

11246



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
DEPARTAMENTO DE UROLOGIA
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MEDICAS Y NUTRICION
SALVADOR ZUBIRAN**

**FRECUENCIA DE DESARROLLO DE CANCER DE PROSTATA
DURANTE 7 AÑOS DE SEGUIMIENTO EN UNA COHORTE
DE SUJETOS CON LA FORMA MUTADA DEL GEN
DE INTERLEUCINA 2**

T E S I S

**DR. PEDRO PALACIOS SANCHEZ
PROGRAMA DE ESPECIALIZACION EN UROLOGIA
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM**

**TUTOR:
DR. FERNANDO GABILONDO NAVARRO
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACION EN
UROLOGIA INNSZ**

**CO-TUTOR
DR. VICTOR FIGUEROA GRANADOS
MAESTRO EN CIENCIAS, INVESTIGADOR ASOCIADO DEL INNSZ**



CIUDAD DE MEXICO, SEPTIEMBRE DE 2005

m348079



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Pedro Pokew
Sanchez

FECHA: 19-09-2005

FIRMA: 



SUBDIVISION DE ESPECIALIZACION
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
U.N.A.M.

TUTOR:
DR. FERNANDO GABILONDO NAVARRO
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACION EN UROLOGIA
INNSZ

DR. GUILLERMO FERIA BERNAL
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE UROLOGIA
INNSZ



INCMNSZ

INSTITUTO NACIONAL
DE CIENCIAS MEDICAS Y NUTRICION
"DR. SALVADOR ZUBIRAN"

DIRECCION DE ENSEÑANZA


DR. LUIS FERNANDO USCANGA DOMINGUEZ
DIRECTOR DE ENSEÑANZA
INNSZ

Resumen

Introducción

El cáncer de próstata (Ca P) es el cáncer más frecuente diagnosticado en hombres mayores de 65 años. La interleucina 2 (IL-2) es una inmunolinfocina que tiene un papel importante en la vigilancia inmunológica antitumoral. Existen dos polimorfismos en la secuencia del gen de la IL-2, una silente y otra más en una región promotora.

Objetivo

Establecer si existe una asociación en una de las formas mutadas de este polimorfismo y el diagnóstico de Ca P.

Material y Métodos

Estudio prospectivo de casos (Ca P) y controles (HP) en una cohorte de 7 años. Determinamos por técnicas de estudio del ADN el polimorfismo (PCR y fragmentos de restricción e inmunohistoquímica) del gen de IL-2.

Resultados

Analizamos 105 pacientes con un seguimiento promedio de 73.1 meses, 53 con HP (50.5%) y 52 con Ca P (49.5%). La distribución del alelo TT, TG y GG que representaron el 58.1, 39 y 2.9% respectivamente. El fenotipo mutado se encontró en 17 (32.1%) y el no mutado en 36 (67.9%) de los pacientes con HP y en 27 (51.9%) y 25 (48.1%) en los pacientes con Ca P con una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.049$) y una OR de 2.28 veces mayor el riesgo de tener Ca P en los portadores de la mutación.

Discusión

Esta mutación puede reflejar alteración estructural o cuantitativa de la IL-2, que disminuye la inmunovigilancia como defensa para neoplasias malignas.

Conclusión

Encontramos una relación entre una mutación en el gen de la IL-2 y el Ca P, no pudimos establecer una relación con los factores de riesgo de mal pronóstico para esta neoplasia, quizá por el tamaño de la muestra, por lo que consideramos validar este estudio con un mayor número de pacientes.

Contenido

Portada

Resumen 3

Índice 4

Abreviaturas 5

I. Introducción 6

II. Justificación 19

III. Objetivos 20

IV. Hipótesis 21

V. Material y métodos 22

VI. Recursos 31

VII. Consideraciones éticas 32

VIII. Factibilidad 33

IX. Resultados 34

X. Discusión 38

XI. Conclusiones 43

XII. Bibliografía 45

XIII. Apéndices

1. Flujograma 50

2. Etapificación del cáncer de próstata 51

3. Hoja de recolección de datos 53

Lista de abreviaturas

ADN	ácido desoxirribonucleico
APE	antígenos prostático
específico	
BTRP-Us	biopsia trans-rectal de
próstata guiada por ultrasonido	
Ca P	cáncer de próstata (para los
fines de este estudio siempre es adenocarcinoma)	
ELISA	Análisis de tinción inmuno-
enzimática	
HP	Hiperplasia prostática
INNSZ	Instituto Nacional de Ciencias
Médicas y Nutrición Salvador Zubirán	
IL 2	Interleucina 2
Inhibidor LH-RH	Inhibidor de hormona
luteinizante	
IHQ	Inmunohistoquímica
LAK (células)	Células asesinas activadas por
linfocinas	
PCR	Reacción en cadena de
polimerasa	
PB	Pares de bases
RFLP	Polimorfismo a lo largo de un
fragmento de restricción	
ARNm	ácido ribonucleico mensajero
RT-PCR	Reacción en cadena de
polimerasa/transcriptasa inversa	
PsSN	Polimorfismos de un solo
nucleótido	
TIL	Linfocitos infiltrantes de
tumor	

I. Introducción

El cáncer de próstata (Ca P) es una entidad patológica con una elevada incidencia, es el cáncer más frecuentemente diagnosticado en hombres en varios países desarrollados, especialmente en países occidentales. La incidencia ha aumentado entre las décadas de los ochentas y noventas, en gran medida como resultado de la introducción de pruebas diagnósticas de detección como el antígeno prostático específico (APE); si bien la incidencia ha aumentado en pacientes de menor edad (<65 años) así como los estadios bajos; ésta ha disminuido en pacientes de mayor edad, así como la enfermedad metastásica. La incidencia se ha duplicado, de 86 a 179 por 100,000 habitantes por año en Estados Unidos ⁶. Aunque la mortalidad había aumentado hasta hace una par de décadas, ahora parece disminuir, sin embargo el cáncer prostático clínicamente evidente aún afecta 1 de cada 6 norteamericanos.

En México el Ca P es la neoplasia maligna más frecuente en la población masculina mayor de 65 años, con una tasa de prevalencia de 71.7 por 100,000 habitantes. Con una mortalidad de 14.8% que va en aumento (de 2.79 a 3.75 por 100,000 habitantes) representando la muerte en 22 de 100 pacientes ⁵¹.

Las pruebas de detección como APE y el tacto rectal permiten sospechar tempranamente esta neoplasia, basta señalar que con un periodo de hasta cinco años, una elevación del APE puede preceder a los síntomas clínicos relacionados con el Ca P.

La confirmación diagnóstica de malignidad se obtiene a través de la biopsia trans-rectal guiada por ultrasonido (BTRP-Us), y no por sí solo por el ultrasonido; el objetivo principal es obtener material representativo de todos los segmentos de dicho órgano, lo que por otros métodos no se alcanza ¹⁴.

En pacientes mayores de 60 años con APE elevado sin evidencia clínica o de laboratorio de inflamación o infección se puede encontrar Ca P hasta en el 33%¹⁰.

La estirpe más común de todas las series de los Ca P es el adenocarcinoma.

Si bien, la detección temprana de Ca P mejora las posibilidades de curación, ésta solamente ha tenido un impacto discreto en la supervivencia específica de esta neoplasia ³⁸.

Existe un subgrupo de paciente con Ca P que posiblemente la detección temprana no necesariamente tenga una repercusión a largo plazo en la supervivencia, aún sin tratamiento.

La interleucina 2

La interleucina (IL-2) es una proteína de 15.5 kD que en el humano tiene 133 aminoácidos con diferentes grados de glucosilación ⁴¹. Es producida por los linfocitos T activados y tiene potentes efectos inmurreguladores sobre diferentes células del sistema inmune ³⁰. El ácido ribonucleico mensajero (ARNm) se detecta dentro de los primeros 30 minutos de la estimulación de las células T ⁴³. La transcripción del gen parece depender de la estimulación continua ³⁷, el nivel de producción máxima constante es alcanzado tras cuatro a ocho horas de la estimulación. Se atribuye a esta interleucina la función de potente inductor de la actividad de los linfocitos T humanos. Administrar IL-2 a dosis altas produce, según modelos

animales ^{7, 23}, un efecto antitumoral cuyos mecanismos son, entre otros, la inducción de la proliferación de células linfoides y la generación *in vivo* de células asesinas activadas por linfocinas (LAK) ^{30, 37}.

En el Ca P la administración de IL-2 ocasiona una disminución de cinco veces los valores del ARNm del APE expresado por las células en modelo *in vitro* LNCaP y afecta muchas de las propiedades de invasión y del fenotipo metastático ^{1, 27}. La transferencia de ácido desoxirribonucléico (ADN) complementario para el gen de IL-2 humano, por vía de vectores retrovirales en células tumorales ⁴⁴ produce remisión de tumores en estadios avanzados ²⁶ e inclusive la muerte celular de células neoplásicas subsecuentemente administradas ¹⁷. Probablemente con inmunidad protectora prolongada ³ como consecuencia de activación de linfocitos citotóxicos y otras células efectoras ⁴. Con estos hallazgos se ha utilizado la IL-2 como marcador independiente de remisión en el cáncer de urotelio ^{11, 31}, y se prueba también en cáncer renal en estudios pilotos ^{9, 42}.

En el Ca P existen modelos *in vivo* en los que transfectando (es decir insertando material genético para la expresión de esta linfocina por

medio de vectores) células con el ADN complementario de IL-2 humano, se generaron: 1. grandes cantidades de IL-2 sin aparentes efectos tóxicos. 2. regresión total de células tumorales mostrando infiltrado linfocitario al 2º día y necrosis al 6º, lo que indica que la IL-2 genera efectos antitumorales ^{21, 28}.

Disminución en el número de células IL-2 positivas en el tejido prostático de sujeto con cáncer prostático.

En un estudio transversal, hemos descrito la asociación entre una menor intensidad y número de linfocitos inmunopositivos para IL-2 detectados por inmunohistoquímica (IHQ) y el riesgo de Ca P.

Tabla1
Distribución de los 116 sujetos de estudio por cuartiles celulares IL-2 positivas

Cuartiles de células	Número Ca P	Número HP	Num de Sujetos por cuartil
Q1	27 (46.6%)	2 (3.4%)	29 (25%)
Q2	24 (41.4%)	12 (20.7%)	36 (36%)
Q3	7 (12.1%)	16 (27.6%)	23 (19.8%)
Q4	0	28 (48.3%)	28 (24.1%)
Total	58 (50%)	58 (50%)	116 (100%)

Por cada cuartil que incrementa el número de células positivas el riesgo de desarrollar cáncer aumenta 7.55 veces ⁴⁵.

No sabemos si en el humano el Ca P se asocia con la presencia de una mutación, una de las formas polimórficas del gen de IL-2 en uno o más *locus*.

Quizás esta u otras condiciones expliquen la disminución en la cantidad de esta proteína producida por los linfocitos T, de acuerdo con nuestro trabajo previo. Esta disminución puede ser regulada en su transcripción o por alteraciones estructurales de la proteína que expliquen una función disminuida de la citosina.

Polimorfismo del gen de IL-2

El polimorfismo genético es la ocurrencia en la población de dos o más alelos en un *locus* y con frecuencias mayores de las que puedan ser mantenidas por mutación: los polimorfismos son las diferencias genéticas que proporcionan una variación entre especies.

Existe material genético altamente preservado a lo largo de la evolución, sin embargo también existen formas variantes que no necesariamente representan alguna alteración patológica, a esto se le llama polimorfismo.

En la práctica, es difícil conocer la frecuencia de un alelo mantenido por mutación, de tal forma que una definición de polimorfismo frecuentemente utilizada es la presencia de los alelos más comunes en un *locus* con una frecuencia menor al 99%. Figura 1.

Dado que todos los polimorfismos finalmente reflejan alteraciones en la secuencia de ADN, estas pueden ser demostradas a través de la tecnología del ADN para proteínas alteradas, enzimas, antígenos, etc. Además, algunas características físicas anormales pueden indicar un polimorfismo. La clasificación de un polimorfismo se puede hacer por lo siguientes métodos de detección:

- a. Polimorfismos de ADN. Se identifica mediante la detección directa de la secuencia de ADN alterado.
- b. Productos del gen alterado que pueden o no tener repercusión clínica y que pueden ser detectados por la identificación de sus productos alterados.
- c. Alteraciones en las características físicas (el término polimorfismo comúnmente se aplica a mutaciones no peligrosas más que a mutaciones causantes de enfermedad.)
- d. Heteromorfismo cromosómico

El estudio de polimorfismo representa una herramienta clínica cuando es utilizado como marcador genético.

Se describieron dos polimorfismos de un solo nucleótido (PsSN) en las posiciones +116 y -330 de la secuencia del gen de IL-2, la primera es una mutación silente en el péptido líder y la segunda ocurre en la región del gen promotor y puede, por lo tanto, tener influencias en los niveles de producción de citosina ⁴⁷.

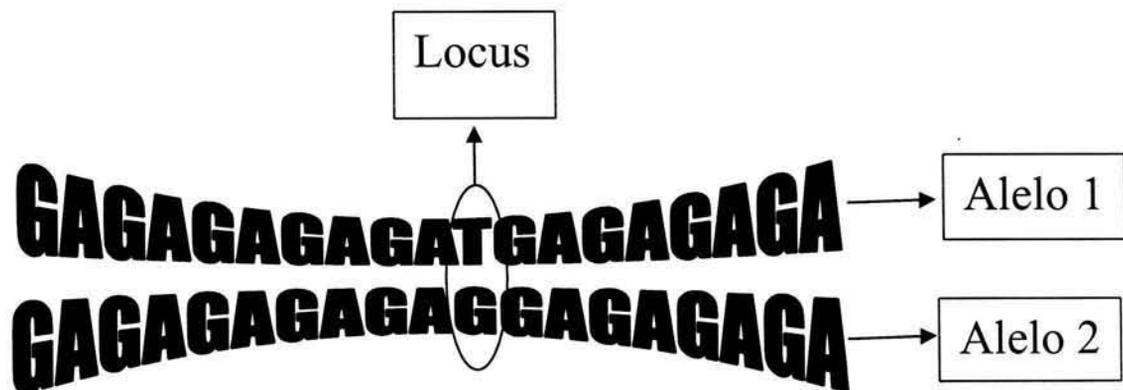


Figura 1. Representación esquemática de dos alelos comunes en cuya secuencia se encuentra un locus con un polimorfismo (dicha denominación polimórfica solo se podría aplicar con una frecuencia poblacional menor al 99%)

Tabla 2

Frecuencia de los alelos de IL-2 polimórfico -330 de 79 sujetos caucásicos no relacionados

Forma del alelo	158 alelos (100%)
T	115 (72.8%)
G	43 (27.25%)
Forma del genotipo	79 genotipos (100%)
TT	42 (53.2%)
GT	31 (39.2%)
GG	6 (7.6%)

Este polimorfismo tiene dos alelos comunes, lo que lo hace un marcador ideal para estudios genéticos y lo utilizamos para describir la asociación de la forma mutada del gen de la IL-2 directamente con una enfermedad neoplásica en sujetos mexicanos.

El Ca P tiene una frecuencia hereditaria entre el 3 y el 10 de los casos y se caracteriza por presentación a edades tempranas ⁵, se han estudiado familias con estas características encontrándose heterogeneidad en locus del cromosoma 1 (1q24-25) ^{12,48}, patrón hereditario vinculado con el cromosoma X ⁴⁹, así como múltiples locus de susceptibilidad, sugiriendo con esto que existen más de un gen alterado para esta presentación ⁴⁶.

Estudios recientes demuestran un patrón hereditario de agregación familiar, presentes también en cáncer de colon y mamario, para el cáncer espontáneo que representa el 95% de los casos. Se han estudiado múltiples variantes comunes (polimorfismos) que tengan un origen genético común tanto en el cáncer espontáneo y familiar, como lo demuestra el gen VHL para cáncer de riñón, como son los genes que codifican para el receptor de andrógenos⁵⁰, de APE, de 5 alfa reductasa tipo 2¹⁶, del citocromo P450, del receptor de la vitamina D²⁴, de 5 glutathion-transferasa^{19, 20} y HPC2/ELAC2³² y alteraciones en el cromosoma 8^{15, 25}.

Teniendo como resultado que existen pocas definiciones en los patrones genéticos de Ca P, otorgándole a esta patología una característica un patrón multifactorial.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) Con esta técnica de amplificación del ADN sólo se requieren una cuantas copias de un fragmento de ADN inicial, con previo conocimiento, de al menos, parte de la secuencia a ser amplificada, para obtener millones de

copias de una secuencia específica en unas cuantas horas sin ser purificado del resto de la molécula de ADN.

El desarrollo de la técnica de PCR ha conducido al desarrollo de dos importantes métodos utilizados para detectar cambios en una sola base de genes humanos. Una de ellas es la hibridación alelo-específica de oligonucleótidos (ASOP) y la segunda es la SSCP.

El polimorfismo conformacional en hebra única (SSCP) del ADN amplificado por PCR depende de la tendencia a formar puentes de hidrógeno intramoleculares del ADN de una sola hebra. La movilidad electroforética de una molécula de ADN en un sistema de gel no desnaturizante es función de su conformación y longitud. Si una mutación puntual afecta los puentes de hidrógeno intramoleculares y la estructura de tallo en asas (ítem-loop) del ADN, afectará su movilidad electroforética. Así, dos moléculas de hebra única que difieren en al menos una sola base, pueden ser diferenciadas por análisis de SSCP, una de las mayores ventajas del análisis es que puede ser realizado aunque la mutación en el gen analizado se desconozca. La mayor de sus desventajas es que

cualquier tipo de polimorfismo es detectado, este o no relacionado con la enfermedad estudiada.

Fragmentos de restricción a lo largo de un gen polimórfico (RFLP)

Del inglés: restriction fragment length polymorphism. Una forma de variación hereditaria del ADN y que afecta la longitud de los fragmentos de ADN para un determinado *locus* cuando es sometida al tratamiento con enzimas de restricción (ejemplo: *Mae I*, *EcoRI*, *TaqI*). La variación en la longitud se da como consecuencia de la creación de un nuevo sitio de restricción, la eliminación de uno ya existente, o mediante las inserciones o deleciones que producen variaciones en la longitud del ADN entre sitios de restricción constantes para la actividad enzimática de restricción (ver Figura 2). Los RFLP son transmitidos en una forma simple co-dominante; se pueden detectar por Southern blot o por análisis de fragmentos de ADN generados por la actividad de la reacción en cadena de la polimerasa. Se han usado en estudios de ligamiento y de mapeo genético.

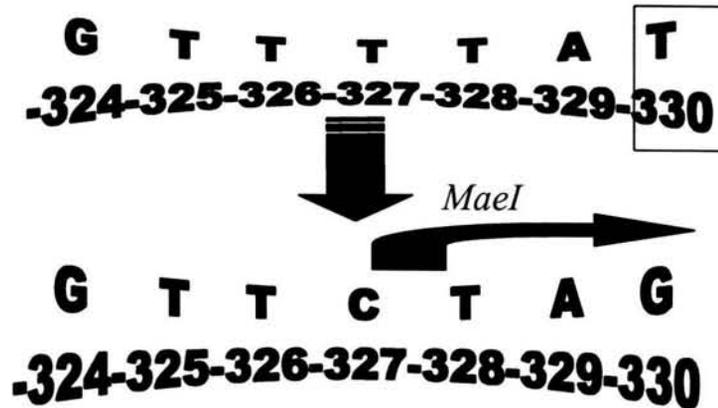


Figura 2. Ejemplo de la creación de un nuevo sitio de restricción, mediante la inserción o deleción de una base entre sitios de restricción constantes para la actividad enzimática de restricción y con esto obtener fragmentos de restricción específicos.

Criterios para establecer que el cambio de una base en un gen es causa de una enfermedad. Para determinarlo en un análisis de SSCP, se deben llenar dos criterios:

1. Que el cambio resulte en un aminoácido alterado en una proteína o el que aparezca un codon de terminación en el ARNm.
2. Si un solo alelo alterado es necesario para la aparición de un fenotipo alterado (enfermedad), entonces el tipo de herencia se denomina dominante. En cambio si es necesario que los dos alelos estén alterados para que el fenotipo esté alterado (aparición de la enfermedad) entonces el tipo de herencia es recesiva.

II. Justificación

Nuestro grupo ha descrito las diferencias en el número de células positivas contra la IL-2 en el tejido prostático humano de sujetos con Ca P e hiperplasia prostática (HP) ⁴⁵. Los niveles detectados de dichas células positivas a la citosina tienen asociación de riesgo para el desarrollo de Ca P. No sabemos si las diferencias encontradas entre ambos grupos sean debidas a una alteración del gen IL-2 o solo consecuencia de cambios postranscripcionales. Se han detectado nuevos polimorfismos en un solo nucleótido (PsSN) del gen de IL-2 en las posiciones -330 y +166 ⁴⁷, el primero relacionado al sitio del promotor. El polimorfismo en el sitio -330 presenta dos alelos, lo que lo hace un marcador idóneo para estudios genéticos.

La descripción de la frecuencia de las formas mutadas (GG, GT, TG) en el polimorfismo es un solo nucleótido, en el sitio -330 del gen de IL-2 en dos poblaciones mexicanas, una con Ca P y la otra sin este, tiene una gran importancia para explicar las diferencias de IL-2 detectadas en el tejido prostático de sujetos con y sin

neoplasia. Ya existe una descripción de la prevalencia de un polimorfismo bialélico (G, T) de un solo nucleótido (PsSN) en el gen de IL-2 en la posición -330 estudiando sujetos con evidencia histológica de Ca P y HP.

III. Objetivos

Objetivo general:

El presente trabajo intenta describir la asociación entre la forma mutada del promotor del gen de IL-2 y la aparición de Ca P a lo largo de un seguimiento de 7 años.

Objetivos específicos:

1. Comparar la frecuencia de individuos homocigotos para la forma silvestre (-330 T) entre los sujetos que cursen con elevación de APE por arriba de 40 ng/ml (10 veces mayor que el valor de referencia) al momento de diagnosticarse, con la de los sujetos con APE de 40 ng/ml o menor.

2. Describir una posible asociación entre una menor frecuencia de individuos homocigotos para forma silvestre (-330 T) en los sujetos con la etapa clínica III o mayor del Ca P al momento del diagnóstico histopatológico.
3. Describir una posible asociación entre una menor frecuencia de individuos homocigotos para la forma silvestre (-330 T) en los sujetos con diagnóstico histopatológico de Ca P con suma de Gleason 7 o mayor del adenocarcinoma al momento del diagnóstico.
4. Describir la posible relación entre frecuencia de individuos homocigotos para la forma silvestre (-330 T) con la evolución favorable (vivo libre de actividad del adenocarcinoma) a 6 años del momento del diagnóstico histopatológico de Ca P.

IV Hipótesis

Hipótesis general

1. Existe mayor frecuencia del alelo (-330 T) en Ca P al compararlo con la del alelo (-330G) en los sujetos con HP.

- a. Hay mayor prevalencia de la forma homocigoto silvestre (-330 TT) que la forma mutante homocigota (-330 GG) en el grupo de los sujetos con evidencia histológica de HP.
- b. Hay mayor prevalencia de la forma homocigoto silvestre (-330 TT) que la forma mutante heterocigota (-330 GT) en el grupo de los sujetos con evidencia histológica de HP.

V. Material y métodos

Definición del diseño de estudio

Estudio de casos y controles anidado en una cohorte

Elegibilidad

La población de estudio:

1. Todos los sujetos sometidos a determinación del polimorfismo de la región -330 del promotor del gen de interleucina 2 después de la obtención de fragmentos de tejido prostático por cualquier método (biopsia trans-rectal, resección trans-uretral, prostatectomía suprapúbica trans-vesical, prostatectomía radical retropúbica).
2. Pertenecientes a sujetos de sexo masculino.

3. Que cuenten con diagnóstico histopatológico *de novo* de adenocarcinoma o de hiperplasia prostática.
4. Que cuenten con registro del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INNSZ)
5. Sin ningún tipo de bloqueo androgénico, médico (inhibidores LH-RH, antiandrógenos centrales o periféricos o estrógenos) o quirúrgico (orquiectomía).
6. En cualquier estadio clínico patológico.

Definición de enfermedad. Se clasificará como portador de **adenocarcinoma de próstata o hiperplasia de próstata** a todo aquel en quien el análisis histopatológico demuestre cualquiera de los siguientes criterios: 1. cambios morfológicos característicos si son determinados por el patólogo (INNSZ).

Por lo tanto el grupo con cáncer deberá dividirse de acuerdo al espectro clínico en estadios locales y avanzados de la enfermedad según la clasificación TNM.

Criterios de inclusión

1. Sujetos masculinos de cualquier edad.
2. Con registro del INCMNSZ
3. Con diagnóstico hiperplasia o cáncer prostático en tejido
4. Que haya sido sometido a determinación de polimorfismo de la región -330 del gen de IL-2 antes de 2000.

Criterios de exclusión

1. Que no cuenten con material parafinado suficiente (un bloque como mínimo) de tejido prostático para la realización de los cortes de IHQ.

Criterios de eliminación (exclusión o transferencia *a posteriori*)

Ca P

Se eliminaron del grupo casos a los sujetos que tuvieron alguna de las siguientes situaciones: 1. cuyo diagnóstico inicial de adenocarcinoma se corroboró y correspondió a cualquier otro diagnóstico diferente.

HP

Se transfirieron del grupo control al grupo caso a todos los pacientes:

1. cuyo diagnóstico histológico inicialmente de hiperplasia se cambió al de adenocarcinoma por un patólogo y en forma y ciega.

Observaciones (variables)

- Las variables determinadas en el **estado basal** son: a) diagnósticos histopatológico a lo largo de un seguimiento, b) APE, c) grado de diferenciación de la neoplasia, en el grupo Ca P, d) Estadio clínico, e) Estadio patológico

Definiciones operacionales

Enzimas de restricción. Una enzima bacteriana que corta una secuencia de ADN dando una secuencia específica de pares de bases que estén presentes.

Sitios de restricción. Secuencia de 6-8 pares de bases donde las enzimas de restricción cortan, una mutación de este fragmento causará un patrón de corte alterado generando lo que se conoce como RFLP.

Estadio clínico.- El asignado de acuerdo con el método A, B, C, D propuesto como TNM.

Gleason.- Clasificación histológica del grado de dediferenciación del adenocarcinoma prostático y corresponden a:

- | | |
|-------------------------------|--------------|
| a) diferenciado | Gleason 2-4 |
| b) moderadamente diferenciado | Gleason 5-7 |
| c) mal diferenciado | Gleason 8-10 |

Genotipo mutado.- El material genómico que tenga productos de PCR de 126 y 26 pares de bases (PB) (mutado homocigoto).

Genotipo silvestre.- Aunque el concepto es adecuadamente aplicado solo en organismos experimentales, los cuales sí pueden ser homocigoto para el alelo normal en todos los *locus* y los estudios en humanos muestran que virtualmente cada persona es portadora de algún alelo que pudiera ser causa de enfermedad bajo ciertas circunstancias.

Denominaremos “genotipo silvestre” al material genético que no se corte y cuyo producto de PCR sea uno de 150 PB.

Patólogo INNSZ.- Un patólogo que:

1) interprete aleatoriamente las laminillas (tinción hematoxilina y eosina) con Ca P e HP para los fines de este estudio.

Patólogo de referencia.- el (los) patólogo (s) que analizó (aron) la pieza de la manera habitual y que emitió (eron) un diagnóstico histopatológico sin ceguera de la sospecha o diagnósticos clínicos.

Procedimiento

Los pacientes se identificaron en el momento en que se realizó la determinación del fenotipo del promotor en la región -330 del gen de IL-2 en una cohorte en el INNSZ.

1.- Se hizo una revisión semanal desde marzo del 2000 a) Se purificó el ADN de la sangre periférica y se realizaron ensayos con enzimas de restricción, a continuación, b) se clasificaron los genotipos

2.- Al captar un paciente con el diagnóstico histológico de hiperplasia; se captaron por un solo observador estandarizado del expediente los datos clínicos y de laboratorio con la misma

secuencia aleatoria y cegamiento al fenotipo que sus médicos tratantes tuvieron.

Esquema de muestreo

A partir de su captación (momento cero) cuando se tomó la determinación por RFLP de la región -330 del gen de IL-2, se recolectaron los datos especificados en la hoja de recolección de datos que a su vez se integró al expediente del estudio.

Estrategias de sorteo

El análisis genético, y seguimiento clínico fueron recopilados de manera ciega e independiente para hacer tablas de datos demográficos, clínicos, laboratorio y hacer el análisis de los mismos de la misma forma.

Límite de error

Arbitrariamente se tomó como límite del error ALFA 0.05. De la misma manera el límite del error BETA se tomó como 0.10 (80% poder).

La razón de momios mínima esperada fue de 2.0.

Tamaño de la muestra

Se basó el tamaño de la muestra en la prevalencia de los genotipos mutados -330 GT/GG previamente descrita en sujetos caucásicos. Por lo tanto la prevalencia mínima esperada para sujetos con cáncer la calculamos en 46.8% (0.46) para los sujetos con adenocarcinoma, mientras que en los sujetos control se estimó que la prevalencia esperada de positividad de los genotipos mutados -330 GT/GG sea de 10% (0.1) con una Z alfa de 0.05 y Z beta de 10^{38} .

Estimamos entonces que con un tamaño de muestra de 52 casos y 52 controles, podemos comprobar las hipótesis establecidas usando como prevalencia de expuestos y no expuestos (0.46) y (0.1) respectivamente.

Con un nivel de significancia estadística de 0.05 y un poder estadístico de 90%.

Pruebas estadísticas

Las variables continuas se describen con promedio y desviación estándar como medidas de tendencia central y dispersión respectivamente. Las variables en escala discreta se describen con frecuencias absolutas y relativas. Se estimó la probabilidad directamente con la prueba de Chi cuadrada considerando un valor de 0.05 como significativo. Se estimó como medida de asociación epidemiológica la razón de momios (OR).

Medidas de seguridad

Manejo de pérdidas y transferencias

- 1) Todas las pérdidas de pacientes se reportaron con detalle de causa.

Estrategias para preservación de protocolo

Toda la información relacionada a la capacitación de los pacientes, sorteos, eliminaciones, transferencia y resultados histopatológicos se integraron en una carpeta maestra.

Además, se llenó una bitácora de las técnicas de PCR y RFLP con los procedimientos de laboratorio, misma que se llenó en la fecha en la que se realizaron; así como una hoja de seguimiento con la descripción de cada uno de los cambios clínicos o de laboratorio a lo largo del seguimiento.

Manejo de los sujetos

El manejo de los sujetos estudiados con registro en el INNSZ corrió a cargo de dicho Instituto de la manera habitual y no se modificó en relación a este estudio.

VI Recursos

1) Recursos humanos

Dr Pedro Palacios Sánchez, Dr Víctor Figueroa Granados, Dr Fernando Gabilondo Navarro

2) Recursos materiales

No se requirieron fondos adicionales. El instrumental de laboratorio, equipo e instalaciones fueron facilitados por el Departamento de Inmunología, Reumatología y Urología.

Los reactivos de laboratorio especiales fueron costeados por los mismos departamentos.

VII Consideraciones éticas

Según la Ley general de Saludo con respecto a los aspectos éticos de la investigación en seres humanos, en su título segundo, Capítulo I, artículo 14, IV parte, menciona que toda investigación “contará con el Consentimiento Informado y por escrito del sujeto de investigación o su representante legal”, excepto, según el artículo 23 del mismo capítulo “en el caso de una investigación de riesgo mínimo”. La misma Ley considera en su artículo 17, a una “investigación de riesgo mínimo” a estudios prospectivos que emplean el registro de datos a través de procedimientos comunes en exámenes físicos o psicológicos de diagnóstico o tratamientos rutinarios, entre los que se consideran extracciones de sangre por punción venosa en adultos en buen estado de salud y otras.

Dado que el estudio se realizó en tejido residual del material con fines de diagnóstico o tratamiento es enviado al Departamento de Patología. Los beneficios que el paciente recibió: a) revisión del caso por un patólogo experimentado, b) determinación de la

secreción y probablemente la expresión de la citosina sin costo alguno para el paciente, c) en material biológico previamente almacenado, no se implica ningún RIESGO adicional al momento del diagnóstico. A pesar de ello, se solicitó Consentimiento Informado.

La Confidencialidad de la información obtenida del actual protocolo de estudio quedó sometida a las normas que rigen la investigación en humanos y no podrá ser utilizada fuera de dichas normas. El estudio del genotipo puede tener efecto en la vida de las personas y la información obtenida del estudio del ADN tiene consecuencias a largo plazo. Por tal razón los datos genotípicos serán conservados confidencialmente.

VIII Factibilidad

El Departamento de Urología del INCMNSZ realiza semanalmente más de cuatro biopsias protáticas obteniendo igual cantidad de especímenes de tejido prostático. De éstos, cuando menos uno corresponde a adenocarcinoma (20% aproximadamente) en algún estadio.

IX Resultados

Se analizaron 105 pacientes con una edad promedio de 73.1 ± 8.9 años y un tiempo de seguimiento promedio de 78.31 meses. Cincuenta y tres con el diagnóstico de hiperplasia y el resto, 52 pacientes con el de Ca P, representado el 50.5 y 49.5% respectivamente. El pacientes 5.7% tenían una neoplasia sólida asociada y el 1.9% una hematológica, 61% con antecedentes de tabaquismo (Tabla 3).

Tabla 3. Describe las características demográficas de ambos grupos

Diagnóstico	Número	% del total
Hiperplasia prostática	53	50.5%
Cáncer de próstata	52	49.5%
Neoplasias asociadas		
Sólidas	6	5.7%
Hematológicas	2	1.9%
Tabaquismo		
Positivo	64	61%
Negativo	39	37%
Gamagrama óseo	n= 52	% con Ca P y GG
Positivo	12	27.9%
Negativo	31	72.0%
Serie ósea	n=9	
Positivo	1	1 %
Negativo	8	7.6%

Tabla 4. Distribución por antecedentes familiares para Ca P y Ca de mama

Diagnóstico	AHF Ca P	AHF ca mama	Padre/madre	Hermano/hermana
Ca P	7	3	4/2	3/1
HP	4		3	1
Total	11 (10.5%)	3 (2.9%)		

De los pacientes con cáncer se documentó un Gleason promedio de 6.42, (rango: 4-10) y metástasis por gamagrama en 12 pacientes (11.4%), en 9 pacientes se consideró realizar serie ósea debido a duda diagnóstica por este método diagnóstico y solamente en un paciente se encontraron datos de metástasis por este método.

El 10.5% tenían antecedentes heredo-familiares de Ca P y 2.9% de cáncer de mama (Tabla 4), el antecedente familiar de Ca P fue casi el doble en los pacientes con este diagnóstico a diferencia de los que tenían HP. Se encontraron tres familiares con cáncer mamario solamente en el grupo de pacientes con Ca P.

La distribución por APE por serie de biopsias, por RTUP y el último APE se valora en la Tabla 5 y la distribución por diagnóstico y número de serie de biopsias se valora en la Tabla 6.

Tabla 5. Distribución de APE al momento del diagnóstico y último

Características	Número de pacientes	Promedio	Rango	DE
Edad APE	105	73.1 (años)	45-94	8.89
APE Bx1	81	16.65		15.65
APE Bx2	26	18.20		13.04
APE Bx3	10	21.66		9.58
APE Bx4	3	21.33		4.61
APE Bx5	1	28.0		
APE RTUP	27	9.44		7.45
Ultimo APE	92	6.75		14.44

Tabla 6. Distribución por diagnóstico y número de serie de biopsias

Serie de biopsias	Número	Hiperplasia	Cáncer	Proliferación atípica
1	82	44 (41.9%)	37 (35.2%)	1 (1%)
2	29	24 (22.9%)	5 (4.8%)	
3	10	8 (7.6%)	2 (1.9%)	
4	3	2 (1.9%)		1 (1%)
5	1	1 (1%)		

La distribución por tipo de alelo fue en su mayoría TT con 61 pacientes, seguido por el tipo TG en 41 y en una minoría GG, siguiente tabla. (Tabla 7).

Tabla 7. Distribución por el tipo de mutación

Tipo de alelo	Número	Porcentaje
GG	3	2.9%
TG	41	39%
TT	61	58.1%

El fenotipo mutado se encontró en 17 pacientes que representan el 32.1 %, a diferencia del no mutado (o silvestre) que se halló en 36 pacientes (67.9%) con hiperplasia prostática, que al compararlo con los pacientes con el diagnóstico de cáncer prostático, 27 (51.9%) y 25 (48.1%), respectivamente; teniendo así una diferencia estadísticamente importante con una p menor de 0.05, (P=0.049)

Tabla 8.

El análisis estadístico mostró una razón de momios de 2.28 veces el riesgo de tener cáncer prostático, con una $p < 0.041$, con un intervalo de 1.03 y 5.05, que caben dentro del rango.

Durante el seguimiento murieron 15 pacientes (1.8%), de los cuales solamente 3 como consecuencia del cáncer de próstata, cinco

murieron por otra causa a pesar de tener cáncer prostático y existieron 7 muertes no relacionadas a esta neoplasia.

Tabla 8. Distribución de tipo de alelo y diagnóstico de Ca P y HP

	Fenotipo silvestre mutado	
	Si	No
Hiperplasia prostática	17 (32.1%)	36 (67.9%)
Cáncer prostático	27 (51.9%)	25 (48.1%)
	Chi ² p = 0.049	

X Discusión

En este estudio prospectivo de cohorte a 7 años de seguimiento en pacientes con una forma mutada del gen de interleucina 2, comparada con una forma no mutada del mismo, demostramos que existe una asociación significativa entre el diagnóstico de cáncer prostático con los portadores de esta forma mutada de la región del gen de IL-2.

Durante el análisis de este estudio no encontramos diferencias estadísticamente relevantes entre los dos grupos estudiados en cuanto a edad, APE al momento del diagnóstico ni en el último APE. Existieron casi cuatro veces más neoplasias sólidas asociadas en relación con neoplasias hematológicas, aunque no tenemos una

explicación para esta asociación, quizá existe un riesgo biológico innato para el desarrollo de neoplasias

Al establecer la comparación de los antecedentes heredo-familiares encontramos, un aumento en el porcentaje de familiares de primera línea con cáncer de próstata, especialmente en el grupo con este diagnóstico (10.5%), que como ya se ha establecido en estudios epidemiológicos, esto aumenta el riesgo de padecer esta neoplasia de 2 a 3 veces. Casi el 3% tuvieron el antecedente familiar de cáncer de mama, que puede estar en relación con un defecto en la inmuno-vigilancia y consecuentemente con el desarrollo de neoplasias malignas.

De igual manera encontramos que la biopsia de próstata pierde rendimiento para hacer el diagnóstico de cáncer de próstata, es decir, que el porcentaje de diagnóstico en pacientes con alta sospecha de este diagnóstico (tacto rectal sospechoso o elevación del APE) disminuye considerablemente conforme aumenta el número de serie de biopsias, como ya ha sido descrito en múltiples estudios¹⁰.

Un hallazgo importante, nunca descrito anteriormente, es que la distribución de tipo de alelos para el gen de la IL-2 en la población

estudiada fue claramente similar a la de sujetos caucásicos, por lo que podemos deducir que no existen diferencias raciales en este gen que codifica para el gen de IL-2, lo que podría explicar que la incidencia interracial entre las razas caucásicas y las latinas sean similares, cabría por lo tanto estudiar esta distribución en la raza negra, que como sabemos tiene un riesgo mayor para padecer Ca P.

Un hallazgo, que a nuestro parecer es relevante es que al comparar a estos pacientes en cohortes diferentes, a 6 meses y a 6 años, la incidencia de Ca P aumentó de no ser relevante desde el punto de vista estadístico a establecer una diferencia con el paso del tiempo, existiendo así un riesgo innato (genético) a desarrollar Ca P; también creemos importante señalar que las conversiones ocurrieron solamente en el grupo con fenotipos mutados (homocigotos GG o heterocigotos TG); que comprenden 5 pacientes, de los cuales tres se diagnosticaron en la segunda serie de biopsias y los dos restantes en la tercera serie. Sin embargo no sabemos si estos cinco pacientes que tuvieron inicialmente el diagnóstico de HP y después de Ca P, ya tenían Ca P pues si las

biopsias se repitieron fueron por persistir con la sospecha de la existencia de esta neoplasia.

Deducimos con esto que al tener la mutación en el gen para IL-2, esto con el paso del tiempo promueve una disminución en la inmunovigilancia, quizá debida a una alteración funcional en esta inmunocitocina, que dispone al sujeto en un riesgo elevado de presentar Ca P.

Dentro de la teoría multifactorial de Knudson sobre el doble "golpe" en la aparición de neoplasias malignas, tomando en cuenta como el primer "golpe" la susceptibilidad genética y como el segundo factores ambientales; quizá sea la mutación estudiada el primer "golpe".

Si bien, establecimos una relación entre el diagnóstico de Ca P y la existencia de la mutación del gen de IL-2; no encontramos una relación estadísticamente significativa entre esta mutación y la presencia de elevación de APE por arriba de 40 o de 10 mg/dl, así como tampoco para un Gleason >8 , ni para un estadio patológico >3; pero esto, probablemente debido al tamaño de la muestra.

La inmunocitocina IL-2, junto con otras citocinas como interferon alfa e IL-4 poseen un papel relevante en la defensa del organismo

contra las neoplasias malignas, esto se ha demostrado en diversos modelos clínicos, animales y celulares e inclusive se estudian, actualmente de manera extensa como tratamiento de diferentes neoplasias, incluyendo el cáncer de próstata, melanoma, cáncer de mama, de pulmón, de riñón y de urotelio ^{2, 11, 26, 31, 33, 34, 36, 39, 42}. Mediante un estudio previo demostramos que la interleucina 2 se encuentra disminuida en los sujetos con cáncer de próstata al compararlo con un grupo control. Así decidimos estudiar la posible existencia de una alteración genética que explique la observada disminución cuantitativa de interleucina-2 de manera que aumente el riesgo de padecer cáncer de próstata, como consecuencia de disminución de la inmuno-vigilancia por linfocitos T¹³.

La IL-2 actúa promoviendo la expansión y reclutamiento de linfocitos T, sobretudo de linfocitos T helper tipo ¹⁸. El uso terapéutico que se ha dado consiste en la producción de IL-2 recombinante que promueva la inmunidad contra el tumor existente ^{29, 33}, o más recientemente introducir el gen de IL-2 mediante un vector en las células que en un futuro evite algún cáncer específico (vacunas) ²².

Así podremos con este estudio considerar la misma mutación para diferentes tipos de cáncer aún no estudiados desde este punto de vista.

Las repercusiones clínicas que puede tener es la identificación temprana de los pacientes con alto riesgo para desarrollar cáncer de próstata y consiguiente tratamiento. Por otro lado la medicina genética a elaborado diversos modelos experimentales con diferentes vectores para introducir un gen de IL-2 para activar una respuesta inmune sin efectos tóxicos sistémicos importantes, como se ha visto hasta el momento cuando se aplica esta citosina en su forma recombinante ²².

XI Conclusiones

En este estudio prospectivo establecimos una relación de tener Ca P asociado con la presencia de una mutación en la región promotora del gen de la inmunocitocina IL-2 en un estudio cohorte a 7 años. No encontramos una relación con factores de mal pronóstico para dicha neoplasia, quizá por el tamaño de la muestra. Por lo que ya estamos realizando consideramos un estudio con un mayor número de pacientes para obtener

conclusiones consistentes con respecto a las hipótesis secundarias que se intentaron contestar de manera parcial en el presente estudio.

XII Bibliografía

1. **Alexander R.**, Brady F., Leffel M. et al Specific T cell recognition of peptides derived from prostate specific antigen in patients with prostate cancer. *Urology*; 51: 150-57, 1998.
2. **Beldegrun A.**, Pierce W., Kaboo R. et al; Interferon a prime tumor infiltrating lymphocytes combined with interleukin-2 and interferon a as therapy for metastatic renal cell carcinoma. *J. Urol.*; 150, 1384-1389, 1993.
3. **Bernd Gansbacher**, Karen Zier, Brian Daniels, Kathy Cronin, RajatBannerji, Eli Gilboa. Interleukin-2 gene Transfer into tumor cells abrogates tumorigenicity and induces protective immunity. *J. Exp. Med.*; 172: 1217-1224. 1990.
4. **Böhle A.**, Nowc Ch, Ulmer A, et al: elevation of cytokines interleukine-2, interleukine-2 and tumor necrosis factor in the urine of patients after intravesical bacillus Calmette-Guerin Immunotherapy. *J. Urol.*; 144:54-64, 1990.
5. **Bratt, Ola.** Hereditary Prostate Cancer: Clinical Aspects.*J. of Urol.* 168(3):906-913
6. **Boyle P.**, Severi G., Giles G., The epidemiology of prostate cancer. *Urol. Clin. N Am*, 2003, may, 30(2):209-217.
7. **Dolman CS**, Mueller BM, Lode HN, Xiang R, Gillies SD. Suppression of human prostate carcinoma metastases in severe combined immunodeficient mice by interleukin 2 therapy. *Clin. Cancer Res.* 1998, 4(10): 2551-7.
8. **Fearson Erick R.**, Drew M. Perdol, Toshiuku I, Goulumbeck, Hyam, Levitsky, et al. Interleukin-2 production by tumor cells bypasses T helper function in the generation of an antitumor response. *Cell*; 60: 397-403, 1990.
9. **Figlin R.** Belldengrun A., et al: Concomitant administration of recombinant human interleukine-2 and recombinant interferon alpha-2: an active outpatient regimen in metastatic renal cell carcinoma. *J. Clin. Oncol.* 10: 414-421,1992.
10. **Fowler**, Jackson E. Jr.; Bigler, Steven A.; Prostate biopsies, what we have learned. Miles, Derek; Yalkut, Denis A. *J Urol.* 161(4S) Supl: 292, 1999.
11. **Gautier G.**, Flemming P., et al: Recombinant interleukin-2 and lymphokine activated killer cell treatment of advanced bladder

- cancer: Clinical results and immunological effects. *Cancer Res.*, 52: 726-732, 1992.
12. **Gronberg H.**, Isaacs SD., Smith JR, et al: Characteristics of prostate cancer in families potentially linked to the hereditary prostate cancer 1 locus. *JAMA* 1997; 278-1251.
 13. **Giltes R.**, Mcoulough D., Occult carcinoma of the prostate: an oversight of immune surveillance. A working hypothesis. *J. Urol.*; 112: 241-244, 1974.
 14. **Hanks**, Scardino P., Does screening for prostate cancer make sense? *Sci. Am.* Sept., 1996.
 15. **He WW.** Sciavolino PJ., Win J, et al: A novel human prostate-specific, androgen-regulated homeobox gene (NKX3.1) that maps to 8p21, a region frequently deleted in prostate cancer. *Genomics* 1997; 43:69.
 16. **Jaffe JM**, Malcowicz SB, Walker AH, et al: Association of SRD5A2 genotype and pathological characteristics of prostate tumors. *Cancer Res* 2000; 60:1626-30.
 17. **Johannes Vieweg**, Felicia M., Rosenthal, Rajat Bannerji, Warren D. W. Heston, William R. Fair, Bern Gansbacker and Eli Gilboa. Immunotherapy of prostate cancer in the dunning rat model: Use of cytokine gene modified tumor vaccines. *Cancer Res.* 54: 1760-1765, 1994.
 18. **Henderson BE**, Feigelson HS: Hormonal carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2000; 21:427.
 19. Ingles SA, Ross RK, Yu MC, et al: Association of prostate cancer risk with genetic polymorphism in vitamin D receptor and androgen receptor. *J Ntl Cancer Inst* 1997; 89:166-70.
 20. **Kelada SN**, Kardia SL, Walker AH, et al. The glutathione S-transferase-mu and theta genotypes in the etiology of prostate cancer. *Cancer Epidemio Biomarkers Prev* 2000; 9 1392-34
 21. **Ley U.**, Langlade-D.P., et al: Interleukin-2 dependant activation of tumor specific cytotoxic T lymphocytes in vivo. *Eur. J. Immunol*: 21: 851-854, 1991.
 22. **Liu M**, Acres B, Balloul JM, Bizourane N. Gene-based vaccines and immunotherapeutics. *PNAS* 2004, 101, Supl 2: 14567-71.
 23. **Lloyd J.**, Old. Immunotherapy for Cancer. *Sci. Am.*, Sept., 1996.
 24. **Ma J**, Stampfer MJ, Gann PH, et al Vitamin D receptor polymorphisms, circulating vitamin D metabolites, and risk of

- prostate cancer in US physicians. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998; 242: 476-73.
25. **Macoska JA.**, Trybus TM., and Wogno KJ.: 8p22 loss concurrent with 8c gain is associated with poor prognostic prostate cancer. *Urology* 2000; 55:776.
 26. **Mafezzini M.**, Somnato A., Fortis C., Salvage immunotherapy with subcutaneous recombinant interleukin-2 (C2) and alpha interferon for the D3 stage prostate cancer carcinoma. *Prostate*; 28 (5): 282-286, 1996.
 27. **Mitchel H.**, Sokoloff, Chan-Lea Tso, Rankir Kaboo, Samir Taneja, Sheng Pang, Jean B., de Kernion., In vitro modulation of tumor progression associated properties of the hormone refractory cell lines by cytokines. *American Cancer Society*. 77(9): 1862-1872, 1996.
 28. **Moddy DB.**, Robinson JC., Ewing CM., Lazenby AJ., Interleukin-2 transfected prostate cancer cell generate a local antitumor effect in vivo. *Prostate*. 24(5):244-251, 1994.
 29. **Oliff.**, Gibbs J., McCormick F., New molecular targets for cancer therapy. *Sci. Am.*, 1996.
 30. **Paul, WE.** & Seder, RA. Lymphocyte responses and cytokine. *Cell*, 76, 241, 1994.
 31. **Raymond Kaempfer**, Lysia Gerez, Hannah Farbstein, Liora Madar, Orit Hirshmann and Amos Shapiro. Prediction of response of the treatment in superficial bladder carcinoma through pattern of interleukin-2 gene expression. *J. Clin. Oncol.*; 14(6); 1778-1786, 1996.
 32. **Rebeck TR**, Walker AH, Zeigler-Johnson C, et al. Association of HPC2/ELAC2 genotypes and prostate cancer *A J Huma Genet* 2000; 9:1329-34.
 33. **Rosenberg, S.A.**, Lotze, M.T., and Mulke J., New approaches to the immunotherapy of cancer using interleukin-2., *Ann. Int. Med.*; 853-864, 1998.
 34. **Rosenberg, S.A.**, Lotze, M.T., and Mulke J., Observations on the systemic administration of autologous lymphokine activated killer cells and recombinant intrleukin-2 to patients with metastasic cancer, *N. Engl. J. Med.*, 1485-1492, 1985.
 35. **Rosenberg, S.A.**, Lotze, M., Cancer immunotherapy using interleukin-2 and interleukine-2 activated lymphocytes. *Ann. Rev. Immunol.*; 319: 681-701, 1986.

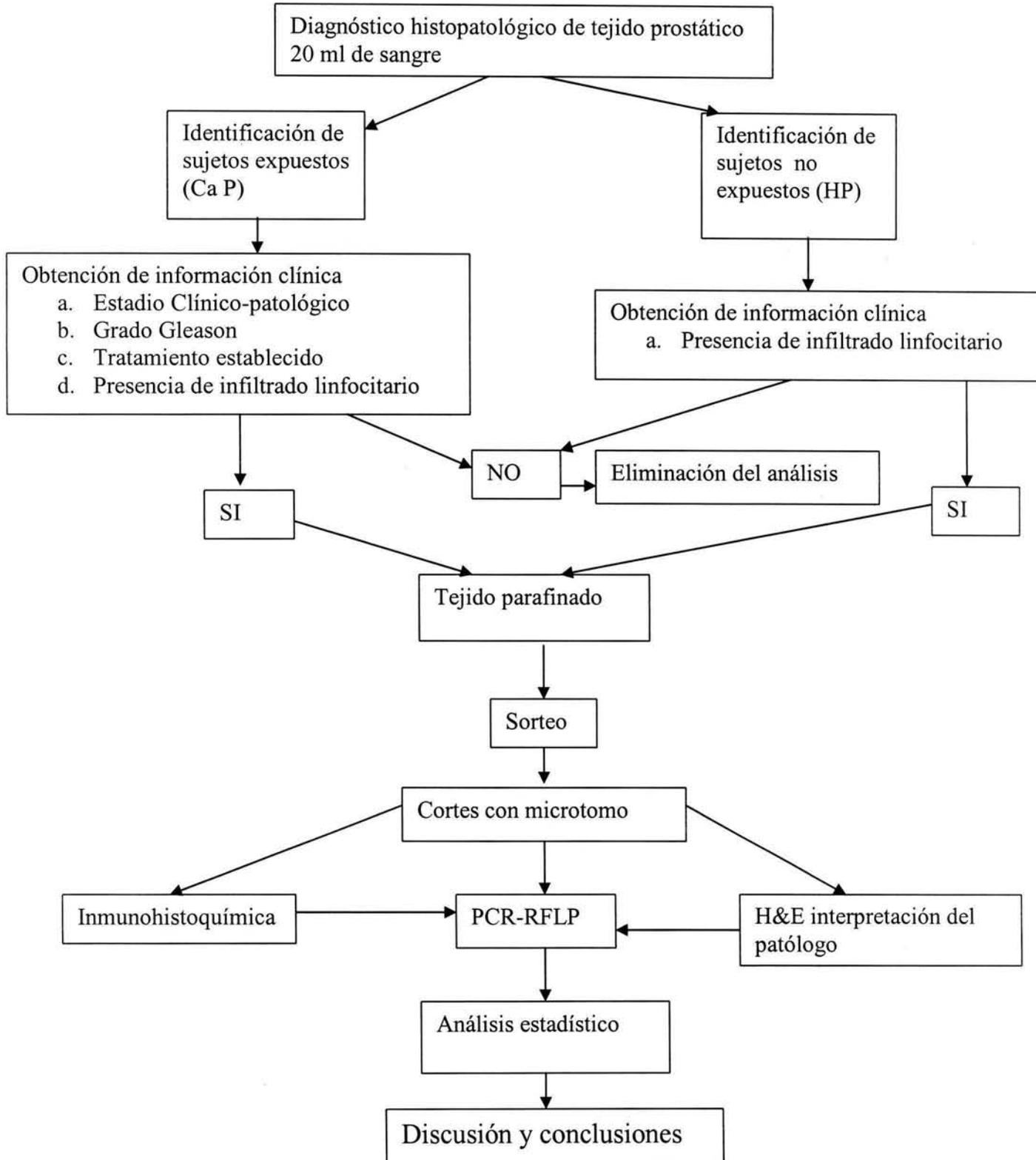
36. **Rosenberg, S.A.**, Lotze, M., Yang T., et al., Experience with the use of high dose interleukin-2 in the treatment of 652 cancer patients. *Ann. Surg.*; 210: 474-485, 1989.
37. **Shaw. J.**, Meerovitch, K., Bleackley, R.C. & Paetku, V. (1998). Mechanisms regulating the level of IL-2 messenger-RNA in lymphocytes. *J. of Immunol.* 140, 223.
38. **Shlesselman James**, Casecontrol study. Design, conduct, analysis. Oxford University Press, 1982.
39. **Shi Y.**, Konrad M., Warren MK., et al: Suppression and transient induction of lymphokines in cancer patients after administration of polyethylene glyc.IL-2. *Eur.J.Immunol.* 22:727-733, 1992.
40. **Steineck, G.**, Helgesen, F., Adolfsson, J., Dickman, P. W., Johansson, J., Norlen, B. J. et al: Quality of life after radical prostatectomy or watchful waiting. *N Engl J Med*, 347: 790, 2002
41. **Thése J.**, Alzari P., Bertoglio J., Interelukin-2 and its receptors: recent advances and new immunological functions. *Immunol. Today*; 17: 481-486, 1996.
42. **Toplai S.**, Solomon D., et al: Immunotherapy of patients with advanced cancer using TIL and recombinant IL-2: a pilot study. *J. Clin. Oncol.* 6: 839-853, 1998.
43. **Jain J.**, Loh, C & Rao, A. Transcriptional regulation of the IL-2 gene. *Current Opinion in Immunology*, 7, 333, 1995.
44. **Ko YJ**, Bublely GJ, Weber R. safety, pharmacokinetics, and biological pharmacodynamics of the immunocytokine EMD 273066 (huKS-IL2): results of a phase I trial in patients with prostate cancer. *J Immunother.* 2004, 27 (3): 232-9
45. **Victor Figueroa**, AR Villa, Armando Mendez, Gloria Barrera, Fernando Gabilondo, Rogelio Hernandez-Pando (2000) The correlation between Gleason score and the IL-2 positive cell number: AUA 94th annual meeting abstracts. *Supl. of the J. of Urol.*
46. **Walker AH**, Jaffe JM, Gunasegaram S et al. Characterization of an allelic variant in the nifedipine-specific element CYPA: ethnic distribution and implication for prostate cancer risk. *Hum Mutat* 1998; 12:289.
47. **S John**, D. Turner et cols. Two novel biallelic polymorphisms in the IL-2 gene. *Eur. J. of Immunol.* 25, 419-429, 1998.

48. Xu J. Combined analysis of hereditary prostate cancer linkage to 1q24-25. Am J Human Genet, 2000; 66:945.
49. Xu J., Meyers D., Feije D., et al., Evidence for a prostate cancer susceptibility locus on the X chromosome. Nat Genet 1998; 20:175.
50. Xue W, Irvine RA, Yu MC, et al: Susceptibility to prostate cancer: interactions between genotypes at the androgen receptor and prostate specific antigen loci. Cancer Res 2000; 60: 839-41.
51. INEGI Estadísticas vitales 2002, base de datos y Estadísticas Demográficas 2003.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

XIII Apéndice 1

Flujograma



XIII Apéndice 2

TNM Próstata

Normas para la Clasificación

La Clasificación solo se aplica a los adenocarcinomas.
 El carcinoma de células transicionales de la próstata se clasifica como un tumor uretral.
 Debe existir confirmación histológica de la enfermedad.
 Los procedimientos para valorar la Clasificación T, N y M son:
 Categoría T: Exploración física, técnicas de imagen, endoscopia, biopsia y test bioquímicos.
 Categoría N: Exploración física y técnicas de imagen.
 Categoría M: Exploración física, técnicas de imagen, estudios esqueléticos y test bioquímicos.
 Los ganglios linfáticos regionales son los ganglios de la pelvis menor que, fundamentalmente, son los ganglios iliopectíneos localizados por debajo de la bifurcación de las arterias ilíacas primitivas.
 La lateralidad no afecta a las categorías N.

T: Tumor primario	N: Ganglios linfáticos regionales	M: Metástasis a distancia
Tx No se puede evaluar el tumor primario.	Nx No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales	Mx No se pueden evaluar las metástasis a distancia.
T0 No hay evidencia de tumor primario.	N0 No se demuestran metástasis ganglionares regionales	M0 No hay metástasis a distancia
T1 Tumor no evidente clínicamente, no palpable ni visible mediante técnicas de imagen.	N1 Metástasis ganglios linfáticos regionales.	M1 Metástasis a distancia
T1a Tumor detectado como hallazgo fortuito en una extensión menor o igual al 5% del tejido reseado.		M1a Ganglio/s linfático/s no regional
T1b Tumor detectado como hallazgo fortuito en una extensión mayor del 5% del tejido reseado.		M1b Hueso/s
T1c Tumor identificado mediante punción biopsia (por ejemplo a consecuencia de un PSA elevado).		M1c Otra/s localización/es
T2 Tumor limitado a la próstata.		
T2a El tumor abarca la mitad de un lóbulo o menos.		
T2b El tumor abarca más de la mitad de un lóbulo pero no ambos lóbulos.		
T2c El tumor abarca ambos lóbulos.		
T3 Tumor que se extiende a través de la capsula prostática.		
T3a Extensión extracapsular unilateral o bilateral.		
T3b Tumor que invade la/s vesícula/s seminal/es.		
T4 Tumor fijo o que invade estructuras adyacentes distintas de las vesículas seminales: cuello vesical, esfínter externo, recto, músculos elevadores del ano y/o pared pélvica.		

Clasificación anatomopatológica pTNM

Las categorías pT, pN y pM se corresponden con las categorías T, N y M
 No hay categoría pT1 porque el tejido es insuficiente para valorar la categoría pT más alta.

Grado histopatológico

- GX No se puede evaluar el grado de diferenciación
- G1 Bien diferenciado (anaplasia débil) (Gleason 2-4)
- G2 Moderadamente diferenciado (anaplasia moderada) (Gleason 5-6)
- G3-4 Pobremente diferenciado/indiferenciado (marcada anaplasia) (Gleason 7-10)

17.- TRATAMIENTO

RTUP () a / / OBSERVACIÓN () d / /
 ORQUIECTOMÍA () b / / RADICAL () e / /
 BLOQUEO ANDROGÉNICO () c / / RADIOTERAPIA f / /

18.- OTROS FÁRMACOS

19.- INHIBIDOR DE PROSTAGLANDINAS (en los últimos 6 meses)
 cuál dosis /24 hrs Tiempo de administración

20.- INMUNOSUPRESIÓN si () no () cuál dosis /24 hrs

21.- Diagnóstico del patólogo experimentado.- Adenocarcinoma () a
 Hiperplasia nodular () b

22.- Diagnóstico de referencia.- Adenocarcinoma () a
 Hiperplasia nodular () b

23.- Suma de Gleason () + () =

24 - Grado de Diferenciación Bien diferenciado 1 - 2 () a
 Moderadamente diferenciado 3 - 4 () b
 Indiferenciado 5 - 9 () c

25.- INMUNOHISTOQUÍMICA PARA IL-2

1° campo (√) Positivos ()

2° campo (√) Positivos ()

3° campo (√) Positivos ()

26.- INDICE = $\frac{\text{campos positivos}}{\text{campos estudiados}}$ = $\frac{()}{(3)}$ = ()

27.- EVOLUCIÓN

Vivo sin evidencia de actividad tumoral () a / /

Vivo con evidencia de actividad tumoral () b / /

Muerto sin evidencia de actividad tumoral () c / /

Muerto por cáncer de próstata () d / /

28.- ESTUDIOS DE GABINETE

Positivo (+) Negativo (-)

a) Gamagrama óseo¹ / / Dx:

b) Serie Ósea Metastásica¹ / / Dx:

c) APE² último (en los 6 meses anteriores) FECHA / / Valor

29 - OBSERVACIONES

Se sorteó el paciente? si () número consecutivo número aleatorio
 no () porqué?

Se transfirió el paciente si () Se sorteó entonces?

¹ El último resultado obtenido en los 6 meses anteriores o posteriores a la fecha del diagnóstico histopatológico *de novo*.

² El último de los resultados obtenidos en los 6 meses anteriores a la fecha del diagnóstico histopatológico *de novo*.