



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Efecto de la exposición a cadmio sobre la expresión
de progranulina en la línea celular derivada de cáncer
prostático, PC3.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADA EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA
P R E S E N T A
THANIA MONSERRAT QUIÑONES MOLINA

ASESOR
DR. FABIÁN JESÚS ARECHAVALETA VELASCO

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO

2021



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: Tesis

Efecto de la exposición a cambio sobre la expresión de progranulina en la línea celular derivada de cáncer prostático, PC3.

Que presenta la pasante: **Thania Monserrat Quiñones Molina**
Con número de cuenta: **310297408** para obtener el Título de: Licenciada en Bioquímica Diagnóstica

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 26 de abril de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Sandra Díaz Barriga Arceo	
VOCAL	Dr. Fabián Jesús Arechavaleta Velasco	
SECRETARIO	Dra. Maritere Domínguez Rojas	
1er. SUPLENTE	Dra. María Lucero Paniagua García	
2do. SUPLENTE	Dra. Dolores Molina Jasso	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMCF/javg



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: Tesis

Efecto de la exposición a cambio sobre la expresión de progranulina en la línea celular derivada de cáncer prostático, PC3.

Que presenta la pasante: Thania Monserrat Quiñones Molina
Con número de cuenta: 310297408 para obtener el Título de: Licenciada en Bioquímica Diagnóstica

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

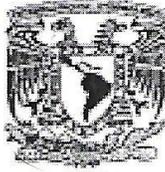
ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 26 de abril de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Sandra Díaz Barriga Arceo	
VOCAL	Dr. Fabián Jesús Arechavaleta Velasco	
SECRETARIO	Dra. Maritere Domínguez Rojas	
1er. SUPLENTE	Dra. María Lucero Paniagua García	
2do. SUPLENTE	Dra. Dolores Molina Jasso	

NOTA: los sindocales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMCF/javg



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTEZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: Tesis

Efecto de la exposición a cambio sobre la expresión de progranulina en la línea celular derivada de cáncer prostático, PC3.

Que presenta la pasante: Thania Monserrat Quiñones Molina
Con número de cuenta: 310297408 para obtener el Título de: Licenciada en Bioquímica Diagnóstica

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 26 de abril de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	<u>Dra. Sandra Díaz Barriga Arceo</u>	_____
VOCAL	<u>Dr. Fabián Jesús Arechavaleta Velasco</u>	_____
SECRETARIO	<u>Dra. Maritere Domínguez Rojas</u>	
1er. SUPLENTE	<u>Dra. María Lucero Paniagua García</u>	_____
2do. SUPLENTE	<u>Dra. Dolores Molina Jasso</u>	_____

NOTA: los suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMCF/jav



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: Tesis

Efecto de la exposición a cambio sobre la expresión de progranulina en la línea celular derivada de cáncer prostático, PC3.

Que presenta la pasante: Thania Monserrat Quiñones Molina
Con número de cuenta: 310297408 para obtener el Título de: Licenciada en Bioquímica Diagnóstica

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 26 de abril de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	<u>Dra. Sandra Díaz Barriga Arceo</u>	_____
VOCAL	<u>Dr. Fabián Jesús Arechavaleta Velasco</u>	_____
SECRETARIO	<u>Dra. Maritere Domínguez Rojas</u>	_____
1er. SUPLENTE	<u>Dra. María Lucero Paniagua García</u>	
2do. SUPLENTE	<u>Dra. Dolores Molina Jasso</u>	_____

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMCZ/javg



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTEZ RÍGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: Tesis

Efecto de la exposición a cambio sobre la expresión de progranulina en la línea celular derivada de cáncer prostático, PC3.

Que presenta la pasante: Thania Monserrat Quiñones Molina
Con número de cuenta: 310297408 para obtener el Título de: Licenciada en Bioquímica Diagnóstica

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 26 de abril de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Sandra Díaz Barriga Arceo	
VOCAL	Dr. Fabián Jesús Arechavaleta Velasco	
SECRETARIO	Dra. Maritere Domínguez Rojas	
1er. SUPLENTE	Dra. María Lucero Paniagua García	
2do. SUPLENTE	Dra. Dolores Molina Jasso	<i>[Firma]</i>

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMCF/javg

Este trabajo con No. de registro 02-2019 se realizó bajo la dirección del Dr. Fabián Jesús Arechavaleta Velasco en UMAE de Gineco Obstetricia No. 4 “Luis Castelazo Ayala” perteneciente al Instituto Mexicano del Seguro Social, en la Unidad de Investigación Médica en Medicina Reproductiva.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme crecer en sus aulas e instalaciones de manera profesional y personalmente.

A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, porque en ella más que una escuela encontré un segundo hogar y a todos los profesores gracias por brindarme y compartirme los conocimientos y herramientas para enfrentar al mundo laboral.

A mi asesor el Dr. Fabián Jesús Arechavaleta Velasco por su apoyo y dedicarme su tiempo, orientación y atención a mis consultas.

A los miembros de la Unidad de Investigación Médica en Medicina Reproductiva en UMAE de Gineco Obstetricia No. 4 “Luis Castelazo Ayala” perteneciente al Instituto Mexicano del Seguro Social, por ayudarme siempre con su apoyo y orientación.

A mi familia por estar conmigo en cada momento siempre brindarme su esfuerzo, apoyo y ayudarme para cumplir este sueño.

“POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU”

DEDICATORIAS

A mis padres **Yanet y Mario** que no solo me dieron la vida, gracias por su apoyo, esfuerzo, dedicación, consejos y lo mas importante su amor, he llegado hasta aquí, siempre les estaré agradecida por todo, gracias por siempre creer en mi e impulsarme a ser mejor cada ahora estoy cumpliendo este sueño.

A mis hermanas **Karla y Frida** por estar conmigo a cada momento de mi vida, apoyarme y escucharme cada que lo he necesitado.

A mi abuelita **Avigay** por su cariño, apoyo y oraciones.

A mis perritos **Winnie, Jacinta, Choby, Chimi, Chabelo, Maya y Bacha** que ustedes son parte de mi familia y me han acompañado en cada paso, estando presente en mis desvelos y brindándome su amor.

A mi novio **Irving** por estar a mi lado, apoyarme y ayudarme siempre que lo he necesitado.

Solo me queda decir gracias y los amo.

Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo
y no en el resultado.

Un esfuerzo total es una victoria completa.

-Mahatma Gandhi-

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ANTECEDENTES	2
1.1 Morfología y función de la próstata.....	2
1.2 Efectos de los andrógenos sobre la próstata.....	4
1.3 Cáncer de próstata	9
1.3.1 Epidemiología.....	10
1.3.2 Fisiopatología.....	13
1.4 Factores de riesgo.....	15
1.4.1 Edad.....	15
1.4.2 Raza.....	16
1.4.3 Antecedentes familiares.....	16
1.4.4 Genética.....	17
1.4.5 Estilo de vida.....	17
1.4.6 Inflamación.....	18
1.4.7 Factores de crecimiento y hormonales	19
1.4.8 Factores ambientales y ocupacionales	20
1.5 Cadmio como inductor de CaP.....	24
1.5.1 Exposición.....	24
1.5.2 Absorción	25
1.5.3 Transporte y distribución.....	25
1.5.4 Excreción	26
1.6 Mecanismos moleculares de la carcinogénesis prostática inducidos por Cd ...	26
JUSTIFICACIÓN	28
HIPÓTESIS	29
OBJETIVOS	30
4.1 Objetivo General	30
4.2 Objetivos particulares.....	30
MATERIAL Y MÉTODOS	31
5.1 Estrategia experimental.....	31
5.2 Cultivo celular.....	32

5.3 Ensayo de viabilidad celular	33
5.4 Exposición de células PC-3 al cadmio	35
5.5 Extracción de proteínas.....	35
5.6 Cuantificación de proteínas.....	36
5.7 Análisis de la expresión de progranulina mediante Western Blot.....	37
5.8 Análisis Estadístico	38
RESULTADOS	39
6.1 Efecto del cadmio en la viabilidad de células PC-3.....	39
6.2 Efecto del cadmio en la expresión de progranulina a partir de células PC-3.....	40
DISCUSIÓN.....	42
CONCLUSIONES.....	45
BIBLIOGRAFÍA.....	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. posición anatómica de la próstata	2
Figura 2. Zonas anatómicas de la próstata	3
Figura 3. Esquematación de síntesis de testosterona.....	5
Figura 4. Conversión de la testosterona a DHT por acción de la 5 α -reductasa.....	6
Figura 5. Localización y estructura general del receptor de andrógenos.....	7
Figura 6. Esquematación de la interacción entre los andrógenos y su receptor.	8
Figura 7. Número de casos de cáncer registrados a finales 2018 para ambos sexos a nivel mundial.....	10
Figura 8. Incidencia del CaP registrados a finales 2018 por regiones.	11
Figura 9. Mortalidad de cánceres registrados a finales 2018 para hombres a nivel mundial.....	11
Figura 10. Incidencia y mortalidad de canceres en América.....	12
Figura 11. Incidencia y mortalidad de diferentes canceres en México.....	13
Figura 12. Progresión del CaP y desarrollo de metástasis resistentes a la castración. 14	
Figura 13. Genes involucrados en el cáncer de próstata.....	17
Figura 14. Línea celular PC-3.	31
Figura 15. Diagrama del desarrollo experimental.	32
Figura 16. Esquema de distribución celular en la placa de 96 pozos para el ensayo de viabilidad de células PC-3 con diferentes concentraciones de Cd.	33
Figura 17. Esquema de distribución celular en la placa de 96 pozos para el ensayo de viabilidad al transferir sobrenadante de células PC-3 con diferentes concentraciones de Cd.....	34
Figura 18. Esquema de distribución celular en la placa de 16 pozos para exposición de células PC-3 con diferentes concentraciones de Cd.	35
Figura 19. Viabilidad celular de células PC-3 expuestas a diferentes concentraciones de Cd en un periodo de tiempo de 24 horas.....	39
Figura 20. Cantidad de proteínas totales necesarias para la detección de PGRN mediante la técnica de Western blot.....	40
Figura 21. Expresión de PGRN en células PC-3 expuestas a diferentes concentraciones de Cd en un periodo de tiempo de 24 horas.....	41

ABREVIATURAS

AKT= Proteincinasa B

AR = Receptor Andrógino

ARE =Elementos De Respuesta A Andrógenos

ATCC= American Type Culture Collection

BCA = Ácido Bicinconínico

BSA= Albumin Bovine Serum

C= Carbono

CaP= Cáncer De Próstata

Cd= Cadmio

Cdks = Cinasas Dependientes De Ciclinas

CoA= Coactivadores

DBD = Dominio De Unión Al DNA

DHT= Dihidrotestosterona

DNA= Ácido Desoxirribonucleico

ERK= Cinasas Reguladas Por Señales Extracelulares

FBS= Suero Fetal Bovino

HPC1=Hereditary Prostate Cancer-1

HSP= Choque Térmico

IARC =Agencia Internacional Para La Investigación Del Cáncer

IGF-1= Factor De Crecimiento Similar A La Insulina Tipo 1

IL6= Interleucina 6

LBD= Dominio De Unión Al Ligando

LDH =Lactato Deshidrogenasa

MAPK =Cinasas Activadas Por Mitogeno

MMP = Metaloproteasa De Matriz Extracelular

MT = Metalotioneínas

mTOR =Diana De Rapamicina En Células De Mamífero

MSR1= Macrophage Scavenger Receptor-1

NTD = Dominio Amino Terminal

OMS: Organización Mundial De La Salud

PBS= Buffer Fosfato Salino

PC3= Cáncer De Próstata 3

PGRN= Progranulina

PIA= Atrofia Inflamatoria Proliferativa

PIN = Lesiones Intraepiteliales

PKC =Proteincinasa C

PSA = Antígeno Prostático Especifico

Prb = Complejos Ciclina/CDK Fosforilan A La Proteína De Retinoblastoma

PVDF =Membrana De Fluoruro De Polivinilideno

RPMI= Roswell Park Memorial Institute

SDS= Dodecilsulfato Sódico

SEN1= Proteasa 1 Especifica De SUMO

SFB = Suero Fetal Bovino

SHBG =Globulina Fijadora De Hormonas Sexuales

TBS= Éteres De Sililo

TBS-T =Buffer Salino-Tris Conteniendo 0.1% De Tween-20

TF = Factores De Transcripción

Tgf β =Factor De Crecimiento Transformante B

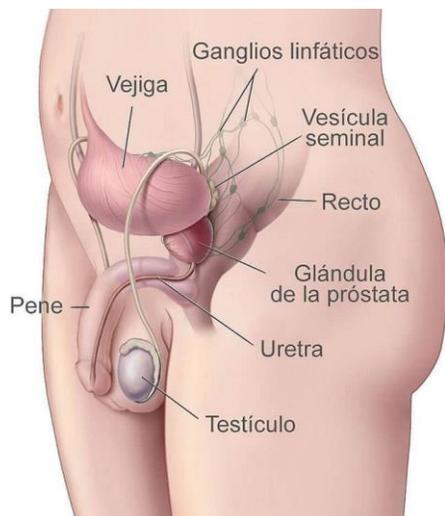
W.B.= Western Blot

RESUMEN

El cancer de prostata (CaP) es un problema de salud pública en México debido a que es la primera causa de muerte por cáncer en hombres mayores de 60 años. Factores ambientales han sido implicados en el desarrollo de esta neoplasia, existiendo una gran variedad de estudios ambientales y ocupacionales en donde se reconoce al Cd como parte de la etiología de esta enfermedad. Los mecanismos moleculares por los cuales este metal induce la transformación celular, la progresión a un CaP andrógeno-independiente y la metástasis aún no se ha establecido; sin embargo, es claro que la carcinogénesis inducida por Cd en otros órganos y tejidos incluye cambios en la expresión génica que afectan la proliferación, diferenciación y muerte celular. Por otra parte, recientemente se ha descrito que la expresión de la progranulina (PGRN), un factor de crecimiento se incrementa significativamente en el CaP. Más aún, la concentración sérica de esta proteína en pacientes con CaP difiere significativamente dependiente de la edad y la puntuación de la escala de Gleason, además estas concentraciones se asocian con la prognosis de la enfermedad. Asimismo, los efectos de la PGRN en líneas celulares derivadas de CaP incluyen estimulación de la proliferación, migración, invasión y crecimiento independiente de adhesión. Por otra parte, se ha demostrado que la inducción de PGRN depende de la activación de diversas vías de señalización incluida la vía de PI3K/AKT/mTOR, la cual es estimulada en diversas estirpes celulares por la exposición al Cd. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo de investigación fue analizar la expresión de PGRN en una línea celular derivada de CaP tras exponerla a diferentes concentraciones de Cd. Para esto, se utilizó la línea celular derivada de adenocarcinoma prostático PC3, la cual fue expuesta a diferentes concentraciones no toxicas de CdCl₂ durante 24 horas. La expresión de PGRN se determinó mediante la técnica de Western Blot. Los resultados mostraron que la exposición de células PC-a Cd no induce la expresión de PGRN. Por lo tanto, podemos concluir que la expresión de la PGRN en células PC3 no se afecta por la exposición al Cd.

ANTECEDENTES

1.1 Morfología y función de la próstata



La próstata es una glándula exocrina túbulo-alveolar de secreción mixta, perteneciente al aparato genitourinario masculino, que presenta una coloración gris, así como una consistencia dura, además de un peso aproximado de 18 g y por sus proporciones se asemeja al tamaño de una nuez.

Figura 1. posición anatómica de la próstata

Anatómicamente, se ubica en la zona retroperitoneal de la cavidad pélvica, delante del bulbo rectal, detrás del pubis y por debajo de la vejiga urinaria, rodeando a la primera porción de la uretra (Figura1) (1,2). Dentro de esta glándula, se distinguen tres zonas: 1) zona central, que se ubica detrás de la uretra y es atravesada por los conductos eyaculadores, constituida por un 25% de tejido glandular, 2) zona periférica, que es la subdivisión anatómica más grande de la próstata, ya que representa el 70% del tejido y 3) zona de transición, la cual envuelve a la uretra y representa del 5% al 10% del volumen de la próstata normal (Figura 2)(2).

Estas zonas son diferencialmente susceptibles a desarrollar diferentes patologías como hiperplasia y cáncer. En la mayoría de los casos, la hiperplasia se desarrolla en la zona de transición, mientras que el cáncer se desarrolla en la zona periférica (2).

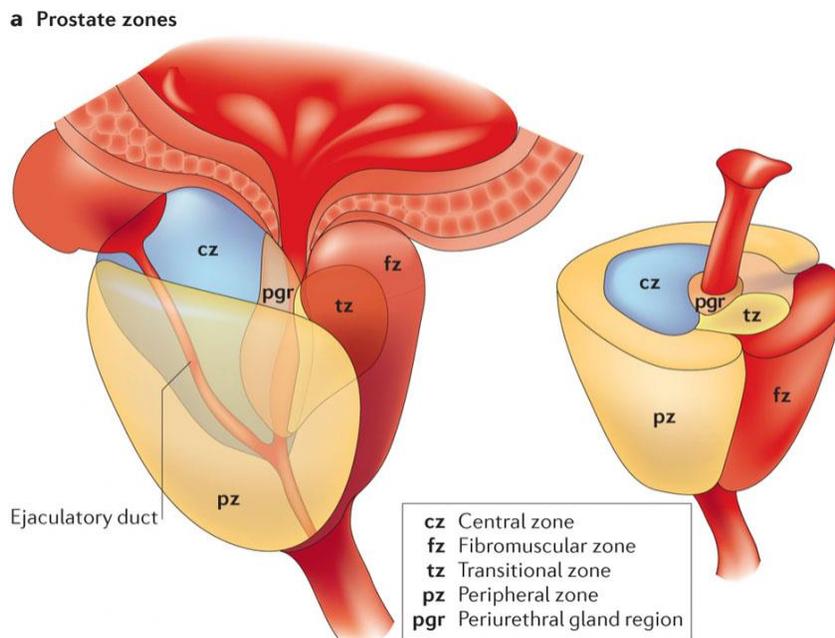


Figura 2. Zonas anatómicas de la próstata

El acino es la unidad funcional de la próstata, el cual está compuesto por diferentes elementos celulares, de los cuales destacan las células epiteliales, las basales precursoras y neuroendocrinas. Esta unidad se encuentra revestida por una por una capa delgada de músculo liso y tejido conectivo estromal, el cual está integrado por fibroblasto, células fusiformes indiferenciadas y células musculares lisas, así como fibras de colágeno tipo I y III, fibras elásticas, vasos sanguíneos y nervios (3).

La principal función de la próstata es la producción de componentes del líquido seminal, que en general brindan nutrientes y protección a los espermatozoides contenidos en el semen eyaculado. Las secreciones prostáticas son levemente alcalinas y están compuestas principalmente por azúcares, enzimas proteolíticas, fosfatasa ácida y antígeno prostático específico (PSA) cuya función principal es la licuefacción del semen, antagonizando la acción de la semenogelina, que es la proteína que produce la coagulación del semen para proteger los espermatozoides durante la eyaculación (4).

La próstata también controla el flujo urinario, ya que las fibras musculares de la glándula se encuentran alrededor de la uretra bajo el control involuntario del sistema nervioso. Estas fibras se contraen lentamente y de esta manera detienen el flujo urinario (5).

1.2 Efectos de los andrógenos sobre la próstata

Los andrógenos son hormonas esteroideas sexuales masculinas, cuyo nombre deriva del griego *andros* que significa hombre y *genos* producción, son derivados del colesterol ya que tienen una estructura básica derivada del ciclopentano-perhidrofenantreno, siendo su principal función estimular el desarrollo de caracteres sexuales masculinos, incluyendo el desarrollo de la próstata (6).

Los principales andrógenos son la testosterona y la dihidrotestosterona (DHT), las cuales tienen gran importancia en el desarrollo embrionario, así como, la pubertad y la edad adulta. Como consecuencia, de su desregulación en la producción o de su función se pueden producir diversas patologías tales como el cáncer.

La testosterona posee una estructura de 19 átomos de carbono (C), un doble enlace entre C4 y C5, un oxígeno en C3 y un radical hidroxilo en C17. Es producida principalmente por las células de Leydig en los testículos (90-95%), sin embargo, también se ha descrito que la corteza suprarrenal y las células tecaes de los ovarios la producen, aunque en muy poca cantidad (5-10%). Su síntesis es regulada por la hormona luteinizante, la cual es liberada a partir de la adenohipófisis estimulada por la hormona liberadora de gonadotropinas, y una vez sintetizada es fijada y transportada a torrente sanguíneo por la globulina fijadora de hormonas sexuales (SHBG) (Figura 3) (7).

Durante la niñez, la secreción y la acción de los andrógenos son mínimas, pero al llegar a la pubertad, la secreción de testosterona aumenta y provoca el desarrollo completo de los órganos genitales masculinos, estimulando el desarrollo de la próstata y las vesículas seminales, aumentando la libido y provocando erecciones. Al mismo tiempo, favorece la aparición de los caracteres sexuales secundarios, como son el desarrollo del vello en el cuerpo, el engrosamiento de la voz y el desarrollo muscular (7).

El contenido de testosterona en el testículo humano es de aproximadamente 300 ng/g de tejido y la concentración plasmática en un adulto sano es de 300 a 1,000 ng/dL, mientras que antes de la pubertad es menor a 20 ng/dL (8).

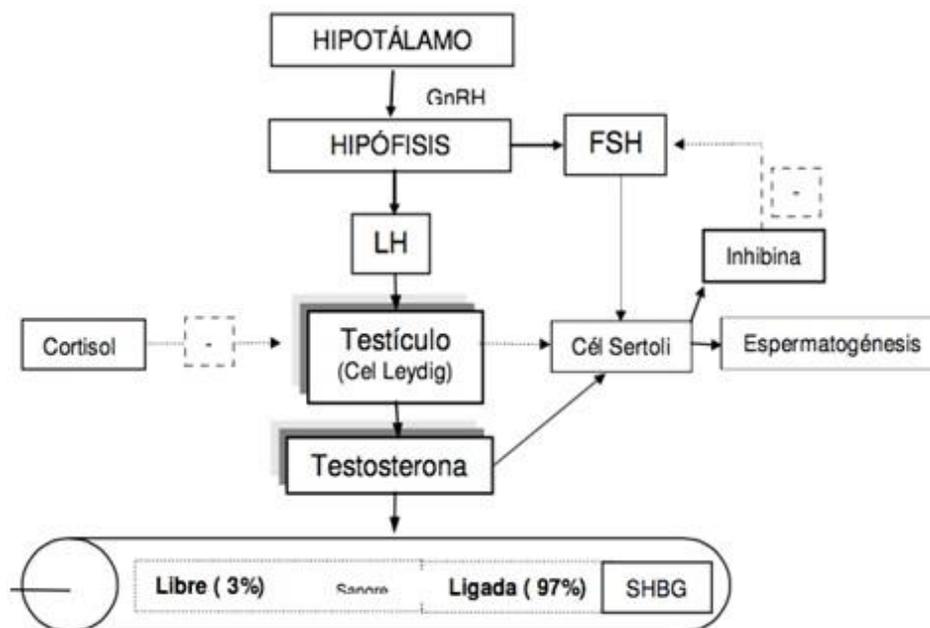


Figura 3. Esquemización de síntesis de testosterona.

Por su parte, la DHT es el producto de la conversión de la testosterona por acción de la enzima 5- α reductasa a nivel celular tanto en la próstata como en otros tejidos periféricos incluido la adenohipófisis (Figura 4) (7). En comparación con la testosterona, la DHT tiene mayor afinidad por el receptor de andrógenos (AR), por lo que su potencia fisiológica es mayor (8,9). Con respecto a sus acciones fisiológica, la DHT participa en diversos procesos biológicos durante el desarrollo de un varón, por ejemplo, durante la embriogénesis favorece la formación del pene, escroto y glándulas sexuales accesorias; en la pubertad estimula el desarrollo de las características sexuales secundarias y en la edad adulta actúa como el andrógeno principal en la próstata y folículos pilosos (9).

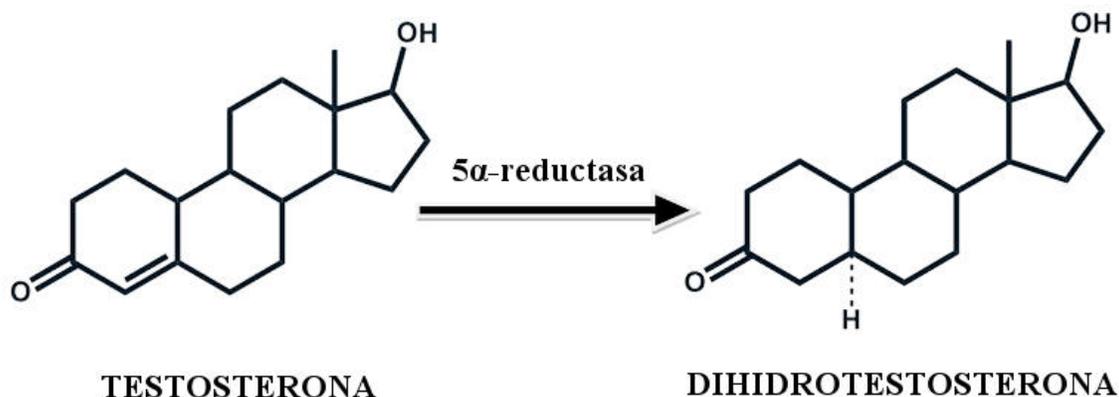


Figura 4. Conversión de la testosterona a DHT por acción de la 5 α -reductasa

Los efectos biológicos de la testosterona y DHT son mediados a través de su unión con el AR, el cual se localiza en diferentes órganos blanco como son la próstata, el cerebro y el tejido esquelético (10). El AR humano es una proteína de 110 kDa con 910 a 919 aminoácidos, dependiendo de las repeticiones de glutamina y glicina en la región NH₂ terminal y se localiza en el cromosoma Xq11-12 y posee 8 exones (Figura 5) (11). La estructura general del receptor está formada por cuatro dominios funcionales: 1) el dominio de unión al ligando (LBD), encargado de la dimerización y activación de la transcripción. Además, este dominio regula la interacción entre el AR y las proteínas de choque térmico (HSP) e interactúa con el dominio NTD del receptor para estabilizar la unión del andrógeno; 2) la región bisagra, encargada de unir a los dominios LBD y DBD así como de regular la unión al DNA, la translocación nuclear y la transactivación del AR; 3) el dominio de unión al DNA (DBD), el cual está formado por nueve residuos de cisteína encargados de la formación de dos complejos denominados *dedos de zinc*, cuya función es reconocer secuencias consenso específicas del DNA y 4) el dominio amino terminal (NTD), constituido por 503 aminoácidos y encargado de la activación transcripcional (Figura 5) (12).

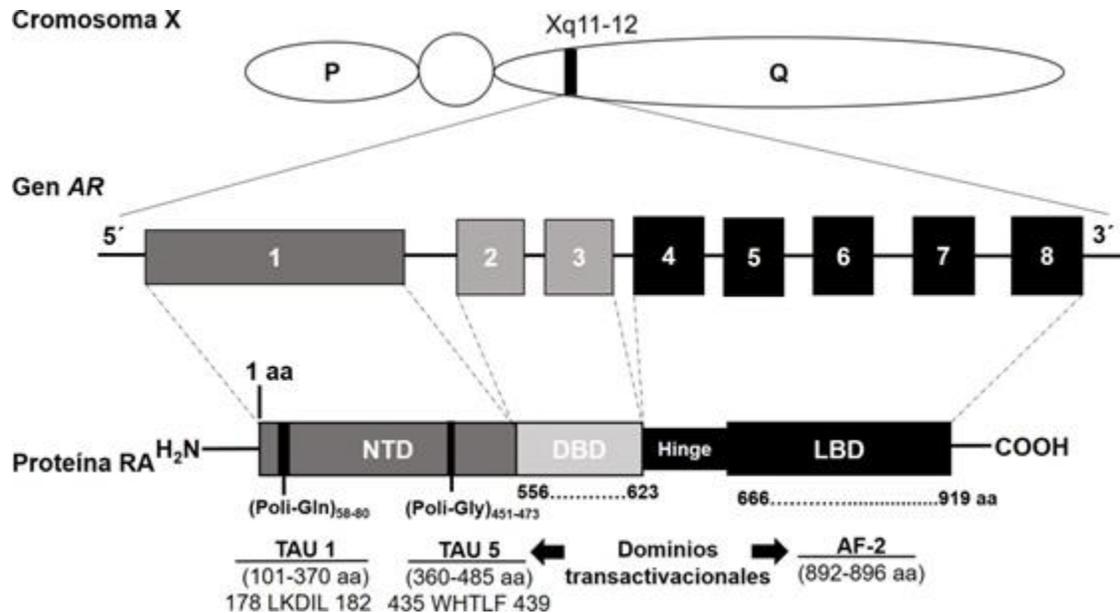


Figura 5. Localización y estructura general del receptor de andrógenos.

Los efectos de los andrógenos inician cuando la testosterona o DHT se unen a los monómeros del AR que se encuentran inactivos en el citoplasma debido a que están unidos a proteínas de choque térmico (HSP-90, 70, 56), las cuales funcionan como chaperonas. Esta interacción induce un cambio conformación en el AR, lo que permite la disociación de las chaperonas, su fosforilación y su translocación al núcleo. Una vez en el núcleo, el AR forma dímeros capaces de unirse a secuencias específicas del DNA conocidas como elementos de respuesta a andrógenos (ARE) para llevar a cabo la transcripción y posteriormente síntesis de diversas proteínas (13). El AR también interactúa con coactivadores (CoA) o factores de transcripción (TF) que ayudan a modular su actividad. La estabilidad del AR es mantenida por la fosforilación y se ha mostrado que el factor de crecimiento transformante β (TGF β), el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1) y la interleucina 6 (IL6) participan aumentando la actividad del AR a través de la fosforilación del mismo receptor o de sus correguladores (Figura 6) (14).

En la próstata, la activación del AR induce la expresión de más de 100 genes, incluyendo aquellos que son importantes para regular el crecimiento, diferenciación y muerte celular, los cuales mantienen la integridad y función del tejido prostático durante las diferentes etapas de la vida (12).

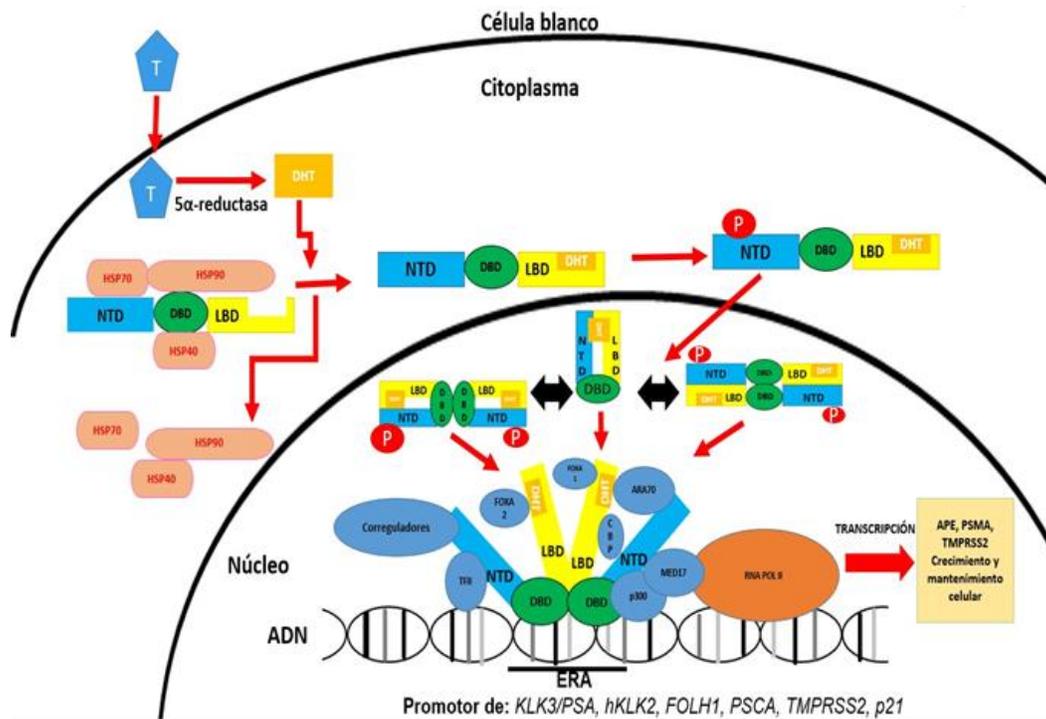


Figura 6. Esquematación de la interacción entre los andrógenos y su receptor.

En lo que respecta al desarrollo embrionario de la próstata, los andrógenos sintetizados por los testículos fetales, así como la DHT producida por conversión local, estimulan la mesénquima para inducir la formación de conductos epiteliales originados en el endodermo del seno urogenital, los cuales a su vez estimulan la diferenciación de músculo liso a partir del tejido mesenquimal (15). Por su parte, en el adulto, el AR mantiene la homeostasis del epitelio prostático mediante una intrincada red de estímulos en diferentes tipos celulares. Por ejemplo, la estimulación del AR en las células estromales induce la secreción de factores que estimulan el crecimiento de las células epiteliales, mientras que la presencia de andrógenos en el epitelio inhibe el proceso apoptótico favoreciendo la supervivencia de las células luminales y suprime el crecimiento de las células basales (15).

Los mecanismos moleculares por los cuales los andrógenos mantienen esta homeostasis incluyen la progresión del ciclo celular de la fase G1 a la fase S mediante el aumento de los niveles proteicos de algunas ciclinas y cinasas dependientes de ciclinas (CDKs), que al formar los complejos ciclina/CDK fosforilan a la proteína de retinoblastoma (pRb). Esta fosforilación ocasiona la disociación del factor de transcripción E2F, el cual se transloca al núcleo y regula la expresión del propio AR, así como diversos genes involucrados en la proliferación celular, como PCNA, ciclinas E/A, CDK2, entre otros (16). En lo que respecta a la apoptosis, los andrógenos mantienen los niveles fisiológicos del factor anti-apoptótico Bcl-2 en el epitelio prostático (17).

1.3 Cáncer de próstata

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), el cáncer es un proceso incontrolado de crecimiento y diseminación celular caracterizado por la multiplicación rápida de las células anormales que se extiende más allá de sus límites habituales, invadiendo partes adyacentes del cuerpo y propagándose a otros órganos (18). Por lo tanto, el cáncer de próstata (CaP) es la neoplasia de la glándula prostática, la cual puede originarse tanto en el epitelio acinar como ductal y que en etapas iniciales no presenta síntomas específicos, porque suele ser una enfermedad de crecimiento lento, pero si no se trata, crece progresivamente (18).

1.3.1 Epidemiología

En la actualidad, el CaP es un problema mundial de salud pública, ya que se trata del segundo tipo de cáncer más diagnosticado en hombres y el primero de tipo no cutáneo (19). De acuerdo con los datos de Globocan, para finales del 2018 se estimaron alrededor de 1'276,106 casos de CaP, lo que corresponde al 7.1% de todos los cánceres diagnósticos para ambos sexos (Figura 7) (19).

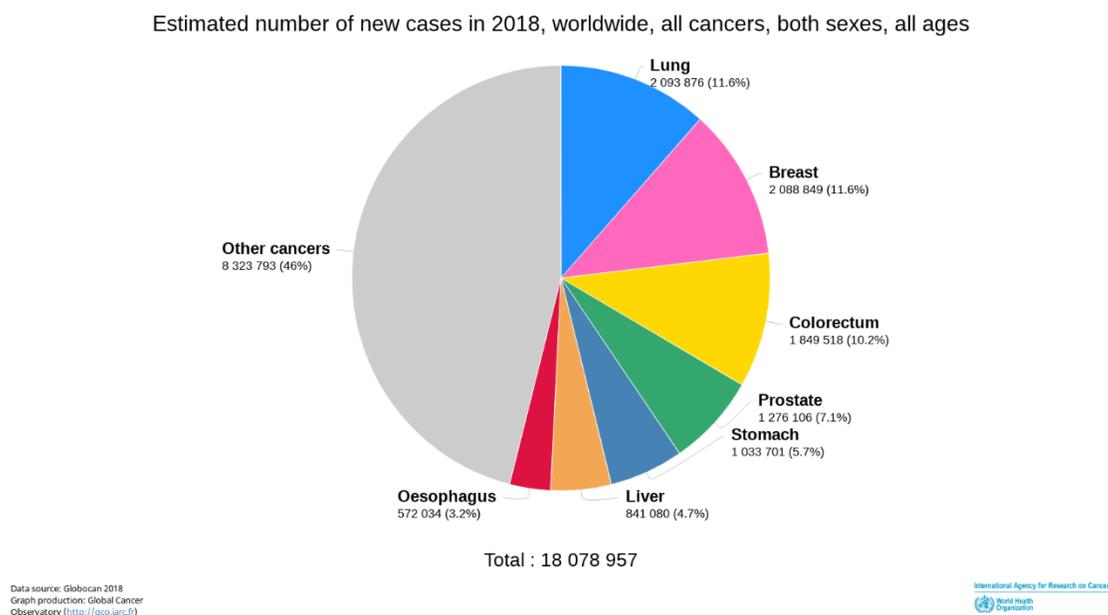


Figura 7. Número de casos de cáncer registrados a finales 2018 para ambos sexos a nivel mundial.

Por otro lado, la incidencia a nivel mundial es de 29.3 casos por cada 100,000 habitantes, la cual varía de acuerdo con la región geográfica, siendo la mayor para Australia/Nueva Zelanda con 92.7 casos y la menor para Asia del centro y sur con tan solo 3.9 casos por 100,000 habitantes (Figura 8) (20). Asimismo, las muertes atribuidas al CaP son de 359,389, lo que equivale al 6.7% de todas las muertes por algún tipo de cáncer en hombres a nivel mundial (Figura 9) (21).

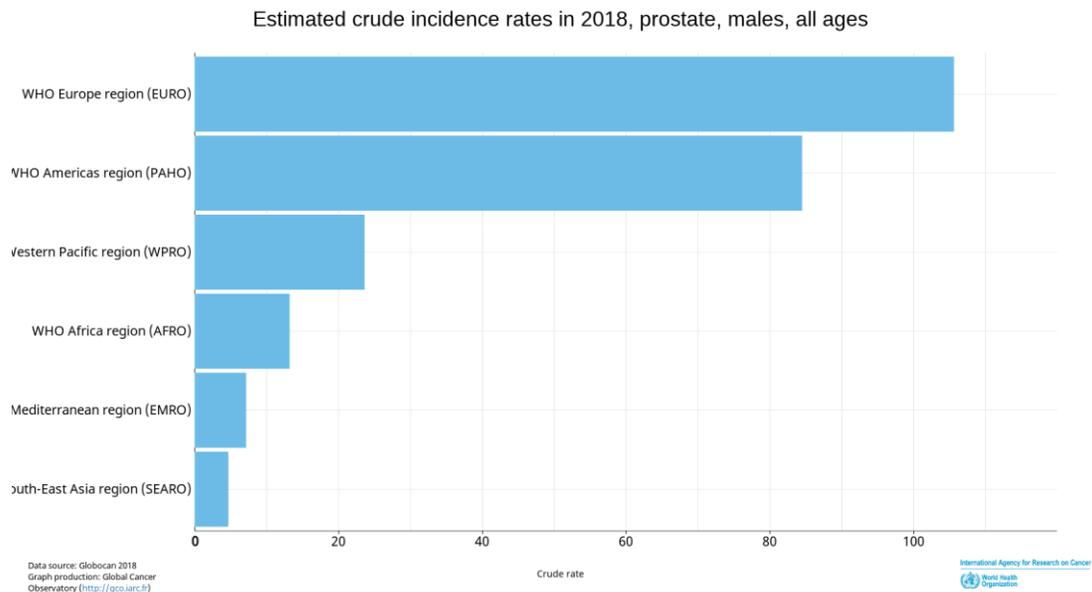


Figura 8. Incidencia del CaP registrados a finales 2018 por regiones.

Estimated number of deaths in 2018, worldwide, all cancers, males, all ages

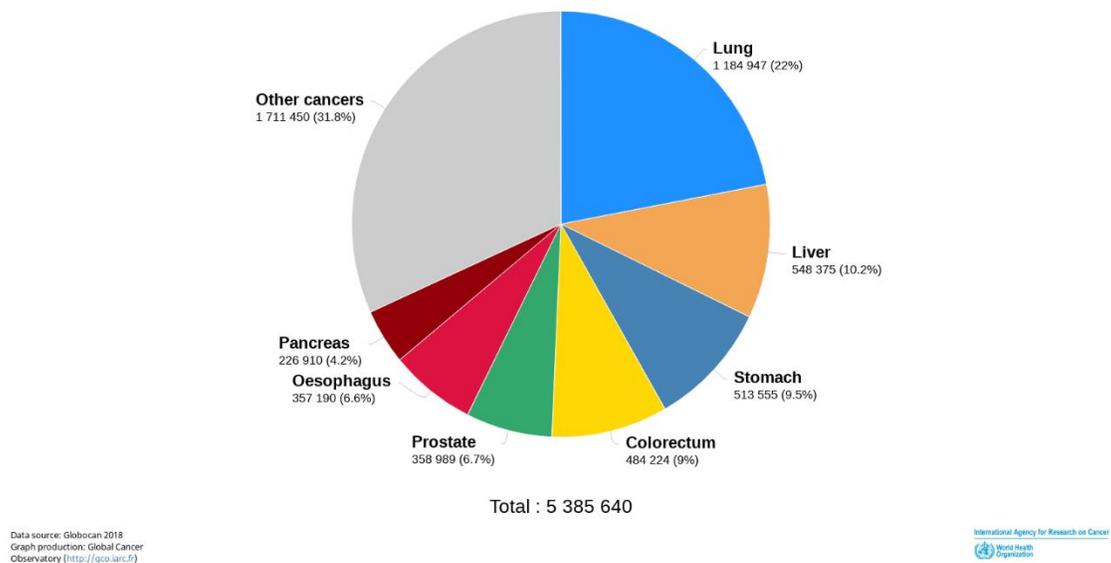


Figura 9. Mortalidad de cánceres registrados a finales 2018 para hombres a nivel mundial.

En lo que respecta a América, el CaP es la neoplasia más comúnmente diagnosticada en hombres, con una incidencia de 64.1 casos por cada 100,000 habitantes, mientras que la mortalidad ocupa el segundo lugar después del cáncer de pulmón (Figura 10) (22). Específicamente en nuestro país, el CaP ocupa el primer lugar en todos los parámetros en la población masculina mayor a 60 años, con una prevalencia de 55,565 casos en cinco años, así como una incidencia de 41.6 casos y una mortalidad de 10 casos por cada 100,000 habitantes (Figura 11) (23). En cuanto a las regiones geográficas más afectadas, se ha observado que las entidades con mayor número de casos son Michoacán, Jalisco, Ciudad de México, Veracruz, Estado de México, Durango y Guanajuato (24).

Estimated age-standardized incidence and mortality rates (World) in 2018, Latin America and the Caribbean, North America, both sexes, all ages

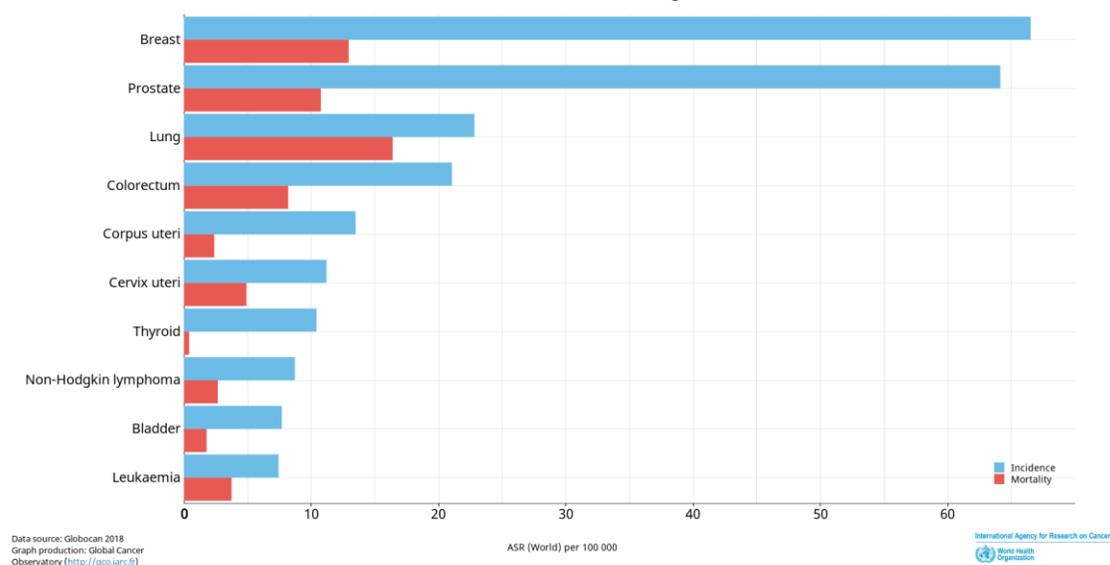


Figura 10. Incidencia y mortalidad de cánceres en América.

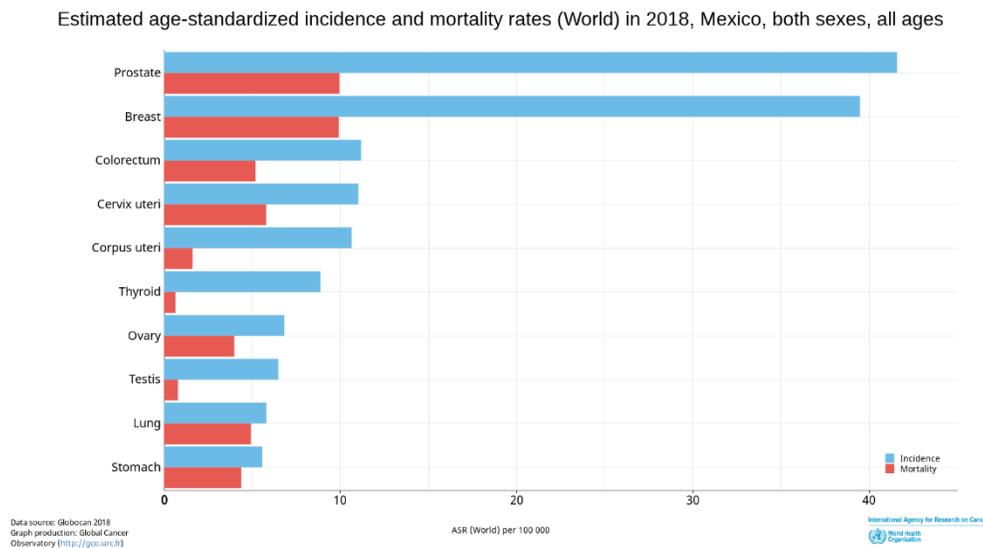


Figura 11. Incidencia y mortalidad de diferentes cánceres en México.

1.3.2 Fisiopatología

La mayoría de los casos de CaP, aproximadamente el 95%, son adenocarcinomas conformados por pequeños acinos glandulares que se infiltran de manera irregular debido a la ausencia de membrana basal. Otros tipos de tumores prostáticos incluyen al carcinoma ductal, carcinoma mucinoso y carcinoma de células pequeñas, el cual es altamente agresivo y de mal pronóstico (25).

La célula de origen del CaP aún no se ha descrito completamente, sin embargo, en esta neoplasia se observan fenotipos tanto luminal como basal (26). La relevancia biológica y clínica del origen celular en el CaP aún no es clara, por ejemplo, un estudio realizado en 2013 concluyó que los tumores prostáticos de origen luminal eran más agresivos y con peor pronóstico que aquellos derivados de células basales, sin embargo, otro estudio de 2015 reportó que el CaP derivado de células troncales de origen basal es más agresivo que el resto de los subtipos (27).

La transformación maligna de la próstata es un proceso secuencial que inicia con la aparición de una neoplasia intraepitelial (PIN), la cual clínicamente no es detectable. Posteriormente, el tumor progresa formando un adenocarcinoma localizado, clínicamente

detectable y con la capacidad de invasión local. Finalmente, este proceso culmina con la migración e invasión de células tumores a otros tejidos como son los ganglios linfáticos, hígado, pulmón y hueso (CaP metastásico). Una de las características principales del CaP es su dependencia hormonal, por lo que actualmente se incluye como tratamiento estándar la terapia de deprivación androgénica. No obstante, la supresión hormonal en este cáncer puede resultar en el desarrollo de tumores resistentes a la castración, anteriormente denominados como hormo-independientes (Figura 12) (27).

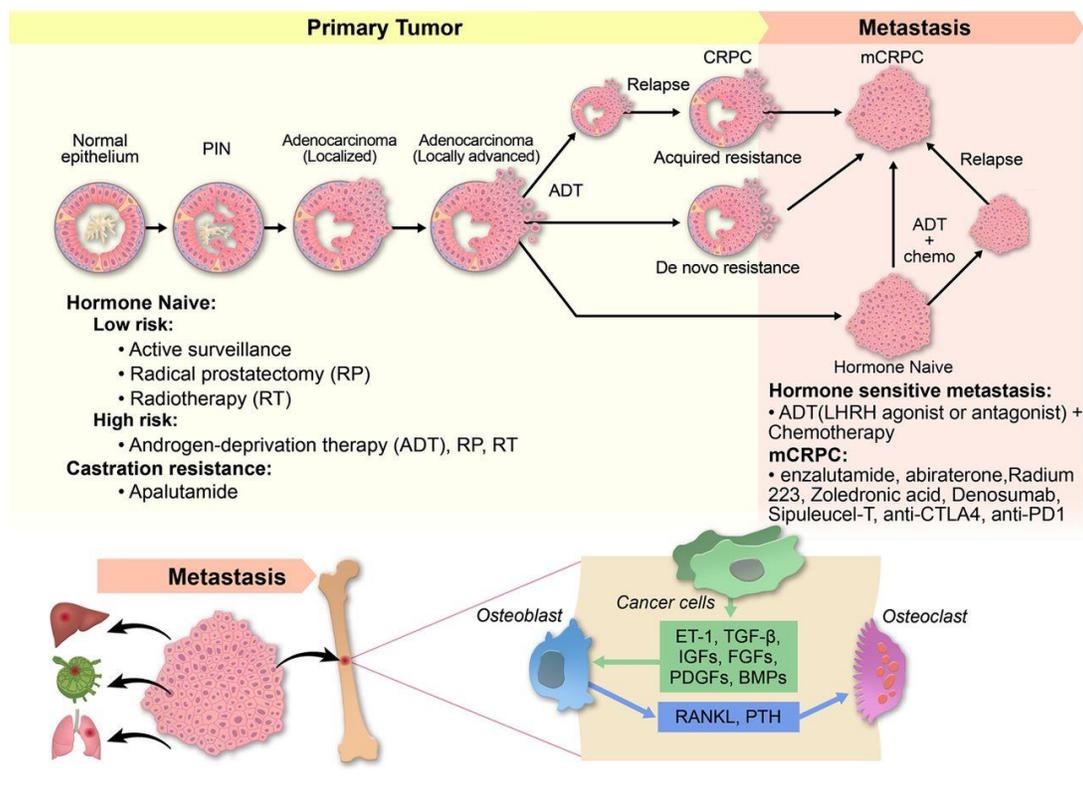


Figura 12. Progresión del CaP y desarrollo de metástasis resistentes a la castración.

1.4 Factores de riesgo

Un factor de riesgo es todo aquello que aumenta la probabilidad de que una persona desarrolle cáncer. Si bien los factores de riesgo pueden influir en el desarrollo del cáncer, la mayoría no es una causa directa de esta enfermedad, ya que algunas personas que tienen varios factores nunca desarrollan cáncer, mientras que sí lo hacen otras personas sin factores de riesgo conocidos.

En la actualidad se han descrito diversos factores de riesgo para el desarrollo de CaP, que incluyen entre otra edad, raza, factores genéticos, exposición a factores ambientales y estilo de vida.

1.4.1 Edad

La edad es uno de los factores de riesgo más importantes para el desarrollo del CaP, ya que existe una relación directamente proporcional entre el incremento de edad y un mayor riesgo de desarrollar esta patología (28,29). De hecho, se ha descrito que raramente se diagnostica en hombres con edad menor a los 50 años y su prevalencia aumenta conforme la edad avanza y más de 75% de los pacientes con CaP tienen una edad mayor a 65 años. Probablemente esto se debe a que inicialmente aparecen proliferaciones acinares atípicas y PIN de bajo grado, las cuales requieren de un periodo de latencia mínimo de 20 años para su aparición. Posteriormente, la transformación a PIN de alto grado requiere de 10 años adicionales, para finalmente convertirse en un carcinoma clínicamente detectable en un periodo evolutivo de 5 a 15 años adicionales.

1.4.2 Raza

Las tasas de incidencia anual de CaP ajustadas por edad presentan variaciones significativas entre países y grupos étnico-raciales. El grupo étnico con mayor riesgo de padecer CaP es el afroamericano ya que se ha demostrado una mayor incidencia de esta enfermedad en hombres de raza negra comparativamente con otros grupos étnicos como los caucásicos, los hispanos o los asiáticos. De hecho, en este grupo étnico, el riesgo de desarrollar CaP incrementa después de los 40 años. Asimismo, los hombres de raza negra poseen mayor probabilidad de ser diagnosticados en una etapa avanzada y tienen más del doble de probabilidad de morir de cáncer de próstata en comparación con los hombres de raza blanca (30). De manera contraria, los hombres de origen asiático presentan la menor tasa de incidencia, así como de índice de mortalidad por esta enfermedad al compararse con el resto de los grupos étnicos (31). Las causas de esta diferencia aún permanecen sin determinarse.

El CaP es más común en Norteamérica y en la región noroeste de Europa, Australia, y en las islas del Caribe. Es menos común en Asia, África, Centroamérica y Sudamérica.

Las razones de esto no están claras. Es probable que el uso más intenso de pruebas de detección para el cáncer de próstata en algunos países desarrollados sea responsable por lo menos en parte de esta diferencia.

1.4.3 Antecedentes familiares

Diversos estudios epidemiológicos han sugerido que esta patología puede ser hereditaria, ya que se ha reportado que, si familiares en primer grado padecen CaP, el riesgo de padecer esta enfermedad se duplica. Asimismo, el riesgo aumenta de manera significativa en el caso de los hombres que tienen varios familiares afectados, particularmente si tales familiares eran jóvenes cuando se les diagnosticó el cáncer (32). Este tipo de CaP se conoce como síndrome familiar de CaP que constituye entre el 13 al 26% del total de tumores. Los mecanismos propuestos incluyen mutaciones alélicas de alta penetrancia, que se transmiten de forma autosómica dominante, siguiendo los patrones clásicos de herencia mendeliana (32).

1.4.4 Genética

Actualmente se han identificado algunos genes que confieren susceptibilidad o bien aumentan el riesgo de desarrollar CaP; sin embargo, se ha estimado que los cambios en estos genes son responsables únicamente de entre el 5 al 10% de todos los casos. Entre los genes identificados se encuentran los genes HPC1 (Hereditary Prostate Cancer-1) /RNase L, HPC2/ELAC2 y MSR1 (macrophage scavenger receptor-1) (Figura 13). Por otra parte, estudios con pacientes que padecen CaP hereditario o síndrome familiar, mostraron que genes relacionados con cáncer de mama y ovario como el BRCA1 y BRCA2 también se asocian con esta patología (33).

Tabla 1. Genes candidatos asociados al CaP

Localización Cromosómica	Gen	Referencias bibliográficas
1q23-25	HPC1 region/RNaseL	Carpten et al (21)
1q42.2-43	PCAP	Berthon et al (22)
1p36	CAPB	Gibbs et al (23)
17p	HPC2 region/ELAC2	Tavtigian et al (24)
8p22-23	MSR1	Xu, et al (25)

HPC: gen del cáncer de próstata hereditario (hereditary prostate cancer gen); PCAP: gen putativo para la predisposición a cáncer de próstata (putative predisposing for prostate cancer gen); MSR: gen receptor basurero de macrófagos (macrophage scavenger receptor gen)

Figura 13. Genes involucrados en el cáncer de próstata.

1.4.5 Estilo de vida

Los hábitos higienico-dietéticos y adicciones han sido asociadas a un mayor riesgo de desarrollar CaP. Por ejemplo, los hombres que consumen en cantidades significativas carne roja o productos lácteos altos en grasa parecen tener una probabilidad ligeramente mayor de padecer CaP. Asimismo, algunos estudios han sugerido que los hombres que consumen una gran cantidad de calcio (proveniente de alimentos o complementos) también pueden tener un mayor riesgo de padecer esta enfermedad (34)

Por otra parte, diversos estudios han asociado la obesidad (IMC >30) con mayor riesgo de desarrollar CaP localizado y metastásico, así como con una mayor mortalidad (35). Esta asociación puede explicarse por los mecanismos metabólicos y hormonales propios de la obesidad que se asocian con procesos inflamatorios o bien la liberación de diferentes hormonas que estimulan la angiogénesis y proliferación celular tal como la leptina y adiponectina que forma parte de las adipocitocinas (36).

Asimismo, se ha postulado que la sexualidad puede ser un factor de riesgo para el desarrollo de este cáncer, sin embargo, esto no ha sido totalmente demostrado ya que algunos estudios han relacionado el estado marital y la frecuencia de CaP en orden decreciente de la siguiente manera: soltero, casado, viudo y divorciado (37). El mecanismo que se ha propuesto es la presencia de infecciones de transmisión sexual como gonorrea o clamidia que podrían inducir un proceso inflamatorio que aumentara el riesgo de padecer esta neoplasia.

Finalmente, el tabaco también es un factor de riesgo para el CaP, ya que se ha descrito que los fumadores de más de 20 cigarrillos al día tienen un riesgo 2 a 3 veces mayor en comparación con los no fumadores. Los mecanismos que se han propuesto incluyen tanto daño al DNA por el incremento de especies reactivas de oxígeno ocasionado por el estrés oxidativo generado por los componentes del cigarro, así como un incremento en andrógenos o bien la presencia de disruptores endocrinos en el humo de cigarro que estimulan el crecimiento y proliferación de las células prostáticas (38).

1.4.6 Inflamación

Actualmente, se ha demostrado tanto por estudios epidemiológicos como histopatológicos que la inflamación contribuye como uno de varios factores asociados al desarrollo de CaP. De hecho, desde 1999 se propuso que la atrofia inflamatoria proliferativa (PIA), lesión localizada en la zona periférica de la glándula con células epiteliales altamente proliferativas y frecuentemente acompañada de inflamación, es la lesión precursora de PIN y CaP. Asimismo, se ha estimado que la quinta parte del total de casos de CaP son el resultado de una inflamación crónica debido a la presencia de

agentes infecciosos o bien factores ambientales. Los mecanismos moleculares responsables de esta asociación aún no han sido determinados completamente, sin embargo, se ha propuesto que el proceso inflamatorio genera especies reactivas de oxígeno tales como iones de oxígeno, óxido nítrico, superóxido y peróxido de hidrogeno, las cuales dañan el DNA de las células epiteliales prostáticas induciendo mutaciones, deleciones y rearrreglos que favorecen la transformación precancerosa de las células.

1.4.7 Factores de crecimiento y hormonales

El crecimiento de las células de CaP depende, como en cualquier otro tipo de neoplasia, en la relación que existe entre la proliferación y la muerte celular. Como se mencionó anteriormente, los andrógenos influyen en el desarrollo, maduración y crecimiento de la próstata afectando de manera importante la proliferación y diferenciación de las células epiteliales. Durante el CaP, esta hormona también regula de manera importante la proliferación celular, de hecho, se demostró desde hace 70 años que la privación de andrógenos por orquidectomía causa regresión de los tumores en la glándula prostática. Actualmente se ha demostrado que el factor predominante no son los andrógenos *per se*, sino que en realidad es la actividad desregulada del AR como sucede en los pacientes con cáncer de próstata resistente a la castración. Los mecanismos principales que inducen la proliferación dependiente del AR incluyen sobreexpresión y/o mutaciones con pérdida de la especificidad y por lo tanto la activación por otros esteroides como progesterona, estrógenos o glucocorticoides de este receptor, o bien activación dependiente de vías de señalización inducidas por receptores de tirocincinasa como PI3K/AKT/mTOR y HER2.

Los andrógenos no son las únicas moléculas que afectan la proliferación celular en el CaP, ya que se ha descrito que los factores pertenecientes a la familia del factor de crecimiento de fibroblastos y los factores de crecimiento similares a la insulina también tienen un efecto proliferativo. Asimismo, recientemente se describió la participación de una proteína denominada progranulina (PGRN), también conocido como proepitelina, precursor de granulina-epitelina, acrogranina y factor de crecimiento derivado de células

PC, en la proliferación, migración, invasión y crecimiento independiente de adhesión en líneas celulares derivadas de CaP (39). Más aun, en 2018 se reportó por primera vez que la concentración sérica de PGRN en pacientes con CaP difiere significativamente dependiente de la edad y la puntuación de la escala de Gleason, además de que estas concentraciones se asocian con la prognosis de la enfermedad (40).

La PGRN es una glicoproteína de secreción con un peso molecular aproximado de 67-88 kDa que originalmente se purificó a partir de los testículos de cobaya (41). El gene que codifica para la PGRN humana contiene 13 exones y se localiza en el brazo largo del cromosoma 17, específicamente en la banda 17q21.23 y se sintetiza en forma de preprogranulina con 593 aminoácidos de los cuales el 15% son residuos de cisteínas (41,42). Estructuralmente, la PGRN consiste en siete y medio repeticiones en tándem de los dominios denominados granulina/epitelina. La proteína intacta es codificada por 12 de los 13 exones presentes en el gen. Una vez secretada, la PGRN es procesada enzimáticamente para liberar los fragmentos o péptidos individuales de granulinas (42,43). Las proteasas que se han identificado como responsables de este procesamiento son entre otras la elastasa de neutrófilos, metaloproteasa de matriz extracelular (MMP-) 9, MMP-12 y MMP-14 (43).

La regulación de la expresión de PGRN en CaP aún no ha sido estudiada, sin embargo, en otros tipos de cáncer, moléculas como LPA, IL-6 e hipoxia han sido reportadas como sus inductores (44). Las vías de señalización predominantes para iniciar la síntesis de PGRN incluyen la activación de proteincinasa B (AKT), diana de rapamicina en células de mamífero (mTOR), cinasas activadas por mitógeno (MAPK), cinasas reguladas por señales extracelulares (ERK) 1/2 y proteincinasa C (PKC) (45).

1.4.8 Factores ambientales y ocupacionales

Diversos estudios epidemiológicos han intentado correlacionar la exposición a diversos agentes tanto ambientales como ocupacionales con el CaP; sin embargo, hoy en día los resultados son inconclusos y depende específicamente del agente estudiado.

1.4.8.1 Pesticidas

La interpretación del análisis de la asociación entre pesticidas y CaP es compleja debido a la gran cantidad de principios activos, así como a la exposición crónica a bajas concentraciones de la población general por vía indirecta a través de alimentos, agua y aire. Sin embargo, diversos estudios en los años 90 demostraron mayor incidencia y mortalidad por CaP de varones en zonas rurales con fuerte actividad agrícola comparados con varones de otras zonas (46, 47,48). Estos estudios plantearon la posibilidad de que el uso de pesticidas pudiera estar asociado a esta neoplasia, sin embargo, no se descartaron otros factores como estilo de vida, dieta, factores infecciosos, entre otros.

Durante la última década, se han analizado poblaciones específicas con exposición regular a diversos pesticidas como son agricultores y trabajadores en la producción y aplicación de estos compuestos. De manera general, estos estudios reportaron un incremento del riesgo a padecer CaP entre el 12 y 13% en los aplicadores de pesticidas y de un 28% en los trabajadores de la fabricación (49,50,51). En lo que respecta a los agricultores, el *Agricultural Health Study*, realizado en Estados Unidos durante 1993 y 2002 demostró un incremento del 14% en el riesgo de desarrollar CaP (52).

Ahora bien, el análisis detallado de estos estudios mostró los pesticidas específicos que se asocian con un incremento en el riesgo de padecer CaP. Por ejemplo, los pesticidas organoclorados como el clordano, heptacloro y lindano se asocian con un incremento significativo en el riesgo de CaP, mientras que con las triazinas únicamente se observa un incremento ligero no significativo. Por su parte, los pesticidas organofosforados y carbamatos no se asocian con el incremento a desarrollar CaP (53). De manera interesante, el carbofurano y cumafós se asocian con esta neoplasia únicamente en varones con una historia familiar previa de CaP (54). Asimismo, en el caso específico del DDT y el bromuro de metilo, la asociación ocurre en varones mayores de 50 años (48).

1.4.8.2 Herbicidas

Los herbicidas son compuestos químicos encargados de destruir o impedir el desarrollo de plantas herbáceas. Uno de los productos más conocidos de este tipo de sustancias es el agente naranja, el cual fue utilizado indiscriminadamente por el ejército de Estados Unidos durante la guerra de Vietnam entre 1962 y 1971. Este herbicida, que es una mezcla del ácido 2,4-diclorofenoxiacético y el ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético, se encuentra contaminada con la 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-*p*-dioxina, compuesto altamente carcinogénico. Dado que los veteranos de guerra encargados de la preparación y distribución del agente naranja son una cohorte única, diversos autores han estudiado en ellos la relación entre la exposición al herbicida con el CaP. Estos estudios han demostrado que varones expuestos al agente naranja tienen mayor riesgo de desarrollar CaP, con edades más tempranas al diagnóstico y con cánceres más agresivos y metastásicos. (55, 56,57).

1.4.8.3 Industria del Caucho

El riesgo carcinogénico de la industria de caucho principalmente por la exposición a aminas aromáticas y solventes durante la fabricación de cables y neumáticos fue descrito entre 1982 y 1987, clasificándose dentro del grupo 1 de acuerdo con la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) (53). En lo que respecta al CaP, los estudios han demostrado resultados contradictorios e inclusive inconsistentes, por lo tanto, se considera que no existe evidencia de que la exposición a los diferentes compuestos en la fabricación de cables o neumáticos incremente el riesgo de padecer CaP (58, 59, 60,53).

1.4.8.4 Metales Pesados

La exposición a metales pesados a través del consumo de tabaco, la ocupación y la dieta ha sido implicada en la patogénesis del CaP. De todos los elementos estudiados, resalta de manera interesante la presencia o ausencia de cuatro elementos importantes, el zinc, plomo, cromo y cadmio. En relación con el zinc, estudios epidemiológicos han mostrado que niveles bajos de este elemento se relacionan directamente con la recurrencia de la enfermedad. De hecho, el tejido prostático maligno tiene entre 60 y 70% menos concentración de zinc comparativamente con el tejido prostático normal (61). Asimismo, se ha demostrado una mayor proporción de casos de CaP en zonas con niveles reducidos de zinc en el suelo (62).

Por su parte, el aumento de plomo en sangre debido a la exposición ocupacional juega un papel importante en el desarrollo de esta enfermedad, ya que se ha encontrado mayor concentración de este metal en pacientes con CaP en comparación con los controles respectivos. Esta asociación posiblemente se debe a la generación de especies reactivas de oxígeno (63).

El cromo es otro metal pesado que se ha asociado con un incremento significativo en el riesgo de padecer CaP. Las fuentes de exposición más comunes a este metal incluyen la manufactura de acero, lo que ocurre principalmente durante la etapa de pulido que produce partículas suspendidas y en la construcción mediante la exposición de compuestos de cromo contenidos en el cemento (53).

Finalmente, en lo que respecta al cadmio (Cd), los resultados obtenidos hasta hoy en día son inconsistentes, ya que algunos estudios realizados encuentran aumento significativo de la agresividad y riesgo a padecer CaP en varones expuestos a través de la dieta, ocupación y/o tabaquismo (64). Asimismo, el análisis de tejidos derivados de cáncer de próstata mostró una relación positiva entre las concentraciones de este metal y el grado histológico. Más aun, estas concentraciones fueron mayores al compararse con tejidos provenientes de hiperplasia prostática (65). Por el contrario, otros autores han encontrado que la asociación entre las concentraciones de este elemento en uñas con un mayor riesgo de presentar esta enfermedad no tiene una significancia estadística (66).

Además, otros estudios demostraron incrementos no significativos en la incidencia y mortalidad por CaP en hombres ocupacionalmente expuestos (67,68).

A pesar de los resultados contradictorios en la relación de la exposición a Cd con incremento en el riesgo a desarrollar CaP, se ha considerado que, por su potencial carcinogénico, este metal es un inductor importante de esta neoplasia.

1.5 Cadmio como inductor de CaP

El Cd es un elemento electropositivo perteneciente al grupo de los metales de transición que fue descubierto en Alemania en 1817 por Friedrich Stromeyer, como una impureza en el carbonato de zinc (69). Su número en la tabla periódica y su peso atómico son 48 y 112.4, respectivamente. El Cd normalmente se encuentra en concentraciones bajas de forma natural en la corteza terrestre; sin embargo, actualmente las concentraciones a las que la población se encuentra expuesta se han incrementado como resultado de su uso industrial como componente de pilas de níquel-cadmio, pigmentos, plásticos y fertilizantes, así como en la industria de la fundición.

1.5.1 Exposición

Las vías principales de exposición al Cd son la gastrointestinal por ingesta de alimentos contaminados y la inhalación de partículas suspendidas en el aire. Las fuentes principales incluyen vegetales y granos de cereales como arroz y trigo que acumulan concentraciones considerables de este metal a partir del suelo. También se han encontrado niveles significativos de este compuesto en mariscos, así como en hígado y riñones de diferentes tipos de ganado. Las partículas suspendidas en el aire son consecuencia de la emisión industrial. Otra fuente de exposición no ocupacional al cadmio por inhalación es el consumo de tabaco a través de los cigarrillos, de hecho, se cree que el tabaquismo duplica la vida media de la carga corporal de este metal. (70).

1.5.2 Absorción

La absorción del Cd por vía gastrointestinal es limitada ya que solamente entre el 5 y 10% de la cantidad ingerida es absorbida; sin embargo, este porcentaje puede incrementarse significativamente si existe una deficiencia de calcio y/o hierro en la dieta o bien la dieta es baja en proteínas (71).

Por su parte, la absorción pulmonar, como con cualquier sustancia tóxica, depende del sitio de depósito y el tamaño de la partícula. En el caso del cadmio, la absorción después de su inhalación alcanza entre el 5 y 35 % del total de la dosis expuesta. Específicamente con el humo del cigarro, este porcentaje se eleva hasta un 50%, considerándose que se absorbe el 100% de lo que llega al alveolo (72).

1.5.3 Transporte y distribución

La información en relación con el transporte de Cd en humanos desde el sitio de absorción hasta los diferentes órganos es escasa; sin embargo, se sabe que este metal es transportado en el torrente sanguíneo unido a la albumina u otras proteínas plasmáticas ricas en cisteína o grupos tiol de alto y bajo peso molecular en donde se incluyen las metalotioneínas (MT). La proporción de Cd unido a las MT y otras proteínas varía dependiendo del tipo y tiempo de exposición. Por ejemplo, en etapas tempranas (menos de 24 horas) el Cd se une principalmente a proteínas de alto peso molecular como la albumina; mientras que en etapas tardías (mayores de 24 horas), se une principalmente a proteínas de bajo peso como las MTs y glutatión (73, 74, 75,76).

El Cd transportado en torrente sanguíneo es incorporado rápidamente a diversos tejidos a través de un mecanismo mediado por canales de calcio, e induce la síntesis de la metalotioneína, proteína de bajo peso molecular y con alta afinidad de unión a este elemento, la cual es la encargada de la detoxificación del cadmio. Los complejos cadmio-metalotioneína se almacenan principalmente en el hígado; sin embargo, pueden ser liberados y transportados hasta los riñones donde son reabsorbidos y degradados en los lisosomas de los túbulos renales, liberando el cadmio que causa toxicidad renal (77).

1.5.4 Excreción

El Cd absorbido es excretado principalmente por orina y heces fecales con una tasa de excreción muy baja, siendo únicamente entre el 0.005 y 0.015% de la carga corporal total (78). En el caso de la excreción urinaria, la cantidad de Cd eliminada correlaciona directamente con la cantidad de MT en orina y depende en gran medida de la edad (79). En contraste, la excreción fecal no depende de la edad y tiene una relación directa con la cantidad ingerida diariamente (80). El mecanismo de excreción fecal incluye el transporte de Cd a través de la mucosa intestinal y la secreción biliar, la cual depende, en parte, de la formación de complejos con glutatión (81,82). Otras vías de excreción de Cd incluyen sudor, cabello y leche materna, sin embargo, éstas no son de importancia para la excreción total ni significativas para la vida media de este metal (83,84,85).

1.6 Mecanismos moleculares de la carcinogénesis prostática inducidos por Cd

A pesar de la inconsistencia de los datos para asociar el CaP con la exposición a Cd, diversos estudios han descrito los mecanismos moleculares por los cuales el Cd induce la transformación maligna de células prostáticas normales. Por ejemplo, se ha demostrado que el Cd es capaz de modular la actividad transcripcional del AR, ya que revierte la sumoilación por estimulación de la proteasa 1 específica de SUMO (SENP1) (86). Asimismo, otro estudio demostró que la secreción de TGF- β a partir de células epiteliales transformadas por Cd altera el fenotipo de células normales pluripotenciales de próstata a un fenotipo cancerígeno, además de inducir la expresión de genes asociados a la transición epitelio-mesénquima como la MMP-2, MMP-9, Snail1, entre otros (87).

Otros mecanismos descritos por los cuales el Cd puede inducir la transformación maligna de la línea celular RWPE-1, la cual es derivada de epitelio normal de próstata, incluyen aumento en la resistencia a la muerte celular por apoptosis mediante la inhibición de la expresión de BAX y las caspasas 3, 4, 5, 8 y 9 así como inducción de BCL-2 e incremento de la invasividad debido a inducción de la expresión de MMP-9 y MMP-2 (88,89).

El estado de metilación del ADN celular es otro mecanismo importante para el desarrollo de cáncer. En este sentido, el cadmio induce hipermetilación de genes supresores de tumores durante la transformación maligna de células epiteliales de próstata, debido a un incremento en la expresión y actividad de las DNA metiltransferasas, específicamente la DNMT3b (90).

La modulación de las vías de transducción de señal son eventos claves para la transformación maligna de células epiteliales normales de próstata y de la línea celular RWPE-1. Las vías de señalización que se alteran principalmente en células epiteliales de próstata expuesta a Cd son fosfatidilinositol-3-cinasa, Akt, proteínas cinasas activadas por mitógenos, cinasas reguladas por señales extracelulares, factor nuclear κ B, proteína de unión a elementos de respuesta de cAMP y fosfolipasa C (91,92). Los genes estimulados por estas vías de señalización incluyen c-Jun, c-Fos y c-myc, sin embargo, aún es necesario establecer cuáles son las moléculas efectoras finales de la activación de estas vías. En este sentido resalta de manera interesante que el Cd induce la activación de la vía PI3K/AKT/mTOR, misma que tiene efecto en la expresión de PGRN, la cual se ha asociado con el CaP. Es por esto, que la presente tesis pretende evaluar el efecto del Cd en la expresión de PGRN como uno de los factores de crecimiento inducidos por este metal, en la línea celular derivada de cáncer de próstata, PC-3.

JUSTIFICACIÓN

El CaP en México es un problema de salud pública debido a que es la primera causa de muerte por cáncer en hombres mayores de 60 años. En sus etapas iniciales, el CaP depende de los andrógenos para su proliferación, por lo cual el tratamiento clásico consiste en bloquear la acción de éstos, resultando en una disminución del crecimiento del tumor. A pesar de ello, eventualmente, el CaP se vuelve independiente de los andrógenos, reanudando su crecimiento en una forma más agresiva. Se han implicado factores ambientales en el desarrollo de este cáncer, existiendo una gran variedad de estudios ambientales y ocupacionales en donde se reconoce al Cd como parte de la etiología de esta enfermedad. Los mecanismos moleculares por los cuales induce la transformación celular, la progresión a un CaP andrógeno-independiente y la metástasis aún no se ha establecido; sin embargo, es claro que la carcinogénesis inducida por Cd en otros órganos y tejidos incluye cambios en la expresión génica que afectan la proliferación, diferenciación y muerte celular. Por lo anterior, es que es necesario una investigación sobre los mecanismos inducidos por Cd que podrán participar en la génesis y progresión de esta neoplasia. Por lo, que conocer los mecanismos moleculares por los cuales el Cd induce el desarrollo del CaP ofrece la posibilidad de identificar nuevos biomarcadores y blancos terapéuticos para el diagnóstico y tratamiento de esta patología.

HIPÓTESIS

Si se expone la línea celular PC-3 derivada de CaP a diferentes concentraciones de Cd, la expresión de PGRN se incrementará en forma dosis-dependiente.

OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

- Analizar la expresión de PGNR en cultivos de líneas celulares derivadas de CaP por la exposición a diferentes concentraciones de Cd.

4.2 Objetivos particulares

- Caracterizar el efecto de Cd en la viabilidad de la línea celular derivada de CaP denominada PC-3.
- Establecer si la exposición de la línea celular PC-3 a diferentes concentraciones de Cd induce la expresión de PGRN.

MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Estrategia experimental

El desarrollo experimental de este trabajo se llevó a cabo utilizando la línea celular PC-3 (Figura 14) (adquirida en la ATCC, EUA), la cual proviene de un adenocarcinoma prostático grado IV, el cual se obtuvo de un sitio de metástasis a hueso y es independiente de andrógenos. Asimismo, no expresa PSA. Estas células se incubaron en presencia de diferentes concentraciones de CdCl₂ durante 24 y al término de este período, se determinó la viabilidad celular y la expresión de PGRN (Figura 15).

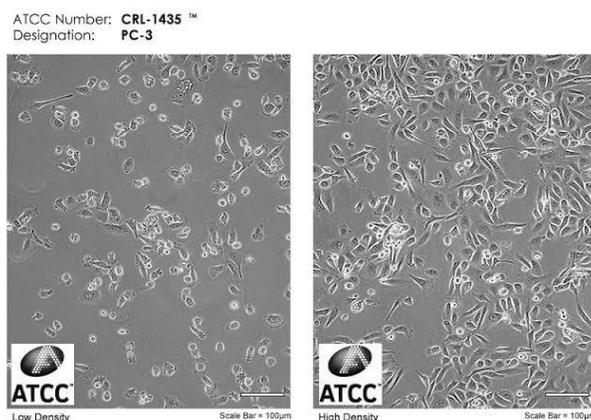


Figura 14. Línea celular PC-3.

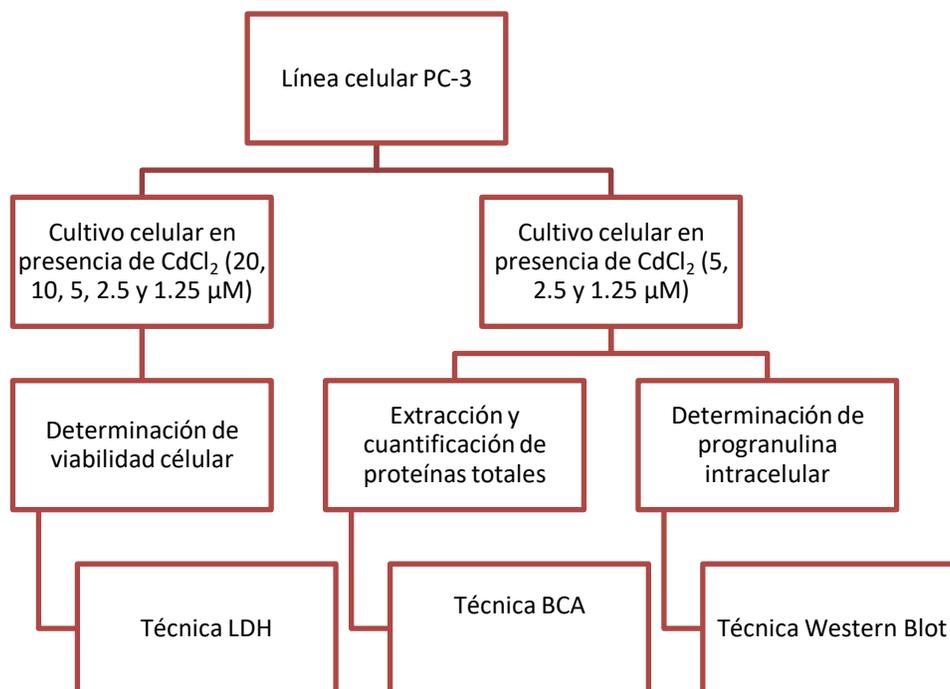


Figura 15. Diagrama del desarrollo experimental.

5.2 Cultivo celular

Las células PC-3 se mantuvieron en cultivo utilizando botellas de poliestireno de 25 cm² (Corning Inc., EUA) empleando medio Roswell Park Memorial Institute (RPMI)-1640 (ThermoFisher, EUA), el cual fue complementado con 10% de suero fetal bovino (SFB), 1mM de piruvato de sodio y una mezcla de penicilina 100 U/mL, estreptomina 100 μg/mL y anfotericina B 0.25 μg/mL (RPMI-C) (ThermoFisher, EUA). Esta línea celular se incubó a 37°C en una atmosfera de 5% de CO₂.

5.3 Ensayo de viabilidad celular

La viabilidad de la línea celular PC-3 en presencia de diferentes concentraciones de CdCl_2 se determinó mediante la detección de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) liberada al medio de cultivo por células que pierden la integridad de su membrana plasmática, utilizando el estuche comercial CytoTox 96 non-radioactive cytotoxicity assay (Promega Corp., EUA). Se sembraron 1×10^4 células por pozo en una placa de 96 pozos utilizando 100 μL de RPMI-C. Después de 24 h de incubación a 37°C en atmósfera de 5% de CO_2 , el medio de cultivo fue reemplazado por medio de cultivo sin rojo de fenol ni SFB conteniendo diferentes concentraciones (20, 10, 5, 2.5 y 1.25 μM) de CdCl_2 (Sigma-Aldrich Corp., EUA).

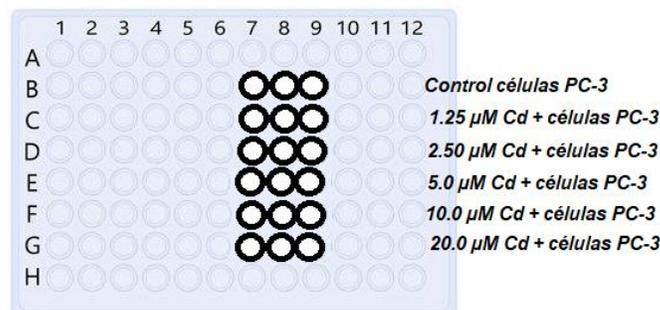


Figura 16. Esquema de distribución celular en la placa de 96 pozos para el ensayo de viabilidad de células PC-3 con diferentes concentraciones de Cd.

Transcurridas 24 h más de incubación a 37°C en ambiente húmedo y con 5% de CO₂, se transfirieron 50 µl del sobrenadante de cada pozo a un pozo nuevo. En los pozos donde se encuentran las células se agregaron 5 µl de Tritón X-100 al 1% y la placa se incubó nuevamente a 37°C en ambiente húmedo y con 5% de CO₂ durante 45 minutos.

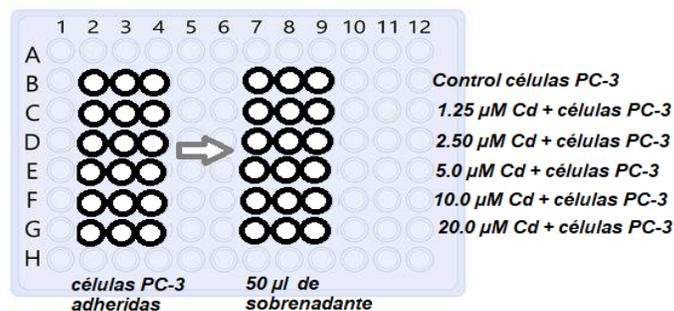


Figura 17. Esquema de distribución celular en la placa de 96 pozos para el ensayo de viabilidad al transferir sobrenadante de células PC-3 con diferentes concentraciones de Cd.

Al término de esta incubación, se adicionaron con 50 µl de sustrato a cada pozo y la actividad de LDH se cuantificó mediante espectrofotometría a 490 nm utilizando un lector de placas (Bio-Rad, EUA). La liberación máxima se obtuvo considerando las células que se incubaron con Tritón X-100 al 1%. Los resultados se expresaron en porcentaje de viabilidad, calculado con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Viabilidad} = 100 \times \left[1 - \left(\frac{\text{Liberación espontánea de LDH}}{\text{Máxima liberación de LDH}} \right) \right]$$

5.4 Exposición de células PC-3 al cadmio

La exposición de las células PC-3 se llevó a cabo en placas de 12 pozos, en donde se sembraron 1.5×10^5 células por pozo en 1 mL de RPMI-C, y se incubaron a 37°C en ambiente húmedo y con 5% de CO_2 durante 24 h. Transcurrido este tiempo, el medio de cultivo fue reemplazado por 1 mL de medio fresco sin rojo de fenol ni SFB conteniendo diferentes concentraciones de CdCl_2 (5, 2.5 y $1.25 \mu\text{M}$). Las células se incubaron durante 24 h adicionales en las mismas condiciones y posteriormente se obtuvieron lisados celulares, los cuales fueron almacenados a -80°C hasta su uso.

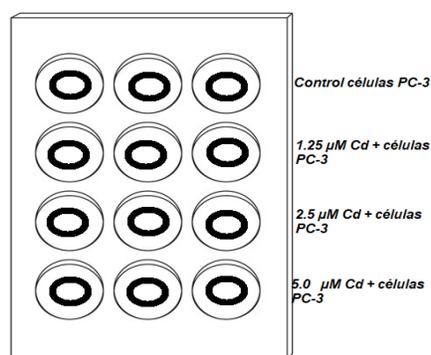


Figura 18. Esquema de distribución celular en la placa de 16 pozos para exposición de células PC-3 con diferentes concentraciones de Cd.

5.5 Extracción de proteínas

Las células estimuladas se lavaron con 500 μL de PBS y después fueron lisadas con 70 μL de buffer de lisis (Cell Signaling, EUA) complementado con inhibidores de proteasas y fosfatasa (Complete Mini, EDTA-free Protease Inhibitor Cocktail; Sigma Aldrich, EUA) durante 5 minutos a 4°C . Los lisados fueron centrifugados a 10,000 rpm durante 10 minutos a 4°C , y la concentración total de proteínas se cuantificó mediante el ensayo del ácido bicinonínico (BCA).

5.6 Cuantificación de proteínas

La cuantificación de proteínas totales del lisado celular se determinó utilizando el estuche comercial Pierce BCA Assay (Pierce, EUA), siguiendo las instrucciones del fabricante. Brevemente, se elaboró una curva estándar utilizando albumina sérica bovina (BSA) de acuerdo con las indicaciones mostradas en la tabla 1. Cada muestra fue diluida con SDS al 0.01% como se indica en la tabla 2.

Tabla 1. Preparación de la curva estándar para la cuantificación de proteínas

Tubo	Preparación	Concentración (µg/mL)
1	50 µL de 600 µg/mL de BSA + 950 µL de SDS al 0.01%	30 µg
2	500 µL del tubo 1 + 500 µL de SDS al 0.01%	15 µg
3	500 µL del tubo 2 + 500 µL de SDS al 0.01%	7.5 µg
4	500 µL del tubo 3 + 500 µL de SDS al 0.01%	3.7 µg
5	500 µL del tubo 4 + 500 µL de SDS al 0.01%	1.8 µg
6	500 µL del tubo 5 + 500 µL de SDS al 0.01%	0.9 µg
7	500 µL de SDS al 0.01%	0 µg

Tabla 2. Diluciones de las muestras.

Tubo	Preparación	Dilución
Muestra	10 µl de muestra + 740 µL de SDS al 0.01%	1:74
B	250 µl del tubo muestra A + 500 µL de SDS al 0.01%	1:250
C	250 µl del tubo B + 500 µL de SDS al 0.01%	1:750

Las muestras y la curva estándar se incubaron con 500 µL del reactivo BCA preparado previamente con 10 mL del reactivo A y 200 µL de reactivo B durante 30 minutos a 60°C. Terminado el tiempo de incubación, se dejaron enfriar las muestras y se determinó la absorbancia a 562 nm.

5.7 Análisis de la expresión de progranulina mediante Western Blot

Para el análisis de la expresión de PGRN, una fracción de la proteína total obtenida del lisado celular (5 μ g) se desnaturalizó en buffer de Laemmli que contenía 400 mM de ditioneitol (DTT) a 95° C durante 10 minutos. A continuación, las proteínas fueron separadas por electroforesis en gel de policacrilamida al 10% en condiciones desnaturizantes en presencia de SDS, durante 2.5 h a 25 mA. Posteriormente, las proteínas fueron transferidas a una membrana de fluoruro de polivinilideno (PVDF) a 25 mA durante 16 h a 4° C.

Después de la transferencia, las membranas se bloquearon 1 h a temperatura ambiente con buffer salino-Tris conteniendo 0.1% de tween-20 (TBS-T) y 5% de leche descremada. Posteriormente, las membranas se incubaron en presencia del anticuerpo anti-PGRN a una dilución de 1:2,000 en TBS-T a 4°C en agitación durante toda la noche. Para la detección de β -actina se utilizó un anticuerpo monoclonal (Abcam, GB) a una dilución 1:3,000. Transcurrido este tiempo, las membranas se lavaron con TBS-T (3 veces por 15 minutos) e incubaron con los anticuerpos secundarios anti-IgG de conejo y anti-IgG de ratón, respectivamente, conjugados con peroxidasa (Jackson ImmunoResearch, EUA) a una dilución de 1:10,000 en TBS-T con 5% de leche descremada a temperatura ambiente en agitación durante 1.5 horas. Posteriormente, las membranas fueron lavadas tres veces con TBS-T y la PGRN fue detectada utilizando el reactivo de quimioluminiscencia Super Signal West Femto Substrate (ThermoFisher Scientific, EUA), de acuerdo con las indicaciones del fabricante. El revelando de las membranas se realizó con el equipo C-Digit® Blot Scanner (LI-COR, Inc., EUA) y la intensidad de las bandas fue analizada con el programa "Image Studio Lite". Finalmente, los niveles de PGRN fueron normalizados contra los niveles de β -actina.

5.8 Análisis Estadístico

El análisis estadístico de las variables experimentales se realizó usando el programa Prism 6.0 para Mac (GraphPad Software, Inc., EUA) en el cual se hizo la prueba de análisis de varianza ANOVA, seguida de la prueba de múltiples comparaciones contra el grupo control (método de Dunnett). En ambas pruebas, el límite máximo permitido del valor alfa (α) fue de 0.05 y el valor expresado como p es la significancia existente en cada caso.

RESULTADOS

6.1 Efecto del cadmio en la viabilidad de células PC-3

Con el objeto de establecer el rango de concentraciones no tóxicas de Cd para las células PC-3, se evaluó la viabilidad celular por medio de la liberación de la enzima LDH al medio de cultivo. Los ensayos de exposición de la línea celular PC-3 a concentraciones crecientes de Cd durante 24 h, mostraron que la viabilidad celular se mantiene por arriba del 90% a concentraciones menores de 5 μM , contando con un 100% en una concentración de 1.25 μM , 94.93% en 2.5 μM y 93.68 en 5 μM . Por otra parte, las concentraciones superiores a 10 μM inducen muerte celular estadísticamente significativa con respecto al control, ya que en la concentración de 10 μM fue de 89.07%. En el caso específico de la concentración de 20 μM , la viabilidad alcanzó únicamente el 68% (Figura 19). Por lo tanto, basados en estos resultados, se decidió trabajar con concentraciones menores a 5 μM de Cd durante 24 horas ya que no resultaron citotóxicas para las células.

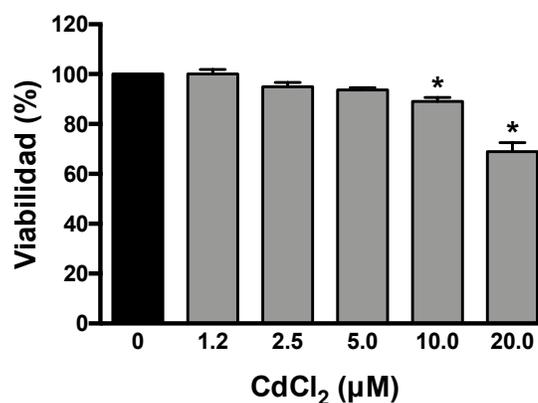


Figura 19. Viabilidad celular de células PC-3 expuestas a diferentes concentraciones de Cd en un periodo de tiempo de 24 horas.

La viabilidad celular fue determinada por la liberación de la enzima LDH al medio de cultivo. Cada barra representa la media \pm EE de tres experimentos realizados por triplicado. La prueba de ANOVA seguida por la prueba de Dunnett mostró significancia estadística con respecto al control ($p < 0.05$; *indica diferencia significativa con respecto al control).

6.2 Efecto del cadmio en la expresión de progranulina a partir de células PC-3.

La determinación de PGRN en células PC-3 incubadas en presencia de CdCl_2 se llevó a cabo mediante la técnica de Western blot. Inicialmente se determinó la cantidad de proteínas totales necesarias para detectar la PGRN. En la figura 20 se observa que, utilizando 5 mg de proteína total, el anticuerpo anti-PGRN detecta tres bandas aproximadamente a 68, 66 y 46 kDa, por lo que se decidió emplear esta cantidad para todos los experimentos.

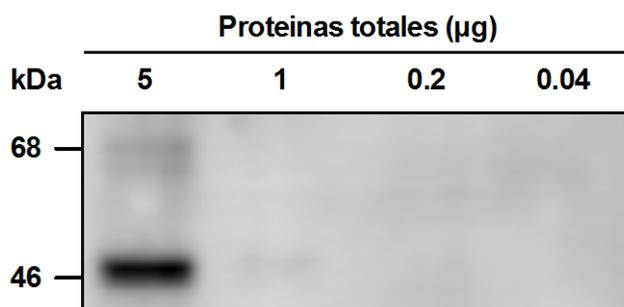


Figura 20. Cantidad de proteínas totales necesarias para la detección de PGRN mediante la técnica de Western blot.

El anticuerpo utilizado detecta tres bandas con pesos aproximados de 68, 66 y 46 kDa.

Una vez establecidas las concentraciones no citotóxicas, así como la cantidad de proteína necesaria para la detección de PGRN en los Western blots, se evaluó la capacidad del Cd para inducir la expresión de PGRN en las células PC-3. Los resultados de la exposición de células PC-3 con concentraciones crecientes de CdCl₂ no mostraron cambio significativo con respecto al control (Figura 21).

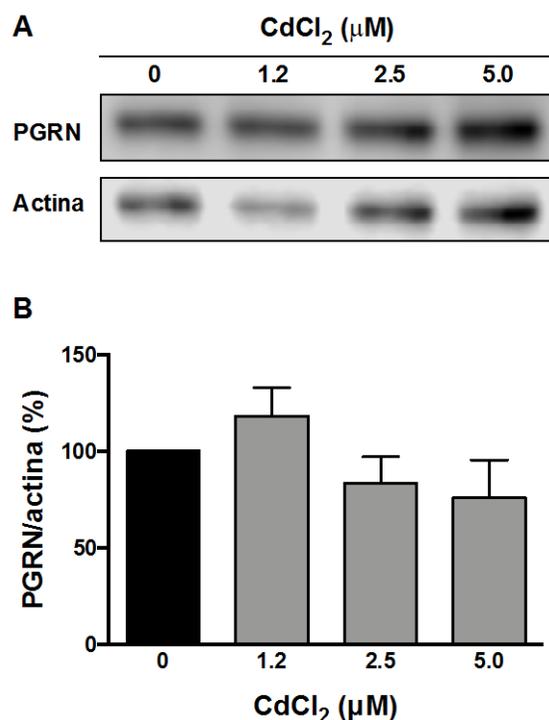


Figura 21. Expresión de PGRN en células PC-3 expuestas a diferentes concentraciones de Cd en un periodo de tiempo de 24 horas.

La expresión de PGRN y β-actina se analizaron mediante la técnica de Western blot (A). Los niveles de expresión fueron cuantificados por densitometría y normalizados contra los niveles de β-actina como control interno. Los valores obtenidos se expresan como cambio porcentual con respecto al control. Cada barra representa la media ± EE de cuatro experimentos (B). La prueba de ANOVA seguida por la prueba de Dunnett no mostró significancia estadística con respecto al control ($p < 0.05$).

DISCUSIÓN

El CaP es un problema de salud pública ya que mundialmente es el cáncer no cutáneo mas frecuente en varones y constituye la segunda neoplasia con mayor mortalidad solo por debajo del cáncer de pulmón. Específicamente en México, el CaP no solo es la primera causa de mortalidad entre las neoplasias masculinas, sino que también ocupa el primer lugar en incidencia y prevalencia en hombres mayores de 60 años. Por todo esto, es necesario estudiar el CaP desde diversos aspectos incluidos los factores de riesgo, el tratamiento y sobretodo la etiopatogenia con el objetivo de reducir su impacto a nivel hospitalario, personal, social y económico.

Entre los factores riesgo asociados con el CaP, resaltan de manera importante los factores ambientales ya que, como consecuencia de las actividades antropogénicas actuales, la exposición a diversos contaminantes se ha incrementado significativamente en la población general. En lo que respecta al Cd, los estudios epidemiológicos de asociación no son concluyentes, de hecho, algunos reportes son contradictorios entre ellos; sin embargo, es necesario considerar las posibles interacciones de este metal con otros compuestos que puedan potenciar o inhibir su efecto carcinogénico. Tal es el caso del zinc, que posee efectos antagónicos al Cd en la próstata. Por lo que aun no se puede descartar que la relación Zn/Cd en el tejido prostático sea de importancia para inducir el desarrollo de CaP (64). El Cd es un metal toxico no esencial que por su vida media biológica se acumula en diversos tejidos siendo la próstata uno de los que contienen mayor concentración (93). Más aún, las investigaciones *in vitro* han descrito diversos mecanismos moleculares por los cuales el Cd pudiera inducir la carcinogénesis prostática tales como daño al DNA e inhibición de la maquinaria para su reparación, alteración en la expresión de genes, inducción de estrés oxidativo y alteración de los mecanismos apoptóticos, (94). Por todo lo anterior se decidió estudiar nuevos mecanismos que pudieran explicar en parte los efectos de este metal sobre células de cáncer de próstata.

La progresión tumoral del CaP, como cualquier neoplasia, se caracteriza por una proliferación e invasión celular acelerada, la cual depende en gran medida del microambiente presente en ese momento. Generalmente, el microambiente tumoral se encuentra constituido por la secreción de citocinas, proteasas y factores de crecimiento.

En este sentido, la PGRN es un fuerte candidato para explicar la progresión del CaP ya que se ha reportado que induce la proliferación y migración celular, así como el crecimiento celular independiente de adhesión en diversas líneas celulares derivadas de CaP (44). Asimismo, la expresión de PGRN depende de vías de señalización que son capaces de ser activadas por el Cd (95, 96), por lo tanto, en este trabajo se decidió estudiar el efecto de Cd en la inducción de PGRN en la línea celular PC3.

Los resultados presentados en esta investigación demostraron que la exposición de la línea celular PC3 a Cd no induce la expresión de la PGRN en las concentraciones utilizadas. Ahora bien, es importante mencionar que la línea celular utilizada en esta investigación tiene características específicas de etapas avanzadas del CaP, es decir, que su crecimiento es independiente de andrógenos y tiene una capacidad metastásica significativa. Por lo tanto, los resultados obtenidos no pueden ser generalizados al contexto global del CaP. Por lo que se consideramos que se deben realizar experimentos adicionales utilizando otras líneas celulares como LNCaP, la cual es dependiente de andrógenos (97) y RPWE-1 (98), que se obtuvo al inmortalizar células epiteliales de próstata por medio de la transfección de una copia sencilla del virus de papiloma humano 18, para poder determinar el efecto de Cd en la expresión de PGRN en diferentes etapas de la patología.

La PGRN es una proteína de secreción, que puede ser modificada proteolíticamente en el espacio extracelular por diversas enzimas tal como la elastasa de neutrófilos, proteinasa 3, metaloproteasas de matriz extracelular 9, 12 y 14 así como la ADAMTS-7 (disintegrin-like and metalloproteinase domain 7) (99). Además, recientemente se demostró que la PGRN puede ser procesada y degradada intracelularmente por la catepsina L (100). Estos dos eventos, la secreción de PGRN y la degradación intracelular, debe considerarse para explicar los resultados de este estudio, ya que se determinó la PGRN intracelular. Probablemente, no se observó cambio en la expresión de esta proteína debido a que es secretada o degradada rápidamente. Por lo que es necesario realizar nuevos experimentos para determinar los niveles de PGRN en el medio de cultivo o bien su tasa de procesamiento intracelular.

Finalmente, las evidencias presentadas en esta tesis nos permiten concluir que la exposición a Cd de células derivadas de CaP andrógeno-independiente no tiene efecto en la expresión de PGRN con las concentraciones estudiadas. Lo anterior no descarta la posibilidad de que la PGRN sea inducida por el Cd en células andrógeno-dependiente o bien, en células prostáticas normales, por lo que es necesario realizar mas estudios para resolver estas incógnitas.

CONCLUSIONES

1. Las concentraciones de Cd 10 μM y 20 μM presentaron actividad citotóxica para la línea celular PC3 derivada de CaP.
2. El Cd no modifica la expresión de PGRN a nivel intracelular en la línea celular andrógeno-independiente PC3 derivada de CaP en concentraciones de 1.25 μM , 2.5 μM y 5 μM de CdCl_2 .

BIBLIOGRAFÍA

1. Lee C., Akin- Olugbade O. (2011). **Overview of prostate anatomy, histology and pathology.** *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*,40, p.p. 565-575.
2. Aaron L., Franco O. (2016). **Review of prostate anatomy and embryology and the etiology of benign prostatic hyperplasia.** *Urologic Clinics of North America*, 43, p.p. 279-288.
3. Hammerich K., Ayala G., & Wheeler T. (2009). **Anatomy of the prostate gland and surgical pathology of prostate cancer.** *Cambridge University Press*,1, p.p. 1-10.
4. Rodríguez-López M., Baluja-Conde I. & Bermúdez-Velásquez S. (2007). **Patologías benignas de la próstata: prostatitis e hiperplasia benigna.** *Revista Biomédica*, 18, p.p. 47-59.
5. Girona L., Conejero J. (2002). **Urología.** *Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria*, 24, p.p. 1601-1624.
6. Becerro M. (2008). **Sex steroids hormones, ageing and exercise.** *Revista Andaluza de Medicina del Deporte*, 1, p.p. 22-36.
7. Cummings A., Kavlock R. (2004). **Function of sexual glands and mechanism of sex differentiation.** *The Journal of Toxicological Sciences*, 29, p.p. 167-178.
8. Coviello A., Bremner W., Matsumoto A. (2004). **Intratesticular testosterone concentrations comparable with serum levels are not sufficient to maintain normal sperm production in men receiving a hormonal contraceptive regimen.** *Journal of Andrology*, 25, p.p. 931-938.
9. Araujo A., Wittert P. (2011). **Endocrinology of the aging male.** *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 25, p.p. 303–319.
10. Heinlein C., Chang C. (2004). **Androgen Receptor in Prostate Cancer.** *Endocrine Reviews*, 25, p.p. 276–308.
11. Tan E., Jun L. (2015). **Androgen receptor: structure, role in prostate cancer and drug discovery.** *Acta Pharmacologica Sinica*, 36, p.p. 3–23.
12. Lonergan P., Tindall D. (2011). **Androgen receptor signaling in prostate cancer development and progression.** *Journal Of Carciogenesis*, 10, p.p. 1-23.

13. Schiewera M., Augello M., Knudsen K. (2012). **The AR dependent cell cycle: Mechanisms and cancer relevance.** *Molecular and Cellular Endocrinology*, 352, p.p. 34–45.
14. Shang Y., Myers M., Brown M. (2002). **Formation of the Androgen Receptor Transcription Complex.** *Molecular Cell*, 9, p.p. 601–610.
15. Leung J., Sadar M. (2017). **Non-Genomic Actions of the Androgen Receptor in Prostate Cancer.** *Frontiers in Endocrinology*, 8, p.p. 1-8.
16. Comstock C., Augello M., Schiewer M. et al. (2010). **Cyclin D1 is a selective modifier of androgen-dependent signaling and androgen receptor function.** *The Journal Of Biological Chemistry*, 286, p.p. 8117–8127.
17. Furuya Y., Krajewski S., Epstein J., et. al (2006). **Expression of bcl-2 and the progression of human and rodent prostatic cancers.** *Clinical Cancer Research*, 2, p.p. 389-390.
18. Nota descriptiva No. 297. (2015). **Cáncer.** consultado 2019 , desde *Organización Mundial de la Salud* Sitio web: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/INEC/INTOR/cancer-datos-cifras-2015.pdf>
19. Globocan. (2018). **Cáncer de próstata. Incidencia, mortalidad y prevalencia mundial 2018.** Consultado 2019, desde *Globocan* Sitio web: <https://gco.iarc.fr/today/data-sources-methods>
20. Globocan. (2018). **Cancer today. Fact sheets for all cancer sites.** Consultado 2019, desde *Globocan* Sitio web: https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-pie?v=2018&mode=cancer&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=total&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=7&group_cancer=1&include_nmsc=1&include_nmsc_other=1&half_pie=0&donut=0&population_group_globocan_id
21. Globocan. (2018). **Cancer today. Fact sheets for prostate cancer.** Consultado 2019, desde *Globocan*. Sitio web: https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-multi-bars?v=2018&mode=population&mode_population=countries&population=900&po

- [pulations=900&key=asr&sex=1&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group](https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-multi-bars?v=2018&mode=population&mode_population=countries&population=900&populations=900&key=asr&sex=1&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group)
22. Globocan. (2018). **OPS. Epidemiología del cáncer de próstata en las Américas.** consultado 2019, desde *Globocan* Sitio web: https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-multi-bars?v=2018&mode=population&mode_population=countries&population=900&populations=900&key=cum_risk&sex=1&cancer=27&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5
 23. Globocan. (2018). **Cancer today. Fact sheets for cancer Mexico.** Consultado 2019, desde *Globocan*. Sitio web: https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-multi-bars?v=2018&mode=population&mode_population=countries&population=900&populations=900&key=cum_risk&sex=1&cancer=27&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5
 24. Reynoso-Noverón N., Torres-Domínguez J. (2017). **Epidemiología del cáncer en México: carga global y proyecciones 2000-2020.** *Revista Latinoamericana de Medicina Conductual*, 8, p.p. 10-17.
 25. Ruiz A., Pérez J., Cruz Y., et al. (2017). **Actualización sobre cáncer de próstata.** *Correo Científico Médico De Holguín*, 3, p.p. 876-888.
 26. Mohler J., Bahnson R., Boston R., MD; J. et al. (2010). **Prostate Cancer Clinical Practice Guidelines in Oncology.** *Journal of the National Comprehensive Cancer Networ*, 8, p.p. 162-171.
 27. Testa U., Castelli G., Pelosi R. (2019). **Cellular and molecular mechanisms underlying prostate cancer development: therapeutic implications.** *Medicines*, 6, p.p. 1-136.
 28. Fournier G, Valei A, Mangin P, et al. (2004). **Prostate cancer. Epidemiology. Risk factors.** *Annales d Urologie (Paris)*, 136, p.p.187-206.
 29. Patel A, Klein E. (2009). **Risk factors for prostate cancer.** *Nature Clinical Practice Urology* ,6, p.p. 87—95.
 30. Damber J., Aus G. (2008). **Prostate cancer.** *The Lancet*, 371, p.p. 1710-1721.

31. Mordukhovich I., Reiter P. (2011). **A review of African American-white differences in risk factors for cancer: prostate cancer.** *Cancer Causes Control*, 22, p.p. 341–357.
32. Bostwick D., Burke H., Djakiew D., et al. (2004). **Human prostate cancer risk factors.** *CANCER Supplement*, 101, p.p. 2371-2492.
33. Park J., Huang Y., Sellers T. (2009). **Single nucleotide polymorphisms in DNA repair genes and prostate cancer risk.** *Methods in Molecular Biology* 471, p.p. 361-385.
34. Heidenreich A., Bastian P., Bellmunt J. et. al. (2014). **EAU Guidelines on Prostate Cancer. Part 1: Screening, Diagnosis, and Local Treatment with Curative Intent-Update 2013.** *Behalf of European Association of Urology*, 65, p.p. 124-137.
35. Eton D., Lepore J. (2002). **Prostate cancer and health-related quality of life: a review of the literature.** *Psychooncolog*, 11, p.p. 307–326.
36. Shi R., Berkel H., Yu H. (2001). **Insulin-like growth factor-I and prostate cancer: a meta-analysis.** *British Journal of Cancer*, 86, p.p. 991–996.
37. Rojas P., Hurtado C., Montecinos V. (2018). **Estilo de vida y agresividad del cáncer de próstata.** *ARS MEDICA Revista de Ciencias Médica*, 43, p.p. 26-34.
38. Ferrís-i-Tortajada J., Berbel-Tornero O., Garcia-i-Castell J. et al. (2011). **Non-dietary environmental risk factors in prostate cancer.** *Actas de Urología Española*, 35, p.p. 289–295.
39. Swamydas M., Nguyen D., Allen L., et al. (2011). **Progranulin stimulated by LPA promotes the migration of aggressive breast cancer cells.** *Cell Communication & Adhesion*, 18, p.p. 119–131.
40. Greither T., Fischer K.,Theil G. et al. (2018).**Expression of GP88 (progranulin) in serum of prostate cancer patients is associated with Gleason scores and overall survival.** *Cancer Management and Research*, 10, p.p. 4173–4180.
41. Cuia Y., Hettinghousea A., Liu C. (2019). **Progranulin: A conductor of receptors orchestra, a chaperone of lysosomal enzymes and a therapeutic target for multiple diseases.** *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 45, p.p. 53-64.

42. Watcharin M., Techasen A., Thanee M. et al. (2018). **Progranulin modulates cholangiocarcinoma cell proliferation, apoptosis, and motility via the PI3K/pAkt pathway.** *OncoTargets and Therapy*, 11, p.p. 395–408.
43. He Z., Ismail A., Kriazhev L. et al. (2012). **Progranulin (PC-Cell-derived Growth Factor/Acrogranin) regulates invasion and cell survival.** *Cancer Research*, 62, p.p. 5590–5596.
44. Monami G., Emiliozzi V., Bitto A. et. al. (2009). **Proepithelin regulates prostate cancer cell biology by promoting cell growth, migration, and anchorage-independent growth.** *The American Journal of Pathology*, 174, p.p. 1037-1048.
45. Tanimoto R., Lu K., Xu S., et. al. (2016). **Mechanisms of progranulin action and regulation in genitourinary cancers.** *Frontiers in Endocrinology*, 7, p.p. 1-7.
46. Blair A., Zahm S., Pearce N et al (1992). **Clues to cancer etiology from studies of farmers.** *Scand Work Environ Health*, 18, p.p. 209-215.
47. Mancuso F.,(1997).**Chromium as an Industrial Carcinogen: Part I.** *American Journal of Industrial Medicine*, 31, p.p. 129–139.
48. Acquavella J., Olsen G., Cole P. et al. (1998). **Cancer among Farmers: A Meta-Analysis.** *Annals of Epidemiology*, 8, p.p. 64-74.
49. Maele-Fabry G., Willems J. (2003). **Occupation related pesticide exposure and cancer of the prostate:a meta-analysis.** *Occupational and Environmental Medicine*, 60, p.p. 634-642.
50. Maele-Fabry G., Willems J. (2006). **Review and Meta-analysis of Risk Estimates for Prostate Cancer in Pesticide Manufacturing Workers.** *Cancer Causes & Control*, 17, p.p. 353-373.
51. Hlobil H., Staal J., Spoelstra M., et al. (2005). **Effectiveness of a return-to-work intervention for subacute low-back pain. back.** *Scand Work Environ Health*, 31, p.p. 249-257.
52. Srmena K., Knutsson (2019). **Occupational Risk Factors for Prostate Cancer: A Meta-analysis.** *Journal Of Cancer Prevention*, 24, p.p. 91-112.
53. Alavanja M., Samanic C., Dosemeci M. et al. (2003). **Use of Agricultural Pesticides and Prostate Cancer Risk in the Agricultural Health Study Cohort.** *American Journal of Epidemiology* ,157, p.p. 800–814.

54. Pavuk M., Michalek J., Ketchu N. (2006). **Prostate cancer in US Air Force veterans of the Vietnam war.** *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, 16, p.p. 184–190.
55. Pavuk M., Michalek J., Schechter A., et al. (2005). **Did TCDD Exposure or Service in Southeast Asia Increase the Risk of Cancer in Air Force Vietnam Veterans Who Did Not Spray Agent Orange.** *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 47, p.p. 335-342.
56. Chamie K., Vere R., Lee D. et al. (2008). **Agent Orange Exposure, Vietnam War Veterans, and the Risk of Prostate Cancer.** *American Cancer Society*, 113, p.p. 2464-2471.
57. Mullins K., Loeb S. (2012). **Environmental exposures and prostate cancer.** *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, 30, p.p. 216-219.
58. Stewart R., Manolis K., Sala M. et al. (1998). **Cancer risk in the rubber industry a review of the epidemiological evidence.** *Occupational and Environmental Medicine*, 55, p.p. 1–12.
59. Costello L., Franklin R., Feng P. (2005). **Zinc and prostate cancer: a critical problem of scientific, medical and public interest (United States).** *Cancer Causes & Control*, 16, p.p. 901-915.
60. Wagner S., Burch J., Hussey J. et al (2008). **Soil zinc content, groundwater usage, and prostate cancer incidence in South Carolina.** *Cancer Causes & Control*, 20, p.p. 345-352.
61. Siddiqui M., Srivastava S., Mehrotra P. (2002). **Environmental exposure to lead as a risk for prostate cancer.** *Biomedical and Environmental Sciences*, 15, p.p. 298-305.
62. Elghany N., Schumacher M., Slattery M., et al. (1990). **Occupation Cadmium Exposure, and Prostate Cancer.** *Epidemiology*, 1, p.p.107-115.
63. Chen Y., Pu Y., Wu H., et Al (2009) **Cadmium burden and the risk and phenotype of prostate cancer.** *BMC Cancer*, 9, p.p. 429-436
64. Verougstraete V., Lison D., Hotz P. (2003). **Cadmium, lung and prostate cancer: a systematic review of recent epidemiological data.** *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 211, p.p. 227–255.

65. Platz E., Helzlsouer K., Hoffman S. et al. (2002). **Prediagnostic toenail cadmium and zinc and subsequent prostate cancer risk.** *Prostate*, 1, p.p. 288-296.
66. Elinder C., Jellstr K., Hogstedt C., et al. (1985). **Cancer mortality of cadmium workers British.** *Journal of Industrial Medicine*, 42, p.p. 651-655.
67. Kjellstrom T., Friberg L., Rahnster B. (1979). **Mortality and Cancer Morbidity among Cadmium-Exposed Workers.** *Environmental Health Perspectives*, 28, p.p. 199-204.
68. Sahmoun A., Case D., Jackson A., et al. (2005). **Cadmium and prostate cancer: A Critical Epidemiologic Analysis,** *Cancer Investigation*, 23:3, p.p. 256-263
69. Walkes M. (2000). **Cadmium carcinogenesis in review.** *Journal of Inorganic Biochemistry*, 79, p.p. 241-244.
70. Walkes M. (2000). **Cadmium carcinogenesis.** *Mutation Research/ Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 533, p.p. 107-120.
71. Sakda T., Prayong D., Doumgdee B., et al. (1990). **Binding of zinc and cadmium to human serum albumin.** *International Journal of Biochemistry*, 22, p.p. 977-981.
72. Goumakos W, Laussac JP, Sarkar B. (1991). **Binding of cadmium (II) and zinc (II) to human and dog serum albumins. An equilibrium dialysis and ¹¹³Cd-NMR study.** *Biochemistry and Cell Biology* .69, p.p. 809-820.
73. Nordberg. M. (1978). **Studies on metallothionein and cadmium.** *Environmental Research*, 15, p.p. 381-404.
74. Fuhr B., Rabenstein D. (1973). **Nuclear magnetic resonance studies of the solution chemistry of metal complexes. IX. Binding of cadmium, zinc, lead, and mercury by glutathione.** *Journal of the American Chemical Society*, 95, p.p. 6944-6950
75. Vesye D. (2010). **Transport pathways for cadmium in the intestine and kidney proximal tubule: Focus on the interaction with essential metals.** *Toxicology Letters*, 15, p.p. 13-19.
76. Bishak Y., Payahoo L., Osatdrahimi A., et al. (2015). **Mechanisms of Cadmium Carcinogenicity in the Gastrointestinal Tract.** *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 16, p.p. 9-21.

77. Tohyama C., Shaikha Z., Nogawa K., et al. (1981). **Elevated urinary excretion of metallothionein due to environmental cadmium exposure.** *Toxicology*, 20, p.p. 289-297.
78. Kjellstrom T. (1979). **Exposure and Accumulation of Cadmium in Populations from Japan, the United States, and Sweden.** *Environmental Health Perspectives*, 28, p.p. 169-19
79. Nordberg G., Kjellstrom T. (1979). **Metabolic Model for Cadmium in Man.** *Environmental Health Perspectives*, 28, p.p. 211-217.
80. Ciktr M., Tichy M. (1974). **Excretion of cadmium through bile and intestinal wall in rats.** *British Journal of Industrial Medicine*, 31, p.p. 134-139.
81. Prozialeck W., Edwards J., Bonventre J., et al. (2009). **Preclinical evaluation of novel urinary biomarkers of cadmium nephrotoxicity.** *Toxicology and Applied Pharmacology*, 238, p.p. 301-305.
82. Kiplera M., Lonnerdal B., Goessler W., et al. (2009). **Cadmium interacts with the transport of essential micronutrients in the mammary gland—A study in rural Bangladeshi women.** *Toxicology*, 257, p.p. 64-69.
83. Kiplera M., Nermella B., Hamadani J., et al. (2010). **Burden of cadmium in early childhood: Longitudinal assessment of urinary cadmium in rural Bangladesh.** *Toxicology Letters*, 198, p.p. 20-25.
84. Wua R., Cuiab Y., Yuana X., et al. (2014). **SUMO-specific prostaase 1 modulates cadmium-augmented transcriptional activity of androgen receptor (AR) by reversing AR SUMOylation.** *Toxicology Letters*, 229, p.p. 405-413.
85. Xu Y., Tokar E., Sun Y., et al. (2012). **Arsenic-Transformed Malignant Prostate Epithelia Can Convert Noncontiguous Normal Stem Cells into an Oncogenic Phenotype.** *Environmental Health Perspectives*, 6, p.p. 865-872.
86. Achanzar W., Diwan B., Liu J., et al. (2001). **Cadmium-induced Malignant Transformation of Human Prostate Epithelial Cells.** *Cancer Research*, 61, p.p. 455–458.
87. Achanzar W., Mukta M., Webber M., et al. (2002). **Altered apoptotic gene expression and acquired apoptotic resistance in cadmium-transformed human prostate epithelial cells.** *Prostate*, 1, p.p. 236-244.

88. Pelcha K., Tokara E., Merrik K., et al. (2015). **Differential DNA methylation profile of key genes in malignant prostate epithelial cells transformed by inorganic arsenic or cadmium.** *Toxicology and Applied Pharmacology*, 286, p.p. 159-167.
89. Chena P., Duana X., Chao M., et al. (2016). **Systematic network assessment of the carcinogenic activities of cadmium.** *Toxicology and Applied Pharmacology*, 310, p.p. 150-15.
90. Gulden J., Kolk J., Verbeek AL (1995). **Work environment and prostate cancer risk.** *Prostate*, 27, p.p. 250-257.
91. Suwazono Y., Kido T., Nakagawa H., et al. (2009). **Biological half-life of cadmium in the urine of inhabitants after cessation of cadmium exposure.** *Biomarkers*, 14, p.p. 77-81.
92. Joseph, P. (2009). **Mechanisms of cadmium carcinogenesis.** *Toxicology and Applied Pharmacology*, 238, p.p. 272-279.
93. Perez-Juarez E., Arechavaleta-Velasco F., Zeferino-Toquero M., et al. (2019). **Inhibition of PI3K/AKT/mTOR and MAPK signaling pathways decreases progranulin expression in ovarian clear cell carcinoma (OCCC) cell line: a potential biomarker for therapy response to signaling pathway inhibitors.** *Medical Oncology*, 37, p.p. 4.
94. Yuan, Y., Wang Y., Hu, F., et al. (2016). **Cadmium Activates Reactive Oxygen Species-dependent AKT/mTOR and Mitochondrial Apoptotic Pathways in Neuronal Cells.** *Biomedical and Environmental Sciences*, 29, p.p. 117-126.
95. Horoszewicz J., Leong, S., Kawinski, J., et al. (1983). **LNCaP model of human prostatic carcinoma.** *Cancer Research*, 43, p.p. 1809-1818.
96. Bello D., Webber M., Kleinman D., et al. (1997). **Androgen responsive adult human prostatic epithelial cell lines immortalized by human papillomavirus 18.** *Carcinogenesis*, 18, p.p. 1215-1223.
97. Arechavaleta-Velasco F., Perez-Juarez E., Gerton G., et al. (2017). **Progranulin and its biological effects in cancer.** *Medical Oncology*, 34, p.p. 194.
98. Lee C., Stankowski J., Chew J., et al. (2017). **The lysosomal protein cathepsin L is a progranulin protease.** *Molecular Neurodegeneration*, 12, p.p. 55.