

Figura 2- En el PIN de bajo grado las células epiteliales se presentan estratificadas y agrupadas de forma irregular. Los núcleos están aumentados de tamaño con cromatina hipercromática e irregular y nucleolos raramente prominentes (HE X400, X1000).

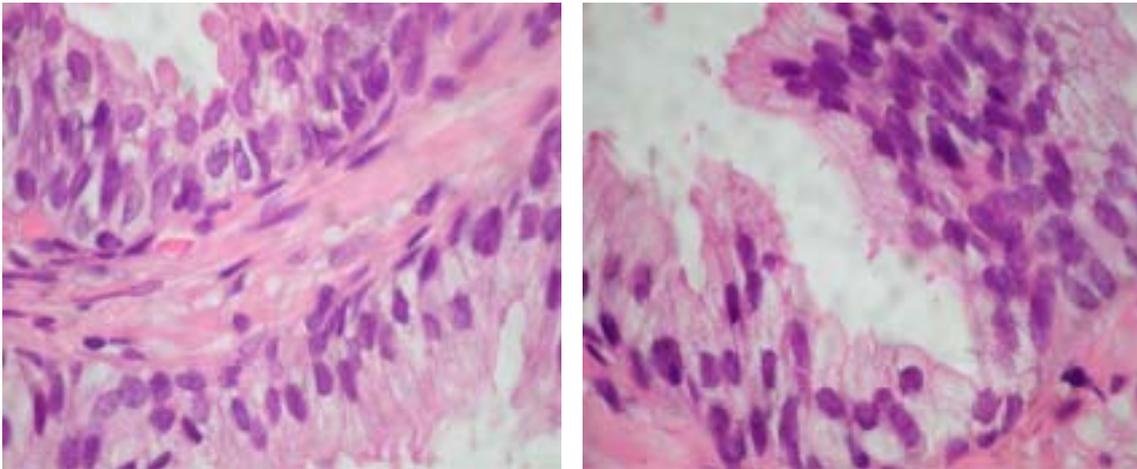


Figura 3- En el PIN de alto grado aumenta la densidad celular y el tamaño de los núcleos con cromatinas más irregulares y nucleolos prominentes. Las características citológicas son similares al adenocarcinoma (HE X1000).

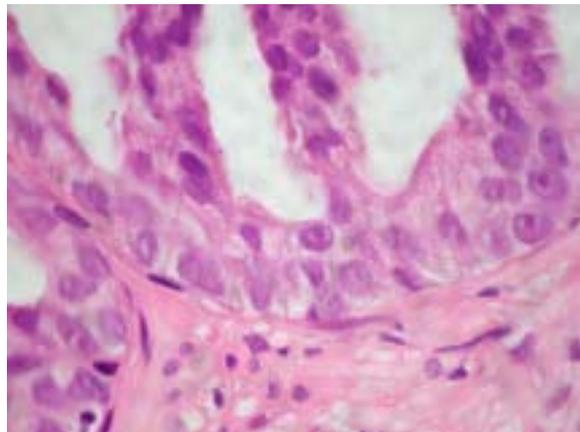


Figura 4- En el PIN de alto grado la capa de células basales suele estar intacta mientras que en el PIN de alto grado puede presentarse discontinua. En la imagen se observa una lesión de PIN de alto grado con microinvasión del estroma glandular (DAB 34βE12, x250, x400).

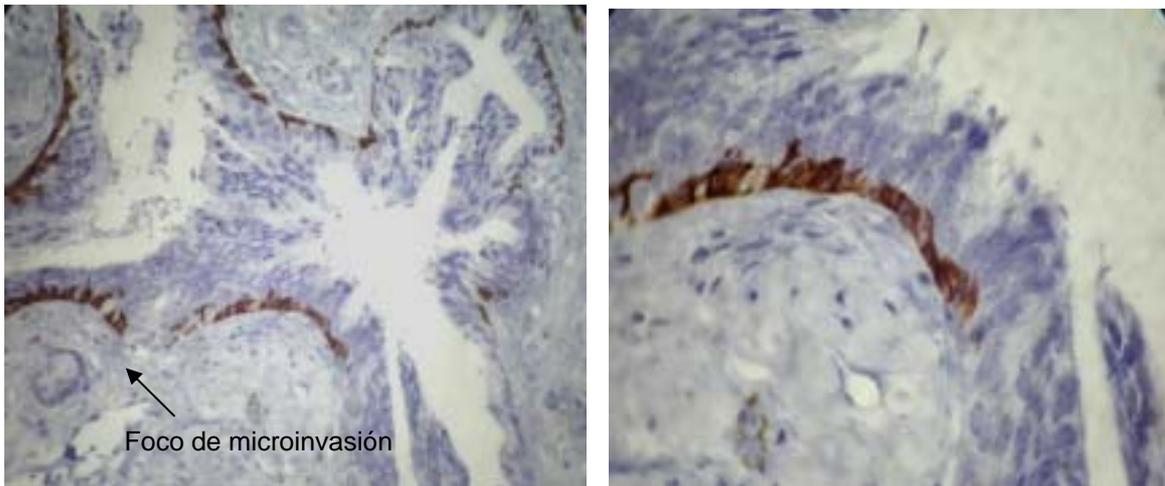


Figura 5- En la glándula prostática normal la capa de células basales suele ser continua, mientras que en el PIN de alto grado se hace discontinua y desaparece en el carcinoma invasor (DAB 34βE12, x400).

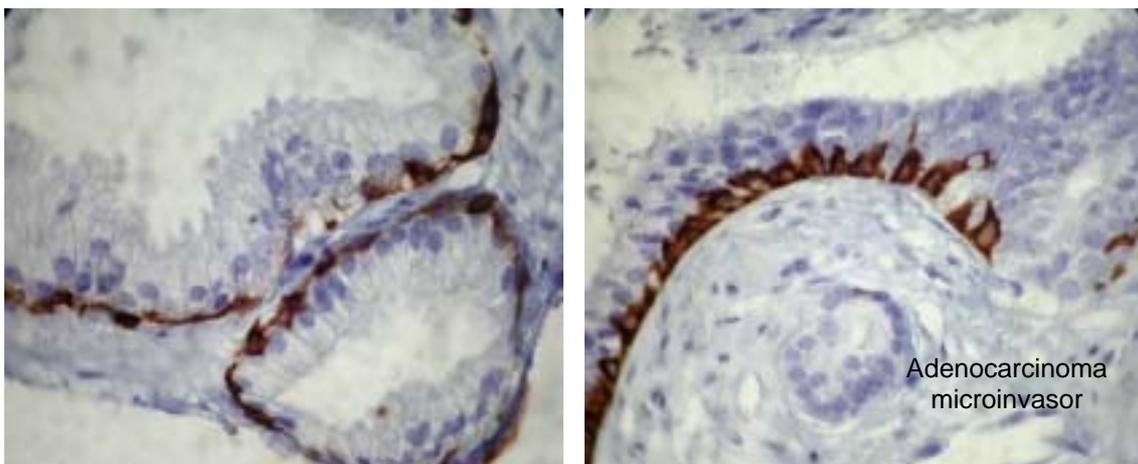


Figura 6- Estadificación del cáncer de próstata. La mayoría de los cánceres se desarrollan en la zona periférica. Cuando son de tamaño suficientemente grande son palpables y pertenecen al estadio T2. En el estadio T3 se evidencia invasión de la cápsula prostática, y por último, en el estadio T4 se observa invasión de las vesículas seminales y de otras estructuras adyacentes.

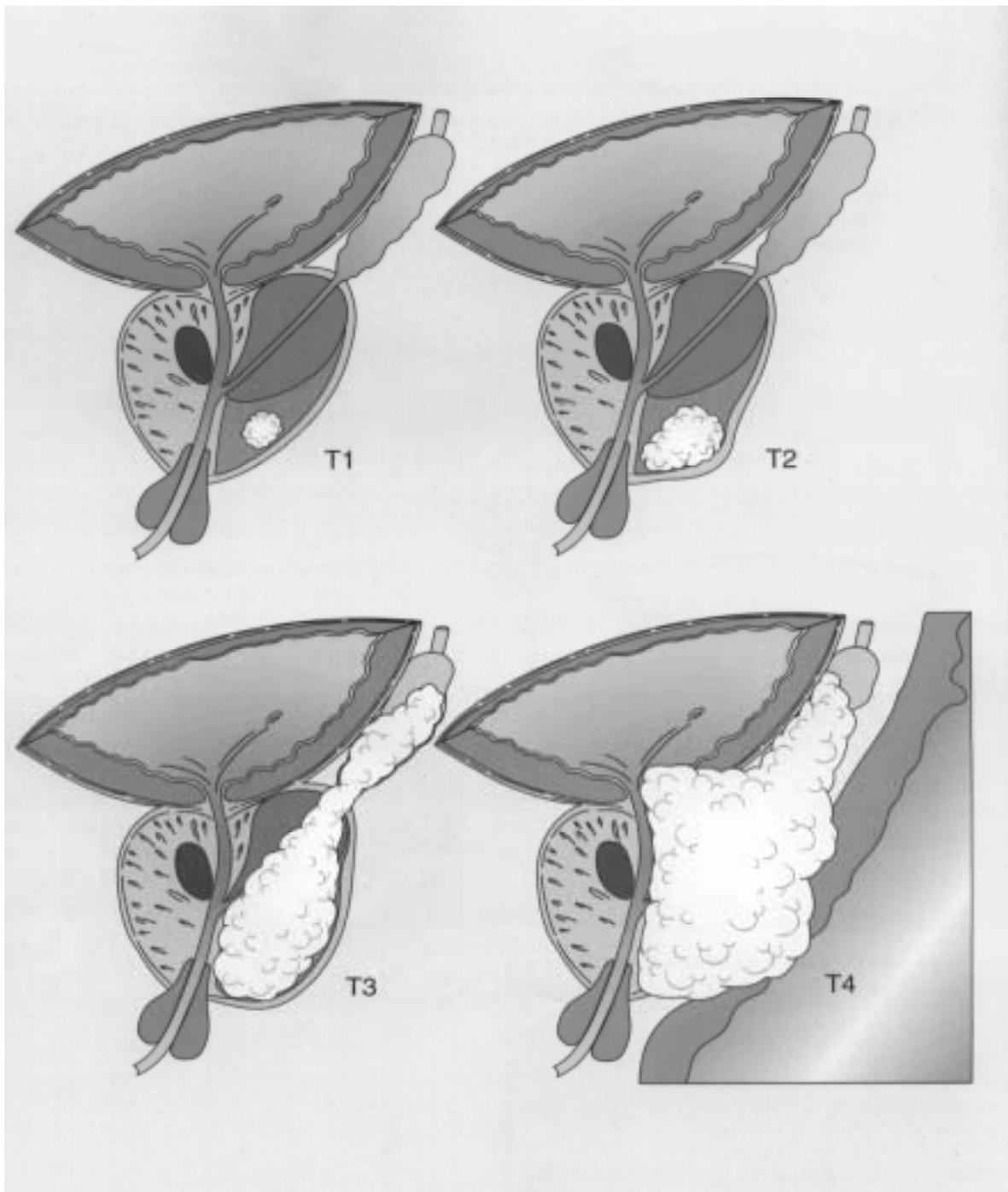


Figura 7- El carcinoma prostático incidental se diagnostica en muestras procedentes de resección transuretral prostática (RTU). En el estadio T1a el carcinoma suele ser bien diferenciado y afecta menos del 5% del material resecado, suele tener buen pronóstico. En el estadio T1b el carcinoma suele ser de moderado a mal diferenciado, afectando a más del 5% del material resecado. Estas lesiones están asociadas a un peor pronóstico y a una alta probabilidad de cáncer residual después de la resección que requiere una terapia posterior. Por último, en el estadio T1c se realiza el diagnóstico por biopsia prostática aleatoria tras marcadores elevados.

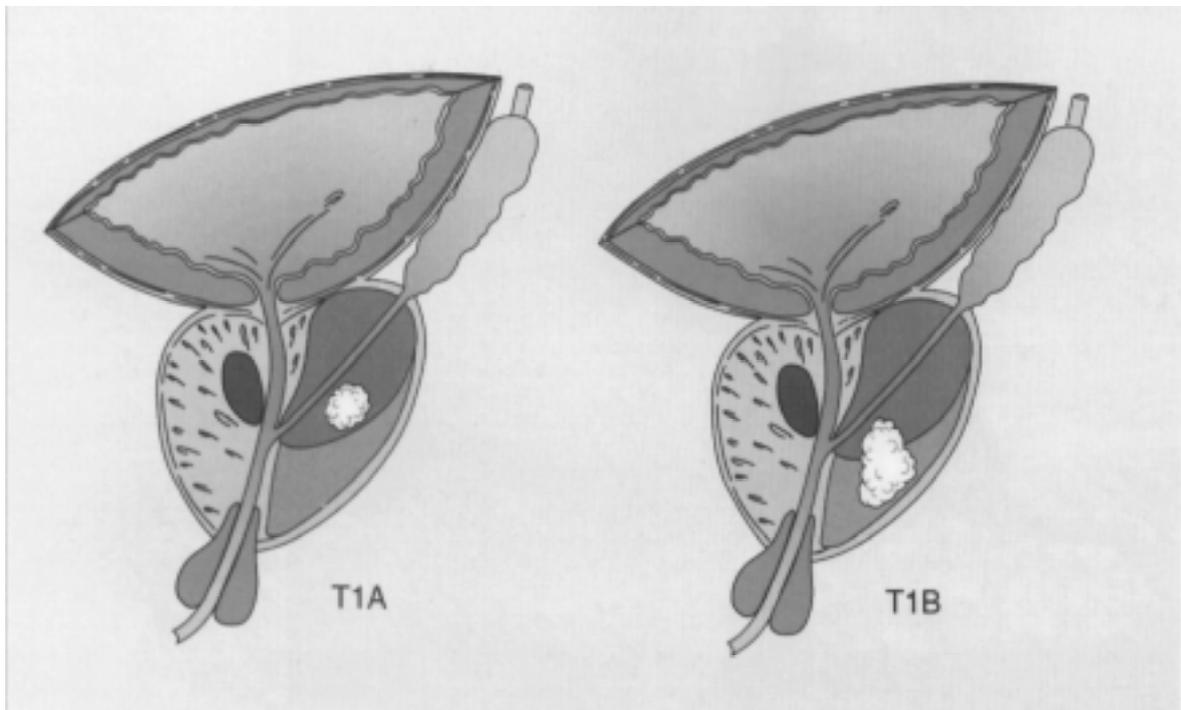


Figura 8- La mayoría de carcinomas prostáticos se desarrollan en la zona periférica y posterior de la glándula prostática. Este hecho favorece la diseminación de las células tumorales hacia tejidos extraglandulares a través de las venas y vasos linfáticos que acompañan los plexos neurovasculares de Walsh.

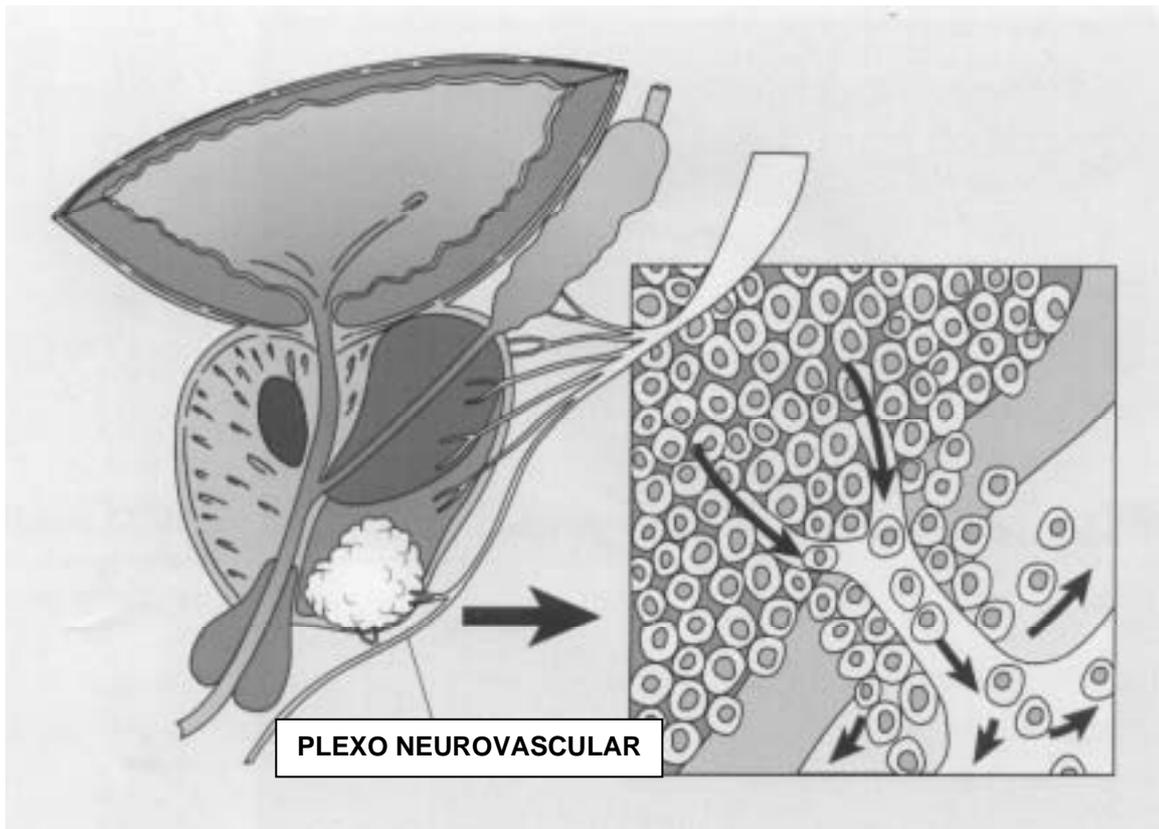


Figura 9- El cáncer prostático metastatiza preferentemente en los ganglios linfáticos de la fosa obturatriz, en los pulmones, y en los huesos, principalmente en la columna vertebral a nivel dorso-lumbar y en la pelvis.

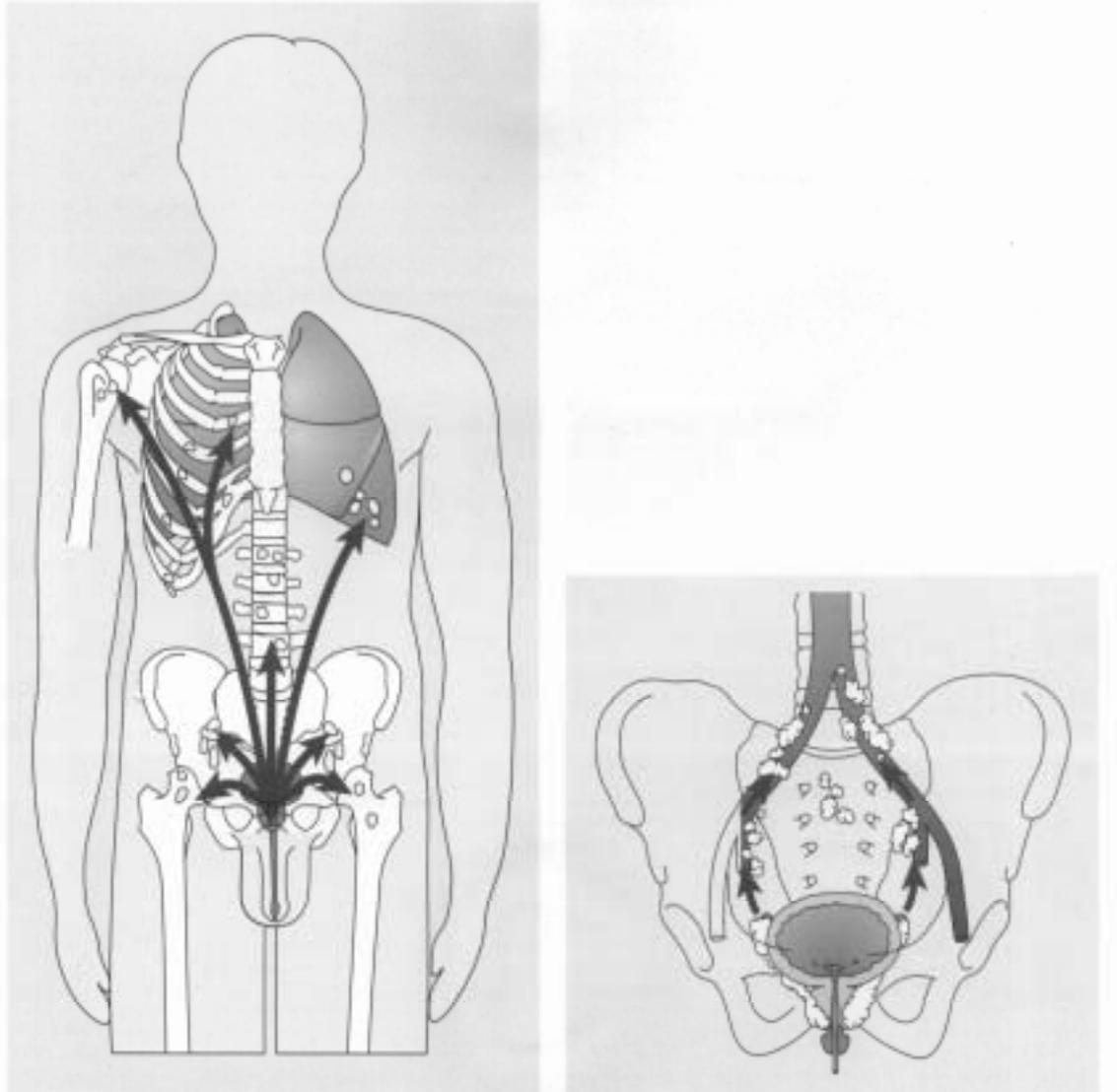


Figura 10- Esquema representativo del Sistema de gradación de Gleason para el adenocarcinoma de próstata.

(Modificado de Gleason DF, 1977).

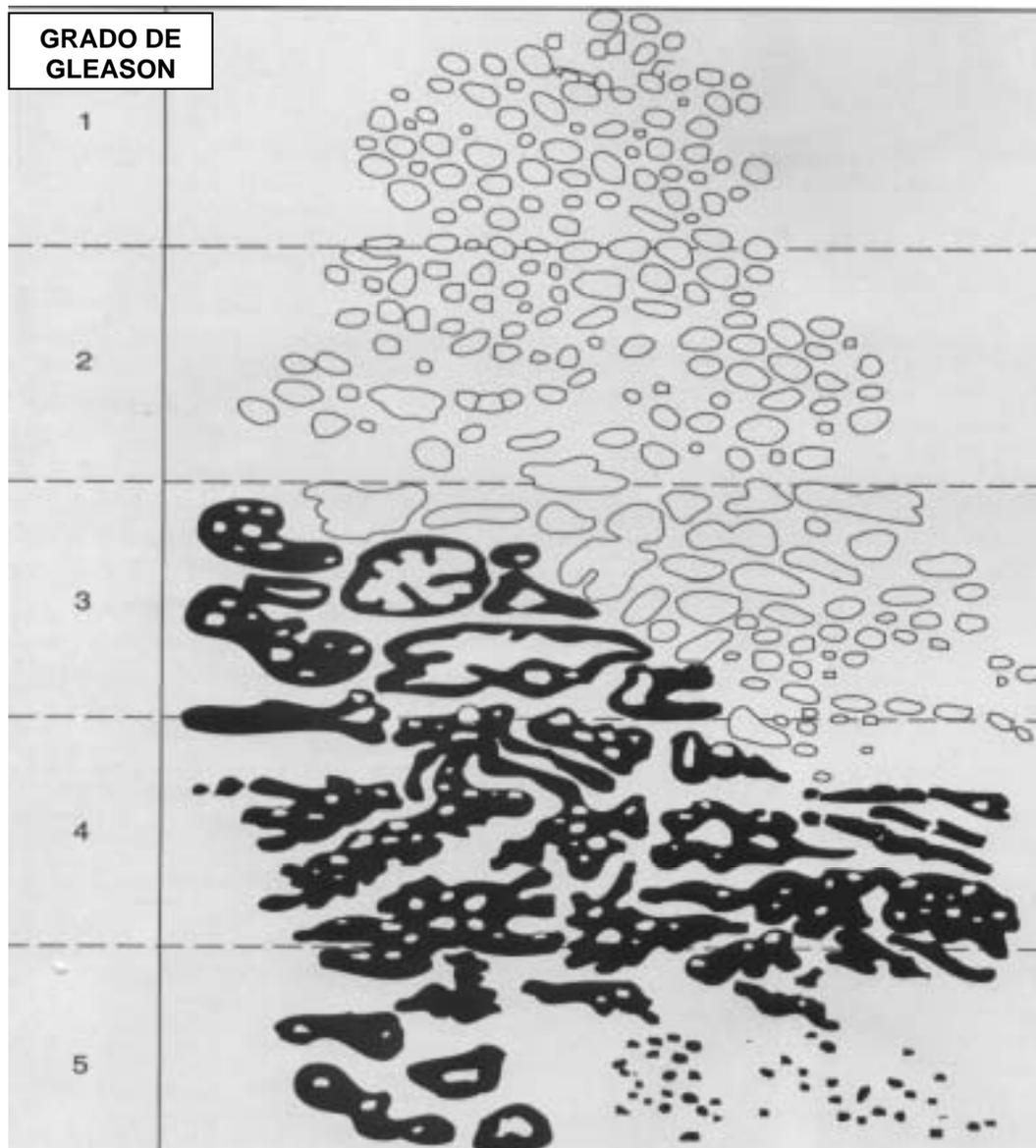


Figura 11. Estructura de VEGF. Existen cuatro isoformas de 121, 165, 189 y 206 aminoácidos que se generan por mecanismos de *splicing* alternativo.

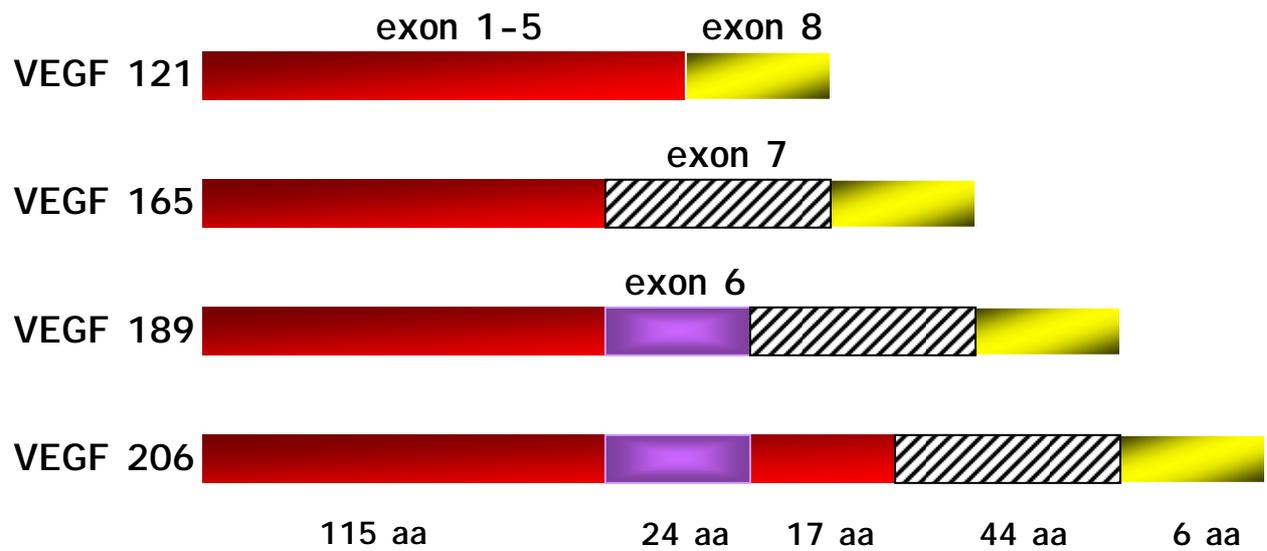


Figura 12- Representación esquemática de las estructuras moleculares de FGF2 y del receptor prototipo de FGF2. FGF2 consiste en un promotor y tres exones que tienen intercalados dos intrones. El receptor FGF2 muestra tres dominios inmunoglobulínicos extracelulares, uno transmembrana y dos dominios intracelulares con actividad tirosín quinasa. Nótese que el sitio de unión para el ligando está situado entre el dominio inmunoglobulínico 2 y 3.

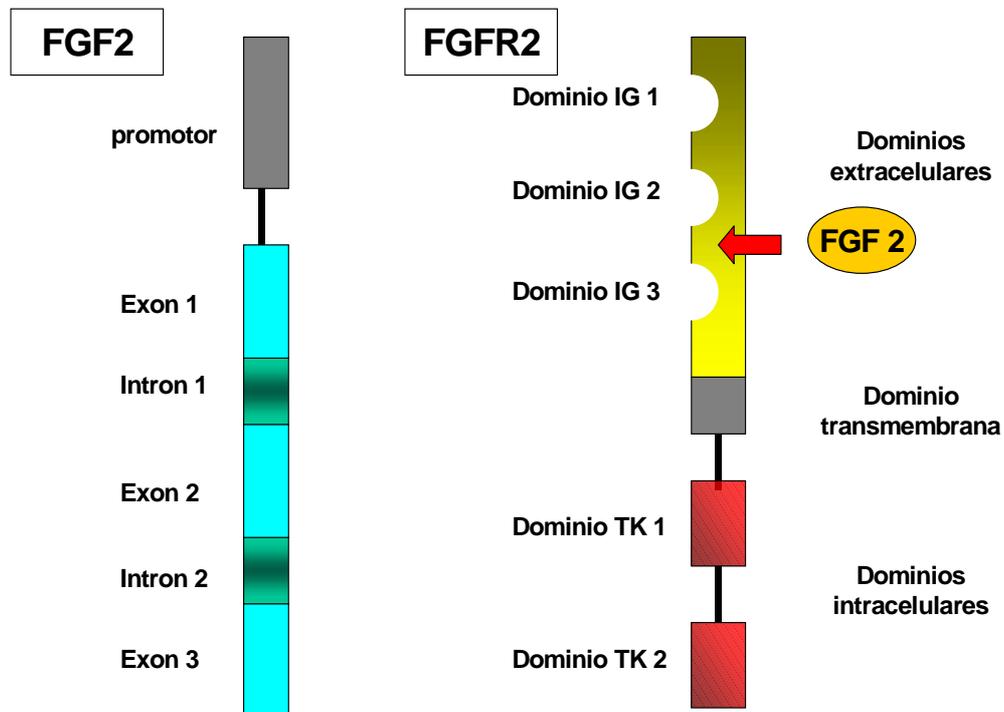


Figura 13- Efecto del FGF2 sobre las células endoteliales. **A**, El FGF2 se une a los proteoglicanos tipo heparansulfato (PGHS) en la superficie celular o en la matriz extracelular, o se une directamente a el receptor (FGFR). **B**, La unión de FGF2 a los proteoglicanos induce su dimerización. **C**, Cada uno de los miembros del dímero de FGF2 se une a su receptor, provocando su dimerización y activación. La activación del receptor conduce a la fosforilación de FRS2 y SHC. FRS2 fosforilado produce el reclutamiento de grb-2, causando la activación de la vía *ras*. Finalmente se produce una replicación del ADN, estimulación de la proliferación celular, y aumento de la expresión de activadores del plasminógeno (PA) y de metaloproteasas de la matriz (MMPs). El activador del plasminógeno convierte el plasminógeno en plasmina, que a su vez activa las pro-metaloproteasas. La plasmina y las metaloproteasas degradan la membrana basal y la matriz extracelular, permitiendo a las células endoteliales la invasión de los tejidos.

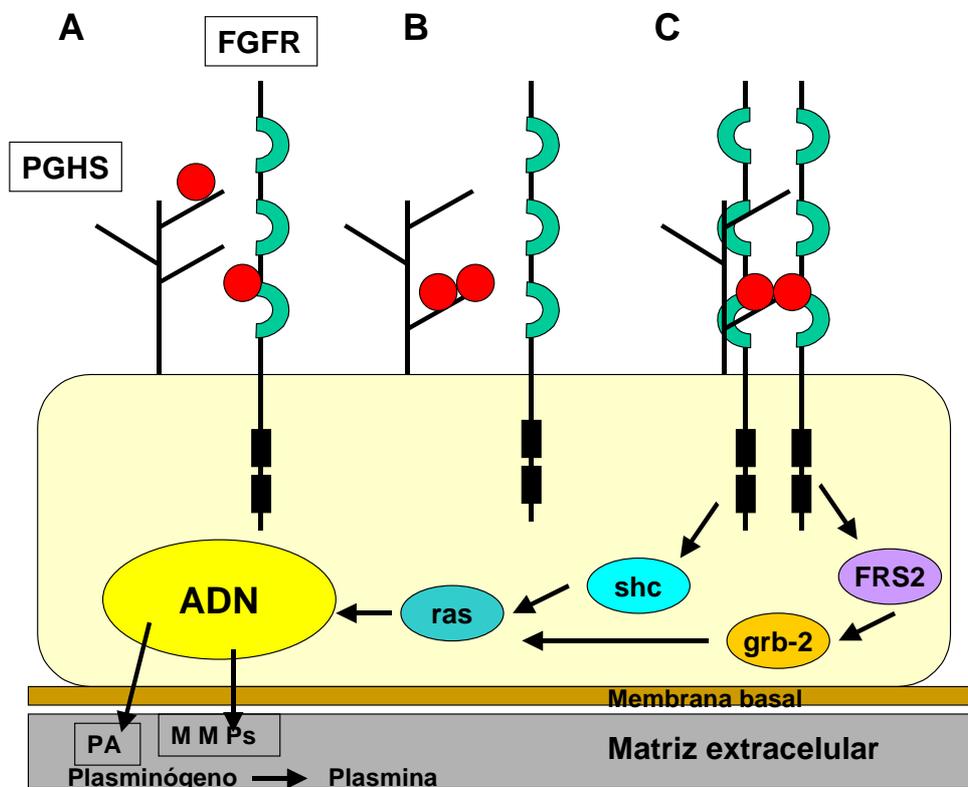


Figura 14 – Representación esquemática de la microestructura de la próstata. Consiste en células epiteliales secretoras, células basales rodeadas de membrana basal, y un componente estromal formado por fibroblastos, células musculares lisas y una rica red de capilares que descansan en la matriz extracelular. El bFGF secretado por los fibroblastos actúa de forma paracrina en todos los componentes celulares, y sobre los propios fibroblastos de forma autocrina.

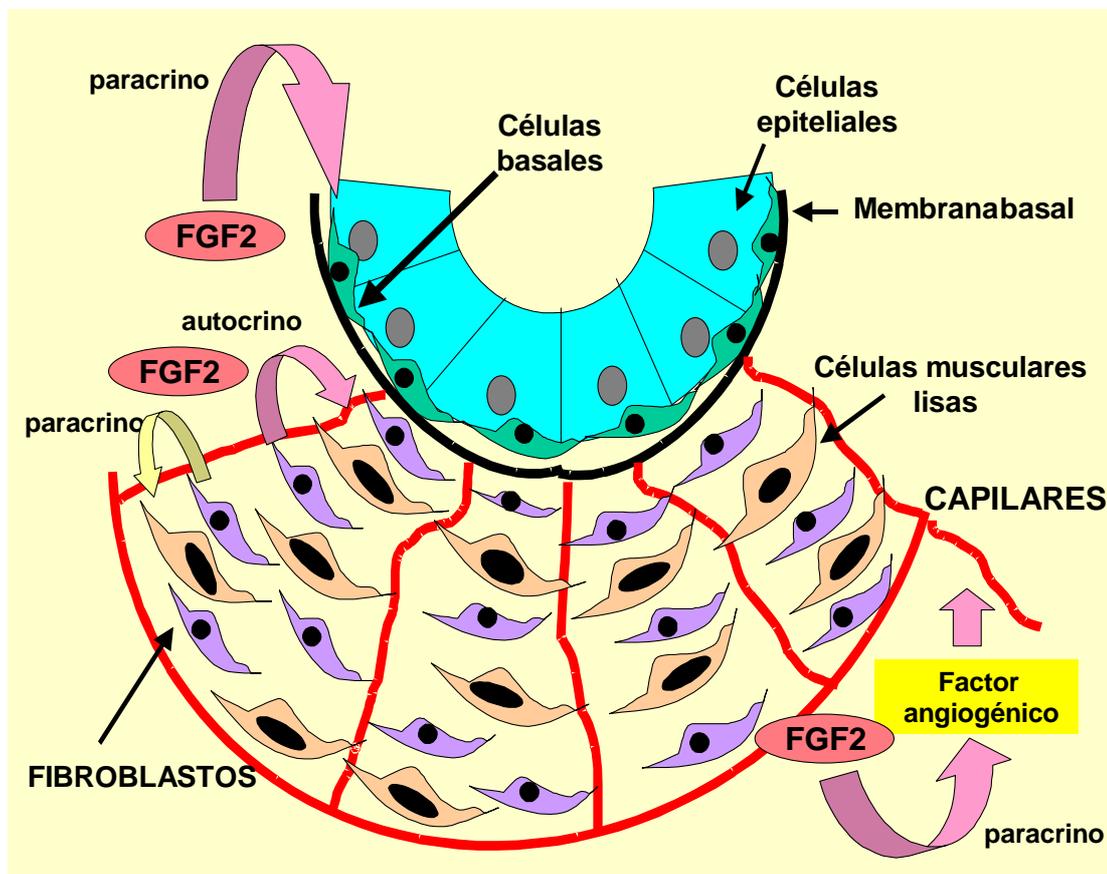


Figura 15- Los receptores VEGF muestra distintas afinidades con los diferentes tipos del factor de crecimiento vascular. Así, VEGFR-1 (Flt-1) se une a VEGF, VEGF-B y a PlGF, mientras que VEGFR-2 (Flk-1/KDR) se une a VEGF y a VEGF-C. Por último, VEGFR-3 (Flt-4) que se expresa principalmente en los vasos linfáticos, se une a VEGF-C y a VEGF-D.

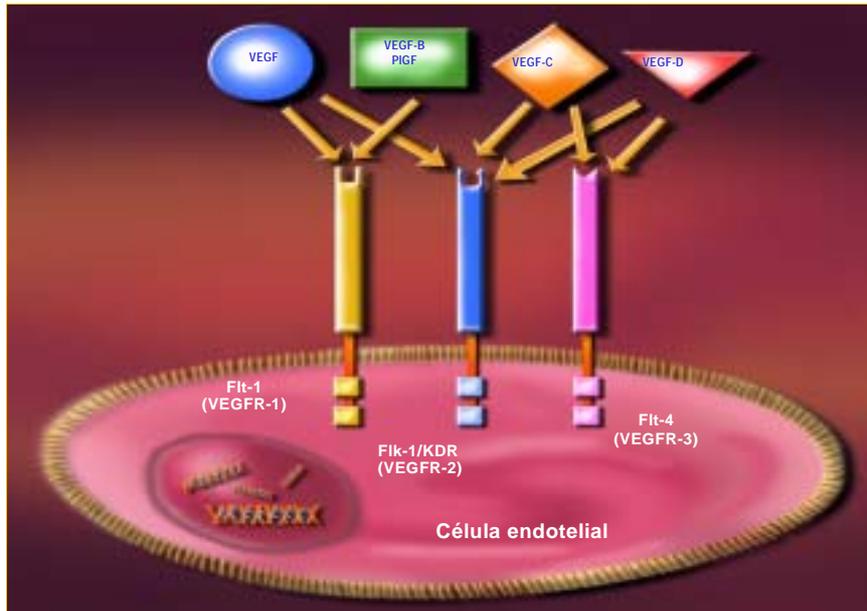


Figura 16. Estructura del receptor FLK/KDR. Existen tres dominios en el receptor: uno extracelular, constituido por siete *loops* inmunoglobulínicos que sirven de unión al ligando, un dominio transmembrana, y un dominio intracelular o citoplasmático con actividad tirosín-quinasa, que inicia y genera una cascada de señales intracelulares mediante fosforilización, que modifica la expresión de genes en la célula.

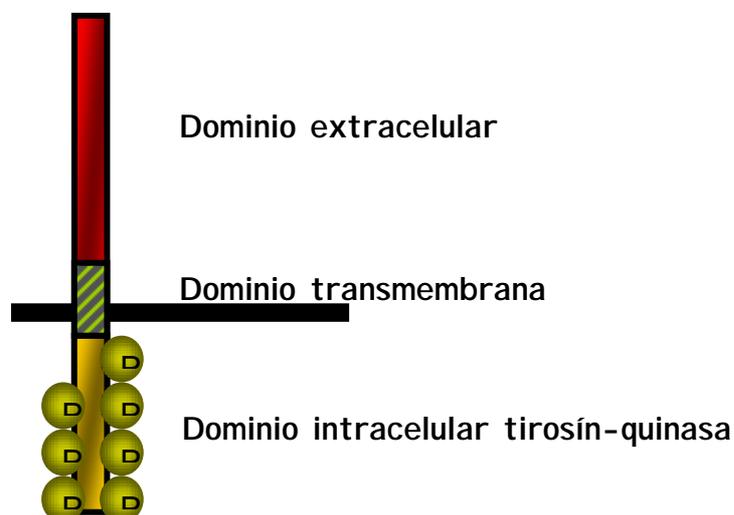


Figura 17- VEGF forma homo- y heterodímeros con otros factores angiogénicos, que se unen principalmente a FLK/KDR, que también se encuentra en forma de homodímeros, produciéndose la autofosforilación del receptor y la activación de una cascada de señales intracelulares en las que interviene decisivamente la *Mitogen Activated Protein Kinase (MAPK)*, produciéndose a nivel nuclear cambios en la expresión génica de la célula endotelial, que estimulan la proliferación y diferenciación celular, la síntesis de enzimas degradativos de la matriz extracelular, y una mejor supervivencia celular.

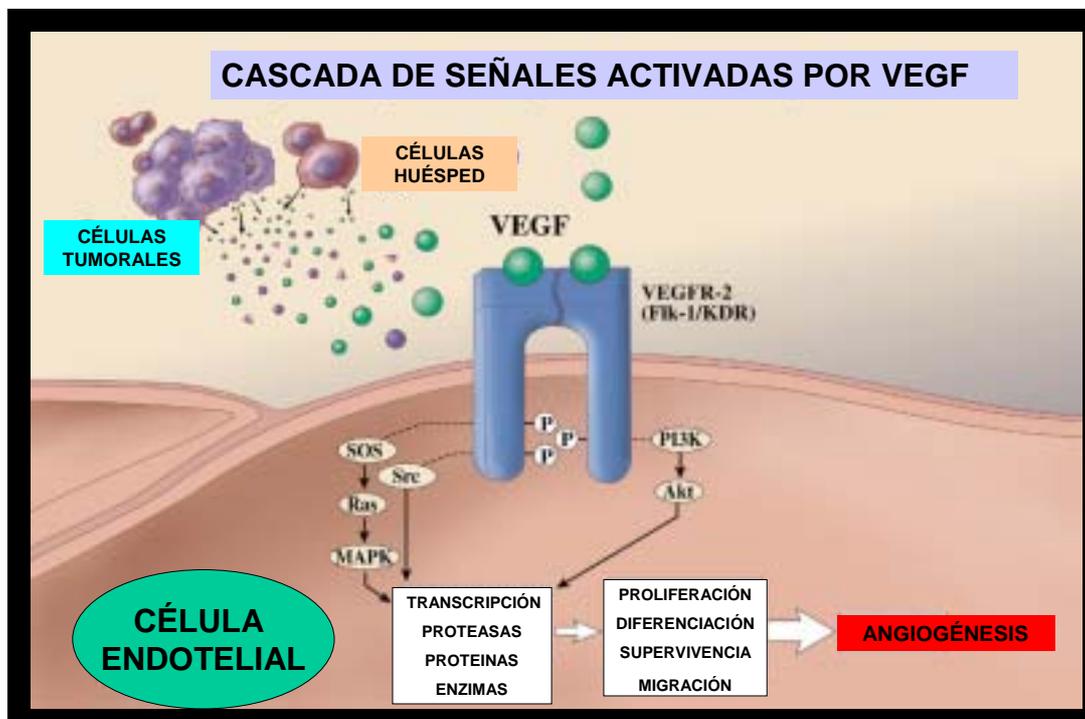


Figura 18- Las células tumorales sintetizan factores angiogénicos, principalmente VEGF, que actúan sobre receptores endoteliales con funciones paracrinias. Se producen cambios en la expresión génica de las células endoteliales con aumento de la proliferación celular , estimulando la migración y invasión del endotelio en la angiogénesis tumoral.

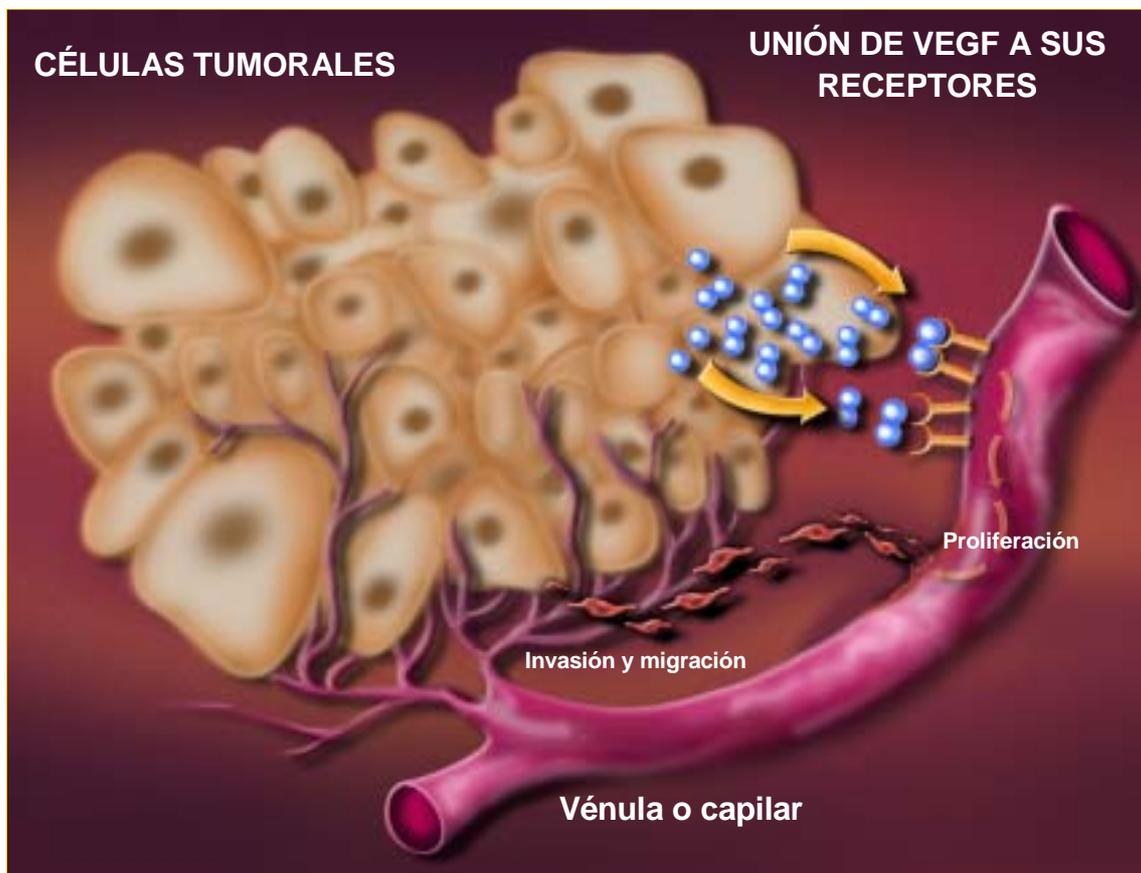


Figura 19. Representación esquemática del proceso de formación vascular. El proceso incluye la vasculogénesis, (A), el remodelamiento vascular (B), estabilización y maduración de los vasos neoformados (C), desestabilización (D), regresión (E), y gemación vascular (F). Los factores de crecimiento vascular han sido asignados a las diversas fases, indicando su patrón de expresión.

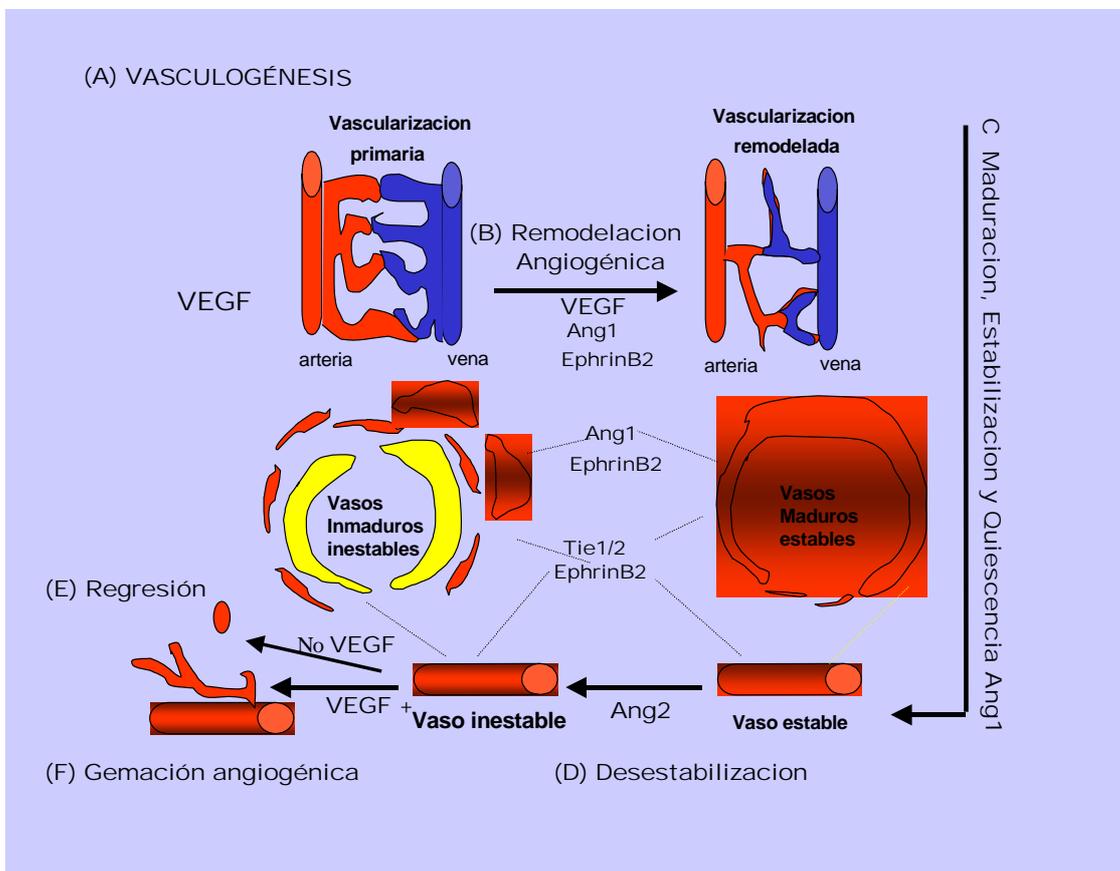


Figura 21- El proceso de angiogénesis tumoral se inicia por la producción de factores angiogénicos liberados por las células tumorales y en la respuesta inflamatoria (A). Estos factores angiogénicos actúan sobre receptores de las células endoteliales, induciendo su proliferación, migración y aumento de la permeabilidad vascular (B).

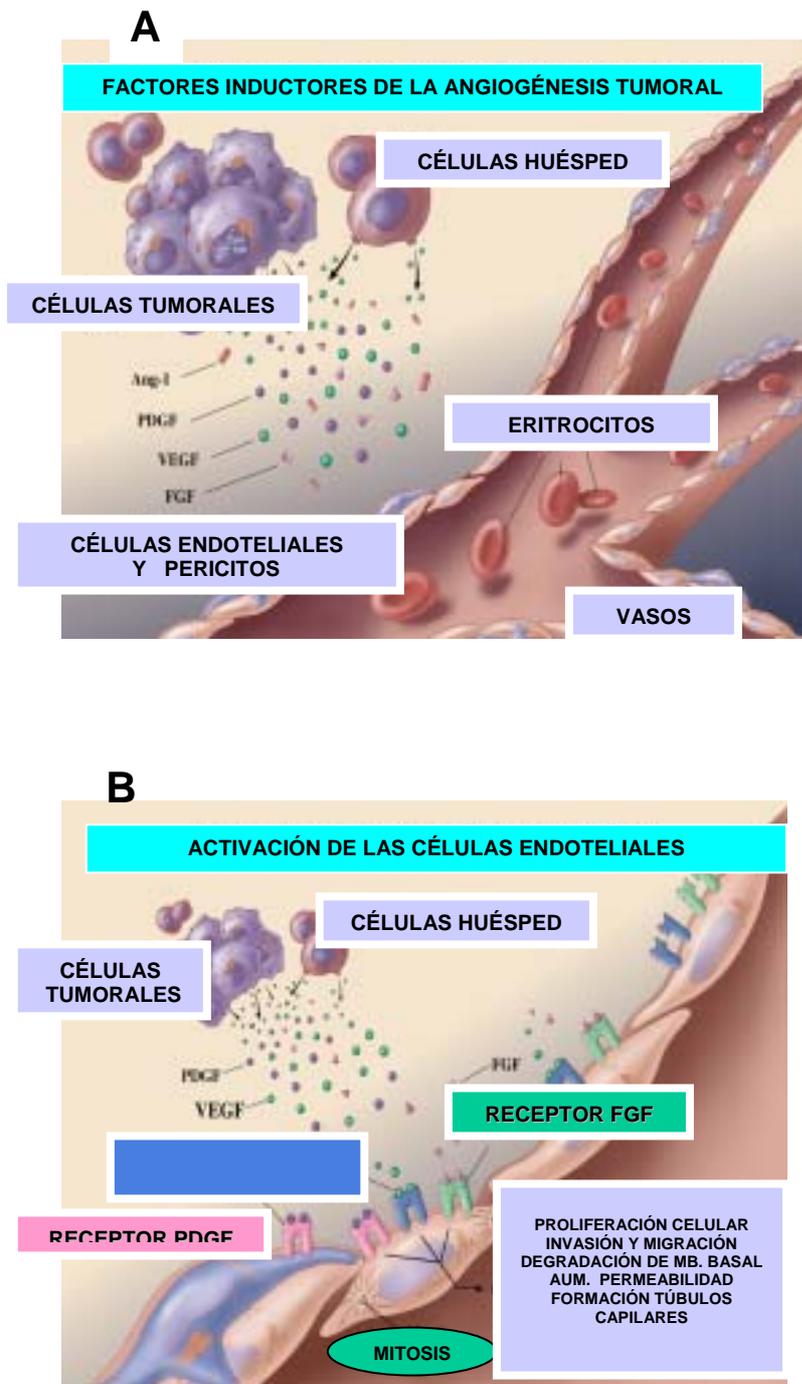


Figura 21- A continuación, se produce una degradación de la matriz extracelular y migración del endotelio por quimiotaxis (C). Finalmente, los vasos neoformados se estabilizan recubriéndose de células de soporte (D).

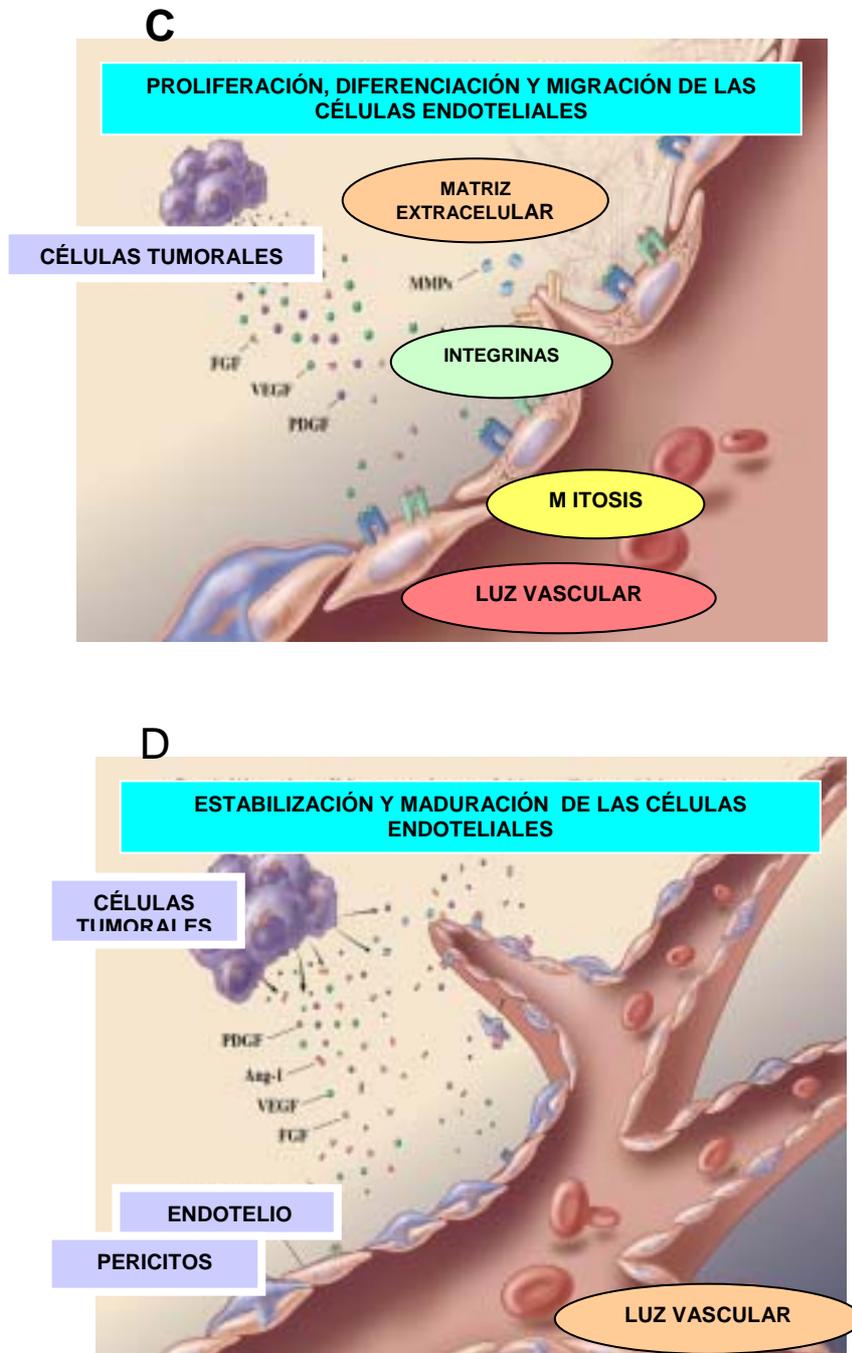


Figura 21- En ausencia de factores tróficos que estimulen la supervivencia celular se produce una regresión de los vasos neoformados por mecanismos de apoptosis (E). Los principales factores que contribuyen a dicha supervivencia son VEGF, Angiopoietina 1 y las Integrinas.

E

SUPERVIVENCIA DE LAS CÉLULAS ENDOTELIALES

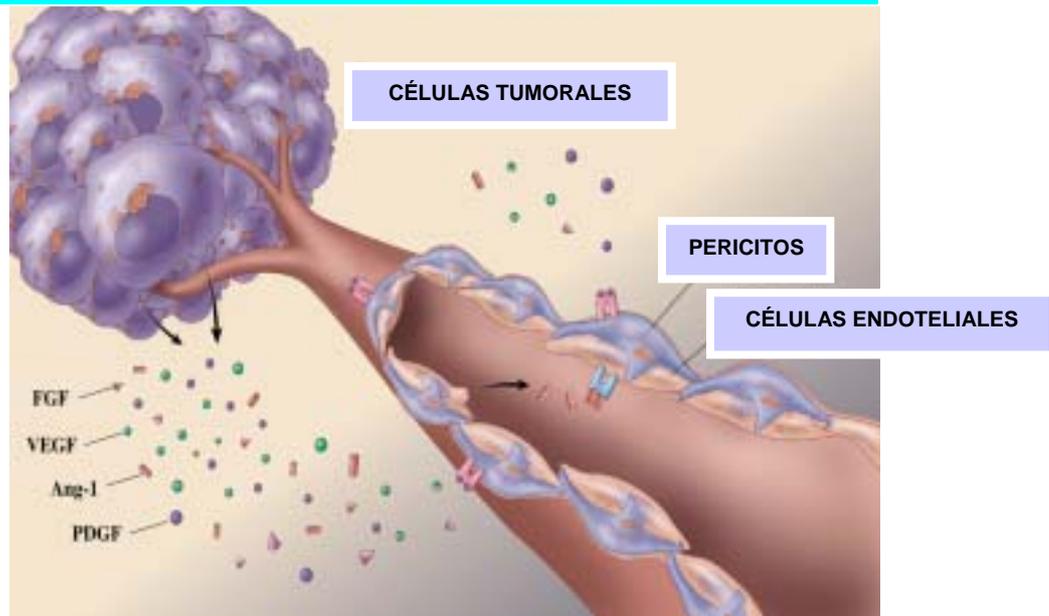


Figura 24- Representación de una sección transversal prostática que muestra la distribución de los principales vasos (*Adaptado de Glegg y col., 1956*).

C : Próstata central.

D : Conductos eyaculadores y utrículo prostático.

P : Próstata periférica.

U : Uretra.

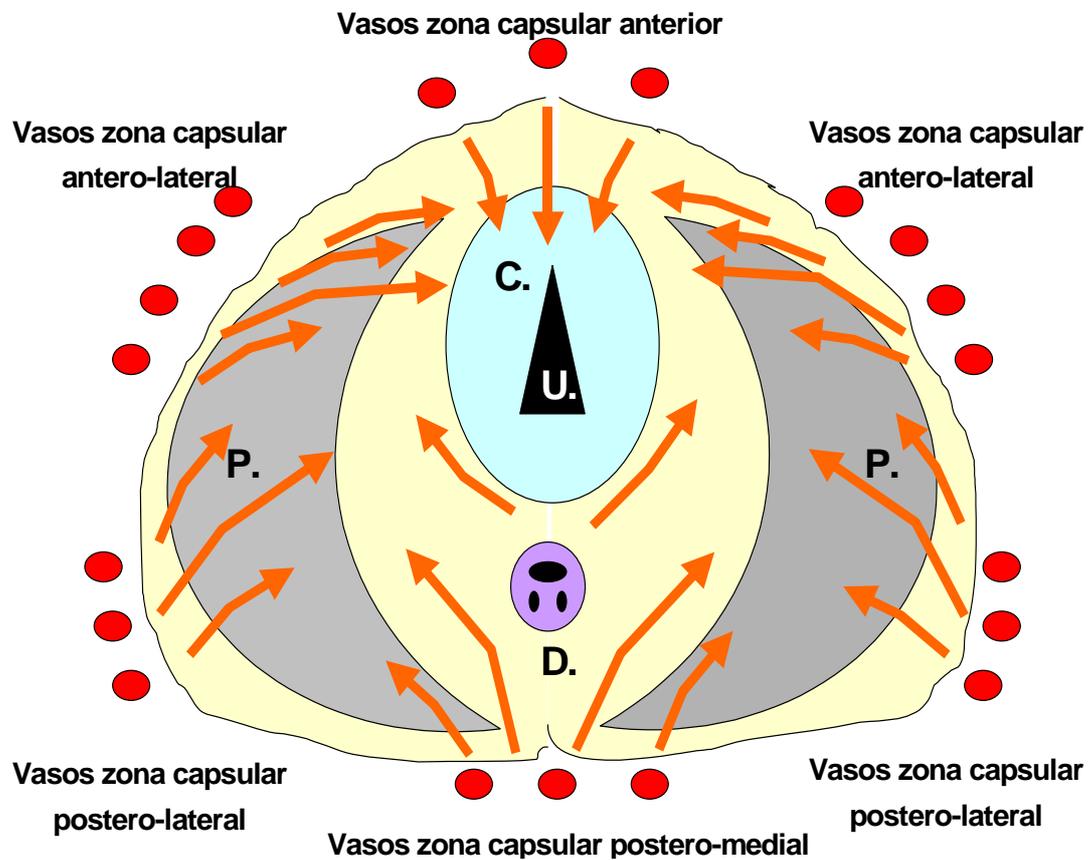


Figura 25. Rejilla tipo Chalkley para conteo de puntos (Olympus 250X, *Chalkley grid area* 0,196 mm²) . La rejilla presenta 4 cuadrantes con 25 puntos distribuidos aleatoriamente, que se coloca sobre el ocular. Mediante un movimiento de rotación se hacen coincidir el máximo de puntos con los vasos marcados con CD.34 y se realiza un conteo.

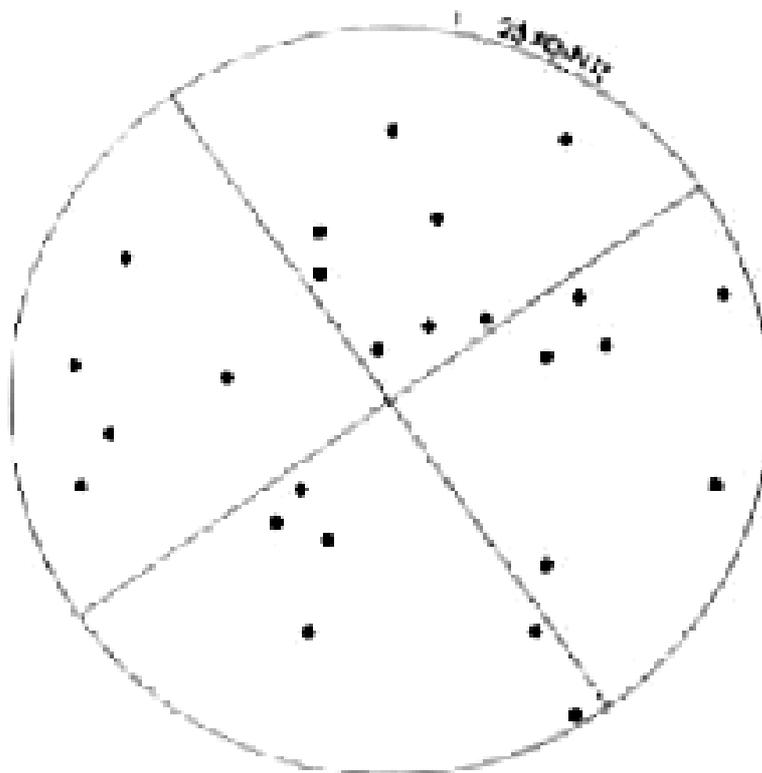


Figura 26- Localización del *Hot spot* en el adenocarcinoma de próstata. Junto a la zona de HGPIN se observa una infiltración por carcinoma, destacando una rica red vascular puesta de manifiesto con anti-CD34, que se expresa en las células endoteliales de los vasos. A mayor aumento, detalle de la inmunotinción (DAB anti-CD34, x100, x400).

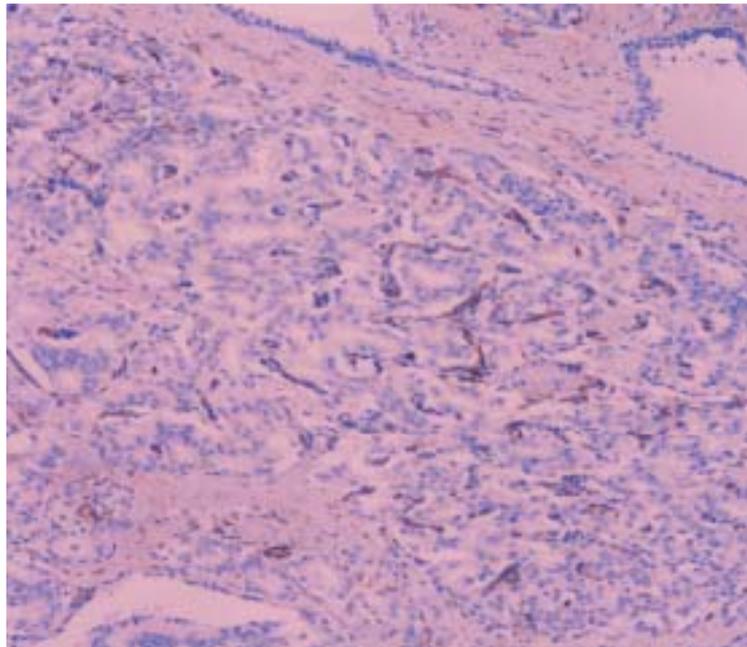
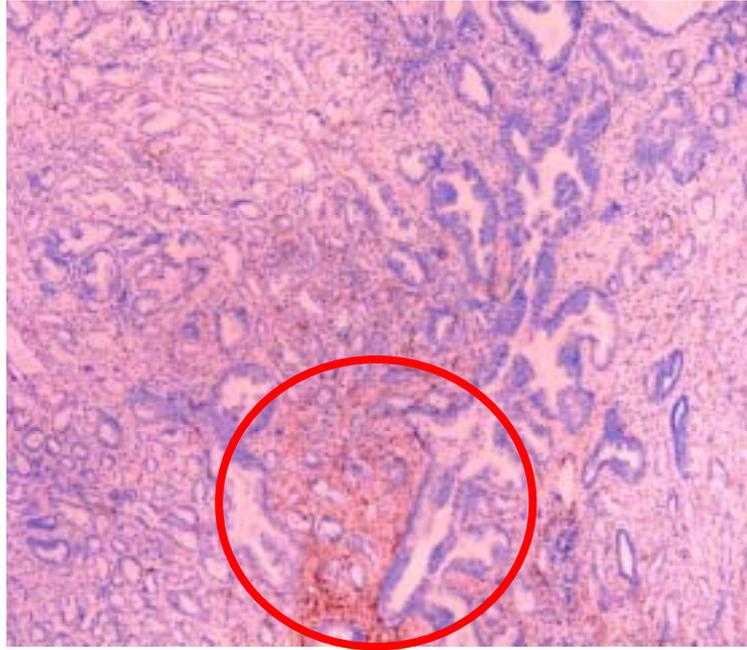


Figura 27- Red vascular en la glándula periférica normal. Se observan escasas estructuras vasculares que se distribuyen de forma ordenada en el estroma interglandular y a nivel periglandular (DAB CD34, x40).

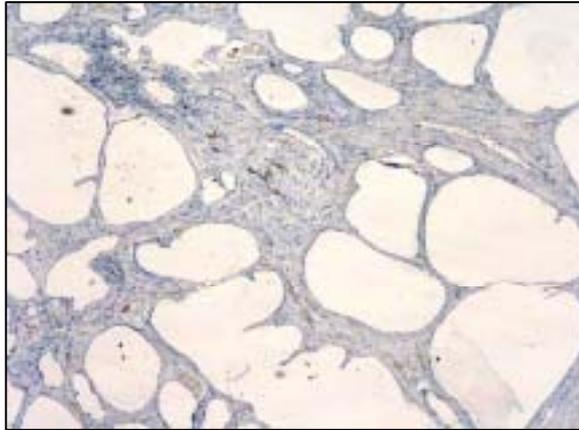


Figura 28- En el PIN de alto grado la densidad vascular es mayor, pero los vasos conservan una distribución periglandular ordenada (DAB CD34, x40).

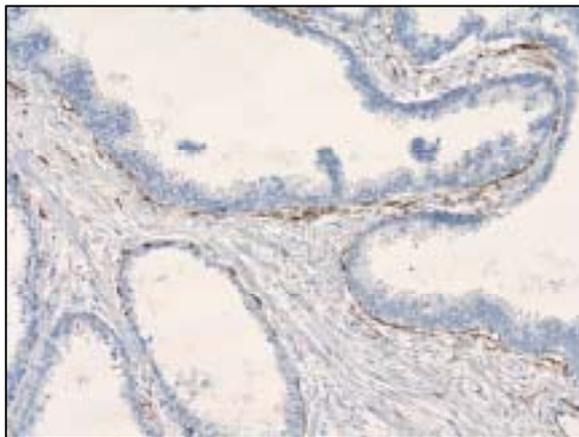


Figura 29- En el adenocarcinoma prostático la densidad vascular es máxima, con desorganización en la distribución capilar y formas aberrantes que se distribuyen en el estroma desmoplásico (DAB CD34, x40).

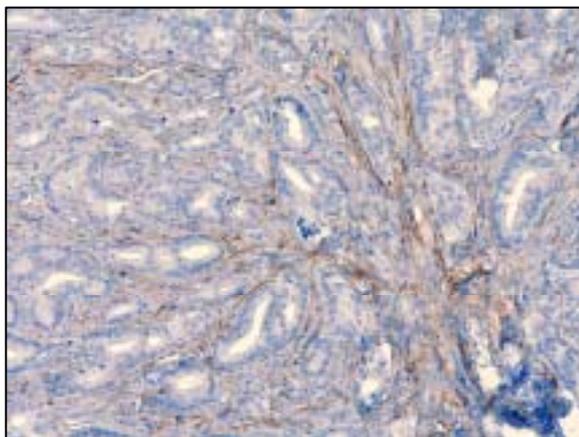


Figura 30- La densidad vascular tumoral fue variable en el adenocarcinoma prostático. En general se observó menor angiogénesis en los adenocarcinomas más bien diferenciados y aumentaba en los adenocarcinomas de alto grado de Gleason. En la primera imagen se observa un adenocarcinoma de bajo grado (Gleason 4) con baja densidad vascular, y debajo un adenocarcinoma moderadamente diferenciado (Gleason 7) con mayor densidad vascular (CD.34, DAB, X 400).

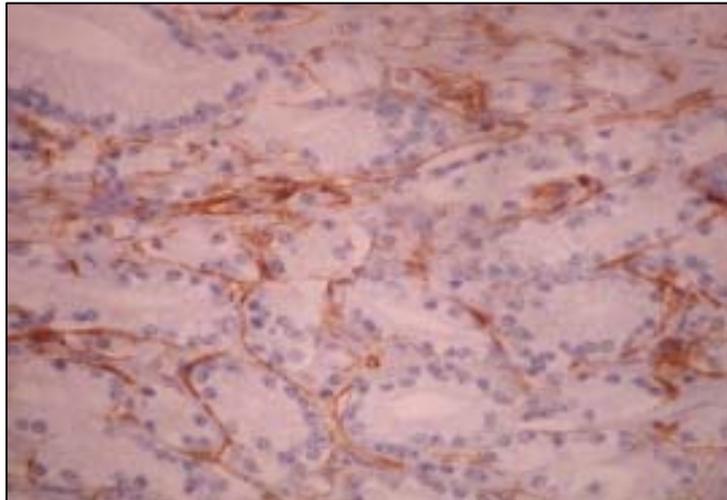
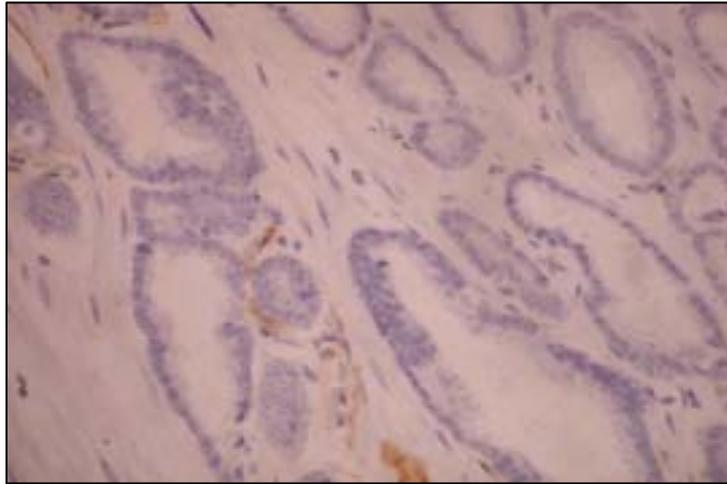


Figura 31- La neoplasia intraepitelial de alto grado también mostró una densidad vascular variable. En algunos casos la angiogénesis fue escasa, similar a la glándula normal; mientras que en otros aumentaba con valores parecidos al adenocarcinoma invasor (CD.34, DAB, X 400).

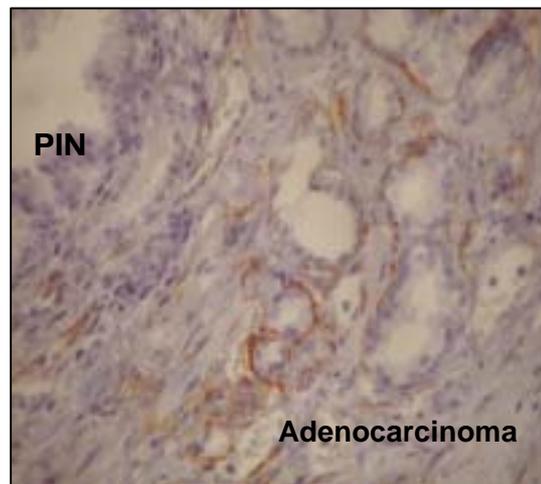
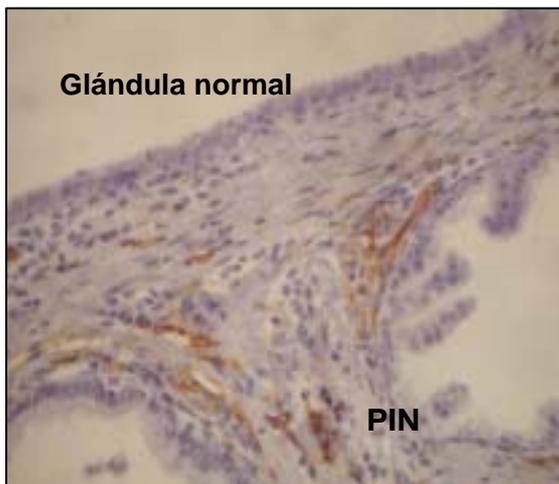
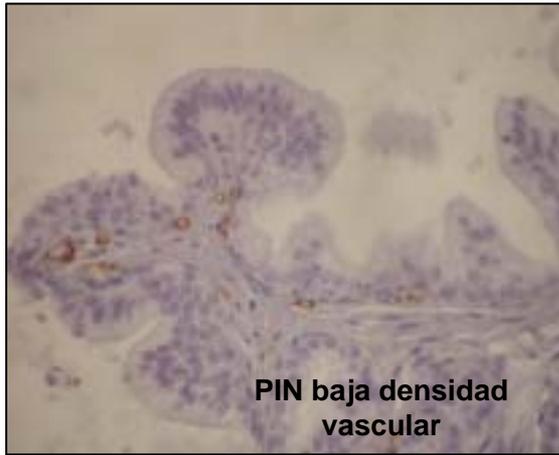


Figura 32- La proliferación celular en las zonas de adenocarcinoma oscilaba entre un mínimo de un 2% y un máximo de un 30% de la población tumoral. En la primera imagen se observa un adenocarcinoma de bajo grado con escasa proliferación celular; y debajo un aumento de la proliferación celular tumoral en los adenocarcinomas de mayor grado tumoral (Ki67-MIB-1, DAB, X 400).

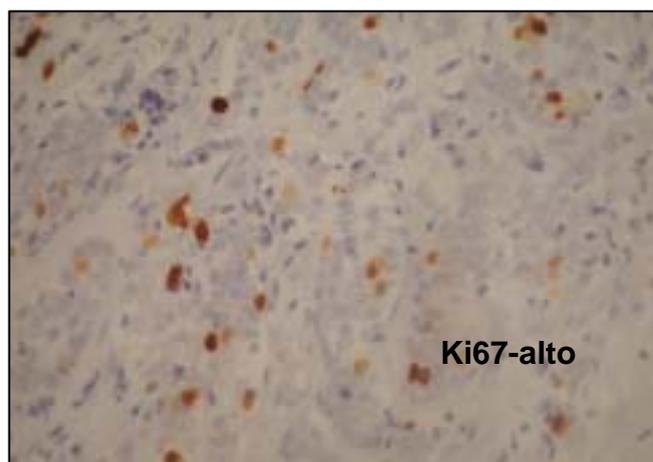
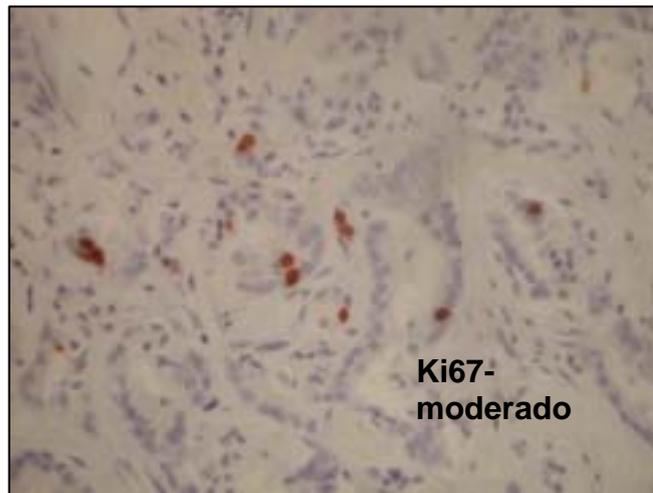
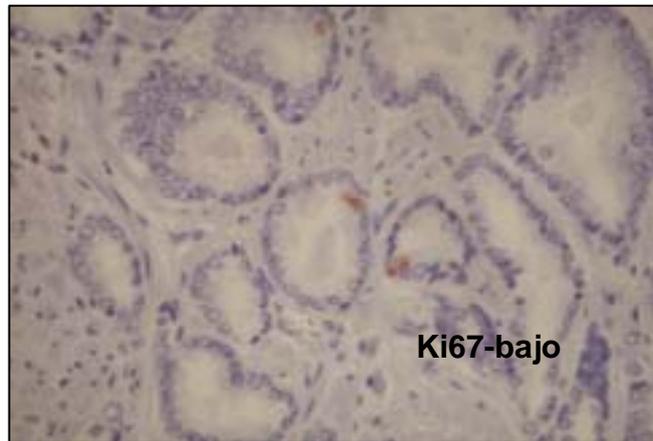


Figura 33- En la neoplasia intraepitelial de alto grado la proliferación celular fue variable, con glándulas que mostraban unos niveles de proliferación superiores al tejido normal, y otras con valores más cercanos a los observados en el adenocarcinoma (Ki67-MIB-1, DAB, X 400).

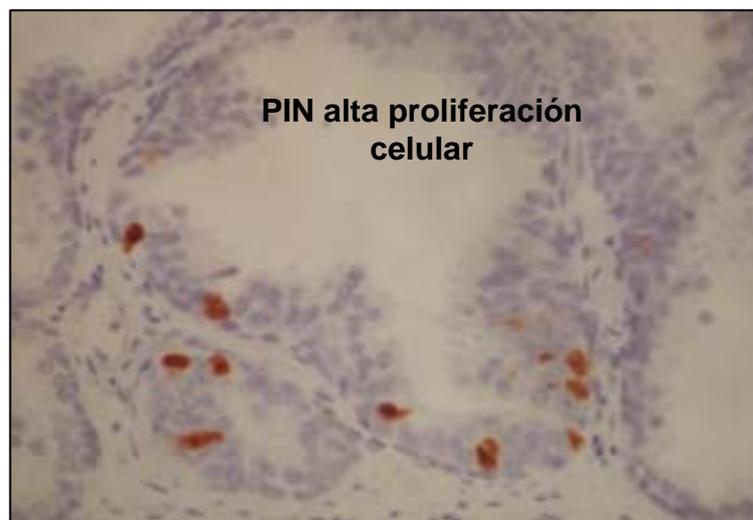
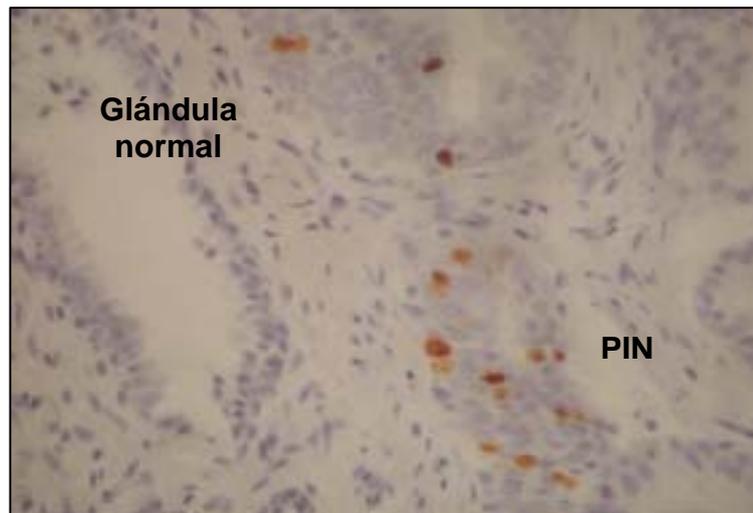


Figura 34- Se observa un incremento de la proliferación celular (Ki67-MIB 1) en el adenocarcinoma respecto al PIN de alto grado, observándose en el 75 % de los casos unos valores de Ki67 iguales o inferiores al 10 % (Ki67- MIB-1, DAB, x 400).

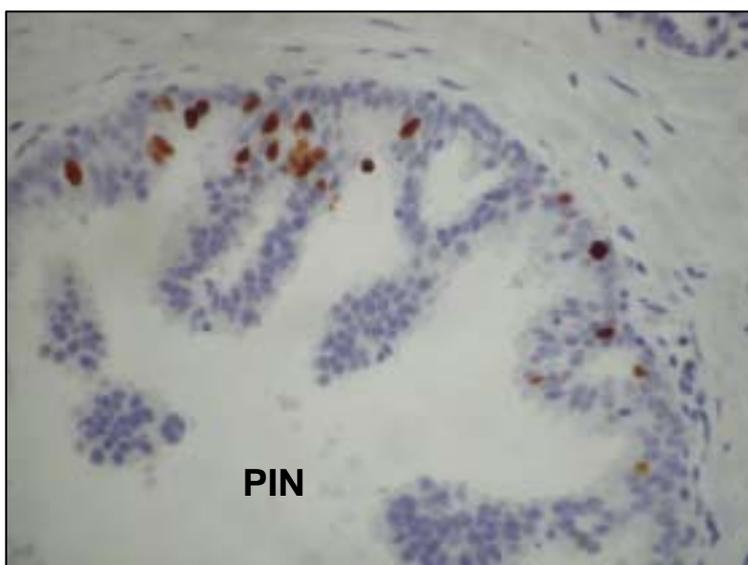
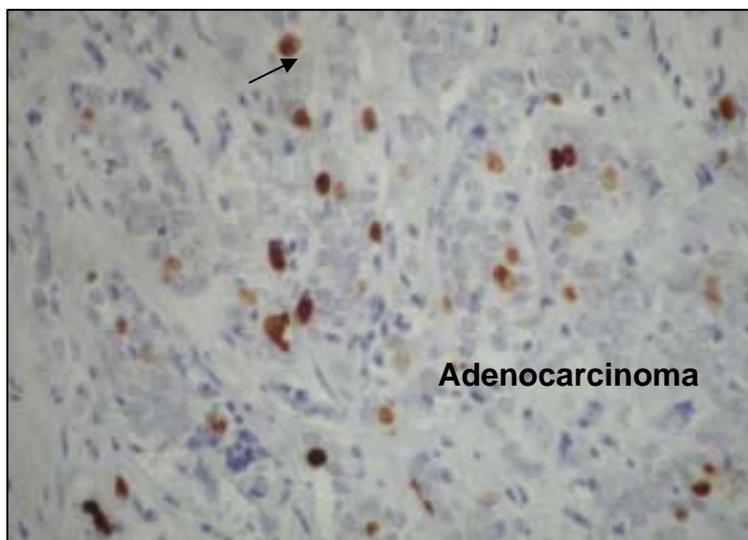


Figura 35- En la glándula normal la proliferación celular es escasa, y se observa fundamentalmente en las células basales. En el PIN de alto grado los niveles de proliferación aumentan extendiéndose al epitelio secretor (DAB MIB-1, X 400, X 1000).

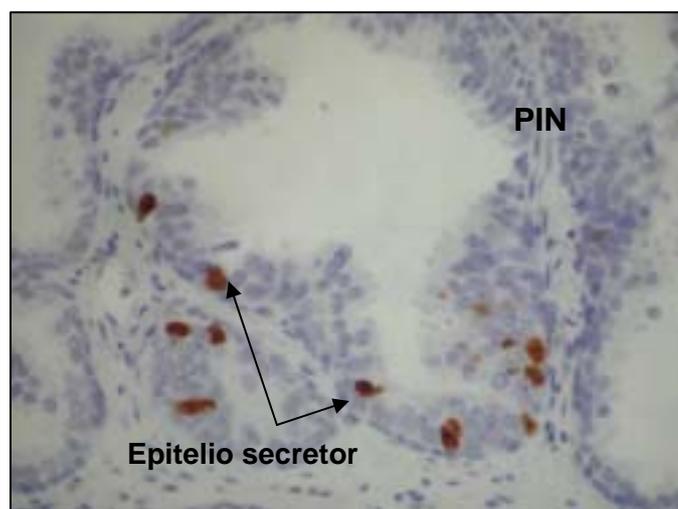
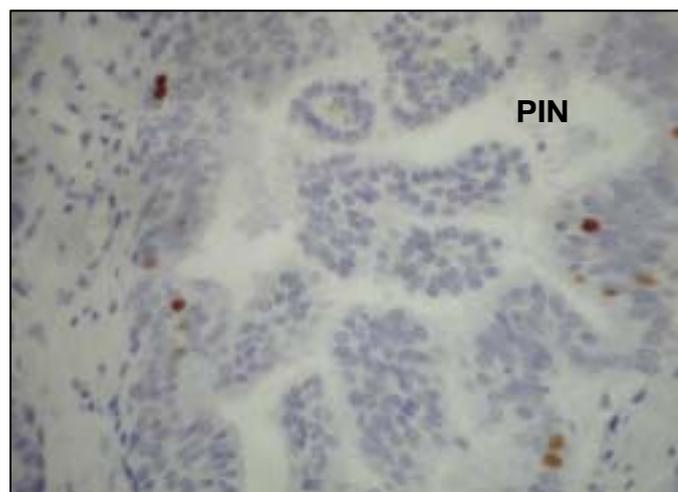
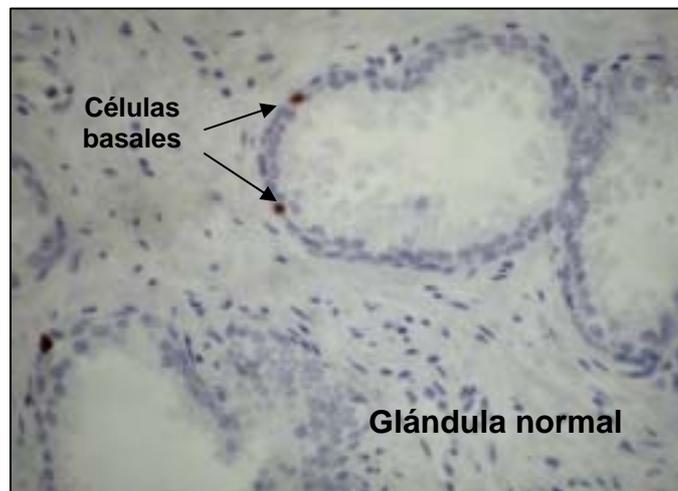


Figura 36- En el adenocarcinoma prostático la tinción para VEGF fue heterogénea, observándose casos débilmente positivos, y otros con tinción moderada o muy intensa. En todos los casos se observó tinción vascular más intensa alrededor del tumor (anti-VEGF, DAB, X10, X400).

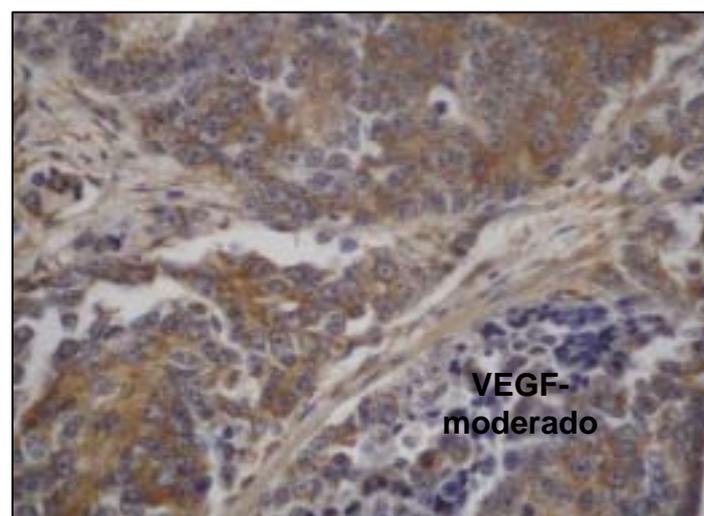
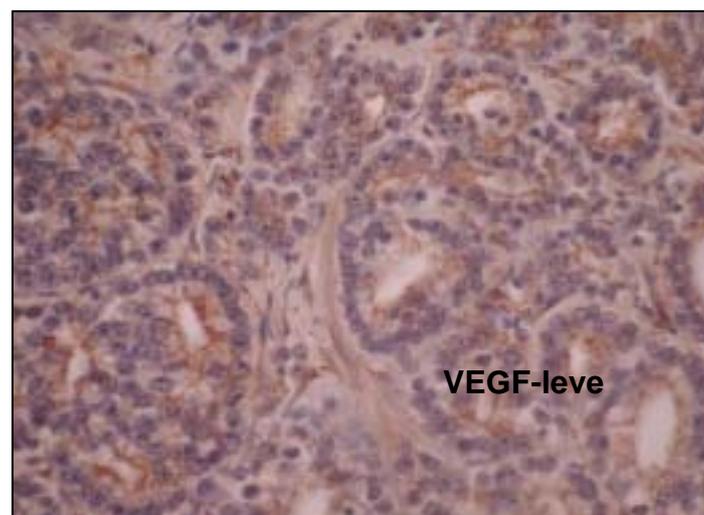
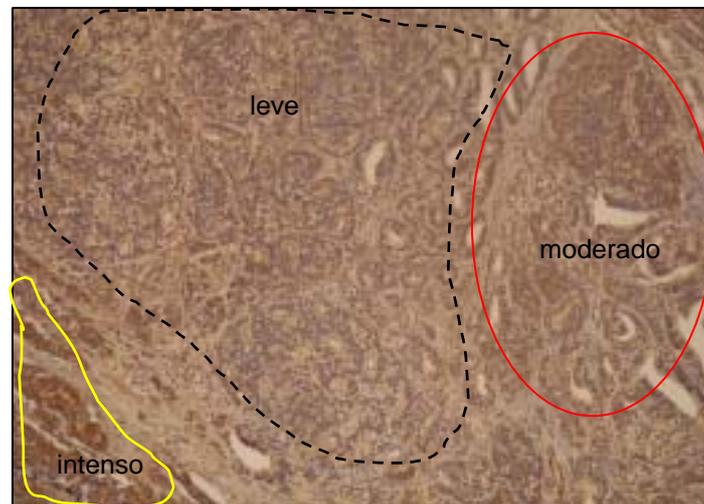


Figura 37- Expresión de VEGF en el adenocarcinoma prostático. Se observa una intensa inmunotinción de las células tumorales de distribución citoplasmática granular, con un refuerzo en la membrana apical (anti-VEGF, DAB, x400, x1000).

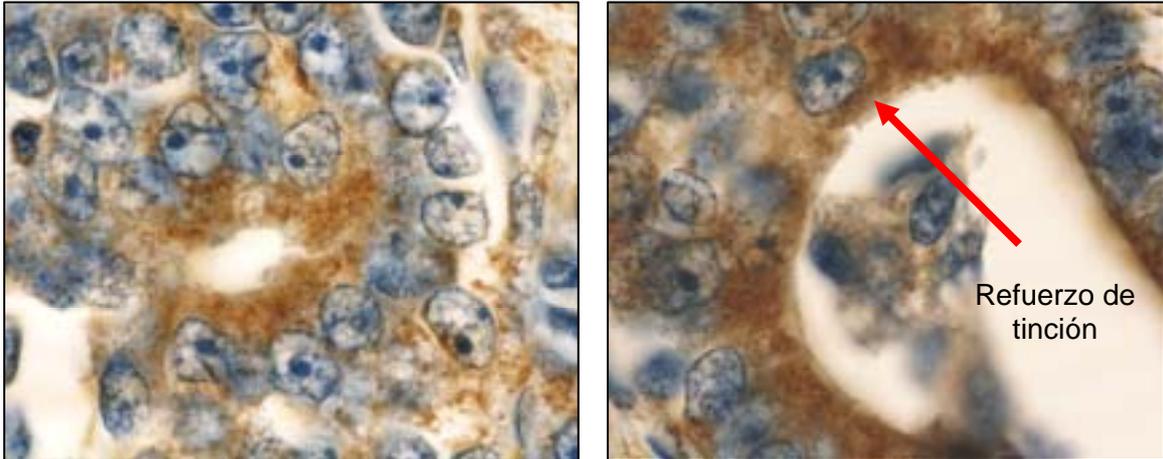


Figura 38- En la neoplasia intraepitelial de alto la tinción para VEGF fue variable, con casos débilmente positivos y otros con mayor inmunopositividad (anti-VEGF, DAB, X10, X400).

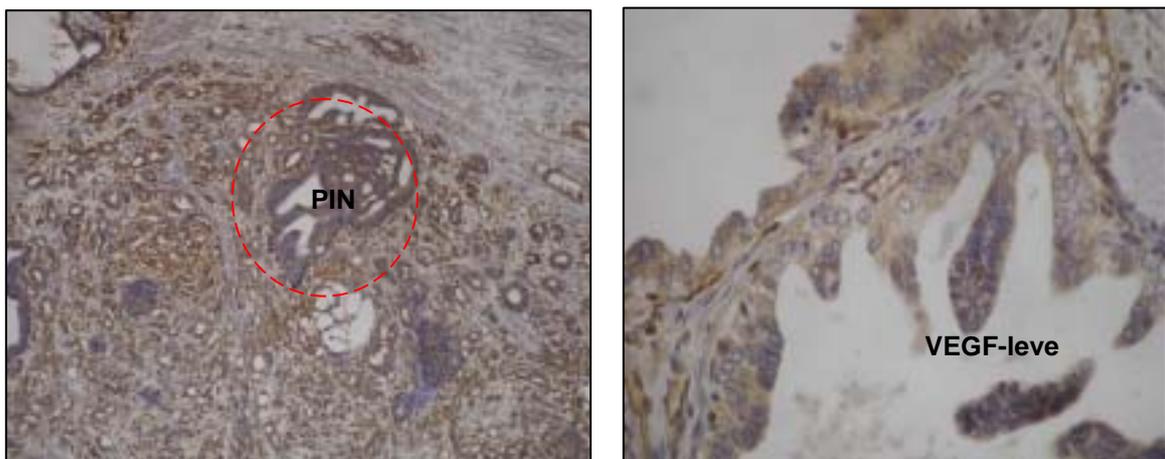


Figura 39- En las diferentes imágenes puede apreciarse la diferente intensidad en la inmunopositividad para VEGF en la neoplasia intraepitelial de alto grado (anti-VEGF, DAB, X400).

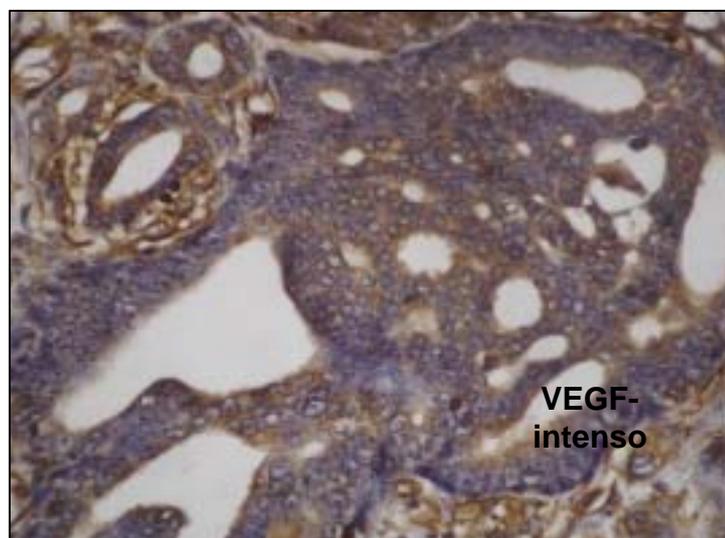
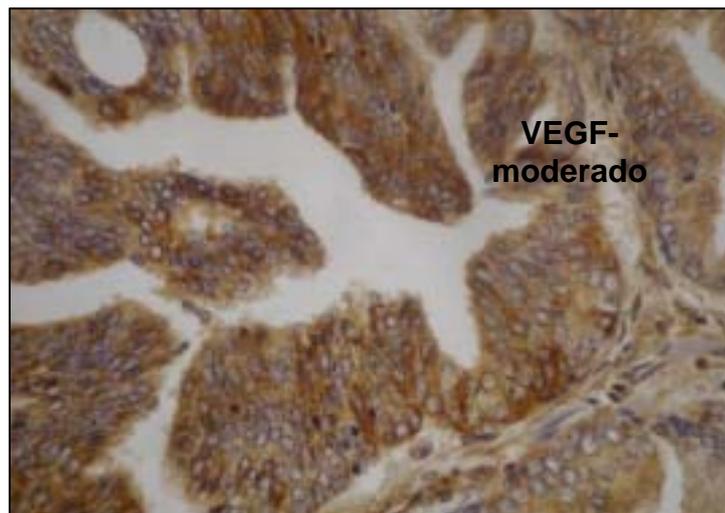
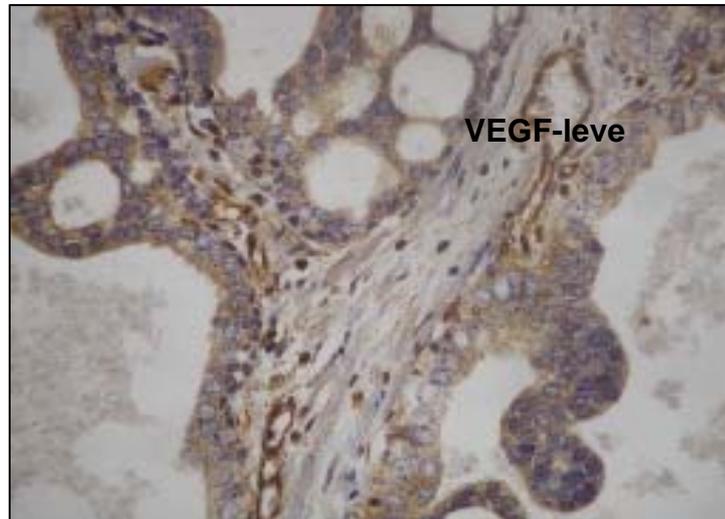


Figura 40- La inmunoexpresión de VEGF en la neoplasia intraepitelial de alto grado se observó en el epitelio secretor, y fue citoplasmática y granular . También se observó inmunopositividad para VEGF en los vasos y en el estroma (anti-VEGF, DAB, X400).

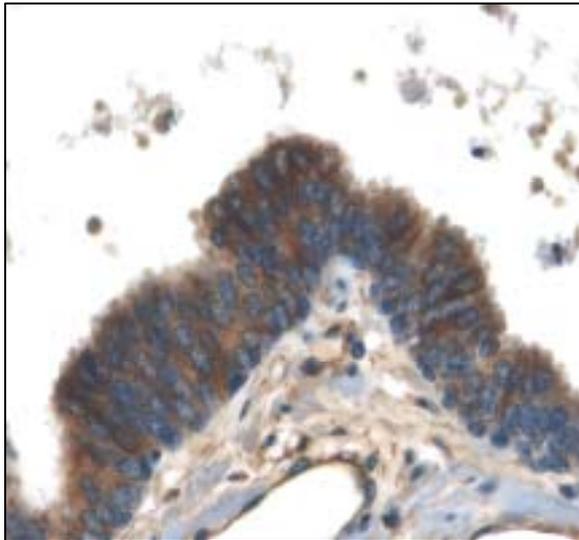


Figura 41- En la glándula normal se observó una tinción muy leve de algunas células del epitelio secretor, destacando la positividad de los capilares perglandulares y de aisladas células del estroma (anti-VEGF, DAB, X400).

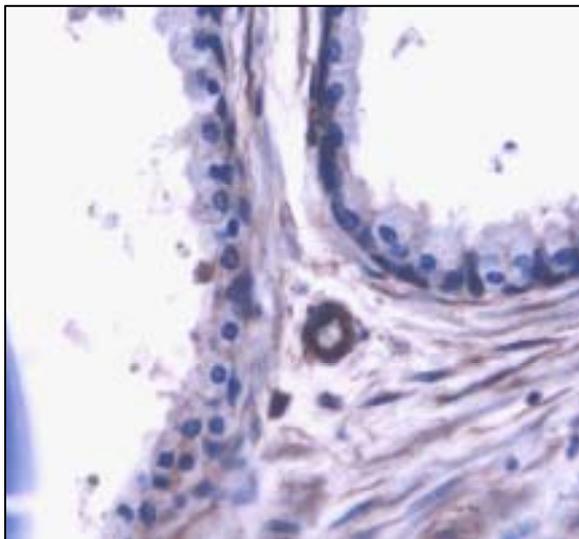


Figura 42- La inmunopositividad para Flt-1 fue mayor en algunas zonas de neoplasia intraepitelial de alto grado que en el adenocarcinoma, que mostraba una tinción variable y heterogénea. (anti-Flt-1, DAB, X 100, X 400).

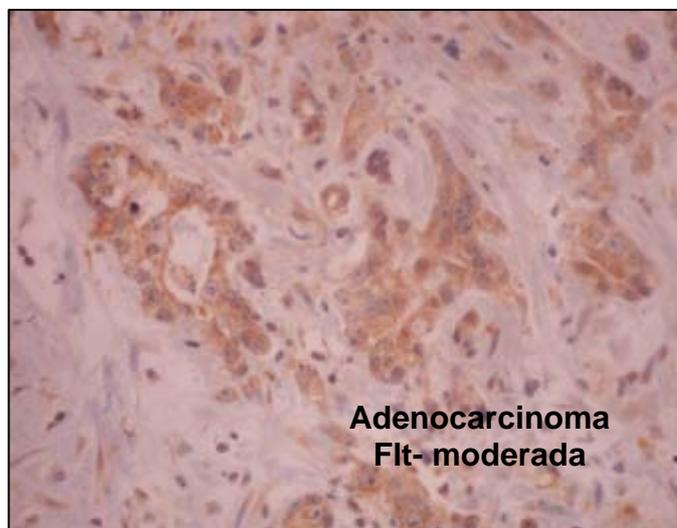
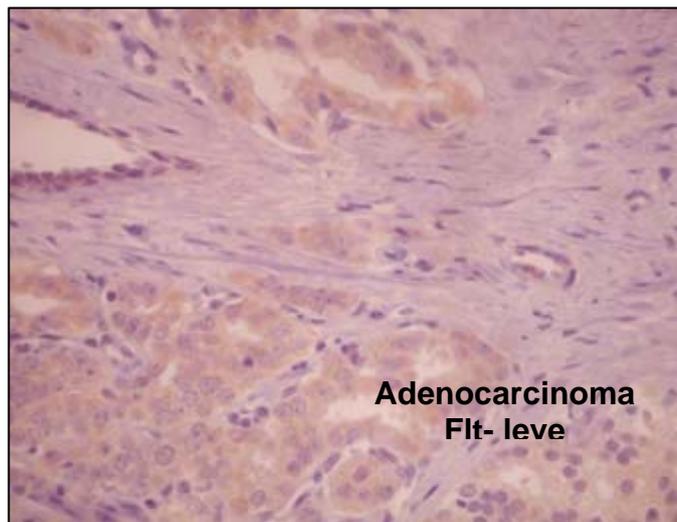
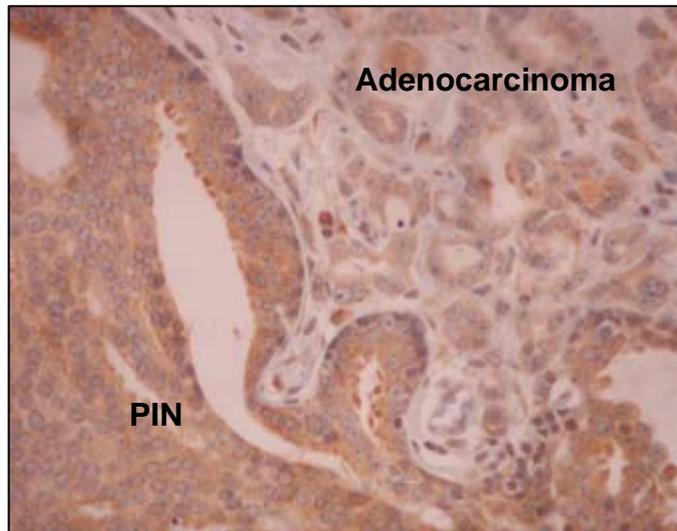


Figura 43- La expresión del receptor angiogénico Flt-1 aumenta en el PIN de alto grado y el adenocarcinoma con respecto a la glándula normal (DAB anti-Flt-1, x400, x100, x1000).

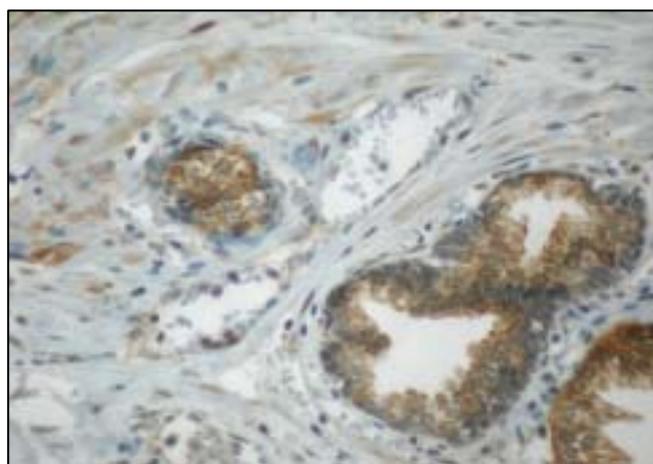
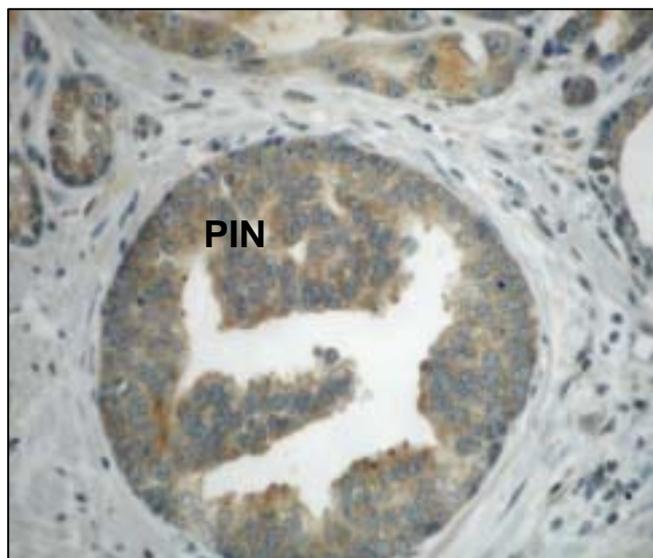


Figura 44- En la neoplasia intraepitelial de alto grado también se observó una inmunoexpresión variable de Flt-1, con casos debilmente positivos y otros moderada o intensamente positivos (anti-Flt-1, DAB, X 400).

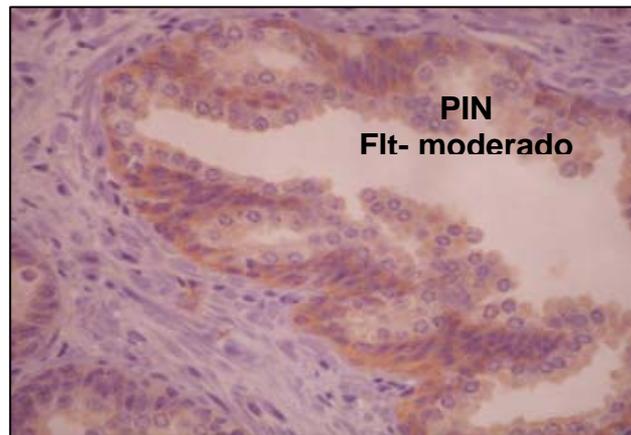
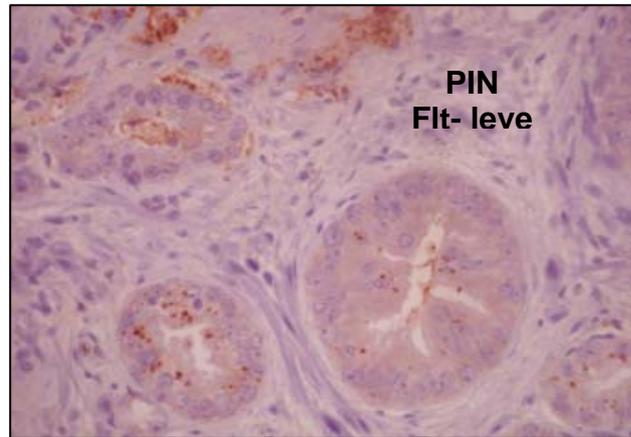


Figura 45- Inmunopositividad para Flt-1 en la neoplasia intraepitelial de alto grado con tinción citoplasmática y granular (DAB anti-Flt-1 400X, 1000X, 1000X).

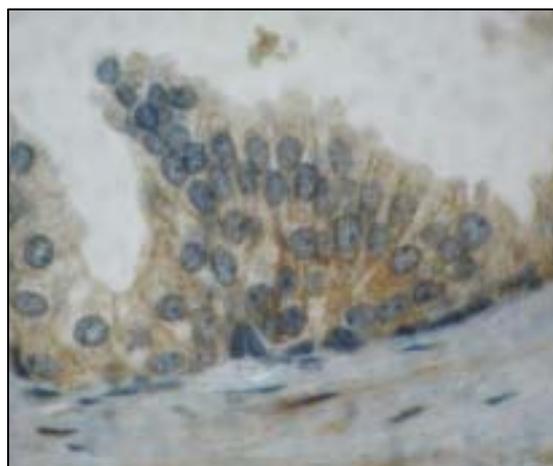


Figura 46- En el adenocarcinoma prostático se observó una inmunexpresión variable de FLK/KDR, con casos moderadamente positivos y otros intesamente positivos (anti-FLK/KFR, DAB, X100, X1000).

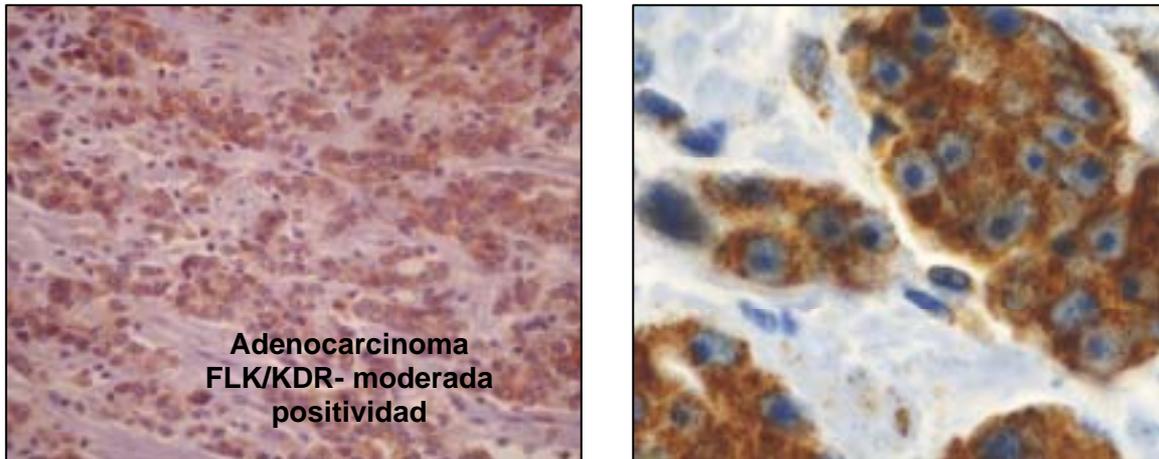


Figura 47- Expresión de FLK/ KDR en los vasos del adenocarcinoma. Se observa una reactividad intensa para el receptor en el citoplasma de las células endoteliales, así como en las células neoplásicas que rodean las estructuras vasculares (anti-FLK/ KDR, X400, X1000).

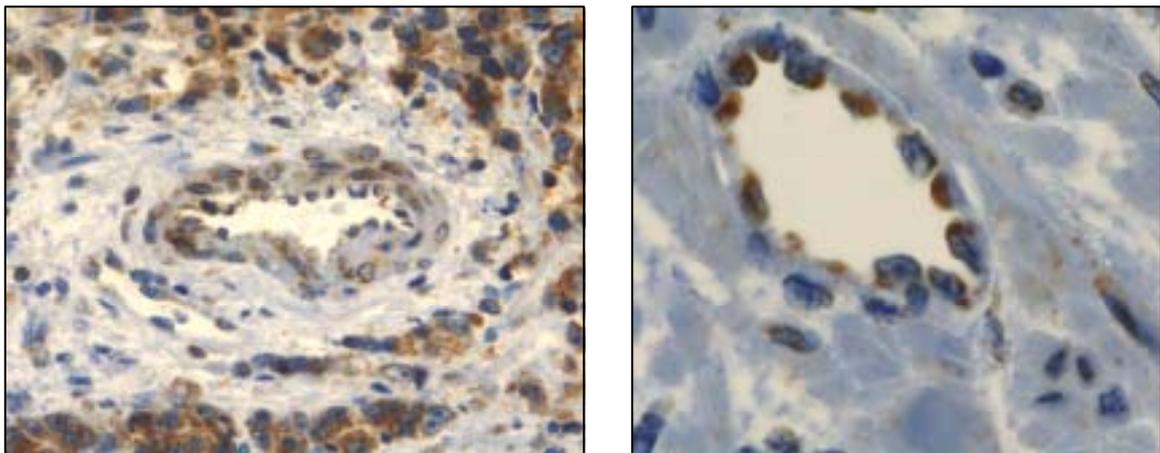


Figura 48- Se observó una intensa positividad para FLK/KDR en el adenocarcinoma respecto a la neoplasia intraepitelial de alto grado y a la glándula normal (anti-FLK/KDR, DAB, X 100).

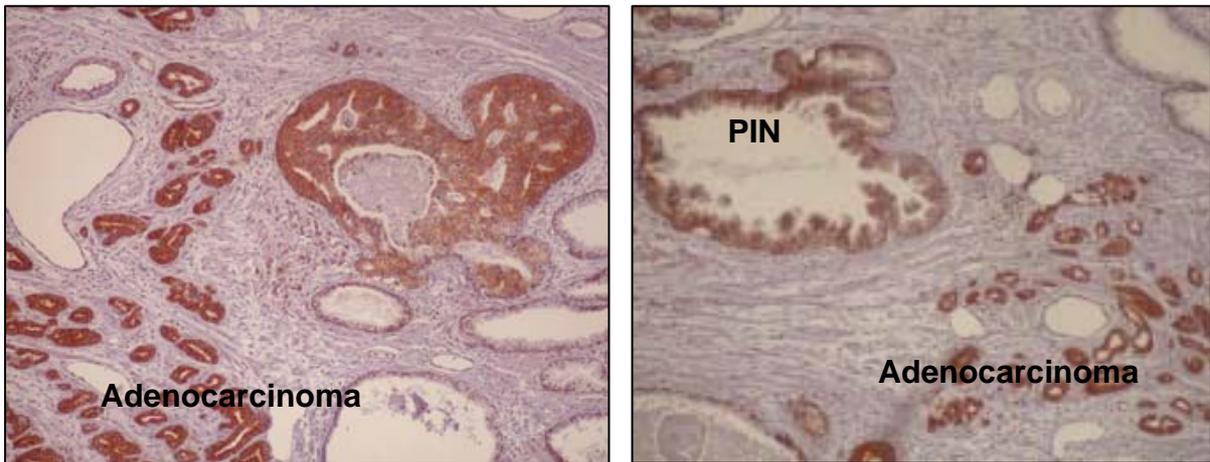


Figura 49- En la neoplasia intraepitelial de alto grado se observó expresión variable del receptor FLK/KDR (anti-FLK/KDR, DAB, X 400).

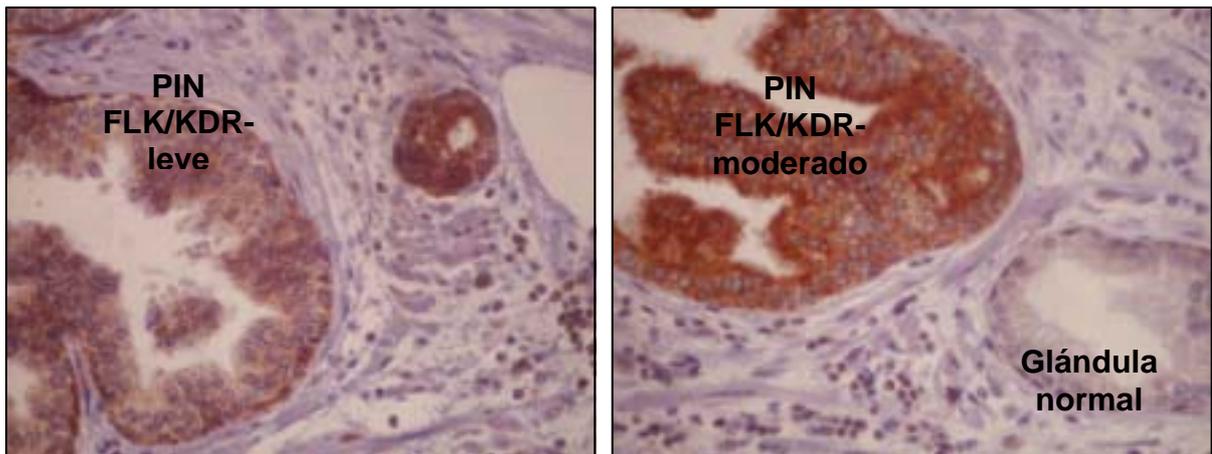


Figura 50. En la glándula normal se observó menor expresión del receptor. Destaca una intensa inmunotinción para FLK/ KDR de las células basales, y leve en ocasionales células secretoras (anti-FLK/KDR, DAB, X100, x400).

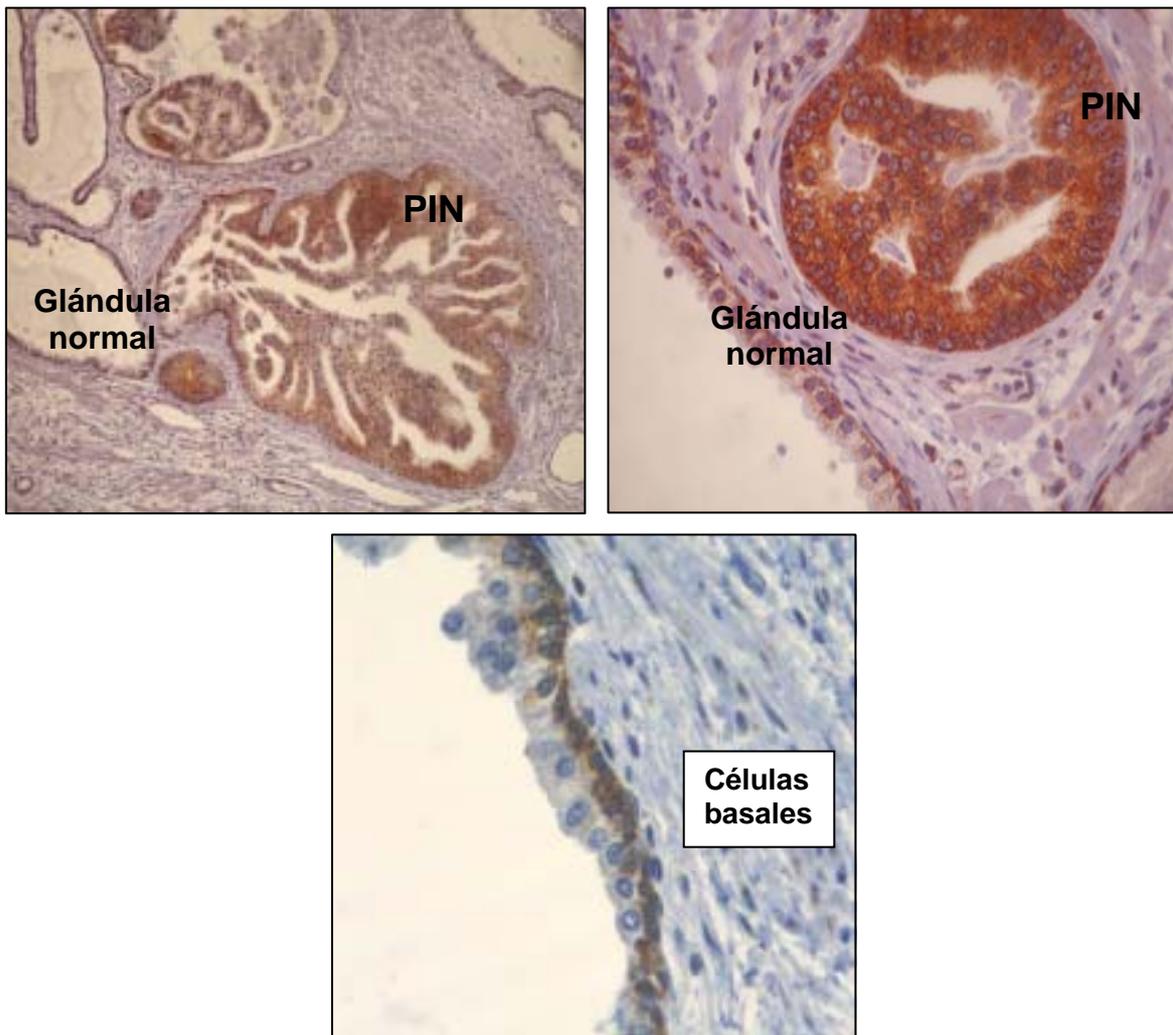


Figura 51- En el adenocarcinoma la inmunexpresión de bFGF fue variable, con casos debilmente positivos y otros intensamente positivos (anti-bFGF, DAB, X100, X400).

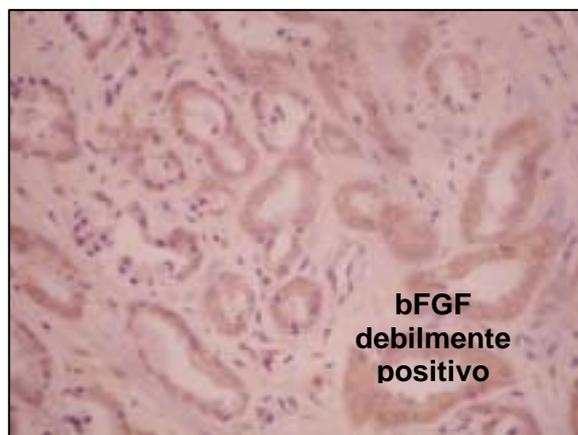
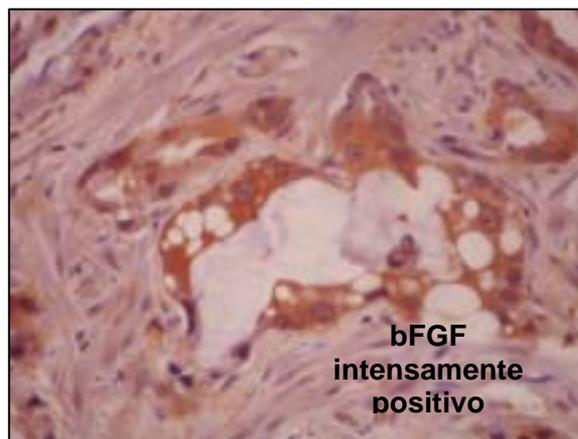
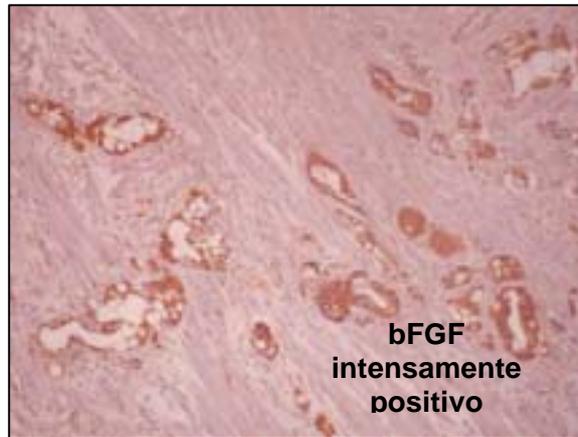


Figura 52- En la neoplasia intraepitelial de alto grado se observó inmunotinción variable para bFGF, con casos negativos o con escasa tinción, y otros moderadamente positivos (anti-bFGF, DAB, X400).

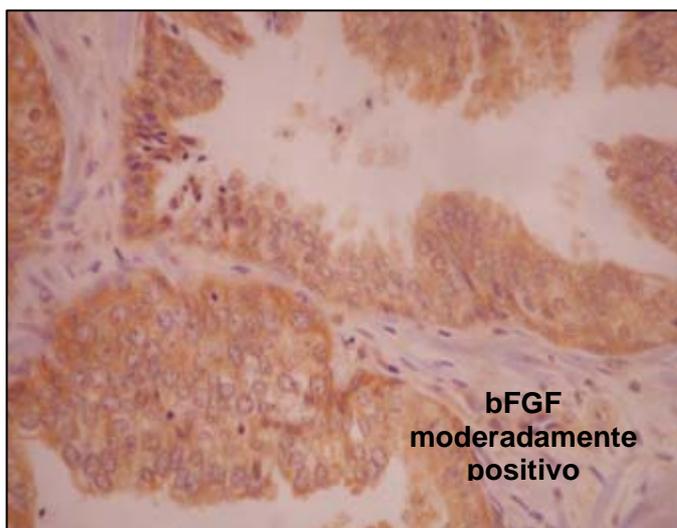
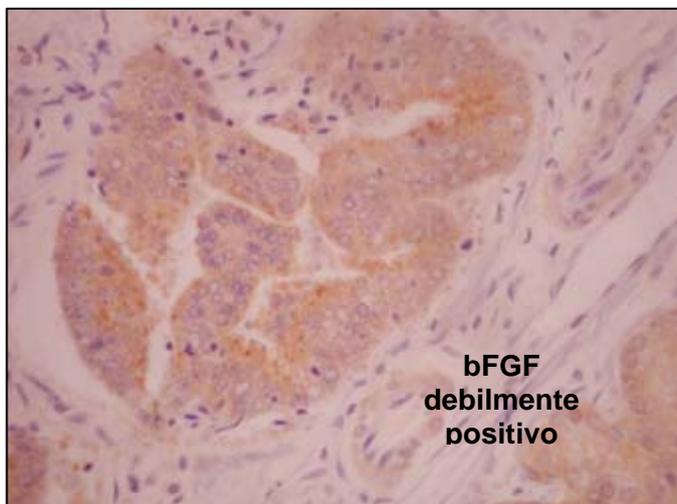


Figura 53- La expresión del factor angiogénico bFGF fue leve en la glándula normal y aumentaba en el PIN de alto grado y el adenocarcinoma. Se observa una tinción de citoplasma granular (DAB anti-bFGF X1000, X1000, X1000).

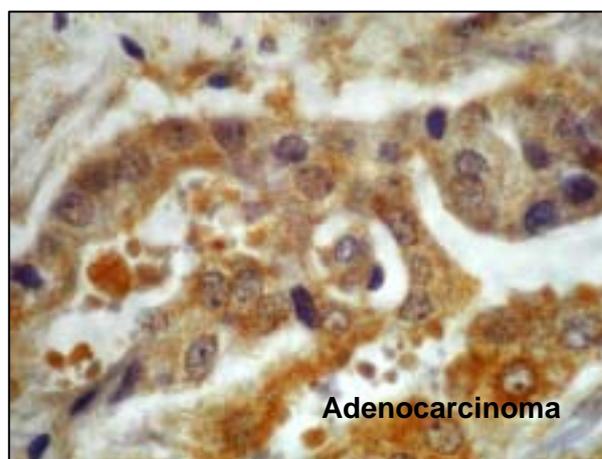
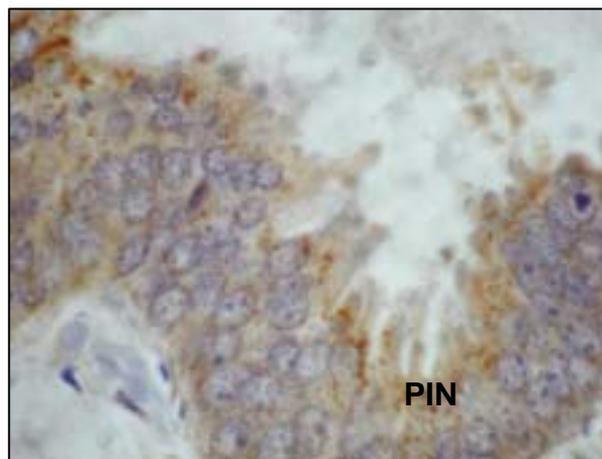


Figura 54- Se observó expresión de bFGF en el estroma prostático y en la pared de los vasos de los distintos patrones morfológicos (DAB anti-bFGF x400).

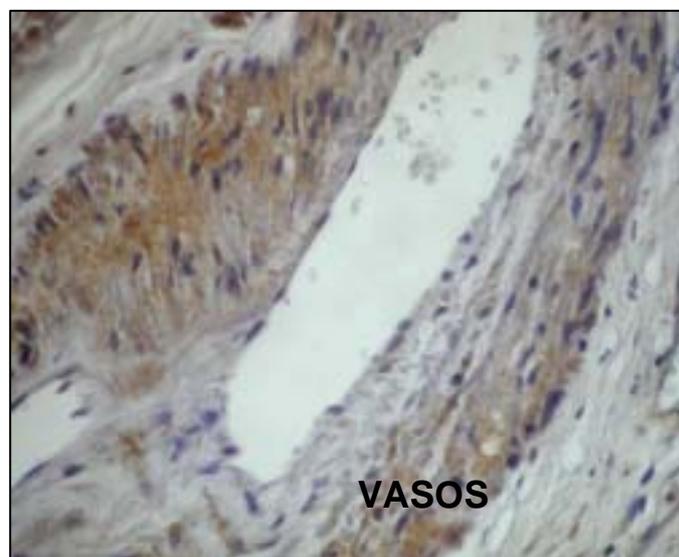
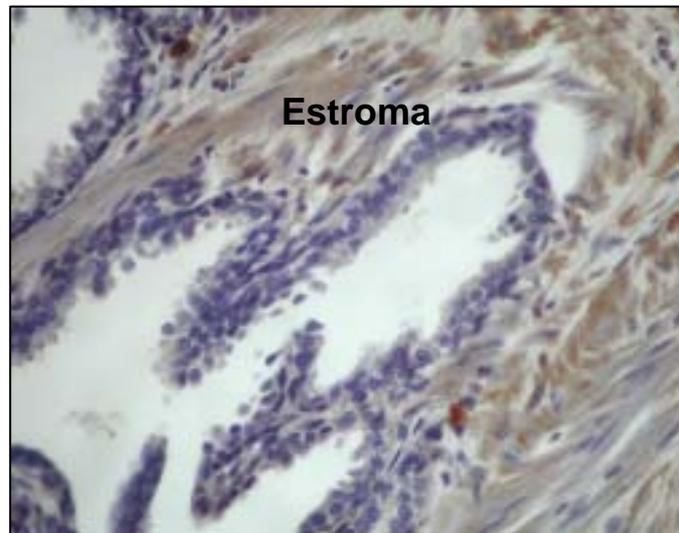


Gráfico 1- Diagrama de cajas que muestra las diferencias de densidad vascular en los distintos patrones morfológicos. La densidad vascular fue máxima en el adenocarcinoma (mediana: 8,81, rango: 9-46), y mayor en el PIN de alto grado (mediana: 5,39, rango: 3-9,67) respecto a la glándula normal (mediana: 2,95, rango: 1,67-4,33).

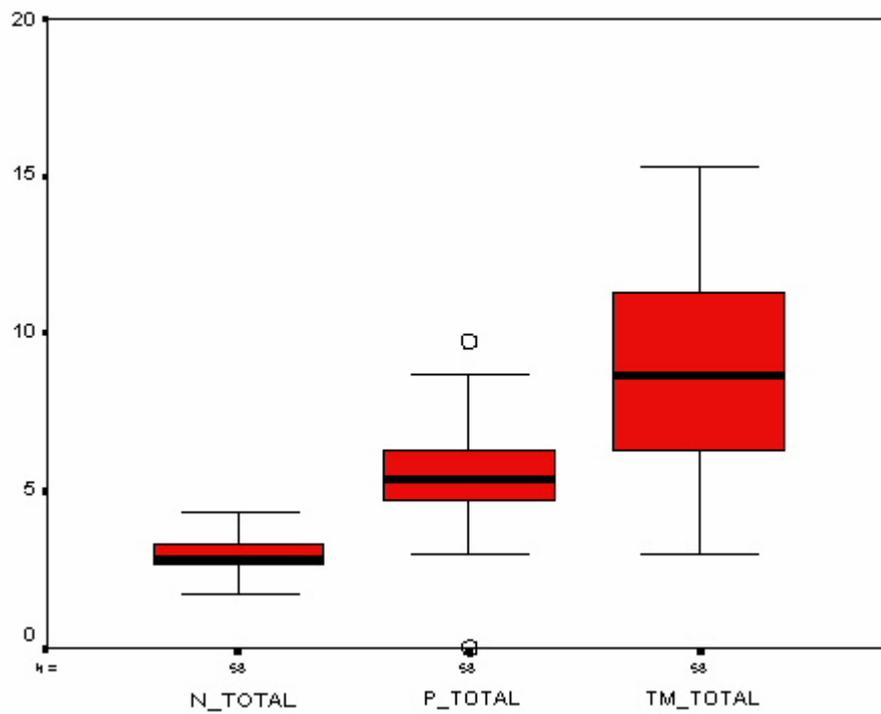


Gráfico 4- Diagrama de cajas en la que se muestra las diferencias en la proliferación celular valorada con el Ki67 de los diferentes patrones morfológicos. En el adenocarcinoma es máxima (mediana: 5, rango: 2-30), y es mayor en el PIN de alto grado (mediana: 3, rango: 0-10) que en la glándula normal (mediana: 0,5, rango: 0-5).

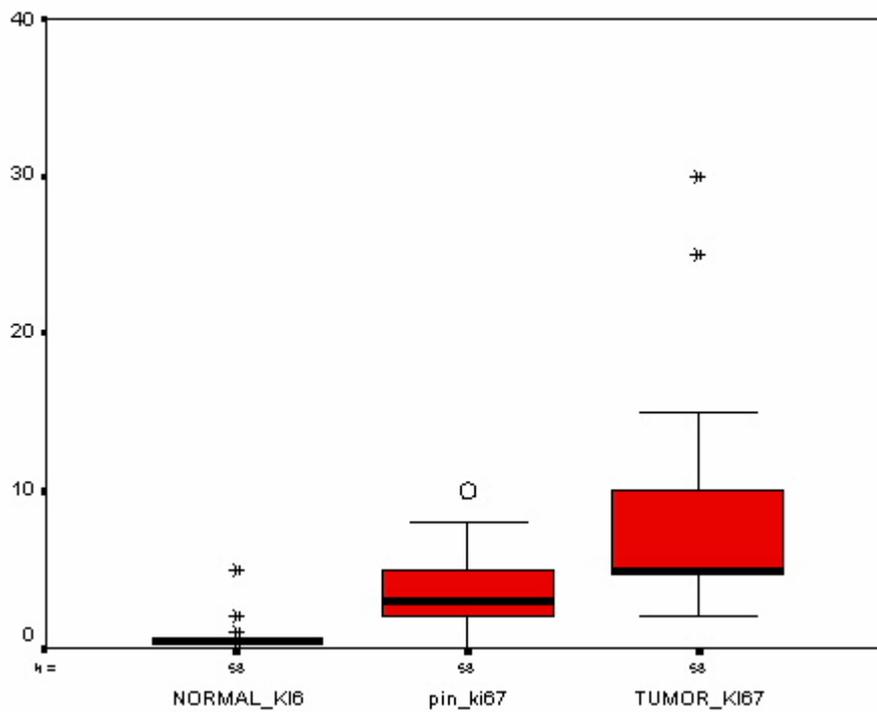


Gráfico 5- Representación por gráfico de dispersión de la correlación entre la proliferación celular (Ki67) y la densidad vascular tumoral. Se observa que los tumores con mayor índice de proliferación celular muestran una densidad vascular elevada ($r=0,252$) ($p=0,056$).

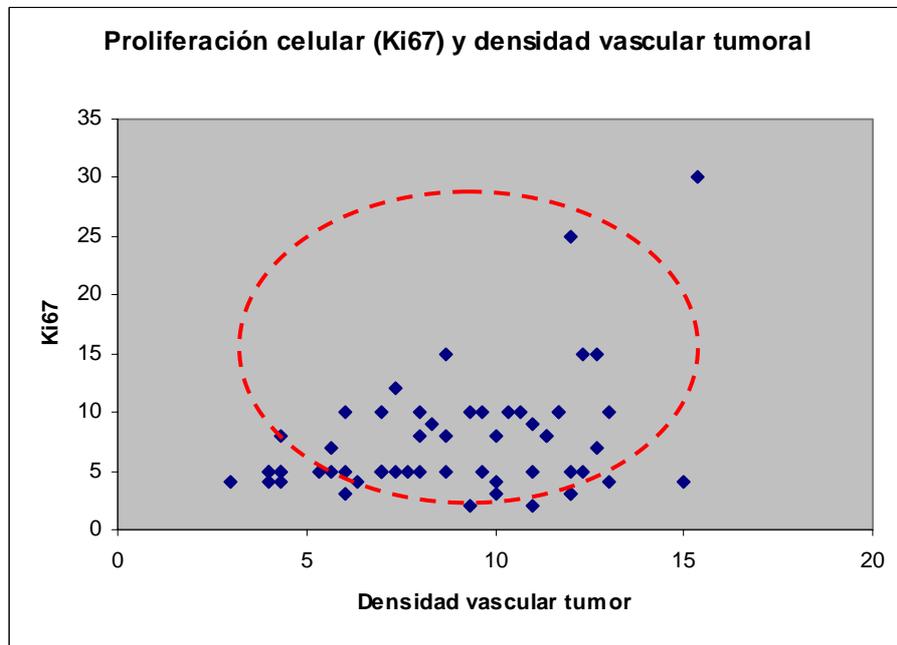


Gráfico 6- Representación por gráfico de dispersión de la correlación entre la proliferación celular en la neoplasia intraepitelial de alto grado y la densidad vascular tumoral. Algunas de las glándulas con mayor índice de proliferación celular muestran mayor densidad de vasos tumorales ($r=0,254$)($p=0,054$).

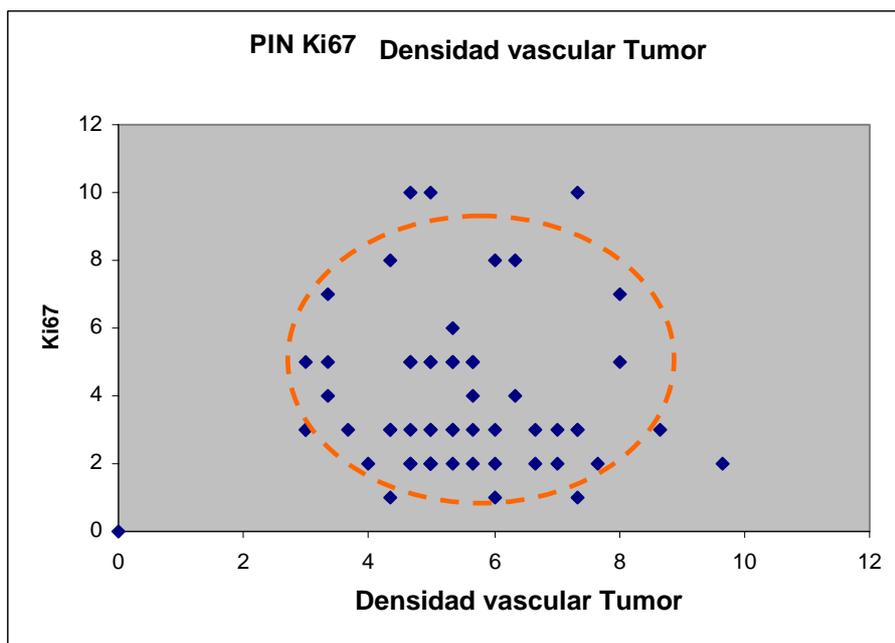


Gráfico 7. Diagrama de cajas que muestra las diferencias en la expresión de VEGF en los distintos patrones morfológicos. Existe una mayor expresión de VEGF en el carcinoma (mediana:160, rango:100-290) y en las áreas de PIN de alto grado (mediana:140, rango:0-230) comparadas con la próstata normal (mediana:90, rango:0-280).

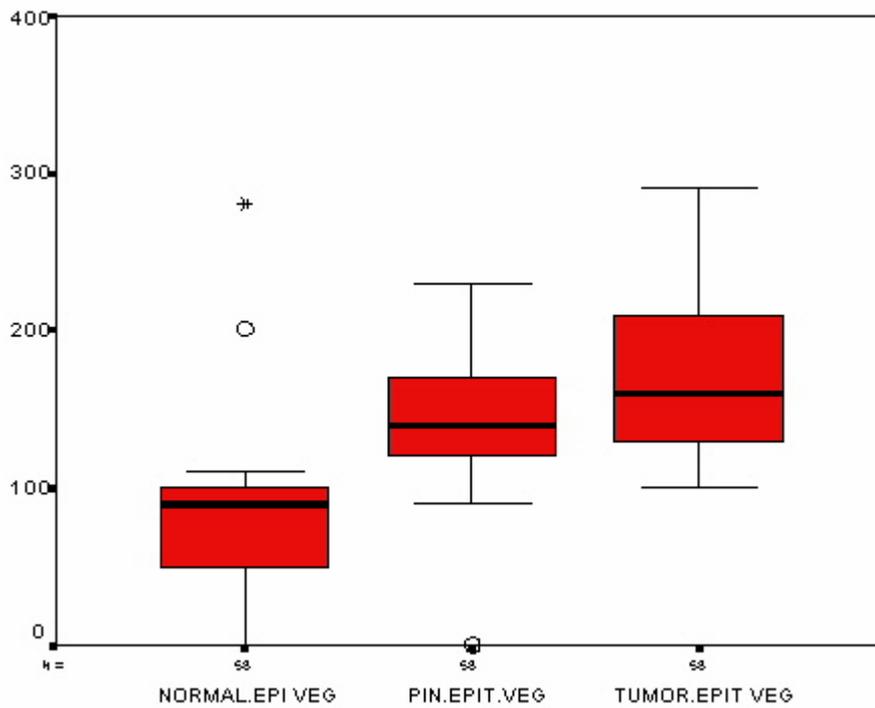


Gráfico 8- Representación por gráfico de dispersión de puntos de la correlación entre la expresión tumoral del factor angiogénico VEGF y la proliferación celular valorada con Ki67-MIB1. Se observa un aumento en la expresión de VEGF junto a un aumento de la proliferación celular ($r=0,288$)($p=0,028$).

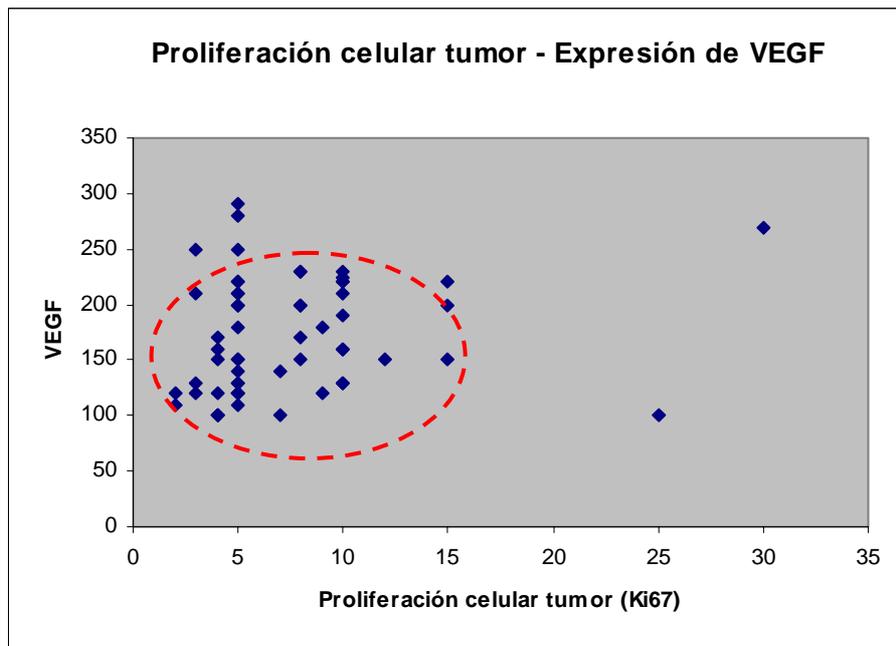


Gráfico 9- Diagrama de cajas que muestra las diferencias de expresión del receptor Flt-1. La inmunoexpresión del receptor fue mayor en el PIN de alto grado (mediana: 122,50, rango: 0-290) respecto al adenocarcinoma (mediana: 110, rango: 5-220). Mientras que en la glándula normal la expresión fue débil (mediana: 30 , rango: 0-200).

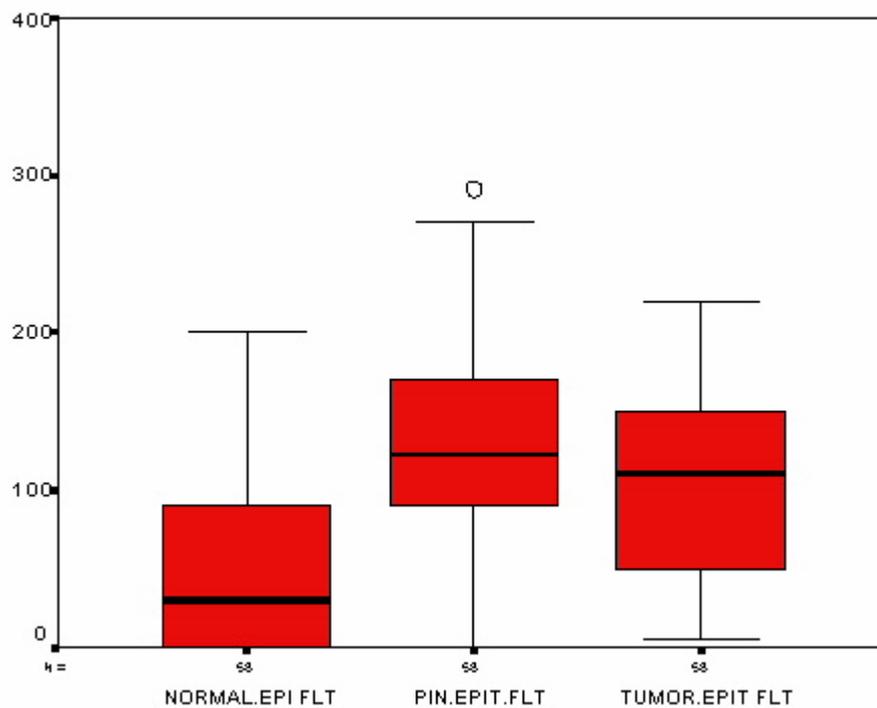


Gráfico 10- Representación por gráfico de dispersión de la correlación observada entre la expresión del receptor angiogénico Flt-1 en el PIN de alto grado y el tumor ($r=0,478$) ($p=0,000$). Se observa que los casos con mayor expresión tumoral de Flt-1 también muestran más expresión del receptor en el PIN de alto grado.

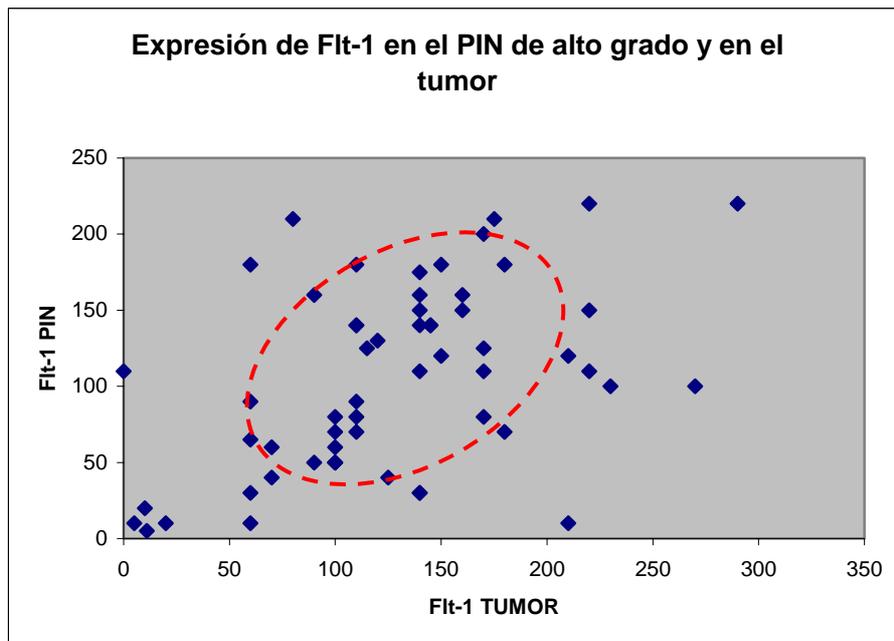


Gráfico 11- Diagrama de cajas que muestra la distribución de la expresión del receptor FLK/KDR. Existe una mayor expresión del receptor en el adenocarcinoma (mediana:230,00 rango:10-300) con respecto al PIN de alto grado, y es mayor en el PIN de alto grado (mediana:180,00, rango:0-280) con respecto a la glándula normal. Se observa un rango muy amplio de valores en la glándula normal (mediana:45,00, rango:0-300) debido a la diferente inmunexpresión observada en el epitelio secretor y las células basales, siendo débil en el primero, pero intenso y constante en las células basales.

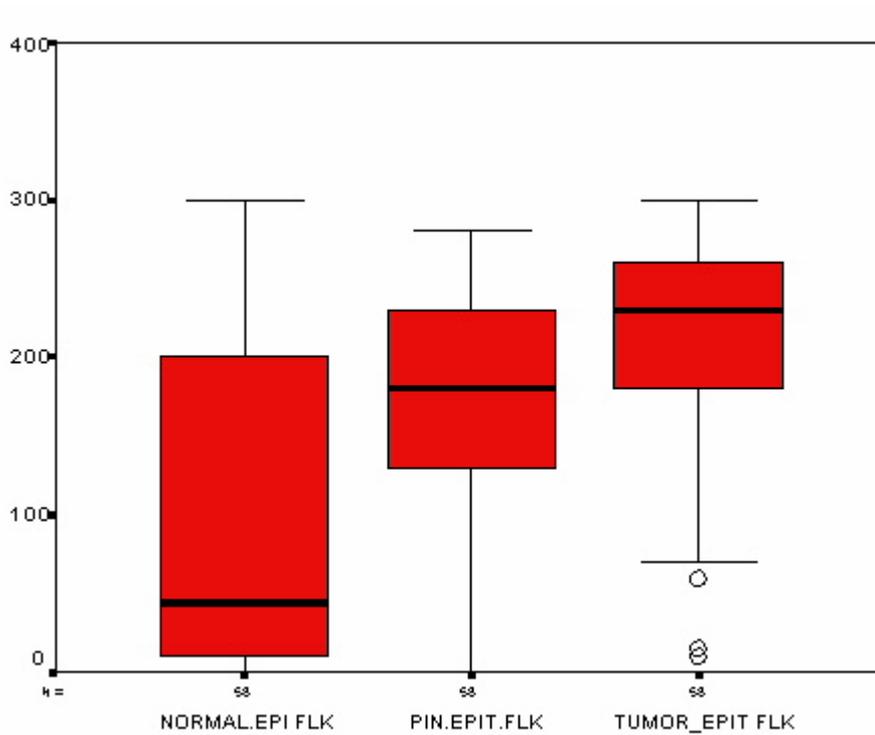


Gráfico 12- Representación por gráfico de dispersión de puntos de la correlación observada entre la expresión tumoral de receptor FLK/ KDR en el tumor y el PIN de alto grado ($r=0,446$)($p=0,000$). En los casos con mayor expresión tumoral de FLK/ KDR se observa un aumento en la expresión del receptor en el PIN de alto grado.

Expresión de FLK/ KDR en el PIN de alto grado y en el tumor

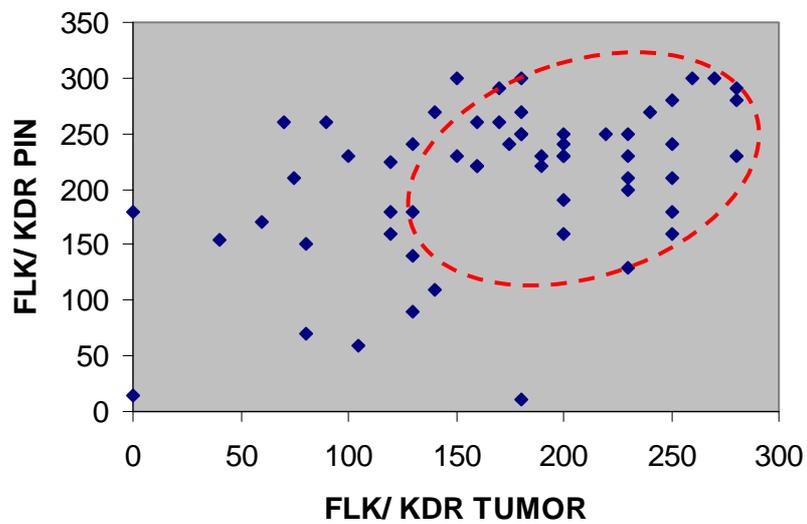


Gráfico 13- Representación por gráfico de dispersión de la correlación observada entre la expresión tumoral de FLK/ KDR y la proliferación celular tumoral ($r=0,262$) ($p=0,047$). Se observa que los casos con mayor expresión del receptor angiogénico muestran unos índices de proliferación celular valorados con el Ki67-MIB1 más elevados.

Expresión tumoral de FLK/ KDR y proliferación celular

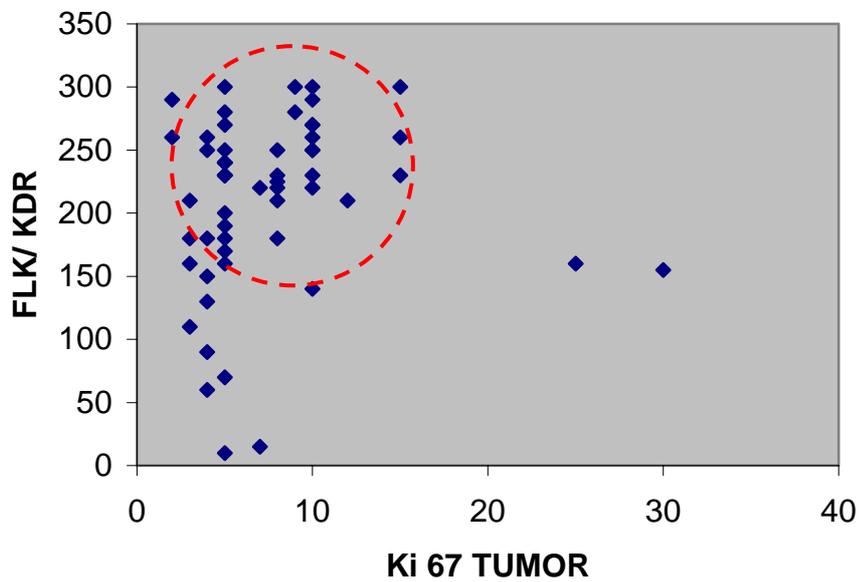


Gráfico 14- Representación por gráfico de dispersión de la correlación observada en el PIN de alto grado entre la expresión de los receptores angiogénicos FLK/ KDR y Flt-1 ($r=0,360$)($p=0,06$). En los casos con aumento de la expresión de FLK/ KDR también se observa un aumento en la expresión de Flt-1.

Expresión en el PIN de alto grado de los receptores FLK/KDR y Flt-1

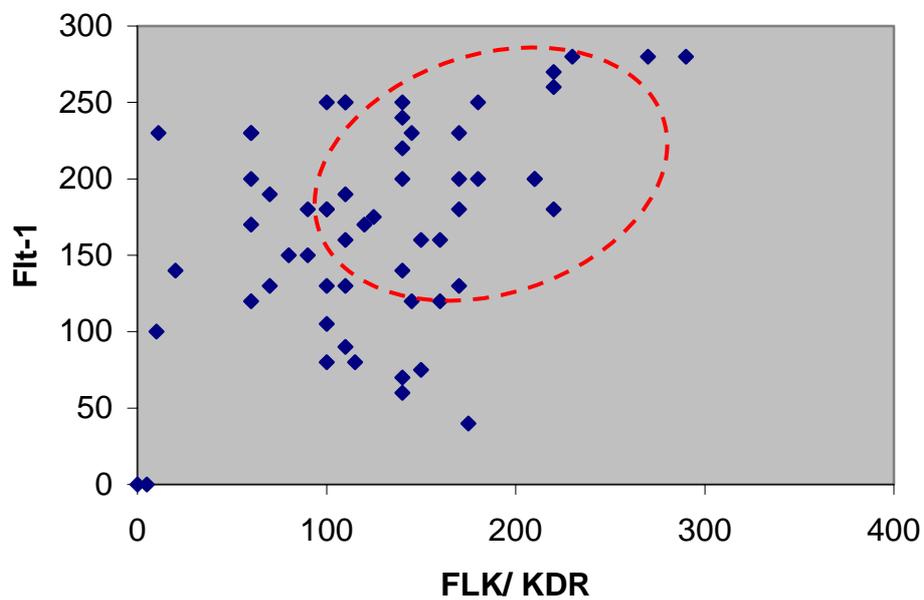


Gráfico 15- Diagrama de cajas que muestra la expresión de bFGF en los distintos patrones morfológicos. En el adenocarcinoma y el PIN de alto grado se observa una mayor expresión del factor angiogénico respecto a la glándula normal (mediana adenocarcinoma: 90,00, PIN de alto grado: 90,00, glándula normal: 5,50). Las diferencias observadas en la inmunoexpresión de bFGF entre el adenocarcinoma y el PIN de alto grado se explican por la existencia de casos intensamente positivos en el tumor respecto a la lesión premaligna (rango adenocarcinoma: 0-280, rango PIN: 0-190).

