



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACIÓN  
HOSPITAL GENERAL “DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ”

“PAPEL DE LOS MICRO-ARNs EN HIPERPLASIA PROSTÁTICA  
BENIGNA: FIRMA MOLECULAR EN GLÁNDULAS  
PROSTÁTICAS DE DIFERENTE VOLUMEN”

TÉSIS:

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN UROLOGÍA

PRESENTA:

**DR. ALEJANDRO HADDAD SERVÍN**

ASESORES:

**DR. JORGE GUSTAVO MORALES MONTOR**

ADSCRITO A LA DIVISIÓN DE UROLOGÍA DEL HOSPITAL GENERAL “DR. MANUEL  
GEA GONZÁLEZ”

**DR. MAURICIO RODRÍGUEZ DORANTES**

ADSCRITO A LA DIVISIÓN DE ONCOGENÓMICA DEL INSTITUTO NACIONAL DE  
MEDICINA GENÓMICA

CIUDAD DE MÉXICO FEBRERO, 2024



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

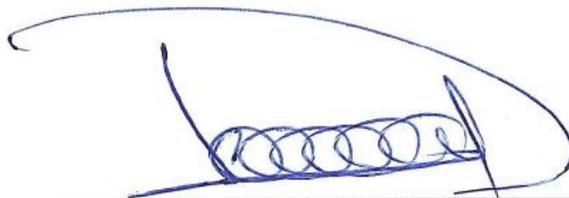
**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

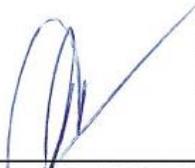
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

# HOSPITAL GENERAL "DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ"

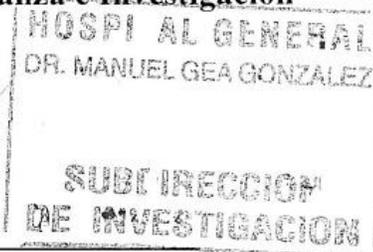
## AUTORIZACIONES



**Dra. Lorena Hernández Delgado**  
Director (a) de la Dirección de Enseñanza e Investigación



**Dra. Rosa Patricia Vidal Vázquez**  
Subdirectora de Investigación Biomédica



**Dr. Carlos Pacheco Gahbler**  
Jefe de Servicio y Profesor Titular del Curso de Urología

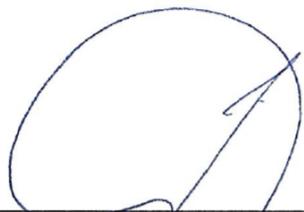


**Dr. Jorge Gustavo Morales Montor**  
Asesor de tesis



**Dr. Mauricio Rodríguez Dorantes**  
Asesor de tesis

Este trabajo de tesis con número de registro: **28-114-2020** presentado por el **Dr. Alejandro Haddad Servín** y se presenta en forma con visto bueno por los asesores principales de la tesis el **Dr. Jorge Gustavo Morales Montor** y el **Dr. Mauricio Rodríguez Dorantes** con fecha 11 de mayo de 2023 para su impresión final.



---

**Dr. Jorge Gustavo Morales Montor**  
Investigador Principal Interno



---

**Dr. Mauricio Rodríguez Dorantes**  
Investigador Principal Externo



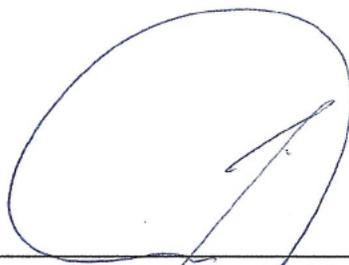
---

**Dra. Rosa Patricia Vidal Vázquez**  
Subdirectora de Investigación Biomédica

# **“PAPEL DE LOS MICRO-ARNS EN HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA: FIRMA MOLECULAR EN GLÁNDULAS PROSTÁTICAS DE DIFERENTE VOLUMEN”**

Este trabajo fue realizado en el Hospital General “Dr. Manuel Gea González” en la División de Urología y en el Instituto Nacional de Medicina Genómica en la División de Oncogenómica bajo la dirección del Dr. Jorge Gustavo Morales Montor y el Dr. Mauricio Rodríguez Dorantes, con la supervisión del Dr. Carlos Pacheco Gahbler, con el asesoramiento del Dr. Irving Reyna Blanco, la LBD. Jenie Marian Cruz Burgos, la Dra. Sara Parraguirre Martínez, el Dr. Oscar Díaz Flores y adscritos de la División quienes orientaron y aportaron a la conclusión de este trabajo.

## **COLABORADORES:**



**Dr. Jorge Gustavo Morales Montor**  
**Investigador Principal Interno**



**Dr. Mauricio Rodríguez Dorantes**  
**Investigador Principal Externo**



**Dr. Alejandro Haddad Servín**  
**Investigador Asociado Principal**

## **AGRADECIMIENTOS**

Primero que nada, gracias a Dios por las oportunidades y bendiciones que me dio.

A mis padres, hermanas y resto de mi familia que estuvieron a mi lado siempre.

A mis maestros y compañeros de residencia que me brindaron su conocimiento y apoyo en todo momento.

A mis amigos y resto de personas que estuvieron y siguen estando a mi lado.

A todos ellos...gracias por hacer este sueño, a veces pesadilla, convertirse en realidad.

.

## Índice

Conclusión .....	19
Discusión .....	18
Figuras y tablas .....	23
Introducción .....	8
Material y métodos .....	14
Referencias .....	20
Resumen .....	7

## Resumen

**Palabras clave:** Micro-ARNs; Hiperplasia Prostática Benigna; Firma molecular; Glándula prostática; Volumen prostático

**Introducción:** En México, la hiperplasia prostática benigna es la primera causa de consulta en los servicios de Urología. Se caracteriza por un incremento en la proliferación del tejido que genera síntomas que afectan la calidad de vida de los pacientes y representa un gasto para ellos y las instituciones de salud. Los Micro-ARNs (miARNs), son pequeños ARNs endógenos que actúan como reguladores de la expresión génica y podrían servir como posibles biomarcadores para identificar el tamaño prostático y el posible curso de esta enfermedad.

**Material y Métodos:** Estudio descriptivo, prospectivo, analítico, transversal, longitudinal, de casos y controles. Se analizaron 17 casos y 6 controles. Los casos eran representados por pacientes mayores de 50 años que acudieron a consulta externa de urología del Hospital General “Dr. Manuel Gea González” del 14 de diciembre de 2020 al 17 de abril del 2023, con diagnóstico de hiperplasia prostática benigna; los controles eran representados por pacientes menores de 50 años sin diagnóstico histopatológico de hiperplasia prostática benigna registrados en la base de datos del Instituto de Ciencias Periciales y Ciencias Forenses del 14 de diciembre de 2020 al 17 de abril del 2023.

**Resultados:** De la muestra de tejido prostático obtenida de los casos y controles, se obtuvieron lecturas cuantificadas por Nanodrop ND-1000, posteriormente, se corrieron 20 arreglos para obtener los miARNs expresados y con ellos, comparar las hiperplasias prostáticas en general vs los controles, las hiperplasias de las próstatas grandes vs los controles, las hiperplasias de las próstatas medianas vs los controles y las hiperplasias de las próstatas pequeñas vs los controles. Con ello, se analizó el número de miARNs diferenciales expresados por grupo, obteniendo 40 exclusivos para próstatas grandes, 64 para próstatas medianas y 66 para próstatas pequeñas. De los miARNs que son únicos de cada grupo, se encontró que el que presentó más diferencias significativas fue la sub-expresión del hsa-miR-3135b en el grupo de próstatas grandes y la sobre-expresión del hsa-miR-205-5p en el grupo de las próstatas chicas.

**Discusión:** El promedio de edad de los casos fue de 70.7 años, con un promedio de volumen prostático de 150.2cc, un promedio de IPSS de 14 puntos y en la mayoría de los casos, manejo con antagonista  $\alpha$ -adrenérgico utilizado en promedio por 28 meses. Bajo la división por tamaño de próstata, se obtuvieron 4 próstatas grandes, cuyo promedio fue de 306.6cc; 5 próstatas medianas cuyo promedio fue de 137cc y 8 próstatas pequeñas, cuyo promedio fue de 80.4cc. Es importante mencionar que el material utilizado fue el tejido prostático, sin embargo, ya se están haciendo estudios para obtener estos miARNs en sangre y orina.

**Conclusión:** Si bien, respecto a esta patología no existen herramientas de prevención, ya que las causas son inherentes al paciente, se podrían identificar diferencias en la expresión de miARNs en tejido prostático de diferentes volúmenes para establecer un criterio predictivo sobre el curso que puede tomar la enfermedad, con el fin de dar un manejo oportuno que evite el desgaste económico y social de los pacientes y de los sistemas de salud.

# Introducción

## *Antecedentes*

### Anatomía y Función de la Próstata

La próstata es una glándula exocrina que forma parte del sistema reproductivo masculino. La función de la próstata es almacenar y secretar un fluido ligeramente alcalino ( $\text{pH}=7.29$ ) de apariencia blanquecina, el cual, constituye 25-30% del volumen del semen y proporciona movilidad a los espermatozoides<sup>1</sup>. Anatómicamente, se distinguen 4 zonas en la próstata: la zona periférica, la zona central, la zona de transición y el estroma fibromuscular. En la zona periférica, es donde se originan la mayor parte de los carcinomas prostáticos y es la zona de transición el sitio principal de hiperplasia benigna (Figura 1).<sup>2, 3</sup>.

Histológicamente, la próstata está constituida por el epitelio glandular y el estroma fibromuscular. El primero está compuesto principalmente de tres tipos de células: basales, secretoras lumbales y neuroendócrinas<sup>4</sup>. Las células basales secretan componentes hacia la membrana basal, en esta porción hay células madre epiteliales de las cuales algunas se diferencian posteriormente a células epiteliales lumbales. Las células epiteliales lumbales secretan componentes del fluido prostático, expresan el receptor de andrógenos (AR), secretan el antígeno prostático específico (APE) y son dependientes de la señalización de andrógenos. El estroma está compuesto de fibroblastos, células de músculo liso, células endoteliales, células dendríticas y algunas células infiltradas como mastocitos y linfocitos<sup>5</sup>. Aquellas células estromales que expresan el AR producen factores de crecimiento que actúan de manera paracrina en las células epiteliales, esta interacción entre el estroma y el epitelio regula el crecimiento, desarrollo y mantenimiento del epitelio prostático. La pérdida de la regulación de la señalización del AR, así como de la comunicación entre el estroma y el epitelio, están asociados a algunas patologías de la próstata como cáncer de próstata (CaP) e hiperplasia prostática benigna (HPB)<sup>6</sup>. Los andrógenos son necesarios para el crecimiento y la función normal de la próstata, así como promover el crecimiento tanto de las células cancerosas de próstata como las normales al unirse al AR y activarlo. El AR estimula la expresión de genes específicos que hacen que crezcan las células de la próstata<sup>7</sup>.

### Hiperplasia Prostática Benigna (HPB)

En México, la hiperplasia prostática benigna es el tumor benigno más frecuente en el varón a partir de los 50 años. Es la segunda causa de ingreso para intervención quirúrgica y la primera causa de consulta en los servicios de Urología<sup>8</sup>.

Histológicamente, la HPB se caracteriza por un incremento en la proliferación del tejido glandular, muscular o estromal dependiendo de la activación del tipo de células en su estructura (Figura 2)<sup>3</sup>. La prevalencia de la HPB es directamente proporcional al incremento de la edad, a los 80 años la posibilidad de presentarla es del 95%<sup>9</sup>. Los cambios histológicos comienzan a partir de los 40 años y el volumen de la próstata incrementa aproximadamente 0.6mL por año, asociándose a una disminución de la media de flujo urinario de 0.2mL por segundo, aunque cabe resaltar que lo anterior no es una regla<sup>10</sup>.

A pesar de que no es una enfermedad fatal, la morbilidad de la HPB es un riesgo potencial de complicaciones que disminuyen la calidad de vida de quienes la padecen y causa enormes problemas sociales y financieros<sup>11</sup>. La HPB se caracteriza por un progresivo pero discontinuo crecimiento tanto en células estromales como epiteliales que conducen a una expansión de la glándula y síntomas clínicos.

En este padecimiento, existe una proliferación no controlada de tejido conectivo, muscular y epitelio glandular en la zona de transición. En la HPB, la proliferación celular conduce a un incremento en el volumen prostático y a un incremento estromal del tono muscular dependientes de la producción de testosterona y dehidrotestosterona<sup>12</sup>. La primera fase de progresión involucra un incremento en los nódulos de la zona periuretral y la segunda fase presenta un incremento significativo en la talla de los nódulos glandulares<sup>13</sup>.

Los síntomas generados como consecuencia de dicho agrandamiento prostático se caracterizan por un síndrome urinario irritativo bajo y un síndrome urinario obstructivo, ambos, son evaluados mediante el índice internacional de síntomas prostáticos (IPSS).

La etiología de la HPB aún es desconocida, en el pasado, la genética y la testosterona eran consideradas como las principales causas del agrandamiento de la próstata; pero recientemente la dieta, el ejercicio, el estilo de vida y el síndrome metabólico han sido reconocidos como las principales causas de la HPB y han sido ampliamente investigadas<sup>14</sup>.

Los andrógenos testiculares, son requeridos en la próstata para el desarrollo de la HPB, la enzima 5 $\alpha$ -reductasa-2 (5- $\alpha$ R) es la encargada de convertir la testosterona en dehidrotestosterona (DHT) y el principal andrógeno en la próstata constituyendo el 90% de andrógenos totales<sup>3</sup>. En un desarrollo normal, el crecimiento de la próstata es regulado por la conversión de testosterona a DHT por la enzima 5- $\alpha$ R, pero se ha encontrado que en aquellos hombres con una deficiencia de 5- $\alpha$ R o aquellos que fueron castrados a una edad temprana, no hay desarrollo de HPB, a excepción de reportes muy escasos<sup>15</sup>.

Los procesos inflamatorios también juegan un papel importante, puesto que las citocinas contribuyen al agrandamiento de la próstata mediante la inducción de respuestas inflamatorias y factores de crecimiento epitelial. Los síntomas causados por la compresión de la porción de la uretra que pasa por la próstata, como la hiperactividad de la vejiga, inflamación y distensión, generan estrés oxidativo y formación de radicales libres así como alteración de los nervios alfa-adrenérgicos de la vejiga, resultando en frecuencia, urgencia e incontinencia urinaria así como nicturia y disuria<sup>16</sup>.

Los factores de riesgo para la HPB incluyen el incremento de la edad, testículos funcionales, síndrome metabólico, historia familiar de HPB, obesidad, historia de diabetes o etnia de origen africano<sup>16,17</sup>. La examinación digital rectal determina el tamaño, forma y consistencia de la glándula prostática, mientras que los niveles de APE hacen más fácil la detección de HPB, ya que estos niveles se pueden correlacionar con el tamaño de la próstata. Sin embargo, estos niveles pueden ser altamente variables y fluctuar basándose en la edad del paciente, etnia, tratamiento farmacológico y comorbilidad con condiciones urinarias. Debido a esta inespecificidad, el diagnóstico de la HPB no puede realizarse solo con los niveles de APE<sup>18</sup>.

El urianálisis es recomendado como primer paso para excluir infecciones de tracto urinario, prostatitis, cistolitiasis, nefrolitiasis, cáncer renal y cáncer de próstata como causantes de los síntomas del tracto urinario bajo<sup>17</sup>.

Los síntomas del tracto urinario bajo relacionado a HPB pueden tratarse por cirugía o terapia farmacológica. La elección del tratamiento depende de la severidad de la enfermedad, el riesgo de progresión y la morbilidad del paciente. De cualquier manera, la eficacia de la farmacoterapia permanece limitada<sup>19</sup>. Los inhibidores de la 5- $\alpha$ -reductasa son fármacos de primera línea que bloquean la conversión de testosterona a DHT, inhibiendo la hiperplasia prostática, reduciendo el tamaño de la próstata y haciendo más lenta la progresión de la enfermedad. Al tomar este tratamiento de 2-6 meses se experimenta un 25% de reducción en el tamaño prostático y en los síntomas causados por la HPB<sup>20</sup>. Estos fármacos pueden ser usados como monoterapia o combinarse con los antagonistas de los receptores alfa-adrenérgicos, la terapia combinada es más exitosa, pero, es asociada con más reacciones adversas<sup>21</sup>.

#### Identificación del Tema Prioritario

La Organización Mundial de la Salud, ha acelerado la “Estrategia y Plan Global de Acción sobre Salud y Envejecimiento” con el propósito de asegurar que todos los países encaminen esfuerzos a las necesidades de salud en el adulto mayor. Hacia 2050 se estima que el 21% de la población será mayor de 60 años<sup>22</sup>. El adulto mayor padece principalmente de problemas cardiovasculares, psiquiátricos y metabólicos, pero en varones la incidencia de enfermedad pulmonar y prostática es alta. Las necesidades de salud del adulto mayor están dictadas por diferencias de género, padecimientos crónicos, comorbilidades y sus complicaciones.

Debido al aumento de la población mayor de 60 años, se pronostica que la prescripción de medicamentos para controlar la hiperplasia prostática benigna comenzará a aumentar alcanzando proporciones mayores en unas cuantas décadas. Es importante señalar que a México, le está tomando alrededor de 26 años que el 15% de su población sea mayor a 60 años, mientras que a países como EUA les ha tomado poco más de 60 años. Por lo que la atención hospitalaria para varones de más de 60 años con enfermedades de la próstata podría ser insuficiente en los próximos años<sup>23</sup>.

Particularmente, los varones acuden a la clínica con un estado avanzado de sus enfermedades, entre ellas, la HPB, ya que solo acuden cuando presentan síntomas. En muchos de los casos, en los varones, no existe una cultura de prevención para llevar a cabo exámenes periódicos anuales, a diferencia de las mujeres, debido a diferentes circunstancias y cuestiones socio-culturales.

La prevalencia de HPB aumenta de forma lineal con la edad. Aproximadamente el 61% de la población en México reporta síntomas del tracto urinario bajo (LUTS), a partir de los 55 años el 25% sufre síntomas obstructivos y a los 75 años el 50% refiere además disminución de la fuerza y el calibre del chorro urinario<sup>24</sup>. A nivel poblacional, existen factores de riesgo para el crecimiento prostático obstructivo y LUTS, entre ellos se encuentran: la genética, las hormonas esteroideas sexuales, los factores de estilo de vida modificables y la inflamación<sup>14</sup>. La evidencia sugiere que hay componentes genéticos fuertes para el crecimiento prostático obstructivo y LUTS. El 50% de los hombres sometidos a cirugía para crecimiento prostático con menos de 60 años de edad tenían una forma hereditaria de enfermedad,

esto ha sugerido un patrón autosómico dominante de herencia<sup>25</sup>. Se estima que el costo anual aproximado destinado para el manejo de pacientes con crecimiento prostático obstructivo en EUA es de 4 mil millones de dólares<sup>26</sup>. El 30% de los recursos hospitalarios actuales corresponden al 20% de la población geriátrica, lo que significa que el 2% de la población, requiere el 30% de los recursos hospitalarios. Por ello es importante el desarrollo de tecnologías que permitan un diagnóstico y pronóstico de mayor precisión y que brinde una descripción más amplia del estadio del paciente, con el fin de disminuir los costos que implican los tratamientos para volúmenes prostáticos mayores.

El obstáculo más grande es la inexistencia de reportes que identifiquen diferencias de expresión entre las glándulas prostáticas de diferentes volúmenes que permitan establecer un criterio de predictivo sobre el curso que puede tomar la enfermedad. Por lo que es necesario establecer un panel de expresión que permita disminuir la variabilidad en el diagnóstico y permitir que éste sea más preciso.

Micro-ARNs (miARNs) como posibles biomarcadores de diagnóstico

Desde el descubrimiento del APE y su medición en sangre, éste se ha convertido en el estándar de oro para la detección de problemas prostáticos como cáncer de próstata o hiperplasia prostática benigna<sup>27</sup>. Sin embargo, el APE ha demostrado ser una herramienta de diagnóstico poco específica puesto que niveles elevados de APE no necesariamente son indicio de cáncer, ya que los niveles elevados también pueden ser causados por HPB, inflamación de glándula prostática o retención urinaria<sup>28</sup>.

En los últimos años, se han postulado diversos marcadores específicos de enfermedades, principalmente cáncer, dentro de estos se ha planteado que los miARNs podrían tener un papel importante como posibles reguladores de enfermedades urológicas<sup>29</sup>. Estas moléculas son pequeños ARNs endógenos con un tamaño que varía de los 15-22nt de largo, los cuales, actúan como reguladores de la expresión génica al unirse por complementariedad de bases a sus ARNs mensajeros blanco, impidiendo su traducción o generando su inestabilidad y/o degradación<sup>30</sup>. Dado que se ha reportado que los miARNs regulan más del 30% del genoma humano y que tienen un papel activo en la regulación de procesos fundamentales celulares, no solo tienen utilidad como biomarcadores, sino que también pueden servir como indicadores de procesos involucrados en la biogénesis de la enfermedad, gracias a su función como reguladores post-transcripcionales<sup>31</sup>.

La expresión aberrante de miARNs, así como firmas específicas identificadas por diversos grupos de investigación, demuestran el papel de los miARNs en la pato-fisiología de diversas enfermedades y los muestra como muy buenos candidatos debido a su elevada estabilidad y su capacidad de poder ser detectados o cuantificados en una gran variedad de tejidos y fluidos biológicos<sup>32</sup>. A diferencia de los miARNs tisulares en donde la medición es intrusiva, la medición de los miARNs en sangre y otros fluidos como la orina, permiten un diagnóstico mínimamente invasivo, seguro y repetible<sup>33</sup>.

Dentro de las ventajas de los miARNs encontramos que al ser expulsados al espacio extracelular podemos identificarlos en sangre periférica ya sea dentro de vesículas extracelulares o unidos a proteínas<sup>34</sup>, además, se ha comprobado que son estables en diversas condiciones, como temperaturas elevadas, niveles bajos de pH o ciclos de congelación/descongelación, lo que favorece a los miARNs sobre otros marcadores que pueden degradarse fácilmente durante la manipulación de la muestra. No solamente son capaces de indicar la presencia o ausencia de

la enfermedad, como otros biomarcadores, adicionalmente su nivel de expresión puede asociarse al estado de progresión de la enfermedad, pronóstico y puede ayudar en la elección del tratamiento, puesto que algunos miARNs podrían estar relacionados al metabolismo de fármacos.

Su expresión puede observarse antes de la aparición de síntomas clínicos, biopsias o estudios de imagen. Al ser detectados principalmente por PCR en tiempo real, los miARNs se vuelven biomarcadores más sensibles que otros detectados por ELISA<sup>35</sup>. Además, la técnica de amplificación permite la detección de miARNs partiendo de una concentración muy baja a comparación de otras moléculas basadas en proteínas.

La tasa de crecimiento prostático ha ganado importancia como factor predictivo y pronóstico, sin embargo, la asociación de miARNs y el tamaño prostático asociado a HPB permanece limitado. La mayoría de los estudios se centran en la expresión diferencial de genes específicos que podrían estar sobre o sub-expresados según el tamaño o nivel de avance la HPB.

Diversos estudios han reportado una gran variedad de genes que podrían jugar un papel importante en el desarrollo y progresión de la hiperplasia prostática, los cuales podrían ser potenciales blancos de miARNs, de los cuales tenemos:

- NKX3.1: Actúa como un factor de transcripción y tiene un papel de regulador negativo del crecimiento epitelial en próstata.
- SMAD2: Mide la señalización del TGF- $\beta$ , de esta manera regula múltiples procesos celulares como proliferación celular, apoptosis y diferenciación. Se ha sugerido que existen cambios en los niveles de SMAD2 (disminuidos) en cáncer de próstata, pero no se ha encontrado evidencia de mutaciones o expresión anormal de su miARN<sup>36</sup>.
- SKP2: Mide la ubiquitinización y subsecuente degradación en proteosoma de proteínas involucradas en la progresión del ciclo celular (CDKN1B/p27kip), transducción de señal y transcripción. Otros estudios sugieren que la sola expresión de SKP2 es suficiente para reducir los niveles de p27 e inducir hiperplasia, displasia y carcinomas de bajo grado en glándulas prostáticas de ratón<sup>37</sup>.

Sin embargo hay otros genes que se han reportado que están involucrados, pero sin tener aún conocimiento de su función en el desarrollo y progresión de la HPB como TMSL8, CYP3A5, MAML3, ERG1, JUNB, ATPB3, ATF3 y NR4A2<sup>38</sup>.

Dentro de los primeros estudios de asociación entre expresión génica e hiperplasia prostática benigna, se encontró que genes como TEMFF2, HOXB13, NGFR, TGFBR2 y GSTT2 se encuentran sobre-expresados en próstatas de gran tamaño al igual que el gen KLK11. La mayoría de estos genes son responsables de regular procesos como supervivencia celular, diferenciación o apoptosis<sup>39</sup>. Estudios que comparan muestras de cáncer de próstata contra muestras de HPB, han encontrado que los genes BCL-2 y BAX tienen una señal más débil en HPB, expresándose en el 98% y 92% de las muestras respectivamente. En el grupo de CaP los genes FAS y C-MYC fueron aquellos que se expresaban de manera más elevada<sup>40</sup>.

Con base en lo anterior y debido a las ventajas que presentan los miARNs, principalmente por su estabilidad en tejidos y fluidos, se perfilan como potenciales biomarcadores. Se cree que estas moléculas (miARNs) podrían optimizar el tratamiento de la HPB. Su fácil determinación podría permitir una estratificación inicial de pacientes de acuerdo al volumen prostático, el seguimiento de pacientes para el monitoreo del avance de la enfermedad, así como la respuesta al tratamiento.

### ***Planteamiento del problema***

¿Existen diferencias de expresión en los perfiles de miARNs que distingan a las próstatas de gran volumen de los pacientes que padecen hiperplasia prostática benigna y que a su vez, permitan establecer un panel diferencial que brinde información sobre el desarrollo y progresión de la enfermedad?

Para lo anterior, se debe considerar que la importancia de la hiperplasia prostática benigna radica en su elevada frecuencia entre la población mexicana; en el Instituto Mexicano del Seguro Social otorgó 63,874 consultas a nivel nacional por esta causa; de esas consultas 60,246 se otorgaron al grupo de 60 años o más, que es más del 90% (94.3%)<sup>41</sup>.

Los LUTS asociados a la HPB generalmente son progresivos y empeoran cuando el volumen prostático es mayor, lo que significa que la calidad de vida del paciente se va deteriorando cada vez más, siendo un problema de importancia socioeconómica y médica.

Actualmente no existen reportes que identifiquen diferencias de expresión de miARNs entre las glándulas prostáticas asociadas principalmente al volumen prostático, que permitan establecer un criterio predictivo sobre el curso que puede tomar la enfermedad. Por lo que establecer un panel de expresión basado en miARNs podría ayudar a disminuir la variabilidad en el diagnóstico, aumentar la precisión y personalizar opciones de tratamiento.

De esta manera, los gastos en el sistema de salud se verían reducidos y la calidad de la atención médica se vería reforzada al disminuir la cantidad de pacientes por una mejor clasificación de evolución de la enfermedad según marcadores de tamaño prostático.

En el estudio actual, se propone investigar los perfiles de expresión de próstatas con diferentes volúmenes para establecer una herramienta que permita decidir qué pacientes son más propensos a desarrollar grados más elevados de hiperplasia y por lo tanto síntomas más fuertes comparados con aquellos pacientes que no lo desarrollarán.

Así mismo, las terapias farmacológicas podrían darse de manera más temprana y reducir gastos en el sistema de salud disminuyendo los procesos quirúrgicos. Además, se espera proporcionar información valiosa que pueda ayudar a investigaciones futuras en el tema de hiperplasia prostática benigna, ya sea en temas aplicados al diagnóstico, prevención o tratamiento.

## ***Objetivo del estudio***

### Objetivo General

Identificar un perfil de miARNs cuyas diferencias de expresión puedan servir como herramienta de asociación entre la presencia de HPB y severidad de síntomas, para aquellos pacientes que vayan a desarrollar próstatas de gran volumen.

### Objetivos Específicos

- Identificar el perfil de miARNs diferencialmente expresados en próstatas de gran volumen con respecto a volúmenes pequeños.
- Validar en una nueva cohorte de tejidos los miARNs con una expresión diferencial significativa.
- Identificar los genes blanco de los miARNs asociados a gran volumen.
- Seleccionar aquellos miARNs que posean un nivel de expresión diferencialmente significativo así como un papel biológico relevante para la patogénesis de la HPB.
- Realizar análisis de correlación de los niveles de expresión de miARNs asociados a próstatas de gran tamaño con parámetros clínicos usados para la detección de HPB.

## **Material y Métodos**

### ***Generalidades***

Estudio descriptivo, prospectivo, analítico, transversal, longitudinal, de casos y controles.

### Población de Estudio

- Casos; pacientes masculinos mayores de 50 años que acudieron a consulta externa de urología del Hospital General “Dr. Manuel Gea González” del 14 de diciembre de 2020 al 17 de abril del 2023, con diagnóstico clínico de hiperplasia prostática benigna.
- Controles; pacientes masculinos menores de 50 años sin diagnóstico histopatológico de hiperplasia prostática benigna registrados en la base de datos del Instituto de Ciencias Periciales y Ciencias Forenses (INCIFO) del 14 de diciembre de 2020 al 17 de abril del 2023.

### Criterios de Inclusión

- Casos
  - Pacientes masculinos mayores de 50 años con diagnóstico clínico de hiperplasia prostática benigna.
  - Sintomatología de leve a severa con IPSS.
  - APE  $\leq$  10ng/mL al diagnóstico.

- Volumen prostático >40mL por ultrasonido transrectal o abdominal.
- Tacto rectal no sospechoso.
- Aceptación de ingreso a protocolo mediante firma de consentimiento informado.
- Controles
  - Pacientes masculinos menores de 50 años no reclamados en el INCIFO
  - A los cortes prostáticos en la autopsia, con volumen prostático <40ml y sin diagnóstico histológico de hiperplasia prostática benigna.
  - APE  $\leq$  10ng/mL.
  - Documentación de ingreso al protocolo.

#### Criterios de Exclusión

- Diagnóstico histológico de cáncer de próstata.
- Ausencia de información respecto a volumen prostático.
- Ausencia de información de antígeno prostático específico al diagnóstico.

#### Criterios de Eliminación

- Muestra insuficiente o inadecuada para perfil de miARNs
- Pacientes sin seguimiento o con información incompleta

#### Tamaño de la Muestra

Acorde a la fórmula corregida por continuidad de Fleiss para estudios de casos y controles, mediante el sistema EpiDat, debido a que no conocemos la probabilidad de ocurrencia de factor estudiado (miARN's en pacientes con HPB) decidimos utilizar una probabilidad (P1) de 0.60, con una potencia de prueba del 90%, un error beta de 0.10, un error alfa del 0.10 y una proporción de 3 casos por 1 control se obtuvo un tamaño de muestra de 18 casos y 6 controles. 1 caso cumplió con criterios de eliminación, por lo que finalmente se analizaron 17 casos y 6 controles.

#### ***Descripción de Procedimientos***

##### Selección de los pacientes y expedientes clínicos a analizar

- Para el grupo casos: Se tomó la base de datos epidemiológica del Departamento de Urología del Hospital General "Dr. Manuel Gea González" del 14 de diciembre de 2020 al 17 de abril del 2023, con un total de 18 pacientes. Se estratificaron los pacientes acorde al volumen prostático (de 40ml a 100ml; de 101ml a 160ml y de 161ml en adelante) y posteriormente se analizaron los

expedientes clínicos de los pacientes y la disponibilidad de las muestras de patología para establecer el cumplimiento de los criterios de inclusión y exclusión.

- Para el grupo control: Se tomó la base de datos epidemiológica del INCIFO del 14 de diciembre de 2020 al 17 de abril del 2023, con un total de 6 pacientes. Se analizaron los expedientes clínicos de los pacientes y la disponibilidad de las muestras de patología para establecer el cumplimiento de los criterios de inclusión y exclusión.

#### Manejo de la Muestra

Todas las muestras analizadas por el Departamento de Patología son fijadas en formalina y almacenadas en bloques de parafina para su resguardo, se realizó la recolección estos bloques de cada uno de los pacientes previamente seleccionados. Las muestras se llevaron al Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN) en un lapso no mayor a 1 mes.

Se realizó una perforación con un cilindro de 1um de diámetro para extraer las células. Los cilindros de tejido obtenidos se cortaron en trozos más pequeños y se retiró el exceso de parafina. Los trozos de núcleos de tejidos se colocaron en tubos de 2mL y se procedió a la extracción de ARN de acuerdo con las instrucciones del fabricante según el kit miRNeasy FFPE de Qiagen. El ARN obtenido se cuantificó en un equipo Nanodrop ND-1000 y se evaluó la calidad de la extracción mediante la proporción de absorbancias 260nm/280nm y 260/230nm. Se seleccionó aquellas muestras que tenían un mínimo de concentración de 50ng/uL. Para verificar la integridad del ARN, se realizó un gel agarosa al 1.5% a 70 Volts durante 1 hora.

Las muestras que se usaron para microarreglos se ajustaron a una concentración de 50ng/15uL, y se guardaron a -80°C hasta su uso para la retrotranscripción.

#### Microarreglos de muestras de ARN

La integridad del ARN se determinó con un gel agarosa al 1.5%, en donde se identificó las subunidades ribosomales 28S y 18S. Posteriormente aquellas muestras en donde eran identificables estas dos unidades se llevaron a la unidad de microarreglos del INMEGEN para que se realizara el análisis de ARNs pequeños en el small ARN chip de Agilent, el cual, determinó la presencia de ARNs pequeños de un tamaño de entre 4-22nt de largo. Las muestras se corrieron en arreglos GeneChip miARN 4.0 array de Affymetrix usando una concentración de 50ng/15uL por muestra.

El análisis se llevó a cabo mediante el software TAC de Affymetrix en donde las lecturas de los arreglos se normalizaron y mediante la comparación con un grupo de muestras control se obtuvieron aquellos miARNs con expresión diferencial en muestras de HPB con respecto a los controles. Los parámetros para determinar los miARNs con expresión diferencial eran un fold change (FC) o cambio de expresión o veces de cambio  $\pm 2$ ,  $p \leq 0.05$  y  $FDR < 0.01$ .

Se seleccionaron 20 miARNs con el mayor cambio de expresión al alza y 20 miARNs con el mayor cambio de expresión a la baja con valores de significancia estadística.

#### Búsqueda de blancos de miARNs

Los blancos de los miARNs seleccionados se buscaron en las siguientes bases de datos: TargetScan, miRWalk y microTCDS. Las bases de datos usaron algoritmos y parámetros de búsqueda que eran ajustados, siempre tomando en cuenta un valor de  $p < 0.05$ , para los genes seleccionados. Se seleccionaron aquellos genes blancos que se hallaban en por lo menos 2 de las 3 bases de datos utilizadas con significancia estadística.

#### Análisis de vías

Una vez seleccionados los blancos, se usaron las siguientes bases de datos: DAVID, String y miRPathway. Estas bases de datos identificaron las vías celulares que se encuentran enriquecidas en blancos de determinados miARNs. Las vías se seleccionan según el valor de enriquecimiento y un valor de  $p < 0.05$ . Con esto, se determinó si los miARNs poseen un papel biológico importante involucrados en determinadas vías relacionadas al crecimiento prostático obstructivo.

#### Retrotranscripción y PCR en tiempo real de miARNs

Las validaciones de la expresión de los miARNs seleccionados se realizó mediante PCR en tiempo real. Con el ARN obtenido de tejidos, se realizó una retrotranscripción usando el TaqMan microARN reverse transcription kit de Thermofisher para generar cDNA. Posteriormente se realizó la PCR en tiempo real usando 1 $\mu$ L de cDNA por muestra. Se usaron sondas específicas TaqMan para cada miARN, RNU44 como control interno y un spike in como control externo.

## Resultados

Se obtuvieron muestras de 18 pacientes que cumplían los criterios de inclusión, de los cuales, 1 cumplía con criterios de eliminación, por lo que se obtuvo el miARN de 17 muestras de glándulas prostáticas con hiperplasia prostática benigna y de 6 controles (Tabla 1). Posterior a realizar los procedimientos previamente descritos, se obtuvieron lecturas cuantificadas por Nanodrop ND-1000 (Tabla 2).

Se corrieron en total 20 arreglos Affymetrix gene chip miARN 4.0 array, realizando la normalización con el software de la plataforma de Affymetrix. Con lo anterior, se obtuvieron los miARNs diferencialmente expresados y con ellos, se realizó ANOVA de una vía para obtener el perfil diferencial, con  $p < 0.05$ , FDR  $< 0.5$  y un fold change de -2 a 2.

El análisis se realizó comparando las hiperplasias prostáticas en general vs los controles, las hiperplasias de las próstatas grandes vs los controles, las hiperplasias de las próstatas medianas vs los controles y las hiperplasias de las próstatas pequeñas vs los controles (Tabla 3).

Se tomó el número total de los miARNs diferencialmente expresados (DFE) (Tabla 4) y posteriormente se seleccionaron los 20 más sobre-expresados y los 20 más sub-expresados del grupo de hiperplasias prostáticas en general vs controles con una  $p$  significativa (Figura 3). A continuación, se seleccionaron los miARNs diferencialmente expresados (DFE) y con una  $p$  significativa en hiperplasias de las próstatas grandes (A) vs los controles, hiperplasias de las próstatas medianas (B) vs los controles e hiperplasias de las próstatas pequeñas (C) vs los controles (Figura 4). Y se analizaron el número de miARNs diferenciales expresados por grupo, obteniendo 40 exclusivos para próstatas grandes, 64 para próstatas medianas y 66 para próstatas pequeñas (Figura 5).

De los miARNs que son únicos de cada grupo, se eligieron los miARNs con un FC por encima de media para realizar la búsqueda de blancos (Tabla 5). Posteriormente, se analizó la expresión de los miARNs que se hallaron con mayor predominio en los distintos grupos de próstatas. El que presentó más diferencias significativas fue la sub-expresados del hsa-miR-3135b en el grupo de próstatas grandes (Figura 6) y la sobre-expresión del hsa-miR-205-5p en el grupo de las próstatas chicas (Figura 7).

## Discusión

El crecimiento prostático obstructivo es un padecimiento frecuente entre la población y una de las principales causas de consulta de urología. Si bien, los factores asociados a que ocurra son inherentes al paciente y en la mayoría de los casos no son prevenibles, se pueden dar medidas oportunas de manejo para evitar la progresión de la enfermedad y el desgaste económico y social al paciente y las instituciones de salud<sup>42</sup>. Para lograr esto, se obtuvieron muestras de 18 casos de pacientes mayores a 50 años, con diagnóstico clínico y de imagen mediante ultrasonido vesicoprostático o transrectal de hiperplasia prostática benigna, con APE  $\leq 10\text{ng/mL}$  y tacto rectal no sospechoso, 1 de ellos, presentó muestra insuficiente para obtener un perfil de miARN, por lo que se eliminó y de 6 controles de pacientes no reclamados en el INCIFO, menores a 50 años, con volumen prostático menor a 40ml tras la autopsia, sin diagnóstico histológico de hiperplasia prostática benigna.

El promedio de edad de los casos fue de 70.7 años, con un promedio de volumen prostático de 150.2cc, si bien, el tamaño de próstata no representa en muchos casos la gravedad de la sintomatología, si se asocia a esta y a la indicación de iniciar o no manejo médico, o bien de indicar un manejo quirúrgico. Con base en lo anterior, el promedio de IPSS fue de 14 puntos y en la mayoría de los casos, se ofertó manejo con antagonista  $\alpha$ -adrenérgico, el cual, se utilizó en promedio por 28 meses.

Una vez obtenida la muestra de tejido prostático, se obtuvieron lecturas cuantificadas por Nanodrop ND-1000, con las cuales, se corrieron en total 20 arreglos normalizados extrayendo los miARNs diferencialmente expresados que podrían utilizarse como biomarcadores.

El análisis se realizó comparando los distintos tamaños de próstata, agrupados en próstatas grandes, 161cc o más; próstatas medianas, 101 a 160cc y próstatas pequeñas, 40 a 100cc, comparadas contra los controles. Bajo esta división, se obtuvieron 4 próstatas grandes, cuyo promedio fue de 306.6cc; 5 próstatas medianas cuyo promedio fue de 137cc y 8 próstatas pequeñas, cuyo promedio fue de 80.4cc. En general el miARN mayormente expresado fue el hsa-miR-205-5p y el menormente expresado fue el hsa-miR-196a-5p, los cuales, ya se

conocía que se expresan en el contexto de hiperplasia prostática benigna y que se busca utilizarlos como posibles biomarcadores para esta patología<sup>43</sup>, en este sentido, se buscó identificar cuáles eran los más característicos por cada grupo de tamaño comparativamente contra los controles, identificando que en las próstatas grandes, el más sobre-expresado era el hsa-miR187-3p y el más sub-expresado el hsa-miR-4487; en las próstatas medianas el más sobre-expresado era el hsa-miR-187-3p y el más sub-expresado el hsa-miR-6787-5p y en las próstatas pequeñas, el más sobre-expresado era el hsa-miR-205-5p y el más sub-expresado el hsa-miR-4417, todos con una  $p \leq 0.05$  y un  $FDR \leq 0.05$  y finalmente, se buscó identificar cuantos miARNs eran característicos de cada grupo, encontrando que las próstatas grandes, tienen 40 miARNs; las próstatas medianas 64 miARNs y las pequeñas 66 miARNs. Entre las próstatas grandes y medianas, se comparten 33 miARNs, entre las medianas y las pequeñas 50 miARNs y entre las grandes y las pequeñas 3 miARNs, todas comparten 43 miARNs.

Tras identificar lo anterior, se tomaron los miARNs exclusivos de cada grupo y con ellos, se analizó cual tenía un FC por encima de la media para que, con esto, se identificaran los miARNs blancos que determinarían el curso de la enfermedad. El que presentó más diferencias significativas fue la sub-expresados del hsa-miR-3135b en el grupo de próstatas grandes y la sobre-expresión del hsa-miR-205-5p en el grupo de las próstatas chicas.

Es importante mencionar que el material utilizado fue el tejido prostático, sin embargo, ya se están haciendo estudios para obtener estos miARNs en sangre y orina, ya que la muestra se obtendría de un sitio menos invasivo y que podría aportar los mismos resultados. Aún queda mucha investigación por realizar, sin embargo, con este trabajo, se busca dejar las bases para poder utilizar estos miARNs como posibles biomarcadores, ya que su firma molecular en los distintos tamaños de próstata es característica y nos permitiría tomar decisiones oportunas para ofrecer un mejor diagnóstico, tratamiento y pronóstico.

## **Conclusión**

La Hiperplasia Prostática Benigna es un padecimiento frecuente entre la población mexicana y una de las principales causas de valoración por el servicio de urología. Los síntomas asociados, generalmente son progresivos y en caso de manejo tardío pueden ser irreversibles, teniendo que ofertar tratamientos médicos y/o quirúrgicos complementarios, lo cual, afecta la calidad de vida de los pacientes y las familias, representando un impacto importante en el entorno del mismo paciente y de las instituciones de salud.

Si bien, respecto a esta patología no existen herramientas de prevención, ya que las causas son inherentes al paciente, se podrían identificar diferencias en la expresión de micro-ARNs en tejido prostático, así como en sangre u orina, entre las glándulas prostáticas de diferentes volúmenes que permitan establecer un criterio predictivo sobre el curso que puede tomar la enfermedad, con el fin de dar un manejo oportuno que evite el desgaste económico y social de los pacientes y de los sistemas de salud.

Finalmente, esta investigación, podría proporcionar información valiosa que pueda ayudar a investigaciones futuras en el tema de Hiperplasia Prostática Benigna ya sea en temas aplicados al diagnóstico o tratamiento para ofrecer manejos integrales y de mejor calidad.

## Referencias

- 1.- Kufe, D. W., Pollock, R. E., Weichselbaum, R. R., Bast Jr, R. C., Gansler, T. S., Holland, J. F., ... & Decker, B. C. (2003). *Neoplasms of the prostate. Cancer Medicine. Decker BC (ed).*
- 2.- McNeal, J. E. (1981). *The zonal anatomy of the prostate. The Prostate, 2(1), 35–49.*
- 3.- Chughtai, B., Forde, J. C., Thomas, D. D. M., Laor, L., Hossack, T., Woo, H. H., ... Kaplan, S. A. (2016). *Benign prostatic hyperplasia. Nature Reviews Disease Primers, 2, 16031.*
- 4.- Marzo, A. M. De, Platz, E. A., Sutcliffe, S., Xu, J., Grönberg, H., Drake, C. G., ... Nelson, W. G. (2007). *Inflammation in prostate carcinogenesis. Nature Reviews. Cancer, 7(4), 256–69.*
- 5.- Maitland, N. J., & Collins, A. T. (2008). *Prostate cancer stem cells: a new target for therapy. JouARNI of clinical oncology, 26(17), 2862-2870.*
- 6.- Zhao, H., Ramos, C. F., Brooks, J. D., & Peehl, D. M. (2007). *Distinctive gene expression of prostatic stromal cells cultured from diseased versus normal tissues. JouARNI of cellular physiology, 210(1), 111-121.*
- 7.- Maurice, M. J., Kim, S. P., & Abouassaly, R. (2016). *Current status of prostate cancer diagnosis and management in the United States. JAMA oncology, 2(11), 1505-1507.*
- 8.- Sanda, M. G., Beaty, T. H., Stutzman, R. E., Childs, B., & Walsh, P. C. (1994). *Genetic susceptibility of benign prostatic hyperplasia. The JouARNI of urology, 152(1), 115-119*
- 9.- Roehrborn, C., & McConnell, J. (2002). *Etiology, pathophysiology, epidemiology and natural history of benign prostatic hyperplasia. In Campbell's Urology. 8th ed. (pp. 1297–1336).*
- 10.- Drach, G. W., Layton, T. N., & Binard, W. J. (1979). *Male peak urinary flow rate: relationships to volume voided and age. The JouARNI of urology, 122(2), 210-214*
- 11.- McVary, K. T. (2006). *BPH: Epidemiology and comorbidities. American JouARNI of Managed Care, 12(SUPPL. 5), 122–128.*
- 12.- Mascolo, M., Russo, D., & De Rossa, G. (2013). *Update on Diagnostic Criteria on Biopsy and Surgical Specimen: Preinvasive Lesions, from Epithelial Cell Hyperplasia to Carcinoma In Situ and Invasive Carcinoma-First Line Immuno-Phenotyping of Prostate Diseases. En S. Staibano, Prostate Cancer: Shifting from Morphology to Biology (pág. 18). Naples, Italy: Springer.*

- 13.- McNeal, J. (1990). *Pathology of benign prostatic hyperplasia. Insight into etiology. The Urologic Clinics of North America*, 17(3), 477–86.
- 14.- Parsons, J. K. (2007). *Modifiable risk factors for benign prostatic hyperplasia and lower urinary tract symptoms: new approaches to old problems. The Journal of Urology*, 178(2), 395–401.
- 15.- Bachmann, A., & De La Rosette, J. (2011). *Benign Prostatic Hyperplasia and Lower Urinary Tract Symptoms in Men. Oxford University Press: Great Britain. Pag.: 53-54*
- 16.- Homma, Y., Gotoh, M., Yokoyama, O., Masumori, N., Kawauchi, A., Yamanishi, T., ... Ozono, S. (2011). *Outline of JUA clinical guidelines for benign prostatic hyperplasia. International Journal of Urology*, 18(11), 741–756.
- 17.- Sarma, A. V., & Wei, J. T. (2012). *Clinical practice. Benign prostatic hyperplasia and lower urinary tract symptoms. The New England Journal of Medicine*, 367(3), 248–57.
- 18.- Sausville, J., & Naslund, M. (2010). *Benign prostatic hyperplasia and prostate cancer: An overview for primary care physicians. International Journal of Clinical Practice*.
- 19.- Yoo, T. K., & Cho, H. J. (2012). *Benign prostatic hyperplasia: from bench to clinic. Korean Journal of Urology*, 53(3), 139–48.
- 20.- Roehrborn, C. G. (2011). *Male lower urinary tract symptoms (LUTS) and benign prostatic hyperplasia (BPH). Medical Clinics of North America*, 95(1), 87–100.
- 21.- Kapoor, A. (2012). *Benign prostatic hyperplasia (BPH) management in the primary care setting. The Canadian Journal of Urology*, 19 Suppl 1, 10–17.
- 22.- Castellanos Leal, W. P. (2018). *Lucha campesina*.
- 23.- Kinsella, K. G., & Phillips, D. R. (2005). *Global aging: The challenge of success (Vol. 60, No. 1, p. 3). Washington, DC: Population Reference Bureau*.
- 24.- Méndez, V. V., & Bautista-Samperio, L. (2007). *Severidad de sintomatología prostática: encuesta de pacientes entre 40-60 años. Revista de la Facultad de Medicina UNAM*, 50(4), 162-164.
- 25.- Pearson, J. D., Lei, H. H., Beaty, T. H., Wiley, K. E., Isaacs, S. D., Isaacs, W. B., ... & Walsh, P. C. (2003). *Familial aggregation of bothersome benign prostatic hyperplasia symptoms. Urology*, 61(4), 781-785.

- 26.- Vuichoud, C., & Loughlin, K. R. (2015). *Benign prostatic hyperplasia: epidemiology, economics and evaluation. Can J Urol*, 22(Suppl 1), 1-6.
- 27.- Kuriyama, M., Wang, M. C., Papsidero, L. D., Killian, C. S., Shimano, T., Valenzuela, L., ... & Chu, T. M. (1980). *Quantitation of prostate-specific antigen in serum by a sensitive enzyme immunoassay. Cancer research*, 40(12), 4658-4662.
- 28.- Pinsky, P. F., Kramer, B. S., Crawford, E. D., Grubb, R. L., Urban, D. A., Andriole, G. L., ... & Gohagan, J. K. (2006). *Prostate volume and prostate-specific antigen levels in men enrolled in a large screening trial. Urology*, 68(2), 352-356.
- 29.- Ward, J. R., Heath, P. R., Catto, J. W., Whyte, M. K., Milo, M., & Renshaw, S. A. (2011). *Regulation of neutrophil senescence by microARNs. PloS one*, 6(1), e15810.
- 30.- Iorio, M. V., & Croce, C. M. (2009). *MicroARNs in cancer: small molecules with a huge impact. JouARNl of clinical oncology*, 27(34), 5848-5856.
- 31.- Baek, D., Villén, J., Shin, C., Camargo, F. D., Gygi, S. P., & Bartel, D. P. (2008). *The impact of microARNs on protein output. Nature*, 455(7209), 64-71.
- 32.- Sita-Lumsden, A., Dart, D. A., Waxman, J., & Bevan, C. L. (2013). *Circulating microARNs as potential new biomarkers for prostate cancer. British jouARNl of cancer*, 108(10), 1925-1930.
- 33.- Tan, J. Y., Sirey, T., Honti, F., Graham, B., Piovesan, A., Merkschlager, M., ... & Marques, A. C. (2015). *Extensive microARN-mediated crosstalk between lncARNs and mARNs in mouse embryonic stem cells. Genome research*, 25(5), 655-666.
- 34.- Rosenfeld, N., Aharonov, R., Meiri, E., Rosenwald, S., Spector, Y., Zepeniuk, M., ... & Barshack, I. (2008). *MicroARNs accurately identify cancer tissue origin. Nature biotechnology*, 26(4), 462-469.
- 35.- Wang, Y., Zhang, C., Zhang, P., Guo, G., Jiang, T., Zhao, X., ... & Tian, Y. (2018). *Serum exosomal micro ARN s combined with alpha-fetoprotein as diagnostic markers of hepatocellular carcinoma. Cancer Medicine*, 7(5), 1670-1679.
- 36.- Perttu, M. C., Martikainen, P. M., Huhtala, H. S. a, Bläuer, M., Tammela, T. L. J., Tuohimaa, P. J., & Syväla, H. (2006). *Altered levels of Smad2 and Smad4 are associated with human prostate carcinogenesis. Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, 9(2), 185–189.
- 37.- Shim, E. H., Johnson, L., Noh, H. L., Kim, Y. J., Sun, H., Zeiss, C., & Zhang, H. (2003). *Expression of the F-box protein SKP2 induces hyperplasia, dysplasia, and low-grade carcinoma in the mouse prostate. Cancer Research*, 63(7), 1583–1588.

38.- Prakash, K., Pirozzi, G., Elashoff, M., Munger, W., Waga, I., Dhir, R., ... Getzenberg, R. H. (2002). Symptomatic and asymptomatic benign prostatic hyperplasia: molecular differentiation by using microarrays. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(11), 7598–603.

39.- Descazeaud, A., Rubin, M. a., Hofer, M., Setlur, S., Nikolaief, N., Vacherot, F., ... de la Taille, A. (2008). BPH Gene Expression Profile Associated to Prostate Gland Volume. *Diagnostic Molecular Pathology*, 17(4), 207–213.

40.- Iacopino, F., Angelucci, C., Lama, G., Zelano, G., Torre, G. L. A., & Addessi, A. D. (2006). Apoptosis-related Gene Expression in Benign Prostatic Hyperplasia and Prostate Carcinoma, 1854, 1849–1854.

41.- Secretaria de Salud. (2009). *Diagnóstico y Tratamiento de la Hiperplasia Prostática Benigna*. CENETEC: México

42.- Peña, A. E. Q., Prias, L. A. V., Basantes, J. A. I., & Plaza, G. R. R. (2019). Factores predominantes de hiperplasias prostática benigna. *RECIAMUC*, 3(2), 318-341.

43.- Greco, F., Infrerera, A., La Rocca, R., Navarra, M., Casciaro, M., Grosso, G., ... & Mirone, V. (2019). The potential role of MicroARNs as biomarkers in benign prostatic hyperplasia: a systematic review and meta-analysis. *European Urology Focus*, 5(3), 497-507.

## Figuras y tablas

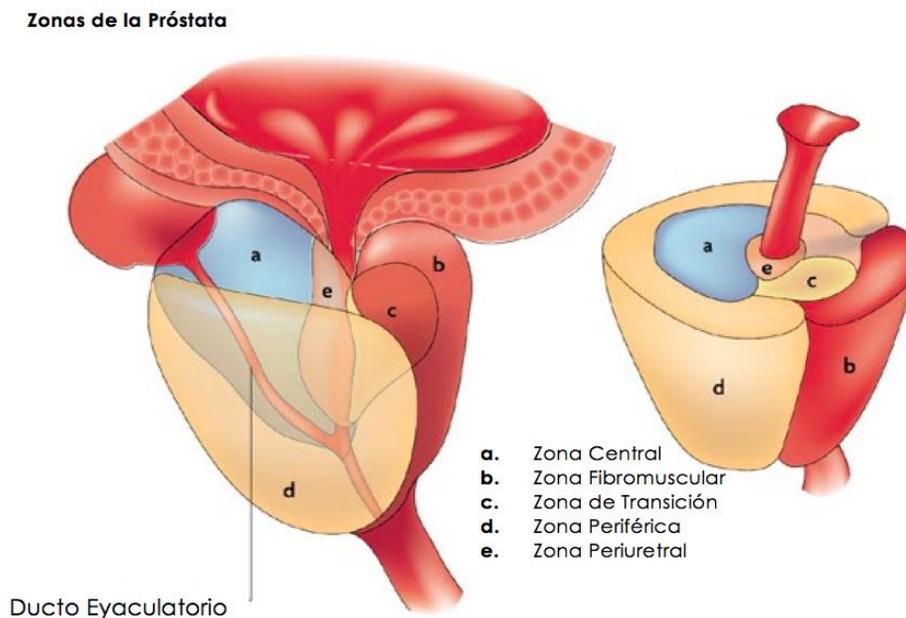


Figura 1. Anatomía de la próstata. En la figura se observan las distintas zonas en las que se divide la glándula prostática. (Adaptada de Marzo et al., 2007)

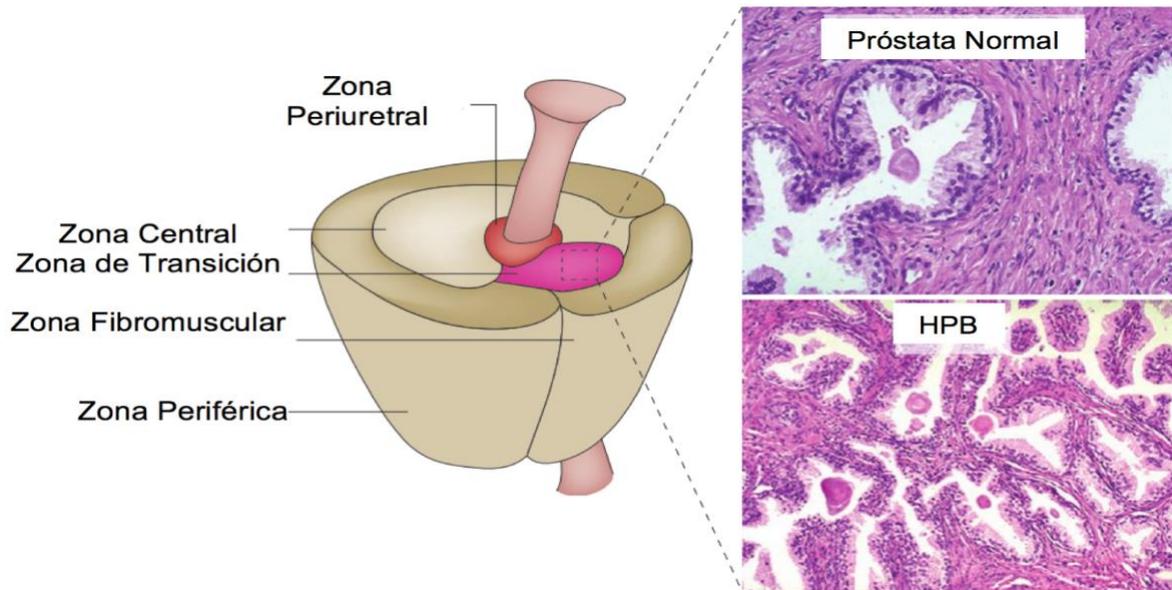


Figura 2. Representación de una comparación histológica de cortes de próstata normal y de próstata con HPB, señalando la zona de transición como el sitio de patogénesis. (Adaptada de (Chughtai et al., 2016)

Muestra	Edad (Años)	Volumen Prostático (cc)	APE (ng/dl)	Edad de inicio aproximado de síntomas (años) / tiempo transcurrido a manejo quirúrgico	IPSS (puntos)	Manejo médico
H1	61	86.7	2.1	61 / 3 meses	14	Antagonista $\alpha$ - adrenérgico + Inhibidor de la 5- $\alpha$ R
H2	74	61	7.7	66 / 8 años	10	Antagonista $\alpha$ - adrenérgico
H3	68	95	6.2	68 / 3 meses	11	Antagonista $\alpha$ - adrenérgico
H4	72	137	5.5	70 / 2 años	11	Sin tratamiento
H5	65	138	7.5	65 / 10 meses	20	Sin tratamiento
H6	72	78.6	6.3	71 / 1 año	10	Antagonista $\alpha$ - adrenérgico + Inhibidor de la 5- $\alpha$ R
H7	65	83	4.1	64 / 1 año	12	Antagonista $\alpha$ - adrenérgico + Inhibidor de la 5- $\alpha$ R

H8	82	293	5.0	82 / 9 meses	21	Antagonista $\alpha$ -adrenérgico
H9	69	548	5.0	69 / 5 meses	8	Antagonista $\alpha$ -adrenérgico
H10	69	156	6.7	69 / 4 meses	16	Antagonista $\alpha$ -adrenérgico
H11	75	59.1	7.4	75 / 8 meses	24	Antagonista $\alpha$ -adrenérgico
H12	61	92.9	4.3	60 / 1 año	17	Antagonista $\alpha$ -adrenérgico + Inhibidor de la 5- $\alpha$ R
H13	87	143	7.3	85 / 2 años	11	Antagonista $\alpha$ -adrenérgico + Inhibidor de la 5- $\alpha$ R
H14	58	87	2.2	49 / 9 años	12	Antagonista $\alpha$ -adrenérgico
H15	78	210.4	9.3	71 / 7 años	12	Antagonista $\alpha$ -adrenérgico + Inhibidor de la 5- $\alpha$ R
H16	80	175	5.6	75 / 5 años	15	Antagonista $\alpha$ -adrenérgico
H17	67	111	6.9	67 / 6 meses	18	Antagonista $\alpha$ -adrenérgico

Tabla 1: Datos demográficos de los pacientes incluidos

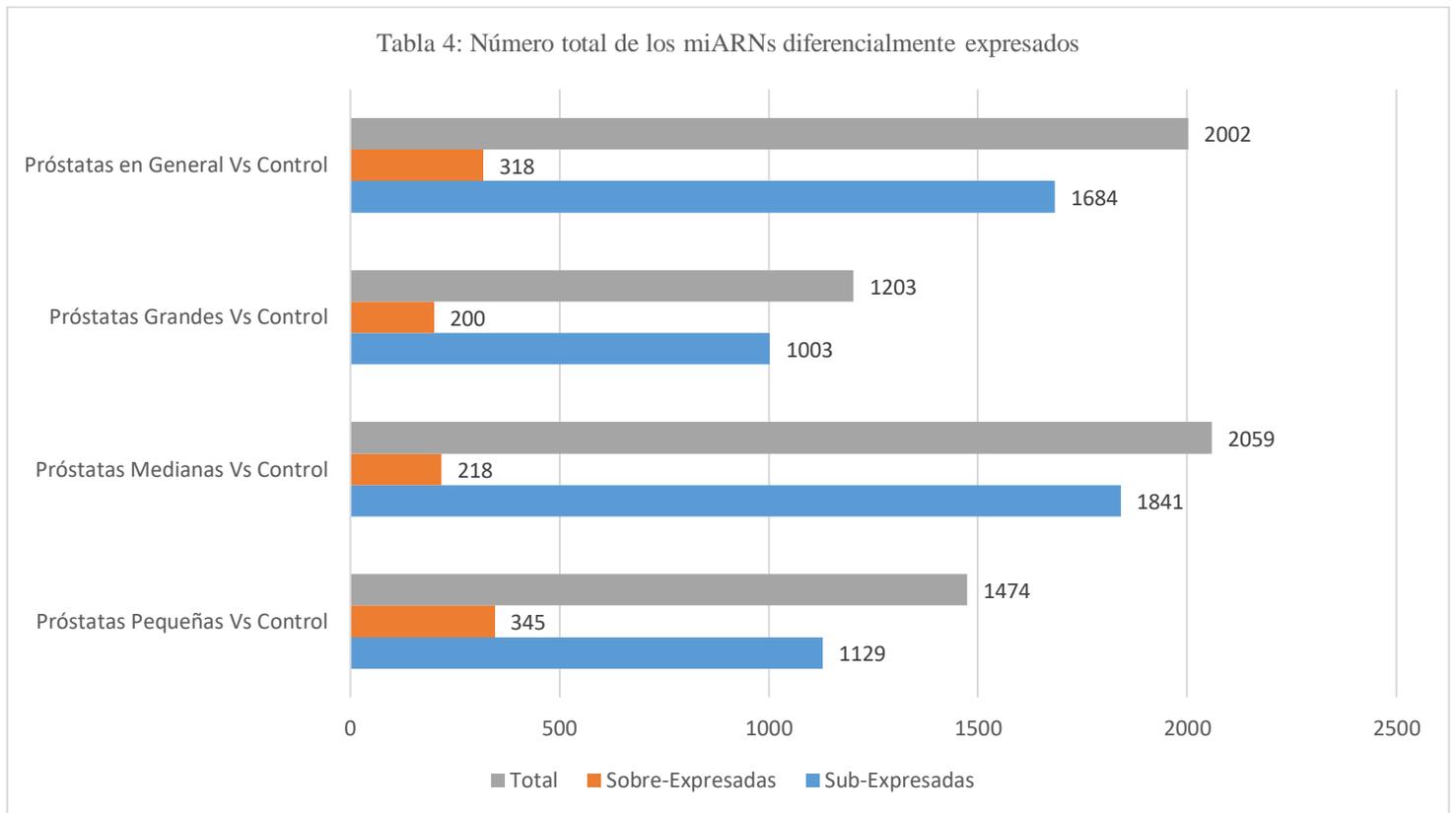
Número	ID muestra	[ARN] (ng/uL)	260/280	260/230
1	H1	104.93	1.92	2.15
2	H2	90.90	1.91	1.19
3	H3	90.67	1.87	1.92
4	H4	123.76	1.94	2.16
5	H5	95.17	1.89	1.90

6	H6	115.40	1.93	2.01
7	H7	98.78	1.89	2.14
8	H8	98.92	1.92	2.04
9	H9	97.83	1.90	2.17
10	H10	109.29	1.93	2.15
11	H11	27.99	1.85	1.05
12	H12	16.04	1.96	1.87
13	H13	98.53	1.93	1.93
14	H14	93.32	1.91	2.13
15	H15	85.44	1.86	1.85
16	H16	90.89	1.88	2.13
17	H17	14.38	1.80	1.06
18	C1	82.24	1.88	1.76
19	C2	88.99	1.94	1.94
20	C3	93.12	1.93	1.90
21	C4	102.36	1.93	2.13
22	C5	94.77	1.90	1.85
23	C6	96.63	1.88	2.21
Tabla 2: Valores de las lecturas cuantificadas por Nanodrop ND-1000				

Grupos por Tamaño de la Glándula Prostática	Muestra	Volumen (cc)
A: Grandes	H8	293
	H9	548
	H15	210.4
	H16	175
B: Medianas	H4	137
	H5	138
	H10	156
	H13	143
	H17	111

C: Pequeñas	H1	86.7
	H2	61
	H3	95
	H6	78.6
	H7	83
	H11	59.1
	H12	92.9
	H14	87

Tabla 3: Clasificación por volumen prostático de los pacientes



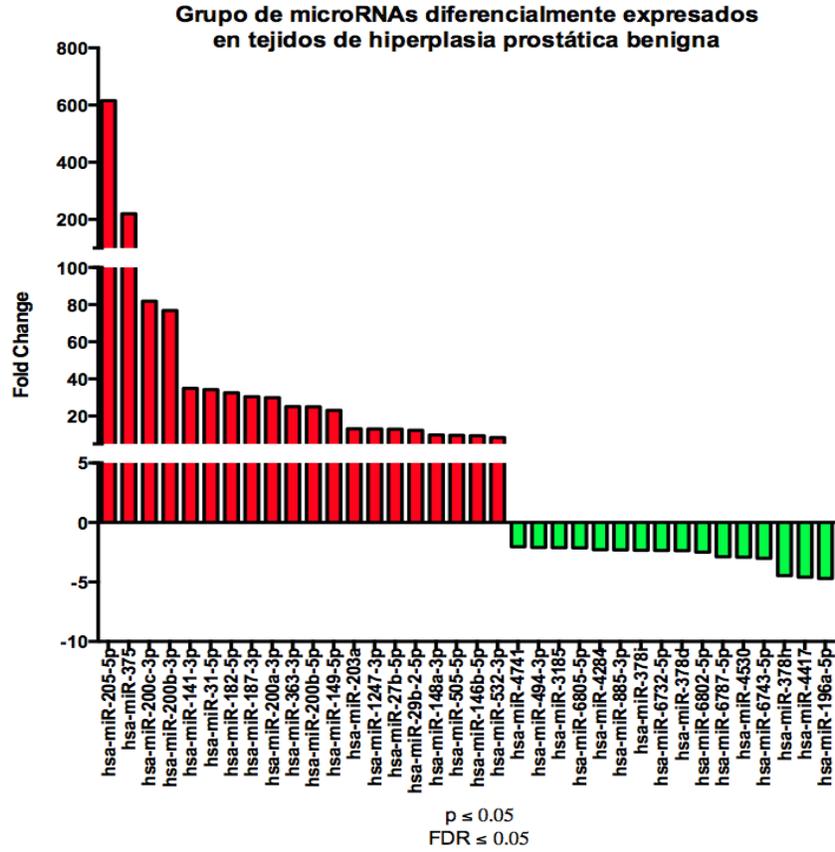


Figura 3: Grupo de microARNs diferencialmente expresados en tejidos con hiperplasia prostática benigna

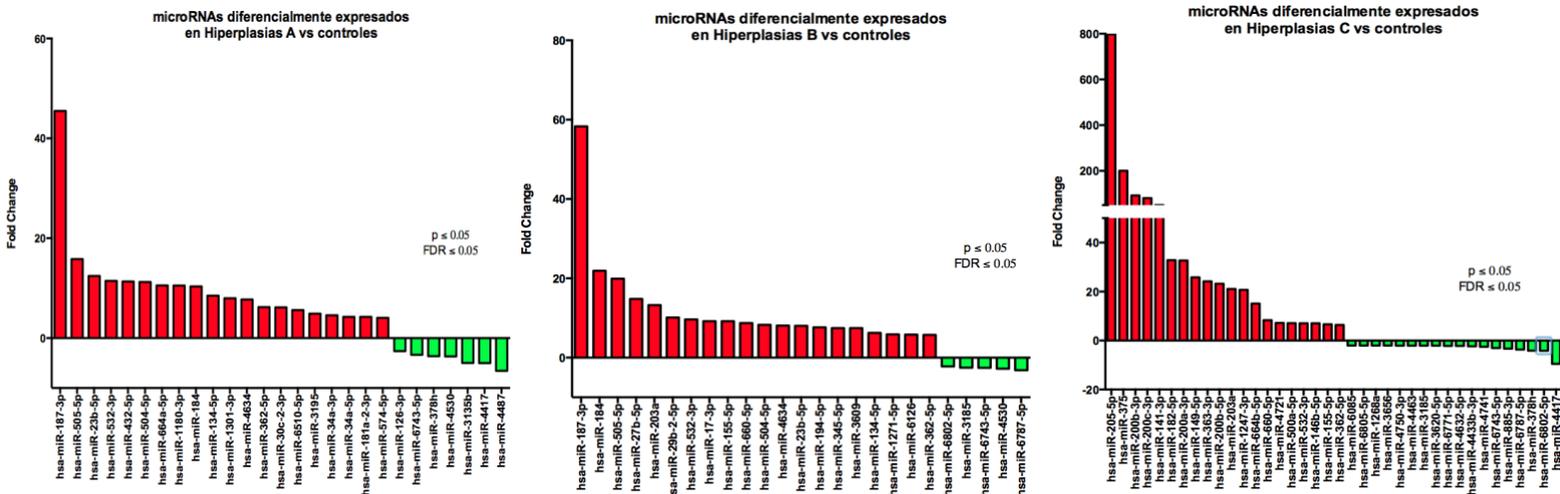


Figura 4: Grupo de microARNs diferencialmente expresados en próstatas grandes (A) vs los controles, hiperplasias de las próstatas medianas (B) vs los controles e hiperplasias de las próstatas pequeñas (C) vs los controles

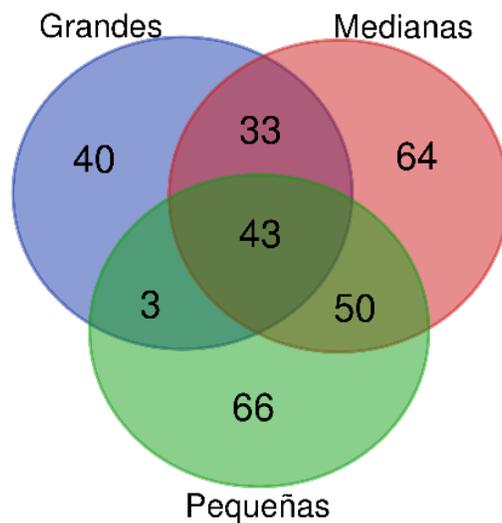


Figura 5: Relación del grupo de microARNs diferenciales expresados por grupo

Todos los grupos comparten	Fold Change
hsa-miR-574-3p	3.34
hsa-miR-505-5p	9.7
hsa-miR-362-5p	7.24
hsa-miR-1180-3p	6.64
hsa-miR-6782-5p	3.97
hsa-miR-6743-5p	-3

Grupo A	Fold Change
hsa-miR-6510-5p	5.61
hsa-miR-3195	4.88
hsa-miR-181a-2-3p	4.25
hsa-miR-6795-5p	3.49
hsa-miR-6808-5p	2.93
hsa-miR-1307-3p	2.86
hsa-miR-675-5p	2.78
hsa-miR-126-3p	-2.62
hsa-miR-3135b	-4.98
hsa-miR-4487	-6.57

Grupo B	Fold Change
hsa-miR-27b-5p	14.8
hsa-miR-29b-2-5p	10.1
hsa-miR-345-5p	7.45
hsa-miR-1271-5p	5.85
hsa-miR-2110	5.09

Grupo C	Fold Change
hsa-miR-205-5p	797.74
hsa-miR-375	200.7
hsa-miR-200b-3p	92.52
hsa-miR-200c-3p	80.64
hsa-miR-141-3p	50.11
hsa-miR-182-5p	32.83
hsa-miR-200a-3p	32.67
hsa-miR-149-5p	25.82
hsa-miR-363-3p	24.17
hsa-miR-200b-5p	23.22
hsa-miR-1247-3p	20.69
hsa-miR-3620-5p	-2.1
hsa-miR-6771-5p	-2.16
hsa-miR-4632-5p	-2.2
hsa-miR-4433b-3p	-2.32
hsa-miR-4741	-2.55
hsa-miR-885-3p	-3.28

Tabla 5: Relación por grupo de microARNs con un FC por encima de media

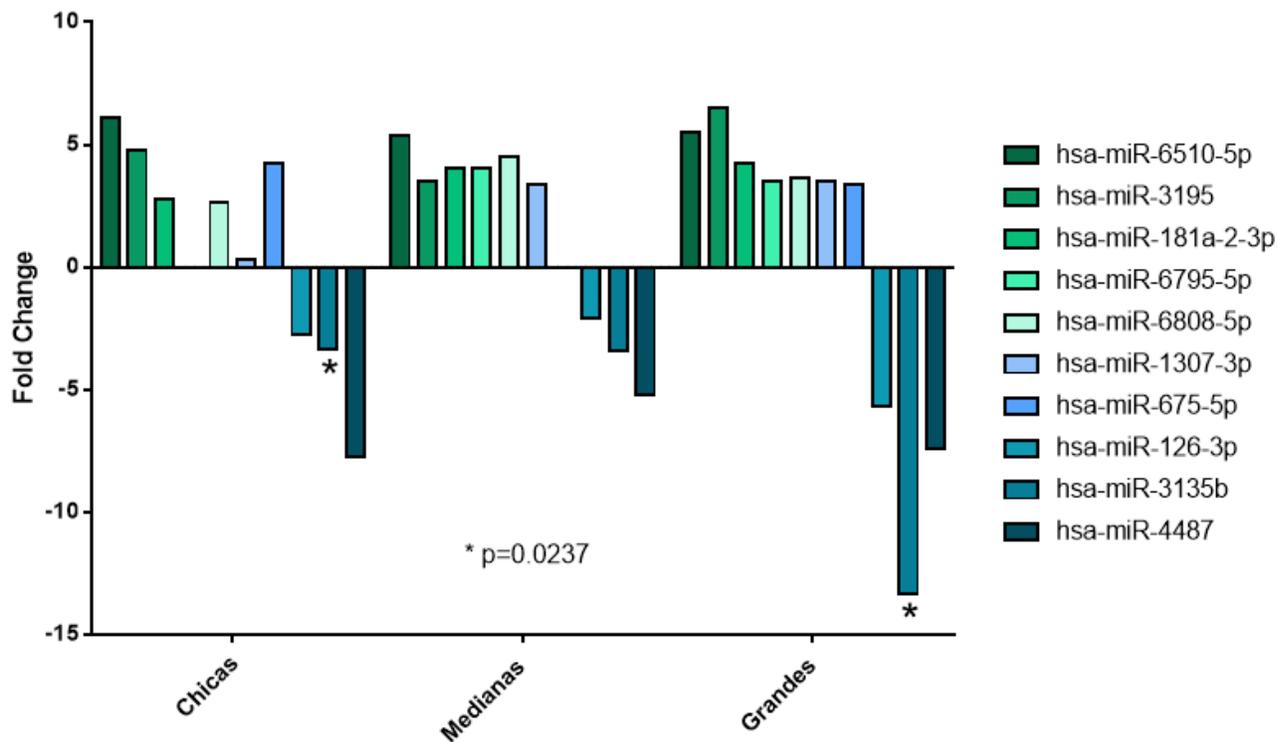


Figura 6: miARNs que se hallaron sub-expresados con más diferencias significativas

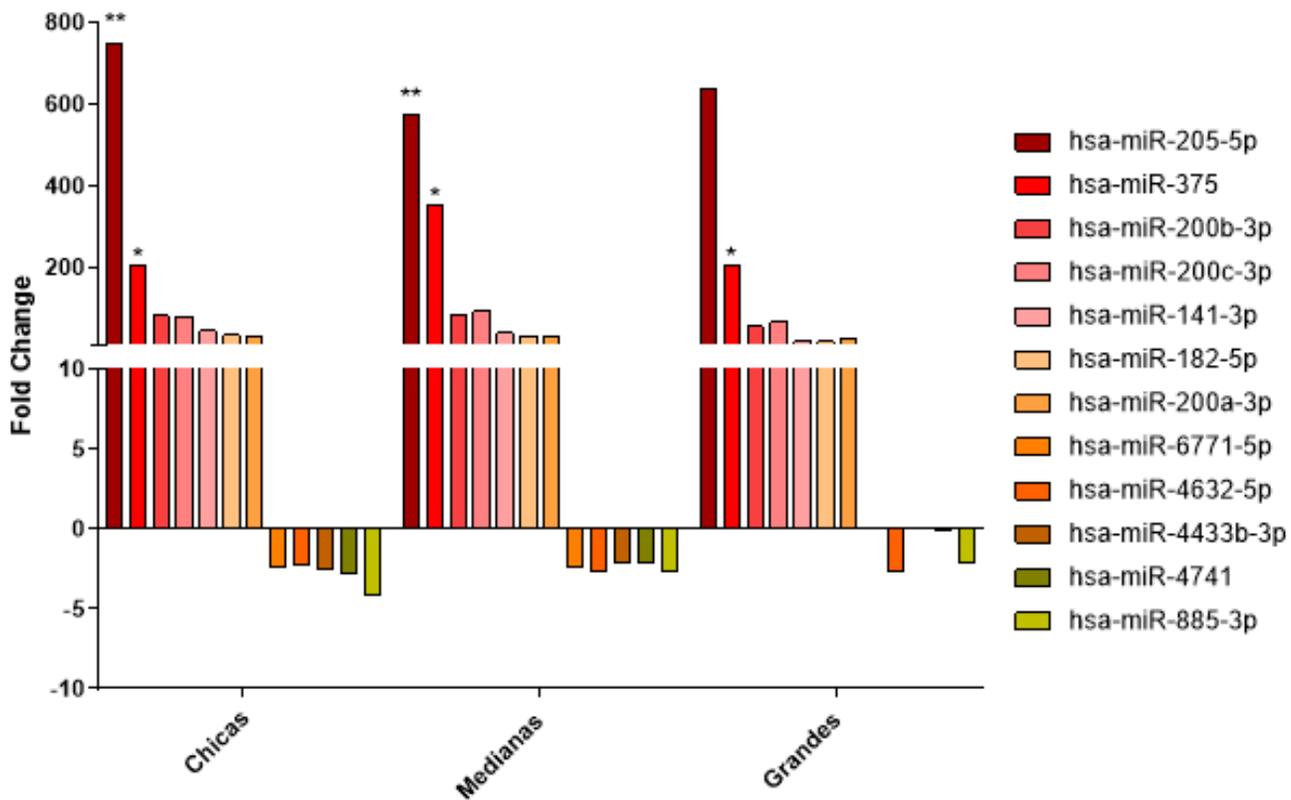


Figura 7: miARNs que se hallaron sobre-expresados con más diferencias significativa