



Universidad de la República - Facultad de Medicina

Departamento de desarrollo biotecnológico

Curso Metodología científica II

Principales aportes de los análisis genómicos al estudio y tratamiento del cáncer de próstata

Orientador: Prof. Adj. Andrés Iriarte

Mathías Maurente

Federico Pagnussat

Alejandro Soumastre

Guillermo Texeira

Septiembre 2014, Montevideo Uruguay

Índice:

Resumen.....	3
Introducción.....	3
Metodología de trabajo.....	6
Secuenciación del cáncer de próstata.....	6
Biomarcadores.....	12
Terapia blanco-específica y predictores de sensibilidad al tratamiento.....	16
Bases genómicas de la predisposición y patrones hereditarios del cáncer de próstata.....	20
Conclusiones.....	25
Agradecimientos.....	26
Figuras.....	27
Referencias Bibliográficas.....	29

Resumen:

Los estudios genómicos desarrollados con el objetivo de comprender mejor el origen y comportamiento de las enfermedades oncológicas son cada vez más frecuentes. Estos estudios han contribuido y contribuyen de forma determinante al mejor entendimiento de estas enfermedades. En este trabajo se abordan los principales aportes de la genómica al cáncer de próstata, haciendo foco en el diagnóstico, las alteraciones predisponentes y la terapéutica blanco específico.

Introducción:

El cáncer constituye una de las principales causas de muerte a nivel mundial, superada únicamente por las enfermedades cardiovasculares. Conlleva elevados costos socioeconómicos, tanto para el sistema sanitario como para el paciente, además de impactar significativamente en la calidad de vida de los mismos. En 2012, “*The International Agency for Reserch on Cancer*” registró 14.1 millones nuevos casos de cánceres y 8.2 millones de muertes por cáncer. Dentro de estos, el cáncer de próstata (CP) es uno de los cánceres más frecuentes en el mundo, totalizando aproximadamente 890.000 nuevos casos y 260.000 muertes por año a nivel mundial.

En Uruguay, este cáncer ocupa el primer lugar en incidencia y el segundo en mortalidad entre los que afectan al sexo masculino. Se estima que 1 de cada 6 hombres será diagnosticado de cáncer de próstata en algún momento de su vida y 1 de cada 35 morirá a causa de esta enfermedad (1). Esta patología se caracteriza por presentar una marcada heterogeneidad en sus formas evolutivas, pudiendo cursar como una enfermedad indolente hasta formas muy agresivas ensombreciendo el pronóstico del paciente. En su evolución, más del 40% de los hombres desarrollan metástasis a pesar de la terapéutica local (2). En el desarrollo de esta enfermedad se pueden diferenciar dos grandes etapas, catalogando al tumor como “primario”, cuando éste se limita al órgano que le dió origen y “metastásico” cuando invade estructuras regionales y sistémicas.

El 95% de los CP son adenocarcinomas, frecuentemente multifocales con inicio en el epitelio acinar y en el ductal proximal. Existen lesiones preneoplásicas como la proliferación acinar atípica (60% de las biopsias) y la neoplasia prostática intraepitelial (PIN). La puntuación de Gleason es el sistema más utilizado para graduar el adenocarcinoma de próstata y se evalúa mediante biopsia (3). El índice de Gleason se puntúa de 2 a 10, según los patrones de crecimiento tumoral observados en las muestras, y se correlaciona con el grado de agresividad.

Es de crucial importancia el concepto de neoplasia, que se entiende como una masa anormal de tejidos cuyo crecimiento excede y está descoordinado en comparación con los tejidos normales, persistiendo de la misma forma después de cesar los estímulos que desencadenaron el cambio (4). Esta persistencia se debe a alteraciones genéticas transmitidas a la progenie de las células tumorales, cambios genéticos que como se mencionó, determinan una proliferación excesiva y no regulada, que llega a hacerse independiente de los estímulos de crecimiento fisiológico (autónoma). Toda la población de células neoplásicas de un tumor individual se origina a partir de una única célula, que origina un linaje celular que experimenta estos cambios genéticos, de esta forma se dice que los tumores son clonales. Otro aspecto importante a destacar es que todos los cánceres surgen como resultado de cambios ocurridos en la secuencia del ADN de la célula progenitora, es decir todos son causados por cambios genéticos, son los factores ambientales y las distintas interacciones entre los genes los que modulan el efecto de los factores genéticos responsables contribuyendo finalmente al desarrollo de estas enfermedades.

Al igual que todas las células que constituyen el cuerpo humano, las células cancerosas son descendientes directas, a través del linaje de divisiones celulares mitóticas, de la célula huevo originaria. Sin embargo, tanto la secuenciación del ADN de las células cancerosas como el de la mayoría de las células normales del individuo han adquirido un conjunto de diferencias con respecto a la célula huevo. Estas diferencias son denominadas mutaciones somáticas (Figura 1).

Cada mutación somática en el genoma de la célula cancerosa, cualquiera sea su naturaleza estructural, puede ser clasificada en función de su significancia en el desarrollo del cáncer. Es así que surge el concepto de mutaciones “*passengers*” y “*drivers*”. Las segundas están implicadas en la oncogénesis, mientras que las primeras no contribuyen al desarrollo del cáncer. Las mutaciones “*passengers*” son consecuencia de las frecuentes mutaciones somáticas que ocurren durante la división celular, estas no tendrían consecuencias funcionales. Para el análisis e identificación de genes invocados en la carcinogénesis es fundamental la distinción entre las mutaciones “*passengers*” y “*drivers*” (5).

Un enfoque integral de dichas alteraciones es posible con el empleo de las técnicas genómicas. La genómica es una ciencia dedicada al estudio integral de la información genética, su origen, contenido, evolución y función. Forma parte de las denominadas ciencias ómicas, como la proteómica y la transcriptómica, y actualmente cumple un rol protagónico en el estudio de las enfermedades genéticas. En los últimos años se ha dado un importante avance en la misma, gracias a las tecnologías de secuenciación de ADN y al desarrollo del campo de la bioinformática.

La secuenciación del ADN es el proceso por el cual se determina el orden exacto de las bases nitrogenadas de los cromosomas. Se ha dado una evolución de estas tecnologías a partir del primer método o “*First Generation Sequencing*” descrita por *Frederick Sanger y col.* en 1977, llegando a nuestros días, con la llamada nueva generación de secuenciación (*Next Generation Sequencing* o NGS), siendo ésta de los principales avances tecnológicos de las ciencias biológicas de los últimos 30 años, elevando la velocidad y eficiencia de estas técnicas (6). NGS engloba a todas las tecnologías que comparten las habilidades de secuenciar de manera paralela millones de fragmentos de ADN. Cabe destacar como ha mejorado el acceso a las mismas, producto principalmente de la disminución en los costos, lo que finalmente repercutió en un incremento en el número de estudios. Además de permitir evidenciar alteraciones en la secuencia de ADN o los cambios en los niveles de expresión, las NGS permiten detectar alteraciones epigenéticas relacionadas, por ejemplo,

con trastornos en la metilación, mapeo de factores de transcripción y alteraciones de histonas entre otros reguladores epigenéticos (7).

Metodología de trabajo:

La metodología de trabajo será de tipo semi-presencial, con una reunión presencial con el docente orientador y una reunión virtual, ambas semanales. La estrategia de trabajo consistirá en búsquedas bibliográficas en las bases de datos Pubmed y Scholar Google.

La búsqueda bibliográfica se hará mediante la combinación de palabras clave: “*genomics*”, “*cancer*”, “*adenocarcinoma*”, “*prostate*” “*next generation sequencing*”. Luego se utilizarán como puntos de partida revisiones con alto impacto. Finalmente se consultará a expertos para la recomendación de publicaciones específicas.

Secuenciación del cáncer de próstata (CP):

Los nuevos avances en tecnología de secuenciación, en capacidad y eficiencia, y el aumento en el número de estudios que aplican esta tecnología, han permitido un mayor entendimiento de las bases moleculares del cáncer de próstata (CP), revelando la gran heterogeneidad que subyace a la variabilidad clínica que esta enfermedad posee.

Como se mencionado anteriormente, un punto clave en definir las mutaciones más relevantes del CP, es lograr identificar cuáles de ellas pueden ser catalogadas como “*drivers*” y cuales “*passengers*”. Existen ciertas alteraciones del genoma presentes de forma característica en la mayoría de los carcinomas humanos, mientras otras se han encontrado específicamente en el CP (7). Es menester la identificación de aquellas mutaciones que caracterizan a este carcinoma, como camino al entendimiento cabal de esta enfermedad, con la posibilidad de aplicar una clasificación molecular, que logre esclarecer el intrincado y hasta ahora poco conocido comportamiento de esta entidad.

Principales alteraciones genómicas presentes en la mayoría de los carcinomas humanos que se han identificado en alta frecuencia en el adenocarcinoma de próstata

Ruta de la PI3K: La ruta de la fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K) se encuentra dentro de las rutas de señalización celular más frecuentemente afectadas en los cánceres. La lesión celular puede activar esta ruta, afectando la proliferación celular, la supervivencia y la invasión. Las alteraciones en esta vía son frecuentes y ocurren en el 42% de los cánceres primarios y en 100% de los metastásicos (8). El producto del gen PTEN (localizado en el cromosoma 10q23) encargado de desfosforilar intermediarios en esta ruta, y por ende desactivando la señalización dependiente de PI3K, se encuentra dentro de los genes supresores tumorales más frecuentemente mutados entre las células cancerosas. Su inactivación pareciera ser el mecanismo dominante en la alteración de esta ruta (7). Pueden existir lesiones que activen a PI3K como por ejemplo la amplificación génica. A su vez se ha identificado una mutación puntual en la subunidad alfa catalítica de la fosfatidilinositol 4-5 bifosfonato 3 quinasa (PIK3CA) que resulta en una sobreexpresión de la ruta. Mutaciones en PIK3CA que activen la ruta, como otras en PTEN que lo inactivan, son frecuentes, y no mutuamente excluyentes, siendo puntos "finales", típicamente mutación "driver", en esta ruta de señalización. Múltiples lesiones halladas en distintos puntos de la ruta de la PI3K refuerzan la importancia de la misma en la patogénesis del CP (9).

P53: El gen P53 (gen supresor tumoral) es el más frecuentemente mutado en los cánceres humanos. En respuesta al *stress* celular, la proteína P53 actúa como punto de control para el avance de la célula según su ciclo celular. Se han visto deleciones del locus que codifican la proteína en el 25-40% de las muestras del CP, con mutaciones puntuales del 5% al 40% de los casos (2, 10-12). Del 25 al 30% de los CP clínicamente localizados poseen lesiones en el gen P53, lo cual sugiere que estos no son eventos tardíos en la evolución del CP, sino que ocurren de forma temprana en la línea temporal de esta enfermedad (10, 13).

Otros: El gen *MYC* es un protooncogen que codifica un factor de transcripción que se vincula con la regulación del ciclo celular, más específicamente, el pasaje de la célula de la fase G0/G1 a la fase S. Su amplificación y consiguiente sobreexpresión se ha encontrado frecuentemente en el cáncer de próstata (CP) así como en otros carcinomas, como pulmón, mama y otros (14). El gen codificante para la proteína *Rb*, supresor tumoral, se encuentra mutado en numerosos carcinomas, si bien no se ha encontrado su alteración en los CP de reciente inicio, comúnmente se encuentra inactivado en los CP resistentes a la castración (14).

Alteraciones genómicas que se encuentran específicamente en el CP

Dentro de las alteraciones genómicas que se encuentran específicamente en el CP se han descrito abundantes que se vinculan directamente con el receptor de andrógenos (AR). Típicamente estas alteraciones conducen al aumento de la actividad de las células cancerosas en el CP. Son múltiples los tipos de alteraciones que se han descrito en AR, amplificación génica, mutaciones puntuales, alteraciones en el *splicing* del ARN, entre otras. Estas alteraciones se encuentran presente en el 60% de los cáncer de próstata resistentes a la castración (CPRC) (10).

Se ha detectado amplificación génica del AR en un 40% de los tumores metastásicos, pero parecen estar ausentes en los CP primarios (10) (11, 15). Recientemente una mutación AR F876L que confiere resistencia a los fármacos antagonistas del AR; enzalutamide y ARN-509, fue identificada en ADN plasmático de pacientes en tratamiento con dichos fármacos (16-17). Este resultado es consistente con la presión de selección inducida sobre las células tumorales por la terapia antiandrogénica (16-17). Juntos, estos descubrimientos apoyan la hipótesis de que las lesiones en el gen AR emergen y juegan principalmente un rol en la resistencia a la terapéutica actual, en lugar de estar involucrado en la patogenia de la enfermedad. Por otro lado se evidenciaron alteraciones genómicas que afectan la actividad del AR de forma indirecta, actuando sobre proteínas cuya función es la modulación de su actividad. Ejemplos de estos serían genes codificantes para co-activadores de

transcripción (NCOA2), proteína de unión EP300, factores de transcripción, entre otros (7).

Otro grupo de alteraciones muy frecuentes en el CP se han visto en factores de transcripción de la familia *Forkhead-box*. Éstos normalmente juegan un rol importante en la regulación de expresión de genes involucrados en el crecimiento, proliferación y diferenciación celular. La sobreexpresión del FOXA1 se ha comprobado asociada al CP metastásico y al CP resistente a la castración. Mutaciones puntuales de este mismo gen se observaron en CP primario y avanzado. Otros miembros de la familia de estos factores de transcripción se han visto implicados en la patogenia del CP (10, 18-19). Las mutaciones en el gen FOXA1 aumentarían la proliferación celular dependiente de andrógenos (15, 20).

Existen extensas interacciones entre la cascada de señalización del AR y las rutas de señalización de distintos oncogenes. Un ejemplo sería la ruta de señalización PI3K/Akt, que se ha demostrado inhibe la señalización del AR y por retroalimentación negativa recíproca, la inhibición del AR activa la ruta de señalización del Akt. Estas interacciones podrían explicar al menos en parte la eventual falla en la terapéutica de deprivación androgénica.

Fusión de genes ETS

Otro tipo de alteraciones frecuentes son los reordenamientos genómicos (cambios en la posición de importantes segmentos de ADN) de las células cancerosas. La importancia de estos reordenamientos en el CP está bien establecida. Se ha demostrado que la estimulación androgénica puede, por proximidad, inducir la fusión de los factores de transcripción de la familia de los ETS (más frecuentemente ERG) con la región 5' del gen TMPRSS2 (gen regulador androgénico) (21). Tomando como punto de partida los perfiles atípicos conocidos de 2 genes que codifican factores de transcripción de la familia ETS (ERG y ETV1), involucrados en las translocaciones oncogénicas de leucemias mieloides y sarcoma de Ewing, se examinaron dichas translocaciones en muestras obtenidas de pacientes con CP, hallando perfiles similares en estas muestras (22).

El descubrimiento de la fusión de genes reguladores de andrógenos y factores de transcripción oncogénicos logró un mayor entendimiento del comportamiento molecular del CP (7). Por ejemplo la fusión del gen TMPRSS2 y el factor de transcripción ERG es la más frecuentemente encontrada. A su vez se ha observado la prevalencia de reordenamientos involucrando genes ETS la cual fue de 27 al 79% (22). Aproximadamente el 50% de los CP estudiados presentaban una fusión recurrente involucrando a esta familia de factores de transcripción (7, 9). Estudios recientes demostraron una alta incidencia de estos reordenamientos y su correlación con el diagnóstico temprano de esta enfermedad (23).

Actualmente estos reordenamientos son detectables usando hibridación fluorescente in situ (FISH), una técnica citogenética de marcaje de cromosomas). Cabe destacar que varias de estas mutaciones son específicas del CP, ya que no se encontraron en las lesiones intraepiteliales de próstata ni en las células normales del epitelio prostático (22, 24).

Mutaciones en el gen SPOP

La proteína SPOP (*speckle-type POZ protein*) es una enzima que destruye selectivamente al receptor de andrógenos; cuando no logra hacerlo debido a una alteración en el gen codificador, el resultado es una abundancia del receptor de andrógenos. Las mutaciones SPOP son las mutaciones puntuales más frecuentemente encontradas en el CP primario, encontrándose entre un 6% y un 15% en diferentes cohortes independientes (10, 12, 18, 25). Los tumores que presentan estas mutaciones puntuales muestran un patrón distintivo de aberraciones genómicas, la delección de CHD1 (ver más adelante). Varios estudios recientes han demostrado que las mutaciones SPOP y las delecciones de CHD1 son mutaciones “*driver*” en esta patología (7). Tumores con supresión de CHD1 se han correlacionado con una mayor incidencia de reordenamientos genómicos (13, 26).

Alteraciones epigenéticas

Se han descrito un importante número de alteraciones en la regulación y remodelación de la cromatina asociadas al cáncer y gracias a las

aproximaciones genómicas se han identificado alteraciones en varios genes modificadores de histonas relacionados (ej. KDM6A, MLL2, MLL3) (10, 12, 15, 18). Las proteínas codificadas por estos genes, tienen como objetivo común la metilación de la histona H3, conocida por ser un componente clave en la regulación de los estados de la cromatina y estar involucrada en su control transcripcional.

El gen codificante para la enzima metiltransferasa EZH2, que actúa como un silenciador de genes, añadiendo grupos metilo al residuo 27 de lisina de la histona 3, una modificación que conduce a la condensación de la cromatina, se ha visto frecuentemente alterado en el CP. Su sobreexpresión se asocia principalmente con CP agresivo y metastásico (27).

Relación temporal entre diversos eventos genómicos en el CP

Estableciendo la secuencia temporal de las distintas alteraciones genómicas en el CP es que se pueden llegar a comprender cuales son las lesiones que ocurriendo de forma temprana actúan como mutaciones “*driver*” y cuales de las que ocurren en forma tardía se ven asociadas con la progresión de la enfermedad y mayor agresividad. Se han logrado grandes avances al respecto, encontrando que tanto los reordenamientos ERG, FOXA1 como las mutaciones SPOP son eventos que ocurren de forma temprana en la historia natural del CP (10, 26). En contraposición, las lesiones en los genes PTEN, Rb, P53 y AR son reportados más frecuentemente en tumores avanzados (2).

Clasificación molecular del CP

Como se ha establecido en el comienzo de la revisión, el poder esclarecer aspectos de esta patología y sus presentaciones heterogéneas es muy importante y está dentro de los objetivos de las aplicaciones de la genómica al estudio del CP. En este sentido, se ha encontrado una primera aproximación de clasificación molecular que se basa en las alteraciones genómicas que los distintos CP presentan (11, 28-29). Estudios genómicos y transcriptómicos revelaron la posibilidad de clasificar al CP según distintos patrones de alteraciones genómicas, algunas que hemos revisado aquí, con valores

predictivos de agresividad de la enfermedad e impacto en el pronóstico de la misma.

La clasificación molecular del CP comienza en sub-clasificar al mismo en ETS-positivo o ETS-negativo. Los análisis genómicos y epigenómicos apoyan el reconocimiento del CP ETS-positivo como una entidad biológica distinta de aquel CP ETS-negativo (18, 22, 24, 30). Si bien se han descrito numerosas fusiones ETS, generalmente solo una fusión ETS se encuentra presente en cada CP, lo cual es consistente con la hipótesis de ser alteraciones funcionalmente redundantes (16). Lesiones como la delección del gen PTEN y las alteraciones del gen P53 se aprecian en los CP ETS-positivo; mutaciones “*driver*” como las mutaciones SPOP, delección de CHD1, entre otras, ocurren exclusivamente en los CP ETS-negativos (10, 15, 25, 31). En este sentido es importante destacar que las mutaciones SPOP son alteraciones mutuamente excluyentes con respecto a la fusión de los genes TMPRSS-ERG y de la supresión del gen P53. A su vez, generalmente carecen de alteraciones en la ruta PI3K (ver Figura 2) (10, 12, 15).

Biomarcadores:

Referido a la evolución natural del cáncer de próstata (CP) y sus manifestaciones clínicas, cuando éste es “primario” se comporta de forma asintomática y normalmente se descubre mediante la detección de un nódulo sospechoso en el tacto rectal o por la elevación del *PSA* sérico. Es en los estadios avanzados donde sobrevienen los síntomas urinarios como la dificultad para comenzar o finalizar la micción, disuria, polaquiuria o hematuria (4). La genómica ha permitido realizar grandes y significativos avances en la práctica clínica habitual en lo que respecta a la detección temprana y la predicción del pronóstico del CP, así como en otras enfermedades, principalmente porque ha generado las bases y ha aportado pruebas para la identificación de eficientes biomarcadores.

En términos generales un biomarcador es un evento que se produce en un sistema biológico y se interpreta como indicador del estado de salud, de la

esperanza de vida o del riesgo de enfermedad. En la práctica solemos referirnos al marcador biológico o biomarcador como la sustancia o molécula asociada a dicho evento. Estos suelen clasificarse en biomarcadores de exposición, efecto y de susceptibilidad (32). Un biomarcador ideal: a) es específico, b) su muestra es de fácil recolección y análisis, c) refleja únicamente un cambio subclínico y reversible, d) permite adoptar medidas preventivas y e) es éticamente aceptable. Si consideramos estas características, son muy pocos los que se ajustan a todas ellas. Principalmente los biomarcadores se mueven en un rango muy amplio de especificidad, de ahí que un aspecto importante a valorar es la complementariedad entre ellos, lo que permite aumentar el grado de especificidad [www.ugr.es/~fgil/biomarcadoresrevtoxicol.pdf].

Actualmente los biomarcadores utilizados para el diagnóstico del CP son de extremada baja sensibilidad y especificidad. El método de tamizaje más utilizado para el este cáncer es la medición de los niveles en plasma de *PSA*. Sin embargo, no existe un valor único de este biomarcador para establecer con certeza el diagnóstico de CP, ya que sus valores se ven influenciados, entre otras cosas, por la edad. Como consecuencia de esto, se genera gran morbilidad producto de numerosas biopsias innecesarias en sujetos sin esta patología. Frente a este problema se han propuesto algunas variables como la medición del *PSA* libre o fragmentos de éste, en busca de aumentar la especificidad del método, aunque estos intentos no han sido exitosos. Sumado a esto, existen cánceres de próstata que son de crecimiento tan lento que no suponen un riesgo para la salud del enfermo. No existen estudios que puedan diferenciar estos últimos de los cánceres que evolucionan con riesgo significativo de supervivencia. Es en la intensa búsqueda de nuevos biomarcadores más específicos y completos en donde la genómica juega un rol fundamental. Este podría ser el caso de los micro ARN (miARNs), ya que nuestro conocimiento de estas moléculas asocia directamente a los avances permitidos por esta ciencia.

Los miARNs se caracterizan por ser extremadamente estables, detectables y cuantificables en pequeñas cantidades en diferentes fluidos corporales. Es por ello que tienen potencial utilidad como biomarcadores para diagnóstico,

predicción evolutiva y pronóstico de esta patología. Los miRNAs son pequeñas moléculas de ARN, de máximo 22 nucleótidos de longitud. Funcionan como reguladores post-transcripcionales uniéndose a secuencias complementarias en puntos blancos y determinando una inhibición en ARN mensajeros o estímulos para la expresión de genes. Este sistema es complejo; los genes pueden ser blanco de múltiples miRNAs y cada miRNA es capaz de actuar sobre cientos de genes, ya sea directa o indirectamente.

La utilidad de éstos fue evidenciada en el estudio de *Mitchell y col.* (2008) en donde probó que los niveles de miR-141 estaban elevados en los casos de CP, pudiéndose detectar los individuos con cánceres avanzados con una sensibilidad del 60% y una especificidad del 100%. Por otra parte se ha evidenciado que miR – 21 y 221 están significativamente elevados en estadios temprano del CP en comparación con un grupo control. *Yaman Agaoglu y col.* (2011). En un estudio llevado a cabo en 2011, se encontró que miR-26a, miR-195 y let-7i presentaban concentraciones incrementadas en plasma de hombres con CP localizado, en comparación con hombres con patología prostática benigna. Sin embargo, cuando se los comparó con individuos saludables ninguno de ellos presentaba niveles alterados de miRNAs. Estudios han demostrado que estos marcadores se ven alterados con el envejecimiento y el estado hormonal. También se asoció la relación entre los niveles de miRNAs en el tejido canceroso con los niveles de miRNAs en el plasma del individuo, evidenciando que los niveles en el plasma del individuo descendían luego de la cirugía resectiva del órgano en cuestión Mahn et al (2011) (32).

Otro de los potenciales biomarcadores de interés médico es el PCA3. El PCA3 es un gen que codifica para un ARN no codificante que se expresa únicamente en el tejido prostático humano y se encuentra expresado de forma diferencial en el 95% de los casos de CP comparado con la próstata normal o la hiperplasia benigna de esta glándula (33). Actualmente y a partir de este descubrimiento se encuentra en el mercado un método diagnóstico que permite detectar *PCA3* en orina y fluidos prostáticos, diagnosticando CP con una sensibilidad de 66% y una especificidad del 76% (34).

Como fue anteriormente mencionado las translocaciones genómicas son frecuentes en los cánceres, y pueden ser entes causales de la progresión de

estas patologías. Una forma de evidenciar estas alteraciones es mediante el uso de tecnología de “*microarray*”, donde puede medirse la expresión de miles de genes de forma simultánea, pudiendo detectar traslocaciones frecuentes en un determinado tipo de carcinoma (35). Fue mediante este método que se descubrió uno de los reordenamientos más frecuentes en el CP, la de la fusión TMPRSS2:ERG. Este reordenamiento puede detectarse en orina y se estima que se puede llegar a utilizar como una forma de *screening* para el CP con una sensibilidad del 90% y un valor predictivo positivo de 94%, a pesar de esto hasta el momento no hay disponibles test clínicos para dicha detección (36).

La *microseminoprotein-beta* (MSMB) es la segunda proteína más abundante encontrada en el semen después del PSA y su función es la de controlar la apoptosis celular (37). A diferencia del PSA, la MSMB no está regulada directamente por los andrógenos (38). Estudios en humanos sugieren que la MSMB se puede expresar en un número de tejidos secretores y de las mucosas, aunque a niveles mucho más bajos que en la próstata (39).

Con el uso de la estrategia GWAS, por sus siglas en inglés “*genome-wide association studies*” (ver abajo), se ha podido asociar una mutación de nucleótido simple o SNP presente en el promotor del MSMB con un riesgo elevado de desarrollar CP (variación en la secuencia de ADN que afecta a una sola base de nucleótidos registrada en las bases de datos del *Gen Bank* como “rs10993994”). La localización del promotor del alelo defectuoso y su habilidad para reducir la actividad del promotor sugiere que el alelo de riesgo rs10993994 puede resultar en la disminución de MSMB en el tejido prostático normal, lo que llevaría a un incremento en el riesgo de CP (40). Este alelo es frecuente y se presenta en un 30%-40% de los europeos y en un 70% - 80% de los africanos. Esta asociación parece ser independiente de la edad de diagnóstico y del grado tumoral (41). Diversos trabajos han estudiado la expresión de MSMB en el cáncer de próstata y han encontrado niveles elevados de MSMB en tejidos benignos cuando lo comparan con tejido neoplásico (41). La casi completa pérdida de MSMB en el carcinoma prostático intraepitelial sugiere que la reducción de MSMB es un evento temprano en la carcinogénesis que consiste en la asociación entre el riesgo de cáncer de próstata y el genotipo rs10993994 (variante anotada en base de datos del *Gen Bank* (GB)) (40).

Terapia blanco-específica y predictores de sensibilidad al tratamiento:

Esta enfermedad tiene una gran variabilidad en cuanto a su agresividad, llevando a que un grupo de pacientes estén sobre tratados y se generen importantes efectos secundarios e innecesarios, ya que esta enfermedad no será la causa de su muerte. Por estas razones es de vital importancia (tanto o más que su diagnóstico) poder predecir su comportamiento y la sensibilidad al tratamiento. Los Biomarcadores podrían aportar datos en cuanto a que tratamiento elegir para un individuo en particular, mejorando la eficacia de los mismos (ver sección anterior).

En 1941, Huggins fue el primero en demostrar que la castración era un tratamiento efectivo en los pacientes con cáncer de próstata (42); desde entonces, los esfuerzos han continuado en la ablación del receptor de andrógeno (AR), frecuentemente involucrado en esta enfermedad. Desgraciadamente, aunque la ablación androgénica o terapia de privación androgénica (ADT) es efectiva inicialmente, sorpresivamente, el cáncer vuelve a desarrollarse en 80% de los casos. Además, las recurrencias comúnmente están asociadas a la reactivación del AR (43). Es aquí donde la genómica ha sido una herramienta fundamental para lograr disminuir nuevamente (y aún más) los niveles de andrógenos en sangre mediante la aplicación de terapias dirigidas.

Entendemos por terapias dirigidas del cáncer a aquellas que se basan en fármacos u otras sustancias que bloquean el crecimiento y la diseminación del cáncer al interferir en moléculas específicas o "blancos moleculares" que participan de alguna forma en el crecimiento, avance y diseminación del cáncer. Las terapias dirigidas se eligen o diseñan deliberadamente para que actúen en sus blancos, a diferencia de las quimioterapias regulares que destruyen células que proliferan normalmente. Por lo tanto la genómica es la piedra angular de la medicina de precisión, utilizando información de los genes y proteínas para prevenir, diagnosticar y tratar enfermedades. La determinación de los blancos terapéuticos en el cáncer se logra mediante la identificación de las proteínas que están presentes en las células cancerosas pero no en las

células normales o que son más abundantes en las células cancerosas. Serían blancos posibles, especialmente si se consigue evidencia de su participación en el crecimiento o la supervivencia de las células.

Actualmente, el tratamiento local del CP (prostatectomía y radioterapia) puede generar efectos secundarios importantes como la incontinencia urinaria y la impotencia. Estas morbilidades son muy importantes, sobre todo para aquellas personas que han sido sobre tratadas. Es por eso que se necesitan nuevos tratamientos, mucho más específicos y que generen menos morbilidad al paciente.

Ejemplos de estas terapias dirigidas y de los aportes de la genómica a la identificación de blancos es el caso de las drogas Abiraterona y Enzalutamide.

Abiraterona

La Abiraterona actúa como un inhibidor selectivo de la enzima CYP17A1, una enzima clave en la ruta esteroidogénica que produce progestinas, mineralocorticoides, glucocorticoides, andrógenos y estrógenos. La Abiraterona ha logrado el bloqueo específico de la biosíntesis de andrógenos en la glándula suprarrenal y en los testículos (en concomitancia con aquellos tumores de próstata que auto producen testosterona) sin generar bloqueo en las enzimas CYP11B1 y CYP11B2, las cuales son responsables de sintetizar glucocorticoides y mineralocorticoides. Esta es una diferencia importante con el metronidazol, que afecta a todo el eje hormonal, produciendo grandes efectos secundarios (44). Al inhibir selectivamente CYP17A1, se logra un estado de “hiper-castración” sin afectar otros ejes hormonales, reduciendo únicamente los niveles de testosterona de 20-50ng/dl a 1-2ng/dl. Además, la inhibición de dicha enzima lleva a una disminución de la testosterona en las células tumorales y por lo tanto limita su proliferación maligna.

El estudio “COU-AA301” evaluó la Abiterona más Prednisona *versus* Prednisona. En estos hombres, que poseían un CP resistente a la castración, la Abiterona mejoró significativamente la sobrevida [*hazard ratio* (HR) = 0.65] con pocos efectos secundarios sobre la función hepática y niveles elevados de mineralocorticoides (45). Posteriormente se diseñó el estudio “COU-AA302” en

el que se comparó Abiraterona + Prednisona con placebo + Prednisona, incluyó a 1.088 pacientes con CP resistente a la castración, con sintomatología leve o asintomáticos y sin haber recibido tratamiento quimioterápico. Los participantes fueron distribuidos aleatoriamente a recibir Abiraterona o placebo, ambos con prednisona. Los objetivos principales del estudio fueron la supervivencia libre de progresión (SLP), determinada radiográficamente, y la supervivencia global (SG). El análisis interino estaba previsto en el diseño del estudio y ha tenido lugar al alcanzarse el 55% de los eventos de SG predeterminados. En el análisis, la SLP fue de 16,5 meses en el grupo con Abiraterona y de 8,3 meses en el grupo con placebo (*HR*: 0,53; intervalo de confianza del 95% [IC95%]: 0,45-0,62; $p < 0,0001$). La SG fue de 35,3 meses en el grupo con Abiraterona y de 30,1 meses en el grupo con placebo (*HR*: 0,79; IC95%: 0,66-0,96; $p = 0,0151$). En cuanto a los objetivos secundarios del estudio, estos también favorecieron claramente a Abiraterona. Así, el tiempo hasta el inicio del tratamiento quimioterápico fue de 26,5 meses con Abiraterona y de 16,8 meses con placebo (*HR*: 0,61; IC95%: 0,51-0,72; $p < 0,0001$). Por último, el tiempo hasta la progresión de los niveles del *PSA* fue de 11,1 meses con Abiraterona y de 5,6 meses con placebo (*HR*: 0,50; IC95%: 0,43-0,58; $p < 0,0001$).

En los estudios COU-AA-301 y COU-AA-302, un número significativamente menor de pacientes demostró resistencia a Abiraterona. Desde entonces, el interés se basa en identificar biomarcadores que puedan asociarse a tumores Abiraterona-sensibles, lo que permitiría aplicar una terapia dirigida. Un potencial biomarcador es la fusión de los genes *TMPRSS2-ERG*. Un estudio de 77 pacientes descubrió que el 80% de los pacientes que tenían la fusión de genes *TMPRSS2-ERG* y eran tratados con Abiraterona experimentaron una disminución de más del 90% de los niveles séricos de *PSA* (46).

En un estudio subsecuente al COU-AA-302, los mismos investigadores mostraron una limitación de la progresión y una tendencia superior hacia mayor supervivencia en aquellos hombres con reordenamientos del *ERG* en el tumor [22 frente a 16 meses; *HR* 0,59], mientras que esto no fue así en aquellos pacientes tratados con placebos (46-47). Sin embargo, en un estudio que examinó si la fusión *TMPRSS2-ERG* podría jugar un papel como biomarcador predictivo a la sensibilidad a la Abiraterona, no pudo ser demostrado ya que el

número de pacientes fue muy chico (48). En 2012, basado en parte en el descubrimiento de que la polimerasa 1(PARP-1) puede ser necesaria para el fenotipo maligno en células con reordenamiento ERG (49), un ensayo de fase II añadió un inhibidor de la PARP-1 (Veliparib) a la Abiraterona, lo cual está actualmente en marcha. Los hombres con CP resistente a la castración serán estratificados según la presencia de la fusión TMPRSS2-ERG y aleatorizados ya sea para Abiraterona más Veliparib o solo Abiraterona. Se cree que los resultados estarán para junio de 2015 [ClinicalTrials.gov / Identificador: NCT01576172].

Enzalutamida

Enzalutamida, previamente conocido como MDV3100, es un nuevo fármaco hormonal dirigido contra múltiples etapas de la vía de señalización del receptor de andrógenos (AR). Es uno de los representantes de una nueva familia de compuestos que han abierto la posibilidad de tratamiento hormonal en pacientes con CP resistente a la castración. Hasta hace poco, los pacientes que progresaban al tratamiento hormonal con análogos de la LHRH (*Luteinizing-hormone-releasing hormone*), los antiandrógenos, la Prednisona y el Ketoconazol, eran considerados hormono-refractarios. La alternativa de tratamiento era el "Docetaxel" y tras el fracaso a éste, el re-tratamiento con Docetaxel o el Cabazitaxel. A raíz de la publicación de los datos del estudio COU-AA-3011 con Abiraterona (50), se ha iniciado un camino novedoso que permite volver a un tratamiento hormonal tras recaída a Docetaxel. Abiraterona se está ahora abriendo camino hacia la primera línea como posible alternativa a Docetaxel gracias al recientemente publicado estudio COU-AA-302. Sin embargo queda todavía un camino por recorrer, pues la comparación entre ambos fármacos no se ha llevado a cabo. Es importante destacar que se trata de dos medicamentos totalmente distintos, Enzalutamida es una hormona y Abiraterona un citostático) con mecanismos de acción, toxicidad y tolerancia absolutamente diferentes.

Recientemente se presentó un estudio fase III, doble ciego, controlado, de Enzalutamida frente a placebo en pacientes con CP resistente a la castración, tras fracaso a quimioterapia (50-51). El placebo lo recibieron 399 pacientes. El

objetivo primario del estudio fue supervivencia global. No se requería el aporte de glucocorticoides, pero estaban permitidos. El estudio se cerró tras un análisis interino planeado en el momento cuando se llevaban contabilizadas 520 muertes. Posteriormente el estudio no fue ciego y se permitió que los pacientes del brazo control pudieran recibir Enzalutamida. La mediana de supervivencia en los pacientes del brazo de Enzalutamida fue de 18.4 meses frente a 13.6 meses, con un *HR* de 0.63 ($p < 0.001$). No obstante que el objetivo primario estaba conseguido, además se demostró la superioridad de Enzalutamida en cuanto a los objetivos secundarios: porcentaje de pacientes con descenso de *PSA* al 50% o más (54% vs 2%, $p < 0.001$), respuesta en tejidos blandos (29% vs 4%, $p < 0.001$), tasa de respuestas en cuanto a calidad de vida (43% vs 18%, $p < 0.001$), tiempo hasta la progresión de *PSA* (8.3 meses vs 3.0 meses, *HR* = 0.25, $p < 0.001$), supervivencia libre de progresión radiológica (8.3 meses vs 2.9 meses, *HR* = 0.40, $p < 0.001$) y tiempo hasta el primer evento óseo (16.7 meses vs 13.3. meses, *HR*= 0.69, $p < 0.001$). Los autores del estudio concluyen que Enzalutamida prolonga de forma significativa la supervivencia en pacientes con CP resistente a la castración tras quimioterapia (51). El uso de Enzalutamida representa una nueva estrategia dirigida al receptor de andrógenos que se administra por vía oral, el objetivo de la droga es inhibir el receptor de andrógenos mediante una unión irreversible al mismo. Esta unión impide la translocación nuclear del receptor, su unión al ADN y el reclutamiento de coactivadores (52).

Bases genómicas de la predisposición y patrones hereditarios del cáncer de próstata (CP):

El CP familiar se reporta en 1956 (53), pero la evidencia definitiva de una forma hereditaria de la enfermedad no apareció hasta 1992, cuando se completó el primer análisis de segregación (54). Estudios posteriores de segregación, los estudios de gemelos, de casos-controles, y estudios de cohortes proporcionan un fuerte apoyo para una predisposición genética al CP (55), con el riesgo de aumentar de 2 a 3 veces para los hombres con un historial familiar de la enfermedad en un pariente de primer grado. El riesgo

relativo (RR) se incrementa aún más, de 3 a 5 veces, si el familiar fue diagnosticado antes de los 65 años de edad o si hay 2 o más familiares con CP. La historia familiar es una de las indicaciones para el inicio de la prueba de PSA en edades tempranas, para la detección precoz del CP. Un análisis reciente de los datos del registro de gemelos en Scandinavia, de cáncer, estima la heredabilidad de CP en un 58% (95% IC: 52% -63%), que es más alto que la estimación inicial de incidencia debido a factores hereditarios 42% (IC del 95%: 29% -50 %) (56).

La búsqueda de genes susceptibles al CP, ha incluido estudios en familias, destinados a encontrar penetrancia leve, moderada o alta en variantes genéticas que conducen al CP hereditario o cáncer de próstata familiar y estudios de asociación de caso-control centrados en el descubrimiento de variantes genéticas comunes, de baja penetrancia, asociados con el riesgo de enfermedad en la población general. Hasta hace poco, estos estudios fueron obstaculizados por la falta de tecnología, pero la disponibilidad de plataformas genómicas basadas en matrices densas y NGS, ha acelerado el descubrimiento y caracterización de variantes moleculares asociados con el CP, principalmente en base a los estudios de asociación de genoma completo, (*genome-wide association studies* o GWAS, por sus siglas en inglés). Los GWAS son análisis comparativos del genoma entero de un grupo de individuos con una característica común, en este caso CP o un tipo de CP en especial, frente a una muestra de una población general.

Variación genética de la línea germinal

Las variantes de nucleótido simple (o SNPs por sus siglas en inglés) representan variaciones de ADN heredadas que pueden ser asociadas con el riesgo de desarrollar cáncer de próstata (CP) y otras enfermedades. Los GWAS han encontrado más de 90 SNPs comunes asociados con de riesgo general de alteraciones leves a moderadas de CP (57-59). En conjunto, se estima que estos SNPs explican alrededor de un tercio del riesgo global de desarrollar CP hereditario (60). Es importante notar que estas variantes no se asocian únicamente con casos de CP clínicamente agresivo.

Varios estudios se centraron específicamente en los casos de CP que cumplían los criterios de agresividad, ya sea sobre la base de características clínico-patológicas en el momento del diagnóstico (por ejemplo, el estadio tumoral superior, grado, y el nivel de PSA) o en la evidencia de progresión de la enfermedad (por ejemplo, metástasis) o la mortalidad específica del CP. Los resultados destacaron algunos SNPs que se asociaron con el fenotipo agresivo, pero también se asociaron con la forma indolente de la enfermedad (59, 61). Un estudio GWAS dirigido específicamente a la detección de variantes asociadas con características agresivas de la enfermedad, la progresión o el CP fatal, encontró un SNP en el cromosoma 15q13 (rs6497287 en GB) que fue significativamente asociado con el CP agresivo, si bien estábamos frente a un número relativamente pequeño de casos ($n = 202$) (62). El mayor meta-análisis desarrollado hasta el momento por *Al Olama y col.*, analizó 5.953 casos de CP agresivo definidos como Gleason 7 o mayor, o etapa localizada/difusa y 11.463 controles. Los investigadores encontraron una asociación (rs11672691 en GB) para un locus en el cromosoma 19q13 que era ligeramente más fuerte en el subconjunto de casos con enfermedad agresiva (OR = 1,12, IC del 95%: 1.3 a 1.21) en comparación con todos los casos combinados (OR = 1.08, 95 % CI: 01.05 a 01.12), pero en este caso la diferencia no fue significativa.

El CP letal es el fenotipo clínicamente más importante, pero el número de tales casos incluidos en los estudios genéticos hasta la fecha es reducido. Un estudio de GWAS limitado a 196 casos de mortalidad específica por CP (o PCSM por sus siglas en inglés) encontró una variante en el cromosoma 7q11 (rs6973814 en GB) que estaba en el límite significativo en un conjunto de datos de replicación (62). En otro análisis de SNPs en los genes de las vías biológicas definidas, considerando que afectan la progresión del CP, un estudio reciente encontró 22 variantes genéticas que se asocian de forma significativa ($p \leq 0.01$) con PCSM, y 5 SNPs fueron validados en una gran cohorte de pacientes con independencia de CP (63). Estos resultados requieren mayor validación, pero hacen hincapié en la importancia de los estudios que se centraron en el subgrupo de pacientes con la forma más agresiva y letal de la enfermedad.

Es importante destacar que, a pesar de que los SNPs comunes sólo confieren débil a moderado riesgo para el CP, algunos estudios indican que el riesgo de padecer CP aumenta con número de alelos asociados, antes mencionados, descritos que presente el individuo (59).

Variantes de número de copia heredadas.

Aunque los SNPs han sido considerados marcadores de gran alcance para identificar loci genéticos que contribuyen a la etiología de las enfermedades humanas, en los últimos años una nueva forma de la variación genética común se está analizando, se refiere a las variantes genómicas estructurales. Aunque se sabe que existe a nivel citogenético y molecular desde hace mucho tiempo (64), su prevalencia en un genoma de gran escala no fue descubierto hasta 2006 (65-66) y por supuesto no hubiese sido posible sin las aproximaciones genómicas.

Variantes genómicas estructurales desbalanceadas (que implican la pérdida o ganancia de material genético) se conocen como variantes de número de copia (o CNV por sus siglas en inglés) (67) y se estiman actualmente para abarcar más de un 6% del ADN de referencia humana (68). Como los SNPs, estas variantes ejercen efectos directos e indirectos sobre la transcripción de genes y por lo tanto sobre el fenotipo (69-70). Antes del descubrimiento de variaciones a gran escala en el genoma, se mostró que CNV en la línea germinal específica, es la causa de enfermedades Mendelianas esporádicas y muy penetrantes (71-73). Recientemente, se están mostrando cada vez más CNV que se asocian con enfermedades complejas (74-75), enfermedades neurológicas, tales como la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, entre otras (76).

La contribución de los CNV en la línea germinal al riesgo de CP también se ha investigado, proporcionando una capa adicional de complejidad a la genética del cáncer de próstata. *Cybulski y col.* demostraron que una delección en los exones 9 y 10 del gen de la quinasa CHEK2 se asoció con un mayor riesgo de CP (77). Dado su papel en el metabolismo de esteroides y la alta frecuencia de los polimorfismos, múltiples estudios se centraron en el papel de la enzima *di-phosphoglucuronosyltransferase uridina* (UGT) de la subclase 2B.

Específicamente, la UGT2B17 media la glucuronidación de la dihidrotestosterona en las células basales, mientras que UGT2B15 media la liquidación de T y dihidrotestosterona en las células epiteliales luminales (78). Algunas deleciones homocigóticas de UGT2B17 se asociarían con un mayor riesgo de CP (79-82), pero los datos generales han sido conflictivos (78). Hasta la fecha, el mayor estudio destinado a evaluar el papel de las CNV constitucional y el CP de riesgo se realizó en aproximadamente 2.000 hombres de la cohorte del Programa de Detección de Cáncer de Próstata Temprano Tirol (83), un programa de cribado del CP a nivel poblacional, que comenzó en 1993 y fue destinado a evaluar la utilidad de la detección intensiva del PSA en la reducción de la muerte específica por CP. Se analizaron un total de 238 CNVs bialélicos de baja frecuencia. De los CNVs detectados como asociados con alto riesgo, 2 fueron validados en una cohorte independiente y caracterizados (83).

Los primeros mapas de riesgo indican un locus 15q21.3 ($P = 7,7 \times 10^{-4}$, OR = 2,78) que se superpone un elemento potenciador no codificante que contiene múltiples sitios de unión del factor-AP-1 de transcripción. El segundo locus de riesgo ($P = 2,6 \times 10^{-3}$, OR = 4.8) se asigna al gen alfa-1,3-manosiloglicoproteína 4-beta-N-acetilglucosaminiltransferasa C (MGAT4C) en 12q21.31. En los ensayos in vitro de líneas celulares fue identificado este gen como un importante modulador de la proliferación celular y la migración tanto en las células benignas como en las del CP. Además, MGAT4C se sobreexpresa de forma significativa en el CP metastásico, cuando es comparado con el primario. Estas 2 asociaciones de riesgo se replicaron en una cohorte de PSA-seleccionado independiente de 800 hombres (15q21.3, combinado $P = 0,006$; 12q21.31, combinan $P = 0,026$). Estos hallazgos establecen no codificación y codificación de la línea germinal CNV como factores de riesgo significativos para la susceptibilidad al CP e implican su papel en el desarrollo y progresión de la enfermedad (78).

Tomados en conjunto, estos datos preliminares sugieren un papel clave de las variantes en el número de copias (CNV) en la progresión del CP.

Conclusiones:

La disminución en los costos en la secuenciación del ADN ha permitido facilitar la accesibilidad a los estudios genómicos y ampliar el campo de investigación. Se espera que dicha disminución en los costos reduzca la discordancia entre el avanzado conocimiento teórico y la aplicación en la práctica clínica actual (comunicación personal Dr. R. Cepellini). Como ejemplo de esto último, en nuestro medio carecemos de la detección de PCA3 con fin diagnóstico aunque numerosos estudios lo posicionan como un biomarcador más completo y eficaz para la detección precoz del cáncer de próstata (CP) que el PSA. Con respecto a los posibles biomarcadores de esta enfermedad, se han descrito numerosas moléculas que en principio se acercarían bastante a un biomarcador ideal. Sin embargo, pocas de estas se han logrado insertar en la práctica clínica habitual.

Producto del avance de tecnologías genómicas y la secuenciación del CP se lograron identificar mutaciones específicas y frecuentes en este cáncer, como por ejemplo los reordenamientos de los genes ETS. En relación a éste reordenamiento, de acuerdo a su presencia o ausencia, se pudo clasificar al CP en dos patrones de presentación, que posteriormente se relacionaron con entidades biológicas características, cada una asociándose a otros grupos de alteraciones genéticas específicas. En conjunto se facilita una mejor clasificación de los diferentes CP. Paralelamente, se describen alteraciones que se vinculan a la resistencia de tratamiento quimioterapéutico, apareciendo luego de iniciado el mismo. Lamentablemente, referentes clínicos en nuestro medio nos han manifestado que actualmente el perfil genómico del CP no determina una conducta en su accionar terapéutico.

Se han hecho grandes avances en el entendimiento de las bases genéticas del riesgo y predisposición al CP. Sin embargo la mayoría de los estudios sobre riesgo no fueron diseñados para evaluar adecuadamente el CP agresivo o letal (por ejemplo, suma de Gleason 8-10), sino más bien para consultar la susceptibilidad a la enfermedad en general, que se inclina hacia la inclusión de casos con enfermedad más indolente. Dada la creciente evidencia de la

heterogeneidad molecular del CP, los estudios de riesgo para detectar variantes en la línea germinal asociadas con la predisposición a distintas subclases moleculares del CP (es decir, TMPRSS2- cáncer de próstata positiva fusión ERG o cáncer de próstata mutante SPOP) serán seguramente concretados en un futuro próximo; siempre bajo la hipótesis de que el CP es una colección de distintos subtipos para los que los estudios de riesgo molecular-específicos pueden conducir a resultados más informativos.

Otro aporte importante de los análisis genómicos se da en el campo de las terapias blanco específicas. Estas se acercan cada día más a lograr una traducción clínica de los datos genómicos de próstata para los pacientes, con los ensayos clínicos frente a la señalización de andrógenos, activación de la vía PI3K, y reordenamientos de la familia ETS (cuya frecuencia lo colocan como un marcador aplicable en la mayoría de los pacientes con CP avanzado). Sin duda se ha abierto una nueva esperanza para los pacientes con CP resistente a la castración tras fracaso a quimioterapia.

En un futuro próximo los desafíos para la traducción de los logros actuales en la genómica del CP estarán determinados por la combinación óptima de tratamientos, que logren abordar al paciente conociendo sus características genómicas lo que finalmente repercutirá en un mejor tratamiento específico.

Agradecimientos:

El equipo de trabajo agradece al Prof. Dr. E. Barrios y a la Prof. Adj. Dra. María Ana Duhagon por su buena disponibilidad, tiempo dedicado y valiosos aportes para la realización de esta monografía. Del mismo modo para el Prof. Agdo. R. Cepellini por sus importantes aportes referidos al manejo clínico de esta enfermedad en nuestro medio.

Figuras:

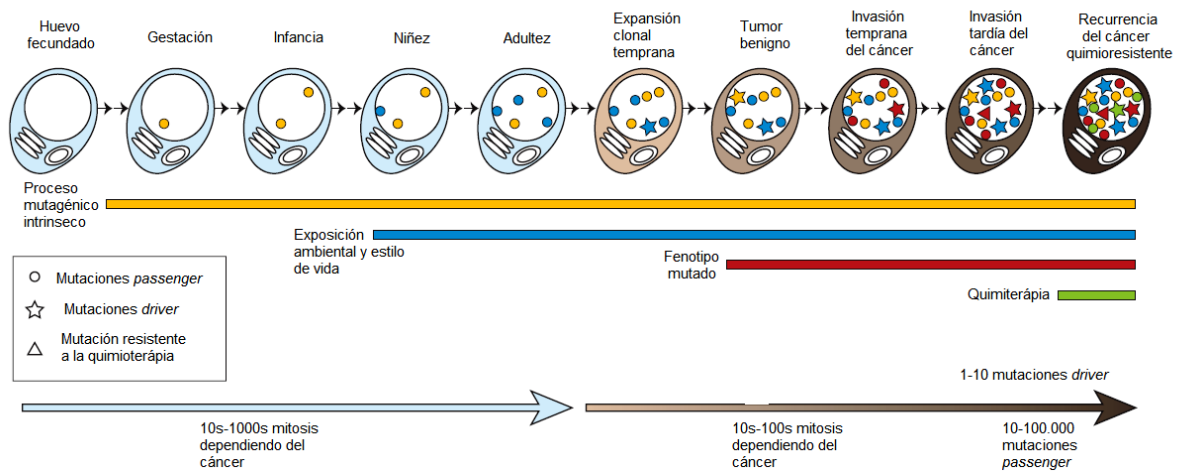


Figura 1: Linaje de las divisiones celulares mitóticas desde el huevo fecundado hasta la célula cancerosa, mostrando el transcurso de las mutaciones somáticas adquiridas por la célula tumoral y la progresión a la malignidad. (Tomado de (5)).

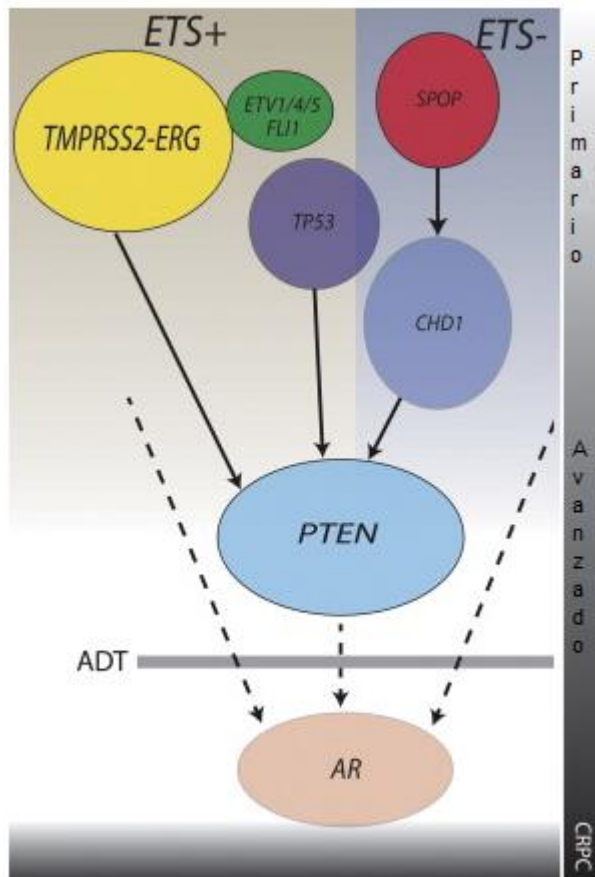


Figura 2: Alteraciones genómicas según la historia natural del cáncer de próstata.

Se muestran genes con lesiones genómicas en común (incluidas mutación, reordenamientos, o alteraciones en el número de copias). Las flechas continuas representan la relación temporal entre dos eventos, Eventos de aparición temprana se ilustran en el extremo superior de la imagen. Eventos de aparición tardía se muestran debajo. Tumores con fusión de ETS (ETS+) se muestran a la izquierda; tumores ETS negativos (ETS -) se muestran del lado derecho. ADT = terapia de deprivación androgénica. CRPC =cáncer de próstata resistente a la castración (Adaptado de (7)).

Referencias Bibliográficas:

1. Kim J, Yu J. Interrogating genomic and epigenomic data to understand prostate cancer. *Biochim Biophys Acta*. 2012 Apr;1825(2):186-96.
2. Beltran H, Yelensky R, Frampton GM, Park K, Downing SR, MacDonald TY, et al. Targeted next-generation sequencing of advanced prostate cancer identifies potential therapeutic targets and disease heterogeneity. *Eur Urol*. 2013 May;63(5):920-6.
3. Gleason DF, Mellinger GT. Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging. *J Urol*. 1974 Jan;111(1):58-64.
4. Robbins SLKVCRS. Robbins and Cotran pathologic basis of disease. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier; 2010.
5. Stratton MR, Campbell PJ, Futreal PA. The cancer genome. *Nature*. 2009 Apr 9;458(7239):719-24.
6. Meldrum C, Doyle MA, Tothill RW. Next-generation sequencing for cancer diagnostics: a practical perspective. *Clin Biochem Rev*. 2011 Nov;32(4):177-95.
7. Barbieri CE, Tomlins SA. The prostate cancer genome: perspectives and potential. *Urol Oncol*. 2014 Jan;32(1):53 e15-22.
8. Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S, Dhanasekaran SM, Mehra R, Sun XW, et al. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science*. 2005 Oct 28;310(5748):644-8.
9. Beltran H, Rubin MA. New strategies in prostate cancer: translating genomics into the clinic. *Clin Cancer Res*. 2013 Feb 1;19(3):517-23.
10. Barbieri CE, Baca SC, Lawrence MS, Demichelis F, Blattner M, Theurillat JP, et al. Exome sequencing identifies recurrent SPOP, FOXA1 and MED12 mutations in prostate cancer. *Nat Genet*. 2012 Jun;44(6):685-9.
11. Taylor BS, Schultz N, Hieronymus H, Gopalan A, Xiao Y, Carver BS, et al. Integrative genomic profiling of human prostate cancer. *Cancer Cell*. 2010 Jul 13;18(1):11-22.
12. Lindberg J, Mills IG, Klevebring D, Liu W, Neiman M, Xu J, et al. The mitochondrial and autosomal mutation landscapes of prostate cancer. *Eur Urol*. 2013 Apr;63(4):702-8.

13. Baca SC, Prandi D, Lawrence MS, Mosquera JM, Romanel A, Drier Y, et al. Punctuated evolution of prostate cancer genomes. *Cell*. 2013 Apr 25;153(3):666-77.
14. Aparicio A, Den RB, Knudsen KE. Time to stratify? The retinoblastoma protein in castrate-resistant prostate cancer. *Nat Rev Urol*. 2011 Oct;8(10):562-8.
15. Grasso CS, Wu YM, Robinson DR, Cao X, Dhanasekaran SM, Khan AP, et al. The mutational landscape of lethal castration-resistant prostate cancer. *Nature*. 2012 Jul 12;487(7406):239-43.
16. Attard G, Swennenhuis JF, Olmos D, Reid AH, Vickers E, A'Hern R, et al. Characterization of ERG, AR and PTEN gene status in circulating tumor cells from patients with castration-resistant prostate cancer. *Cancer Res*. 2009 Apr 1;69(7):2912-8.
17. Cairns P, Evron E, Okami K, Halachmi N, Esteller M, Herman JG, et al. Point mutation and homozygous deletion of PTEN/MMAC1 in primary bladder cancers. *Oncogene*. 1998 Jun 18;16(24):3215-8.
18. Berger MF, Lawrence MS, Demichelis F, Drier Y, Cibulskis K, Sivachenko AY, et al. The genomic complexity of primary human prostate cancer. *Nature*. 2011 Feb 10;470(7333):214-20.
19. Lapointe J, Li C, Giacomini CP, Salari K, Huang S, Wang P, et al. Genomic profiling reveals alternative genetic pathways of prostate tumorigenesis. *Cancer Res*. 2007 Sep 15;67(18):8504-10.
20. Choucair K, Ejdelman J, Brimo F, Aprikian A, Chevalier S, Lapointe J. PTEN genomic deletion predicts prostate cancer recurrence and is associated with low AR expression and transcriptional activity. *BMC Cancer*. 2012;12:543.
21. Haffner MC, Aryee MJ, Toubaji A, Esopi DM, Albadine R, Gurel B, et al. Androgen-induced TOP2B-mediated double-strand breaks and prostate cancer gene rearrangements. *Nat Genet*. 2010 Aug;42(8):668-75.
22. Tomlins SA, Bjartell A, Chinnaiyan AM, Jenster G, Nam RK, Rubin MA, et al. ETS gene fusions in prostate cancer: from discovery to daily clinical practice. *Eur Urol*. 2009 Aug;56(2):275-86.
23. Weischenfeldt J, Simon R, Feuerbach L, Schlangen K, Weichenhan D, Minner S, et al. Integrative genomic analyses reveal an androgen-driven

somatic alteration landscape in early-onset prostate cancer. *Cancer Cell*. 2013 Feb 11;23(2):159-70.

24. Rubin MA, Maher CA, Chinnaiyan AM. Common gene rearrangements in prostate cancer. *J Clin Oncol*. 2011 Sep 20;29(27):3659-68.

25. Lindberg J, Klevebring D, Liu W, Neiman M, Xu J, Wiklund P, et al. Exome sequencing of prostate cancer supports the hypothesis of independent tumour origins. *Eur Urol*. 2013 Feb;63(2):347-53.

26. Liu W, Lindberg J, Sui G, Luo J, Egevad L, Li T, et al. Identification of novel CHD1-associated collaborative alterations of genomic structure and functional assessment of CHD1 in prostate cancer. *Oncogene*. 2012 Aug 30;31(35):3939-48.

27. Varambally S, Dhanasekaran SM, Zhou M, Barrette TR, Kumar-Sinha C, Sanda MG, et al. The polycomb group protein EZH2 is involved in progression of prostate cancer. *Nature*. 2002 Oct 10;419(6907):624-9.

28. Lapointe J, Li C, Higgins JP, van de Rijn M, Bair E, Montgomery K, et al. Gene expression profiling identifies clinically relevant subtypes of prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Jan 20;101(3):811-6.

29. Setlur SR, Mertz KD, Hoshida Y, Demichelis F, Lupien M, Perner S, et al. Estrogen-dependent signaling in a molecularly distinct subclass of aggressive prostate cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2008 Jun 4;100(11):815-25.

30. Borno ST, Fischer A, Kerick M, Falth M, Laible M, Brase JC, et al. Genome-wide DNA methylation events in TMPRSS2-ERG fusion-negative prostate cancers implicate an EZH2-dependent mechanism with miR-26a hypermethylation. *Cancer Discov*. 2012 Nov;2(11):1024-35.

31. Tomlins SA, Rhodes DR, Yu J, Varambally S, Mehra R, Perner S, et al. The role of SPINK1 in ETS rearrangement-negative prostate cancers. *Cancer Cell*. 2008 Jun;13(6):519-28.

32. Sita-Lumsden A, Dart DA, Waxman J, Bevan CL. Circulating microRNAs as potential new biomarkers for prostate cancer. *Br J Cancer*. 2013 May 28;108(10):1925-30.

33. Salagierski M, Schalken JA. Molecular diagnosis of prostate cancer: PCA3 and TMPRSS2:ERG gene fusion. *J Urol*. 2012 Mar;187(3):795-801.

34. van Gils MP, Hessels D, van Hooij O, Jannink SA, Peelen WP, Hanssen SL, et al. The time-resolved fluorescence-based PCA3 test on urinary

sediments after digital rectal examination; a Dutch multicenter validation of the diagnostic performance. *Clin Cancer Res.* 2007 Feb 1;13(3):939-43.

35. MacDonald JW, Ghosh D. COPA--cancer outlier profile analysis. *Bioinformatics.* 2006 Dec 1;22(23):2950-1.

36. Hessels D, Smit FP, Verhaegh GW, Witjes JA, Cornel EB, Schalken JA. Detection of TMPRSS2-ERG fusion transcripts and prostate cancer antigen 3 in urinary sediments may improve diagnosis of prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 2007 Sep 1;13(17):5103-8.

37. Lilja H, Abrahamsson PA. Three predominant proteins secreted by the human prostate gland. *Prostate.* 1988;12(1):29-38.

38. Imasato Y, Xuan JW, Sakai H, Izawa JI, Saito Y, Chin JL, et al. PSP94 expression after androgen deprivation therapy: a comparative study with prostate specific antigen in benign prostate and prostate cancer. *J Urol.* 2000 Nov;164(5):1819-24.

39. Yanai I, Benjamin H, Shmoish M, Chalifa-Caspi V, Shklar M, Ophir R, et al. Genome-wide midrange transcription profiles reveal expression level relationships in human tissue specification. *Bioinformatics.* 2005 Mar 1;21(5):650-9.

40. Whitaker HC, Kote-Jarai Z, Ross-Adams H, Warren AY, Burge J, George A, et al. The rs10993994 risk allele for prostate cancer results in clinically relevant changes in microseminoprotein-beta expression in tissue and urine. *PLoS One.* 2010;5(10):e13363.

41. Kader AK, Sun J, Isaacs SD, Wiley KE, Yan G, Kim ST, et al. Individual and cumulative effect of prostate cancer risk-associated variants on clinicopathologic variables in 5,895 prostate cancer patients. *Prostate.* 2009 Aug 1;69(11):1195-205.

42. Huggins C, Hodges CV. Studies on prostatic cancer: I. The effect of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. 1941. *J Urol.* 2002 Jul;168(1):9-12.

43. Shafi AA, Yen AE, Weigel NL. Androgen receptors in hormone-dependent and castration-resistant prostate cancer. *Pharmacol Ther.* 2013 Dec;140(3):223-38.

44. Small EJ, Halabi S, Dawson NA, Stadler WM, Rini BI, Picus J, et al. Antiandrogen withdrawal alone or in combination with ketoconazole in

androgen-independent prostate cancer patients: a phase III trial (CALGB 9583). *J Clin Oncol*. 2004 Mar 15;22(6):1025-33.

45. Fizazi K, Scher HI, Molina A, Logothetis CJ, Chi KN, Jones RJ, et al. Abiraterone acetate for treatment of metastatic castration-resistant prostate cancer: final overall survival analysis of the COU-AA-301 randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 study. *Lancet Oncol*. 2012 Oct;13(10):983-92.

46. Ryan CJ, Smith MR, de Bono JS, Molina A, Logothetis CJ, de Souza P, et al. Abiraterone in metastatic prostate cancer without previous chemotherapy. *N Engl J Med*. 2013 Jan 10;368(2):138-48.

47. Attard G, Reid AH, A'Hern R, Parker C, Oommen NB, Folkard E, et al. Selective inhibition of CYP17 with abiraterone acetate is highly active in the treatment of castration-resistant prostate cancer. *J Clin Oncol*. 2009 Aug 10;27(23):3742-8.

48. Danila DC, Fleisher M, Scher HI. Circulating tumor cells as biomarkers in prostate cancer. *Clin Cancer Res*. 2011 Jun 15;17(12):3903-12.

49. Suzman DL, Antonarakis ES. Castration-resistant prostate cancer: latest evidence and therapeutic implications. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*. 2014 April 14, 2014.

50. Scher HI, Fizazi K, Saad F, Taplin ME, Sternberg CN, Miller K, et al. Increased survival with enzalutamide in prostate cancer after chemotherapy. *N Engl J Med*. 2012 Sep 27;367(13):1187-97.

51. de Bono JS, Logothetis CJ, Molina A, Fizazi K, North S, Chu L, et al. Abiraterone and increased survival in metastatic prostate cancer. *N Engl J Med*. 2011 May 26;364(21):1995-2005.

52. Wu Y, Rosenberg JE, Taplin ME. Novel agents and new therapeutics in castration-resistant prostate cancer. *Curr Opin Oncol*. 2011 May;23(3):290-6.

53. Morganti G, Gianferrari L, Cresseri A, Arrigoni G, Lovati G. [Clinico-statistical and genetic research on neoplasms of the prostate]. *Acta Genet Stat Med*. 1956;6(2):304-5.

54. Carter BS, Beaty TH, Steinberg GD, Childs B, Walsh PC. Mendelian inheritance of familial prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992 Apr 15;89(8):3367-71.

55. Langeberg WJ, Isaacs WB, Stanford JL. Genetic etiology of hereditary prostate cancer. *Front Biosci*. 2007;12:4101-10.

56. Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK, Iliadou A, Kaprio J, Koskenvuo M, et al. Environmental and heritable factors in the causation of cancer--analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. *N Engl J Med*. 2000 Jul 13;343(2):78-85.
57. Varghese JS, Easton DF. Genome-wide association studies in common cancers--what have we learnt? *Curr Opin Genet Dev*. 2010 Jun;20(3):201-9.
58. Goh CL, Schumacher FR, Easton D, Muir K, Henderson B, Kote-Jarai Z, et al. Genetic variants associated with predisposition to prostate cancer and potential clinical implications. *J Intern Med*. 2012 Apr;271(4):353-65.
59. Amin AI, Olama A, Kote-Jarai Z, Schumacher FR, Wiklund F, Berndt SI, Benlloch S, et al. A meta-analysis of genome-wide association studies to identify prostate cancer susceptibility loci associated with aggressive and non-aggressive disease. *Hum Mol Genet*. 2013 Jan 15;22(2):408-15.
60. Eeles RA, Olama AA, Benlloch S, Saunders EJ, Leongamornlert DA, Tymrakiewicz M, et al. Identification of 23 new prostate cancer susceptibility loci using the iCOGS custom genotyping array. *Nat Genet*. 2013 Apr;45(4):385-91, 91e1-2.
61. Duggan D, Zheng SL, Knowlton M, Benitez D, Dimitrov L, Wiklund F, et al. Two genome-wide association studies of aggressive prostate cancer implicate putative prostate tumor suppressor gene DAB2IP. *J Natl Cancer Inst*. 2007 Dec 19;99(24):1836-44.
62. FitzGerald LM, Kwon EM, Conomos MP, Kolb S, Holt SK, Levine D, et al. Genome-wide association study identifies a genetic variant associated with risk for more aggressive prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2011 Jun;20(6):1196-203.
63. Lin DW, FitzGerald LM, Fu R, Kwon EM, Zheng SL, Kolb S, et al. Genetic variants in the LEPR, CRY1, RNASEL, IL4, and ARVCF genes are prognostic markers of prostate cancer-specific mortality. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2011 Sep;20(9):1928-36.
64. Sebat J, Lakshmi B, Troge J, Alexander J, Young J, Lundin P, et al. Large-scale copy number polymorphism in the human genome. *Science*. 2004 Jul 23;305(5683):525-8.

65. Iafrate AJ, Feuk L, Rivera MN, Listewnik ML, Donahoe PK, Qi Y, et al. Detection of large-scale variation in the human genome. *Nat Genet.* 2004 Sep;36(9):949-51.
66. Freeman JL, Perry GH, Feuk L, Redon R, McCarroll SA, Altshuler DM, et al. Copy number variation: new insights in genome diversity. *Genome Res.* 2006 Aug;16(8):949-61.
67. Abecasis GR, Auton A, Brooks LD, DePristo MA, Durbin RM, Handsaker RE, et al. An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. *Nature.* 2012 Nov 1;491(7422):56-65.
68. Banerjee S, Oldridge D, Poptsova M, Hussain WM, Chakravarty D, Demichelis F. A computational framework discovers new copy number variants with functional importance. *PLoS One.* 2011;6(3):e17539.
69. Schlattl A, Anders S, Waszak SM, Huber W, Korbel JO. Relating CNVs to transcriptome data at fine resolution: assessment of the effect of variant size, type, and overlap with functional regions. *Genome Res.* 2011 Dec;21(12):2004-13.
70. Ledbetter DH, Riccardi VM, Airhart SD, Strobel RJ, Keenan BS, Crawford JD. Deletions of chromosome 15 as a cause of the Prader-Willi syndrome. *N Engl J Med.* 1981 Feb 5;304(6):325-9.
71. Nelis E, Van Broeckhoven C, De Jonghe P, Lofgren A, Vandenberghe A, Latour P, et al. Estimation of the mutation frequencies in Charcot-Marie-Tooth disease type 1 and hereditary neuropathy with liability to pressure palsies: a European collaborative study. *Eur J Hum Genet.* 1996;4(1):25-33.
72. Wise CA, Garcia CA, Davis SN, Heju Z, Pentao L, Patel PI, et al. Molecular analyses of unrelated Charcot-Marie-Tooth (CMT) disease patients suggest a high frequency of the CMT1A duplication. *Am J Hum Genet.* 1993 Oct;53(4):853-63.
73. Stankiewicz P, Lupski JR. Structural variation in the human genome and its role in disease. *Annu Rev Med.* 2010;61:437-55.
74. Zhang F, Gu W, Hurles ME, Lupski JR. Copy number variation in human health, disease, and evolution. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2009;10:451-81.
75. Kathiresan S, Voight BF, Purcell S, Musunuru K, Ardissino D, Mannucci PM, et al. Genome-wide association of early-onset myocardial infarction with

single nucleotide polymorphisms and copy number variants. *Nat Genet.* 2009 Mar;41(3):334-41.

76. Frank B, Bermejo JL, Hemminki K, Sutter C, Wappenschmidt B, Meindl A, et al. Copy number variant in the candidate tumor suppressor gene MTUS1 and familial breast cancer risk. *Carcinogenesis.* 2007 Jul;28(7):1442-5.

77. Setlur SR, Chen CX, Hossain RR, Ha JS, Van Doren VE, Stenzel B, et al. Genetic variation of genes involved in dihydrotestosterone metabolism and the risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2010 Jan;19(1):229-39.

78. Gallagher CJ, Kadlubar FF, Muscat JE, Ambrosone CB, Lang NP, Lazarus P. The UGT2B17 gene deletion polymorphism and risk of prostate cancer. A case-control study in Caucasians. *Cancer Detect Prev.* 2007;31(4):310-5.

79. Karypidis AH, Olsson M, Andersson SO, Rane A, Ekstrom L. Deletion polymorphism of the UGT2B17 gene is associated with increased risk for prostate cancer and correlated to gene expression in the prostate. *Pharmacogenomics J.* 2008 Apr;8(2):147-51.

80. Olsson M, Lindstrom S, Haggkvist B, Adami HO, Balter K, Stattin P, et al. The UGT2B17 gene deletion is not associated with prostate cancer risk. *Prostate.* 2008 Apr 1;68(5):571-5.

81. Park J, Chen L, Ratnashinge L, Sellers TA, Tanner JP, Lee JH, et al. Deletion polymorphism of UDP-glucuronosyltransferase 2B17 and risk of prostate cancer in African American and Caucasian men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006 Aug;15(8):1473-8.

82. Bartsch G, Horninger W, Klocker H, Pelzer A, Bektic J, Oberaigner W, et al. Tyrol Prostate Cancer Demonstration Project: early detection, treatment, outcome, incidence and mortality. *BJU Int.* 2008 Apr;101(7):809-16.

83. Oberaigner W, Horninger W, Klocker H, Schonitzer D, Stuhlinger W, Bartsch G. Reduction of prostate cancer mortality in Tyrol, Austria, after introduction of prostate-specific antigen testing. *Am J Epidemiol.* 2006 Aug 15;164(4):376-84.