



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

ZARAGOZA

CARRERA DE BIOLOGÍA

"Detección de Timopoyetina en diferentes grados Gleason de cáncer prostático humano mediante microarreglo de tejidos."

**T E S I S**

Que para obtener el grado de

**B I O L O G O**

P R E S E N T A:

**Ángel Fabián Pérez Carrasco**

Director de Tesis: Dr. Mauricio Salcedo Vargas

Asesor Interno: M. en C. Luis Sánchez Sánchez

México D. F.

Septiembre 2013



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.

## **A mi hija Silvia**

Que me permitió dedicar el tiempo necesario a este trabajo. Por darle un sentido mayor a mi vida y traer consigo la motivación para seguir siempre hacia adelante.

## **A mi Madre Carmen**

Por construir los cimientos y forjar las bases del camino que he recorrido hasta hoy en día. Por sacrificar cuerpo y alma por mi felicidad.

## **A mi Padre Miguel**

Por darme la fortaleza y las armas para quitar los obstáculos que se han presentado en mi camino. Por siempre esforzarse para sostener a la familia.

## **A mi esposa Jessica**

Que con su amor excepcional e inmenso apoyo disminuyó la dificultad de tantas barreras y que con una simple mirada acompañada de esa gran sonrisa convierte mi vida en un país de maravillas.

## **A mis hermanas Angélica y Sandra**

Que a lo largo de tantos años juntos siempre me enseñaron y me siguen enseñando a vivir.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional Autónoma de México que a través de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, me permitió dar este gran paso en mi vida, además de enseñarme la gran responsabilidad que implica esta gran profesión mediante sinodales y maestros que demostraron una capacidad y paciencia enorme frente a todas las complicaciones que pude haber mostrado a lo largo de estos años.

Agradezco al Dr. Mauricio Salcedo Vargas, Investigador Asociado en la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas del Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social, donde se realizó el trabajo experimental, por brindarme la oportunidad de pertenecer a este gran equipo de trabajo y por todo el apoyo brindado para la realización de ésta tesis.

Agradezco al Maestro Luis Sánchez Sánchez quien fungió como mi Asesor interno. Por la disponibilidad de tiempo que brindo para asesorarme, resolver mis dudas y demás apoyo académico.

A Julio Karim y Keiko Taniguchi, quienes más que amigos y compañeros, fungieron como mis principales sinodales. Personas que me regalaron bastante tiempo y conocimiento para que este trabajo pudiera ser finalizado.

A todos y cada uno de los integrantes de mi hermosa familia, principalmente a mi mama Gloria y mama Estela, tíos y primos en general que a lo largo de toda mi vida me lanzaron bombas de esperanza y motivación para siempre avanzar. Seres que siempre me mostraron un amor incondicional desde el momento que los conocí y a los cuales agradezco, pero sobre todo dedico, este gran logro en mi formación.

“No hay razón para buscar el sufrimiento, pero si éste llega y trata de meterse en tu vida, no temas; míralo a la cara y con la frente bien levantada”

Friedrich Nietzsche

# ÍNDICE

1. Resumen.....	2
2. Introducción.....	3
2.1 Cáncer.....	3
2.2 Cáncer de próstata.....	8
2.3 Clasificación del cáncer de próstata.....	13
2.4 Marcadores de cáncer de próstata.....	18
2.5 Timopoyetina.....	20
2.6 Funciones de la timopoyetina.....	22
2.7 Detección de la timopoyetina.....	23
2.8 TMPO y cáncer.....	24
3. Planteamiento del problema y justificación.....	26
4. Hipótesis.....	27
5. Objetivos.....	28
5.1 Objetivo general.....	28
5.2 Objetivos particulares.....	28
6. Metodología.....	29
6.1 Obtención de muestras.....	29
6.2 Procesamiento de los microarreglos de tejidos.....	29
6.3 Inmunohistoquímica.....	30
7. Resultados.....	31
7.1 Microarreglo de tejidos.....	31
7.2 Expresión de TMPO en Tejido prostático canceroso y sano.....	33
7.3 Expresión de TMPO en diferentes grados Gleason.....	37
8. Discusión.....	39
9. Conclusión.....	41
10. Bibliografía.....	42

## 1. RESUMEN

Alrededor del mundo, unos 660 000 nuevos casos de cáncer de próstata son diagnosticados cada año (Yap et al, 2012). Del 29% de todos los tipos de cáncer en hombres, el cáncer de próstata es el más común excluyendo las neoplasias de piel y es la segunda causa de muerte por cáncer, después del cáncer de pulmón, en los hombres de todas las razas (Barqawi et al, 2012). Existen distintas formas de clasificar este tipo de cáncer. Entre las más utilizadas se encuentra la escala de Gleason, que se emplea para medir el grado de agresividad de un cáncer de próstata, basándose en la observación al microscopio de las características histológicas aparentes que presentan las células de la muestra obtenida en una biopsia del órgano.

Para cualquier otro tipo de enfermedades, se debe contar con un diagnóstico temprano y algunos síntomas para poder determinar la existencia de alguna malignidad. Sin embargo, para el cáncer de próstata, los síntomas no están muy bien establecidos y son poco expresivos, además de que solo se cuenta con el Antígeno Sérico Prostático (PSA, por sus siglas en inglés) y el Antígeno de cáncer de próstata 2 (*APCP-2*) como los únicos marcadores de este tipo de cáncer. Por lo que se hace necesario la búsqueda de nuevas moléculas que puedan dar mayor información al respecto de las bases moleculares en el tejido prostático (Chunyan et al, 2012).

La timopoyetina (TMPO) o lamina asociada del polipéptido 2 (LAP2) es un gen altamente expresado en etapa troncal, que disminuye bajo la diferenciación en células epiteliales de la glándula mamaria de ratón (Williams et al, 2009). La expresión de una de las isoformas, LAP2 $\alpha$ , está regulada dependiendo del ciclo celular, señalando su desregulación potencial en cáncer. De acuerdo con esto, la expresión de LAP2 $\alpha$  ha sido previamente mostrada por estar elevada en tumores de meduloblastoma (Yokota, 2004), laringe, pulmón, estómago, mama y colon, aunque solo a nivel de mRNA (Parise et al, 2006); siendo únicamente el caso de cáncer de pulmón donde se ha demostrado la sobreexpresión de la TMPO (Hye-Jeong et al, 2008).

Con la finalidad de contribuir en la detección de ciertas proteínas en el cáncer de próstata y de aportar nuevos conocimientos en la detección temprana de ésta enfermedad, se realizó la determinación de la expresión de la TMPO mediante pruebas de inmunohistoquímica en diferentes Grados Gleason y en tejido prostático sano, obteniendo tinciones positivas de TMPO para todos los grados Gleason y negativas para el tejido sano, sugiriendo que la TMPO juega un papel importante en el cáncer de próstata ya que esta molécula se encuentra expresada en los diferentes Grados Gleason.

Esto podría utilizarse como otro posible diagnóstico para determinar el cáncer de próstata en diferentes grados de agresividad de los tumores encontrados.

## **INTRODUCCION**

### **2.1 Cáncer**

El cuerpo está formado de muchos tipos de células. Estas células crecen y se dividen en una forma controlada para producir más células según sean necesarias para mantener sano el cuerpo. Cuando las células envejecen o se dañan, mueren y células nuevas aparecen (Alberts, 2004).

Sin embargo, algunas veces este proceso ordenado se descontrola. El material genético (ADN) de una célula puede dañarse o alterarse, lo cual produce mutaciones que afectan el crecimiento y la división normal de las células. Cuando esto sucede, las células no mueren cuando deberían morir y células nuevas se forman cuando el cuerpo no las necesita. Estas células en continua proliferación comienzan a formar una masa de tejido que es lo que se conoce como tumor (Alberts, 2004) y que frecuentemente se relaciona con el cáncer.

El término cáncer no se puede describir como una sola enfermedad. Es el nombre de una variedad de enfermedades muy distintas entre sí y que se caracteriza por el crecimiento anormal y desordenado de las células del cuerpo. Esto es causado por alteraciones genéticas en este tipo de células, por lo que éstas reciben mensajes erróneos. La célula cancerosa pierde el control de su propio desarrollo, de modo que se divide en más células a mayor velocidad que el resto de tejidos a los que pertenece, sin cumplir las funciones para las que ha sido creada (Camargo et al, 2004). El crecimiento anormal de las células puede llegar a formar masas de tejido llamadas tumores. El cáncer se desarrolla en diferentes etapas, y probablemente intervienen diferentes factores para convertirlo en un tumor visible. Es importante saber diferenciar los tumores benignos, o no cancerosos, de los malignos, o cancerosos. La principal diferencia entre los tumores benignos y malignos es que los primeros generalmente no causan daño alguno al organismo en el que se desarrollan (Tabla 1), caso contrario de los tumores malignos, los cuales son cancerosos y por consiguiente causan múltiples daños en la región del organismo donde se llegan a desarrollar.

Inclusive si no se controla en los estadios tempranos, las células encontradas en este tipo de tumor, pueden migrar a otra parte del cuerpo e invadirlas, (proceso conocido como metástasis) y destruir por completo las regiones invadidas, llevando al organismo hasta la muerte (Gatenby, 2012).

<b>TUMORES BENIGNOS</b>	<b>TUMORES MALIGNOS</b>
Son de crecimiento lento.	Algunos son de crecimiento lento, pero con frecuencia son de crecimiento muy rápido.
Solo crecen hasta determinado tamaño.	Crece de manera progresiva e invasiva.
No destruyen células normales.	Destruyen células, tejidos y órganos.
Crece de manera ordenada.	Crece de manera desordenada.
No se propagan a otros tejidos.	Se propagan a los tejidos de otros órganos del cuerpo.
Normalmente no producen efectos secundarios graves.	Si no se controla su crecimiento ocasionan la muerte.

**TABLA 1.** Diferencias entre los tumores benignos y malignos (Gatenby, 2012).

Los tumores malignos se conocen por su capacidad de invadir y destruir tejidos y órganos tanto cercanos como los que están lejos del tumor original. Las células del cáncer atacan el tejido sano y nunca dejan de multiplicarse. La muerte se produce cuando la propagación del cáncer daña los tejidos y los órganos vitales como el hígado, los pulmones o el cerebro, entre otros, de tal manera que estos órganos dejan de funcionar progresivamente (Alberts, 2004). Estos tumores malignos representan aproximadamente 13% de las defunciones mundiales, 7.9 millones de muertes por año, de las cuales más del 72% se registran en países de ingresos bajos y medios (OMS, 2008). La Organización Mundial de la Salud (OMS) prevé que entre 2007 y 2030, aumentará 45% la mortalidad por cáncer a nivel mundial, pues estima que pasará de 7.9 a 11.5 millones de defunciones por año, resultado del crecimiento demográfico y el envejecimiento de la población; además, estima que durante el mismo período, el número de casos nuevos de cáncer aumentará de 11.3 a 15.5 millones (OMS, 2009).

El cáncer tiene un comportamiento distinto en cada persona, depende del órgano afectado y de la etapa en que haya sido diagnosticado. Puede darse a cualquier edad, pero es más probable que afecte a personas de edad avanzada, por lo general a partir de los 55 años (Alberts, 2004). El cáncer también puede presentarse en jóvenes y niños y de hecho, es la segunda causa principal de muerte de niños en edades comprendidas entre uno y quince años. Afortunadamente, con un tratamiento oportuno, el cáncer en los niños tiene altas probabilidades de curación (OMS, 2008).

Por otro lado, el cáncer también depende del tipo de población y todo lo que engloba a ésta, (el gobierno, la religión, las costumbres, tradiciones, entre otros aspectos). En el siglo XX, las poblaciones de Europa, Japón y Norteamérica entraron en proceso de estancamiento mientras que en los países de África, Latinoamérica y Asia, la población comenzó a migrar de las zonas rurales hacia las zonas urbanas para conformar aglomeraciones cada vez más grandes y

complejas en donde hay una mayor probabilidad de contactos sexuales (OMS, 2009).

Sin embargo, en el caso de las mujeres que viven en zonas urbanas y que tienen mayores oportunidades educativas, se ha observado que éstas deciden posponer la edad para tener su primer hijo. Estos cambios de los patrones de salud sexual y reproductiva son elementos que pueden incrementar el riesgo de padecer algún tipo de cáncer ginecológico, en el caso de las mujeres (Gatenby, 2012). Por otro lado los estilos de vida tradicionales, muchos de los cuales se basaban en la agricultura, fueron remplazados lentamente por una cultura de relaciones comerciales y de libre mercado. Este hecho ha conducido a un mejoramiento en las condiciones de vida para un grupo de la población mundial; no obstante, para otro gran porcentaje estos cambios han significado pobreza e inquietud por el poco interés mostrado en la búsqueda de soluciones para el mejoramiento de estas condiciones (Barón et al, 2005).

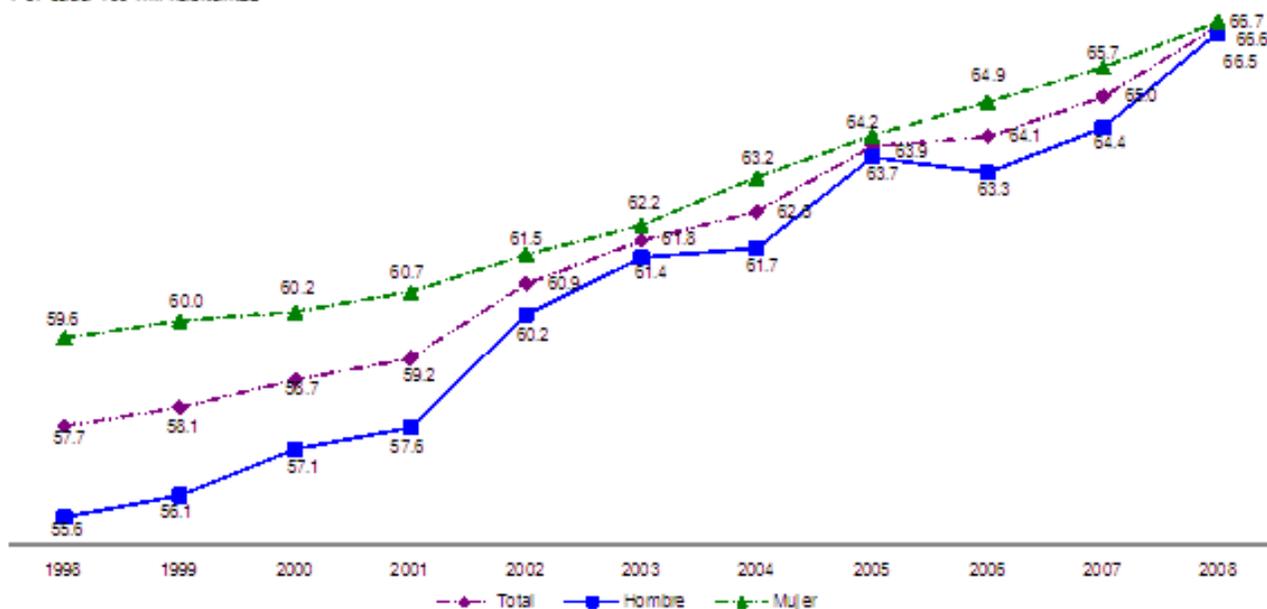
En la actualidad, los avances que se tienen para combatir este problema, parecieran nulos si se comparan con las cifras que representan las defunciones. Sin embargo, la investigación nos ha llevado a conocer más a fondo el funcionamiento y el desarrollo del cáncer a partir de aspectos moleculares. Por ejemplo: el establecimiento de posibles vías de alteración que surgen en el ciclo celular que llevan a éste a su descontrol a través de los oncogenes que son los encargados de transformar una célula normal en una maligna (Alberts, 2004). Existen más de 100 oncogenes descritos hasta ahora, de los cuales los más estudiados son ras, myc, Neu, fos y c-fms, los cuales pueden ser activados por mutaciones puntuales que llevan a la sustitución de aminoácidos en porciones críticas de las proteínas (Junk et al, 2013).

Por otra parte, en las grandes ciudades se han modificado los hábitos de alimentación y se presenta una mayor oferta de productos como el tabaco y el alcohol, que se consideran, igualmente, factores que aumentan el riesgo de desarrollar cáncer (Jarosz et al, 2012).

Fue así como en el siglo XX, el cáncer se convirtió en una nueva epidemia, de tal manera que la OMS estima que el cáncer podría cobrar la vida de 10.3 millones de personas en el mundo para 2020, afectando a 6.7 millones de personas cada año (OMS 2005). En nuestro país, la tasa de defunción por tumores tiende a aumentar. De 1998 a 2008, la tasa de mortalidad por cáncer se incrementó, pasando de 57.7 a 66.6 por cada 100 mil habitantes; entre las mujeres, el crecimiento fue de 59.6 a 66.7 por cada 100 mil habitantes, mientras que entre los hombres, de 55.6 a 66.5 por cada 100 mil habitantes (Gráfica 1) (OMS 2009).

El incremento en dicha tasa es aproximadamente de diez puntos; sin embargo, esta tendencia resulta preocupante por sus implicaciones sobre los años de vida perdidos en el proceso de la enfermedad, así como por la capacidad de las instituciones para dar atención adecuada y oportuna, y por el impacto que tiene dicha enfermedad en la familia (Camargo et al, 2004).

Por cada 100 mil habitantes



Fuente: INEGI. Estadísticas Vitales, 1998-2008. Bases de datos.

**Grafica 1.** Tasa observada de defunciones por tumores malignos por cada 100 mil habitantes según año de concurrencia, representada por tres líneas de diferentes colores: azul (representando el sexo masculino), verde (representando el sexo femenino) y violeta (representando el total) recopilada entre los años 1998-2008 (INEGI, 2012).

En 2008, según la tasa de mortalidad observada de tumores malignos para la población de 60 años y más, los tumores en tráquea, bronquios y pulmón presentan la tasa más alta (60.19 por cada 100 mil habitantes), seguidos por los tumores de hígado y de las vías biliares intrahepáticas, y los de estómago (44.11 y 42.30 por cada 100 mil habitantes, respectivamente), (OMS, 2008). Por lo que resulta preocupante que la población masculina de nuestro país presente la tasa de defunciones por tumores más alta, por la elevada mortalidad a causa de tumor prostático en relación a otras neoplasias (Tabla 2), ya que la cifra es de 121.57 por cada 100 mil hombres (INEGI, 2012).

La distribución del cáncer no es homogénea en el mundo. Algunos tipos de cáncer se juzgan propios de los países desarrollados, como los de colon y recto; otros son propios del subdesarrollo, como el de cuello uterino y el gástrico.

Los primeros se denominan así porque, comparativamente, su incidencia es mucho más alta en los países desarrollados precisamente por que industrializaron más temprano que los países pobres. Los cánceres denominados subdesarrollados, se llaman así por que las tasas de mortalidad que producen son mucho más altas en estos países, principalmente por fallas de diagnóstico y falta de tratamiento oportuno ya que la mayoría de los países pobres no cuenta con el dinero, el personal técnico ni la infraestructura para realizar una adecuada detección temprana del cáncer (Dale, 2012).

Por cada 100 mil habitantes

Tipo de tumor maligno	Grandes grupos de edad			
	0 - 14	15 - 29	30 - 59	60 años y más
Cavidad bucal y de la faringe	0.02	0.05	0.78	7.02
Esófago	0.00	0.02	0.59	7.79
Estómago	0.01	0.29	4.56	42.3
Colon, del recto y del ano	0.01	0.29	3.44	30.08
Hígado y de las vías biliares intrahepáticas	0.14	0.14	2.87	44.11
Páncreas	0.00	0.08	2.44	30.47
Laringe	0.00	0.01	0.5	7.59
Tráquea, de los bronquios y del pulmón	0.01	0.19	3.58	60.19
Vejiga urinaria	0.01	0.01	0.54	9.42
Meninges, del encéfalo y de otras partes del sistema nervioso central	0.72	0.53	1.92	8.72
Leucemia	2.55	2.49	2.93	13.23
Linfoma no Hodgkin	0.29	0.58	1.92	13.31
Mieloma múltiple y tumores malignos de células plasmáticas	0.00	0.01	0.72	6.31
Melanoma	0.01	0.03	0.49	3.32
Mama	0.01	0.18	7.24	23.61
Cuello del útero <sup>1</sup>	0.00	0.35	10.24	41.82
Útero <sup>1</sup>	0.00	0.06	1.23	7.95
Ovario <sup>1</sup>	0.05	0.31	4.03	17.98
Próstata <sup>2</sup>	0.00	0.01	1.47	121.57

<sup>1</sup> Por cada 100 mil mujeres.

<sup>2</sup> Por cada 100 mil hombres.

Fuente: INEGI. Estadísticas Vitales. Defunciones 2008. Base de datos.

**Tabla 2.** Tasa observada de mortalidad por tumores según tipo de tumor maligno y grandes grupos de edad, en México. Datos tomados hasta el año 2008 (INEGI, 2012).

Entre la población masculina, las tasas altas de incidencia del cáncer se encuentran en países desarrollados como Europa y Norteamérica, Canadá, Australia y Japón; tasas intermedias se dan en Centroamérica, y el sur de Asia, y las tasas más bajas se encuentran particularmente en ciertos países de África, India y Asia menor. En las mujeres, la distribución es comparable a la de los hombres (OMS, 2009).

Por último, en nuestro país, la Secretaría de Salud (SSA) reporta que del egreso hospitalario por cáncer en 2008, la leucemia tuvo mayor presencia (8.7%), seguida del cáncer de mama (5.8%), de cuello de útero (3.3%) y ovario (2.1%). La leucemia afecta principalmente a los hombres (15.1%), mientras que el cáncer de mama a las mujeres (8.4 por ciento) (Tabla 3).

Tipo de tumor maligno	Total	Hombres	Mujeres
<b>Total</b>	<b>100.0</b>	<b>100.0</b>	<b>100.0</b>
Leucemias	8.7	15.2	5.6
Mama	5.8	0.4	8.3
Cuello del útero	3.3	0.0	4.8
Ovario	2.1	0.0	3.1
Tráquea, bronquios y pulmón	2.0	4.1	1.0
Próstata	1.9	6.0	0.0
Del estómago	1.8	3.1	1.1
Del colon	1.8	3.2	1.2
Higado	1.2	1.9	0.8
Del rectosigmoides, recto y ano	1.1	2.0	0.7
Vejiga	1.0	2.2	0.4
Labio, cavidad bucal y faringe	0.9	1.9	0.5
Páncreas	0.9	1.5	0.7
Cuerpo del útero	0.8	0.0	1.1
Melanoma y otros tumores de la piel	0.5	0.6	0.3
Esófago	0.4	1.1	0.1
Otros	65.8	56.8	70.3

**Tabla 3.** Distribución porcentual de ingresos hospitalarios en México por tipo de tumor maligno para ambos sexos (INEGI, 2012).

Finalmente, de acuerdo con las defunciones por tumores malignos en 2008, entre los hombres, el mayor porcentaje de lesiones malignas fue en la próstata (8.1%), seguido por los tumores de tráquea, bronquios y pulmón (7.0%) (INEGI, 2012).

Todas estas cifras son alarmantes; no solo por el número de defunciones que representa, sino también por la cifra que va en aumento debido a la posible ineficiencia del sector salud para poder reducir este impacto mundial.

## 2.2 Cáncer de próstata

Alrededor del mundo, unos 660 000 nuevos casos de cáncer de próstata son diagnosticados cada año. Del 29% de todos los cánceres en hombres, el cáncer de próstata es el más común excluyendo las neoplasias de piel y es la segunda causa de muerte por cáncer, después del cáncer de pulmón, en los hombres de todas las razas. (Barqawi et al, 2012).

En Europa en el año 2008, fue el cáncer diagnosticado más numeroso en hombres, con 382, 000 nuevos casos, seguido del cáncer de pulmón y el colorectal, además de ser la tercera causa de muerte en hombres (Arcangeli et al, 2012). Por otro lado, en América hubo un estimado de 217,730 nuevos casos y 32,050 muertes en el 2012 (Chunyan et al, 2012), y para el 2015 se tiene estimado una cifra de 280 000 casos (Arcangeli et al, 2012).

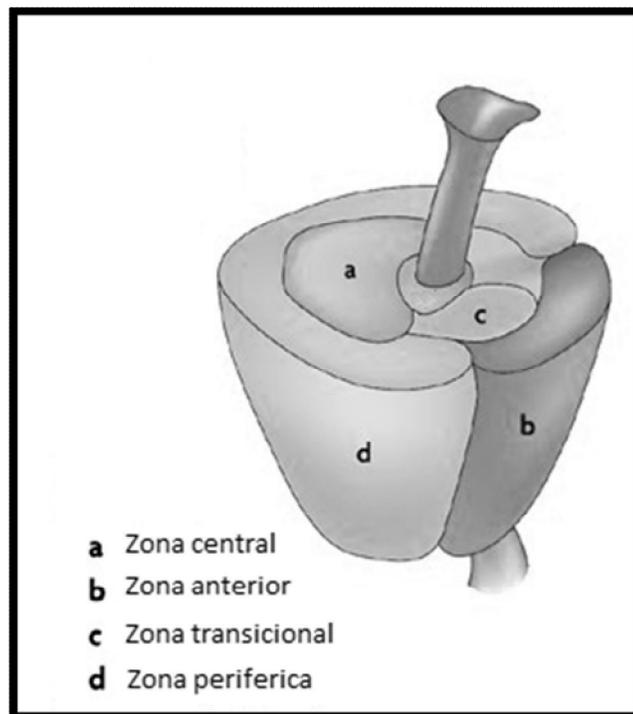
En México, en el 2008 este cáncer ocupó el primer lugar de causa de muerte por tumores malignos en hombres con 5, 938 defunciones, presentando una tasa de 15.5 por 100,000 habitantes; asimismo, su incidencia reportada fue de 14, 917 casos en el 2003, de acuerdo a los datos arrojados por Globocan (2008). En el 2006, según datos del INEGI, el cáncer de próstata representó la segunda causa de muerte por tumores malignos.

La mayor parte de los casos en nuestro país se diagnostican en etapas avanzadas teniendo pocas posibilidades de curación (INEGI 2006). Debido a estas cifras el cáncer de próstata se considera un grave problema de salud pública.

El cáncer de próstata es una enfermedad que se desarrolla en uno de los órganos glandulares del sistema reproductor masculino llamado próstata. La próstata es una glándula localizada en la cavidad pélvica del hombre, detrás del pubis, delante del recto y debajo de la vejiga. Envuelve y rodea el primer segmento de la uretra justo por debajo del cuello vesical. Es un órgano de naturaleza fibromuscular y glandular. Tiene forma de pirámide invertida. Aunque el tamaño de la próstata varía con la edad, en hombres jóvenes y sanos, la glándula normal tiene el tamaño de una "nuez". Su peso en la edad adulta es de 20 gramos, lo que suele mantenerse estable hasta los 40 años, edad en la que se produce una serie de cambios histológicos, la glándula crece y bloquea la uretra o la vejiga, causando dificultad al orinar e interferencia en las funciones sexuales que con el tiempo pueden dar lugar a una hiperplasia benigna de próstata (HBP) (Aumüller et al, 1979). La próstata está cubierta por una fina envoltura conocida como cápsula prostática que define su límite. La próstata constituye parte del sistema urinario y reproductor, relacionándose anatómicamente con otras estructuras como los conductos deferentes y las vesículas seminales (Naber, 2003).

El tejido glandular de la próstata está distribuido en tres zonas histológicamente definidas, inmersas en varias capas musculares, con escasa presencia de tejido conectivo y que conforman tres lóbulos: dos laterales y uno medio que facilita un mejor conocimiento de las enfermedades de esta glándula. Las zonas más importantes son la zona central y la periférica (Figura 1). El modelo anatómico que actualmente se acepta, distingue cuatro zonas en la próstata (Luke et al, 1994):

- Zona anterior o estroma fibromuscular. De naturaleza fibromuscular, una lámina gruesa de tejido conectivo y muscular compacto cubre toda la superficie anterior de la próstata, rodeando la uretra proximal a nivel de cuello vesical, donde se une con el esfínter interno y el músculo detrusor en el cual se origina. Ocupa casi un tercio del volumen total de la próstata, no contiene glándulas y no participa en ninguna patología de la próstata.
- Zona periférica. De origen endodérmico, es la región anatómica más grande de la próstata glandular, contiene el 75% de dicho tejido y casi todos los carcinomas de próstata se originan en esta zona.
- Zona central. Es la más pequeña de las regiones de la próstata glandular, representa entre el 20-25% de su masa y es atravesada por los conductos eyaculadores. Resulta afectada por un 10% de los adenocarcinomas.
- Zona transicional y periuretral. Tiene origen mesodérmico, formada por un grupo pequeño de conductos íntimamente relacionados con la uretra proximal. Estos conductos representan el 5% de la masa prostática glandular. A pesar de su tamaño y su irrelevante importancia funcional, la zona transicional y las glándulas periuretrales constituyen el sitio específico de origen de las HBP, además de ser la zona más afectada por los adenocarcinomas.



**Figura 1.** Zonas de la próstata. El modelo anatómico que actualmente se presenta, distingue cuatro zonas en la próstata (zona central, zona anterior, zona transicional y zona periférica) (Luke et al, 1994).

Estas características anatómicas propician que todos los cambios y procesos patológicos tanto benignos como malignos que se produzcan en esta glándula provoquen alteraciones más o menos notables en la micción.

En la próstata pueden identificarse principalmente tres tipos de células (Luke et al, 1994):

1. Células epiteliales secretoras; son cilíndricas altas, bien diferenciadas y conectadas entre sí por moléculas de adhesión celular y con su base fija a la membrana basal a través de receptores de integrinas. Participan en la extrusión mecánica del líquido eyaculado bajo estimulación nerviosa.
2. Células basales; más pequeñas que las anteriores, menos abundantes, diferenciadas y se fijan sobre la membrana basal. Se cree que dan origen a las células epiteliales secretoras.
3. Células neuroendocrinas; se ubican entre el epitelio secretor y en los conductos de todas las porciones de la glándula, así como en la mucosa uretral prostática.

La próstata tiene como función ayudar al control urinario mediante la presión directa contra la parte de la uretra que rodea. Produce una secreción líquida (líquido prostático) que forma parte del semen (Luke et al, 1994). Esta secreción prostática contiene sustancias que proporcionan junto con el semen, nutrientes y un medio adecuado para la supervivencia de los espermatozoides. La mayoría de los cánceres de próstata tienen lugar en la periferia de la próstata, mientras que en la HPB la zona de transición es comúnmente la más afectada. Aunque se ha reportado cáncer de próstata en un 15% en la zona de transición y en un 5% en la porción central (Luke et al, 1994).

Fundamentalmente son tres procesos patológicos los que se pueden desarrollar en la próstata (Naber, 2003):

- Patologías benignas
  - Prostatitis; este término se utiliza para definir aquellos procesos de naturaleza inflamatoria o infecciosa que afectan a la glándula prostática. Son procesos benignos y su padecimiento no tiene relación directa con la probabilidad de padecer HBP o cáncer de próstata (Rosell et al, 1993). La prostatitis es un trastorno de salud muy común en los hombres y la padecen alrededor de un 25% de los hombres jóvenes y en edad media que necesitan atención médica por cuestiones relacionadas con los sistemas genital y urinario (Aumüller et al, 1979).

- Hiperplasia benigna de próstata (HBP); se caracteriza por un aumento del tamaño de la glándula que ocasiona grados variables de obstrucción en la evacuación de la vejiga (Burgos et al, 1993). Es una enfermedad que con mayor frecuencia se presenta en edad adulta. Se evidencia un aumento del estroma, aunque existen diferencias morfológicas de un individuo a otro. A medida que progresa la HBP y van creciendo los nódulos, se desplaza el tejido prostático sano, que queda reducido a una fina lamina (Rosell et al, 1993).
- Patología maligna
  - Cáncer de próstata; el cáncer se produce cuando algunas células prostáticas mutan y comienzan a multiplicarse descontroladamente. Éstas también podrían propagarse desde la próstata a otras partes del cuerpo, especialmente los huesos y los ganglios linfáticos originando una metástasis. Aun son inciertos los factores que pueden desencadenar esta enfermedad, sin embargo se ha establecido que se desarrolla después de los 50 años. Éste desarrollo se da probablemente por la existencia de alguna relación con acción hormonal ya que en individuos castrados se atrofia el epitelio glandular y no se desarrolla carcinoma. Por consiguiente, se puede decir que es una enfermedad dependiente de la edad.

Además de la edad, existen muchos factores que pueden promover el desarrollo del cáncer de próstata, desde posibles mutaciones moleculares específicas (Majumder et al, 2005; Yap et al, 2012) hasta una alimentación desproporcionada, (Hanchette, 1992).

Estudios epidemiológicos han mostrado que la incidencia de un cáncer de próstata es significativamente menor en países donde las personas ingieren una dieta disminuida en grasa, basada principalmente en vegetales. Algunos aspectos, además de la mencionada reducción de ingesta de calorías y grasas en los productos a diario, han sido reconocidos como constituyentes importantes en la reducción del desarrollo del cáncer de próstata, tal es el caso de un incremento en la ingesta de licopeno, un adecuado suplemento de vitamina D y una ingesta no excesiva de calcio. Inclusive el excesivo uso de multivitaminas (más de 7 veces por semana) incrementa el riesgo de padecer cáncer de próstata (Arcangeli et al, 2012).

Por otro lado, se han reportado alteraciones en genes específicos asociados al cáncer de próstata como ELAC2, RNASEL, MSR1, NSB1 Y CHEK2 (Majumder et al, 2005). Están también los protooncogenes más comúnmente sobre expresados en este cáncer, específicamente el gen ERG y otros miembros de la familia ETS (Yap et al, 2012). Estos factores mencionados están involucrados de alguna manera con los receptores andrógeno, que además de mediar los efectos biológicos de los andrógenos para el desarrollo adecuado de las células epiteliales, manteniendo la función normal y la estructura de la próstata, juegan un papel en el desarrollo y progresión de patologías asociadas con la edad del hombre (Duran et al, 2011).

El cáncer de próstata puede conducir al desarrollo de lesiones conocidas como adenocarcinomas, ya que más del 99% de los cánceres de próstata se desarrollan sobre células de una glándula. Los adenocarcinomas de próstata tienen precursoras denominadas neoplasias intraepiteliales prostáticas, originadas en las glándulas prostáticas en el tejido secretor. Ellas pueden ser clasificadas como de bajo y alto grado (Bostwick et al, 1996).

### **2.3 Clasificación del cáncer de próstata**

Ha sido difícil seleccionar el mejor tratamiento para el cáncer de próstata debido a su variable y frecuente curso. Muchos pacientes deben ser seguidos por muchos años para promediar esta variabilidad y comparar dos diferentes tratamientos para mejores pronósticos. Recientemente, se realizaron estudios de manera cuidadosa de autopsias que revelaron muchos cánceres de próstata de los cuales no se tenía registro, incrementando en incidencia con la edad (Gatenby, 2012). La incidencia en aumento con la edad indica que muchos de estos tumores estuvieron presentes por muchos años. Por ejemplo, si la incidencia de los tumores insospechados es alrededor de 10% a la edad de 55, 20% a la edad de 65, y 30% a la edad de 75, luego 2/3 de los tumores en los hombres de 75 años de edad debieron haber estado presentes por más de 20 años. La mayoría de ellos no causaron dificultad y obviamente no se necesitó tratamiento alguno (Gleason, 1966).

Sin embargo, algunos de estos tumores serán inevitablemente encontrados en tejido de próstata benigno resecaado a lo largo de la vida. Un estimado de la probabilidad de que ciertos tumores puedan progresar, es dado por las observaciones microscópicas del tumor, es decir, su estructura histológica (Baillar et al, 1966).

Para poder establecer rangos en cuanto a la clasificación del cáncer de próstata se deben tener en cuenta distintas variables. Por ejemplo, los adenocarcinomas prostáticos tienen un rango único de malignidad biológica e histológica que pueden variar rápidamente en cuanto a crecimiento, convirtiéndose de cánceres fatales a cánceres patológicos certificados que nunca progresan – con un espectro de conductas intermedias. Similarmente su estructura histológica se puede ubicar en un rango que va desde tumores malignos completamente anaplásicos hasta tumores glandulares bien diferenciados – con un espectro completo de estructuras intermedias (Gleason et al, 1974).

Por más de 50 años, ha habido reportes de una fuerte correlación entre la estructura histológica y la malignidad biológica de estos tumores. Los tumores pobremente diferenciados progresan rápidamente; mientras que los tumores bien diferenciados progresan lentamente. Estos reportes agrupan patrones histológicos en grados de malignidad, describiéndolos subjetivamente con simples términos (Gleason, 1966).

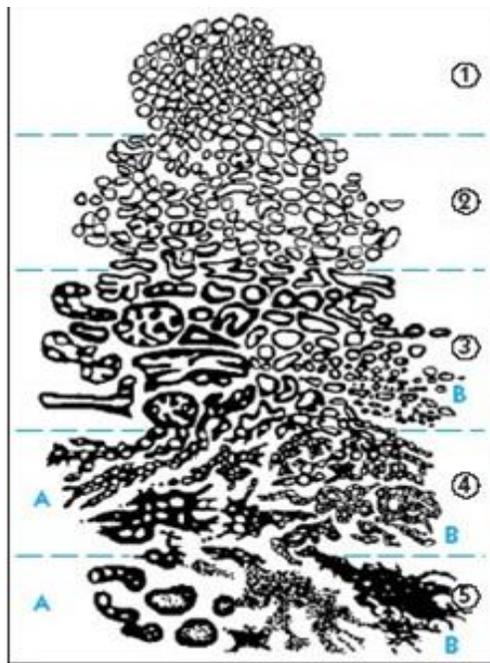
Fue hasta 1974 cuando VACURG (*The Veterans Administration Cooperative Urological Research Group*, por sus siglas en inglés) estudió el carcinoma prostático con una prueba clínica prospectiva y controlada en más de 4000 pacientes en 20 administraciones veteranas de hospitales desde 1960 a 1975, y desarrollaron otro sistema de gradación histológico, llamado Gleason (Gleason et al, 1974).

Los patrones histológicos de esta clasificación fueron caracterizados a un objetivo relativamente pequeño (X10-40) por la extensión de la diferenciación glandular y el patrón de crecimiento del tumor en el estroma prostático (Burchardt et al, 2004). El gran número de pacientes cuidadosamente estudiados y seguidos en los estudios realizados por VACURG permitieron el desarrollo objetivo de un sistema de gradación de definición seguro. Es decir, los patrones histológicos fueron establecidos y mucho después fueron ordenados en diferentes rangos de acuerdo a su malignidad biológica por las tasas de muerte específicas de cáncer; una taxonomía numérica o estadística. El sistema fue primero publicado en 1966 (Baillar et al, 1966) y refinado en 1974 (Gleason et al, 1974) y 1977 (Gleason, 1977). Cuatro factores contribuyeron a este suceso (Gleason, 1977):

1. Los patrones histológicos fueron identificados simplemente por su apariencia, sin tomar en cuenta su morfogénica u otros modelos que impliquen más de lo que actualmente se sabe.
2. La retroalimentación de las similitudes subsecuentemente expresadas permitieron combinar nueve diferentes características en cinco grados, ya que algunos patrones tienen malignidad biológica similar y también fueron asociados frecuentemente uno con otro.
3. Para mostrar los propósitos, se “congeló” el criterio histológico en un dibujo simple y estandarizado en un dibujo (Figura 1).
4. Se confirmó la observación de que muchos tumores contienen más de un grado histológico.

En los datos siguientes, se encontró que pacientes con dos diferentes grados de tumor tenían tasas de muerte por cáncer que fueron intermedias entre las tasas de aquellos pacientes con un solo grado de aquellos que tenían dos grados. Su conducta biológica fue más cercanamente relacionada al promedio del grado histológico (Gleason et al, 1974). Esto permitió promediar los dos grados encontrados en un tumor, es decir, los dos números de grado fueron añadidos juntos y denominados grado primario y grado secundario, pero la división por dos fue omitida, creando una nueva puntuación histológica, la cual va desde el 2 hasta el 10 (Gleason, 1977).

De manera más detallada, el grado primario Gleason tiene que ser mayor del 50% del patrón total observado (por ejemplo el patrón de la mayoría del cáncer observado). El grado secundario Gleason tiene que ser menor del 50%, pero al menos 5% del patrón del cáncer total observado (Bianco, 2003).



**Figura 2.** Dibujo estandarizado para la gradación del cáncer de próstata, mostrando los 5 diferentes Grados Gleason (Bostwick et al, 1996).

El diagrama clásico de la puntuación Gleason muestra cinco patrones tumorales básicos que son técnicamente referidos como “grados” tumorales (Gleason, 1974), como se muestra en la figura 2. La determinación subjetiva microscópica de esta pérdida de la estructura del tejido glandular sano causada por el cáncer es abstractamente representada por un grado, un número que va del 1 al 5, siendo el número 5 el peor grado posible. Los grados del tumor son identificados por una mezcla del grado de la diferenciación glandular y el patrón de crecimiento de los tumores. Además de tomarse en cuenta otros patrones para su clasificación en grados (Gleason, 1977):

**GRADO 1.** El tumor consiste de paquetes cercanos replicados de manera monótona, existen glándulas simples, lineadas por una simple capa de células epiteliales rectangulares. Estas glándulas están agrupadas en masas más o menos rodeadas con bordes relativamente lisos. Debido a que algunas formas de hiperplasia benigna o atípica también cumplen estos criterios, el requerimiento final para el tumor de grado 1 es la presencia de al menos unas cuantas células (al menos 1%) o muchas células, que contengan núcleos definitivamente muy alargados (mayor a 1  $\mu\text{m}$  de diámetro). La mayoría de las glándulas del grado 1 serán empaquetadas en conjunto una tras otra, pero pueden estar más presentes en áreas organizadas libremente. La forma y tamaño de las glándulas serán perturbadas por diferentes variaciones. Los límites de las masas tumorales no serán perfectamente esféricos pero deberán ser relativamente lisos y ásperos.

La separación definitiva de más de unas cuantas glándulas en la periferia sugiere un grado mayor. Las áreas esféricas del tumor son usualmente pequeñas, pero el grado tumoral 1 puede ser bastante extenso. El tumor con grado 1 puede ser bien diferenciado.

GRADO 2. Las marcas del grado 2 son leves. Existe una separación definida de las glándulas del tumor por el estroma y, usualmente es notable una mayor variación en la forma y tamaño de las glándulas que en el grado 1, aunque no una variación tan severa, como en el grado 3. La separación de las glándulas es también observada en los bordes de las áreas tumorales y se sugiere alguna habilidad limitada para difundirse a través del estroma. La separación de las glándulas del tumor usualmente mide menos que lo que mide un diámetro glandular, aunque ocurre una variación casual. Las áreas pequeñas del grado 2 también son llamados adenosis por algunos patólogos (Pistenma et al, 1979).

GRADO 3. Las tres formas del grado tumoral 3 están divididas en A, B y C. Las características de los grados 3A y 3B tienen más variación en la forma, tamaño y separación de una glándula que en el grado 2. Algunas de las glándulas individuales del grado 3 son angulares o tienen formas elongadas, algunas inclusive con “esquinas” filosas. A menudo existe una variación marcada en la forma de las glándulas y el citoplasma de las células tumorales, el cual tiende a ser más basófilo que en los grados 1 y 2, pero estos cambios son variables y de importancia secundaria. Las glándulas usualmente se encuentran con mayor espacio que el diámetro promedio de una glándula normal, pero esto puede variar marcadamente de campo a campo. Esta separación incluye una extensión irregular de glándulas dentro del estroma prostático circundante. Raramente, las glándulas del grado tumoral 3 están cercanamente empaquetadas y son muy irregulares en forma y tamaño, además deben tener una infiltración definida de glándulas disruptas en el estroma de alrededor. Los grados 3A y 3B difieren solo en el tamaño promedio de las glándulas tumorales. Las glándulas del grado 3A son de moderadas a largas; las glándulas de 3B son pequeñas, algunas veces solo pequeños conjuntos de tres o más células, algunos con lumen pequeño o incluso sin lumen pero no debe existir unión entre las cadenas o cordones, como en el grado 4.

La tercera forma del grado 3 consiste en masas y cordones de células papilares y/o cribiformes, pero los bordes de las áreas de las masas tumorales son rugosos y no invasivos. Algunos de estos tumores han recibido nombres morfológicos tales como carcinoma intraductal y carcinoma endometroide, pero en este sistema de gradación éstos son solo otro patrón de crecimiento, a menudo acompañados y fusionados con simples glándulas tumorales.

Los grados 3A, 3B y 3C están agrupados juntos por que a menudo se encuentran de la misma manera y tienen tasas de muerte por cáncer similares.

GRADO 4. El tumor grado 4 puede ser también microacinar, cribiforme o papilar pero las masas de tumor están rotas con bordes invasivos, en vez de bordes rugosos como en el grado 3C. Parece que en el tumor grado 4 se pierde la estructura tubular de los grados 1, 2, 3A y 3B. La forma más común (4A) que tiene células oscuras y la forma (4B) con células claras hypernefroides, tienen aproximadamente el mismo grado de malignidad biológica y a menudo se encuentran juntos. Las formas simples de grado 4 pueden fácilmente ser comparada con los grados 3 o 2.

Sin embargo el grado 4 puede tener una estructura glandular uniforme y debe ser reconocido por la fusión de túbulos. Una forma del grado 4 parece ser una transición entre el grado 3B y un grado anaplásico 5B, con pequeñas glándulas unidas en cadenas y cordones.

Grado 5. El grado 5 también incluye dos patrones. El grado 5B está completamente infiltrado, es un tumor virtualmente anaplásico, con raras o pocas glándulas lumbinales o vacuolas que hacen referencia a un adenocarcinoma. Este puede ser idéntico a un carcinoma de células pequeñas del pulmón y otros órganos, histológicamente y biológicamente, con varios síndromes paraneoplásicos. La otra forma del grado 5 (5A) consiste de cilindros cribiformes o papilares rugosos, redondeados y empaquetados con *foci* variable o necrosis central, denominada comedocarcinoma. El grado 5A puede asemejarse mucho al grado 3C, pero ninguna necrosis del epitelio se da en el grado 3C por lo que se indica un grado 5A. Por otro lado, los cilindros del tumor pueden ser tan solidos que uno haría un diagnóstico de comedocarcinoma sin necrosis actual.

En el presente estudio consideraremos únicamente los 5 grados utilizados en la actualidad, que van del 1 al 5, conjuntando las tres formas del grado 3 en un solo grado (Grado 3), y haciendo lo mismo con los grados 4 y 5.

#### **2.4 Marcadores de cáncer de próstata**

La fosfatasa acida prostática (PAP, por sus siglas en inglés) y el Antígeno Sérico Prostático (PSA, por sus siglas en inglés) son dos distintos antígenos específicos tisulares presentes exclusivamente en el epitelio prostático y sus productos secretados, por lo tanto son considerados marcadores de próstata (Mackay et al, 1986). Aunque en la actualidad solo son considerados dos marcadores de próstata; el Antígeno de cáncer de próstata 2 (APCP-2) (Van der et al, 2005) y el PSA. Las mediciones de PAP en el suero a menudo se usan como evidencia indirecta de carcinoma metastásico a partir de la próstata.

Desafortunadamente, el valor de este marcador es limitado por el hecho de que altos niveles séricos de PAP pueden ocurrir en casos de hiperplasia nodular de la próstata y en la prostatitis, y luego de una manipulación digital de la glándula (Gitters, 1983). PSA es un marcador sérico prostático más sensible que PAP. Sin embargo este marcador puede también estar elevado en enfermedades benignas de próstata (Stamey, 1987).

A la fecha solo se cuenta con el PSA y APCP-2 como dos de los marcadores de este tipo de cáncer, por lo que se hace necesario la búsqueda de nuevas moléculas que puedan dar mayor información al respecto de las bases moleculares en el tejido prostático canceroso.

Es así que, la aplicación a nivel mundial de algunas estrategias para abatir los índices de mortalidad, ha resultado en un incremento en la detección del cáncer de próstata en etapas tempranas. Tal es el caso de la introducción del PSA como método de tamizaje. La prueba de PSA es usada típicamente para la detección del cáncer de próstata a través de una proyección basada en la medición del PSA seguido de una biopsia prostática (Chunyan et al, 2012). Este antígeno es expresado por uno de los tres tipos de poblaciones celulares epiteliales de la próstata. Las células lumbares expresan además de fosfatasa acida prostática y receptor andrógeno, el PSA (Chunyan et al, 2012). En 1980, la introducción de la prueba de PSA mostró un incremento dramático en la incidencia del cáncer de próstata ya que hasta ahora es el biomarcador comúnmente utilizado para éste propósito.

Sin embargo, esta prueba carece de especificidad y sensibilidad. Arcangel et al. (2012) mostró que este antígeno no es específico de cáncer de próstata, debido a que un valor normal de PSA no excluye la presencia de un cáncer de próstata potencialmente letal, mientras que la enfermedad prostática benigna puede causar elevados niveles de PSA que pueden requerir de la biopsia para el diagnóstico.

La expresión génica de PSA se debe a una actividad transcripcional de los receptores de andrógeno, y por lo tanto una transcripción alterada de estos receptores puede permitir el decline en niveles de PSA, pero no en la reducción deseada en el crecimiento tumoral. Efectivamente se pueden establecer estrategias para mejorar este conflicto, como por ejemplo: establecer una línea base dentro de los 40 años, antes del desarrollo de una HBP, o detallar la velocidad del PSA que indique un incremento en la expresión del antígeno prostático de manera progresiva (Yap et al, 2012).

Aunque la enfermedad es potencialmente curable con terapia local cuando se suprime la glándula prostática, aproximadamente 33% de los pacientes desarrollan resistencia a tratamientos locales y eventualmente progresan para desarrollar una enfermedad metastásica incurable. La mortalidad de esta enfermedad es usualmente debido a la resistencia a la terapia de anulación de andrógenos y el desarrollo eventual de la resistencia a castración del cáncer de próstata (Attard, 2010). La etiología molecular del desarrollo de resistencia a las terapias del cáncer de próstata aun es poco entendida debido a que se necesitan previos y consecuentes estudios que mayoritariamente son obstaculizados por inadecuados modelos preclínicos y dificultad en la adquisición de tejido tumoral (Yap et al, 2012).

En la actualidad, la investigación se ha enfocado en la búsqueda de un biomarcador eficiente y específico para este tipo de cáncer que se exprese en etapas tempranas y que ayude al diagnóstico temprano para su proyección y a su vez llevar a cabo acciones específicas y sistematizadas para el diagnóstico y con ello un mejor tratamiento de los pacientes que redundará en una mejor calidad de vida para éstos (Bai, 2012).

## **2.5 Timopoyetina**

La timopoyetina (TMPO) o lámina asociada a polipéptido 2 (LAP2) es una proteína que pertenece a un grupo de proteínas nucleares que requieren altas concentraciones de sales monovalentes y detergentes no iónicos para extraerlas del núcleo (Senior y Gerace, 1988; Foisner, 1993). Las primeras en ser caracterizadas fueron todas las proteínas integrales de la membrana nuclear interna: LAP1 y LAP2; cada una con un dominio transmembranal que a su vez están expresadas en múltiples isoformas.

Todas las isoformas de LAP2 tienen un segundo dominio que comparten con las proteínas Emerina y MAN-1. Este dominio LEM, de aproximadamente 40 aminoácidos, une ADN, al igual que lo hace el Factor barrera de autorregulación (por sus siglas en inglés, BAF) (Cai et al, 2001; Laguri et al, 2001). Algunas proteínas con este dominio, tienen dominios adicionales los cuales pueden unir ADN y otras proteínas cromáticas. Por ejemplo, LAP2 $\beta$  puede unir HA95, una proteína de la cromatina involucrada en la replicación del ADN (Martins et al, 2003).

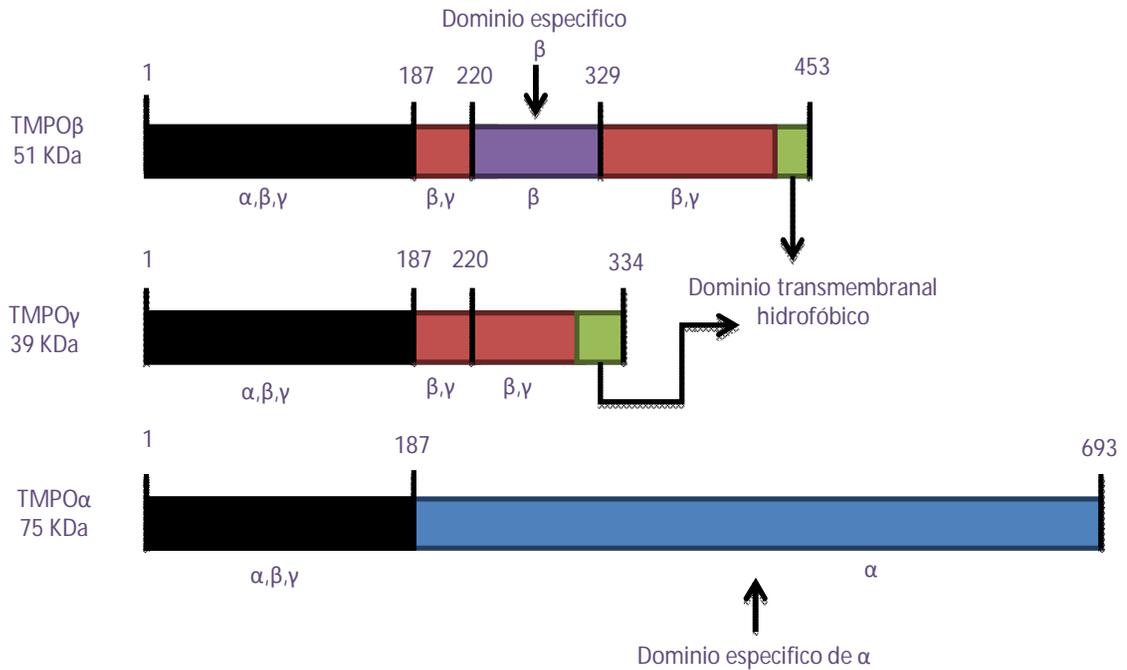
La TMPO es secretada por las células epiteliales del timo. Los linfocitos que se diferencian bajo la influencia de la timopoyetina subsecuentemente dan origen a distintas subclases de células T con potencial de desarrollar efecto discreto, apoyador, o supresor de funciones después de encontrarse con el antígeno.

Esta proteína es codificada por el gen TMPO (Homer et al, 2001) el cual se ubica en la banda cromosómica 12q22 en la región cromosómica 12q21q24 (Martinez, 2007). Es un gen altamente expresado en etapa troncal, que disminuye bajo la diferenciación en células epiteliales de la glándula mamaria de ratón (Williams et al, 2009).

La Timopoyetina se aisló originalmente como un polipéptido de 5 kDa a partir del timo bovino en base a su capacidad de afectar la transmisión neuromuscular cuando se inyecta en ratones. Posteriormente, al purificarse, se encontró que afecta ciertas funciones inmunológicas, induciendo diferenciación de protimocitos a timocitos, medida por cambios en la expresión de Thy-1 y otros marcadores fenotípicos de la superficie celular y por la mejora de las respuestas alogénicas de células T periféricas (Crafford et al, 1994). El gen TMPO codifica tres empalmes alternativos de mRNAs de 75 kDa (alfa), 51 kDa (beta) y 39 kDa (gama) que son expresadas ubicuamente en todas las células. Estos empalmes son conocidos actualmente como las isoformas de la timopoyetina: TMPO $\alpha$ , TMPO $\beta$  y TMPO $\gamma$  respectivamente.

La TMPO $\alpha$  es difusamente expresada en el núcleo celular, carece de un dominio transmembranal y específicamente se une a laminas tipo A en células en proliferación (Vlcek et al, 1999, Homer et al, 2001, Dechat et al, 2004), mientras que la TMPO $\beta$  y TMPO $\gamma$  son proteínas integrales de la membrana nuclear interna que difieren en un solo dominio específico de TMPO $\beta$  (figura 3) (Holmer et al, 2001).

Todas las isoformas de TMPO comparten una región amino terminal de 187 aminoácidos, los cuales pueden estar involucrados en la unión a la cromatina (Gruenbaum et al, 2000). La isoforma mejor estudiada es LAP2 $\beta$ , la cual es una proteína de 51 kDa con un dominio N-terminal hidrofílico de 409 residuos, seguida de un simple segmento transmembranal.



**Figura 3.** Dominios de las tres isoformas de la timopoyetina (Harris et al, 1994).

## 2.6 Funciones de la TMPO

El aislamiento de la TMPO de suero se dio, una vez observado que induce la diferenciación del precursor linfocítico a timocitos y también por los efectos secundarios en la transmisión neuromuscular (Crafford et al, 1994). A partir de entonces esta proteína ha sido objeto de estudio en conjunto con todas las proteínas de la lámina nuclear tanto interna como externa. Sin embargo entre las caracterizadas, la mayoría se pueden unir directamente a las láminas tipo A o B, o ambas. Las láminas tipo B son esenciales para la viabilidad celular y el desarrollo mientras que las láminas tipo A no son esenciales (Weber et al, 1999). Los filamentos laminares son importantes para el ensamblaje, estructura, forma y estabilidad mecánica del núcleo. Regulan la organización de la cromatina y la expresión genética e influyen en la señalización.

Muchas proteínas de la membrana nuclear interna se encuentran unidas directa o indirectamente a los filamentos laminares. Este conjunto de filamentos y las proteínas unidas a la lámina de la membrana nuclear interna es conocido como lamina periférica. La membrana plasmática contiene muchos complejos

estructurales que pueden ser regulados dinámicamente y generar señales a células que responden de una manera específica de tejido, en muchos casos a nivel de regulación genética (Wilson et al, 2009). Partiendo de que la TMPO está ubicada en la membrana nuclear interna se sugiere que esta proteína juega un rol importante en la transcripción, como un posible regulador transcripcional (Williams et al, 2009), en la organización de la envoltura nuclear y en el control de la proliferación y el ciclo celular (Weber et al, 1999). También se ha reportado que LAP2 $\beta$  se une específicamente a la lámina B y también interactúa directamente con reguladores de transcripción y modificadores epigenéticos incluyendo HDAC3 y contribuye a la represión transcripcional (Wilson et al, 2009).

Inclusive se ha encontrado que minutos después del comienzo de la anafase, LAP2 $\alpha$  se acumula en distintas regiones en los telómeros de los cromosomas rezagados y se redistribuye al interior nuclear en la telofase tardía, indicando que LAP2 $\alpha$  puede jugar un papel en el posicionamiento de los telómeros dentro de la reformación del núcleo y en el restablecimiento de una mayor estructura cromática al final de la mitosis (Dechat et al, 2004). Además, LAP2 $\alpha$  es requerida para movilizar pRb al esqueleto nuclear, protegiéndolo de la degradación proteosomal (Johnson et al, 2004). Adicionalmente se ha establecido una asociación de LAP2 $\alpha$  con la proteína de choque térmico, Hsp70, sugiriendo que esta puede tener un papel en la resistencia contra el estrés (Snyers, 2008). La expresión de LAP2 $\alpha$  ha sido encontrada previamente por estar asociada con el crecimiento celular. Una expresión insignificante de LAP2 $\alpha$  fue observada en fibroblastos quiescentes. Sin embargo, su expresión incremento substancialmente una vez que las células fueron inducidas a volver a entrar al ciclo celular (Markiewicz et al, 2002).

## **2.7 Detección de TMPO**

La detección de proteínas se puede llevar a cabo por distintas metodologías, a saber cómo las famosas ELISA, RIA, Western Blot, Inmunohistoquímica, hasta nuevos procesos como la secuenciación de proteínas mediante el MALDI-TOFF. Una de las más sencillas y prácticas metodologías para visualizar una proteína en una determinada célula es la inmunohistoquímica, la cual a diferencia de todas las técnicas, nos permite definir cuál es el tipo de célula que expresa un determinado antígeno, utilizando cortes del bloque de tejido fijado e incluido en parafina. Una inmunodetección en tejidos incluidos en parafina lleva aproximadamente de 3 a 5 días. Una de las formas para evitar realizar la inmunohistoquímica en un gran número de muestras, manteniendo las condiciones de trabajo similares, es la realización de un microarreglo de tejidos (MAT).

Esta tecnología permite de una manera más simple, analizar en un solo ensayo un gran número de muestras bajo las mismas condiciones de experimentación

haciendo más robustos los resultados. Es importante aclarar que este tipo de tecnología permite incluir tanto tejidos positivos como negativos fortaleciendo así los resultados.

A la fecha gran cantidad de reportes en investigación biomédica se basan en el uso de estos microarreglos de tejidos, siendo una de las herramientas tecnológicas más utilizadas en el ámbito de la investigación biomédica y clínica. Además permite un ahorro en tiempo y reactivos. En nuestro caso utilizamos un MAT de 22 spots o puntos o tejidos lo cual viene a ser un MAT de baja densidad, ya que existen también los microarreglos de alta densidad que pueden contener hasta mil tejidos por laminilla (Lastra, 2005).

## **2.8 TMPO y cáncer**

La transcripción del gen de TMPO es parcialmente conocida. Sin embargo, recientemente se realizó un análisis de la información que a la fecha existe sobre la interacción de diversas proteínas y el gen TMPO. Nuestros datos preliminares sugieren que las proteínas Rb1, E2F1 y HSP90AB1 pueden estar asociadas a los mecanismos de regulación transcripcional de TMPO. Es bien conocido que Rb es uno de los genes alterados tanto en el cáncer en general como en el cáncer de próstata, donde se ha reportado que este gen se encuentra alterado (Chen et al, 1989). En este caso, el papel de Rb y E2F1 en cáncer es claro (Macleod, 2010), por lo que sugerimos que una alteración en la expresión del gen TMPO, que es regulada al menos por RB (un gen mutado en varios tipos de cáncer), podría explicar uno de los pasos relacionados al cáncer de próstata.

Por otro lado, se ha reportado que existen cambios en la composición de la lámina nuclear en la mayoría de las malignidades hematológicas, sugiriendo que TMPO al estar localizada en esta estructura, es una molécula potencialmente relacionada al cáncer y está involucrada en la carcinogénesis, (Hye-Jeong et al, 2008). Además se ha encontrado que LAP2 $\alpha$  y lámina tipo A se unen directamente al supresor tumoral, Rb, (Markiewicz et al, 2002), en el control de la proliferación dependiente de Rb en tejido de células madre (Naetar et al, 2008).

Una mutación en LAP2 $\alpha$  que interrumpe la unión a lámina A es conocida como causante de cardiomiopatía dilatada. Esta mutación puede también perjudicar la actividad de Rb (Dyson, 1998), o reflejar un nuevo rol de LAP2 $\alpha$ , lo cual es aún desconocido (Wilson et al, 2010). Esta misma proteína (LAP2 $\alpha$ ) ha sido previamente reportada al estar regulada por E2F en células de osteosarcoma a través de la unión de E2F al promotor LAP2 (Parise et al, 2006). Y estos resultados concuerdan con la idea sobre el posible rol que juega E2F en la regulación de la expresión de LAP2 $\alpha$  en células con cáncer cervical.

Por su parte Markiewicz et al, (2002) reportó que LAP2 $\alpha$  juega un rol en la regulación negativa de la actividad E2F, ya que se ha encontrado que se ancla Rb hipofosforilado en el núcleo, y esto a su vez mejora la estabilidad de Rb y el silenciamiento de la actividad de este mismo supresor tumoral. Estos descubrimientos implican que la expresión de LAP2 $\alpha$  está regulada de una manera dependiente del ciclo celular, por lo que en cáncer, se encuentra desregulada. De acuerdo con esto, la expresión de LAP2 $\alpha$  ha sido previamente mostrada por estar elevada en tumores de meduloblastoma (Yokota et al, 2004), laringe, pulmón, estomago, mama y colon, aunque solo a nivel de mRNA (Parise et al, 2006) aunque en el caso de cáncer de pulmón ya se demostró la sobreexpresión de la TMPO (Hye-Jeong et al, 2008).

### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACION**

El cáncer es un problema de salud prioritario a nivel nacional e internacional, siendo el cáncer de próstata un problema real de salud en México, debido en gran parte a la falta de marcadores tumorales específicos. Uno de los genes que recientemente nuestro grupo de trabajo ha identificado como un gen expresado en diferentes tumores, es TMPO, que concuerdan con los reportes de la sobreexpresión en cáncer de pulmón, siendo además un gen del cual se desconoce el papel específico que juega en el cáncer. Sin embargo existen varios reportes sobre el papel que juega en las células normales, así como las interacciones que mantiene con algunos genes relacionados al cáncer, como Rb y E2F. A la fecha son pocos los genes que se alteran en el cáncer de próstata como el PSA y ERG. Por lo cual, resulta interesante determinar la expresión de la TMPO, esperando remarcar el conocimiento de esta proteína, permitiendo incrementar las bases moleculares de los genes probablemente implicados en este tipo de tumor.

## **HIPOTESIS**

Se ha observado que la TMPO juega un papel en la proliferación celular y en el control del ciclo celular, al estar desregulada esta proteína en cáncer, se espera una expresión de TMPO en tejido prostático canceroso y ninguna expresión en tejido prostático sano, sugiriendo que TMPO es una molécula potencialmente relacionada al cáncer.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 OBJETIVO GENERAL**

- Determinar la expresión de la Timopoyetina en tejido con cáncer de próstata en diferentes grados Gleason mediante microarreglo de tejidos.

### **5.2 OBJETIVOS PARTICULARES**

- Creación de un microarreglo de tejido prostático humano.
- Detectar la timopoyetina tanto en tejido prostático sano como en tejido con cáncer de próstata en los diferentes grados Gleason.

## **6. METODOLOGIA**

### **6.1 Obtención de Muestras.**

Se obtuvieron bloques de parafina de tejido prostático canceroso del archivo de patología en la UMAE del Hospital de Oncología Centro Médico Nacional Siglo XXI, con las cuales se construyeron los microarreglos de tejidos.

### **6.2 Procesamiento de los Microarreglos de tejidos.**

Los microarreglos se fabricaron con el kit Quick Ray®. Se precalentó el molde de silicón con capacidad para 40 pozos, con un diámetro de 3mm cada uno, a una temperatura de 75° C por 30 minutos en el cual se colocó lentamente la parafina caliente (60° C), hasta que la parte superior de las barras quedó completamente sumergida. Se colocó un casete de rejilla sin tapa sobre el molde para que la parafina solidificada se pudiera anclar y de esta manera sacar el bloque formado. El casete de rejilla sin tapa, encima del molde de silicón también se cubrió con parafina caliente (60° C) hasta el borde superior y se dejó solidificar a una temperatura de 4° C por un día completo. Posteriormente se separó lentamente el molde de silicón del casete evitando quebrar la parafina y así formar el bloque de parafina con pozos.

Con el micrótopo se realizaron los cortes de 4 µm a los bloques de parafina con tejido prostático tanto canceroso como sano. Dichos cortes se colocaron sobre agua a una temperatura de 37°, una vez extendidos completamente se recogieron con portaobjetos y se dejaron secar a temperatura ambiente. De esta manera se construyeron laminillas a las cuales se les realizó una tinción con hematoxilina y eosina para poder revisar la patología del tejido y con ello poder detectar las zonas de interés y marcarlas primero en las laminillas y después en los bloques de parafina. Una vez detectadas las zonas de interés se utilizó una aguja dérmica estéril para extraer las muestras del tejido prostático canceroso de los bloques de parafina y colocarlos en los pozos del bloque de parafina previamente construido.

El molde construido con todas las muestras, se incubó en un horno a 45° C por dos horas, logrando así la adhesión del tejido con el pozo del recipiente y facilitar los cortes en el micrótopo. Luego de 2 horas, se colocó el bloque en un recipiente frío para lograr la solidificación de éste. Posteriormente se realizó el corte óptimo con el micrótopo. Dicho corte se colocó sobre agua a una temperatura de 37° C y una vez extendido completamente, se recogió en un portaobjetos y se dejó secar. Este experimento se realizó por duplicado.

### 6.3 Inmunohistoquímica.

Una vez contruidos los microarreglos, se realizaron las pruebas de inmunohistoquímica. Esta técnica está basada en la utilización de un anticuerpo específico previamente marcado, en este caso, TMPO, el cual reconoce las tres isoformas de la proteína. Los microarreglos se sometieron a un proceso de desparafinación, introduciendo éstos en un horno a una temperatura de 60° C por 20 minutos, seguido de una rehidratación mediante dos baños de xilol al 100% por 10 min cada uno y baños en soluciones graduales de etanol al 100%, 95% y 70% hasta agua. La exposición del antígeno se efectuó en una olla de presión utilizando un amortiguador de citrato a pH 6 (Trilogy, Cell Marque Corp.), seguido de un lavado con agua destilada por 3 min. La detección de la proteína se realizó mediante la técnica de Biotina/Estreptavidina amplificada (BSA), utilizando el protocolo de tinción de *DAKO Envision* (Bio SB Mouse/Rabbit Immunodetector REF B003). Para la detección de TMPO se utilizó el anticuerpo monoclonal primario anti-TMPO a una dilución de 1:100. La incubación con el anticuerpo primario se realizó por 12 horas a 4° C.

La contratinción fue llevada a cabo con hematoxilina y finalmente fue colocado el cubreobjetos con la resina Permount (Fischer). La evaluación de la reacción de inmunohistoquímica, se realizó en un microscopio óptico, con 3 evaluadores independientes que evaluaban la presencia o ausencia de la reacción, considerándose la expresión de la proteína a la reacción positiva entre la interacción del anticuerpo primario con el anticuerpo secundario (precipitación café).

## 7. RESULTADOS

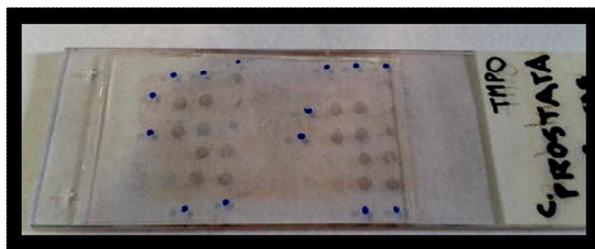
### 7.1 Microarreglo de tejidos

Se obtuvieron 44 muestras (bloques de parafina) de tejido con cáncer de próstata obtenidas del archivo de patología en la UMAE del Hospital de Oncología Centro Médico Nacional Siglo XXI. Se montaron laminillas para realizar técnicas de tinción con hematoxilina y eosina de referencia en todos los bloques para revisar los diagnósticos y marcar con tinta las zonas de interés.

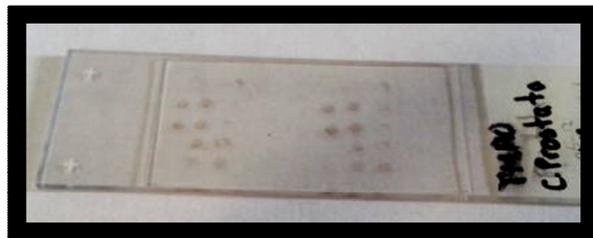
En nuestro estudio, dada la heterogeneidad del tejido y la posibilidad de tomar muestras poco representativas del tumor, este proceso fue evaluado por duplicado consensuando dos criterios únicos, los cuales fueron: tejido histopatológico con cáncer de próstata y tejido sano. Posteriormente se localizaron las zonas a incluir y se consideraron como muestras de interés los focos múltiples de tumor, la neoplasia intraepitelial prostático de diferentes grados y la próstata sana.

Con las muestras contenidas en bloques de parafina se logró la construcción de 2 microarreglos de tejidos de baja densidad, con 22 *spots* cada uno (Figura 4) . Las muestras fueron distribuidas en los microarreglos de tejidos de manera lineal, colocando las muestras de tejido sano conjuntas y las muestras con cáncer prostático al azar, con una distancia de 4 mm entre los centros de cada muestra, dando lugar a dos tipos de matrices; 6 columnas y 5 filas, quedando ambos microarreglos con una disposición y clasificación como se muestra en la Tabla 4 y en la Tabla 5.

A)



B)



**Figura 4.** Microarreglos de tejido de baja densidad. A) Microarreglo 1. B) Microarreglo 2.

	A	B	C	D	E	F	G
1			TS				TS
2	G-3	TS	TS		G-5	G-2	TS
3	G-2	G-2	G-1		G-4	G-2	G-5
4		G-3	G-3			G-3	G-4
5		G-2	G-3			G-2	G-3

**Tabla 4.** Distribución de las muestras con TS (tejido sano) y las muestras con cáncer prostático, clasificadas de acuerdo al Grado Gleason (G), contenidos en el primer microarreglo. El número indica el grado Gleason de acuerdo al sistema de gradación Gleason.

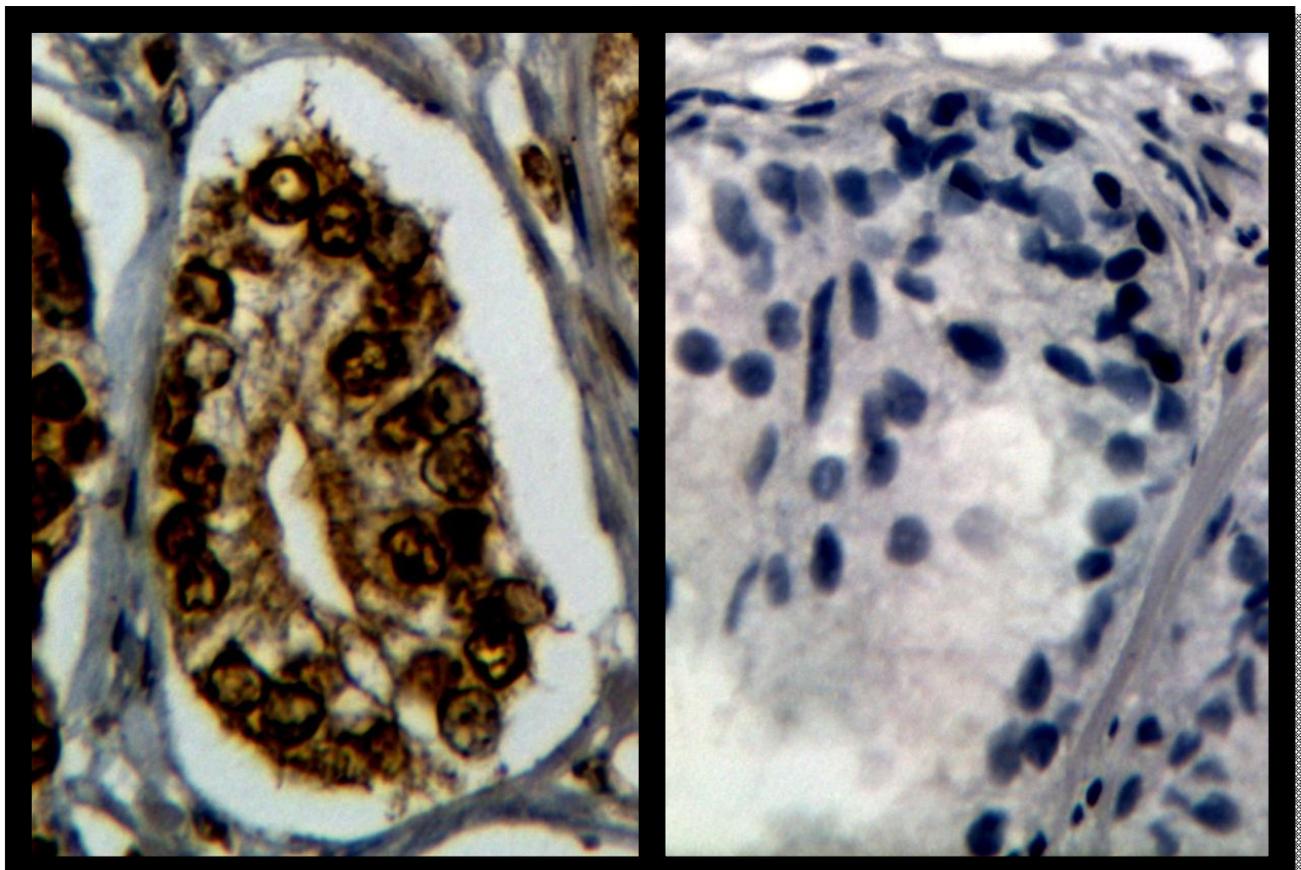
	A	B	C	D	E	F	G
1			TS				TS
2	G-1	G-2	TS		G-5	G-1	TS
3	G-2	G-2	G-1		G-4	G-3	G-5
4		G-3	G-3			G-3	G-5
5		G-2	G-3			G-2	G-3

**Tabla 5.** Distribución de las muestras con TS (tejido sano) y las muestras con cáncer prostático, clasificadas de acuerdo al Grado Gleason (G), contenidos en el segundo microarreglo. El número indica el grado Gleason de acuerdo al sistema de gradación Gleason.

## 7.2 Expresión de TMPO en tejido prostático canceroso y sano.

Se demostró la existencia de una expresión heterogénea dentro de cada tumor prostático y ninguna expresión en tejido sano.

La tinción mostrada en todos los *spots* con tejido prostático canceroso demostró la presencia de la timopoyetina en el núcleo celular, como se mencionó anteriormente en la literatura citada. Sin embargo, gran parte de la reacción se expresó en el citoplasma celular, como se muestra en la figura 5. Ésta tinción tanto nuclear como citoplasmática se expresó por igual en todas las células basales contenidas dentro de las glándulas prostáticas cancerosas.



**Grado Gleason 1**

**Tejido Prostático Sano**

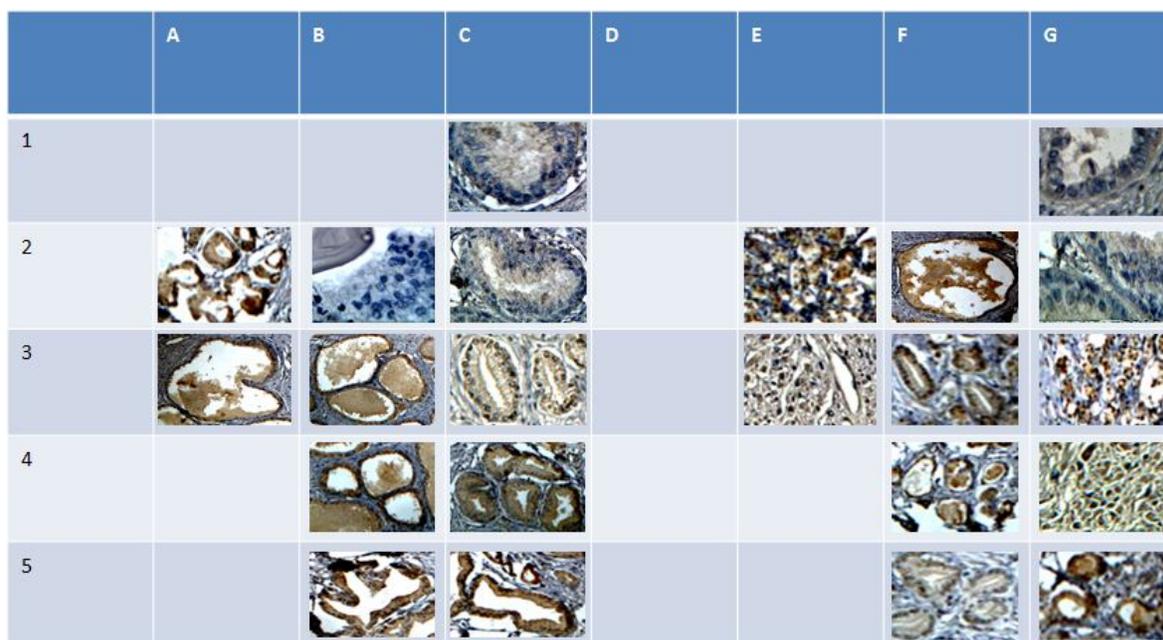
**Figura 5.** Expresión de Timopoyetina observada mediante un microscopio a un objetivo 40X, en células de una glándula prostática cancerosa (teñidas en color café) rodeada por el estroma glandular (teñido en color azul) lo cual indica una reacción positiva en Grado Gleason 1 (izquierda) tanto en el núcleo como en el citoplasma, y una contratinción con hematoxilina tanto en células basales del tejido prostático sano como en el estroma glandular que las rodea, lo que nos indica una reacción negativa en este tipo de tejido (derecha).

Por otra parte, se realizó la técnica de inmunohistoquímica a los dos microarreglos fabricados para identificar el complejo antígeno anticuerpo de la TMPO. En el primer microarreglo la reacción fue positiva para 17 spots y negativa para los 5 spots restantes como se ilustra en la tabla 6. En el segundo microarreglo la tinción fue positiva para 18 spots y negativa para los 4 restantes como se ilustra en la tabla 7.

Se entiende por reacción positiva, una tinción color café de las células con cáncer de próstata y como una tinción negativa a ninguna coloración café del tejido prostático con cáncer o tejido prostático sano y por consiguiente una coloración azul, debido a la tinción con hematoxilina.

## MICROARREGLO 1

A)



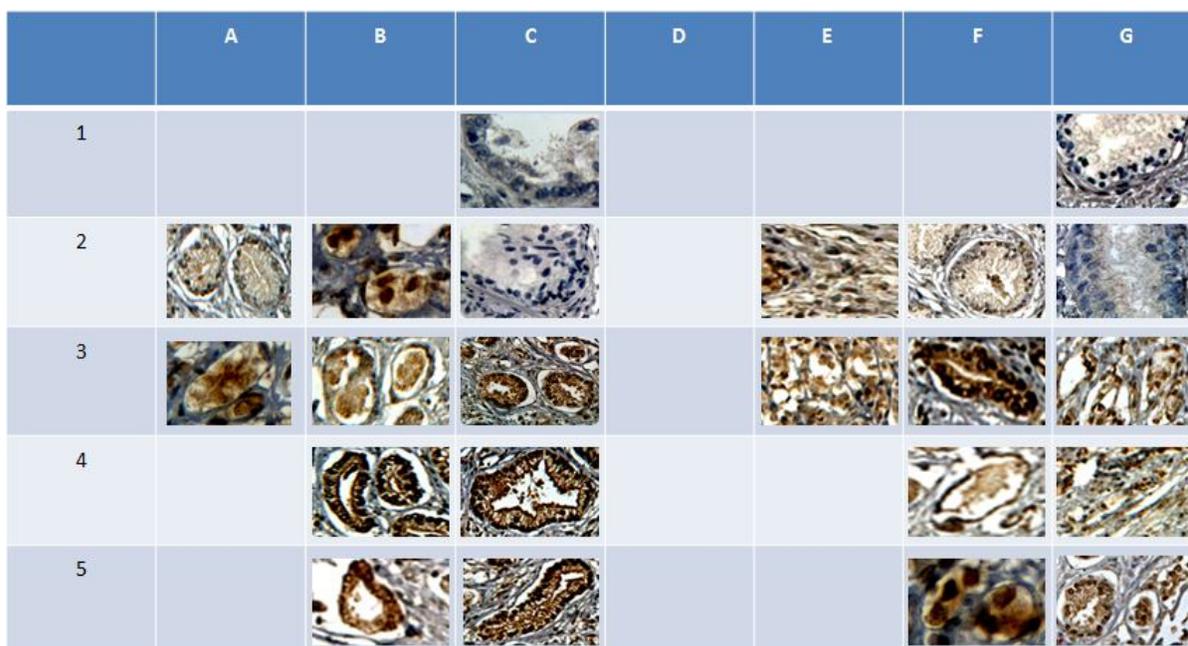
B)

	A	B	C	D	E	F	G
1							
2							
3							
4							
5							

**A)** Tinción con hematoxilina y eosina y marcaje de tejido con TMPO en cada uno de los *spots* del microarreglo 1. **B) Tabla 6.** Numero de *spots* positivos para TMPO representados con color verde (17 en total) y *spots* negativos para TMPO, representados en color rojo (5 en total) en los diferentes grados Gleason del microarreglo 1.

## MICROARREGLO 2

A)



B)

	A	B	C	D	E	F	G
1							
2							
3							
4							
5							

A) Tinción y marcaje con hematoxilina y eosina y marcaje de tejido prostático con TMPO en cada uno de los *spots* del microarreglo 2. **Tabla 7.** Numero de *spots* positivos para TMPO, representados con color verde (18 en total) y *spots* negativos para TMPO, representados en color rojo (4 en total) en los diferentes grados Gleason del microarreglo 2.

### 7.3 Expresión de TMPO en diferentes grados Gleason.

Para clasificar las muestras contenidas en los microarreglos de tejidos se utilizó el sistema de Gradación Gleason. Los datos obtenidos se detallan en la tabla 8 y tabla 9 donde se muestra el número de muestras positivas y negativas para cada grado Gleason, contenido en cada microarreglo. Como ya se mencionó, las muestras con cáncer fueron colocadas al azar, colocando únicamente el tejido prostático sano en las filas superiores para tener un mejor control sobre éstas. Posteriormente se clasificaron de acuerdo a su grado histopatológico conforme a las características de cada tejido mencionadas anteriormente.

En el microarreglo 1 se encontraron los siguientes Grados:

Tipo de Tejido	Número de muestras totales	Número de muestras positivas	Número de muestras negativas
Tejido Sano	5	0	5
Grado Gleason 1	1	1	0
Grado Gleason 2	6	6	0
Grado Gleason 3	6	6	0
Grado Gleason 4	2	2	0
Grado Gleason 5	2	2	0

**Tabla 8.** Numero de muestras positivas y negativas de cada *spot* en el microarreglo 1.

En el microarreglo 2 se encontraron los siguientes Grados:

Tipo de Tejido	Número de muestras totales	Número de muestras positivas	Número de muestras negativas
Tejido Sano	4	0	4
Grado Gleason 1	3	3	0
Grado Gleason 2	5	5	0
Grado Gleason 3	6	6	0
Grado Gleason 4	1	1	0
Grado Gleason 5	3	3	0

**Tabla 9.** Numero de muestras positivas y negativas de cada *spot* en el microarreglo 2.

Por lo anterior podemos afirmar que existe una similitud casi exacta en cuanto a los resultados arrojados por las pruebas de inmunohistoquímica en ambos microarreglos. En la figura 6, podemos distinguir perfectamente los diferentes grados Gleason analizados y descritos en los diferentes spots de los microarreglos donde además se enfatizan las características principales de cada grado Gleason que se tomaron en cuenta para realizar dicha clasificación.



**Figura 6.** Diferentes grados Gleason en las diferentes muestras contenidas en los micrarreglos. Se observa el diagrama clásico propuesto por Gleason en 1974 y la similitud encontrada con nuestros resultados. En el grado 1 podemos distinguir perfectamente la forma esférica de las glándulas, en conjunto y con una cercanía muy aproximada. En el grado 2 podemos distinguir una pequeña distorsión de la forma esférica de las glándulas esféricas del grado 1. En el grado 3 se distingue ya una distorsión de las glándulas muy notoria para convertirse en glándulas amorfas. En el grado 4 se observan hileras de glándulas, con espacio entre éstas. Más aún se dan espacios vacíos entre éstas. En el grado 5, los espacios vacíos ya son más prolongados y en mayor número, y el tejido prostático es pobremente diferenciado.

## 8. DISCUSIÓN

Resulta fundamental para el desarrollo de nuevas terapias antineoplásicas dirigidas al cáncer de próstata, la búsqueda de marcadores específicos para el cáncer de próstata. Dado que las células tumorales de próstata y las células normales comparten algunos marcadores, es posible que algunos que han sido reportados para células cancerosas de cérvix, pulmón y mama también se expresen en cáncer prostático.

Las muestras de pacientes representan un modelo *in vitro* adecuado para el estudio de cáncer debido a que mantienen heterogeneidad del tumor del cual fueron obtenidas. Una vez montadas en los microarreglos de tejidos se determinó la presencia de TMPO mediante técnicas de inmunohistoquímica. La técnica de microarreglo de tejidos representó una técnica óptima para el estudio de una gran cantidad de muestras, en una sola lamina bajo las mismas condiciones (Lastra, 2005). Los resultados obtenidos en este trabajo revelaron que esta proteína se expresa desde el primer grado Gleason del cáncer prostático hasta el grado máximo. En el 2004, se publicó el primer estudio extenso sobre la expresión de TMPO en tumores de meduloblastoma (Yokota et al, 2004), seguido de los trabajos realizados por Parise et al, (2006) donde también se encontró expresada esta proteína en tumores de laringe, pulmón, estomago, mama y colon a nivel de mRNA. Siendo Hye-Jeong et al (2008), quien demostró la sobreexpresión de TMPO en el cáncer de pulmón, resultado que correlaciona con los resultados de este trabajo a diferencia del tejido, el cual es prostático canceroso.

Sobre la expresión de TMPO en tejidos sanos, se cuenta con el reporte de su regulación en la isoforma  $\alpha$ , la cual propicia el ciclo celular, señalando su desregulación como un elemento potencial de la transformación neoplásica, (Homer et al, 2001). Siendo concordante con los resultados encontrados, donde el tejido prostático sano presenta expresión nula.

Debido a los hallazgos mencionados, la TMPO representa una alta probabilidad de funcionar como marcador tumoral debido a su expresión en diferentes tejidos neoplásicos. Siendo al menos en el cáncer de próstata, un posible marcador molecular de la enfermedad temprana permitiendo de esta manera, un diagnóstico oportuno.

Las pruebas de inmunohistoquímicas, revelaron además una expresión de TMPO tanto nuclear como citoplasmática en todos los grados Gleason. La expresión nuclear de TMPO ya ha sido reportada previamente en todos los trabajos realizados con esta proteína, concordando con la localización de las tres isoformas de la TMPO en la membrana nuclear (Vlcek et al, 1999).

Por otro lado la expresión citoplasmática de la TMPO no se ha reportado previamente, por lo que resulta interesante ampliar la información de esta reacción. Podemos descartar por completo un problema de especificidad debido a que el anticuerpo utilizado reconoce las tres isoformas de la TMPO. Por lo tanto se sugiere que esta expresión se origina por la alteración del gen Rb, ya que se ha observado la alteración de éste y otros genes como PSA y ERG en el cáncer de próstata (Chen et al, 1989). La TMPO al estar regulada por Rb, también sufre una alteración que podría estar asociado a algún mecanismo de síntesis que hace posible la expresión de la TMPO en el citoplasma. Inclusive se podría sugerir la existencia de otra isoforma localizada en el citoplasma además de las tres ya reportadas.

Sin embargo actualmente se desconoce el papel que juega TMPO en este tipo de cáncer por lo que resulta necesario ampliar el estudio de las funciones de esta proteína en el cáncer de próstata.

Para confirmar el papel de TMPO en el cáncer de próstata es necesario realizar una separación de las células que expresan esta proteína, de manera individual o combinada, para posteriormente realizar estudios más complejos con técnicas específicas para cuantificar la expresión total de esta proteína. La alteración de Rb en cáncer de próstata en conjunto con nuestros datos preliminares sugiere que las proteínas Rb, E2F y HSP90AB1 pueden estar asociadas a los mecanismos de regulación transcripcional de TMPO, aunque esto aún está sujeto a comprobación.

## **9. CONCLUSIÓN**

La TMPO se expresó en el tejido prostático canceroso independientemente del Grado Gleason, a diferencia del tejido sano en donde no se expresó esta proteína. Se sugiere como un posible marcador tumoral al encontrarse expresada en los diferentes grados Gleason, haciendo falta determinar la sensibilidad de esta proteína.

## 8. BIBLIOGRAFIA

- Alberts B. (2004). *Biología molecular de la célula*. Ed. Omega ISBN 54-282-1351-8.
- Arcangeli S., Pinzi V., Arcangeli G. (2012). Epidemiology of cancer and treatment remarks. *World Journal of Radiology* 4(6): 241-246.
- Attard G, de Bono J. (2010). Utilizing circulating tumor cells: challenges and pitfalls. *Current Opinion Genetic Device* 21: 50-8.
- Aumüller, G. (1979). *Prostate gland and seminal vesicles*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Bai V., Hwang O., Divine G., et al (2012). Averaged differential expression for the discovery of biomarkers in the blood of patients with prostate cancer. *Plos one*. 7(4): e34875.
- Baillar J., Mellinger G., Gleason D. (1966). Survival rates of patients with prostatic cancer, tumor stage and differentiation- a preliminary report. *Cancer Chemotherapy Reports* 50:129.
- Barón G., Herrero C., Vilaplana G., et al (2005). *Anemia y Cáncer*. Ed panamericana. México D.F.
- Barqawi Al., Krughoff K., Eid K. (2012). Current challenges in prostate cancer management and the rationale behind targeted focal therapy. *Advances in Urology*. 2012:862639. 145-151
- Bianco F., Wood D., Cher M., et al (2003). Ten-year survival after radical prostatectomy: specimen Gleason score is the predictor in organ-confined prostate cancer. *Clinical Prostate Cancer*. 1(4): 242-247.
- Bostwick D., Pacelli A., López A. (1996). Molecular biology of prostatic intraepithelial neoplasia. *Prostate* 29(2): 117-34.
- Burchardt M., Engers R., Mueller M., et al (2004). Trends in Gleason Grading in Germany: Evaluating using prostate cancer tissue microarrays. *Journal Urology* 200(4): 2128-2136
- Burgos R., Chicharro M. (1993). Hiperplasia benigna de próstata. En: Jiménez C., Rioja S. *Tratado de Urología*. Barcelona: Ed. J.R. Prostate. pp. 1035-50.
- Camargo B., Wiesner C., Diaz C., et al (2004). *El cáncer: aspectos básicos sobre su biología, clínica, prevención, diagnóstico y tratamiento*. Instituto Nacional de Cancerología E.S.E. pp. 13-62
- Cai M., Huang Y., Ghirlando R., et al (2001). Solution structure of the constant region of nuclear envelope protein LAP2 reveals two LEM-domain structures: One binds BAF and the other binds DNA. *EMBO Journal* 20: 4399–4407.
- Chen P., Scully P., Shew J., et al (1989) Phosphorylation of the retinoblastoma gene product is modulated during the cell cycle and cellular

- differentiation. *Proceedings National Academy Science USA* 28: 1193-1198.
- Chunyan Y., Zhi Y., Yuan J., et al (2012). Prostate cancer stem cell biology. *National Institute Of Health*. 64 (1): 19-34.
  - Crafford A., Andryuk P., Cline S., et al (1994). Three distinct human thymopoietins are derived from alternatively spliced mRNAs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 91(14): 6283-7.
  - Dale L., Gotay C. (2012). The Relationship between Complementary and Alternative Medicine Use and Breast Cancer Early Detection: A Critical Review Evidence Based Complement Alternative Medicine. 2012: 506978.
  - Dechat T., Gajewski A., Korbei B., et al (2004) LAP2 $\alpha$  and BAF transiently localize to telomeres and specific regions on chromatin during nuclear assembly. *Journal of Cell Science* 117: 6117-28.
  - Duran F., Denes J., Soto-Cid A., et al (2011). The androgen receptor in the prostate physiopathology. *Neurobiology*. 2(2): 230511.
  - Dyson N. (1998). The regulation of E2F by pRB-family proteins. *Genes Device* 12: 2245-62.
  - Foisner R., Gerace L. (1993). Integral membrane proteins of the nuclear envelope interact with lamins and chromosomes, and binding is modulated by mitotic phosphorylation. *Cell*. 73: 1267–1279.
  - Gatenby R. (2012) Perspective: Finding cancer's first principles. *Nature*. 491(7425): 55.
  - Gitters R. (1983). Serum Acid phosphatase and screening for carcinoma of the prostate. *New England Journal Medicine* 309: 852.
  - Gleason D. (1966). Classification of prostatic carcinomas. *Cancer Chemotherapy Reports* 50: 125.
  - Gleason D. (1977). Histologic grading and clinical staging of carcinoma of the prostate pp. 171. In Tannenbaum M (ed): *Urologic Pathology: The Prostate*. Lea & Febiger, Philadelphia.
  - Gleason D., Mellinger G. and the Veterans Administration Cooperative Urological Research Group (1974). Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histologic grading and clinical staging. *Journal Urology* 111:58-64.
  - Gruenbaum Y., Wilson K., Harel A., et al (2000). Review: nuclear lamins--structural proteins with fundamental functions. *Journal Structure Biology* 129: 313–323.
  - Hanchette C., Schwartz G. (1992). Geographic patterns of prostate cancer mortality. Evidence for a protective effect of ultraviolet radiation. *Cancer* 70: 2861-2869.
  - Homer L., Worman H., (2001) Inner nuclear membrane proteins: functions and targeting. *Cellular and molecular life sciences*. 58 (12-13): 1741-7.

- Hye-Jeong P., Byung-Gyu K., Seung-Jin L. (2008) Proteomic Profiling of Endothelial Cells in Human Lung Cancer. *Journal of Proteome Research* 7: 1138–1150.
- Martinez I., Jun W., Kenosha F., et al (2007). Identification of differentially expressed genes in HPV-positive and HPV-negative oropharyngeal squamous cell carcinomas. *Europe Journal Cancer*. 43(2): 415–432.
- Jarosz M., Sekuła W., Rychlik E. (2012). Influence of diet and tobacco smoking on pancreatic cancer incidence in Poland in 1960-2008. *Gastroenterology Research Practice*. 2012: 682156.
- Johnson B., Nitta R., Frock R., et al (2004). A-type lamins regulate retinoblastoma protein function by promoting subnuclear localization and preventing proteasomal degradation. *Proceedings Natural Academy Science USA* 101: 9677-82.
- Junk D., Cipriano R., Stampfer M., et al (2013). Constitutive CCND1/CDK2 Activity Substitutes for p53 Loss, or MYC or Oncogenic RAS Expression in the Transformation of Human Mammary Epithelial Cells. *Plos One*. 8(2): e53776.
- Laguri C., Gilquin B., Wolff N., et al (2001). Structural characterization of the LEM motif common to three human inner nuclear membrane proteins. *Structure* 9: 503–511.
- Lastra L., Manrique C. (2005) Microarreglos: herramienta para el conocimiento de las enfermedades. *Revista Colombiana de Reumatología* 12(3): 263-267.
- Luke M., Coffey D. (1994). The male sex accessory tissues. In: *The physiology of reproduction*; Knobil E, Nelly J. (eds.) New York: Raven Press Limited. pp. 1435-87.
- Mackay B., Ordoñez N. (1986). Role of the pathologist in the evaluation of poorly differentiated tumors and metastatic tumors of unknown origin. pp. 3 In Greco FA, Oldham PK (eds): Grune & Stratton, Orlando, FL.
- Macleod K. (2010). The Rb tumor suppressor: a gatekeeper to hormone Independence in prostate cancer? *Journal clinical investigation* 120(12):4179-82.
- Majumder P., Sellers W. (2005). Akt-regulated pathways in prostate cancer. *Nature*. 24, 7465-7474.
- Markiewicz E., Dechat T., Foisner R., et al (2002). Lamin A/C binding protein LAP2alpha is required for nuclear anchorage of retinoblastoma protein. *Molecular Biology Cell*. 13: 4401–4413.
- Martins S., Eikvar S., Furukawa K., et al (2003). HA95 and LAP2 b mediate a novel chromatin-nuclear envelope interaction implicated in initiation of DNA replication. *Journal Cell Biology* 160: 177–188.
- Naber K. (2003). Complicated urinary tract infections. *Lectures in hospital infections*. Sciences Press Communications 1-43.

- Naetar N., Korbei B., Kozlov S., et al (2008). Loss of nucleoplasmic LAP2 $\alpha$ -lamins A complexes causes erythroid and epidermal progenitor hyperproliferation. *Natural Cell Biology* 10: 1341–1348.
- Organización Mundial de la Salud (OMS) y Unión Internacional Contra el Cáncer (2005). *Acción Mundial contra el Cáncer, versión revisada 2005*.
- Organización Mundial de la Salud (2008). *La lucha contra el cáncer tiene que ser una prioridad del desarrollo*.
- Organización Mundial de la Salud (2009). *Salud de la mujer. Nota descriptiva No.334, Noviembre de 2009*.
- Parise P., Finocchiaro G., Masciadri B., et al (2006). Lap2 $\alpha$  expression is controlled by E2F and deregulated in various human tumors. *Cell Cycle* 5: 1331–1341.
- Pistenma D., Bagshaw M., Freiha F. (1979). *Extended field radiation therapy for prostatic adenocarcinoma: status report of a limited prospective trial. Cancer of the Genitourinary Tract Raven Press, New York. pp 229*.
- Rosell L. (1993). *Hiperplasia Benigna de Próstata. Bases diagnósticas y terapéuticas. Madrid: Ed. Enar*.
- Secretaría de Salud (SSA) (2008). *Programa de Acción específico 2007-2012. Cáncer de mama*.
- Senior A., Gerace L. (1988). Integral membrane proteins specific to the inner nuclear membrane and associated with the nuclear lamina. *Journal Cell Biology* 107: 2029–2036.
- Snyers L., Schofer C. (2008). Lamina-associated polypeptide 2 $\alpha$  forms complexes with heat shock proteins Hsp70 and Hsc70 in vivo. *Biochemical Biophysics. Research Community*. 368: 767–771.
- Stamey T., Yang N., Hay A., et al (1987). Prostate specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *New England Journal medicine* 317:909
- Van der C., Vis A., Roobol M., et al (2005). Comparison of screen detected and clinically diagnosed prostate cancer in the European randomized study of screening for prostate cancer, section Rotterdam. *Urology* 174(1):121-5.
- Vlcek S., Just H., Dechat T., et al (1999). Functional diversity of LAP2 $\alpha$  and LAP2 $\beta$  in postmitotic chromosome association is caused by an  $\alpha$ -specific nuclear targeting domain. *EMBO Journal* 18: 6370–6384.
- Weber P., Eckhard C., Gonser S., et al (1999). On the role of thymopoietins in cell proliferation. Immunochemical evidence for new members of the human thymopoietin family. *Biological Chemistry*. 380(6): 653-60.
- Williams C., Helguero L., Edvardsson K., et al (2009). Gene expression in murine mammary epithelial stem-like cells shows similarities to human breast cancer gene expression. *Breast Cancer Research*. 11(3): R26

- Yap T., Swanton Ch., Bono J. (2012). Personalization of prostate cancer prevention and therapy: are clinically qualified biomarkers in the horizon? EPMA Journal. 3:3.
- Yokota N., Mainprize T., Taylor M., et al (2004). Identification of differentially expressed and developmentally regulated genes in medulloblastoma using suppression subtraction hybridization. Oncogene 23: 3444–3453.
- <http://globocan.iarc.fr/factsheets/populations/factsheet.asp?uno=900>