doppler colorido de 40 lesões suspeitas ao ultra-som transretal (37 nódulos hipoecóicos e 3 lesões heterogêneas) e que apresentaram apenas AP na biópsia, demonstrou fluxo ausente na maioria (60%) das áreas estudadas e aumentado, em 10%. Da mesma forma que áreas de neoplasia se apresentam, na maioria das vezes, com hiperfuxo ao Doppler colorido devido a um provável mecanismo de neovascularização peri e intra-tumoral, podemos supor que áreas com arteriosclerose local e conseqüente redução do lume vascular tenderão a se apresentar, com maior freqüência, com fluxo diminuído ou ausente ao Doppler colorido. A correlação anátomo-radiológica, ao demonstrar ausência de fluxo sangüíneo na maioria das áreas de AP (60%), está de acordo com os achados anteriores de BILLIS (1998) e também parece apoiar a isquemia local crônica como um dos fatores envolvidos na atrofia do epitélio prostático.

O fluxo aumentado em 10% das áreas com AP poderia ser explicado por prováveis alterações hemodinâmicas locais devido à redistribuição de vasos, com aglomerados vasculares em locais onde o parênquima circunjacente tenha sofrido retração pela atrofia.

Embora a ausência de fluxo sangüíneo ao Doppler colorido não tenha se mostrado específica, pois áreas de AP também se apresentaram com fluxo presente (30%) e aumentado (10%), acreditamos que o Doppler colorido possa ser de grande valia no acompanhamento de lesões suspeitas da próstata e, cujo estudo histológico apresente AP como única lesão presente. De acordo com BILLIS e MAGNA (2000), há associação estatisticamente significante entre elastose, AP e aumento da idade. Os autores também observaram forte correlação de arteriosclerose local intensa com a AP e elastose. Portanto, questionamos se, com o envelhecimento e aumento da arteriosclerose local, a maioria das

áreas de AP tendam a se apresentar, com a evolução da lesão, com redução progressiva e ausência de fluxo sangüíneo ao Doppler colorido. Neste caso, estudos prospectivos com ultra-som e biópsias dirigidas seriados são necessários para avaliarmos a eventual mudança no padrão do fluxo ao Doppler colorido e a evolução da AP.

6.2- ESTUDO HISTOLÓGICO

No presente estudo, AP foi a única lesão presente em todas as 40 áreas suspeitas estudadas ao ultra-som e biopsiadas. Adenocarcinoma, NIP de alto grau ou outras lesões atípicas não foram observadas em nenhum dos pacientes. Em 14/40 (35%) dos casos havia dois ou mais subtipos de AP combinados (mais freqüentes simples/esclerosante ou simples/hiperplásica). Em 17/40 (42,5%), apenas o subtipo simples estava presente. Estes achados estão de acordo com os de BILLIS (1998) que, em seu trabalho realizado em autópsias, observou AP com subtipos histológicos em mais de 3/4 dos casos (65/85 ou 76,47%) e, na maior parte das vezes (33/65 ou 50,76%), o autor observou os 3 subtipos simultaneamente.

Não houve associação entre o padrão de fluxo sangüíneo ao Doppler colorido e o subtipo histológico da AP. Este achado e a alta freqûência dos subtipos combinados da AP parecem apoiar a hipótese de CHEVILLE e BOSTWICK (1995) de que as alterações atróficas do epitélio prostático constituem um contínuo morfológico no qual o subtipo hiperplásico (ou hiperplasia pós-atrófica) representa o extremo que mais se assemelha ao adenocarcinoma.

6.3- ESTUDO IMUNOISTOQUÍMICO

A menor expressão do HIF-1 α e do VEGF nas áreas de AP, comparativamente às áreas de infarto agudo (p<0,001), parece também apoiar a isquemia crônica como um dos importantes fatores na etiopatogênese da AP. Embora não haja estudos prévios do tempo de expressão e de degradação destes marcadores em tecidos humanos, estes achados são coerentes com os de CHAVEZ et al. (2000) que, em estudo experimental com cérebros de ratos, demontraram que há aumento rápido das concentrações do HIF-1 α no início da hipóxia com decréscimo após cerca de três semanas, mesmo com manutenção dos baixos níveis de oxigênio. Os autores sugerem que ocorram outras alterações metabólicas e de remodelação vascular capazes de, então, promover adaptação à isquemia tecidual.

A menor expressão imunoistoquímica do HIF-1 α e do VEGF nos ácinos sob isquemia crônica em relação àqueles sob isquemia aguda está de acordo com os resultados do trabalho de CHAVEZ et al. (2000). A negatividade do HIF-1 α , por sua vez, foi significativamente maior na isquemia crônica em relação à isquemia aguda (p<0,05), o que pode estar relacionado à sua degradação intracelular após ativação da transcrição de várias proteínas que promovem adaptação celular à hipóxia, incluindo o VEGF (SEMENZA, 2000).

Em condições de hipóxia aguda, sabe-se que o fator de transcrição gênica HIF-1 ativa a síntese de várias proteínas que promovem maior aporte de oxigênio ou que, então, facilitam a adaptação metabólica às suas baixas concentrações. Dentre estas proteínas cuja transcrição é ativada pelo HIF-1, está o VEGF (SEMENZA, 2000). Portanto, espera-se que, na hipóxia aguda, haja acúmulo rápido da proteína HIF-1 α na célula, com aumento posterior das concentrações da proteína VEGF. Este fator mitogênico, por sua vez, estaria relacionado principalmente a estímulos de angiogênese (LI et al., 1996). Em condições de isquemia aguda, podemos supor, então, que a degradação intracelular do HIF-1 α provavelmente antecede o decréscimo das concentrações da proteína VEGF.

Em condições de hipóxia aguda, observou-se o aumento rápido da concentração da proteína HIF-1α no núcleo com seu decréscimo após a reoxigenação (SEMENZA et al., 2000).

XU et al. (2001) observaram, em estudo com isquemia aguda do miocárdio em humanos, aumento da expressão do RNA mensageiro e das concentrações da proteína VEGF.

KOZLOWSKI et al. (2001), em estudo experimental com isquemia crônica da próstata em coelhos, demonstraram alterações histológicas como espessamento e fibrose do estroma do órgão e atrofia do epitélio. As alterações estruturais apresentaram correlação direta com redução da expressão do fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) e aumento do fator de crescimento tumoral $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$). Os autores sugeriram que, neste modelo, em condições de hipóxia crônica, a redução dos níveis de VEGF possa ter algum papel na atrofia do epitélio e no espessamento fibroso do estroma da próstata.

Nas 40 áreas estudadas ao ultra-som e que mostraram apenas AP nas biópsias (grupo 1), não se observaram diferenças estatisticamente significantes quanto à positividade do HIF-1 α e do VEGF, quando foram comparados os ácinos atróficos (AA) e os ácinos não atróficos (ANA). Tal achado pode ter como explicação alterações metabólicas do microambiente sob hipoxemia crônica, que envolveriam os ácinos de modo similar. Observaram-se, entretanto, diferenças estatisticamente significantes entre estes subgrupos de ácinos, quanto à negatividade do HIF-1 α e do VEGF (p<0,001), o que pode estar relacionado à meia-vida destas proteínas na célula. Podemos supor, que nos ácinos atróficos, a velocidade de degradação destas proteínas nos proteossomos seja menor em relação à sua metabolização nos ácinos não atróficos. Talvez a redução mais lenta de sua degradação intracelular possa ter algum papel na atrofia do epitélio. Não houve associação entre o fluxo sangüíneo ao Doppler colorido nestas áreas e a expressão imunoistoquímica do HIF-1 α e do VEGF, o que provavelmente reforça a idéia de que na hipóxia crônica suas concentrações estão reduzidas na célula.

Nas áreas sob hipoxemia aguda e com infarto da próstata (grupo 2), também não foram observadas diferenças estatisticamente significantes quanto à positividade do HIF-1 α e do VEGF ao se compararem os ácinos com metaplasia escamosa (ACM) e os ácinos sem metaplasia (ASM), provavelmente pelas mesmas alterações metabólicas do microambiente. Entretanto, a negatividade do VEGF foi significativamente maior nos ácinos sem metaplasia (p=0,039), o que também pode indicar que sua degradação intracelular seja mais lenta nos ácinos com alterações metaplásicas. O mesmo, entretanto, não foi observado quanto à negatividade do HIF-1 α entre os ácinos com metaplasia e os ácinos sem metaplasia.



7. CONCLUSÕES

- 7.1.- A ausência de fluxo sangüíneo ao Doppler colorido na maioria das lesões suspeitas (60%) mostrando apenas AP na biópsia parece apoiar a isquemia local crônica como um dos importantes fatores na sua etiopatogênese.
- 7.2- Não há associação entre o fluxo sangüíneo ao Doppler colorido e o subtipo histológico de AP. A alta freqüência dos subtipos combinados de AP apóia a idéia de que as alterações histológicas do epitélio fazem parte de um contínuo morfológico, no qual o subtipo hiperplásico (ou hiperplasia pós-atrófica) representa o extremo que mais se assemelha ao adenocarcinoma.
- 7.3- A menor expressão do HIF-1α e do VEGF nas áreas de AP, comparativamente às áreas de infarto agudo indica que haja um mecanismo de "esgotamento" celular na síntese destas proteínas, o que parece também apoiar a isquemia local crônica como importante fator na etiopatogênese da AP. Estes achados reforçam a idéia de que ocorram outras modificações metabólicas progressivas de adaptação celular às baixas concentrações de oxigênio.



8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AARNINK, R.G.; BEERLAGE, H.P.; DE LA ROSETE, J.J.M.C.H.; DEBRUYNE, F.M.J.; WIJKSTRA, H. Transrectal ultrasound of the prostate: innovations and future applications. J Urol, 159:1568-79, 1998.

AMIN, M.B.; TAMBOLI, P.; VARMA, M.; SRIGLEY, J.R. Postatrophic hyperplasia of the prostate gland. A details analysis of its morphology in needle specimens. **Am j Surg Pathol**, 23:925-31, 1999.

ANTON, R.C.; KATTAN, M.W.; CHAKRABORTY, S.; WHEELER, T.M. Postatrophic hyperplasia of the prostate. Lack of association with prostate cancer. **Am J Surg Pathol**, 23:932-36, 1999.

BAKSHI, N.A.; PANDYA, S.; SCHERVISH, E.W.; WOJNO, K.J. Morphologic features and clinical significance of post-atrophic hyperplasia in biopsy specimens of prostate. **Mod Pathol 15:154A, 2000** (*abstract*).

BANAI, S.; SHWEIKI, D.; PINSON, A.; CHANDRA M.; LAZAROVICI G.; KESHET E. Upregulation of vascular endothelial growth factor expression induced by myocardial ischaemia: implications for coronary angiogenesis. **Cardiovasc Res**, 28:1176-79, 1994.

BERGONZI, M.; BONFLIOLI, C.; MOTTA, F.; URANI, A. Color Doppler in transrectal echography of the prostate. Preliminary results. **Radiol Med**, **85:124-28**, **1993**.

BILLIS, A. Prostatic atrophy: An autopsy study of a histologic mimic of adenocarcinoma. **Mod Pathol**, **11:47-54**, **1998**.

BILLIS, A. Uropatologia, Próstata. Guia prático para o diagnóstico anatomopatológico. Goiânia: Editora UFG, 1997. p. 212.

BILLIS, A.; MAGNA, L.A. Prostate elastosis. A microscopic feature useful for the diagnosis of postatrophic hyperplasia. Arch Pathol Lab Med, 124:306-9, 2000.

BILLIS, A.; MAGNA, L.A. Inflammatory Atrophy of the Prostate. Prevalence and Significance. Arch Pathol, 127:840-4, 2003.

BONKHOFF, H.; STEIN, U.; REMBERGER, K. The proliferative function of basal cells in the normal and hyperplastic human prostate. **Prostate**, **24:114-18**, **1994**.

BOSTWICK, D. G.; AMIN, M. B.; DUNDORE, P.; MARSH, W.; SCHULTZ, D. S. Architectural patterns of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. Hum Pathol, 24:298-310, 1993.

BURCHARDT, M.; BURCHARDT, T.; CHEN, W.M.; HAYEK, R.O.; KNIGHT, C.; SHABSIGH, A.; DE LA TAILLE, A. et al. Vascular endothelial growth factor -A expression in the rat ventral prostate gland and the early effects of castration. **The Prostate**, **43:184-94, 2000.**

CAMICI, P.G.; LORENZONI, R. Microcirculation and remodelling. Cardiologia, 39:197-201, 1994.

CAVALLIERI, S.A.; WERNERSBACH, L.; BARBOSA, A.S.; FARIA, P.A. Valor do color Doppler transretal no diagnóstico do câncer de próstata: correlação anátomoradiológica. **J Bras Urol, 25:192-96, 1999.**

CHAVEZ, J.C.; AGANI, F.; PICHIULE, P.; LAMANNA, J.C. Expression of hypoxiainducible factor-1alpha in the brain of rats during chronic hypoxia. J Appl Physiol, 89:1937-42, 2000.

CHEVILLE, J.C.; BOSTWICK, D.G. Postatrophic hyperplasia of the prostate. A histologic mimic of prostatic adenocarcinoma. **Am J Surg Pathol, 19:1068-76, 1995.**

CINA, S.J.; EPSTEIN, J.I. Adenocarcinoma of the prostate with atrophic features. Am J Surg Pathol, 21:289-95, 1997.

CVETKOVIC, D.; MOVSAS, B.; DICKER, P.A.; HANLON, L.A.; GREENBERG, E.R.; CHAPMEN, J.D. et al. Increased hipoxya correlates with increased expression of the angiogenesis marker vascular endothelial growth factor in human prostate cancer. **Urology**, **57:821-25, 2001.**

DE MARZO, M.A.; MARCHI, V.L.; EPSTEIN, J.I.; NELSON, G.W. Proliferative inflammatory atrophy of the prostate: implications for prostatic carcinogenesis. Am J Pathol, 155:1985-92, 1999.

DE MARZO, M.A.; NELSON, G.W.; MEEKER, A.M. et al. Stem cell features of benign and malignant prostate epithelial cells. J Urol, 160:2381-92, 1998.

DE MARZO, M.A.; PUTZI, M.J.; NELSON G.W. New concepts in the pathology of prostatic epithelial carcinogenesis. Urology, 57:103-14, 2001.

DUQUE, J.L.F.; LOUGHLIN, K.R.; ADAM, R.M.; KANTOFF, P.W.; ZURAKOWSKI, D.; FREEMAN, M.R. Plasma levels of vascular endothelial growth factor are increased in patients with metastatic prostate cancer. **Urology**, **54:523-27**, **1999**.

EGAN, A.J.; LOPEZ-BELTRAN, A.; BOSTWICK, D.G. Prostatic adenocarcinoma with atrophic features: malignancy mimicking a benign process. **Am J Surg Pathol, 21:931-35, 1997.**

EPSTEIN, J.I. & YANG, X.J. Prostate biopsy interpretation. In: EPSTEIN, J.I. **Biopsy interpretation series.** 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002. p. 312.

EPSTEIN, J.I. **Prostate biopsy interpretation. Biopsy interpretation series**. New York: Raven Press, 1989. p. 254.

FENELEY, R.M.; YOUNG, P.M.; CHINYAMA, C.; KIRBY, S.R.; PARKINSON, C.M. Ki-67 expression in early prostate cancer and associated pathological lesions. J Clin Pathol, 49:741-8, 1996.

FERRER, F.A.; MILLER, L.J.; LINDQUIST, R.; KOWALCZYK, P.; LAUDONE, V.P.; ALBERSTEN, P.C. et al. Expression of vascular endothelial growth factor receptors in human prostate cancer. **Urology**, **54:567-72**, **1999**.

FERRER, F.A.; MILLER, L.J.; ANDRAWIS, R.I.; KURTZMAN, S.H.; ALBERTSEN, P.C.; LAUDONE, V.P. et al. Angiogenesis and prostate cancer: in vivo and in vitro expression of angiogenesis factors by prostate cancer cells. **Urology**, **51:161-67**, **1998**.

FERRER, F.A.; MILLER, L.J.; ANDRAWIS, R.I.; KURTZMAN, S.H.; ALBERTSEN, P.C.; LAUDONE, V.P. et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in human prostate cancer: In situ and in vitro expression of VEGF by human prostate cancer cells. J Urol 157:2329-33, 1997.

FILHO. G.B.; GUIMARÃES, C.R.; BOGLIOLO, L. Distúrbios do Crescimento e da Diferenciação Celular. In: BOGLIOLO, L. **Patologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p.149-193.
FRANKS, L.M. Atrophy and hyperplasia in the prostate proper. J Pathol Bacteriol, 68:617-21, 1954.

HARPER, M.E.; GLYNNE-JONES, E.; GODDARD, L.; THURSTON, VJ.; GRIFFITHS, K. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in prostatic tumors and its relationship to neuroendocrine cells. **Br J Cancer**, **74:910-16**, **1996**.

JACKSON, W.M.; ROBERTS, S.J.; HECKFORD, E.S.; RICCIARDELLI, C.; STAHL, J.; HORSFALL, J.D.; TILLEY, D.W. A potential autocrine role for vascular endothelial growth factor in prostate cancer. **Cancer Research**, **62:854-59**, **2002**.

KELLY, I.M.G.; LEES, W.R.; RICKARDS, D. Prostate cancer and role of color doppler US. Radiology, 189:153-56, 1993.

KOENEMAN, K.S.; PAN, C.X.; JIN, J.K.; PYLE, J.M.; FLANINGAN, R.C.; SHANKEY, T.V. et al. Telomerase activity, telomere length, and DNA ploidy in prostatic intraepithelial neoplasia (PIN). J Urol, 160:1533-39, 1998.

KOLIN, A.; KOUTOULAKIS, T. Role of arterial occlusion in pulmonary scar cancers. **Hum Pathol, 19:1161-67, 1988.**

KOVI, J. Microscopic differential diagnosis of small acinar adenocarcinoma of the prostate. **Pathol Annu, 20:157-96, 1985.**

KOZLOWSKI, R.; KERSHEN, R.T.; SIROKY, M.B.; KRANE, R.J.; AZADZOI, K.M. Chronic ischemia alters prostate structure and reactivity in rabbits. J Urol, 165:1019-26, 2001.

LEE, F.; TORP-PEDERSEN, S.; LITTRUP, P.J.; MCLEARY, R.; MCHUGH, T.A.; SMID, A.P. et al. Hypoechoic lesions of the prostate: Clinical relevance of tumor size, digital rectal examination, and prostate-specific antigen. **Radiology**, **170:29-32**, **1989**.

LI, J.; BROWN, L.F.; HIBBERD, M.G.; GROSSMAN, J.D.; MORGAN, J.P.; SIMONS, M. VEGF, flk-1, and flt-1 expression in a rat myocardial infarction model of angiogenesis. **Am J Physiol, 270:1803-11, 1996.**

LIAVAG, I. Atrophy and regeneration in the pathogenesis of prostatic carcinoma. Acta Pathol Microbiol Scand, 73:338-50, 1968.

LOUVAR, E.; LITTRUP, P.J.; GOLDSTEIN, A.; YU, L.; SAKR, W.; GRIGNON, D. Correlation of color Doppler flow in the prostate with tissue microvascularity. Cancer, 83:135-40, 1998.

MCNEAL, J.E. Prostate. In: STERNBERG, S.S. **Histology for Pathologists**. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997, pp 997-1017.

MCNEAL, J.E.; HAILLOT, O; YEMOTO, C. Cell proliferation in dysplasia of the prostate: analysis by PCNA imunnostaining. **Prostate**, 27:258-68, 1995.

MONTIRONI, R.; MAZZUCCHELLI, R.; SCARPELLI, M. Precancerous lesions and conditions of the prostate: from morphological and biological characterization to chemoprevention. **Ann N Y Acad Sci, 963:169-84, 2002.**

MONTIRONI, R.; SANTINELLI, A.; MAZZUCCHELLI, R. Prostatic intraepithelial neoplasia and prostate cancer. **Panminerva Med**, **44:213-20**, **2002**.

MOORE, R.A. The evolution and involution of the prostate gland. Am J Pathol, 12:599-624, 1936.

MOORE, R.A. The morphology of small prostatic adenocarcinoma. J Urol, 33:224-34, 1935.

MOSTOFI, F.K.; PRICE, E.B.JR. Tumors of the male genital system. Atlas of Tumor Pathology. Washington, D.C.: Armed Forces Institute of Pathology, 1973. p. 225-227. Fasc 8, Series 2.

NEWMAN, J.S.; BREE, R.L.; RUBIN, J.M. Prostate cancer: Diagnosis with color Doppler sonography with histologic correlation of each biopsy site. **Radiology**, **195:86-90**, **1995**.

O'MALLEY, F.P.; GRIGNON, D.J.; SHUM, D.T. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. Virchows Archiv [A] Pathol Anat, 417:191-96, 1990.

OERTEL, H. Involutionary changes in prostate and female breast in relation to cancer development. Can Med Assoc J, 16:237-41, 1926.

OPPENHEIMER, J.R.; WILLS, M.L; EPSTEIN, J.I. Partial atrophy in prostate needles cores: another diagnostic pitfall for the surgical pathologist. **Am J Surg Pathol, 22:440-45, 1998.**

PARSONS, K.J.; GAGE, R.W.; NELSON, G.W.; DE MARZO, M.A. P63 protein expression is rare in prostate adenocarcinoma: implications for cancer diagnosis and carcinogenesis. Urology, 58:619-24, 2001.

PARSONS, K.J.; NELSON, P.C.; CAGE, R.W.; NELSON, G.W.; KENSLER, W.T.; DE MARZO, M.A. GSTA1 expression in normal, preneoplastic, and neoplastic human prostate tissue. **Prostate**, **15:30-7**, **2001**.

PRANDO, A. Próstata. In: PRANDO, A.; PRANDO, D.; CASERTA, N.M.G. E BAUAB JR., T. Urologia. Diagnóstico por Imagem. São Paulo: Sarvier, 1997. p. 301-335.

PUTZI, J.M.; DE MARZO, M.A. Morphological transitions between proliferative inflammatory atrophy and high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. Urology, 56:828-32, 2000.

RICH, A.R. On the frequency of occurrence of occult carcinoma of the prostate. J Urol, 33:215-23, 1935.

RUSKA, K.M.; SAUVAGEOT, J.; EPSTEIN, J.I. Hitology and cellular kinetics of prostatic atrophy. **Am J Surg Pathol, 22:1073-77, 1998.**

SEMENZA, G.L. Expression of Hypoxia-Inducible Factor 1: mechanisms and consequences. **Biochem Pharmacol**, **59:47-53**, **2000**.

SEMENZA, G.L.; AGANI, F.; FELDSER, D.; IYER, N.; KOTCH, L.; LAUGHNER, E. et al. Hypoxia, HIF-1, and the patophysiology of common human diseases. **Adv Exp Med Biol**, **475:123-30**, **2000**.

SHAH, R.; MUCCI, R.N.; AMIN, A.; MACOSKA, A.J.; RUBIN, A.M. Postatrophic hyperplasia of the prostate gland. Neoplastic precursor or innocent bystander? Am J Pathol, 158:1767-73, 2001.

SILBERMAN, M.A.; PARTIN, A.W.; VELTRI, R.W.; EPSTEIN, J.I. Tumor angiogenesis correlates with progression after radical prostatectomy but not with pathologic stage in Gleason sum 5 to 7 adenocarcinoma of the prostate. **Cancer**, **79:772-79**, **1997**.

SOMMERFELD, H.J.; MEEKER, A.K.; PIATYSZEK, M.A.; BOVA, G.S.; SHAY, J.W.; COFFEY, D.S. Telomerase activity: a prevalent marker of malignant human prostate tissue. **Cancer Res**, **56:218-22**, **1996**.

STARCHER, B.C.; MECHAM, R.P. Desmosine radioimmunoassay as a means of studying elastogenesis in cell culture. **Connect Tissue Res**, 8:255-58, 1981.

TALKS, K.L.L.; TURLEY, H.; GATTER, K.C.; MAXWELL, P.H.; PUGH, C.W.; RATCLIFF, P.J. et al. The expression and distribution of the hypoxia-inducible factors HIF-1alpha and HIF-2 alpha in normal human tissues, cancers, and tumor-associated macrophages. **Am J Pathol**, **157:411-21, 2000.**

TOTTEN, R.S.; HEINEMAN, M.W.; HUDSON, P.B.; SPROUL, E.E.; STOUT, A.P. Microscopic differential diagnosis of latent carcinoma of prostate. **AMA Arch Pathol**, **55:131-41, 1953.**

TSUJIMOTO, Y.; TAKAYAMA, H.; NONOMURA, N.; OKUYAMA, A.; AOZASA, K. Postatrophic hyperplasia of the prostate in Japan: histologic and imunnoistochemical features and *P53* gene mutation analysis. **Prostate**, **52:279-87**, **2002**.

TYAGI, S.C.; KUMAR, S.G.; ALLA, S.R.; REDDY, H.K.; VOELKER, D.J.; JANICKI, J.S. Extracellular matrix regulation of metalloproteinase and antiproteinase in human heart fibroblast cells. **J Cell Physiol, 167:137-47, 1996.**

VAN DIEST, P.J.; VAN DAM, P.; HENZEN-LOGMANS, S.C.; BERNAS, ELS.; VAN DER BURG, M.E.L.; GREEN, J. et al. A scoring system for immunohistochemical staining: consensus report of the task force for basis research of the EORTC-GCCG. J Clin Pathol, 50:801-4, 1997.

WEIDNER, N. Intratumor microvessel density as a prognostic factor in cancer. Am J Pathol, 147:9-19, 1995.

WEIDNER, N.; CARROLL, P.R.; FLAX, J.; BLUMENFELD, W.; FOLKMAN, J. Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostate carcinoma. Am J Pathol, 143:401-9, 1993.

WEINSTEIN, H.M.; SIGNORETTI, S.; LODA, M. Diagnostic utility of imunnoistochemical staining for p63, a sensitive marker of prostatic basal cells. **Mod Pathol**, **15:1302-8**, **2002**.

WEITZMAN, S.A.; GORDON, L.I. Inflammation and Cancer: Role of Phagocyte-Generated Oxidants in Carcinogenesis. **Blood**, **76:655-63**, **1990**.

WOJNO, K.J.; EPSTEIN, J.I. The utility of basal cell-specific anti-cytokeratin antibody (34 beta E12) in the diagnosis of prostate cancer. A review of 228 cases. **Am J Surg Pathol**, **19:251-60, 1995.**

XU, X.; LI, J.; SIMONS, M.; LI, J.; LAHAM, R.J.; SELLKE, F.W. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in increased, but microvascular relaxation is impaired in patients after acute myocardial ischaemia. J Thorac Cardiovasc Sur, 121:735-42, 2001.

ZAGZAG, D.; ZHONG, H.; SCALZITTI, J.M.; LAUGHNER, E.; SIMONS, J.W.; SEMENZA, G.L. Expression of Hypoxia-Inducible Factor 1 Alfa in Brain Tumors. Association with Angiogenesis, Invasion, and Progression. **Cancer 88:2606-18, 2000.**

ZHONG, H.; DE MARZO, A.M.; LAUGHNER, E.; LIM, M.; HILTON, D.A.; ZAGZAG,

D. et al. Overexpression of HIF-1 α in common human cancers and their metastases. Cancer Res, 49:5830-35, 1999.



9. ANEXOS

Planilha 1

Subtipos histológicos de atrofia prostática, fluxo sangüíneo, ecogenicidade, localização de nódulos suspeitos ao ultra-som, raça e idade de 33 pacientes. (Grupo 1)

aciente	Idade	Raça	Biópsia	Nódulo(s)	Ecogenicidade	Fluxo	ATROFIA (SUBTIPO)
1	LL	branco	7039 /99	1a (ZPE basal)	hipoecogênico	aumentado	SIMPLES
2	78	branco	7338 /99	2a (ZPD)	hipoecogênico	ausente	SIMPLES
3	70	branco	8326 /99	3a (ZPE)	hipoecogênico	presente	SIMPLES
4	61	pardo	8565 /99	4a (ZP)	hipoecogênico	presente	COMBINADA
5	67	branco	8558 /99	5a (ZP)	hipoecogênico	ausente	SIMPLES
9	56	branco	8955 /99	6a (ZPD)	hipoecogênico	presente	HIPERPLASICA
7	81	branco	9485 /99	7a (ZPE)	hipoecogênico	presente	SIMPLES
8	65	branco	9887 /99	8a (ZPD)	hipoecogênico	ausente	SIMPLES
6	76	branco	10400 /99	9a (ZPD)	hipoecogênico	ausente	SIMPLES
10	11	branco	10566 /99	10a (ZPD basal)	hipoecogênico	presente	SIMPLES
11	75	branco	10559 /99	11a (ZPE)	hipoecogênico	aumentado	SIMPLES
11	75	branco	10559 /99	11b (ZPD)	hipoecogênico	ausente	COMBINADA
12	43	branco	8000 /99	12a (ZPE)	hipoecogênico	ausente	SIMPLES
13	84	branco	2215 /00	13a (ZPD média)	hipoecogênico	ausente	SIMPLES
14	86	branco	2609/00	14a (ZPD ápico-medial)	heterogêneo	aumentado	COMBINADA
15	71	branco	3010 /00	15a (ZPE)	hipoecogênico	ausente	ESCLEROSANTE
16	71	branco	2924 /00	16a (ZPE)	hipoecogênico	ausente	SIMPLES
16	71	branco	2924 /00	16b (ZPD)	hipoecogênico	ausente	SIMPLES

ZPD: zona periférica direita

ZTD: zona de transição direita

ZPE: zona periférica esquerda

ZTE: zona de transição esquerda

ZP: zona periférica

Anexos 151 Planilha 1 (continuação)

Subtipos histológicos de atrofia prostática, fluxo sangüíneo, ecogenicidade, localização de nódulos suspeitos ao ultra-som, raça e idade de 33 pacientes.

		7	
,		i	
2	5	Ĺ	
=	3	ï	
h	ñ	t	
5	2	!	

le Fluxo ATROFIA (SUBTIPO)	o ausente SIMPLES	o ausente SIMPLES	o aumentado COMBINADA	o presente HIPERPLÁSICA	o presente HIPERPLÁSICA	o presente HIPERPLÁSICA	o presente HIPERPLÁSICA	o ausente COMBINADA	o ausente COMBINADA	o presente HIPERPLÁSICA	o ausente COMBINADA	o ausente COMBINADA	o ausente COMBINADA	o ausente HIPERPLÁSICA	o ausente HIPERPLÁSICA	o presente COMBINADA	o ausente ESCLEROSANTE	o ausente COMBINADA		o ausente HIPERPLÁSICA	0 ausente HIPERPLÁSICA 0 ausente SIMPLES
Ecogenicidad	hipoecogênice	hipoecogênice	hipoecogênice	hipoecogênice	hipoecogênice	hipoecogênice	hipoecogênice	hipoecogênice	hipoecogênice	hipoecogênico	hipoecogênico	hipoecogênice	hipoecogênice	hipoecogênico	hipoecogênico	hipoecogênico	hipoecogênico	hipoecogênico		hipoecogenic	hipoecogenico
Nódulo(s)	17a (ZPD)	17b (ZPE)	18a (ZPD)	19a (ZPE)	19b (ZPD)	20a (ZTD)	20b(ZTE)	21a (ZPE)	22a (ZTD 1/3 médio)	23a (ZPE base)	24a (ZPD)	25a (ZPE)	26a (ZPD)	27a (ZPD)	28a (ZPE)	29a (ZPD)	29b (ZPE média)	30a (ZPE base)	210 (7 DF)	OIA (CILE)	32a (ZPE)
Biópsia	6357 /99	6357 /99	8322 /99	11250 /98	11250 /98	4727 /99	4727 /99	3246 /98	11844 /98	11829 /98	4492 /99	11515/98	11331 /98	8703 /98	8423 /98	12105 /98	12105 /98	10168 /98	66/ 6099	111000	4292 /00
Raça	branco	branco	branco	branco	branco	branco	branco	branco	branco	branco	branco	branco	pardo	branco	branco	branco	branco	branco	branco		branco
Idade	61	61	70	73	73	61	61	45	81	74	62	69	57	66	69	62	62	78	70		70
Paciente	17	17	18	19	19	20	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	29	30	31		32

ZPE: zona periférica esquerda ZPD: zona periférica direita ZTD: zona de transição direita ZTE: zona de transição esquerda

ZP: zona periférica

Anexos 152 Planilha 2a

Número de ácinos com metaplasia escamosa (ACM) e número absoluto de núcleos positivos e negativos para o HIF-1alfa e VEGF em 8 pacientes com infar agudo da próstata.

(Grupo 2)

				ACINOS COM MELL	APLASIA ESU	AMUSA (AUM)	and the second se
aciente	Biópsia	AcinosHIF	Núcleos ACMHIF/+/	Núcleos ACMHIF/-/	AcinosVEGF	Núcleos ACMVEGF/+/	Núcleos ACMVEGF/-/
-	826/72	18	557	316	19	745	398
2	1148/74	16	1777	533	14	1238	824
3	1469/79	16	753	194	16	867	231
4	8474/93	8	316	514	9	239	411
5	96/17/96	14	372	621	14	359	600
9	5752/97	5	186	258	9	59	309
7	7086/02	6	664	291	8	597	397
8	103296	29	2252	456	27	1822	753

ACMHIF/+/: número absoluto de núcleos positivos para HIF-Ialfa em ácinos com metaplasia escamosa ACMHIF/-/: número absoluto de núcleos negativos para HIF-1alfa em ácinos com metaplasia escamosa ACMVEGF/+/: número absoluto de núcleos positivos para VEGF em ácinos com metaplasia escamosa ACMVEGF/-/: número absoluto de núcleos negativos para VEGF em ácinos com metaplasia escamosa

Anexos 153

Planilha 2b

Número de ácinos sem metaplasia escamosa (ASM) e número absoluto de núcleos positivos e negativos para o HIF-1alfa e VEGF em 8 pacientes com infar agudo da próstata.

(Grupo 2)

-	1088001		AU	THE REAL PARTY AND	WITH THE MARK WARNESS	(MILLEN VERNING)	
aciente	Biópsia	AcinosHIF	Núcleos ASMHIF/+/	Núcleos ASMHIF/-/	AcinosVEGF	Núcleos ASMVEGF/+/	Núcleos ASMVEGF/-/
1	826/72	13	591	379	19	499	374
2	1148/74	17	974	312	13	343	751
3	1469/79	11	733	400	13	957	246
4	8474/93	6	524	691	8	410	879
5	96/17/96	12	616	414	13	405	700
9	5752/97	10	538	462	6	288	660
7	7086/02	8	642	425	10	568	620
8	103296	18	1948	271	19	1478	740

ASMHIF/+/: número absoluto de núcleos positivos para HIF-Ialfa em ácinos sem metaplasia escamosa ASMHIF/-/: número absoluto de núcleos negativos para HIF-Ialfa em ácinos sem metaplasia escamosa ASMVEGF/+/: número absoluto de núcleos positivos para VEGF em ácinos sem metaplasia escamosa ASMVEGF/-/: número absoluto de núcleos negativos para VEGF em ácinos sem metaplasia escamosa Planilha 3a

Número de ácinos atróficos (AA) e número absoluto de núcleos positivos e negativos para o HIF-1alfa e VEGF em 33 pacientes.

(Grupo 1)

Paciente Biopsi.	a Nódulo	AcinosHIF	Núcleos AAHIF/+/	Núcleos AAHIF/-/	AcinosVEGF	Núcleos AAVEGF/+/	Núcleos AAVEGF/-/
1 7039/9	9 ZPE	21	0	544	19	11	951
2 7338/9	0 ZPD	5	0	118	6	0	131
3 8326/9	9 ZPE	5	0	125	9	4	270
4 8565/9	9 ZP	5	0	340	7	0	453
5 8558/9	9 ZP	11	0	884	6	0	713
6 8955/9	0 ZPD	41	29	1821	45	16	2055
7 9485/9	9 ZPE	4	0	96	4	3	70
8 9887/9	0 ZPD	19	6	1180	18	4	1115
9 10400/	09 ZPD	7	0	216	5	3	94
10 10566/	06 ZPD	7	0	188	5	3	148
11 10559/	99 ZPE	8	0	429	17	3	724
11 10559/	99 ZPD	14	0	954	4	0	153
12 8000/9	9 ZPE	6	0	798	6	0	803
13 2215/0	0 ZPD	11	0	609	8	3	576
14 2609/0	O ZPD	28	0	853	25	4	742
15 3010/0	0 ZPE	5	1	236	4	2	107
16 2924/0	0 ZPE	24	4	1362	3	0	67
16 2924/0	0 ZPD	5	0	296	3	0	157
17 6357/9	0 ZPD	15	0	950	9	0	162
17 6357/9	9 ZPE	9	0	668	9	0	680

AAVEGF/+/: mímero absoluto de núcleos positivos para VEGF em ácinos atróficos AAVEGF/-/: mímero absoluto de núcleos negativos para VEGF em ácinos atróficos

ZPD: zona periférica direita ZTD: zona de transição direita ZTE: zona de transição esquerda

Anexos 155

Planilha 3a (continuação)

Número de ácinos atróficos (AA) e número absoluto de núcleos positivos e negativos para o HIF-1alfa e VEGF em 33 pacientes.

(Grupo 1)

	and the second second	and the second second	And the second second		ALINUS ALINUFIA	(NA) CU.		
Paciente	Biópsia	Nódulo	AcinosHIF	Núcleos AAHIF/+/	Núcleos AAHIF/-/	AcinosVEGF	Núcleos AAVEGF/+/	Núcleos AAVEGF/-/
18	8322/99	ZPD	10	0	425	10	0	433
19	11250/98	ZPE	17	4	1002	7	0	291
19	11250/98	ZPD	16	0	1144	13	4	936
20	4727/99	ZTD	27	13	1530	25	5	1480
20	4727/99	ZTE	31	0	976	26	4	472
21	3246/98	ZPE	8	0	161	14	5	388
22	11844/98	ZTD	15	7	651	11	0	341
23	11829/98	ZPE	16	0	1120	14	8	1125
24	4492/99	ZPD	5	0	306	9	4	316
25	11515/98	ZPE	9	0	241	10	4	695
26	11331/98	ZPD	80	0	189	11	3	274
27	8703/98	ZPD	21	0	394	21	8	688
28	8423/98	ZPE	4	0	347	5	0	418
29	12105/98	ZPD	11	2	456	15	0	670
29	12105/98	ZPE	12	0	431	6	2	356
30	10168/98	ZPE	37	7	2049	40	5	2210
31	66/6099	ZPE	30	5	1309	33	13	1363
32	4292/00	ZPE	4	0	247	6	2	370
33	4390/00	ZPD	7	19	567	14	16	1134
33	4390/00	ZPD	19	8	838	18	0	696

AAHIF/+/: mimero absoluto de múcleos positivos para HIF-1alfa em ácinos atróficos AAHIF/-/: mimero absoluto de múcleos negativos para HIF-1alfa em ácinos atróficos AAVEGF/+/: número absoluto de núcleos positivos para VEGF em ácinos atróficos AAVEGF/-/: número absoluto de múcleos negativos para VEGF em ácinos atróficos

ZPE: zona periférica esquerda ZPD: zona periférica direita ZTD: zona de transição direita ZTE: zona de transição esquerda Planilha 3b

Número de ácinos não atróficos (ANA) e número absoluto de núcleos positivos e negativos para o HIF-1alfa e VEGF em 33 pacientes. (Grupo 1)

	lúcleos ANAVEGF/-/	397	0	440	883	1052	0	723	1300	86	180	1111	243	0	0	1326	762	69	0	766	1110
	Núcleos ANAVEGF/+/ N	1	0	1	0	0	0	4	0	0	2	8	3	0	0	4	10	0	0	10	0
(COS (ANA)	AcinosVEGF	6	0	6	12	8	0	22	25	2	4	11	5	0	0	16	14	1	0	9	~
ACINOS NÃO ATRÓFI	Núcleos ANAHIF/-/	208	0	305	642	1048	0	687	1417	48	747	970	1700	0	0	1071	833	646	0	902	1205
Y	Núcleos ANAHIF/+/	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	29	0	0	0	0	0	0	14	0
	AcinosHIF	S	0	4	11	8	0	21	27	1	6	30	12	0	0	13	14	8	0	6	0
	Biópsia	7039/99	7338/99	8326/99	8565/99	8558/99	8955/99	9485/99	9887/99	10400/99	10566/99	10559/99	10559/99	8000/99	2215/00	2609/00	3010/00	2924/00	2924/00	6357/99	6157/00
	Paciente	1	2	3	4	5	9	7	8	6	10	11	11	12	13	14	15	16	16	17	17

ANAHIF/+/: número absoluto de núcleos positivos para HIF-1alfa em ácinos não atróficos ANAHIF/-/: número absoluto de núcleos negativos para HIF-1alfa em ácinos não atróficos ANAVEGF/+/: número absoluto de núcleos positivos para VEGF em ácinos não atróficos ANAVEGF/-/: número absoluto de núcleos negativos para VEGF em ácinos não atróficos

Anexos 157

3b (continuação)

Número de ácinos não atróficos (ANA) e número absoluto de núcleos positivos e negativos para HIF-1alfa e VEGF em 33 pacientes.

(Grupo 1)

	Núcleos ANAVEGF/-/	116	0	164	942	0	394	275	0	0	873	0	115	443	894	430	0	435	1692	202	445
	Núcleos ANAVEGF/+/	0	0	1	0	0	7	0	0	0	6	0	2	0	8	0	0	7	17	5	0
FICOS (ANA)	AcinosVEGF	4	0	3	5	0	5	4	0	0	21	0	4	7	6	3	0	11	16	3	
ÁCINOS NÃO ATRÓ	Núcleos ANAHIF/-/	128	291	432	935	0	0	1005	0	0	840	0	123	424	635	550	0	486	1616	313	658
	Núcleos ANAHIF/+/	0	6	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	17 1
	AcinosHIF	4	14	6	5	0	0	17	0	0	20	0	4	6	7	5	0	12	13	3	5
	Biópsia	8322/99	11250/98	11250/98	4727/99	4727/99	3246/98	11844/98	11829/98	4492/99	11515/98	11331/98	8703/98	8423/98	12105/98	12105/98	10168/98	66/6099	4292/00	4390/00	4390/00
	Paciente	18	19	19	20	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	29	30	31	32	33	33

ANAHIF/+/: mímero absoluto de mícleos positivos para HIF-1alfa em ácinos não atróficos ANAHIF/-/: mímero absoluto de mícleos negativos para HIF-1alfa em ácinos não atróficos ANAVEGF/+/: mímero absoluto de mícleos positivos para VEGF em ácinos não atróficos ANAVEGF/-/: mímero absoluto de mícleos negativos para VEGF em ácinos não atróficos