



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

*BIOMARCADORES MOLECULARES CON APLICACIÓN CLÍNICA: EN CÁNCER DE
GLÁNDULA MAMARIA Y CÁNCER DE GLÁNDULA PROSTÁTICA*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

MIGUEL ANGEL RUIZ MACIAS

ASESOR:

Dr. Ricardo Víctor Santiago Díaz

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Agradecimientos

Agradesco a Dios por darme la vida por estos años vividos, la experiencia adquirida, la sabiduría que me ha dado. Agradesco el amor de mis padres, los sueños que me ha brindado y por permitirme escribir estas líneas:

Como un testimonio de mi gratitud por haber significado la inspiración que necesitaba para terminar mi carrera profesional, prometiendo superación y éxitos sin fin. Por el inmenso apoyo, confianza que en mí se depositó con los cuales he logrado terminar mis estudios profesionales que constituyen el legado más grande que pudiera recibir y por lo cual les viviré eternamente agradecido. Solo deseo que entiendan que el logro mío, es el logro tuyo, que mi esfuerzo es inspirado en ti, y que mi único ideal eres tú. Con admiración y respeto a mis padres y abuela: María Encarnación Chávez Esparza, Arnulfo Cortez González y María del Rocío Macías Chávez. Ya que sin su apoyo de ustedes no estaría escribiendo estas líneas y me apoyaron no solo en la carrera sino durante toda la vida.

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento de manera especial al profesor Dr. Ricardo Víctor Santiago Díaz, por aceptarme para realizar esta tesis bajo su dirección. Su apoyo y confianza en mi trabajo y su capacidad para guiar mis ideas. Le agradezco también el haberme facilitado siempre los medios suficientes para llevar a cabo todas las actividades propuestas durante el desarrollo de esta tesis. Debo destacar por encima de toda su disponibilidad y paciencia. Muchas gracias profesor.

A los profesores Dr. Ricardo V. Santiago Díaz, Dr. Francisco López Mejía, QFB. Rosalba Bonilla Sánchez, Dr. Víctor Manuel Zendejas Buitrón y Dra. Patricia Ramírez Noguera por su gran apoyo, paciencia y disposición, lo cual ayudó a que concluyera los estudios de la tesis. Porque a través de la revisión, corrección y con sus aportaciones valiosas e ideas enriquecieron este trabajo. Gracias por su tiempo.

A mi hermana Karen Lizeth Ruiz Macías el apoyo que siempre me ha brindado con su impulso, fuerza, valor y tenacidad que es parte de mi formación.

A mi familia por estar siempre conmigo en las buenas y en las malas. Gracias.

Mi más sincero agradecimiento a mis compañeros de la carrera porque con ellos me formé.

A mis amigos que juntos hemos recorrido un camino largo lleno de logros y satisfacciones, sobre todo grandes momentos de alegría: Alejandro Jesús Gómez Arizmendi, Ariana Ayala Alcantar, Marisol Rodríguez.

A Claudia, Sandra, Enrique, Enriqueta, José Luis, Gaby, Víctor, Ángel, Alan, Rox, Diana, Wendy, Valentina, Israel, Gil, Toño, Andy, Manuel, Aldo por su amistad sincera y su apoyo incondicional, su gran calidad humana que me han mostrado. Gracias por empujarme siempre adelante cuando llegaba a dudar, por compartir logros, proyectos e ideas.

A la UNAM mi segundo hogar, “POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU”

Índice General

Lista de abreviaturas	5
Indice de tablas	7
Indice de figuras	7
Resumen	8
1. Introducción:	9
2. Antecedentes Históricos de los Biomarcadores	10
3. Justificación del trabajo sobre la utilidad de los Biomarcadores	11
3.1 Objetivos	12
3.2 Objetivo General	12
3.3 Objetivos Particulares	12
4. Concepto: Biomarcador	13
4.1 Características de los biomarcadores	14
5. Obtención e Identificación de un Biomarcador	18
5.1 Consideraciones Clínicas en el desarrollo de los Biomarcadores	19
5.2 Pruebas de falsos positivos y auxiliares	20
6. Tipos de Biomarcadores en Cáncer de Glándula Mamaria y Glándula Prostática	24
6.1 Biomarcadores en Glándula Mamaria	24
6.2 Biomarcadores tumorales no incluidos en la Categorización	33
6.3 Biomarcadores en Glándula prostática	38
6.4 Antígeno Prostático Específico	38
6.5 Fosfatasa Acida Prostatica	39
7. Importancia Epidemiológica de los Biomarcadores	39

8. Características Moleculares de los Biomarcadores y su Aplicación clínica en el Diagnóstico, Pronóstico, Tratamiento del Cáncer de Glándula Mamaria y Glándula Prostática.	45
8.1 Clasificación Molecular del Cáncer de Prostata	45
8.2 Fase orientada a endocrinología	46
8.3 Manejo del marcador y la terapia para la Fase Endocrina	48
8.4 Fase del microentorno dependiente	49
8.5 Mecanismos moleculares de la Fase microambiente dependiente	51
8.6 Marcadores y estrategias de tratamiento para la Fase microambiente manejada	54
8.7 Mecanismos moleculares en fase de la célula	56
8.8 Marcadores y estrategias de tratamiento para la fase celular	57
8.9 Identificación de biomarcadores que predicen la terapia	58
8.10 ¿Cómo modificar el nuevo modelo a la terapia?	60
8.11 Clasificación genómica del cáncer de mama	61
8.12 Diferentes perfiles de expresión y evaluación del riesgo	63
8.13 Correlación entre perfiles de expresión	65
8.14 Micro-RNA y cáncer de mama	66
8.15 Estudios de ligamiento	67
8.16 Estudios de resecuenciación masiva en el cáncer de mama	70
8.17 Traducción de los hallazgos genómicos a la práctica clínica y salud pública	70
9. Perspectivas de uso de Biomarcadores	72
9.1 Proteómica Ms-Base	73
9.2 Proteómica basado en anticuerpos	74
10. Discusión	77
11. Conclusiones	80
12. Bibliografía	81

Lista de Abreviaturas

BT	Biomarcadores Tumorales
Ca 15-3	Antígeno de Cáncer 15-3
Ca 19-9	Antígeno de Cáncer 19-9
Ca 125	Antígeno de Cáncer 125
ADN	Acido desoxirribonucleico
ARN	Acido ribonucleico
PSA	Antígeno Prostatíco Específico
who-icp	Marco conceptual de la clasificación internacional para la seguridad del paciente
KLK3	Peptidasa relacionada con la calicreína
Ag	Antígeno
Ac	Anticuerpo
RIA	Radioinmunoensayo
IRMA	Análisis Inmunoradiométrico
RcE	Receptores para estrógenos
Hsp27	Proteína
pS2	Proteína
IHQ	Inmunohistoquímica
RcPg	Receptores para progesterona
Her-2/neu	Protooncógen
CD31	Proteína de membrana
PCNA	Antígeno Nuclear de Proliferación Celular
VEGF	Factor de crecimiento de endotelio vascular
EGFr	Receptor para factor de crecimiento epidérmico
CEA	Antígeno Carcino Embrionario
BRCA-1 y BRCA-2	Breast cancer 1 y 2

Rb	Retinoblastoma
LEA.135	Antígeno de epitelio luminal
MUC	Mucina
MDV3100	Farmacó
LNCaP	Celúlas de adenocarcinoma de próstata humano
CTC	Circulación de células tumorales
CASP8	Caspasa 8
PLK1	Poloquinasa 1
AURKA	Aurora quinasa
SNPs	Polimorfismos de un solo nucleótido

Índice de Tablas

Tabla 1. Tipos de biomarcadores	18
Tabla 2. Propiedades bioquímicas y aplicaciones clínicas	20
Tabla 3. Inmunoensayos que más se utilizan	24
Tabla 4. Categorización de los biomarcadores tumorales	25
Tabla 5. Características del antígeno específico de próstata (PSA)	39
Tabla 6. Tasa de morbilidad hospitalaria por cáncer de mama	42
Tabla 7. Distribución porcentual por Cáncer de Mama	43
Tabla 8. Tasa de morbilidad hospitalaria por cáncer de próstata	44
Tabla 9. Estudio diagnóstico en las terapias	61
Tabla 10. Pruebas genómicas	64
Tabla 11. Variantes genéticas	68
Tabla 12. Factores Genéticos	70

Índice de Figuras

Figura 1. Primer Biomarcador	10
Figura 2. Mecanismo de liberación de los marcadores tumorales	14
Figura 3. Principio general para la determinación de biomarcadores	22
Figura 4. Distribución Porcentual de Morbilidad Hospitalaria	45
Figura 5. Fase DHT-dependiente de cáncer de próstata	46
Figura 6. Modelo en espiral	54
Figura 7. Tratamientos terapéuticos del modelo en espiral	55
Figura 8. Perfil de alteraciones de DNA	65
Figura 9. Detección de alteraciones en el DNA	67
Figura 10. Esquemas para el descubrimiento de biomarcadores	76
Figura 11. Relación de la sensibilidad con la especificidad	77
Figura 12. Marcador tumoral ideal	78

RESUMEN

Los biomarcadores, son sustancias y moléculas derivadas de la actividad del metabolismo celular, los cuales pueden detectarse en sangre circulante, dentro de los cuales se encuentran las enzimas, proteínas, metabolitos u hormonas, estos se pueden utilizar como referencia a ciertas patologías cancerosas, como las neoplasias. De este modo, cualquier molécula que puede ser identificada con el proceso de transformación maligna, proliferación, indiferenciación y metástasis de las células neoplásicas puede, en última instancia, considerarse como un biomarcador tumoral. Las neoplasias son el resultado de la transformación genotípica y fenotípica de la célula normal que se caracteriza fundamentalmente por la pérdida del control del crecimiento celular. En la última década se han realizado numerosas investigaciones para identificar marcadores oncológicos y epítopes específicos (porción de proteína que sobresale de la membrana, utilizada también como biomarcador). Por otra parte, sustancias y moléculas derivadas de la actividad del metabolismo celular pueden detectarse en sangre circulante como enzimas, proteínas, metabolitos u hormonas, pudiendo ser utilizadas como biomarcadores tumorales. De este modo, cualquier molécula que puede ser identificada con el proceso de transformación maligna, proliferación, indiferenciación y metástasis de las células neoplásicas puede, en última instancia, considerarse como un biomarcador tumoral.

Es indudable que un diagnóstico oportuno y temprano incrementa el éxito del tratamiento de una enfermedad; en el caso de las neoplasias estas se convierten hoy por hoy, en una condición indispensable; en su accesibilidad. Los biomarcadores tumorales son una herramienta invaluable en el diagnóstico del cáncer los cuales se utilizan con mayor frecuencia en virtud de su mayor sensibilidad y especificidad. Algunos de ellos no son recomendados para diagnóstico en población abierta. En la presente compilación se hace énfasis en la combinación de alguno de ellos, ya que permite e incrementa una precisión diagnóstica muy adecuada. Se realiza una revisión breve de su origen y constitución bioquímica, incidiendo en la aplicación práctica de los antígenos más frecuentemente utilizados en las patologías tumorales en nuestra región. El presente trabajo se divide en 10 partes.

1.- INTRODUCCIÓN

Atravez de la historia de la medicina se han observado ciertas patologías , que posteriormente se caracterizaron como cancer y que gracias a investigaciones realizadas se ha descubierto que existe relación entre ciertas sustancias en la circulación sanguínea y el cancer, a estas moléculas se les denomino biomarcadores los cuales son moléculas o sustancias de naturaleza muy variada p.ej., fragmentos de ADN, proteínas, etc., que normalmente están presentes en el organismo, pero que al existir una enfermedad precancerosa o maligna, estos se ven alterados, debido a esto, estos contribuyen, o son susceptibles a ser utilizados como referencia para un diagnóstico, de tal forma que resultan de gran importancia para el estudio clínico a nivel diagnostico y a nivel de investigación. La naturaleza de los biomarcadores tumorales es muy variable. No hay un marcador tumoral ideal, definido como aquel con una sensibilidad y especificidad del 100%. Los biomarcadores tumorales pueden ser utilizados para el estudio de la población con riesgo de presentar un cáncer para su detección precoz con enfermedad confinada y potencialmente curable, como parte del diagnóstico, en el diagnóstico diferencial, como prueba de valor pronóstico y predictivo, como herramienta para evaluar el tratamiento administrado, y para la detección de las recaídas cuando éstas se presentan y el paciente tiene una nueva oportunidad de tratamiento, antes de que las manifestaciones clínicas reaparezcan. En este módulo se analizan los principales biomarcadores tumorales disponibles en el medio, como el antígeno carcinoembrionario, el antígeno específico de próstata, el CA 15-3, , la mucina, la gonadotropina coriónica, Her-2/neu (erbB-2), la catepsina D, la proteína 53, entre otros biomarcadores. La determinación de biomarcadores tumorales séricos es importante para realizar una evaluación integral de los pacientes con cáncer. No existe un marcador 100% sensible y específico. Sin embargo, son muy útiles en la detección, diagnóstico, pronóstico, valoración del tratamiento y vigilancia de los pacientes con diferentes neoplasias, ya que los niveles séricos se modifican de acuerdo al curso clínico de la enfermedad.

2. Antecedentes Históricos de los biomarcadores

Los Biomarcadores tumorales no son nuevos en la práctica médica, se conoce que tienen antecedentes que se remonta a mediados del siglo XIX, cuando Henry Vence- Jones informó la precipitación de una proteína en la orina acidificada de un paciente con mieloma múltiple ⁽¹⁾, describiéndose así el primer biomarcador tumoral ⁽²⁻³⁾, el cual actualmente lleva su nombre esto aun está vigente en la práctica clínica. Entre 1928 y 1963 los científicos describieron numerosas hormonas, entre ellas la producción de hormonas ectópicas ⁽⁴⁾ y la gonadotropina corionica ⁽⁵⁾, enzimas como la fosfatasa alcalina ⁽⁶⁾ y otras proteínas que alteran sus concentraciones sanguíneas en presencia de enfermedades malignas ⁽⁷⁾, siendo la fosfatasa ácida el primer biomarcador tumoral para el cáncer de próstata ⁽⁸⁾ descubierta a finales de la década de 1930 del siglo pasado y utilizada hasta 1990, cuando fue reemplazada por su versión más avanzada, la fosfatasa ácido prostática, pero finalmente, se desplazó por el antígeno específico de próstata descubierto en 1979 por Wang y colaboradores ⁽⁹⁾. En 1963 se descubrió la alfafetoproteína como biomarcador del hepatocarcinoma ⁽¹⁰⁾ y en 1965 el antígeno carcinoembrionario como biomarcador de las neoplasias colorrectales ⁽¹¹⁾, biomarcadores que aun continúan vigentes en la práctica médica. Ya que en esta práctica médica se da a conocer en donde se encuentra el tumor canceroso.

Berson y Yalow en 1958 obtuvieron el premio Nobel gracias al descubrimiento del radioinmunoanálisis ⁽¹²⁾, de igual forma para Köhler y Milstein por el descubrimiento de los anticuerpos monoclonales en 1975 ⁽¹³⁾, quienes con esto dieron lugar a que se descubrieran otros biomarcadores tumorales como el antígeno de cáncer 125 (CA 125), el antígeno de cáncer 15-3 (CA 15-3) y el antígeno de cáncer 19-9 (CA 19-9) para el cáncer de ovario, el cáncer de mama y el cáncer digestivo, respectivamente. En las décadas del 70 y del 80 se incorporaron con características del biomarcador tumoral los conceptos de oncogenes ⁽¹⁴⁾ y genes supresores de tumor y otras alteraciones cromosómicas ⁽¹⁵⁾ a partir del siglo XXI se utilizó los conceptos de microarray. ⁽⁴⁾

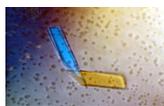


Fig 1: Primer biomarcador (Campuzano Maya)

3.- JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO SOBRE LA UTILIDAD DE LOS BIOMARCADORES EN CÁNCER DE GLÁNDULA MAMARIA Y GLÁNDULA PROSTÁTICA

Recientemente, muchos agentes terapéuticos para el cáncer de próstata se han aprobado para orientar el receptor de andrógenos y / o el microambiente del tumor de próstata. Cada una de estas terapias ha aumentado modestamente la supervivencia del paciente. Una mejor comprensión en el curso de la progresión del cáncer de próstata debe ser específica para aplicarse en terapias y biomarcadores.

Cuando la resistencia al cancer se presenta, es casi seguro que se mejore la supervivencia del paciente debido a estas terapias. Por lo tanto, la aplicación de agentes terapéuticos en las secuencias correctas con la combinación correcta en el momento adecuado es un objetivo principal en el tratamiento del cáncer prostático y mamario. Para que esto ocurra, debe haber una evolución del cáncer prostático y mamario.

Durante la progresión se requiere, que se discuta el conocimiento actual del cáncer prostático y mamario para su progresión, para desafiar la opinión, proponiendo un nuevo modelo, con el objetivo de mejorar biológicamente la clasificación y las estrategias del tratamiento. Utilizamos modelos para analizar cómo se integra su comprensión básica y clínica del cáncer que conducirá a una mejor implementación de mejorar molecularmente las terapias dirigidas y la supervivencia del paciente.

Con el rápido desarrollo de fármacos con eficacia contra el cancer de próstata y mamario, ahora es posible considerar la aplicación de estos fármacos (agentes), con la intención de curar actualmente a hombres y mujeres con canceres incurables.

El carcinoma de la glándula mamaria representa la segunda causa de muerte en mujeres mexicanas. La evaluación histopatológica continua siendo el elemento crítico más importante para determinar el pronóstico en pacientes con carcinoma mamario, sin embargo, una vez establecido en el diagnostico existen diversos datos para poder, hasta cierto punto, anticipar tanto el comportamiento tumoral / (pronostico) como la posible respuesta al tratamiento. Por tal motivo se desea descubrir que biomarcadores actúan en el cáncer mamario y cáncer prostático para su diagnostico eficaz, pronostico, seguimiento a estos dos órganos

importantes tanto en el hombre y tanto la mujer ya que si se detecta antes de que se convierta en una metástasis tumoral.

3.1-Objetivos

3.2-Objetivo General:

- Recopilar información para aportar una fuente de consulta, que permita a los alumnos del área de ciencias biológicas tener acceso a información actualizada, sobre los aspectos básicos de los biomarcadores tumorales mediante una revisión hemerográfica de prestigio internacional.

3.3-Objetivos Particulares:

- Revisar aspectos históricos sobre los biomarcadores y su conceptualización, para conocer la evolución y/o progreso del concepto del biomarcador.
- Describir los mecanismos existentes que regulan la expresión génica en la clasificación molecular en cáncer de próstata como en cáncer mamario.
- Revisar brevemente las interacciones del ambiente del biomarcador y su influencia y/o relación en los organismos, para poder entender como afecta al organo. Donde se proponen modelos moleculares para detectar la metatastasis cancerosa con un monitoreo y asi identificar el estadio inicial del paciente.

4. Concepto: Biomarcador

El biomarcador biológico, se define como una molécula, una sustancia o un proceso que se altera cualitativa o cuantitativamente como resultado de una condición precancerosa o un cáncer detectable mediante una prueba de laboratorio en sangre, en líquidos orgánicos o en tejidos⁽⁴⁾. La naturaleza del marcador tumoral puede ser muy variable, va desde un ácido nucleico, ADN o ARN, una proteína o un péptido, hasta procesos como la apoptosis, la angiogénesis y la proliferación que pueden ser medidos con técnicas apropiadas⁽¹⁶⁾. Desde el punto de vista de su origen, los biomarcadores tumorales se producen por el tumor mismo como la gonadotropina coriónica en el coriocarcinoma o como respuesta a la lesión tumoral en el tejido circundante como el antígeno carcinoembrionario en el cáncer de mama⁽⁴⁾. La mayoría de los biomarcadores tumorales pueden ser producidos por las células normales, al igual que las cancerosas. En ocasiones, las enfermedades no cancerosas también pueden causar que los niveles de ciertos marcadores tumorales se incrementen más de lo normal.

Fig. 2⁽¹⁶⁾.

La mayoría de los BT (biomarcadores tumorales) se catabolizan en el hígado y se eliminan por vía renal, de ahí que las afecciones no neoplásicas de estos órganos pueden causar la acumulación del BT y discretas elevaciones séricas⁽⁴⁾. Los BT no son, por tanto, parámetros específicos de la célula neoplásica. Generalmente, las células neoplásicas van a secretar mayores cantidades que las células sanas al secretar al torrente circulatorio en lugar del interior glandular, lo que provoca que se detecten concentraciones muy superiores de estas sustancias en la sangre u otros líquidos biológicos ante la presencia de un tumor. La concentración sérica de los biomarcadores tumorales, así como su sensibilidad, depende de varios factores asociados al tumor: capacidad de síntesis, localización celular, número de células neoplásicas, cinética celular, presencia de metástasis (número, localización y tamaño) y vascularización del tumor.⁽¹⁶⁾ Hay otros factores relacionados con el paciente, como la función de órganos y tejidos que metabolizan los BT, que pueden afectar a su concentración sérica. Además, la administración de tratamientos antineoplásicos puede aumentar de forma transitoria la concentración de estos marcadores en sangre, y estos factores están relacionados con la especificidad⁽¹⁶⁾.

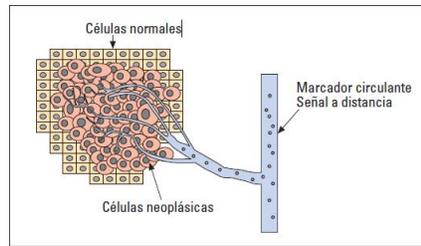


Fig 2: Mecanismo de liberación de los marcadores tumorales (Pujol Trape J)

4.1 Características de los biomarcadores

No todos los biomarcadores se tienen en cuenta en la utilidad clínica, así que la detección ideal de biomarcadores de cáncer debería encontrarse en el tejido maligno, y debería generar una señal positiva que se puede medir sin ruidos de confusión a partir de tejidos normales u otras patologías no malignas ⁽²²⁾. Por ejemplo la detección de PSA ha sido criticada, ya que puede ser elevada por una variedad de patologías, por lo que el valor predictivo positivo donde la oportunidad de que un hombre con un PSA elevado tenga cáncer de próstata es bastante bajo entre un 20 a 40 % ⁽²³⁾. Por lo tanto, muchos hombres se someten a biopsias innecesarias con efectos secundarios. Mientras los perfiles de expresión génica han revelado cientos o incluso miles de genes expresados en tejidos malignos a niveles superiores, en comparación con tejidos benignos, prácticamente no hay transcripciones o proteínas que se hayan identificado que estén elevadas únicamente en el cáncer. Muchos de estos biomarcadores son candidatos para que pertenezcan a las vías intrínsecas a las células normales y tejidos, tales como mediar la proliferación, la apoptosis, la diferenciación, la angiogénesis, la muerte celular, y la inflamación ⁽²³⁾. Algunos biomarcadores han fracasado debido a que no se conoce los niveles de proteína, que es el analito preferido para la mayoría de ensayos clínicos, no se correlacionan con los niveles de transcripción. Otras transcripciones o proteínas muestran sólo un aumento relativo en la expresión del cáncer, en comparación con el tejido normal y por lo tanto deja a los biomarcadores su bajo nivel de expresión, normalmente en el tejido de otros sitios y órganos, o de patologías no malignas. Los biomarcadores expresados en el núcleo o citoplasma no son accesibles a ensayos clínicos ya que la mayoría de los biomarcadores actualmente está en uso de la superficie celular o proteínas secretadas. ⁽²³⁾

Para ser eficaz la estrategia de estudio debe detectar células malignas que están destinados a crecer con metástasis y causar la muerte. Desafortunadamente poco se sabe acerca de los pasos que conducen las células transformadas a convertirse en malignas y finalmente letales y esto tiene importantes implicaciones para el desempeño de biomarcadores. Los cánceres son tejidos compuestos de muchos tipos de células ⁽²²⁾. Es posible y probable que las características del huésped, tales como la respuesta inmune innata o la malignidad de las interacciones de las células malignas con estroma, o factores estocásticos que no son capturados por cualquier biomarcador, y que son importantes en la progresión de las lesiones tempranas ⁽²³⁾. Por lo tanto se centra en mutaciones o alteraciones estructurales en las células malignas sólo serán de limitada utilidad en predecir el comportamiento biológico y clínico. Además muchos biomarcadores fracasan porque la mayoría de los tumores malignos muestran inestabilidad genómica y requieren múltiples cambios genéticos para convertirse en cáncer metastásico. ⁽²³⁾

La medición de un biomarcador en un momento particular puede no predecir adquisición de esas futuras alteraciones genéticas que son el producto de esta inestabilidad genómica subyacente. El rendimiento de un biomarcador de diagnóstico se verá influenciada por la historia natural de la neoplasia. ⁽²⁴⁾

El biomarcador se utiliza para medir una interacción entre un sistema biológico y un agente de tipo químico, físico o biológico, la cual es evaluada como una respuesta funcional o fisiológica, que ocurre a nivel celular o molecular y además está asociada con la probabilidad del desarrollo de una enfermedad. ⁽¹⁰³⁾

La interacción depende de las características heredadas y adquiridas del individuo (o del sistema biológico), y de las circunstancias de la exposición, y como resultado es posible no encontrar efecto o tener algún efecto adverso. ⁽¹⁰⁴⁾

Las consideraciones que deben tenerse en cuenta para la evaluación son: la dosis, la vía de contacto, la duración y frecuencia de exposición con el agente. La evaluación de una muestra biológica usando biomarcadores y su implicación en la aparición y desarrollo de una enfermedad es compleja; sin embargo, es de gran importancia establecer la relación entre la

exposición y la enfermedad, para minimizar efectos adversos, ya que esta información permite establecer: un diagnóstico adecuado, una intervención preventiva efectiva, desarrollo y evaluación de tratamientos e identificación de individuos sensibles [105]. La selección de los biomarcadores a utilizar dependerá del conocimiento científico y la influencia de factores sociales, éticos y económicos. [106]

Antes de ser utilizado un marcador biológico en estudios de salud humana es fundamental su validación, por tanto, el proceso de selección y aprobación requiere una cuidadosa consideración de la especificidad, fiabilidad y sensibilidad como una medida de riesgo, estableciéndose la exactitud, precisión, además de la garantía de la calidad del procedimiento analítico y la interpretación de datos de la medición, los cuales deben ser comparados con otras variables [107]. Para su validación como biomarcador este debe cumplir con los siguientes componentes: [107]

Identificación del riesgo: Confirmar que el agente es capaz de causar un efecto adverso en el organismo, identificando claramente la condición clínica a evaluar.

Evaluación de dosis-respuesta: Establecer la relación cuantitativa entre la dosis y el efecto, estableciendo que este constituye un paso relacionado con la patofisiología de la enfermedad.

Evaluación de la exposición: Identificar y definir el tipo de exposición que se produce, o se prevé que se produce [107]. El uso de biomarcadores debe estar enmarcado en una guía de principios que facilite su empleo en: la valoración clínica de rutina, la regulación, la adecuada evaluación, la cuantificación y la validación, teniendo en cuenta las consideraciones éticas necesarias.

Los factores que requieren ser considerados en el proceso de selección y validación del biomarcador de acuerdo con los direccionamientos de who-icps, 1993 [108] son:

- 1) Identificación y definición del proceso biológico de interés; [109]
- 2) Estudios previos de la relación entre el agente de exposición, el biomarcador y el efecto a evaluar (estudios *invitro*, en humanos y otros organismos) ; [109]
- 3) Identificación de la variable a cuantificar, para evaluar la sensibilidad y especificidad del marcador en relación con la exposición; [110]
- 4) Selección de exámenes disponibles para el análisis, confiabilidad de la integridad de la muestra entre la recolección y el análisis; [110]

- 5) Revisión de los procedimientos analíticos disponibles para la cuantificación del marcador y sus limitaciones con respecto a la detección, sensibilidad, precisión y exactitud;⁽¹¹¹⁾
- 6) Estandarización de un protocolo que garantice un adecuado nivel de calidad y control;⁽¹¹¹⁾
- 7) Evaluación de la variación intra e interindividual de una población no expuesta;⁽¹¹¹⁾
- 8) Análisis de datos para establecer la relación dosis efecto y dosis-respuesta y su variación teniendo en cuenta la susceptibilidad individual;⁽¹¹²⁾
- 9) Predicción del riesgo para la salud humana de la población en general o del subgrupo;
- 10) Revisión de consideraciones éticas y sociales. ⁽¹¹²⁾

La caracterización del riesgo a través del uso de biomarcadores es la síntesis de la información cualitativa y cuantitativa que describe la estimación del efecto para la salud antes de la exposición, con la identificación de los daños y la evaluación de dosis respuesta, teniendo en cuenta la información de los datos anteriores disponibles en: humanos, diferentes especies y en sistemas *invitro*, cuando esto sea necesario ⁽¹¹³⁾.

Los biomarcadores se encuentran diferenciados en tres tipos:

Biomarcador de exposición, el cual evalúa en un organismo la presencia de una sustancia exógena, un metabolito o el producto de la interacción entre el agente xenobiótico (compuestos naturales o sintéticos del ambiente que el organismo metaboliza y acumula) y una molécula o célula diana.

Biomarcador de Efecto, que evalúa la alteración bioquímica, fisiológica o de comportamiento producida en el organismo que puede ser asociada con una enfermedad.

Biomarcadores de Susceptibilidad, es un indicador de la capacidad heredada o adquirida de un organismo para responder a la exposición a una sustancia xenobiótica. Las categorías pueden traslaparse en algunas ocasiones. En la Tabla 1 se presenta una lista de ejemplos de biomarcadores utilizados en la actualidad. ⁽¹¹⁴⁾

Tabla 1. Tipos de biomarcadores (Sandra S. Arango V)

Tipo	Biomarcador	Referencia
Exposición	Excreción de metabolitos en orina	Rodríguez E, García col; 2010 (22)
	Aductos de ADN	Shuker D. 2002(23)
	Aductos de albumina	Funk W. He . L col; 2010
	Aductos de hemoglobina	Richter E. Branner B. 2002
Efecto	Recuento de eritrocitos, leucocitos y trombocitos	Shankar, A. Mitchell col; 2007(26)
	Inhibición de enzimas del grupo hemo	Maiese K, Chong col; 2010(27)
	Niveles de proteína en orina	Tambor V. Fucikova A. col; 2010(13)
	Marcadores de citotoxicidad	Lieggi N, A. col; 2010(28)
	Niveles de células necróticas	Greystokea A, Hughesa A, b, col; 2007(29)
	Niveles de anticuerpos	Whiteaker J. Zhao L. col; 2007(30)
Susceptibilidad	Polimorfismo de enzimas	Anderson J, Hansen L. col; 2006(31)
	Polimorfismo de la glutation-transferasa	Norppa H, 2004(32)
	Polimorfismo genético	Knudsen L. Loft S. col; 2001(33)

5.-OBTENCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE UN BIOMARCADOR.

Dado que la guerra contra el cáncer fue declarada en el año 1972, las tasas de mortalidad por cáncer después de haber aumentado durante varias décadas, han comenzado a bajar lentamente ⁽²²⁾. Esta caída se puede atribuir a los esfuerzos preventivos (por ejemplo, dejar de fumar), la mejora de los tratamientos para la enfermedad avanzada y la detección temprana y el tratamiento de los cánceres localizados. En futuros progresos en la prevención y el tratamiento de la enfermedad avanzada requiere una comprensión fundamental de las causas subyacentes y mecanismos de cáncer. La detección temprana, por otro lado, puede ser un diagnóstico para su causa, y se limita a exigir un método (imágenes, célula recogida, medición de un bioanalito) que se correlaciona con un estado de enfermedad, seguido por la aplicación de tratamientos localizados (en la cirugía, la radiación, o tejido) que se han

desarrollado y perfeccionado a lo largo del siglo pasado. Ensayos aleatorios de detección temprana y el tratamiento local definitivo han demostrado, una mejoría en la supervivencia del cáncer de mama, de colon, de próstata, y cánceres de pulmón. ⁽²²⁾

Casi todos los biomarcadores de cáncer utilizado actualmente en la clínica, como el antígeno prostático específico (KLK3) o PSA (cáncer de próstata), ErbB2 (cáncer de mama), son los números de biomarcadores aprobados por la FDA cada año para su uso clínico es de un solo dígito. Esta tasa demuestra que el desarrollo de biomarcadores es casi tan difícil como la elaboración y aprobación de una nueva droga. ⁽²²⁾

5.1 Consideraciones clínicas en el desarrollo de biomarcadores

Para la población estudiada, los biomarcadores de diagnóstico deben ser descubiertos en las primeras etapas, en el cáncer no metastásico ya que la expresión de biomarcadores puede cambiar en el curso de una enfermedad. En el cáncer de próstata, por ejemplo, la expresión de PSA por células de cáncer generalmente disminuye a medida que los tumores se convierte para diferenciarlos en su fase metastesico, haciendo un PSA predictor fiable de la respuesta terapéutica en las últimas etapas de la enfermedad. ⁽²⁴⁾

Muy comúnmente, los biomarcadores de cáncer se ponen a prueba en muestras de pacientes de casos con un tratamiento oportuno a los que ya no la tienen, y estos se comparan con los casos muchos años después de su tratamiento. ⁽²⁴⁾

Debido a que las tasas de incidencia para los canceres son bastantes bajos en la población, cualquier herramienta de selección debe mostrar relativamente alta sensibilidad la parte de los casos de cáncer que tiene una prueba positiva y especificidad a la parte de los individuos sin cáncer que tienen una prueba negativa. Las pruebas con características de rendimiento son pobres (falsos negativos) que identifican a los individuos que albergan la enfermedad, a cuando no lo hacen (falsos positivos). Las pruebas de falsos negativos tienen consecuencias obvias, ya que los cánceres peligrosos irán sin diagnosticar. ⁽²⁵⁾

Las pruebas de falsos positivos conducirán a pruebas complementarias, tales como formación de imágenes, la paroscopia, o biopsia, y por lo tanto producen un considerable costo para el paciente, que sufre de ansiedad y de la morbilidad de esas pruebas auxiliares. (25)

Tabla 2 Propiedades bioquímicas y aplicaciones clínicas (Elsevier)

Símbolo	Nombre	Propiedades bioquímicas	Localización	Principales aplicaciones clínicas
AFP	α -1-fetoproteína	Glucoproteína, 70 kDa, 4% hidrato de carbono	Tumores de células germinales testiculares y de ovario	Diagnóstico, monitorización, pronóstico
			Carcinoma hepatocelular	Diagnóstico, monitorización
CA-125	Antígeno hidrato de carbono 125	Mucina, > 200 kDa	Carcinoma de ovario	Monitorización, pronóstico tras la quimioterapia
CA-15.3	Antígeno hidrato de carbono 15.3	Mucina, > 250 kDa	Carcinoma de mama	Monitorización
CA-19.9	Antígeno hidrato de carbono 19.9	Glucopéido, > 1.000 kDa	Carcinoma de páncreas	Monitorización
CEA	Antígeno carcinoembrionario	Glucoproteína, 45-60% hidratos de carbono, 180 kDa	Adenocarcinoma gastrointestinal, de mama y otros	Monitorización
HCG	Gonadotropina coriónica humana	Glucoproteína, α y β subunidad, 37 kDa	Tumores de células germinales testiculares no seminomatosos, coriocarcinoma, mola hidatídica, seminoma	Diagnóstico, monitorización, pronóstico
PSA	Antígeno prostático específico	Glucoproteína serinoproteasa, 36 kDa	Carcinoma de próstata	Cribado, diagnóstico, monitorización
SCC	Antígeno de carcinoma de células escamosas	Glucoproteína subfracción del antígeno humoral T4, 48 kD	Carcinoma de células escamosas de cabeza, cuello y otros	Monitorización
TPA	Antígeno polipeptídico tisular	Fragmentos citogequialínicos 8, 18, 19, 22 kDa	Carcinoma de pulmón	Monitorización
TPS	Antígeno polipeptídico tisular específico	Fragmentos citogequialínicos 18, 22 kDa	Metástasis de carcinoma de mama	Monitorización

5.2 Pruebas de falsos positivos y auxiliares

Dentro de las técnicas mencionadas anteriormente, se pueden producir falsos positivos a los cuales se les define que un falso positivo es el resultado de una prueba que indica que una persona padece una enfermedad o afección determinada, que en el caso de los marcadores tumorales es un cáncer, cuando, en realidad, no la padece. (24-25)

Estos falsos positivos se llegan a dar si las pruebas también incurren en gastos financieros significativos para el paciente y el sistema de salud. Esto requiere desarrollo de pruebas con alta sensibilidad y especificidad. (24-25)

Estas características de rendimiento de la mayoría de los biomarcadores esta actualmente en uso o en una aplicación de una prueba de detección de una población donde se plantea preguntas adicionales, incluyendo cuándo comenzar su detección, la frecuencia de la pantalla en la población y lo bien que la prueba se realiza en diferentes poblaciones étnicas. (25)

Un último desafío en la aplicación clínica de los biomarcadores de cáncer es con los usuarios finales los médicos que ordenan las pruebas. Los clínicos tienden a utilizar las pruebas de detección del cáncer de un modo binario: Una prueba es normal o anormal en función de si se excede un valor de corte (25). Donde una variable con un parámetro ajustable, se puede

hablar de sus curvas de sensibilidad y especificidad o curvas ROC (del inglés, *receiver operating*). En ellas se representa la sensibilidad de la técnica diagnóstica frente el valor que se obtiene al restarle la especificidad a la unidad (1-especificidad). El área bajo la curva obtenida oscila entre un valor de 0,5 (no discrimina entre un positivo y un falso positivo) y 1 (test diagnóstico perfecto). Sabiendo esto, se puede jugar con los valores de especificidad y sensibilidad hasta ajustar nuestra técnica diagnóstica.

Sin embargo los nuevos datos sugieren que los biomarcadores de cáncer existentes deben utilizarse para evaluar el riesgo como variables continuas, así como el colesterol se usa para evaluar el riesgo cardiovascular ⁽²²⁾. Varias pruebas basadas en la genómica, como Oncotype Dx y MammaPrint en el cáncer de mama, proporciona una escala de riesgo que se correlaciona con un resultado clínico significativo, tales como una posibilidad de metástasis en desarrollo. ⁽²³⁾

Tradicionalmente, la mayoría de los métodos usan anticuerpos monoclonales y de inmunohistoquímica para identificar biomarcadores. Como ya se menciono, estos métodos pueden usarse directamente en el tejido tumoral o en algún fluido corporal ⁽²⁵⁾. Sin embargo la cuantificación del biomarcador en líquidos biológicos tiene la ventaja de permitir, con una toma de muestra sencilla no invasiva, revelar a distancia la presencia de un proceso neoplásico y su evolución. ⁽²⁶⁾

La introducción de los inmunoensayos a partir de la década de 1950, causo gran impacto en muchas áreas de la medicina debido a que su sensibilidad y especificidad permitió la cuantificación exacta de una amplia variedad de compuestos biológicamente importantes, entre ellos biomarcadores, que se encuentran en los tejidos o fluidos corporales en bajas concentraciones (del orden de mg o pg/ml) ⁽²⁶⁾. En las últimas décadas los inmunoensayos han adquirido un papel protagonista en el laboratorio clínico y son cada día más frecuentes los sistemas automatizados que se incorporan para realizar este tipo de ensayos. Los inmunoensayos abarcan una amplia variedad de técnicas de enlace, que emplean ligadores (anticuerpos generalmente) con especificidad estructural hacia la sustancia de interés, también llamado ligando, antígeno (Ag) o analito. Como su nombre indica, los

inmunoensayos tienen como base una reacción inmunológica, en la que interactúan antígenos y sus correspondientes anticuerpos a través de fuerzas reversibles no covalentes **fig. 3** ⁽²⁶⁾.



Fig 3: Principio general para la determinación de biomarcadores por inmunoensayos (Nuñez Santilleni Blanca)

Los inmunoensayos pueden dividirse en dos grandes categorías. En la primera la concentración de anticuerpos está limitada en relación a la concentración total de Ag en la mezcla de reacción es el Radioinmunoensayo (un ejemplo es el RIA *Radioimmunoassay* típico) ⁽²⁶⁾. En la segunda categoría, la concentración de anticuerpos está en exceso en relación a la concentración total de antígenos (un ejemplo es el análisis inmunoradiométrico o IRMA). En ambos casos la cuantificación de Ag se basa en la determinación subsecuente de las fracciones libre y unida al anticuerpo. Para conocer la proporción de las fracciones libre y unida resultantes, se incorpora una “marca” (entendiéndose como tal cualquier material que pueda medirse con precisión en cantidades pequeñas por métodos analíticos sensibles) ya sea en el antígeno (Ag) o en el anticuerpo (Ac), molécula que a su vez se le conoce como trazador, pues no va a permitir seguir el curso de la reacción inmunológica ⁽²⁷⁾. Dentro de las moléculas trazadoras más comunes encontramos a los isótopos radioactivos, las enzimas, las moléculas fluorescentes y las luminiscentes. Una vez introducido el trazador y al finalizar la inmunoreacción, es necesario determinar la distribución de este entre la forma unida y libre. Para lograr esto, generalmente se requiere que la fracción unida sea físicamente separada de la fracción libre. Sin embargo, este paso de separación no es esencial si uno de los componentes del sistema puede ser detectado en presencia del otro. ⁽²⁷⁾

Por otra parte, hasta finales de la década de 1970 en los inmunoensayos fueron ampliamente utilizados los anticuerpos policlonales, los cuales se obtienen del sistema inmunológico de animales que en respuesta a un Ag desconocido forma varias líneas de células plasmáticas ⁽²⁷⁾. Las células plasmáticas a su vez producen diferentes anticuerpos que reaccionan con

varios epitopos sobre el antígeno contra el cual se originaron. Por lo tanto, el suero policlonal contiene una variedad de anticuerpos similares pero no idénticos con diferentes especificidades para el antígeno. Este problema de especificidad de los anticuerpos policlonales provoca confusión del sistema analítico y contribuye por lo tanto a la inespecificidad de órgano y de tipo tumoral de los biomarcadores. ⁽²⁸⁾

Enfrentados a este problema de especificidad dado por las limitantes tecnologías de aquella época (en la que solo se contaba con tecnología inmunométrica policlonal), muchos investigadores intentaron superar este obstáculo. ⁽²⁸⁾

Un gran avance se logró a partir del momento en que pudo contarse en forma práctica con la tecnología para obtener anticuerpos (Ac) monoclonales desarrollados por Koller y Milstein en 1975⁽²⁶⁾. La tecnología del hibridoma desarrollada por estos autores, forma células híbridas a través de la fusión in vitro de células productoras de anticuerpos (linfocitos B), las cuales tienen la capacidad de formar un tipo específico de estos, con células tumorales del mieloma las cuales son inmortales. Ambas células se fusionan por exposición rápida al glicol de polietileno⁽²⁶⁾. De esta forma se transfiere la capacidad de las células plasmáticas para producir anticuerpos de un tipo específico (pero que son incapaces de desarrollarse en cultivos) a células del mieloma que sí pueden cultivarse y que producen anticuerpos de manera indefinida ⁽²⁷⁾. Los híbridos resultantes producen anticuepos (Acs) altamente específicos, es decir reaccionan con un solo sitio antigénico y son por completo homogéneos, física, química e inmunológicamente. Los anticuerpos monoclonales, más tarde, pueden ser cultivados por separado para producir cantidades abundantes de estos ⁽²⁷⁾.

El uso de anticuerpos monoclonales no sólo aumentó la sensibilidad y principalmente la especificidad de los inmunoensayos, sino que, particularmente en el área de los biomarcadores permitió obtener anticuerpos altamente específicos contra un gran número de nuevos antígenos extraídos del tejido tumoral. ⁽²⁸⁾

Los inmunoensayos con más frecuencia se emplean para medir los biomarcadores se muestran en:

Tabla 3. Inmunoensayos que más se utilizan (Nuñez Santilleni Blanca)

INMUNOENSAYO		MARCA
RIA		Isotopos radiactivos
IRMA		Isotopos radiactivos
I.	ENZIMATICOS	Enzimas
I.	FLUORESCENTES	Moleculas fluorescentes
I.	QUIMIOLUMINISCENTES	Moleculas luminiscentes

6.-TIPOS DE BIOMARCADORES EN CÁNCER DE GLÁNDULA MAMARIA Y GLÁNDULA PROSTÁTICA

6.1 Biomarcadores en Glándula Mamaria

El carcinoma de mama es una de las neoplasias malignas más frecuentes y de mayor mortalidad en las mujeres de los países industrializados. Debido al comportamiento agresivo de algunas variedades y dado que la mama es un órgano accesible para el diagnóstico temprano, el cáncer de mama es objeto permanente de estudios en relación con los métodos de diagnóstico y tratamiento⁽²⁹⁾. Se utilizan de rutina: tamaño del tumor, tipo histológico del mismo, polimorfismo celular y nuclear, índice mitótico, presencia de necrosis, invasión vascular, estado de los receptores hormonales y de los ganglios linfáticos axilares^(30,31)

. Sin embargo, estos parámetros no son suficientes para predecir el curso de la enfermedad. Los avances de la biología molecular han permitido descubrir nuevos biomarcadores que ya se han incorporado a la práctica clínica y que brindan una importante información acerca del comportamiento biológico del tumor y la posible respuesta a la radio o quimioterapia y por lo tanto, orientan la terapéutica a implementarse⁽³²⁾. En este aspecto, el uso de un panel de marcadores tumorales, proporciona información más certera que la que puede suministrar un solo factor⁽³³⁾. Debido a esto, en la actualidad el pronóstico de las neoplasias es más exacto que hace 20 años.

En los últimos años se ha ampliado el espectro de marcadores en cáncer de mama, debido a los avances de la biología molecular que está estudiando en profundidad los eventos de la carcinogénesis, la progresión tumoral y los mecanismos de producción de las metástasis⁽³³⁾. Estos biomarcadores pueden clasificarse en base a sus características biológicas:

- **Marcadores de proliferación:** Están presentes en determinadas fases del ciclo celular.
- **Factores de crecimiento y hormonas:** Estimulan el crecimiento tumoral.
- **Receptores:** Su sobreexpresión o su presencia alterada puede estar presente en algunos tipos de células tumorales. (34)
- **Receptores para estrógenos (RcE):** Cuya presencia es indicadora para instaurar una terapéutica hormonal. (35)
- **Angiogénesis y factores del microambiente:** Favorecen la progresión de la neoplasia. (35)
- **Moléculas de adhesión y expresión de proteasas:** Permiten la invasión y la metástasis. (36)
- **Oncogenes y genes supresores:** Su amplificación o sobreexpresión se asocia con la desregulación del crecimiento y la apoptosis. (36)
- **Proteínas inducidas por estrógenos:** Como Hsp27 pS2 (37)
- **Mucinas:** Su detección en la circulación se utiliza como índice de enfermedad residual y posibles recidivas.

Tabla 4 Categorización de los biomarcadores tumorales en cáncer de mama (Laguens E. Graciela)

Categoría I	Categoría II	Categoría III
Tamaño del tumor	c-erb B 2	Ploidía de ADN
Estado de los ganglios	P 53	Angiogénesis
Micrometástasis	Invasión vascular	EGFr
Ganglio centinela	Ki 67	Bcl-2
Grado histológico	Síntesis de ADN	P S2
Tipo histológico		Catepsina
Conteo mitótico		
Receptores hormonales		

Bajo la revisión del Colegio de Patólogos se reunió, en 1999, un equipo interdisciplinario de clínicos, patólogos y expertos en estadística a fin de evaluar el uso de los biomarcadores pronósticos y predictivos en cáncer de mama y clasificarlos en categorías, en base a su utilidad clínica: (37)

- Categoría I: Marcadores cuya utilidad como factor pronóstico y de orientación terapéutica está indudablemente comprobada. (38)
- Categoría II: Marcadores ampliamente estudiados desde el punto de vista tanto clínico como biológico, pero cuya importancia debe ser validada con estudios estadísticos. (38)

- Categoría III: Otros marcadores aún no suficientemente estudiados como factores pronósticos. ⁽³⁸⁾

Este trabajo de categorías consta de una detallada exposición de los hallazgos y recomendaciones de los autores y proporciona una ayuda invaluable para los profesionales y técnicos dedicados a la evaluación clínica del cáncer de mama. ⁽³⁹⁾

Categoría I

Tamaño del tumor: El tamaño macroscópico (diámetro máximo) de las neoplasias primarias infiltrantes se considera uno de los más importantes factores pronósticos del comportamiento tumoral. La precisión de las mediciones es imprescindible para establecer el estadio clínico de los tumores, sobre todo en un momento en que el uso generalizado de las mamografías ha posibilitado una mayor detección de lesiones incipientes. La medición debe realizarse por lo menos en dos dimensiones y debe ser corroborada por el examen microscópico. ⁽⁴⁰⁾

Estadio de los ganglios linfáticos: El nivel topográfico comprometido de la axila y el número de ganglios axilares con metástasis es de extraordinaria importancia como factor pronóstico, ya que está correlacionado con la sobrevida, recidivas y fracaso de los tratamientos. ⁽⁴⁰⁾

Micrometástasis: Los focos microscópicos de metástasis tumorales menores de 2 mm, pueden detectarse con las técnicas tradicionales de hematoxilina-eosina (HE) y su valor pronóstico está ampliamente reconocido. ⁽⁴¹⁾

La IHQ utiliza anticuerpos anticitoqueratinas para detectar células epiteliales atípicas en el ganglio es aún más sensible, pero existe controversia acerca del valor pronóstico de los focos detectados con ella. La presencia de micrometástasis se ha correlacionado con la existencia de invasión vascular peritumoral y con el tamaño del tumor. ⁽⁴¹⁾

Ganglio centinela: Es el primer ganglio que recibe el drenaje linfático de un tumor y se considera que es el sitio donde se localizan las metástasis iniciales de ese tumor. Su estudio histológico puede predecir la presencia o ausencia de metástasis en los ganglios axilares. Si el ganglio centinela está libre, se considera que los otros también lo estarán, lo que hace innecesaria su extracción. ⁽⁴²⁾

La biopsia del ganglio centinela es muy útil si al examen histológico convencional se le suma la aplicación de técnicas de IHQ con anticuerpos anticitoqueratinas. ⁽⁴³⁾

Grado histológico: Bloom y Richardson en 1957, proporcionaron un sistema que incluía la clasificación histológica de los tumores. Se les asignaba un valor numérico, de 1 a 3.

Factores del tumor: Grado de formación de túbulos, características nucleares y conteo mitótico. Basándose en estas características se clasificaba a los tumores en grado I, II o III, de acuerdo a su diferenciación. ⁽⁴⁴⁾

Helpap en 1989, propuso una modificación de este método, incluyendo los hallazgos nucleolares tales como tamaño, número y localización. ⁽⁴⁵⁾

Actualmente se utiliza el Índice Pronóstico de Nottingham (NPI), que está basado en el tamaño del tumor, el grado histológico y el estado de los ganglios linfáticos. ⁽⁴⁶⁾

Tipo histológico: Ciertos tipos de carcinomas de mama medular, tubular, mucinoso coloide son tumores de bajo grado de malignidad, generalmente con ausencia o escasas metástasis ganglionares y buen pronóstico. ⁽⁴⁷⁾

Los carcinomas pobremente diferenciados, en anillo de sello, carcinoma inflamatorio y los carcinosarcomas, son considerados más agresivos. El carcinoma lobulillar infiltrante es de interés por su frecuente bilateralidad y multicentricidad en la misma mama. ⁽⁴⁷⁾

Conteo mitótico: El número de figuras mitóticas en un área delimitada del tumor es una medida segura para estimar la proliferación de las células tumorales. Un alto índice mitótico se correlaciona con un pronóstico pobre. ⁽⁴⁷⁾

Estado hormonal –Receptores de estrógenos (RcE) y de progesterona (RcPg): Los estrógenos y la progesterona son hormonas esenciales para el crecimiento de la mama ya que ambas se unen a receptores y actúan regulando la transcripción de diversos genes.

Los estrógenos estimulan la proliferación de las células de la glándula mamaria normal y juegan un papel relevante en el desarrollo y progresión del cáncer de mama. ⁽⁴⁸⁾

Entre los factores de riesgo que predisponen a esta enfermedad, se encuentra la exposición prolongada a la acción estrogénica en el curso de la vida de la mujer. ⁽¹⁶⁾

El cáncer de mama se puede dividir en dos tipos de acuerdo a la presencia o ausencia en las células de receptores para estrógeno e incluso algunos autores los consideran entidades diferentes ⁽⁴⁸⁾. Cuando las células tumorales presentan RcE, éstos se unen a la hormona promoviendo la transcripción de los genes que median el pasaje de la célula de G1 a S del ciclo celular. ⁽⁴⁹⁾

Aproximadamente un tercio de los tumores de mama son RcE positivos y se caracterizan por crecer más lentamente, ser más diferenciados, estar asociados a una supervivencia más prolongada libre de síntomas y ser más sensibles a la terapéutica endocrina con drogas antiestrógeno, como el Tamoxifeno. Sin embargo, muchos tumores RcE positivos pueden eventualmente tornarse resistentes a esta terapéutica. ⁽⁵⁰⁾

Alrededor del 50% de todos los tumores de mama RcE positivos son también RcPg positivos y estos tumores doblemente positivos tienen una buena respuesta a la terapéutica hormonal, mientras que los RcE positivos/ RcPg negativos responden menos al Tamoxifeno. La ausencia de expresión de RcPg en tumores RcE positivos puede indicar una falta de función o una función aberrante de los RcE, lo que indicaría que éstos constituyen el estímulo para la expresión de los RcPg. ⁽⁵¹⁾

En la actualidad, la determinación por medio de IHQ de RcE y RcPg constituye uno de los datos más importantes para ser evaluados y sus resultados se utilizan para tomar decisiones terapéuticas ⁽⁵¹⁾.

Categoría II

Her-2/neu (erbB-2): Es un protooncogén que codifica una glucoproteína de membrana con actividad tirosinasa. La amplificación del gen 17q da como resultado la sobreexpresión de la proteína p18 *Her-2* que funciona como un receptor semejante al de los factores de crecimiento ^(52,53). La forma alterada tiene una mutación en la región de membrana que incrementa la propiedad del receptor monomérico para formar dímeros. ⁽⁵⁴⁾ Está considerado como un importante factor pronóstico en los estadios tempranos del cáncer de mama y diversos estudios indican que puede ser utilizado también como un marcador predictivo con respecto a la respuesta a la quimioterapia y a la terapia con antiestrógenos ⁽⁵⁵⁾. Se relaciona con un pronóstico desfavorable, presencia de ganglios positivos, expresión alterada de p53 y aumento de la proliferación celular. Su amplificación es una de las alteraciones genéticas más comunes asociadas con el cáncer de mama dando lugar a la aparición de resistencia a drogas quimioterapéuticas y a conductas clínico patológicas más agresivas. ⁽⁵⁶⁾

La sobreexpresión de este gen, que se observa frecuentemente en carcinoma insitu, aumenta el potencial invasor de las células cancerosas y parece ser más importante en el inicio de la enfermedad que en su evolución ⁽⁵⁶⁾.

En la actualidad se están utilizando anticuerpos monoclonales dirigidos contra la proteína expresada por *Her2/neu*, con resultados alentadores. En experimentos en fase III en pacientes con cáncer de mama que presentan sobreexpresión de este gen, se ha demostrado que la administración sistémica de anticuerpos *anti-her2/neu* (Herceptin) solo o en combinación con quimioterapia, amplía el período libre de enfermedad y la sobrevida en casos de tumores con metástasis. ⁽⁵⁷⁾

Proteína 53 (p53): Los datos indican que la pérdida de la función normal de p53 es la alteración genética más común en todo tipo de cáncer. La p53 ha probado ser una proteína central en tumorigénesis por sus propiedades reguladoras del ciclo celular y la apoptosis. Actúa como factor de transcripción nuclear, uniéndose al ADN para regular la transcripción de determinados genes. Monitorea la integridad del ADN impidiendo la división de células genéticamente dañadas. ⁽⁵⁸⁾

Más del 50% de todos los tumores contiene mutaciones de este gen. La pérdida homocigótica del mismo aparece prácticamente en todos los tipos de cáncer. En el cáncer de mama la mutación del gen con acumulación de la proteína en los núcleos de las células neoplásicas, que puede detectarse por IHQ, se asocia a mal pronóstico. Se correlaciona con falta de receptores hormonales, presencia de receptor para Factor de Crecimiento Epidérmico (EGF) y tumores más agresivos. ⁽⁵⁹⁾

Invasión vascular y angiogénesis: Es un proceso que lleva a la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de la red vascular preexistente. La neovascularización tiene un doble efecto en el crecimiento tumoral: aporta elementos nutritivos y oxígeno por una parte, por otra parte, las células endoteliales recién formadas estimulan el crecimiento de las células tumorales a través de la secreción de factores de crecimiento. La angiogénesis es necesaria para que el tumor pueda metastatizar, ya que si las células neoplásicas no tuvieran acceso a los vasos sanguíneos, no podrían migrar. ⁽⁶⁰⁾

Se encontró una correlación significativa entre la magnitud de la angiogénesis, medida a través de la densidad de microvasculatura y la aparición de metástasis. Por otro lado, la

inhibición de la angiogénesis limita el crecimiento del tumor, al elevar el índice de apoptosis.
(60)

La medición de la densidad de los capilares, aunque sea un método de evaluación no muy riguroso, continúa utilizándose para determinar la angiogénesis de los tumores malignos. (61)

La técnica para identificar la neovascularización se basa en el conteo de microvasos con inmunotinción del endotelio (CD31, factorVIII) (62). Datos experimentales y clínicos indican que el carcinoma de mama es un tumor angiogénico dependiente, y que el estado hormonal no se correlaciona con la angiogénesis. (63)

Ki 67 (mib 1): Es una proteína nuclear, no histona, que se encuentra en todas las fases del ciclo celular salvo en G0. Su valor pronóstico es independiente de la edad, compromiso ganglionar o estado hormonal y está inversamente correlacionado con los receptores de estrógeno. (64)

Puede encontrarse una relación directa entre la fracción celular en fase S, calculada por citometría de flujo, el conteo mitótico y la marcación de Ki 67, siendo este último parámetro el más exacto, ya que brinda índices de positividad más confiables y muestra mejor la heterogeneidad de las distintas zonas del tumor. (65)

Síntesis de ADN: Esta característica tiene la ventaja de ser cuantificable y objetiva. Puede ser evaluada por medio del marcado con Timidina Tritiada o por el análisis de ADN utilizando citómetro de flujo. Otra de las técnicas de medición de la síntesis de ADN es la marcación por medio de IHQ, del Antígeno Nuclear de Proliferación Celular (PCNA). Es una proteína nuclear, no histona, de 36 KDa que funciona como accesoria de la ADN polimerasa δ y está relacionada con la síntesis de ADN y la proliferación celular. La proteína se detecta en la fase G1 tardía del ciclo celular, inmediatamente antes del comienzo de la fase S, donde se encuentra su máximo valor, declinando durante G2 y M. El antígeno está ampliamente distribuido en tejidos normales. (66)

La medición de PCNA en tumores sólidos, se correlaciona con la actividad mitótica, la determinación de fase S por citometría de flujo y el grado histológico del tumor. Se encontró PCNA defectivo en el 100% de las células provenientes de tumores de mama, pero no en células no tumorales. (67)

Categoría III

Ploidía de ADN: Junto con la determinación de la fracción S, el análisis de ADN sirve para identificar tumores con perfiles alterados (aneuploidía). El grado de anormalidad de ADN está dado por un índice que se obtiene de la relación entre la ubicación del pico G0-G1 de las células tumorales, con respecto al de células normales.

Hasta ahora este parámetro no ha sido considerado como un marcador pronóstico independiente y se considera en fase de investigación. ⁽⁶⁸⁾

Factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF): En la actualidad el dosaje del VEGF circulante, proporciona un análisis menos subjetivo que la IHQ. El VEGF es un importante regulador de la angiogénesis y de la permeabilidad vascular y es considerado el mitógeno más potente para células endoteliales. En el cáncer de mama se utiliza como indicador de pronóstico desfavorable ya que se asocia con recidivas. Dado que la angiogénesis es esencial para el crecimiento y progresión tumoral, se está prestando gran atención al uso de inhibidores de la misma como coadyuvante de otras terapéuticas. Se ha observado que las pacientes con metástasis tienen títulos muy elevados del VEGF en plasma y podrían beneficiarse con el tratamiento con anti-VEGF ⁽⁶⁸⁾.

Receptor para factor de crecimiento epidérmico (EGFr): El receptor erbB1 posee actividad de tirosina quinasa interviniendo en la división de células epiteliales y fibroblastos, inducida por EGF. Se encuentra sobreexpresado en el 30% de los cánceres de mama. ⁽⁶⁸⁾ Está asociado a un período libre de enfermedad más corto y a disminución de la sobrevida, mostrando una relación inversa con la presencia de RcE, altamente significativa. Por lo tanto la respuesta a la terapéutica hormonal en su presencia, se ve reducida. ⁽³⁰⁾

PBcl-2: Es miembro de una familia de genes cuya función es regular la apoptosis. El producto de estos genes puede tener una acción proapoptótica (*Bax*, *Bad*, *Bclxs*) o antiapoptótica (*Bcl-2*, *B*) mediante la formación de homodímeros o heterodímeros, siendo la proporción entre los diferentes miembros la determinante del resultado final: sobrevida o muerte celular. La proteína bcl-2 se localiza principalmente en el retículo endoplásmico, membrana nuclear y capa externa de la membrana mitocondrial, donde regularía la permeabilidad de la membrana de dicho organelo. ⁽⁶⁹⁾

Se expresa frecuentemente en cáncer de mama y está relacionado con una tasa baja de proliferación, de alto grado de diferenciación, bajo la expresión de catepsina D en el estroma, diploidía del ADN y presencia de RcE. ⁽⁶⁹⁾

La presencia de Bcl-2 es más frecuente en el cáncer de mama de tipo lobulillar que en el ductal. Se ignora la razón de esta diferencia, pero podría reflejar el diferente origen histológico de ambos tipos de tumores.

Se considera que el cáncer de mama que expresa esta proteína tiene un curso más favorable y una buena respuesta al Tamoxifeno. ⁽⁷⁰⁾

pS2: Es una proteína rica en cisteína de 6Kda producto de un ARNm inducido por estrógenos. Ha sido aislada originalmente en líneas celulares de cáncer de mama. Muestra algunas similitudes con los factores de crecimiento, aunque sus funciones permanecen ignoradas.

La proteína está claramente asociada con la presencia de RcE, RcPg y con tumores hormono-dependientes de buen pronóstico ⁽⁷¹⁾. Las pacientes que la expresan tienen sobrevida más prolongada, con menos recidivas. ⁽⁷²⁾

La fuerte correlación con RcE indicaría que la pS2 es indicadora del funcionamiento de los RcE, no siempre detectable por ensayos bioquímicos. Desde un punto de vista clínico, la determinación por inmunohistoquímica de esta proteína, fácilmente realizable, puede representar un método alternativo para la predicción de la respuesta hormonal del cáncer de mama.

Catepsina D: Es una aspartilproteasa lisosomal inducida por estrógeno ⁽⁷¹⁾. La forma activa funciona normalmente en los lisosomas a pH ácido y tiene actividad proteolítica y promotora del crecimiento. Se ha observado que la Catepsina D se expresa menos en el carcinoma in situ que en el invasor y estaría relacionada con el carácter invasivo del cáncer. Es la proteasa más comunmente secretada por células tumorales que degrada la matriz extracelular, favoreciendo la invasión tumoral.

Los estudios en cáncer de mama muestran una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de Catepsina D y la extensión del tumor. Cuando se analizan cortes seriados de ganglios axilares que drenan tumores con elevada expresión de Catepsina D, se pueden detectar micrometástasis que escapan a los procedimientos histológicos de rutina. ⁽⁷²⁾

6.2 Marcadores tumorales no incluidos en la Categorización

Antígeno Carcino Embrionario (CEA): Familia de glucoproteínas fetales compuestas por aminoácidos y glucosa en concentraciones variables. Está presente en tejidos embrionarios y en algunos tumores epiteliales, particularmente en los malignos. En la vida embrionaria es sintetizada por el páncreas y el tracto gastrointestinal.

Sus valores disminuyen drásticamente en la vida adulta, pero pueden aumentar en diferentes carcinomas como el de mama, de ovario, bronquial, de esófago, de estómago, de colon, de recto, de páncreas y de hígado. ⁽⁷²⁾

Debe tenerse en cuenta fundamentalmente que el CEA por sí solo no puede ser utilizado con fines diagnósticos de carcinoma, ya que existen procesos benignos como hepatitis, colitis ulcerosa, infecciones del tracto gastrointestinal, entre otros. En los que los niveles pueden aumentar. Sin embargo, su utilidad clínica en el cáncer de mama, reside en el monitoreo de la recidiva y del tratamiento de la enfermedad metastásica e inclusive en la detección de la presencia de un segundo tumor en pacientes inmunodeprimidas. ⁽⁷³⁾

Mucinas: Las mucinas son glucoproteínas de alto peso molecular con un contenido de hidratos de carbono del 50 al 90% de su peso. Se expresan en células epiteliales normales y neoplásicas. Una de las más estudiadas, la MUC1 es una glucoproteína de transmembrana que se extiende hacia la luz de los conductos y de las glándulas.

Esta mucina cuando está asociada a cáncer es una molécula glucosilada en forma incompleta, con la cadena carbohidratada trunca; tiene expuesta la unidad interna de azúcares y no la secuencia peptídica, que es fundamental para la molécula normal. ⁽⁷³⁾

Las mucinas cumplen numerosas y disímiles funciones: intervienen en la morfogénesis del epitelio, en la remodelación del citoesqueleto y en la regulación baja de la actividad con otras moléculas como las moléculas de adhesión. El incremento de expresión de MUC1 por las células tumorales puede facilitar la separación de la masa tumoral original y de la matriz celular.

Durante el proceso de metástasis en sangre, puede proteger a las células tumorales de la destrucción por natural killer y por otras células del sistema inmune. ⁽⁷⁴⁾

La MUC1, comunmente detectada en sangre como CA 15.3 o CA 27.29, se utiliza como complemento en el diagnóstico de las metástasis, en el monitoreo de la respuesta a la terapéutica endocrina o a la quimioterapia en la enfermedad avanzada. La CA 15.3 no es específica para cáncer de mama ya que una proporción de pacientes con neoplasia de próstata, ovario y páncreas también presentan elevación en los niveles de esta mucina. El 50% de las pacientes de cáncer de mama en estadio IV y entre el 10 y 20% en estadio II, presentan valores elevados ⁽⁷⁵⁾. La CA27.29 es similar a CA15.3 pero es más específica.

Ambas mucinas son consideradas clínicamente necesarias como adyuvantes en el seguimiento y manejo de pacientes con cáncer de mama metastásico, las cuales tienen elevados los niveles de estos marcadores.

También son utilizadas para realizar muestreos en la población asintomática. Los niveles elevados de MUC1 están asociados a un pronóstico desfavorable y progresión en varios tipos de cánceres. ⁽⁷⁶⁾

Breast cancer 1 y 2 (BRCA-1 y BRCA-2): Alrededor del 5 al 10% de los cánceres de mama están asociados a una predisposición hereditaria y de éstos el 80% se asocia a mutaciones de dos genes supresores: BRCA-1 y BRCA-2. Estos genes codifican fosfoproteínas nucleares que interactúan con múltiples procesos biológicos incluyendo fundamentalmente reparación del ADN dañado, regulación de la transcripción, duplicación del centrosoma y regulación negativa del ciclo celular. Por lo tanto funcionan como activos inhibidores de la progresión neoplásica. En los cánceres de mama espontáneos las mutaciones de estos genes son raras. El gen que codifica *Bcr1* se aisló en el cromosoma 17 y el que codifica la proteína *Brca2* se aisló en el cromosoma 13. ⁽⁷⁷⁾

No todas las mujeres que presentan estos genes supresores alterados, desarrollarán cáncer de mama. ⁽⁷⁸⁾

Se han descrito numerosas mutaciones en ambos genes. Las mutaciones de *Brca-1* están asociadas a aparición de cáncer de mama en mujeres entre 40 y 50 años y también con el riesgo de padecer otros tumores, por ejemplo de ovario. Las mutaciones de *Brca-2* están asociadas a la aparición de cáncer a edades más avanzadas, entre 60 y 70 años, y en la población en general con la predisposición de padecer cáncer de mama masculino, de ovario, vejiga, próstata y páncreas. ⁽⁷⁹⁾

Brca-1 no inicia directamente la tumorigénesis, pero causa inestabilidad genética que origina alteraciones posteriores incluyendo la inactivación de p53. Cuando se asocia la mutación del p53 y del *Brca-1* aumenta considerablemente el riesgo de padecer cáncer de mama. (80)

Ciclinas: Las ciclinas comprenden una familia de subunidades proteínicas que forman complejos con quinasas para activarlas y estimular la progresión del ciclo celular.

El gen *Ccnd1* que codifica la ciclina D1, se encuentra amplificado en el 20% de los carcinomas mamarios y su proteína está sobreexpresada en alrededor de 50% de los casos. Estas circunstancias han llevado a investigar si esta ciclina tiene alguna implicancia como marcador en cáncer de mama. Paradójicamente, se considera que la sobreexpresión de esta ciclina está asociada a una evolución más favorable de la enfermedad, ya que se la vincula a la presencia de receptores para estrógenos y a tumores más diferenciados, lo que hace posible el tratamiento hormonal. (80)

La proteína p27 es inhibidora de ciclinas y puede actuar como un gen supresor de tumor. La reducción de su expresión produce un incremento de la proliferación celular. En cáncer de mama, la falta de expresión de p27 está asociada con grados más avanzados de la enfermedad y ausencia de receptor para estrógenos. Es un marcador de pronóstico, ya que altos niveles de p27 están asociados a una mejor evolución. (81)

Factor de crecimiento transformante α (TGF α): Es un polipéptido con un 35% de homología con EGF y compite con él por el mismo receptor. Las células tumorales producen TGF α , que puede estimular la angiogénesis y la proliferación celular. Se encuentra sobreexpresado en cáncer de mama y en menores concentraciones en la mama lactante. En general, la expresión de TGF α se asocia con la presencia de ganglios positivos y la aparición de resistencia a la terapéutica hormonal así como al tratamiento convencional. (82)

TGF β : Es un factor de crecimiento multifuncional que interactúa con dos receptores independientes con actividad de serina treonina quinasas. En la mama normal es un regulador del crecimiento e involución de las células epiteliales ya que induce apoptosis en la glándula mamaria postlactante. En el cáncer de mama, se observa una sobreexpresión de TGF β producido por las células malignas. Promueve la angiogénesis e invasión tumoral al mismo tiempo que actúa como un potente supresor del sistema inmune. Debido a estas características su presencia se asocia con la progresión de la enfermedad. (23)

Proteasas: Una de las propiedades de las células malignas es su capacidad de invadir y metastatizar. Para ello, los subclones de células cancerosas se separan del resto de la masa tumoral, atraviesan la membrana basal, se fijan a los componentes de la matriz a la cual degradan, para luego traspasar la membrana basal vascular y alcanzar la circulación. Varias familias de proteasas están implicadas en estos pasos: uroquinasa activadora de plasminógeno, catepsinas B, D y L y varias metaloproteinasas.

Estas sustancias catalizan la degradación de la matriz extracelular y de la membrana basal. Así las células malignas invaden localmente y metastatizan a distancia.

En el cáncer de mama, hay una correlación estrecha entre los niveles elevados de proteasas con un pronóstico desfavorable de la enfermedad. (83)

Oncogenes y genes supresores de tumor: - (c-myc): Es un gen que codifica una fosfoproteína nuclear que actúa como reguladora del ciclo celular. En células normales aumenta en la fase G1 pero en células transformadas se expresa continuamente durante el ciclo. Se la relaciona con disminución de la supervivencia y recidiva de la enfermedad. (30)

- **Rb:** La familia de genes del retinoblastoma, que es uno de los genes supresores de tumor mejor estudiado, se compone de tres miembros: el producto del gen (pRb) y dos proteínas relacionadas: pRb2/130 y p107, que son estructural y funcionalmente similares a pRb. Los tres muestran propiedades inhibitorias del crecimiento celular.

Las proteínas se complementan entre sí y no son plenamente funcionales cuando se encuentran en forma aislada. La pRb2/130 es un posible blanco para ser utilizado en terapia génica. (84) La proteína E2F-1, es un factor de transcripción nuclear cuya actividad está regulada por la proteína Rb. Su aumento se correlaciona con otros marcadores pronósticos como grado del tumor, metástasis, receptores de estrógeno y progesterona y p53. Por lo tanto podría ser utilizado como marcador pronóstico. (85)

Proteínas del choque térmico (Hsps): En la mama normal se expresa constitutivamente una pequeña molécula de esta familia, la Hsp 27. En las lesiones malignas es frecuente encontrar sobreexpresión de esta molécula. (86)

Numerosos autores encuentran correlación entre la sobreexpresión, la presencia de receptores de estrógeno, ganglios con metástasis e invasión vascular.

De acuerdo a estos parámetros la proteína podría ser un marcador de agresividad del tumor. ⁽⁸⁷⁾ Ciocca y sus colaboradores en cambio, relacionan la presencia de Hsp27 con una disminución de la proliferación celular e incremento de la diferenciación. Esta circunstancia es avalada por la presencia de receptores de estrógeno, que inducen la expresión de la proteína, haciendo que la célula que ha proliferado se diferencie. ⁽⁸⁸⁾

Otros estudios indican que la sobreexpresión está involucrada en la regulación negativa de la proliferación de líneas celulares provenientes de cáncer de mama. ⁽⁸⁹⁾

Estos resultados contradictorios hacen que la presencia incrementada de esta proteína no pueda ser utilizada como único marcador en cáncer de mama. Por otra parte, se ha observado que las Hsp27 inducen resistencia a la quimioterapia. La modulación de los niveles de expresión de Hsp podría ser utilizada en la aplicación clínica a fin de revertir la resistencia a drogas y controlar el crecimiento tumoral. ⁽⁹⁰⁾

En experimentos realizados en nuestro laboratorio, hemos demostrado que existe correlación significativa entre la ausencia de expresión de Hsp 27 por las células tumorales de cáncer de mama y la presencia de metástasis en ganglios axilares. Su mayor expresión se correlaciona con estadios tempranos del cáncer mamario. ⁽⁹¹⁾

LEA.135 (Antígeno de epitelio luminal): Es una glucoproteína de superficie, distinta de las mucinas, queratinas y receptores de EGF que se detecta principalmente en la zona apical de la membrana plasmática de células epiteliales mamarias normales y neoplásicas.

Es un marcador pronóstico independiente y en pacientes con tumor primario es índice de un pronóstico favorable. ⁽⁹²⁾

La ausencia de expresión está asociada a mayor agresividad, mientras que su presencia se asocia con un aumento de la sobrevida y menor recurrencia del tumor.

Es un factor independiente del tamaño, grado del tumor y edad de la paciente ⁽⁹³⁾.

DNA topoisomerasa II-alpha: Es el blanco molecular de la doxorubicina, droga activamente utilizada en la terapia de cáncer de mama. En tejidos normales es un marcador de proliferación. En cáncer de mama presenta estrecha asociación con otros factores predictivos como índice de proliferación y erb B-2 ^(94,95). Los niveles elevados de esta enzima se correlacionan con alta sensibilidad a la doxorubicina. No se correlaciona con tamaño del tumor, grado, receptores hormonales o recurrencia de la enfermedad. ⁽⁹⁶⁾

Glycodelina: Es una glicoproteína de 28 kDa particularmente expresada en tejidos sensibles a los esteroides en la mujer. Se detecta en tejidos normales y en diversos tipos de carcinomas de mama. En los carcinomas lobulillares, se encuentra en vacuolas paranucleares ⁽⁹⁷⁾.

6.3 Biomarcadores en Glándula prostática

6.4 Antígeno prostático específico

El antígeno prostático específico (PSA, por sus siglas en inglés) está presente en concentraciones bajas en la sangre de todos los varones adultos. Éste es producido tanto por las células normales como anormales de la próstata. Los niveles elevados de antígeno prostático específico pueden encontrarse en la sangre de los hombres con enfermedades benignas de la próstata como, prostatitis (inflamación de la próstata) e hiperplasia prostática benigna (HPB), o con un cáncer de próstata. Aun cuando el antígeno prostático específico no permite a los médicos distinguir entre las enfermedades benignas de la próstata y el cáncer, un nivel de antígeno prostático específico elevado puede indicar que son necesarias otras pruebas para determinar si el cáncer está presente.

El antígeno específico de la próstata (PSA) (**tabla 5**) es una glucoproteína de unos 33.000 daltons, que forma parte de la familia de las calicreínas y tiene una actividad enzimática semejante a la quimotripsina. El PSA es producido por las células epiteliales de la próstata y secretado al líquido seminal, en donde, gracias a su acción proteolítica, participa en la licuefacción del coágulo seminal y favorece así la migración de los espermatozoides a lo largo del tracto genital femenino.

Si bien, tal como su nombre indica, el PSA se describió inicialmente como un antígeno producido específicamente por las células epiteliales prostáticas, más recientemente se ha observado que también se puede expresar tanto por las glándulas periuretrales y perirrectales como por diversos tejidos extraprostáticos. Estos datos, además de cuestionar la especificidad prostática del PSA, indican que la presencia de ciertos valores, si bien sumamente bajos, de este antígeno son posibles tras la realización de una prostatectomía radical, aun en ausencia de tumor residual. ⁽⁹⁸⁾

Tabla 5. Características del antígeno específico de la próstata (PSA) (X. Filella y R. Molina)

Peso molecular	33.000 daltons
Actividad enzimática	Serín proteasa
Localización del gen	Región q13.2-q13.4, cromosoma 19
Control de la síntesis	Andrógenos
Localización del PSA	Células epiteliales de la próstata y otros tejidos
Acción fisiológica	Licuefacción del coágulo seminal
Formas circulantes	Libre y unido a proteínas inhibidoras de las proteasas
Denominación alternativa del PSA	Caliceína humana 3
Análisis disponibles para el PSA y fracciones del PSA	PSA total, PSA libre, <i>complexed</i> PSA

6.5 Fosfatasa Ácida Prostatica

La fosfatasa ácida prostática (PAP) normalmente sólo se presenta en cantidades pequeñas en la sangre, pero puede encontrarse en niveles más altos en algunos pacientes con cáncer de próstata, sobre todo si el cáncer se ha extendido más allá de esta glándula. Sin embargo, los niveles de la sangre también pueden elevarse en pacientes que tienen ciertas enfermedades benignas de la próstata o cuyo cáncer está en la fase temprana.

Aun cuando originalmente se determinó que la fosfatasa ácida prostática era producida por la próstata, también se ha relacionado los niveles elevados de PAP con el cáncer testicular, la leucemia, y el linfoma no-Hodgkin, así como con trastornos no cancerosos como la enfermedad de Gaucher, la enfermedad de Paget, la osteoporosis, cirrosis del hígado, embolia pulmonar y el hiperparatiroidismo. ⁽⁹⁹⁾

7.- IMPORTANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE LOS BIOMARCADORES EN CÁNCER DE GLÁNDULA MAMARIA Y GLÁNDULA PROSTÁTICA

El cáncer constituye un grupo de enfermedades que han afectado a los seres humanos desde tiempos ancestrales. Existen registros de cáncer de hueso en momias egipcias del año 1600 a.c., por ejemplo, el caso más antiguo de cáncer de mama data del año 1500 a.c, reportado en manuscritos; incluso, se tiene registro del tratamiento paliativo que se proporcionaba, y de la falta de cura ante la enfermedad. El nombre de “cáncer” lo recibe de Hipócrates (460–370 a.c.), por la palabra griega *karkinos* que significa cangrejo. ⁽¹⁷⁾

La Organización Mundial de la Salud OMS 2011 estimó que la principal causa de muerte en el mundo durante 2008 fue el cáncer, con 7.6 millones de casos, lo cual equivale al 13% de todas las muertes a nivel mundial, principalmente por cáncer de pulmón, estómago, hígado, colon, mama y próstata. ⁽¹⁸⁾

En América Latina, de acuerdo con la Organización Panamericana de la Salud OPS 2011 durante el periodo 2008-2010, la tasa de mortalidad estandarizada a consecuencia de alguna neoplasia maligna fue de 110.7 muertes por cada 100 mil habitantes; para la región, las tasas más altas se ubicaron en Uruguay (168.4), Cuba (143.3) y Perú (136.6); en contraste, México presentó la tasa más baja de Latinoamérica (75.4) resultado de los esfuerzos que se han llevado a cabo en materia de prevención, atención oportuna y sensibilización entre la población. ⁽¹⁹⁾

En este sentido, la OMS apoya a la Unión Internacional contra el Cáncer y conmemora el 4 de febrero el Día Mundial contra el Cáncer. Por ello, con el fin de brindar información estadística relevante y favorecer en la labor de difusión, prevención y apoyo para la persona que vive con la enfermedad, el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) presenta un panorama general sobre las neoplasias malignas que afectan a la población mexicana. ⁽¹⁹⁾

- El 86.3% de las defunciones por tumores en la población menor de 20 años en México durante 2011, es debida a tumores ⁽¹⁹⁾ malignos.
- De cada 100 mujeres de 20 años y más con tumores malignos en 2010, 24 tienen cáncer de mama. ⁽¹⁹⁾
- En 2011, 8 de cada 100 hombres de 20 años y más con cáncer, presentan neoplasia de próstata. ⁽¹⁹⁾
- En 2011 de cada 100 defunciones por tumores malignos en hombres de 20 y más años, 17 fallecen por cáncer de próstata, 13 de bronquio y pulmón, 9 de estomago.
- Las principales causas de muerte por tumores malignos en mujeres de 20 y más años en 2011 son por cáncer de mama (13.8%). ⁽¹⁹⁾

- El Distrito Federal presenta las tasas más altas de morbilidad hospitalaria por cada 100 mil habitantes por cáncer de mama (64.74) y próstata (32.95) ⁽¹⁹⁾.

Existen más de 100 tipos diferentes de cáncer Instituto Nacional del Cáncer, y la mayor parte de ellos toman el nombre del origen según el órgano. Durante 2010 las principales causas de morbilidad hospitalaria en la población mexicana son por tumores malignos en los órganos hematopoyéticos (leucemias en su mayoría) con 17.9%; órganos digestivos con 14.8%; y mama con 12.5% de los casos; en contraste los tumores del labio, de la cavidad bucal y de la faringe (1.6%); ojo y sus anexos (0.5%) y los tumores malignos (primarios) de sitios múltiples independientes (0.1%), presentan los porcentajes más bajos. ⁽¹⁹⁾

Entre los hombres, las principales causas de morbilidad hospitalaria se presentaron en órganos hematopoyéticos (22.8%); órganos digestivos (17.5%); y del tejido linfático que incluye Sarcoma de Kaposi y Linfoma de células T, periférico y cutáneo- (9.8%). Mientras los que reportaron menos casos fueron en tumores de ojo y sus anexos (0.6%); de mama (0.4%); y los tumores malignos (primarios) de sitios múltiples independientes (0.1 por ciento). ⁽¹⁸⁾

Actualmente, uno de los cánceres que reciben mayor atención en los medios de comunicación, así como de los programas de salud, es el cáncer de mama, Dentro de los factores de riesgo más sobresalientes, se encuentran los antecedentes familiares, inicio de menstruación temprana, menopausia tardía, primer embarazo tardío y haber utilizado anticonceptivos hormonales. Otras investigaciones mencionan que, el aumento en las tasas de incidencia es resultado de la alimentación. En las mujeres, el cáncer de mama constituye la principal causa de morbilidad hospitalaria por el menor número de partos y la poca duración de la lactancia materna. Al respecto, se ha calculado que 21% de los casos de este cáncer se deben al consumo de alcohol, sobrepeso u obesidad y a la falta de actividad física ⁽²⁰⁾.

En México, durante 2009 el Distrito Federal (64.74), Jalisco (55.40) y Aguascalientes (46.15) presentaron las mayores tasas de morbilidad hospitalaria por cada 100 mil habitantes

(incluye tanto a hombres como mujeres) por cáncer de mama, mientras que estados como Hidalgo (2.89), Tlaxcala (1.85) y Estado de México (1.75), tuvieron las tasas más bajas (21).

Tabla 6. Tasa de morbilidad hospitalaria por cáncer de mama según entidad federativa 2009 (SSA)

Entidad federativa	Tasa
Estados Unidos Mexicanos	19.23
Aguascalientes	46.15
Baja California	15.41
Baja California Sur	22.29
Campeche	5.40
Cahuila de Zaragoza	19.06
Colima	16.47
Chiapas	3.15
Chihuahua	19.67
Distrito Federal	64.74
Durango	15.42
Guánajuato	12.15
Guerrero	4.33
Hidalgo	2.89
Jalisco	55.40
México	1.75
Mchoacán de Ocampo	9.28
Morelos	8.90
Nayarit	17.74
Nuevo León	24.64
Oaxaca	8.34
Puebla	12.65
Querétaro	13.25
Quintana Roo	6.32
San Luis Potosí	10.46
Sinaloa	21.49
Sonora	17.88
Tabasco	12.24
Tamaulipas	26.75
Tlaxcala	1.85
Veracruz de Ignacio de la Llave	16.34
Yucatán	17.85
Zacatecas	8.62

Nota: La morbilidad hospitalaria corresponde al número de egresos hospitalarios por causa seleccionada.
Fuente: SISA (2010). Base de egresos hospitalarios 2009; y CONAPO (2008). Proyecciones de la Población de México 2005-2050. Proceso

INEGI

Asimismo por grupos de edad, se observa que el porcentaje de morbilidad hospitalaria de cáncer de mama es más alta en las mujeres de 30 a 59 años (68.6%), comparada con la que presentan los hombres (45.9%), misma que se invierte entre la población masculina menor de 30 años y de 60 años más, que se presentan en cada grupo los porcentaje más altos. Siendo las mujeres de 45 a 49 años las más propensas a padecerlo (16%), seguidas de las mujeres de 50 a 54 (15.2 por ciento); mientras que los hombres de 60 a 64 años presentan más esta afección (14.1%), seguido los hombre de 55 a 59 (12.3 por ciento). (21)

Tabla 7. Distribucion porcentual por Cáncer de Mama 2009 (SSA)

Grupos de edad	Total	Hombres	Mujeres
Total	100.0	100.0	100.0
Menores de 20 años	0.5	6.1	0.4
20-24	0.4	2.5	0.4
25-29	1.3	1.8	1.3
30-34	3.7	3.6	3.7
35-39	7.9	4.3	8.0
40-44	12.1	6.1	12.2
45-49	16.0	9.8	16.0
50-54	15.2	9.8	15.2
55-59	13.5	12.3	13.5
60-64	10.9	14.1	10.9
65-69	7.5	8.7	7.5
70-74	5.2	9.4	5.1
75-79	3.3	4.3	3.3
80 años y más	2.5	7.2	2.5

Nota: La morbilidad hospitalaria corresponde al número de egresos hospitalarios por causa seleccionada.

Fuente: SSA (2010). Base de egresos hospitalarios 2009. Procesó INEGI

Para el caso de los hombres, el cáncer que ha recibido mayor atención en el terreno de la prevención es el de próstata, que afecta más a hombres mayores de 65 años y poco común entre los menores de 45 años; y aunque se desconoce su origen, se ha demostrado que ser mayor de 45 años, tener la piel negra, antecedentes familiares y antecedente de ciertas infecciones de transmisión sexual –como herpes y citomegalovirus), incrementan el riesgo de padecer este cáncer ⁽²¹⁾.

En su primera etapa, este padecimiento no presenta síntomas y es tratable, mientras que en edades avanzadas llega hasta invadir huesos y requerir cirugías agresivas que pueden afectar permanentemente la erección, o bien, terminar con un cáncer intratable y mortal por ello es

importante la realización oportuna a través de estudios sanguíneos o tacto rectal y en caso de sospecha realizar otros estudios más especializados como ultrasonografía, tomografía, entre otros. En el país, durante 2009 el Distrito Federal presentó la tasa más alta de morbilidad hospitalaria por cada 100 mil hombres con 32.95 casos, seguido por Colima (20.22) y Durango (18.63); en contraparte, Querétaro, Chiapas y Estado de México presentaron las tasas más bajas con 3.80, 3.25 y 2.96 por cada 100 mil hombres, respectivamente. ⁽²¹⁾

Tabla 8. Tasa de morbilidad hospitalaria por cáncer de próstata 2009 (SSA)

Entidad federativa	Tasa
Estados Unidos Mexicanos	11.13
Aguascalientes	15.85
Baja California	7.75
Baja California Sur	13.84
Campeche	9.65
Coahuila de Zaragoza	11.27
Colima	20.22
Chiapas	3.25
Chihuahua	10.14
Distrito Federal	32.95
Durango	18.63
Guanajuato	9.46
Guerrero	5.75
Hidalgo	6.89
Jalisco	18.24
México	2.96
Michoacán de Ocampo	7.85
Morelos	7.70
Nayarit	13.29
Nuevo León	10.99
Oaxaca	5.38
Puebla	8.71
Querétaro	3.80
Quintana Roo	5.29
San Luis Potosí	9.15
Sinaloa	12.13
Sonora	12.81
Tabasco	6.94
Tamaulipas	13.65
Tlaxcala	8.00
Veracruz de Ignacio de la Llave	12.99
Yucatán	13.30
Zacatecas	10.80

Nota: La morbilidad hospitalaria corresponde al número de egresos hospitalarios por causa seleccionada.
Fuente: SSA (2010). Base de egresos hospitalarios 2009; y CONAPO (2008). Proyecciones de la Población de México 2005-2050. Procesó **INEGI**.

Por grupos de edad, la morbilidad hospitalaria por cáncer de próstata sólo afectó al 1.3% de los hombres menores de 45 años, mientras en los mayores de 80 años se incrementa hasta

19.7%, seguidos de los hombres de 70 a 74 años con 19.3%, y los de 65 a 69 años con 18.5 por ciento (21).

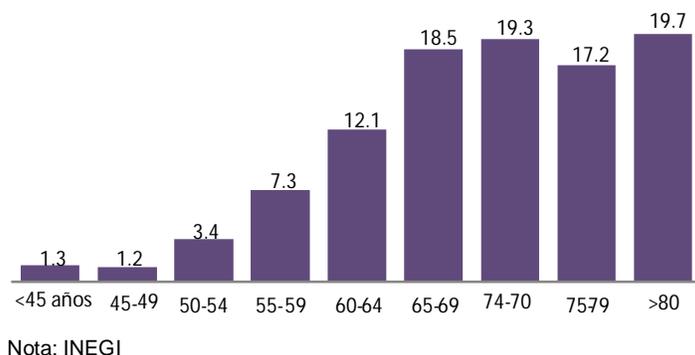


Figura 4: Distribucion Porcentual de Morbilidad Hospitalaria por Cancer de Prostata 2009 (SSA)

8.- CARACTERÍSTICAS MOLECULARES DE LOS BIOMARCADORES Y SU APLICACIÓN CLÍNICA EN EL DIAGNOSTICO, PRONOSTICO, TRATAMIENTO DEL CÁNCER DE GLÁNDULA MAMARIA Y GLÁNDULA PROSTÁTICA.

8.1 Clasificación Molecular del Cáncer de Prostata

Sobre la base de las consideraciones anteriores, el propósito de esta revisión es proponer una nueva clasificación molecular de cáncer de próstata que incorpora *Ar*, oncogenes / tumor supresores y el microambiente tumoral / hueso en el modelo de la enfermedad. Debido a la heterogeneidad de cáncer de próstata, hay respuestas a las terapias que nos han dado mejores conocimientos sobre cuál de estos conductores específicos hay en estas etapas de la progresión. (115)

Este concepto de " respuestas a las terapias " forma la base de una nueva clasificación molecular de cáncer de próstata y debe ayudar a determinar en qué etapa de la progresión específica se inhibe.

En nuestro modelo alternativo la progresión del cáncer de próstata es agrupada en tres categorías:

- I. Endocrino
- II. Microambiente
- III. Células Autónomas

Los Andrógenos da la señalización que desempeña un papel central en este modelo de progresión tumoral. En la fase temprana de cáncer de próstata, los andrógenos dan señales que responde a dihidrotestosterona (DHT). (115)

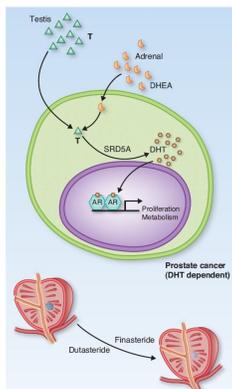


Fig 5. Fase DHT-dependiente de cáncer de próstata.

Una parte de bajo grado de cánceres se encuentra en esta etapa " DHT dependiente". Sin embargo la dependencia DHT de los cánceres se caracteriza por la progresión paracrina impulsada por la señalización de andrógenos que sigue siendo importante, aunque por diferentes mecanismos (116). La transición de una función endocrina en una función paracrina en cáncer de próstata es un mito que señala la progresión potencial del cáncer de prostata. En esta fase de la próstata la progresión del cáncer entra en lo que llamamos un "Espiral " en el que numerosos cambios en los andrógenos señalados están acompañados por un microambiente alterado con interacciones tumorales. En la última fase de la enfermedad, el cáncer de las células pierden la dependencia *Ar* sale del "espiral " y se convierte en un tumor de células. Este modelo sirve como marco para el cáncer de próstata en grupo terapéutico. (117)

8.2 Fase orientada a endocrinología

La fase endocrina en el cáncer de próstata depende en la presencia de 5α DHT que se produce por la reducción de 5α de la testosterona (véase la fig 5). Aunque la testosterona y DHT

ambos se unen a *Ar* y activan *Ar* en genes, DHT tiene una velocidad de disociación inferior y por lo tanto un mayor efecto en la señalización *Ar* que la testosterona. Por lo tanto la inhibición de la formación de DHT debería reducir *Ar* actividad ⁽¹¹⁸⁾. En efecto en la fase endocrina impulsada por el cáncer de próstata hace una señalización de andrógenos que responde a DHT. La 5 α reductasa finasteride y dutasteride se utilizan para evitar la conversión de testosterona a DHT para interrumpir promotores del crecimiento de señalización de DHT. Sin embargo se previene el cáncer de próstata ⁽¹¹⁸⁾ y la reducción de dutasterida de cáncer de próstata ⁽¹¹⁹⁾. El ensayo demostró que finasteride y dutasterida reduce la tasa de cánceres de bajo grado, pero no tiene un efecto en cánceres de alto grado. Además la reducción por dutasteride ⁽¹¹⁹⁾ mostró que un significativo número de pacientes con cáncer de bajo grado en el diagnóstico inicial no tiene cáncer detectable en posteriores biopsias repetidas después del tratamiento con dutasterida en comparación con el placebo. Estos hallazgos apoyan la hipótesis de que algunos cánceres de bajo grado dependen de DHT, los efectos dependientes del grado de finasteride o dutasteride señalan terapéuticamente la heterogeneidad de las redes de señalización de andrógenos que son diferentes entre los cánceres de bajo grado y de alto grado. ⁽¹²⁰⁾

Mecanismos moleculares de la Fase Endocrina en sus efectos diferenciales de DHT y testosterona en *Ar* de señalización fueron observados por varios grupos. En la caracterización las diferentes funciones de la testosterona y DHT en la señalización, Lin y Chang ⁽¹²¹⁾ encontraron que la expresión de *Tdd5*, un gen diana de andrógenos, se diferencia por testosterona en comparación con DHT. En estudios en animales, Dadras y sus colegas ⁽¹²²⁾ informaron de que las ratas castradas tratadas con testosterona y finasteride expresaron mayores niveles de genes responsables de la inhibición de crecimiento de la próstata y la diferenciación tratada con testosterona sola. Porque el tratamiento finasteride lleva a la testosterona a los niveles intraprostáticos, los estudios concluyeron que los efectos de la DHT en la proliferación y la diferenciación no eran los mismos que los de testosterona. En otra serie de experimentos, Li y sus colegas ⁽¹²³⁾ encontraron que finasteride o dutasteride causaron una reducción global de los niveles de DHT intraprostáticas. Sin embargo el eje central de los andrógenos señalizan los múltiples vías de regulación, sus resultados indicaron que independientemente del estado de *Ar*, 5 α reductasa las variantes genotípicas y los niveles

de expresión diferentes de 5 α reductasa en las células de cáncer de próstata también son responsables para la modulación de la señalización de *Ar*. Ellos encontraron que 5 α reductasa donde la expresión varió entre líneas celulares de próstata y aún más la expresión de cada una de las tres enzimas 5 α reductasa en respuesta a los andrógenos también era de tipo celular.

Los estudios sugieren que tipo I 5 α reductasa se incrementa en la mayoría tumores de próstata (en relación con el tipo II que es más predominante en la próstata normal) lo que los autores argumentan que la eficacia de dutasterida es un inhibidor dual 5 α reductasa superior a finasteride un tipo II 5 α reductasa inhibidor ⁽¹²⁴⁾. Recientemente los estudios en el laboratorio han llevado a cabo en tratar de explicar los resultados de los ensayos clínicos con 5 α reductasa inhibidor. Usando muestras con cáncer de próstata se habían sometido al tratamiento con dosis finasteride, durante 4 meses antes de la prostatectomía, Mostaghel y sus colegas ⁽¹²⁵⁾ ven que las células epiteliales de próstata son normales y analizaron la expresión de 90 genes regulados por andrógenos.

Los resultados mostraron que las muestras tratadas podrían agruparse en *Ar* bajo grupos de actividad genética en función de su expresión genética de perfiles altos. La relación entre la actividad y el gen *Ar* la respuesta al tratamiento a la dutasterida aún no ha sido aclarado.

8.3 Manejo del marcador y la terapia para la Fase Endocrina

Las respuestas diferenciales de grado y la etapa dependiente de células epiteliales de próstata a agotamiento de DHT por 5 α reductasa inhibidores apoyan la conclusión de que una parte de los primeros cánceres de próstata pueden ser identificados cada uno por el desarrollo de marcadores que apuntan a DHT dependencia. Las diferencias entre los grupos independientes y DHTson dependientes probables debido a los cambios en la sensibilidad AR a DHT. Sin embargo, la base bioquímica para estos cambios sigue siendo poco clara. ⁽¹²⁴⁾

La comprensión de las redes de señalización de andrógenos, incluyendo la expresión de las enzimas 5 α reductasa, durante la primera etapas de la progresión del cáncer de próstata será importante en determinar si el cáncer se encuentra en los sistemas endocrinos y si el paciente responderá al tratamiento con inhibidores de la 5 α reductasa. ⁽¹²⁵⁾

8.4 Fase del microentorno dependiente (endocrino a fase paracrina)

La transición de endocrino a próstata paracrina indica la progresión del cáncer potencial letal del cáncer. Para los pacientes con cáncer de próstata de alto grado, los andrógenos la ablación (agotamiento de andrógenos gonadales), por ejemplo, por Lupron, es más eficaz que el 5 α reductasa en la inhibición cáncer de próstata de alto grado o metastásico ⁽¹²⁶⁾. Sin embargo la respuesta a la ablación de andrógenos es heterogéneo en el que algunos pacientes tienen un efecto supresor sostenido, mientras que otros son refractarios al tratamiento en unos pocos años ⁽¹²⁶⁾. Cuando la enfermedad avanza hasta la fase metastásica, sólo la minoría de los hombres con cáncer de próstata se ha mantenido para controlar el cáncer con ablación de andrógenos. ⁽¹²⁷⁾

Asociado con cambios *Ar* es la activación de oncogenes y la pérdida de genes supresores de tumores, que ha sido discutido ⁽¹²⁸⁾. La pérdida de la *Pten* gen supresor de tumores lo que lleva a la activación del fosfoinosítido vía 3-quinasa/Akt, es uno de los primeros cambios genéticos detectados durante la progresión del cáncer de próstata ⁽¹²⁸⁾. Varios oncogenes, como se describió anteriormente son regulados en el cáncer de próstata avanzado. Curiosamente, estos andrógenos conducen a la regulación positiva de genes asociados con la transición epitelial mesenquimal ⁽¹²⁹⁾, como se observa con la expresión de cadherinas mesenquimales, por ejemplo, N - cadherina ⁽¹²⁹⁾ o cadherina - 11 ⁽¹³⁰⁾, en resistente a la castración cáncer de próstata. La combinación de estos cambios lleva a la progresión del cáncer de próstata y metástasis (véase la fig.5).

La resistencia adquirida a la privación de andrógenos coincide con progresión del cáncer en el hueso la zona preferida de recurrente cáncer, que apunta a la presencia de una especificación hueso epitelial interacción que impulsa la progresión del órgano específico. ⁽¹³⁰⁾

En conjunto, estas observaciones indican que bajo la selectiva presión de ablación de andrógenos los cánceres de próstata evolucionan a partir de una conducta endocrina (por las hormonas esteroides gonadales) a una conducta paracrina (por los factores presentes en el tumor). La transición del endocrino a paracrina de cáncer de próstata a menudo indica la presencia de cáncer diseminado incurable con la terapia estándar actual. ⁽¹³¹⁾

Durante la fase de microambiente dependiente, la progresión del cancer está dominado por la adaptación del tumor con el tiempo. Estas adaptaciones incluyen círculos viciosos continuos, en que altera el microambiente de los tumores y los tumores a su vez alteran el microambiente. Proponemos el término "espiral de progreso" para ilustrar estos cambios de serie en el tiempo (ver fig. 6). Los mecanismos moleculares se reflejan en los "giros" del espiral. ⁽¹³¹⁾

El intervalo, refleja la tasa de adaptación del tumor aunque hay muchos cambios que puede ocurrir en un "giro", nos referimos a los cambios más críticos en la conducción de la progresión del tumor. ⁽¹³⁰⁾

Dado que el cáncer de próstata es heterogénea, con varios manejos" diferentes en diferentes momentos de la progresión tumoral los "giros" pueden ser identificados a través de la respuesta al tratamiento específico. Por ejemplo un tumor que es sensible a abiraterona a (una enzima de síntesis de esteroides) inhibidor de *Cyp17* puede comprender uno de estos a su vez (Fig. 6) ⁽¹³¹⁾. Cuando el tumor ya no es sensible a la terapia de depleción de andrógenos, que indica que otra vez se ha producido y el tumor ha progresado en otra fase de progresión del espiral que indica las alteraciones en el tumor y su microambiente. Los tumores en este nuevo "espiral" requerirán diferentes terapias que específicamente se dirigen a las propiedades alteradas que define esta fase de la espiral ⁽¹³²⁾. En la actualidad los "Giros", que son detectados por las respuestas a las terapias, han sido identificados (Fig. 7). Debido a los antiandrógenos dirigidos *Ar* señalizan como una terapia inicial de cáncer de próstata son más eficaces tempranamente en vez de etapas tardías de la progresión que alteran la biosíntesis de andrógenos y cambios en el *Ar*. Conducen el ultimo giro en el espiral donde han sido identificados pero su secuencia permanece claro. El examen de la estructura molecular cambia antes y después de la estimulación con agentes específicos se aclaran las vías para ayudar a la terapia dirigida una guía específica de giros del espiral. ⁽¹³²⁾

8.5 Mecanismos moleculares de la Fase microambiente dependiente

La progresión del espiral se caracteriza por una combinación de señalización a través de *Ar* y el microambiente del tumor. Con respecto a la señalización *Ar* estudios recientes han

sugerido múltiples " mecanismos de escape " por el cual *Ar* puede sostener su bajo " nivel de grado " de andrógenos. Estos mecanismos de escape son importantes en la conducción de la progresión del tumor. La producción intracrina de andrógenos por la regulación positiva de las enzimas de síntesis de esteroides por ejemplo, *Cyp17*, induce la transición del endocrino para andrógenos intracrininos dependientes. Un número de copias *Ar* aumenta constantemente después de la castración prolongada ⁽¹³³⁾. La participación de estos mecanismos de la progresión del cáncer de próstata se muestra por un reciente informe que los agentes terapéuticos por ejemplo abiraterona o MDV3100 son producidos por el tumor andrógeno o inhiben la función del receptor de andrógenos respectivamente llevan a resultados clínicos mejorados (Fig. 7).

También se demostró que las mutaciones de ampliación *Ar* ligando específica que los glucocorticoides además de andrógenos son capaces de activar *Ar* ⁽¹³⁴⁾. Otro mecanismo que explica la resistencia a la castración y se produce con frecuencia después de la terapia es la expresión de las isoformas de *Ar* que carecen de un *Ar* dominio de unión al ligando pero sin embargo pueden transducir señales ⁽¹³⁵⁾. Es importante destacar que un número creciente de estudios muestran que estos *Ar* inducen la transcripción de genes adicionales ⁽¹³⁶⁾. El *Ar* se compone de numerosos genes involucrados en la mitosis incluyendo *Ube2c*, cuya expresión se correlaciona con *Ar* expresión en muestras clínicas. Varios grupos mostraron que en la próstata independiente de andrógenos de cáncer celulares, *Ar* regula un programa transcripcional distinta que es diferente de las células de cáncer de próstata dependientes de *Ar* en particular la regulación por incremento de los genes del ciclo celular mitótico. ⁽¹³⁷⁾

El agotamiento de andrógenos también se ha notificado a llevar a un aumento en la expresión de la adhesión celular mesenquimal donde las moléculas incluyen N-cadherina y la cadherina-11, lo que aumenta la propiedad migratoria de las células tumorales así como contribuir a la interacción de las células tumorales con osteoblastos en un microambiente óseo. Por lo tanto, los andrógenos se convierten en *Ar* señalado, favoreciendo las metástasis y funciones promotoras del crecimiento diferenciado ⁽¹³⁹⁾. Estas alteraciones en última instancia puede ser señal de la vuelta final en el espiral de evolución es decir carcinoma neuroendocrino pobremente diferenciado, que carece de *Ar*.

Los cambios en los "giros " en el "espiral " se determina no sólo por alteraciones *Ar* sino también por la activación de los oncogenes y los cambios en el microambiente tumoral.⁽¹³⁸⁾ Como resultado de estas interacciones son numerosos los oncogenes activados en este tema se ha discutido en Gallick y sus colegas, a sólo unos ejemplos ilustrativos que se dan aquí. Cuándo y cómo se activan estos oncogenes es complejo y no se entiende bien ejemplos de oncogenes que pueden desempeñar un papel en las vueltas del espiral incluye *Src*, *Igf – 1r*, *Fgf - R*, *Met*, *Axl* y *Ack*. En etapas posteriores del espiral, polo quinasa 1 (PLK1), Aurora quinasa A (*Aurka*), *Ubc2* y *Mycn* son regulados debido al andrógeno ⁽¹⁴⁰⁾. Estos pueden conducir las últimas etapas de la progresión de la enfermedad. La activación de oncogenes y el agotamiento de andrógenos no son funciones independientes, nuevas pruebas indican que existe una función entre oncogenes y *Ar*. La resistencia de bloqueo *Ar* se ha demostrado que se asocia con un aumento en la actividad de *Src* como se evidencia por fosforilación *Src* quinasa ex (Efstathiou y colegas), por lo que la activación de Quinasas de la familia *Src* (*SFK*) se pueden utilizar como un biomarcador, pero el mecanismo no se conoce. Depleción de andrógenos ha sido demostrado que aumenta la expresión de MET. Por lo tanto, este puede contribuir a la respuesta observada por cabozantinib en cáncer de próstata ⁽¹⁴⁰⁾. Cinasas oncogénicas por ejemplo, *Src*, *Her2*, *AKT* y *ACK* se ha demostrado que fosforila *Ar* que puede cambiar las funciones de *Ar* afectando a la activación oncogénica. Cada uno de estos cambios puede representar un "giro " individual en el espiral o puede trabajar en combinación con la secuencia de conducir a turnos progresistas. ⁽¹⁴¹⁾

Porque no tenemos un conocimiento detallado de la cantidad de los *Ar* cambiantes que afectan a la progresión del cáncer de próstata ni sabemos el tiempo y la secuencia de la activación del oncogén todavía no es posible asignar la especificación "*Ar* sus cambios de señalización oncogénicos a específicos en la progresión del espiral (de ahí, la ambigüedad representado por la figura 7). La combinación de la señalización *Ar* bloqueantes y agentes dirigidos moleculares nos permitirán que define estos "giros ", que representan cambios importantes en estado de la enfermedad ⁽¹⁴¹⁾. Es probable que los factores que determinan las " Vueltas " pueden ser diferentes entre los individuos, como específica el oncogén y la secuencia de activación de oncogenes pueden variar entre los tumores. Sin embargo si la terapia dirigida contra un oncogén dada tiene éxito si se prolonga el tiempo de una paciente

que permanece según lo dictado por la activación de un oncogén (fig. 7). La posterioridad identificación de biomarcadores para los pacientes que entran en un específico "giro " en el espiral probablemente determinará una futura selección de la terapia.

Gleave y colaboradores ⁽¹⁴²⁾ demostraron que por inocular las células LNCaP sensibles a andrógenos tumorigénicas bajas con fibroblastos de hueso humano a una línea celular es resistente a la castración C4 - 2 que se genera lo que indica que las células estromales son capaces para modificar las propiedades de células tumorales LNCaP y hacen células resistentes a la castración ⁽¹⁴³⁾. El tumor de células y el medio ambiente interacciona en su mayoría impulsada por factores paracrinos, se ha demostrado que el cáncer de células prostáticas secretan morfogenética ósea la proteína VEGF, o el crecimiento fibroblastos factor de 9 (FGF9), que afecta a la proliferación de células estromáticas y aumentan la angiogénesis tumoral. A su vez, el tumor de células estromales proporciona factores tales como osteonectina que aumentan la invasividad de las células del tumor la supervivencia o la proliferación. Además de la formación de hueso la proliferación de las células tumorales en la médula ósea induce con frecuencia una respuesta osteolítica como refleja en el aumento de los receptores activados por el factor nuclear kappa B ligando y N – telopéptido⁽¹⁴³⁾. El aumento de la resorción ósea conduce a la liberación de TGF - β de la matriz ósea, alterando aún más las propiedades de células tumorales. Son también importantes en la conducción de "giros " en el espiral. Además tanto el tumor y el microambiente se adapta bajo presión en la selección de las terapias y las adaptaciones pueden dar lugar a giros en diferentes fases del espiral. La combinación de todos estos factores amplificados es en las interacciones bidireccionales a una multidimensional comunicación lo que representa. Por lo tanto la combinación de alteraciones en *Ar* señalizados en activación de oncogenes y factores ambientales todo ello contribuye al modelo espiral presentado en la **figura. 6** ⁽¹⁴⁴⁾. La biología que impulsa a cada uno a su vez se puede utilizar para guiar la aplicación de la terapia oportuna en previsión de la progresión. Salir del espiral ocurre cuando una serie de mutaciones surgen, incluyendo la pérdida de *Ar*, *Ro p53*, la regulación positiva de poloquinasa 1 (*PLK1*), Aurora quinasa A (*AURKA*) y amplificación de *Mycn*. En esta etapa, las células de cáncer de próstata ya no son reguladas por el microambiente y se convierten en células tumorales como lo indica la flecha roja en el lado derecho de la figura. Terapias

dirigidas que puedan afectar a que se convierten en el espiral al igual que se indican las posibles etapas de la enfermedad.

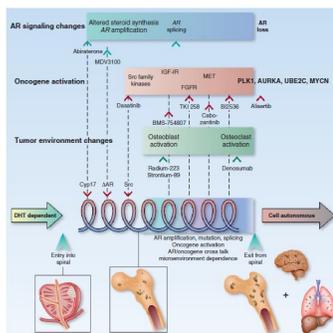


Fig 6: Modelo en espiral (Logothetis J. Christophert)

8.6 Marcadores y estrategias de tratamiento para la Fase microambientante

El modelo en espiral sugiere que la terapia se debe aplicar entre las interacciones complejas entre un tumor y su microambiente a ocurrir. Algunos pacientes con cáncer de próstata primario tienen un efecto supresor sostenido en respuesta a la ablación de andrógenos lo que sugiere que hay una etapa de cáncer prostático que es sensible a los andrógenos gonadales. Estos pacientes eventualmente se convierten al tratamiento en unos pocos años, y este estado de cáncer de próstata define un "giro" al principio del espiral (144). Los marcadores que apuntan a la entrada en la primera a su vez puede ser un aumento en *Cyp17* expresión en el cáncer de células prostáticas una indicación de la biosíntesis de andrógenos intracrina.

Si este fuera el caso la aplicación de abiraterona puede conducir a una prolongación del "giro *Cyp17*" (ver fig. 7). En apoyo de esta posibilidad los estudios recientes de nuestro grupo mostraron que la aplicación de abiraterona en la etapa temprana del cáncer de prostata significa una mejora en el resultado clínico (no publican datos). *Ar* amplificado y / o mutaciones pueden llevar a una falta de la respuesta al tratamiento de abiraterona. Aumenta la actividad SFK puede ser desarrollado como un biomarcador para la predicción de abiraterona resistencia (Efstathiou y sus colegas) y la entrada en la siguiente fase del espiral. La detección de un aumento en SFKs sugiere que un inhibidor como dasatinib se puede aplicar en la prevención de la enfermedad avanzada en la siguiente vuelta del espiral. Estos son ejemplos de cómo el modelo propuesto se puede usar para predecir una progresión de la

enfermedad y aplicar la terapia dirigida al momento adecuado con la secuencia correcta. Sin embargo algunos hombres con cáncer de próstata pueden tener parcelas muy cortas lo que indica la progresión rápida de la enfermedad. Estos lanzamientos cortos indican múltiples alteraciones que ocurren en un período muy corto de tiempo. En estos casos una única terapia puede ser incapaz de provocar una respuesta. (145)

Hasta el momento, no existen biomarcadores predictivos que puedan orientar el tratamiento para este subconjunto en hombres con cáncer de próstata. En este caso una terapia de combinación se basa en la aparición de múltiples biomarcadores que pueden ser considerados.

Como se muestra en el modelo en la figura. 7A, la terapia puede ser curativa esta posibilidad es probable que se produzca a través de la aplicación temprana en un biomarcador. Alternativamente el giro puede ser alargado lo que sugiere que la terapia dirigida ha sido eficaz contra el biomarcador predictivo (Fig.7). Después del tratamiento el tumor se adapta lo que lleva al siguiente giro del espiral. (145)

La aplicación exitosa del agente terapéutico correcto en esta etapa del espiral también se alargara en el siguiente turno (Fig. 7B). Es posible que la aplicación de la terapia dirigida no tendrá un efecto terapéutico positivo (fig. 7C). Este resultado sugeriría que el tumor está en una fase más compleja de la enfermedad. (145)

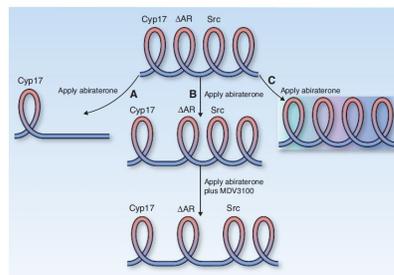


Fig 7: Tratamientos terapéuticos del modelo en espiral (Logothetis)

La salida de la progresión dependiente del microambiente espiral es anunciada por una manifestación clínica distinta caracterizada por una gran masa tumoral en la próstata o los ganglios linfáticos y metástasis viscerales sin un acorde aumento en el suero del antígeno específico prostático (PSA). Si se producen metástasis en los huesos, que son predominantemente hueso lítico metástasis (146). Estos hallazgos reflejan el surgimiento de

una rápida proliferación del cáncer andrógeno independiente que requerirá tratamiento diferente. En contraste con el medio ambiente micro dependiente, cáncer de próstata responde a agentes quimioterapéuticos, incluyendo docetaxel, mediante la reducción del volumen del tumor, una indicación de que el tumor ya no está regulado por su microambiente, una etapa que llamamos fase de la "célula tumoral." (147)

Esta forma de cáncer de próstata se puede distinguir de otro tipo de cáncer de próstata, ya que no se expresa el *Ar* y / o secretan PSA por lo tanto su crecimiento es verdaderamente independiente de los andrógenos. Las características clínicas de células tumorales del cáncer de próstata limitan pequeños carcinomas de células, la mayoría de estos cánceres comparten algunas de las características neuroendocrinas y en su forma pura son cánceres prostáticos neuroendocrinos denominado (NEPC) o pequeño cáncer de próstata de células (SCPC) (148). NEPC es raro en el diagnóstico como al menos de 1 % de cáncer de próstata en un diagnóstico inicial comprende este subtipo histológico / morfológico. Sin embargo, NEPC parece ocurrir más comúnmente después del fracaso de la terapia hormonal y es por lo tanto casi seguro aumentando en frecuencia que la privación androgénica donde las terapias se utilizan clínicamente. Se observó que algunos tumores pueden poseer un espectro morfológico que van desde acinares adenocarcinoma a un fenotipo de células pequeñas (149,150).

NEPC por lo tanto, se prevé que sea responsable de un aumento en el porcentaje de letalidad por cáncer de próstata, que se estima ser tan alta como 30 % (151).

8.7 Mecanismos moleculares en fase de la célula

El mecanismo por el cual la célula tumoral surge en esta fase está en un estudio intenso, pero aún no está claro incluso cómo el tumor se vuelve enriquecida con células *Ar* - negativos (151). El sello distintivo de esta transición es la pérdida de *Rb* y la pérdida o mutación de p53. La pérdida de genes supresores de tumores conduce a una inestabilidad cromosómica, lo que resulta en muchos cambios genómicos, incluyendo la pérdida de *Ar*. La presencia de células *Ar* - negativos en el tumor también puede ser debido al enriquecimiento de células madre en cáncer de próstata, donde informaron que debería ser baja en la expresión *Ar*. Beltrán y colaboradores encontraron que *Mycn* amplificado se produce en estos tumores, y esto puede en parte explicar la propiedad del tumor neuroendocrino. (152)

El resultado de la inestabilidad genética conduce a muchos cambios de los cuales afectan a los genes del ciclo celular especialmente los relacionados con la transición de la fase M, incluyendo *Aurka* y *Plk1* ⁽¹⁵³⁾. Wang y colaboradores demostraron que " ciclo celular " (52 transcripciones) y " ciclo celular mitótico " (24 transcripciones) son las 2 mejores transcripciones reguladas por el Análisis de Gen. *Aurka*, *Plk1*, *Ube2c*, así como *Mycn* son todos los ejemplos de posibles marcadores. *Aurka* regula la entrada en mitosis, así como el montaje del aparato del uso mitótico así que afecta a la separación de los cromosomas. *Mycn* amplificado se asocia con frecuencia con *Aurka* amplificado. Además, Otto y sus colegas ⁽¹⁵⁴⁾ también mostraron que *Aurka* estabiliza *Mycn*.

Otro regulador de la fase M sobreexpresa en el cáncer de próstata es la *Plk1*. *Plk1* media la entrada en mitosis así como maduración del centrosoma la actividad de control donde la activación del complejo anafase y la eventual salen de la fase M con la iniciación de la citocinesis ⁽¹⁵⁵⁾. *Plk1* se sobreexpresa en el cáncer de próstata con una mayor expresión en tumores de alto grado ⁽¹⁵⁶⁾. Pérdida de *Pten* regula al alza *Plk1*. Recientemente, Deeraksa y colaboradores mostraron aumentos en *Plk1* expresión en independiente de los andrógenos. Las células LNCaP, es importante destacar que estas células responden al inhibidor de PLK *Bi2536* al someterse a la necroptosis. Así, numerosos resultados recientes indican la importancia posible de inhibidores de los productos de genes de fase M como terapias para NEPC, se discute a continuación. ⁽¹⁵⁶⁾

8.8 Marcadores y estrategias de tratamiento para la fase celular

La detección del aumento en los biomarcadores mitóticos, por ejemplo , *UBE2C* , *AURKA* , *PLK1* y biomarcadores de proliferación , por ejemplo , *Ki - 67* , pueden indicar salir de la fase microambiente dependiente. NEPC o SCPC marcadores tales como la cromogranina A, sinaptofisina y neuronas específicas como enolasa son también biomarcadores característicos de esta fase, como es *Mycn* amplificado. ⁽¹⁵⁷⁾

En la fase de la célula tumoral de la enfermedad hay inhibidores que afectan la función mitótica que pueden ser eficaces en contraposición a las etapas anteriores cuando la señalización *Ar* afecta más vías *Ar* clásica. Actualmente la primera línea de tratamiento para esta fase es la quimioterapia pero los pacientes se convierten rápidamente resistentes a este

enfoque. Como base molecular para SCPC se entiende mejor individualizada. La terapia puede ser posible por ejemplo, los inhibidores de la AURKA tales como PHA - 739358 (danusertib) han sido probados en ensayos clínicos. Sin embargo danusertib no logró alcanzar el criterio principal de valoración de la respuesta del PSA. Sobre la base de nuestro análisis el PSA como criterio de valoración es poco probable que sea adecuado para los tumores que están en la fase de " tumor de células. ⁽¹⁵⁷⁾

Además, el tratamiento terapéutico en este ensayo no fue dirigido específicamente a los pacientes con *Aurka* amplificada; por lo tanto no es seguro que una mejor respuesta ha logrado, centrarse en los pacientes con NEPC amplificado *Aurka*. *Plk1* está recibiendo un interés creciente como un objetivo prometedor ⁽¹⁵⁸⁾. Los estudios preclínicos en células de osteosarcoma han proporcionado evidencias de que *Plk1* es un promotor de la transformación oncogénica. Células LNCaP se demostró que habían aumentado *Plk1* y responden a un inhibidor mediante la activación de la necroptosis. Inhibidores de *Plk1* están llegando a un ensayo clínico para tumores sólidos. *Bi2536* es un inhibidor selectivo de *Plk1* que alcanza el ensayo de fase II en varios tumores sólidos pero no cáncer de próstata con poca eficacia. Volasertib (BI 6727) es un potente inhibidor relativamente selectivo para *Plk1*. Un estudio de fase I en los pacientes con enfermedad avanzada muestra una farmacocinética favorable y un perfil de toxicidad limitada en pacientes con tumores sólidos avanzados ⁽¹⁵⁹⁾. Los estudios de fase II están en curso en la base de nuestro modelo, los inhibidores de *Plk1* puede ser eficaz en células tumorales en los que se sobreexpresa *Plk1*.

8.9 Identificación de biomarcadores que predicen la terapia

En la actualidad muy pocos biomarcadores han sido identificados que predicen cada giro en el cáncer de próstata a una progresión espiral. En nuestro modelo propuesto, cada uno de los giros del espiral se produce en respuesta a un manejo específicamente de la progresión del cáncer de próstata (Fig. 7). Estas " vueltas " son identificadas por la respuesta del paciente a un tratamiento específico. La identificación de específicos biomarcadores son fundamentales para determinar la terapia apropiada para un turno dado y la predicción de tránsito al siguiente turno. Varios agentes terapéuticos han sido aprobados para el cáncer de próstata a un tratamiento basado en su eficacia probada en la prolongación de la supervivencia de los pacientes y otros están en ensayos clínicos activos. ⁽¹⁵⁹⁾

Sin embargo sólo una fracción de los pacientes tratados se beneficia de estas terapias dirigidas. Los pacientes que comprenden verdaderos respondedores a biopsias recogidas de este grupo de los pacientes serán de gran valor en la identificación de biomarcadores para cada vuelta. Por ejemplo la expresión de *Cyp17* *Ar*, localización nuclear de *Ar* en el tumor, y niveles detectables de plasma y testosterona predice la probabilidad de respuesta a tratamiento con abiraterona. La terapia puede indicar cambios en la función *Ar* que abiraterona hace ineficaz tal resultado podría predecir que un inhibidor de *Ar* con un mecanismo de acción diferente tales como MVD3100 podría ser útil en la terapia. Los biomarcadores pueden también proporcionar pistas de una etapa más progresiva de la enfermedad que está ocurriendo o está por ocurrir. Por ejemplo, independientemente de la puntuación de Gleason, el estado de *Pten* o *Tmprss2 - Erg* –fusión proteínas, dan si los biomarcadores de la fase de células cancerosas prostáticas se incrementan, por ejemplo, *Aurora A*, *Mycn*, o *Plk1*, estos resultados sugieren que los pacientes deben ser tratados con la quimioterapia. Los biomarcadores también pueden ayudar a predecir la inminente resistencia a la terapia dirigida. Por ejemplo, el aumento de fosforilación de las proteínas de la familia Src se encontró en las muestras de los pacientes que no eran sensibles a tratamiento con abiraterona (Efstathiou y colegas). (159)

Estos ejemplos sugieren que las nuevas terapias combinadas, donde la terapia puede ser aplicada cuando las especificaciones de los biomarcadores permitan predecir que un nuevo objetivo (o controlador de progresión) surjan, en lugar de esperar hasta que la resistencia a un inhibidor dado se produzca. Lo más importante de la identificación de los biomarcadores que predicen la respuesta al tratamiento donde los pacientes se benefician de los inhibidores específicos o combinaciones de inhibidores.

Nuestro modelo por tanto requiere repetitivos muestreos durante el curso del tratamiento para determinar el "giro" para la selección de la terapia. Esto puede no ser práctico en el ámbito clínico. Una solución probable que este problema se encuentra en los últimos avances de la "biopsia líquida", donde la circulación de las células tumorales (CTC) proporciona la información sobre el tumor de estado (etapa de la progresión). (159)

EL análisis de los CTC es valioso como varias muestras de sangre para la determinación de los biomarcadores.

Es posible que los factores en el microambiente pueden " conducir " a la progresión y muchos de estos factores se liberan en sangre. Por lo tanto el desarrollo de anticuerpos de microarray que capturan estos factores paracrinicos en la circulación proporcionará información sobre los cambios en el microambiente tumoral que predicen la progresión del tumor (o fracaso de la terapia). ⁽¹⁶⁰⁾

Una importante contribución en la comprensión molecular de biomarcadores de la iniciación del tumor y la progresión será casi sin duda que surgan de una secuenciación de próxima generación (NGS) de tumores. Este enfoque ya tiene identificado varios cambios genéticos que pueden "conducir" a la progresión del tumor, como se comenta por Beltrán y Rubín ⁽¹⁶⁰⁾. Por ejemplo en el cáncer de próstata ETS negativa en la que *Pten* no se ha perdido, *Spink* (inhibidor de la serina peptidasa, Kalal tipo 1) se sobreexpresa en el 10% de los tumores. Las mutaciones en el gen de tipo speckle *Poz* (*Spop*) ocurren en 6% a 13% de tumores. En una fracción muy pequeña (<1%) de los tumores, NGS muestran reordenamientos en el gen *Braf* predictivo e implicaciones para el pronóstico de estas alteraciones genéticas son inciertas pero bajo intensa investigación y si el desarrollo de inhibidores que se dirigen a estas moléculas específicamente serán de valor terapéutico que queda por determinar. NGS estudios sugieren que alguna progresión de próstata se producen a través de la evolución clonal y esto se ve apoyado por estudios recientes de Sowalsky y colaboradores ⁽¹⁶¹⁾ muestran que Gleason idéntico reordenamiento del gen *Tmprss2*. A pesar del inicial controlador puede ser clonal, la experiencia con todos los medicamentos actualmente en uso clínico muestra que la resistencia a ellos se levantará, lo que lleva a la predicción de que al iniciar el clon evolucionará aún más a expresar los conductores adicionales que se describen en el modelo espiral.

8.10 ¿Cómo modificar el nuevo modelo a la terapia?

La selección de la terapia que incorpora conductores moleculares que promueven la progresión del tumor en los tumores heterogéneos como propuesto en la figura 7 debe mejorar el resultado clínico. ⁽¹⁶²⁾

Los modelos pronósticos basados no incluyen los factores descritos anteriormente, es decir, alteraciones *Ar* microambiente factores y la activación de oncogenes. En nuestra propuesta

tumor. Los resultados de dicho estudio evidenciaron la presencia de diversos fenotipos moleculares y por ello sugirió la existencia de una gran diversidad biológica en los tumores mamarios: ⁽¹⁶³⁾

1. El grupo ERBB2, que expresa altos niveles del gen *ErbB2*, así como de otros genes localizados en el amplicon *ErbB2* (negativos al receptor de estrógenos). Estos tumores muestran una mejor respuesta a la quimioterapia y cerca de 50% responde al tratamiento con Trastuzumab. ⁽¹⁶⁴⁾

2. El grupo “parecido al normal” se caracteriza por expresar un gran número de genes propios del epitelio mamario normal (negativos al receptor de estrógenos). ⁽¹⁶⁵⁾

3. El grupo “basal” expresa genes característicos de las células basales de la mama, en particular queratinas 5 y 17, y son negativos al receptor de estrógenos y amplificación de *ErbB2*, es decir, son negativos triples. Este subtipo tiene el pronóstico más sombrío. 4. El grupo “luminal” se distingue por la expresión, relativamente alta, de muchos genes expresados en las células epiteliales de la luz de los conductos mamarios, incluido el receptor de estrógenos. Son tumores negativos a *ErbB2* y suelen tener la mejor tasa de supervivencia. Los análisis genómicos iniciales han demostrado que dentro de la denominación “tumores negativos a receptor de estrógenos” se encuentran al menos tres entidades biológicamente distintas (grupos 1 a 3), las cuales deberían tratarse como enfermedades diferentes ^(166,167).

En un estudio posterior se analizaron 78 carcinomas mediante un microarreglo de 8102 genes. Este trabajo permitió depurar la lista de genes capaces de diferenciar a los cuatro patrones previamente descritos y reducirla a 476 genes, algo que se conoce como perfil intrínseco de expresión. De esta forma, se han logrado relacionar perfiles de expresión genómica con la supervivencia general de las pacientes. En consecuencia, los subtipos *ErbB2* y el basal parecen vincularse con una menor supervivencia. Asimismo, los tumores de los subgrupos luminal B y luminal C se identificaron como entidades clínicas diferentes con un curso más agresivo, en particular en relación con la reincidencia del tumor ⁽¹⁶⁸⁾. De manera paralela, otro grupo de investigación analizó los patrones de expresión de unos 25000 genes en 117 tumores de mama. Al aplicar una medida de clasificación supervisada, se identificó un patrón de 70 genes que resultó altamente predictivo para el desarrollo de metástasis distantes en un periodo de cinco años en pacientes sin evidencia de metástasis linfática

regional. Este hallazgo indica que es posible llevar a cabo evaluaciones pronósticas del curso clínico en tumores de mama a partir del análisis de la lesión primaria. Este trabajo demuestra la utilidad de las firmas moleculares para detectar patrones de expresión que tienen un mayor valor predictivo que los parámetros clínicos tradicionales. Además, permite reconocer a los pacientes que se beneficiarán en mayor proporción del tratamiento adyuvante al analizar tumores primarios de mujeres jóvenes en estadios I y II (menores de 53 años) (169,170). Además de la utilidad predictiva, la estadificación basada en patrones de expresión se correlaciona con la respuesta a la quimioterapia preoperatoria. En consecuencia, a través del análisis del tejido obtenido de biopsias por aspirado de aguja fina se determinó que los subtipos parecido al basal y *ErbB2* son más sensibles al tratamiento preoperatorio con paclitaxel y doxorubicina en comparación con los patrones parecido a normal y luminal (171). La utilidad clínica y la relevancia biológica de estos hallazgos también se demostraron al analizar los patrones de expresión de lesiones metastásicas, en las cuales se identificó un patrón de expresión muy similar al del tumor primario, aun si la metástasis distante se desarrollaba años después del diagnóstico y se encontraba en un microambiente distinto al del tumor primario (172,173).

8.12 Diferentes perfiles de expresión y evaluación del riesgo

Para evaluar la correlación entre los resultados obtenidos con el perfil de genes intrínseco y la predicción del curso clínico con base en el patrón de expresión de 70 genes, se analizaron 115 tumores independientes, con agrupamiento jerárquico basado en los 534 genes que mejor diferenciaban a los subtipos luminal, basal, *ErbB2* y parecido a normal. Este mismo análisis se aplicó a los datos, de los cuales se obtuvo el patrón predictivo de los 70 genes. Los resultados indicaron que, cualquiera que fuera la plataforma de microarreglos utilizada, se reproduce de forma consistente la identificación de los subgrupos de tumores en datos generados de forma independiente. Además de corroborar la presencia de los subgrupos, este trabajo permitió correlacionar al subtipo de tumores con patrones de expresión basal y *ErbB2* con el grupo de alto riesgo, definido por el patrón de 70 genes, mientras que los subtipos luminal A y luminal B mostraron una correlación con un buen pronóstico y un pronóstico intermedio, respectivamente (174).

8.13 Correlación entre perfiles de expresión, clasificación molecular y patrones de alteración en el número de copias de DNA

El análisis de aberraciones en el número de copias de DNA en el cáncer de mama ha identificado regiones específicas de amplificaciones en *8q11*, *1q21*, *17q11*, y *11q13*, así como deleciones en segmentos que contienen genes supresores de tumor conocidos, como *Pten* y *Cdkn2a*. En términos comparativos, los tumores del subtipo basal presentan más alteraciones en el número de copias que los otros subtipos, lo que indica un mayor grado de inestabilidad cromosómica en este subtipo tumoral ⁽¹⁸⁰⁾. Entre los sitios de interés de amplificación relacionados con peor pronóstico clínico se encuentran *8q33.3* (*Edd1*, *Wdsof1*), *8q24.11-13* (*Thrap6*, *Dcc1*, *Sqle*, *Spg8*) y *11q14.1* (*Ndufc2*, *alg8* y *Usp35*).

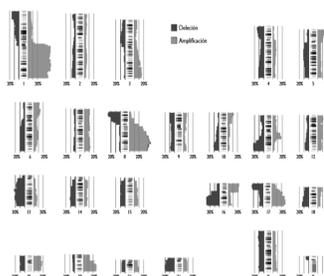


Fig 8: Perfil de alteraciones de DNA (Hidalgo-Miranda A, Jiménez-Sánchez G.)

En realidad, la amplificación de cualquiera de estas regiones permite identificar a pacientes con una menor sobrevida y presentación de metástasis distantes al margen de otros parámetros clínicos ⁽¹⁸⁰⁾. La figura 8 muestra un histograma de frecuencias con las regiones del genoma humano que sufren alteraciones en el número de copias en un mayor porcentaje de los tumores mamarios.

Los tumores “triple negativos” ⁽¹⁸¹⁾ se caracterizan por la ausencia de expresión de receptores hormonales (estrógenos y progesterona), así como de *Her2*, y constituyen cerca de 15% del total de los tumores de mama. Este subtipo de neoplasias pertenece en su mayoría al subgrupo de expresión basal, el cual se distingue por un curso clínico muy agresivo ⁽¹⁸²⁾. Se han identificado alteraciones específicas en el número de copias relacionadas con este tipo de tumor, como amplificaciones en *9p24-p21*, *10p15-p13*, *12p13*, *13q31-q34*, *18q12*, *18q21-q23* y *21q22*. El uso de microarreglos de genotipificación de alta densidad ha identificado que los patrones de pérdida y ganancia de material genético son diferentes en subtipos

tumorales clasificados mediante expresión. Estas diferencias incluyen la amplificación de *12q*, para el tipo luminal B (gen *Rab1b*), la amplificación de *10p* para el subtipo basal (gen *Kiaa1217*) y la delección recurrente de *16q* en el subtipo luminal A. Esta delección constituye un factor de buen pronóstico en todos los subgrupos tumorales ⁽¹⁸²⁾. El uso del microarreglo de SNP capaz de identificar 500 000 variaciones genómicas, junto con el análisis de datos de expresión génica, permitieron determinar la importancia funcional de las alteraciones del número de copias de DNA. Estos análisis no sólo destacan la importancia de los genes identificados con anterioridad, como *ErbB2*, sino que además posibilitan una mejor definición de otras regiones importantes, como las amplificaciones en *8p12* y *11q13.5-q14.2*. Esto resulta en una notoria reducción del número de genes blancos con posible relevancia biológica. Un ejemplo de esta utilidad es la reducción de la amplificación detectada con regularidad en *17q23.2* a una región de 249 kb que contiene al gen *Rps6kb1* y al micro-RNA presumiblemente oncogénico mir-21⁽¹⁸³⁾. La figura 9 muestra la capacidad de detección de alteraciones en el número de copias de DNA de diferentes plataformas de microarreglos y ejemplifica la forma en que una mejor resolución hace posible identificar alteraciones genómicas más puntuales en el genoma de la célula neoplásica.

8.14 Micro-RNA y cáncer de mama

Estudios iniciales en cáncer de mama han demostrado que es posible diferenciar tejido normal de tumores mediante patrones de expresión de micro-RNA: los que presentan un mayor cambio son *mir-125b*, *mir-145*, *mir-21* y *mir-155*⁽¹⁸⁴⁾. Asimismo, se ha demostrado que genes relevantes en la transformación neoplásica de la mama son susceptibles a la regulación por micro-RNA, como en el caso de *ErbB2* y *ErbB3* ⁽¹⁸⁵⁾ receptor de estrógenos, ⁽¹⁸⁶⁾ tropomiosina I ⁽¹⁸⁷⁾ y caderina E, ⁽¹⁸⁸⁾ entre otros. En fecha reciente se describió la función del micro-RNA-10b (miR-10b) en el inicio del proceso de invasión y metástasis a través de la inhibición de *HOX-D10* y la sobreexpresión de *Rhoc* ⁽¹⁸⁹⁾. Estos datos sugieren que los micro-RNA, dada su capacidad de regular la función de una gran cantidad de blancos transcripcionales, podrían determinar los patrones de expresión a nivel de RNA mensajero en los diferentes subtipos de cáncer de mama. Esta hipótesis se confirma en trabajos recientes, que demuestran la presencia de micro-RNA específicos en diferentes subtipos

tumorales, como el basal y el luminal ⁽¹⁹⁰⁾. El papel de estas moléculas como posibles biomarcadores de riesgo se ha demostrado a través del análisis de miR-126 y miR-335. La expresión de estos micro-RNA se pierde en la mayoría de los tumores primarios de mama, sobre todo en los pacientes que presentan una recaída y la pérdida de la expresión se vincula con un menor tiempo de desarrollo de metástasis ⁽¹⁹¹⁾.

Los tres abordajes más importantes que se han aplicado para el descubrimiento de factores genéticos de predisposición al cáncer de mama son los estudios de ligamiento en el genoma completo, la búsqueda de mutaciones en genes candidato mediante secuenciación y, en fecha reciente, los estudios de asociación del genoma completo. Hoy día se conocen tres grupos de factores de predisposición genética al cáncer de mama, basados en el riesgo relacionado con cada grupo ⁽¹⁹¹⁾

8.15 Estudios de ligamiento

El primer grupo de riesgo lo constituyen los genes de alta penetrancia relacionados con el cáncer de mama de tipo familiar; a través de estudios de ligamiento fue posible mapear los genes *Brca1* y *Brca2* ⁽¹⁹²⁾. Las mutaciones en *Brca1* y *Brca2* confieren alrededor de 15 a 20% del riesgo relativo familiar para cáncer de mama en la población caucásica ⁽¹⁹³⁾. Las mutaciones en *Tp53*, dentro del marco del síndrome de Li-Fraumeni, también se consideran como de alta penetrancia, ya que las pacientes con este síndrome presentan un riesgo significativamente más elevado a padecer cáncer de mama ⁽¹⁹⁴⁾. También en los síndromes de Cowden (mutaciones en *Pten*) y Peutz-Jeghers (*Stk11*) y el síndrome de cáncer gástrico difuso hereditario (mutaciones en *Cdh1*) se ha identificado una mayor susceptibilidad a desarrollar cáncer de mama. Sin embargo, las mutaciones en *Tp53*, *Pten*, *Stk11* y *Cdh1* son muy raras en los tumores de mama esporádicos, por lo que su contribución al riesgo relativo fuera del contexto de sus síndromes adjuntos es muy baja ⁽¹⁹⁵⁻¹⁹⁹⁾.

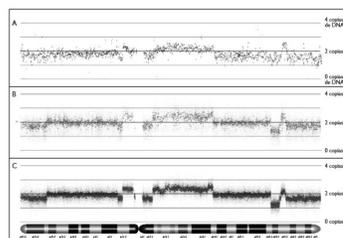


Fig 9: Detección de alteraciones en el DNA (Hidalgo-Miranda A, Jiménez-Sánchez G.)

Estudios de reselecuenciación de genes donde esta aproximación ha identificado mutaciones en genes como *Chek2*, *Atm*, *Brip1* y *Palb2*, los cuales pueden elevar el riesgo relativo de padecer la enfermedad de dos a cuatro veces (200-203). Por otra parte, existe un polimorfismo codificante en el gen *Casp8* que se vincula con una reducción moderada del riesgo de padecer cáncer de mama (204). Sin embargo, la frecuencia de estas variaciones en la población general es baja y, aun si se consideran todos los genes de susceptibilidad conocidos hasta la fecha, todavía queda una proporción de 70 a 75% de los casos de cáncer de mama que no presenta estas variantes genéticas (205). Estudios de asociación, genes candidato y genoma completo. Los estudios genómicos del cáncer de mama se llevaron a cabo de manera inicial a través de una estrategia de gen candidato (206).

Tabla 11: Variantes genéticas (Hidalgo-Miranda A, Jiménez-Sánchez G.)

Local	Tamaño del Mapeo de CE (kb)*	Genes dentro del Mapeo	Identificador del SNP	Riesgo de mama por año†	Riesgo de p*	Referencia
16q24	25	FGFR2	rs2081392	1.26	2 x 10 ⁻⁶	54
			rs2731648	1.26	1.1 x 10 ⁻⁶	57
16q13	100	TNRC2 LOC443114	rs389392	1.28	1 x 10 ⁻⁶	54
			rs389362	1.28	1.9 x 10 ⁻⁶	55
2q35	117	-	rs11380942	1.28	1.3 x 10 ⁻⁶	55
5p12	310	HRP23	rs10941679	1.19	1.9 x 10 ⁻⁶	58
5p11	300	HRP21 MCC11084 HRP22	rs881112	1.13	7 x 10 ⁻⁶	54
7q31	290	CDKN1A TNRC2 RUSC2 RUSC1 LOC400386 LOC797911	rs345485	0.88	1.1 x 10 ⁻⁷	49
8q24	110	TP53	rs12881415	1.08	5 x 10 ⁻⁷	54
11p15	180	TNRC2 HRP23 HRP21 LOC728008	rs3877198	1.07	3 x 10 ⁻⁷	54

LD: desarrollo de enlaces SNP-polimorfismo de un solo nucleótido
 *Los valores indicados se describen sobre la base de la frecuencia de los polimorfismos en las poblaciones analizadas (caucásicas de Nevada, Dinero y el Reino Unido)

Desafortunadamente, debido a limitaciones en el número de muestras analizadas y su diseño, muchos de los resultados de estos estudios no fueron replicables (207). En fecha reciente ha sido posible el desarrollo de plataformas tecnológicas que permiten evaluar cientos de miles de polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) en grandes cantidades de muestras, lo cual abre la posibilidad de llevar a cabo estudios de asociación en todo el genoma y elimina el sesgo debido a preconcepciones acerca del papel de genes específicos en las enfermedades (208,209). En el caso del cáncer de mama se han efectuado cuatro estudios de asociación del genoma completo, que en conjunto han analizado cerca de 40 000 casos contra 79 000 controles (cuadro III (210)). El diseño experimental de estos estudios se ha dividido en etapas, lo que hace más eficiente el análisis y reduce sus costos. Por ejemplo, el estudio de Easton analizó de manera inicial un grupo de 390 casos, ya sea con un historial de cáncer de mama hereditario o bien con tumores bilaterales, contra 364 controles mediante una plataforma de microarreglos de genotipificación para el análisis de 227 876 SNP.

Para la segunda etapa se seleccionó 5% de los SNP más significativos (12 711), los cuales se genotipificaron en 3 990 casos y 3 916 controles independientes. En la tercera etapa se seleccionaron los 30 biomarcadores más significativos y se analizaron en 21 860 casos y 22 578 controles provenientes de 22 estudios internacionales ⁽²¹¹⁾. Las variantes genéticas reconocidas en estos estudios elevan el riesgo relativo de cáncer de mama en <1.5. Sin embargo, en virtud de los enormes números de casos y controles analizados, el diseño en etapas que permite la replicación en poblaciones independientes y la astringencia estadística de los análisis, el poder de estas asociaciones es muy elevado. La señal de asociación más sólida detectada hasta ahora se localiza en la región *10q26* (cuadro III), en el intrón 2 del gen *Fgfr2*. Este gen se ha encontrado mutado en diferentes tumores, si bien las bases moleculares acerca del modo en que esta variante incrementa el riesgo de padecer cáncer de mama se desconoce. La siguiente variante más relacionada se halla en la región *16q12*, en un bloque de desequilibrio de ligamiento que contiene al gen *Tnrc9* y cuya expresión puede predecir la capacidad metastásica de los tumores primarios a hueso ⁽²¹²⁾. La señal en *5p12* se encuentra en desequilibrio de ligamiento con el gen *Mrps30*, que codifica para una proteína de ribosomas mitocondriales que interviene en el proceso de apoptosis. Por otro lado, la variante situada en *5q11* se halla en el bloque de desequilibrio de ligamiento donde se localizan tres genes; el *Map3k1* es el candidato más interesante, ya que codifica a una cinasa activada por mitógenos que interviene en el control de señalización celular. En cuanto al locus *2q33*, la región incluye el gen *Casp*, participante en la apoptosis, aunque el bloque de desequilibrio de ligamiento también incluye a otros genes cuya función no se ha determinado en el cáncer. La asociación con variantes en *8q24* se localiza en una región muy interesante, ya que diversos estudios la han encontrado vinculada con el cáncer de próstata ⁽²¹³⁾, colon ⁽²¹⁴⁾ y vejiga ⁽²¹⁵⁾. A pesar de la cercanía con el oncogén *C-myc*, las bases moleculares que explican cómo estas variaciones afectan la carcinogénesis todavía se desconocen. Por último, la región *11p15* situada dentro del intrón 10 del gen *Lsp1*, que codifica a una proteína específica de linfocitos, también se ha relacionado con cáncer de mama. Análisis recientes indican que algunos de los genes en los que se localizan dichos biomarcadores (*Tnrc9*, *Fgfr2* y *Map3k1*) presentan expresión diferencial en los distintos subtipos de tumores, definidos por perfiles de expresión ⁽²¹⁶⁾. Asimismo, la presencia de algunas de estas variaciones se ha vinculado con

positividad para receptores hormonales, bajo grado histológico, metástasis en ganglios y tiempo de supervivencia (217).

Tabla 12: Factores Genéticos (Hidalgo-Miranda A, Jiménez-Sánchez G.)

FACTORES GENÉTICOS DE PREDISPOSICIÓN AL CÁNCER DE MAMA				
Penetrancia	Gen / Locus	Rango relativo	Frecuencia de portadores*	Modelo de herencia
Alta	BRCA1	>10	0.1%	Ligamiento
	BRCA2			
	TP53			
Intermedia	PTEN	2-10	Muy baja	Resecuenciación de genes candidato
	STK11			
	CDH1			
Baja	ATM	2-3	0.4%	Resecuenciación de genes candidato
	CHKB2			
	BRPI			
	MUT2			
Baja	19p13.1 (4q12,2q35)	1:200-1:25	24-50%	Asociación de genes completo
	8q24 (5q12)			
	11p15.5 (q11)			
	2q33			

*En valores indicados se describieron sobre la base de la frecuencia de los polimorfismos en las poblaciones analizadas

8.16 Estudios de resecuenciación masiva en el cáncer de mama

En la actualidad, los métodos de secuenciación automatizada han dado un salto significativo, abatiendo los costos en grado notorio y, sobre todo, aumentando la capacidad de secuenciación en forma masiva. En el caso del cáncer de mama, las técnicas de secuenciación de nueva generación se han utilizado para identificar los sitios de unión del receptor de estrógenos alfa (218) y aún no se ha notificado la secuencia completa del genoma de un tumor de mama. Sin embargo, mediante tecnología de secuenciación tipo Sanger, se analizó la secuencia de 20857 transcritos provenientes de 18191 genes en una muestra inicial de 11 tumores y dos tejidos normales del mismo paciente (grupo de descubrimiento) (219). Los genes que se encontraron mutados en el grupo de descubrimiento se analizaron con posterioridad en un grupo independiente de 24 muestras (grupo de validación). Este análisis identificó un total de 506 mutaciones somáticas, de las cuales 79 se validaron en la muestra independiente y se distribuyeron en 62 genes. Estos genes codifican a proteínas que participan en 108 vías metabólicas, muchas de las cuales incluyen las vías de señalización de 3-cinasa de fosfatidilinositol (PI3K) y NF-κB.

8.17 Traducción de los hallazgos genómicos a la práctica clínica y salud pública

La traducción de resultados genómicos del cáncer de mama en productos clínicos se ha observado sobre todo en el campo de los perfiles de expresión de RNA. Tanto el patrón analizado por el modelo de 70 genes (MammaPrint) como la firma molecular de 21 genes

(OncotypeDX) se utilizan en ensayos clínicos para determinar su utilidad y desempeño, en comparación con marcadores pronósticos tradicionales para determinar si se asigna quimioterapia adyuvante a pacientes de cáncer de mama. En el caso del MammaPrint, se efectúa el estudio MINDACT (Microarray In Node Negative Disease may Avoid ChemoTherapy) que compara el método tradicional para la evaluación de recurrencia del tumor con la firma molecular de 70 genes. Por otra parte, el ensayo clínico Trial Assigning Individualized Options for Treatment (Rx), o TAILORx, analiza la utilidad de la firma basada en 21 genes ⁽²¹⁹⁾. Las pacientes con diagnóstico reciente de cáncer de mama, con receptores de estrógeno o progesterona positivos y negativos para amplificación de *Her2/neu*, y cuyos tumores aún no metastatizan a los ganglios linfáticos, son elegibles para este estudio. Los alelos de riesgo identificados mediante estudios de asociación de genoma completo continúan bajo evaluación. En fecha reciente se evaluó el perfil de riesgo generado con seis de estos alelos en cuanto a su capacidad de determinar los riesgos individuales y poblacionales. Los resultados indican que el perfil no es suficientemente poderoso para predecir el riesgo individualizado. Sin embargo, es capaz de estratificar a la población general con base en riesgos relativos de acuerdo con grupos de edad. De esta forma, una mujer con un perfil de riesgo genético determinado por los seis SNP podría ubicarse en un percentil de riesgo poblacional específico para calcular el riesgo relativo relacionado con su edad. Las mujeres de 50 años que estuvieran en el quinto percentil de la distribución de riesgo tendrían un riesgo a 10 años de 1.5%, mientras que las mujeres de 41 años, ubicadas en el percentil 95, tendrían un riesgo a 10 años de 2.3% ⁽²²⁰⁾. Otro aspecto relevante de la investigación en el cáncer de mama es la farmacogenómica. Los polimorfismos en genes como *Cyp2d6*, *Cyp3a4*, *Cyp3a5*, *Cyp19a1* y *Sult1a1* se han relacionado con la eficiencia clínica del tamoxifén y las aromatasas. Asimismo, las variantes de los genes *Cbr3*, *Abcb1* y genes de estrés oxidativo se vinculan con una respuesta a antraciclinas y una respuesta clínica general ⁽²²¹⁾ lo cual los hace candidatos interesantes para su evaluación en la población mexicana.

9.-PERSPECTIVAS DE USO DE BIOMARCADORES EN EL CÁNCER DE GLÁNDULA MAMARIA Y GLÁNDULA PROSTÁTICA.

Debido a que los miRNAs son moléculas muy estables dentro de las células y fluidos corporales que representan objetivos ideales para el descubrimiento del biomarcador ciertos grupos miARN o miRNA se han sugerido para ser biomarcadores de diversos tumores malignos y para el pronóstico. Basándose en su expresión específica de tejido miRNAs pueden ser utilizados para la clasificación y subclasificación de muestras difícilmente clasificables por la rutina inmunohistoquímica ⁽²²²⁾. Ciertos miRNAs pueden seguir esta ruta, comenzando como un marcador específico de tejido y que termina como un marcador útil, detectable en la sangre u otros fluidos corporales. El mecanismo exacto de la producción y liberación de miRNAs individuales endocrino en oncología aún no se conoce, pero estos procesos pueden llegar a ser descubiertos, teniendo en cuenta el rápido aumento del número de publicaciones que muestran que miRNAs circulantes pueden servir como biomarcadores útiles. A la fecha, miRNAs circulantes se han utilizado en la evaluación de infarto agudo de miocardio ⁽²²³⁾

y el daño tisular ⁽²²⁴⁾ y ha demostrado ser valiosos biomarcadores para células renales ⁽²²⁵⁾, cáncer de mama ⁽²²⁶⁾, y el cáncer de próstata ⁽²²⁷⁾.

En base a sus propiedades similares a las hormonas de diferente producción y sitios que actúan miRNAs se han sugerido a ser una nueva clase de hormonas por Selth y col ⁽²²⁸⁾. En efecto, las hormonas que actúa a través de sus receptores, miRNAs son dirigidos por diversas proteínas que pueden cumplir los criterios de hormonas, teniendo en cuenta su presencia en la sangre, y también son potencialmente capaces de influir en la función de un órgano distante ⁽²²⁹⁾.

La biología de sistemas da un enfoque completo con mecanismos de pequeños ARN relacionados nos ayudará a construir modelos de enfermedad ⁽²³⁰⁾.

A pesar de los avances en cuatro importantes áreas (tecnología de la imagen, tratamiento quirúrgico, las modalidades terapéuticas y terapias moleculares dirigidas), el cáncer sigue siendo una de las principales causa de muerte en el mundo. Los biomarcadores, que se utilizan para la detección precoz del cáncer y la selección de la estrategia terapéutica, son herramientas poderosas que pueden mejorar los resultados de tratamientos contra el cáncer y

reducir la mortalidad relacionadas con el cáncer ⁽²³¹⁾. En la última década, el progreso significativo en el amplio análisis del genoma humano, epigenoma, transcriptoma, proteoma y metaboloma ha llevado al descubrimiento de un variedad de biomarcadores que pueden ser utilizados para detectar en etapa temprana el cáncer y predecir la progresión tumoral, la respuesta farmacológica, clínica resultado o alguna combinación de estas tres trayectorias ⁽²³²⁾. Por otra parte, la tecnología basada en la bioinformática ciencias de la computación ha facilitado enormemente el descubrimiento de biomarcadores que están fuertemente asociadas con la patofisiología de los cánceres particulares. Por ejemplo, varias dinámicas, incluyendo la fosforilación de proteínas, el tráfico de proteínas y la localización, y las interacciones proteína-proteína que han tenido efectos secundarios se observan con frecuencia en el cáncer de las células. Modificaciones posttraducción específicos (por ejemplo, fosforilación) y / o el estado (por ejemplo, localización nuclear) de especial proteínas en las células cancerosas pueden ser significativos en la clínica dando situaciones como potenciales biomarcadores de cáncer. Recientemente, el análisis proteómico ha facilitado enormemente las categorías de los perfiles de expresión de genes no sólo en líneas celulares sino también muestras clínicas, incluyendo suero / plasma, orina, fluido espinal, fluido sinovial y tejidos. En esta revisión, los enfoques proteómicos son utilizados en el descubrimiento de biomarcadores de cáncer y se describen el estado actual de estos.

Los estudios proteómicos recientemente, que tiene como objetivo mapear toda la proteína humana conjunta ⁽²³³⁾. Será necesario un esfuerzo mundial sistemático lograr este objetivo con respecto a la abundancia de proteínas , la distribución y la localización subcelular , así como con respecto a interacciones de las proteínas con otras biomoléculas y funciones de proteínas en los puntos de tiempo específicos . Como estrategia, el grupo de investigación HPP se ha centrado en tres trabajos pilares - espectrometría de masas (MS) -basado, en anticuerpos y basados en el conocimiento de estrategias proteómicas. En esta sección, se describen las principales plataformas proteómicas utilizados para descubrimiento de biomarcadores del cáncer. ⁽²³⁴⁾

9.1 Proteómica ms- base

Recientemente, MS ha evolucionado a un nivel tal que puede ser utilizado para evaluar la complejidad del proteoma humano ⁽²³⁵⁾. MS tiene desempeñado un papel fundamental en el

descubrimiento de biomarcadores de proteínas en la investigación en el cáncer y otras enfermedades. Inicialmente los estudios proteómicos se basaron en dos dimensiones electroforesis en gel y posterior MS

El análisis fue desarrollado como un enfoque para el descubrimiento de biomarcadores de espectros de masas y de reconocimiento de patrones han permitido investigadores y clínicos a utilizar la bioinformática para distinguir pacientes con cáncer de sujetos sanos ⁽²³⁶⁾, y LC / MS se utiliza a continuación para identificar los miles de las proteínas en las muestras biológicas; estas muestras pueden ser tejidos, suero, plasma, orina o elución de proteína de líneas celulares. La LC / MS métodos basados en que se puede utilizar para exhaustivamente analizar péptidos digeridos se denominan colectivamente proteómicos ⁽²³⁷⁾. Hay dos enfoques principales para la proteómica y cada método está diseñado para una adecuada cuantificación de la cantidad de péptido.

9.2 Proteomica basado en anticuerpos

El proteoma humano se compone de 20 500 proteínas que se definen como las isoformas representativas de todos las codificaciones de proteínas locus del gen. Hay esfuerzos en curso en el campo de la proteómica para generar anticuerpos específicos que reconocen cada componente del proteoma humano. Basados en anticuerpos proteómicos desempeña un papel fundamental en el descubrimiento de biomarcadores de cáncer y el proceso de validación, en concreto, facilita la evaluación de cáncer de biomarcadores y proporciona una estrategia lógica para la generación sistemática y específica de uso anticuerpos para explorar el proteoma. La proteína humana Proyecto Atlas ha sido creada para generar sistemáticamente específicos anticuerpos a nivel mundial y para utilizar estos anticuerpos de estudios de las correspondientes proteínas e isoformas de proteínas. ⁽²³⁸⁾

El uso de anticuerpos para la proteína de perfiles en una escala mundial es una aproximación intuitiva que debería facilitar la sistema de examen del proteoma cáncer; basado en enfoques de anticuerpos que pueden ser utilizados en conjunción con una amplia gama de ensayos de alto rendimiento como la inmunohistoquímica (IHC) en microarrays de tejidos (TMA) y microarrays de proteínas ⁽²³⁹⁻²⁴¹⁾.

TMA es un método de montaje de múltiples muestras de tejido a partir de un bloque de parafina a evaluar simultáneamente múltiples biomarcadores utilizando IHC ; TMA puede potencialmente convertirse en un método molecular acelerado para el uso de una biblioteca a gran escala de anticuerpos para examinar la asociación entre biomarcadores moleculares y los resultados clínicos ⁽²⁴²⁾ .

Cada conjunto se incuba con una muestra de prueba (por ejemplo, un celular lisado o muestra de suero) que representa un tratamiento específico condición y múltiples analitos de la muestra se miden simultáneamente. Por el contrario, RPPA inmoviliza un alícuota de una muestra individual de prueba compleja (por ejemplo suero, plasma, elución de proteína a partir de una muestra de tejido o de un lisado celular) en cada punto de matriz. En los formatos de RPPA cada matriz se incuba con una proteína de detección que es normalmente un anticuerpo y un solo analito se mide y se compara directamente a través múltiples muestras ⁽²⁴³⁾ .

RPPAs es un descendiente directo del inmunoensayo en miniatura y la plataforma de tecnología RRPA está diseñado para su cuantitativo análisis de proteína específica (fosforilación, glicosilación, procesamiento o alguna combinación de los mismos), o las formas totales de proteínas celulares a partir de una cantidad limitada de muestras.

Los perfiles de expresión de los genes y modificaciones post-traduccionales son herramientas poderosas para identificar dianas terapéuticas específicas en cánceres. La tecnología proteómica facilita en gran medida el análisis exhaustivo de expresión de la proteína y modificaciones post-traduccionales.

El desarrollo de métodos globales y cuantitativos para elucidar por lo tanto, los eventos de fosforilación dinámicos es esencial para una comprensión sistemática de la biología del cáncer. MS tiene madurado hasta convertirse en una poderosa tecnología para análisis fosfoproteomico. Olsen et al. ⁽²⁴⁴⁾ identificado el sitio específico de la señal de fosforilación en redes menores de EGF señalización a nivel mundial. Se estimularon las células HeLa con EGF y luego se cuantificaron globalmente el estado de fosforilación de fosfopéptidos que habían sido eluidas de las células.

Estos ensayos incluyeron una combinación de las técnicas incluyendo el etiquetado de isótopos estables utilizando aminoácidos en la celda cultura (SILAC), cromatografía de intercambio catiónico fuerte - (SCX) y dióxido de titanio (TiO₂) para el enriquecimiento de fosfopéptidos, y de alta precisión de múltiples etapas MS. Esta técnica permitió a este grupo para detectar sitios de fosforilación en 6600 2.244 proteínas y para determinar la dinámica temporal de la fosforilación péptido que siguió la estimulación con EGF ⁽²⁴⁵⁾. Más recientemente este grupo se aplica de alta resolución Proteómica MS basados para investigar el proteoma y fosfoproteoma de células humanas en el transcurso de la célula, ciclo y proteínas cuantificadas 6027, identificaron 20 443 única sitios de fosforilación y dinámicas supervisadas de las fosfoproteínas. Anticuerpos individuales que reconocen específicos fosfopéptidos se han generado por muchos individuos los científicos y las empresas para identificar la fosforilación el estado de las proteínas particulares. RPPAs que emplean el sitio específico de anticuerpos para fosforilaciones de proteínas pueden medir directamente el nivel de las isoformas de proteínas fosforiladas y pantallas que combinan RPPA y anticuerpos se han utilizado para generar extensos perfiles fosfoproteomicos. ⁽²⁴⁵⁾

El proyecto Human Protein Atlas (HPA) ha comenzado a generar los reactivos de afinidad a proteínas específicas hacia todas las proteínas de los seres humanos. Un esfuerzo importante en el programa de HPA fue utilizar por afinidad anticuerpos mono purificados específicos para inmunohistoquímica de un análisis del conjunto estandarizado de TMA que comprende 48 tejidos normales y 216 muestras de cáncer diferentes , que representan 20 tipos diferentes de cáncer. Se espera que esta rama de la proteómica se acelere el desarrollo de biomarcadores que puede ser utilizado para la detección precoz del cáncer y estrategias terapéuticas en situaciones clínicas. ⁽²⁴⁶⁾

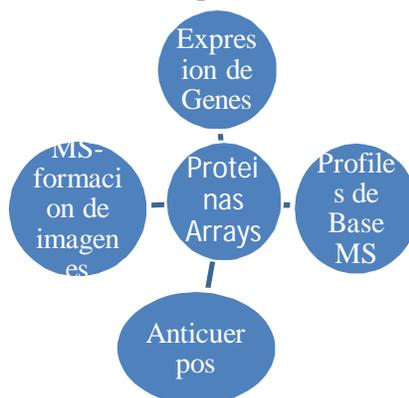


Figura 10: Esquemas para el descubrimiento de biomarcadores. (Vathany Kulasingam)

10.-DISCUSIÓN

En esta revisión bibliográfica ya se conoce de los biomarcadores para su detección en cáncer de glándula mamaria y prostática, se destaca la importancia que tiene un biomarcador en el área clínica para detectar en una estadia inicial antes de convertirse en una metástasis tumoral. Para ello se debe contar con pruebas de laboratorio que sean específicas y sensibles al 100%. aun no se cuenta un biomarcador ideal ya que interviene mucho el costo, la cultura de la gente que no sabe lo que es un biomarcador, para eso un biomarcador tumoral ideal sería aquella molécula que se reproduce sola o el propio organismo las produce cuando hay una neoplasia cancerosa, cuya detección fuera posible en las fases iniciales de la enfermedad, aplicando para ello procedimientos poco complejos, nada traumáticos y de bajo costo.

Las pruebas de laboratorio en general y los biomarcadores tumorales en particular, se enmarcan como una ciencia de probabilidades y un arte para manejar la incertidumbre. Una buena prueba es aquella que ofrezca resultados positivos en enfermos y resultados negativos en sanos. Que sea válida, que sea reproducible, que sea segura, que sea sensible, que sea específica.

Con relación a la sensibilidad y a la especificidad, es importante aclarar que la una depende de la otra: cuando la sensibilidad aumenta, la especificidad disminuye, y en forma inversa, cuando la especificidad aumenta, la sensibilidad disminuye, como se esquematiza en la **figura 11**.

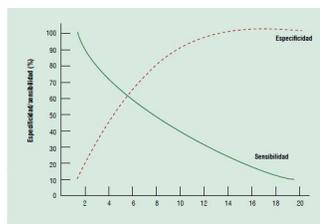


Fig 11: Relación de la sensibilidad con la especificidad (Maya Campuzano)

Como se ha expresado hasta el momento, ningún biomarcador tumoral de los disponibles en el laboratorio clínico, son aprobados para su uso clínico, donde alcanza el calificativo de “biomarcador tumoral ideal”, entendiéndose como tal, aquél que demuestre alta sensibilidad

y especificidad (idealmente de 100%), que haya una fuerte relación entre sus valores y la cantidad de tumor presente, y cuya determinación resulte fácil y económica.

Como se observa en la **figura 12**, un marcador tumoral ideal sería aquel con una sensibilidad de 100%, esto es que identifique todos los casos de cáncer (ausencia de resultados falsos negativos), y especificidad de 100%, esto es que en todos los casos en que se encuentre corresponda a la presencia de cáncer (ausencia de resultados falsos positivos).

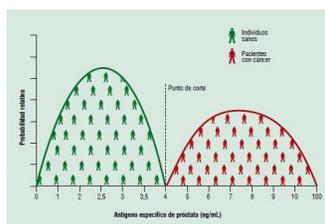


Fig 12: Marcador tumoral ideal (Maya Campuzano)

Varios autores de estos artículos comentaban que el uso de un biomarcador tendría que inhibirse en etapas tempranas y evitar su posterior migración o metástasis a otros sitios, generalmente al cerebro, pulmones o huesos. Se tiene que conocer este mecanismo a fondo con la historia clínica de los pacientes, que permita el desarrollo de fármacos más específicos de blanco molecular que detengan el crecimiento y metástasis de tumores. En estos artículos se planea profundizar en la relación entre inflamación, cáncer de mama y cáncer prostático para conocer los genes que dan lugar a las proteínas vinculadas con el proceso. Se quiere saber cuáles son los genes que después se traducirán en proteínas y se asociaran con la generación y progresión del cáncer.

Se utilizaron microarreglos genéticos, grupos de genes para realizar análisis simultáneos y combinaciones de genes y proteínas. Si se conocen estos genes se puede averiguar cuáles son específicos del cáncer de mama y cáncer prostático e intentar establecer una relación entre el tipo de tumor y las células inflamatorias, y de esta forma proponer herramientas terapéuticas que bloqueen el cáncer y su proliferación en etapas tempranas, que es la meta final. Estos autores tienen como objetivos evaluar la expresión de genes involucrados con procesos inflamatorios en muestras de tumores primarios de pacientes en diferentes estadios de la

enfermedad, así como la relación de la expresión de genes en el microambiente tumoral y en las células tumorales.

Se propone que esta realización de tesis fuera experimental ya que así podemos obtener que biomarcadores son eficaces en cáncer de glándula prostática como cáncer de glándula mamaria y así diferenciar una metástasis una de la otra.

Al saber el diagnóstico temprano, pronóstico y tratamiento se obtendrán mejores resultados a tiempo y así dar una terapia al paciente.

Estos estudios de secuenciación de genes en cáncer mamario y cáncer prostático identifican que mutaciones se tienen en los genes, antes de padecer la enfermedad y cuya expresión predice la capacidad metastásica de los tumores primarios.

11.- Conclusiones

- ✚ No hay ningún biomarcador único que sea útil para todos los tipos de cáncer, o para todos los pacientes con un tipo dado de cáncer.
- ✚ Se comprobó que los biomarcadores son detectados con más frecuencia en las etapas avanzadas del cáncer, cuando podrían ser más útiles en etapas iniciales.
- ✚ Los biomarcadores deberían de utilizarse dentro de protocolos y siguiendo las recomendaciones de las guías clínicas
- ✚ Las elevaciones de estos biomarcadores sobretodo si son menores, deben confirmarse en en sucesivas determinaciones
- ✚ Los biomarcadores tumorales tienen su indicación mayor en la monitorización del seguimiento.

12.- BIBLIOGRAFIA

1. - Bence-Jones H. (2000) On a new substance occurring in the urine of a patient with “mollities ossium”. *Philos Trans* 1848; 138:55-62.
- 2.-Beetham R. (2000) Detection of Bence-Jones protein in practice. *Ann Clin Biochem*; 37 (Pt 5):563-570.
- 3.-Graziani M, Merlini G. (2003). Guidelines for the analysis of Bence Jones protein. *Clin Chem Lab Med*; 41:338-346.
- 4.-. Brown WH. (1928) A case of pruriglandular syndrome: diabetes of bearded women *Lancet*: 1022-1023.
5. - Campuzano-Maya G (2010). Clinical utility of tumor markers. *Medicina & Laboratorio*; 16: 411-445. Module 1 (Clinic and laboratory), number 82. Editora Médica Colombiana.
6. – *Br Med J* (1943). Acid Phosphatase and Prostatic Cancer; 1:571-572.
7. - Diamandis EP. (2002) Tumor markers: Past, present, and future. In: *Tumor Markers: Physiology, Pathobiology, Technology, and Clinical Applications* edited by Diamandis EP. Washington, D. C.: AACCC Press, p. 3-8.
8. Gutman AB. (1938) An “Acid “Phosphatase Occurring in the Serum of Patients with Metastasizing Carcinoma of the Prostate Gland. *J Clin Invest* 1938; 17:473 478.
9. - Wang MC, Valenzuela LA, Murphy GP (1979). Purification of a human prostate specific antigen. *Invest Urol*; 17:159-163.
10. Abelev GI, Perova SD, Khramkova NI (1963). Production of embryonal alpha-globulin by transplantable mouse hepatomas. *Transplantation* 1963; 1:174 180.
11. Gold P, Freedman SO (1965). Demonstration of tumor specific antigens in human colonic carcinomaa by immunological tolerance and absorption techniques. *J Exp Med*; 121:439-462.
12. Berson SA, Yalow RS (1958). Isotopic tracers in the study of diabetes. *Adv Biol Med Phys*; 6:349- 430.
13. Köhler G, Milstein C (1975). Continous culture of fused cells secreting antiined antibody of predefined specificity. *Nature*; 256:495-497.

14. Huebner RJ, Todaro GJ (1969). Oncogenes of RNA tumor viruses as determinants of cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 64:1087-1094.
15. Yunis JJ (1981). Specific fine chromosomal defects in cancer: an overview. *Hum Pathol*; 12:503- 515.
- 16.- J. Trapé Pujol y R. Molina Porto (2006). Aspectos generales de los marcadores tumorales, Hospital Sant Joan de Déu de Manresa. Althaia Xarxa Assistencial de Manresa. Manresa. Barcelona. Unitat d'Oncobiologia. Laboratori de Bioquímica. Hospital Clínic. Barcelona. España.
- 17.-Akulapalli, S. (2009). History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods. *Journal of Cancer Science & Therapy*, Diciembre 1, 1(2): 1–4.
- 18.- Organización Mundial de la Salud (2011). *Cancer*. Fact sheets num. 297. Octubre 2011. Revisado el 9 de enero de 2012, de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/index.html>
- 19.- Organización Panamericana de la Salud (2011). *Health Situation in the Americas. Basic Indicators*. OPS. Revisado el 9 de enero de 2012, de: http://ais.paho.org/chi/brochures/2011/BI_2011_ENG.pdf
- 20.- Organización Mundial de la Salud (2012). *Cáncer de mama: prevención y control*. Revisado el 12 de enero del 2012, de: <http://www.who.int/topics/cancer/breastcancer/es/index3.htm>
- 21.- Instituto Nacional del Cáncer (2011c). *Lo que usted necesita saber sobre el cáncer de próstata*. Revisado el 12 de enero de 2012, de: <http://cancer.gov/espanol/tipos/necesita-saber/prostata>
22. - Brooks D. James (2012) “Translational genomics: The challenge of developing cancer biomarker” Department of Urology, Stanford University, California 94305, USA
23. - Chaffer CL, Weinberg RA (2011). A perspective on cancer cell metastasis. *Science* 331: 1559–1564
24. - Eisenberger MA, Nelson WG (1996). How much can we rely on the level of prostate-specific antigen as an end point for evaluation of clinical trials a word of caution *J Natl Cancer Inst* 88: 779–781

25. - Thompson IM, Pauler DK, Crawford (2004). Prevalence of prostate cancer among men with a prostate-specific antigen level \leq 4.0 ng per milliliter. *N Engl J Med* 350: 2239–2246
- 26.- Nuñez Santilleni Blanca, Ceballos Cervera Eduardo (2003) “Marcadores Tumorales” *Laborat-acta* Vol. 15 No 1
27. - Roulston JE, Leonard RCF (1993): *Serological Tumour Markers. An Introduction*. 1a Ed Churchill Livingstone. USA.
28. - Clausen J (1988): *Laboratory Techniques in Biochemistry and molecular biology*, 3a ed. Elsevier, New York.
29. - Dhingra K, Hortobagyi GN (1996). Critical evaluation of prognostic factors. *Semin Oncol*; 23: 436-45.
- 30.- Luque E, Muñoz de Toro de Luque M, Romero Acuña J (1993) Marcadores moleculares para predecir el pronóstico del cáncer de mama. *Medicina Buenos Aires*; 53: 151-60.
31. - Puglisi F, Di Loreto C, Beltrami C (1999) Prognostic-predictive factors and therapeutic choices in invasive carcinoma of the breast. *Ann Ital Chir*; 70: 335-41.
32. - Sjostrom J, Blomqvist C, Heikkila P (2000). Predictive value of p53, mdm-2, p21, and mib-1 for chemotherapy response in advanced breast cancer. *Clin Cancer Res*; 6: 3103-10.
33. - Cheung KL, Graves CR, Robertson JF (2000). Tumour marker measurements in the diagnosis and monitoring of breast cancer. *Cancer Treat Rev*; 26: 91-102.
34. - Stearns V, Yamauchi H, Hayes DF (2000) Circulating tumor markers in breast cancer: accepted utilities and novel prospects. *Breast Cancer Res Treat*; 52: 239-59.
35. - Agrawal B, Gendler S, Longenecker M (1998) The biological role of mucins in cellular interactions and immune regulation: prospects for cancer immunotherapy. *Mol Med Today*; 4: 397-403.
36. - Haidopoulos D, Konstadoulakis MM, Antonakis PT (2000). Circulating anti-CEA antibodies in the sera of patients with breast cancer. *Eur J Surg Oncol*; 26: 742-6.
37. - Fenoglio - Preiser C (2000) Selection of appropriate cellular and molecular biologic diagnostic tests in the evaluation of cancer. *Cancer*; 69: 1607-27.
38. - Allred D, Harvey J, Clark G (1998) Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol*; 11:155-68.

39. - Fitzgibbons PL, Page DL (2000). Prognostic factors in breast cancer. *Arch Pathol Lab Med*; 124: 966-78.
40. - Trojani M, de Mascarel I, Bonichon F (1987) Micrometastases to axillary lymph nodes from carcinoma of the breast. Detection by immunohistochemistry and prognostic significance. *Br J Cancer*; 55: 303-306.
41. - Heimann R, Hellman S (2000) Individual characterisation of the metastatic capacity of human breast carcinoma. *Eur J Cancer*; 36: 1631-9.
42. - Dupont EL, Kuhn MA, Spanton JL (2000). The role of sentinel lymph node biopsy in women undergoing prophylactic mastectomy. *Am J Surg* 2000; 180: 274-7
43. - Borgstein PJ, Meijer S, van Diest PJ (2000). Functional lymphatic anatomy for sentinel node biopsy in breast cancer: echoes from the past and the periareolar blue method. *Ann Surg*; 232: 81-9.
44. - Bloom HJG (2000). Histologic grading and prognosis in breast cancer: A study of 1709 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer*; 2: 353-77.
45. - Helpap B (1989) Nucleolar grading of breast cancer. *Virchows Archiv A Pathol Anat*; 415: 501-8.
46. - Elis IO, Elston CW, Blamey RW (1991) The Nottingham prognosis index (NPI) a combination of multiple prognostic factors derived from the Nottingham Tenovus primary cancer study. *Mod Pathol*; 4: 11.
47. - Fisher ER, Fisher B (1997) Lobular carcinoma of the breast: an overview. *Ann Surg*; 185: 377-85.
48. - Zhu K, Bernard LJ, Williams SM (2000). Estrogen receptor status of breast cancer: a marker of different stages of tumor or different entities of the disease? *Med Hypotheses*; 49: 69-75.
- 49.- Chen X, Danes C, Keyomarsi K (2000) Activation of the Estrogen-Signaling Pathway by p21 (WAF1/CIP1) in Estrogen Receptor-negative breast cancer cells. *J Natl Cancer Inst*; 92: 1403-13.
50. - Osborne CK (1998). Steroid hormone receptors in breast cancer management. *Breast Cancer Res Treat*; 51: 227-38.

51. - Nass S, Davidson N (1999). The biology of breast cancer. *Hematology/Oncology Clinics NA*; 13: 311-27.
52. - Helal T, Nassiri M, Khalifa A (1997). Immunohistochemical markers of tumor prognosis in breast cancer in Egypt. *Cancer Detect Prev*; 21: 201-6.
53. - Sharma BK, Ray A, Gupta S (1999). Immunohistochemical co-expression of c-erbB 2/Neu oncoprotein, altered tumour suppressor (p53) protein, EGF-R and EMA in histological subtypes of infiltrating duct carcinoma of the breast. *Indian J Exp Biol* 1999; 37: 223-7.
54. - Cirisano FD, Karlan BY (1996) The role of the HER-2/neu oncogene in gynecologic cancers. *J Soc Gynecol Investig*; 3: 99-105.
55. - Pegram MD, Pauletti G. Slamon DJ (1998). HER-2/neu as a predictive marker of response to breast cancer therapy. *Breast Cancer Res Treat*; 52: 65-77.
56. - Sahin AA (2000). Biologic and clinical significance of HER-2/neu (cerbB-2) in breast cancer. *Adv Anat Pathol*; 7: 158-66.
57. - Ross JS, Feltcher JA (1998). The HER-2/neu oncogen in breast cancer: prognostic factor, predictive factor and target for therapy. *Stem cells*; 16: 413-28.
58. - Porter-Jordan K, Lippman M (1999) Overview of the biologic markers of breast cancer. *Hematology/Oncology Clinics NA*; 8: 73-100.
59. - Gentile M, Bergman Jungstrom, Wingren S (1999). P53 and survival in early onset breast cancer: analysis of gene mutations, loss of heterozygosity and protein accumulation. *Eur J Cancer*; 35 (8): 1202-7.
60. - Wu J (1996) Apoptosis and angiogenesis: two promising tumor markers in breast cancer (review). *Anticancer Res*; 16: 2233-9.
61. - Weidner (1995). Tumor microvessel density as a prognostic factor in cancer. *Am J Pathol*; 147: 9-19
62. - Cruz D, Valenti C, Schmitt F (2001). Microvessel density counting in breast cancer. Slides vs. digital images. *Anal Quant Cytol Histol*; 23: 15-20.
63. - Byrne G, Bundred NJ (2000) Surrogate markers of tumoral angiogenesis. *Int J Biol Markers*; 15: 334-9.
64. - Gasparini G (2000) Prognostic value of vascular endothelial growth factor in breast cancer. *Oncologist*; 5 (Suppl 1): 37-44.

65. - Callagy G, Dimitriadis E, Kay E (2000). Immunohistochemical measurement of tumor vascular endothelial growth factor in breast cancer. A more reliable predictor of tumor stage than microvessel density or serum vascular endothelial growth factor. *Appl Immunohistochem Molecul Morphol*; 8: 104-9.
66. - Betchel P, Hickey R, Schnaper L (1998). A unique form of proliferating cell nuclear antigen is present in malignant breast cells. *Cancer Res* 1998; 58: 3264-9.
67. - Sekowski J, Malkas L, Hickey R (1998). Human breast cancer cells contain an error-prone DNA replication apparatus. *Cancer Res*; 58: 3259-63.
68. - Adams J, Carder PJ, Downey S (2000). Vascular endothelial growth factor (VEGF) in breast cancer: comparison of plasma, serum and tissue VEGF and microvessel density and effects of tamoxifen. *Cancer Res*; 60: 2898-905.
- 69.- Gonzalez Campora R, Galera Ruiz M, Vazquez Ramirez F (2000). Apoptosis in breast carcinoma. *Pathol Res Pract*; 196: 167-74.
70. - Joensuu H, Pylkkanen L, Toikkanen S (1994). Bcl-2 protein expression and long-term survival in breast cancer. *Am J Pathol*; 145: 1191-7.
71. - Nakopoulou L, Lazaris A, Tzonou A (1998) Prognostic evaluation of oestrogen-regulated protein immunoreactivity in ductal invasive (NOS) breast cancer. *Virchows Arch*; 427: 33-40.
72. - Fulco RA, Petix M, Torre EA (1998). Prognostic significance of the estrogen-regulated proteins, cathepsin- D and pS2 in breast cancer. *Minerva Med*; 89: 5-10.
73. - Lumachi F, Brandes AA, Boccagni P (1998). Sensitivity of serum tumor markers CEA and CA 15-3 in breast cancer recurrences and correlation with different prognostic factors. *Anticancer Res*; 20: 4751-5.
- 74.- Segal-Eiras A, Croce MV (1997). Breast cancer associated mucin: a review. *Allergol Immunopathol (Madr)*; 25: 176-81.
75. - Agrawal B, Krantz M, Longenecker B (1998). Cancer-associated MUC1 mucin inhibits human T-cell proliferation, which is reversible by IL-2. *Nat Med*; 4: 43-9.
76. - van Dalen A (1995). Analytical requirements and standardization of CA 15-3. *Scand J Clin Lab Invest*; 221 (Suppl): 102-4.

77. - Deng Ch, Brodie S (2000). Roles of BCRA1 and its interacting proteins. *Bioessays*; 22: 728-32.
78. - Yoshikawa K, Ogawa T, Baer R, et al (2000). Abnormal expression of BCRA1 and BCRA2- interactive DNA- repair proteins in breast carcinomas. *Int J Cancer*; 88: 28-36.
79. - Lee W, JinY, Lin Y (2000). Immunolocalization of BCRA1 protein in normal breast tissue and sporadic invasive ductal carcinomas: a correlation with other biological parameters. *Histopathology*; 34: 106-112.
80. - Malone K, Daling J, Ostrander EA (1999). BRCA1 mutations and breast cancer in the general population. *JAMA*; 279: 922-9.
81. - Barbareschi M (1999). P27 expression, a cyclin dependent kinase inhibitor in breast carcinoma. *Adv Clin Path*; 3: 119-27.
82. - Auvinen PK, Lipponen PK, Syrjanen KJ (1999). Prognostic significance of TGF α expression in breast cancer. *Acta Oncológica*; 35: 995-8.
83. - Duffy MJ (1996). Proteases as prognostic markers in cancer. *Clin Cancer Res*; 2: 6138.
84. - Masciullo V, Khalili K, Giordano A (2000). The Rb family of cell cycle regulatory factors: Clinical implications (Review). *Int J Oncol*; 17: 897-902.
85. - Zhang S, Liu S, Al-Salsem L et al (2000) E2F-1: a proliferative marker of breast neoplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 9: 395-401
- 86.- Thor A, Benz C, Moore D, et al (1998) Stress response protein (srp-27) determination in primary human breast carcinomas: clinical, histologic and prognostic correlations. *J Natl Cancer Inst*; 83: 170-8.
87. - Schneider J, Jimenez E, Meden H (1998). Co-expression of the MDR1 Gene and Hsp27 in human ovarian cancer. *Anticancer Res*; 18: 2967-71.
88. - Ciocca D, Oeterreich S, Fuqua S (1993). Biological and clinical implications of heat shock protein 27000 (Hsp27): a review. *J Natl Cancer Inst*; 85: 1558-70.
89. - Kindas-Mugge I, Micksche M, Trautinger F (1998). Modification of growth in small heat shock (hsp 27) gene transfected breast carcinoma. *Anticancer Res*; 18:413-7.
- 90.- Coronato S, Di Girolamo W, Laguens G (1999). Biología de las proteínas del shock térmico. *Medicina Buenos Aires*; 59: 477-86.

91. - Laguens GE, Coronato S, Di Girolamo W (2001). Can breast cancer Hsp27 (Heat Shock Protein 27000) expression influence axillary lymph node status? *The Breast*, 10: 179-81.
92. - Liu D, Baltayan A, Naritoku W (2001). LEA, 135 expression: its comparison with other prognostic biomarkers for patients with primary breast carcinoma. *Anticancer Res*; 20: 1451-61.
93. - Imam S, Chaiwun B, Wang M (1996). A sialoglycoprotein (LEA.135) associated with favourable prognosis of patients with lymph node-negative primary breast carcinoma. *Anticancer Res*; 16: 3043-8.
94. - Jarvinen T, Kononen J, Isola J (1996). Expression of topoisomerase II alpha is associated with rapid cell proliferation, aneuploidy, and c-erbB2 overexpression in breast cancer. *Am J Pathol*; 148: 2073-82.
- 95.- Depowski P, Rosenthal S, Ross J (2000). Topoisomerase II alpha expression in breast cancer: correlation with outcome variables. *Mod Pathol*; 13: 542-7.
96. - Lynch B, Guinee D, Holden JA (1997). Human DNA topoisomerase II- alpha: a new marker of cell proliferation in invasive breast cancer. *Hum Pathol*; 28: 1180-8.
97. - Kamarainen M, Halttunen M, Koistinen R (1999). Expression of glycodefin in human breast and breast cancer. *Int J Cancer*; 83: 738- 42.
- 98.- X. Filella y R. Molina (2006) "Utilidad clínica de los marcadores tumorales en el cáncer de próstata" *Servicio de Bioquímica Clínica (CBD). Hospital Clínic. Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer. Barcelona. España.*
- 99.- Sandra S. Arango (2011). Biomarcadores para la evaluación de riesgo en la salud humana; *Rev. Fac. Nac. Salud Pública*; 30(1): 75-82
- 100.- Ilizaliturri C, González D, Torres A (2009). Revisión de las metodologías sobre evaluación de riesgos en salud para el estudio de comunidades vulnerables en América Latina. *Interciencia*; 34(10): 710-717
101. - Lock EA, Bonventre JV (2008). Biomarkers in translation; past, present and future. *Toxicology*; 245(3): 163-166.
102. - Llynin A, Belkowski S, Plata C (2004). Biomarker's discovery and validation: technologies and integrative approaches. *Trends in Biotechnology*; 8(4): 411-416

103. - Mayeux R (2004). Biomarkers: potential uses and limitations. *The journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*; 2(1): 182-188
104. - Schulte PA (2007). The contributions of genetic and genomic to occupational safety and health. *Occup. Environ. Med*; 64(1): 717-718
105. - Poste G (2011).Bring on the biomarkers. *Nature*; 469(1): 156-157
106. - Albertini RJ (1999). Biomarker responses in human populations: towards a world wide map. *Mutat. Res*; 428(1-2): 217-226.
107. - Vainio H (2001). Review: Use of biomarkers in risk assessment. *Int J Hyg Environ Health*; 204(2-3): 91-102.
108. - Van den Brand P, Voorrips L, Speijers G (2002). The contribution of epidemiology. *Food Chem. Toxicol*; 40(1): 387-424.
109. - Schulte PA, Hauser JE. (2011). The use of biomarkers in occupational health research, practice, and policy. *Toxicology Letters Mar*.
110. - Atkinson AJ, Downing GJ, Hoth DF (2000). Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin. Pharmacol. Therap*; 69(1): 89-95.
111. - Owen R, Depledge M, Galloway T (2008).Biomarkers and environmental risk assessment: guiding principles from the human health field. *Marine Pollution Bulletin*; 56(1): 613-619.
112. - Tambor V, Fucíková A, Stulík J (2010). Application of proteomics in biomarker discovery: a primer for the clinician. *Physiol Res*; 59(4): 471-497.
113. - Department of Health and Human Services, U.S. Food and Drug Administration. *The Critical Path Initiative: Transforming the Way FDA-Regulated Products are Developed, Evaluated, Manufactured, and Used 2009*. Washington DC: FDA; 2009.
114. - Goodsaid FM, Frueh FW (2007). Questions and answers about the pilot process for biomarkers qualification at the FDA. *Drug Discovery Today: Technologies*; 4(1): 9-11.
115. - Nilsson S, Strang P, Pecking A (2012). A randomized, dose-response, multicenter phase II study of radium-223 chloride for the palliation of painful bone metastases in patients with castration-resistant prostate cancer. *Eur J Cancer*; 48: 678 – 86.
116. - Shelley MD, Mason MD (2007). Radium-223 for men with hormone-refractory prostate cancer and bone metastases. *Lancet Oncol*; 8: 564– 5.

- 117.- TSM, Millikan RE, Pagliaro LC (2007). Bone-targeted therapy for advanced androgen-independent carcinoma of the prostate: a randomised phase II trial. *Lancet*; 357: 336 – 41.
118. - Andriole GL, Bostwick DG, Montorsi F (2010). Effect of dutasteride on the risk of prostate cancer. *N Engl J Med*; 362: 1192 – 202.
119. - Fleshner NE, Lucia MS, Nandy I (2012). Dutasteride in localised prostate cancer management: the REDEEM randomised, double-blind, placebo controlled trial. *Lancet*; 379: 1103 – 11.
120. - Roehrborn CG, Andriole GL, Rittmaster RS (2011). Effect of dutasteride on prostate biopsy rates and the diagnosis of prostate cancer in men with lower urinary tract symptoms and enlarged prostates in the Combination of Avodart and Tamsulosin trial. *Eur Urol*; 59: 244 – 9.
121. - Lin TM, Chang C (1997). Cloning and characterization of TDD5, an androgen target gene that is differentially repressed by testosterone and dihydrotestosterone. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 94: 4988 – 93.
122. - Dadras SS, Cai X, Wang Z (2001). Inhibition of 5alpha-reductase in rat prostate reveals differential regulation of androgen-response gene expression by testosterone and dihydrotestosterone. *Gene Expr*; 9: 183 – 94.
123. - Li J, Ding Z, Navone NM (2011). Androgen regulation of 5alpha-reductase isoenzymes in prostate cancer: implications for prostate cancer prevention. *PLoS ONE*; 6: e28840.
124. - Mitsiades N, Sung CC, Eedunuri VK (2012). Distinct patterns of dysregulated expression of enzymes involved in androgen synthesis and metabolism in metastatic prostate cancer tumors. *Cancer Res*; 72: 6142 – 52.
125. Mostaghel EA, Geng L, Lucas J (2010). Variability in the androgen response of prostate epithelium to 5alpha-reductase inhibition: implications for prostate cancer chemoprevention. *Cancer Res*; 70: 1286 – 95.
126. - Kim J, Amos CI, Logothetis C (2011). 5alpha-Reductase inhibitors for prostate cancer prevention. *N Engl J Med*; 365: 2340.
127. - Shen MM, Abate-Shen C (2010). Molecular genetics of prostate cancer: new prospects for old challenges. *Genes Dev*; 24: 1967 – 2000.

128. - Gallick GE, Corn PG, Lin SH (2007). Small-molecule protein tyrosine kinase inhibitors for the treatment of metastatic prostate cancer. *Future Med Chem*; 4: 107– 19.
129. - Deocampo ND, Huang H, Tindall DJ (2003). The role of PTEN in the progression and survival of prostate cancer. *Minerva Endocrinol*; 28: 145 – 53.
130. - Zhu ML, Kyprianou N (2010). Role of androgens and the androgen receptor in epithelial-mesenchymal transition and invasion of prostate cancer cells. *FASEB J*; 24: 769 – 77.
131. - Jennbacken K, Tesan T, Welen K (2010). N cadherin increases after androgen deprivation and is associated with metastasis in prostate cancer. *Endocr Relat Cancer*; 17: 469 – 79.
132. - Lee YC, Cheng CJ, Navone NM (2010). Androgen depletion up-regulates cadherin-11 expression in prostate cancer. *J Pathol*; 221
- 133- Scher HI, Fizazi K, Miller K (2012). Increased survival with enzalutamide in prostate cancer after chemotherapy. *N Engl J Med*; 367: 1187 – 97.
134. - Zhao XY, Malloy PJ, Peehl DM (2010). Glucocorticoids can promote androgen-independent growth of prostate cancer cells through a mutated androgen receptor. *Nat Med*; 6: 703 – 6.
135. - Andersen RJ, Mawji NR, Myung JK (2010). Regression of castrate-recurrent prostate cancer by a small-molecule inhibitor of the amino-terminus domain of the androgen receptor. *Cancer Cell*; 17: 535 – 46.
136. - Hu R, Dunn TA, Wei S, Humphreys E (2009). Ligand independent androgen receptor variants derived from splicing of cryptic exons signify hormone-refractory prostate cancer. *Cancer Res*; 69: 16 – 22.
137. - Hu R, Lu C, Mostaghel EA, Tannahill C (2012). Distinct transcriptional programs mediated by the liganddependent full-length androgen receptor and its splice variants in castration-resistant prostate cancer. *Cancer Res*; 72: 3457 – 62.
138. - Sun S, Sprenger CC, Mostaghel EA (2010). Castration resistance in human prostate cancer is conferred by a frequently occurring androgen receptor splice variant. *J Clin Invest*; 120: 2715 – 30.

139. - Cai C, He HH, Fang Z (2011). Androgen receptor gene expression in prostate cancer is directly suppressed by the androgen receptor through recruitment of lysine-specific demethylase 1. *Cancer Cell*; 20: 457 – 71.
140. - Smith DC, Smith MR, Logothetis C (2013). Cabozantinib in patients with advanced prostate cancer: results of a phase II randomized discontinuation trial . *J Clin Oncol*; 31: 412 – 9.
141. - Cai H, Babic I, Wei X (2011). Invasive prostate carcinoma driven by c Src and androgen receptor synergy. *Cancer Res*; 71: 862 – 72.
142. - Gleave M , Hsieh JT , Chung LW (1991) . Acceleration of human prostate cancer growth in vivo by factors produced by prostate and bone fibroblasts. *Cancer Res*; 51: 3753 – 61.
143. - Wu TT, Sikes RA, Murphy CF (1998). Establishing human prostate cancer cell xenografts in bone: induction of osteoblastic reaction by prostate-specific antigen-producing tumors in athymic and SCID/bg mice using LNCaP and lineage-derived metastatic sublines. *Int J Cancer*; 77: 887 – 94.
144. - Thalmann GN, Sikes RA, Ozen M (2000). LNCaP progression model of human prostate cancer: androgen independence and osseous metastasis. *Prostate*; 44: 91 – 103.
145. - Oreffo RO, Mundy GR, Bonewald LF (1989). Activation of the bone-derived latent TGF beta complex by isolated osteoclasts. *Biochem Biophys Res Commun*; 158: 817 – 23.
146. - Abrahamsson PA (1999). Neuroendocrine differentiation in prostatic carcinoma . *Prostate*; 39: 135 – 48.
147. - Clegg N, Quinn JE (2003). Molecular characterization of prostatic small-cell neuroendocrine carcinoma. *Prostate*; 55: 55 – 64.
- 148.- Tetu B, Ro JY, Ordonez NG (1987). Small cell carcinoma of the prostate. Part I. A clinicopathologic study of 20 cases. *Cancer*; 59: 1803 – 9.
149. - Humphrey PA (2012). Histological variants of prostatic carcinoma and their significance. *Histopathology*; 60: 59 – 74.

150. - Aparicio A, Tzelepi V, Troncoso P (2011). Neuroendocrine prostate cancer xenografts with large-cell and small-cell features derived from a single patient's tumor: morphological, immunohistochemical, and gene expression profiles. *Prostate*; 71: 846 – 56.
151. - Aparicio A, Logothetis CJ, Maity SN (2011). Understanding the lethal variant of prostate cancer: power of examining extremes. *Cancer Discov*; 1: 466 – 8.
152. - Beltran H, Rickman DS, MacDonald TY (2011). Molecular characterization of neuroendocrine prostate cancer and identification of new drug targets. *Cancer Discov*; 1: 487 – 95.
153. - Deeraksa A, Pan J, Lin SH (2012). Plk1 is upregulated in androgen-insensitive prostate cancer cells and its inhibition leads to necroptosis. *Oncogene*.
154. - Otto T, Horn S, Popov N (2009). Stabilization of N-Myc is a critical function of Aurora A in human neuroblastoma. *Cancer Cell*; 15: 67 – 78.
155. - Lens SM, Voest EE, Medema RH (2010). Shared and separate functions of polo-like kinases and aurora kinases in cancer. *Nat Rev Cancer*; 10: 825 – 41.
156. - Weichert W, Schmidt M, Jung K (2004). Polo-like kinase 1 is overexpressed in prostate cancer and linked to higher tumor grades. *Prostate*; 60: 240 – 5.
157. - Reagan-Shaw S, Ahmad N (2005). Polo-like kinase (Plk) 1 as a target for prostate cancer management. *IUBMB Life*; 57: 677 – 82.
158. - Luo J, Liu X (2012). Polo-like kinase 1, on the rise from cell cycle regulation to prostate cancer development. *Protein Cell*; 3: 182 – 97.
159. - Schoffski P, Awada A, Wolter P (2012). A phase I, dose-escalation study of the novel Polo-like kinase inhibitor volasertib (BI 6727) in patients with advanced solid tumours. *Eur J Cancer*; 48: 179– 86.
160. - Beltran H, Rubin MA (2013). New strategies in prostate cancer: translating genomics into the clinic. *Clin Cancer Res*; 19: 517 – 23.
161. - Sowalsky AG, Ye H, Balk SP (2013). Clonal progression of prostate cancers from Gleason grade 3 to grade 4. *Cancer Res*; 73: 1050 – 5
162. - Logothetis J, Christophert, Gallick E. Gary. (2013) “Molecular Classification of Prostate Cancer Progression: Foundation for Marker-Driven Treatment of Prostate Cancer, *Cancer Discovery*; American Association for Cancer Research

163. - Velculescu VE (2008). Defining the blueprint of the cancer genome. *Carcinogenesis*.
164. - Wheeler DA, Srinivasan M, McGuire (2008). The complete genome of an individual by massively parallel DNA sequencing. *Nature*; 452(7189):872-876.
165. - Mardis ER (2008). The impact of next-generation sequencing technology on genetics. *Trends Genet*; 24(3):133-141.
- 166.- Perou CM, Sørli T, Jeffrey SS (2000). Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*; 406(6797):747-752.
167. - Lonning PE, Sorlie T, Botstein D (2001). Microarrays in primary breast cancer--lessons from chemotherapy studies. *Endocr Relat Cancer*; 8(3):259-263.
168. - Sørli T, Perou CM, Johnsen H (2001). Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA*; 98(19):10869-10874.
- 169.- van 't Veer LJ, Dai H, Mao M (2001). Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature*; 415(6871):530-536.
170. - van de Vijver MJ, He YD, Voskuil DW (2002). A gene expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med*; 347(25)
- 171.-Rouzier R, Perou CM, Anderson K (2005). Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res*; 11(16):5678-5685.
172. - Weigelt B, Glas AM, Van't Veer LJ (2003). Gene expression profiles of primary breast tumors maintained in distant metastases. *Proc Natl Acad Sci USA*; 100(26):15901-15905.
173. - Weigelt B, Hu Z, Ewend MG (2005). Molecular portraits and 70-gene prognosis signature are preserved throughout the metastatic process of breast cancer. *Cancer Res*; 65(20):9155-9158.
174. - Sorlie T, Tibshirani R, Parker J (2005). Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA* 100 (14):8418-8423.
175. - Chang HY, Nuyten DS, Sorlie T (2005). Robustness, scalability, and integration of a wound-response gene expression signature in predicting breast cancer survival. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 102(10):3738-3743.

176. - Chang HY, Sneddon JB, Montgomery K (2005). Gene expression signature of fibroblast serum response predicts human cancer progression: similarities between tumors and wounds. *PLoS Biol*; 2(2):E7.
177. - Paik S, Shak S, Cronin M (2004). A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N Engl J Med*; 351(27):2817-2826.
178. - Paik S, Tang G, Kim W (2006). Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol*; 24(23):3726-3734.
179. - Ross JS, Hatzis C, Hortobagyi GN (2008). Commercialized multigene predictors of clinical outcome for breast cancer. *Oncologist*; 13(5):477-493.
180. - Chin SF, Teschendorff AE, Thorne N (2007). High-resolution aCGH and expression profiling identifies a novel genomic subtype of ER negative breast cancer. *Genome Biol*; 8(10):R215.
181. - Cleator S, Heller W, Coombes RC (2007). Triple negative breast cancer: therapeutic options. *Lancet Oncol*; 8(3):235-244.
182. - Abd El-Rehim DM, Ball G, Robertson JF (2005). High-throughput protein expression analysis using tissue microarray technology of a large well-characterised series identifies biologically distinct classes of breast cancer confirming recent cDNA expression analyses. *Int J Cancer*; 116(3):340-350.
183. - Haverty PM, Fridlyand J, Lohr S (2005). High resolution genomic and expression analyses of copy number alterations in breast tumors. *Gen Chrom Can*; 47(6):530-542.
184. - Iorio MV, Ferracin M, Sabbioni S (2005). MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Res*; 65(16):7065-7070.
185. - Scott GK, Goga A, Benz CC (2007). Coordinate suppression of ERBB2 and ERBB3 by enforced expression of micro-RNA miR-125a or miR-125b. *J Biol Chem*; 282(2):1479-1486.
186. - Adams BD, Furneaux H (2007). The micro ribonucleic acid (miRNA) miR-206 targets the human estrogen receptor-alpha (ERalpha) and represses ERalpha messenger RNA and protein expression in breast cancer cell lines. *Mol Endocrinol*; 21(5):1132-1147.

187. - Zhu S, Mo YY (2007). MicroRNA-21 targets the tumor suppressor gene tropomyosin 1 (TPM1). *J Biol Chem*; 282(19): 4328-4336.
188. - Hurteau GJ, Carlson JA, Brock GJ (2007). Overexpression of the microRNA hsa-miR-200c leads to reduced expression of transcription factor 8 and increased expression of E-cadherin. *Cancer Res*; 67(17):7972-7976.
189. Ma L, Teruya Feldstein J, Weinberg RA (2007). Tumour invasion and metastasis initiated by microRNA-10b in breast cancer. *Nature*; 449(7163): 682-688.
190. Blenkiron C, Goldstein LD, Dunning MJ (2007). MicroRNA expression profiling of human breast cancer identifies new markers of tumor subtype. *Genome Bio*; 8(10):R214.
191. Tavazoie SF, Alarcon C, Bos PD (2007). Endogenous human microRNAs that suppress breast cancer metastasis. *Nature* 2008; 451(7175):147-152.
192. Hall JM, Lee MK, Huey B (1990). Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. *Science* 1990; 250(4988):1684-1689.
193. Prevalence and penetrance of BRCA1 and BRCA2 mutations in a population-based series of breast cancer cases. Anglian Breast Cancer Study Group. *Br J Cancer* 2000; 83(10):1301-1308.
194. Birch JM, Alston RD, Harris M (2001). Relative frequency and morphology of cancers in carriers of germline TP53 mutations. *Oncogene*; 20(34):4621-4628.
195. Lalloo F, Varley, Pharoah P (2006). BRCA1, BRCA2 and TP53 mutations in very early-onset breast cancer with associated risks to relatives. *Eur J Cancer*; 42(8):1143-1150.
196. Bignell GR, Barfoot R, Stratton MR (1998). Low frequency of somatic mutations in the LKB1/Peutz-Jeghers syndrome gene in sporadic breast cancer. *Cancer Res*; 58(7):1384-1386.
197. Nelen MR, Padberg GW, van den Helm B (1998). Localization of the gene for Cowden disease to chromosome 10q22-23. *Nat Genet* 1996; 13(1):114-116.
198. Hemminki A, Markie D, Loukola A (1998). A serine/threonine kinase gene defective in Peutz-Jeghers syndrome. *Nature*; 391(6663):184-187.
199. Guilford P, Hopkins J, Harawira P (1998). E-cadherin germline mutations in familial gastric cancer. *Nature*; 392(6674):402-405.

200. Meijers-Heijboer H, van den Ouweland A, de Snoo A (2002). Low-penetrance susceptibility to breast cancer due to CHEK2 (*) 1100delC in noncarriers of BRCA1 or BRCA2 mutations. *Nat Genet*; 31(1):55-59.
201. Rahman N, Seal S, Elliott A (2007). PALB2, which encodes a BRCA2-interacting protein, is a breast cancer susceptibility gene. *Nat Genet*; 39(2):165-167.
202. Renwick A, Thompson D, Ahmed M (2006). ATM mutations that cause ataxia-telangiectasia are breast cancer susceptibility alleles. *Nat Genet*; 38(8):873-875.
203. Seal S, Thompson D, Barfoot R (2006). Truncating mutations in the Fanconi anemia J gene BRIP1 are low-penetrance breast cancer susceptibility alleles. *Nat Genet*; 38(11):1239-1241.
204. Cox A, Dunning AM, Pooley KA (2007). A common coding variant in CASP8 is associated with breast cancer risk. *Nat Genet*; 39(3):352-358.
205. Turnbull C, Rahman N (2008). Genetic predisposition to breast cancer: past, present, and future. *Annu Rev Genomics Hum Genet*; 9:321-345.
206. Daly AK (2003). Candidate gene case-control studies. *Pharmacogenomics*; 4(2):127-139.
207. Pharoah PD, Dunning AM, Ponder BA (2004). Association studies for finding cancer-susceptibility genetic variants. *Nat Rev Cancer*; 4(11):850-860.
208. Risch N, Merikangas K (1996). The future of genetic studies of complex human diseases. *Science*; 273(5281):1516-1517.
209. Manolio TA, Brooks LD, Collins FS (1998). A HapMap harvest of insights into the genetics of common disease. *J Clin Invest*; 118(5):1590-1605.
210. Stacey SN, Manolescu A, Gudjonsson SA (2007). Common variants on chromosomes 2q35 and 16q12 confer susceptibility to estrogen receptor-positive breast cancer. *Nat Genet*; 39(7):865-869.
211. Easton DF, Pooley KA, Ballinger DG (2007). Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. *Nature*; 447(7148):1087-1093.
212. Smid M, Wang Y, Klijn, Atkins D (2006). Genes associated with breast cancer metastatic to bone. *J Clin Oncol*; 24(15):2261-2267.

213. Gudmundsson J, Sulem P, Helgason A (2007). Genome-wide association study identifies a second prostate cancer susceptibility variant at 8q24. *Nat Genet*; 39(5): 631-637.
214. Tomlinson I, Webb E, Spain S (2007). A genome-wide association scan of tag SNPs identifies a susceptibility variant for colorectal cancer at 8q24.21. *Nat Genet*; 39(8):984-988.
215. Kiemeny LA, Thorlacius S, Stacey SN (2008). Sequence variant on 8q24 confers susceptibility to urinary bladder cancer. *Nat Genet*; 40(11):1307-1312.
- 216.- Nordgard SH, Johansen FE, Kristensen VN (2007). Genes harbouring susceptibility SNPs are differentially expressed in the breast cancer subtypes. *Breast Cancer Res*; 9(6):113.
- 217.-Garcia-Closas M, Hall P, Richesson DA (2008). Heterogeneity of breast cancer associations with five susceptibility loci by clinical and pathological characteristics. *PLoS Genet*; 4(4):e1000054.
218. - Lin CY, Vega VB, Xie M (2007). Whole- genome cartography of estrogen receptor alpha binding sites. *PLoS Genet*; 3(6):e87.
219. - Wood LD, Parsons DW, Leary RJ (2007). The genomic landscapes of human breast and colorectal cancers. *Science*; 318(5853):1108-1113.
220. - Pharoah PD, Antoniou AC, Ponder BA (2008). Polygenes, risk prediction, and targeted prevention of breast cancer. *N Engl J Med*; 358(26):2796-2803.
221. - Hidalgo-Miranda A, Jiménez-Sánchez G (2009). Bases genómicas del cáncer de mama: avances hacia la medicina personalizada. *Salud Pública Mex*; 51 supl 2:S197-S207.
222. - O'Toole D, Grossman A, Gross D (2009). Mallorca Consensus Conference participants; European Neuroendocrine Tumor Society. ENETS Consensus Guidelines for the Standards of Care in Neuroendocrine Tumors: biochemical markers. *Neuroendocrinology*; 90(2):194–202.
223. - Adachi T, Nakanishi M, Otsuka Y (2010). Plasma microRNA 499 as a biomarker of acute myocardial infarction. *Clin Chem*. 2010; 56(7):1183–1185.
224. - Zhang Y, Jia Y, Fei M (2010). Plasma microRNA-122 as a biomarker for viral-, alcohol-, and chemical-related hepatic diseases. *Clin Chem*; 56:1830– 1838.
225. - Redova M, Poprach A, Nekvindova J, et al (2012). Circulating miR-378 and miR-451 in serum are potential biomarkers for renal cell carcinoma. *J Transl Med*; 10(1):55.

226. - van Schooneveld E, Wouters MC, Van der Auwera I, et al (2012). Expression profiling of cancerous and normal breast tissues identifies microRNAs that are differentially expressed in serum from patients with (metastatic) breast cancer and healthy volunteers. *Breast Cancer Res*; 14(1):R34.
227. - Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al (2008). Circulating microRNAs as stable blood based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 10513–10518.
228. - Selth LA, Tilley WD, Butler LM (2012). Circulating microRNAs: macro-utility as markers of prostate cancer? *Endocr Relat Cancer*; 19(4):R99–R113.
229. - Zhang L, Hou D, Chen X, et al (2012). Exogenous plant MIR168a specifically targets mammalian LDLRAP1: evidence of cross-kingdom regulation by microRNA. *Cell Res*; 22(1):107–126.
230. - Zampetaki A, Willeit P, Mayr M (2012). Profiling of circulating microRNAs: from single biomarkers to re-wired networks. *Cardiovasc Res*; 93:555–562.
- 231.- Péter M. Szabó,* Henriett Butz,*Minireview (2013): MIRomics in EndocrinologyA Novel Approach for Modeling Endocrine Diseases Molecular Medicine Research Group (P.M.S., H.B., A.P.) and Laboratory of Molecular Physiology (L.H.), Hungarian Academy
232. - Ludwig JA, Weinstein JN (2005). Biomarkers in cancer staging, prognosis and treatment selection. *Nat Rev Cancer*; 5:845–56.
233. - Legrain P, Aebersold R, Archakov A, et al (2011). The human proteome project: current state and future direction. *Mol Cell Proteomics*; 10:M111.009993.
234. - Lamond AI, Uhlen M, Horning S, et al (2012). Advancing cell biology through proteomics in space and time (PROSPECTS). *Mol Cell Proteomics*; 11:O112 017731.
235. - Govorun VM, Archakov AI (2002). Proteomic technologies in modern biomedical science. *Biochemistry*; 67:1109–23.
236. - Petricoin EF, Zoon KC, Kohn EC (2002). Clinical proteomics: translating benchside promise into bedside reality. *Nat Rev Drug Discov*; 1:683–95.
237. - Ono M, Shitashige M, Honda K (2006). Label-free quantitative proteomics using large peptide data sets generated by nanoflow liquid chromatography and mass spectrometry. *Mol Cell Proteomics*; 5:1338–47.

- 238.- Negishi A, Ono M, Handa Y, et al (2009). Large-scale quantitative clinical proteomics by label-free liquid chromatography and mass spectrometry. *Cancer Sci*; 100:514–9.
- 239.-Uhlen M, Ponten F (2005). Antibody-based proteomics for human tissue profiling. *Mol Cell Proteomics*; 4:384–93.
240. - Uhlen M, Bjorling E, Agaton C, et al (2005). A Human Protein Atlas for normal and cancer tissues based on antibody proteomics. *Mol Cell Proteomics*; 4:1920–32.
241. - Uhlen M, Oksvold P, Fagerberg L, et al (2010). Towards a knowledge-based human protein atlas. *Nat Biotechnol*; 28:1248–50.
242. - Brennan DJ, O'Connor DP, Rexhepaj E, et al (2010). Antibody-based proteomics: fast tracking molecular diagnostics in oncology. *Nat Rev Cancer*; 10:605–17.
243. - Chandra H, Reddy PJ (2011). Protein microarrays and novel detection platforms. *Expert Rev Proteomics*; 8:61–79.
244. - Olsen JV, Vermeulen M, Santamaria A, et al (2010). Quantitative phosphoproteomics reveals widespread full phosphorylation site occupancy during mitosis. *Sci Signal*; 3:ra3.
245. -Vathany Kulasingam and Eleftherios P Diamandis (2008). Strategies for discovering novel cancer biomarkers through utilization of emerging technologies. Department of Pathology and Laboratory Medicine, Mount Sinai Hospital, 600 University Avenue, Toronto.
246. - Kazufumi Honda*, Masaya Ono (2012). “Proteomic Approaches to the Discovery of Cancer Biomarkers for Early Detection and Personalized Medicine” Department of Chemotherapy and Clinical Research, National Cancer Center Research Institute, Tokyo, Japan

Referencias de Figuras

Figura 1. Tomada y modificada (Campuzano Maya G. 2010).

Figura 2. Tomada y modificada (J. Trapé Pujol y R. Molina Porto 2006).

Figura 3. Tomada y modificada (Nuñez Santilleni Blanca, Ceballos Cervera Eduardo 2003).

Figura 4 Tomada y modidficada (Instituto Nacional del Cáncer (2011).

Figura 5. Tomada y modificada (Logothetis J. Christophert, Gallick E. Gary 2013)

Figura 6. Tomada y modificada (Logothetis J. Christophert, Gallick E. Gary 2013)

Figura 7. Tomada y modificada (Logothetis J. Christophert, Gallick E. Gary 2013)

Figura 8. Tomada y modificada (Hidalgo-Miranda A, Jiménez-Sánchez G 2009)

Figura 9. Tomada y modificada (Hidalgo-Miranda A, Jiménez-Sánchez G 2009)

Figura 10. Tomada y modificada (Vathany Kulasingam and Eleftherios P Diamandis 2008)

Figura 11. Tomada y modificada (Campuzano Maya G. 2010).

Figura 12. Tomada y modificada (Campuzano Maya G. 2010).

Referencias de Tablas

Tabla 1. Tomada y modificada (Sandra S. Arango 2011)

Tabla 2. Tomada y modificada (Elsevier 2012)

Tabla 3. Tomada y modificada (Nuñez Santilleni Blanca, Ceballos Cervera Eduardo 2003)

Tabla 4. Tomada y modificada (Laguens G, Di Girolamo W 2001)

Tabla 5. Tomada y modificada (X. Filella y R. Molina 2006)

Tabla 6. Tomada y modificada (Organización Mundial de la Salud 2011)

Tabla 7. Tomada y modificada (Organización Panamericana de la Salud 2011)

Tabla 8. Tomada y modificada (Instituto Nacional del Cáncer 2011)

Tabla 9. Tomada y modificada (Logothetis J. Christophert, Gallick E. Gary 2013)

Tabla 10. Tomada y modificada (Hidalgo-Miranda A, Jiménez-Sánchez G 2009)

Tabla 11. Tomada y modificada (Hidalgo-Miranda A, Jiménez-Sánchez G 2009)

Tabla 12. Tomada y modificada (Hidalgo-Miranda A, Jiménez-Sánchez G 2009)