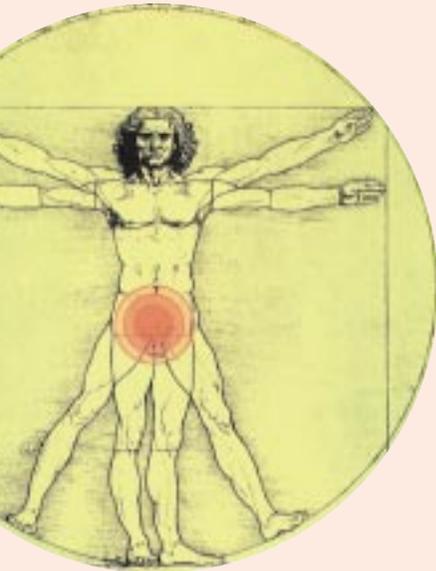


Alteraciones genéticas en el cáncer de próstata

Antonio Alcaraz Asensio

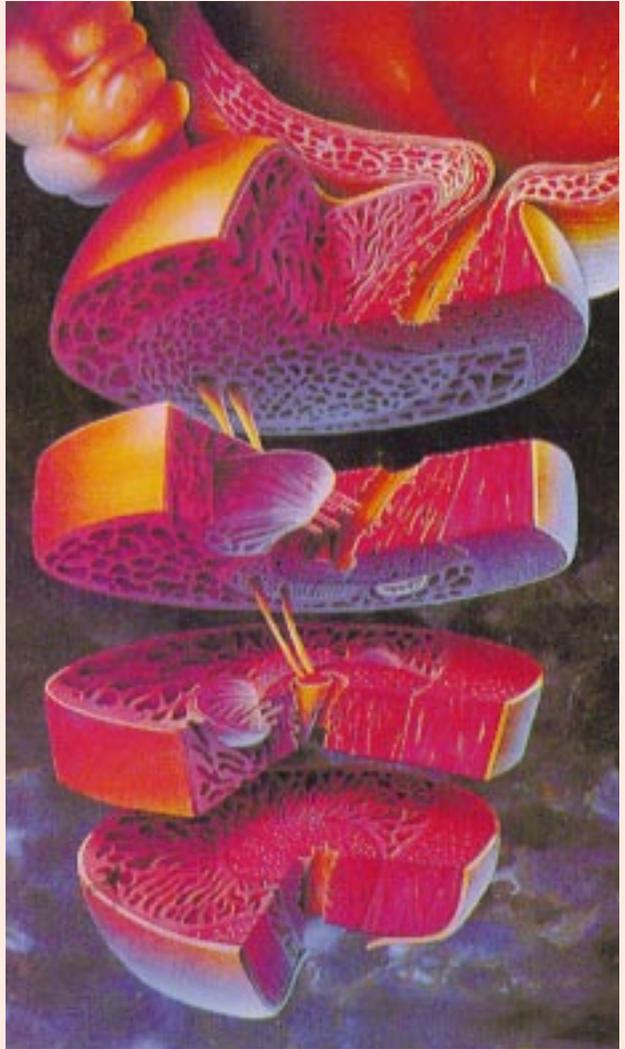
Servicio de Urología y Trasplante Renal. Hospital Clinic Barcelona.
(IDIBAPS) Institut D'Investigació bàsica August Pi i Sunyer



Las opiniones del autor no necesariamente concuerdan con las sustentadas por Schering España

Índice

Introducción	5
2. Técnicas de estudio de las alteraciones genéticas	7
2.1 Estudios de citometría	7
2.2 Estudios de citogenética	8
2.3 Hibridación "in situ" fluorescente (FISH)	9
2.4 Hibridación genómica comparada (CGH)	11
2.5 Cariotipaje espectral	12
2.6 Estudios moleculares	12
3. Alteraciones genéticas en el cáncer de próstata	13
4. Ploidía del ADN en el cáncer de próstata	14
5. Alteraciones citogenéticas en el cáncer de próstata	15
6. Alteraciones moleculares en el cáncer de próstata	18
7. Protooncogenes y cáncer de próstata	19
7.1 Expresión de bcl-2	20
8. Expresión de factores de crecimiento: factor de crecimiento epidérmico (EGF)	21
9. Expresión de H-ras p21	21
10. Otras alteraciones moleculares en protooncogenes	22
11. Papel de la inactivación de los genes supresores de tumor	22
Bibliografía	27



Alteraciones genéticas en el cáncer de próstata

INTRODUCCIÓN

La primera evidencia del origen genético de los tumores la estableció Peyton Rous en 1911. La transformación neoplásica de una célula normal, y la progresión de un tumor, están determinadas por la activación de oncogenes celulares y/o la inactivación de genes supresores tumorales. Los oncogenes aparecen como mutaciones de los protooncogenes. Los protooncogenes son genes con estructuras homólogas a los oncogenes virales, expresados durante el ciclo celular, imprescindibles para el crecimiento, proliferación y diferenciación celular. Su alteración producirá una oncoproteína con una función fisiológica alterada y que llevará a un crecimiento celular incontrolado o neoplásico¹.

Los genes supresores se involucran en la carcinogénesis a través de mutaciones recesivas, por las que la pérdida de un alelo normal que contenía un gen supresor, desenmascara la mutación recesiva primaria. En las células neoplásicas es frecuente encontrar mutaciones puntuales en determinados genes, alteraciones groseras de la ploidía, y alteraciones citogenéticas que alteren el número o estructura de determinados cromosomas.²

La progresión de un fenotipo celular normal a uno maligno se asocia con un aumento de la inestabilidad genética a partir del cual se aceleraría la proliferación celular. Estas alteraciones primarias ocurrirían en los genes reparadores del ADN provocando la citada inestabilidad genética que afectaría a los diferentes niveles de la replicación y segregación celular. Junto al daño primario de los genes reparadores del ADN, o por consecuencia de dicho daño, se producen tanto mutaciones en protooncogenes y genes

Alteraciones genéticas en el cáncer de próstata

supresores como reordenaciones, deleciones, y amplificaciones de regiones cromosómicas. Cuando la alteración afecta a la función del huso acromático (mitótico) se producirán pérdidas o ganancias de cromosomas enteros, mientras que si el defecto afecta a los centrosomas tendremos alteraciones groseras de la ploidía. Las translocaciones e inversiones cromosómicas llevan a cambios oncogénicos al afectar, en los puntos de ruptura e integración en los cromosomas, a genes que controlan el crecimiento y diferenciación celular (activación de los protooncogenes). Las deleciones cromosómicas provocan la pérdida de un alelo (pérdida de la heterocigosidad de genes supresores), de manera que si el gen presente en un alelo restante sufre o ha sufrido una mutación expresará su capacidad neoplásica al quedar inactivado. Los mecanismos por los que la presencia de cromosomas supranumerarios actúan en el proceso neoplásico son desconocidos, aunque probablemente están relacionados con la apoptosis, provocando habitualmente un aumento de la agresividad y capacidad de progresión. Es debido a este amplio abanico de alteraciones que podemos encontrar en la célula neoplásica que su estudio genético incluye, desde la simple valoración de la cantidad de ADN mediante citometría de flujo hasta los estudios de secuenciación de un determinado gen presumiblemente mutado, pasando por estudios citogenéticos o moleculares.³

1. Técnicas de estudio de las alteraciones genéticas

1.7.2.1 . Estudios de citometría

El nivel básico lo constituyen los estudios de citometría (fundamentalmente la flujocitometría, FCM), que permiten la valoración de la cantidad de ADN que contienen las células neoplásicas, así como el conocimiento de cuantas de ellas se encuentran en una determinada fase del ciclo celular, catalogando a los tumores en diploides (con cantidad normal de ADN), tetraploides (al presentar un porcentaje importante de células con doble carga de ADN) o aneuploides (al tener clones celulares con una cantidad anormal de ADN) 4-6 . Fig 1 .

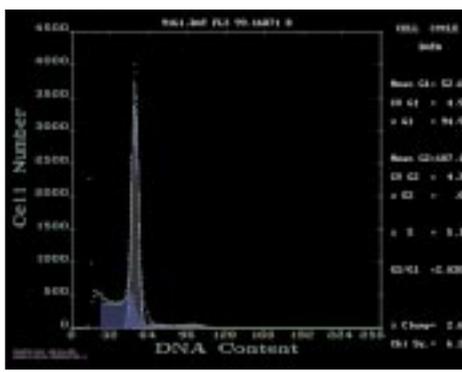


Figura 1. A). Gráfica obtenida mediante flujocitometría (FCM). Patrón diploide.

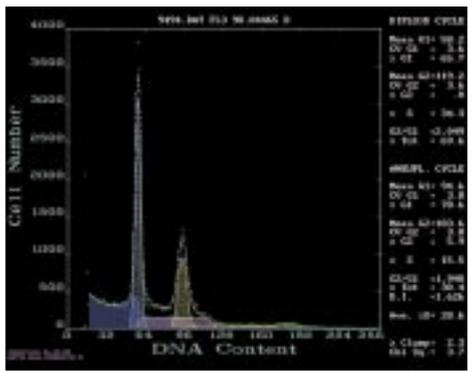


Figura 1. B). Gráfica obtenida mediante flujocitometría (FCM). Patrón aneuploide.

Alteraciones genéticas en el cáncer de próstata

1.7.2.2. Estudios de citogenética

El siguiente nivel está constituido por los estudios citogenéticos que permiten detectar los cromosomas que se encuentran alterados bien sea en número o estructura. Los primeros estudios, por citogenética clásica, precisaban células vivas. En la metafase, la célula organiza su ADN en cromosomas que pueden ser estudiados mediante el análisis de sus bandas, distinguiendo un brazo corto (p), y un brazo largo (q), y dentro de ellos una serie de bandas alternantes que permiten dividir los brazos en regiones, bandas y sub-bandas cromosómicas (por ejemplo, 9q12.1, está situado en el brazo largo del cromosoma 9 en la región 1, banda 2 y sub-banda 1) (Fig 2). El mayor inconveniente de la citogenética clásica es que se necesita estimular la célula hasta la metafase, lo cual no siempre es posible y en los casos que lo es, puede dar lugar a alteraciones no presentes en la célula

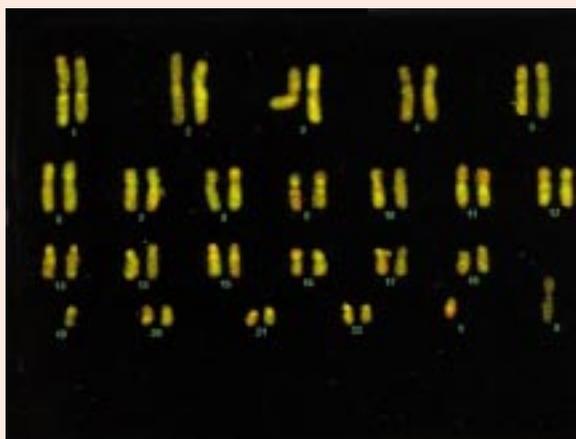


Figura 2. Cariotipo mediante citogenética en bandas clásicas.

estudiada antes de estimular artificialmente su división ^{7,8}. Estos inconvenientes son especialmente importantes en el cáncer de próstata debido a su bajo índice mitótico, lo cual hace muy difícil su estimulación hasta la metafase. Es por ello que tan sólo han sido estudiados mediante técnica de banding unos doscientos tumores de próstata.

1.7.2.2.1. Hibridación "in situ" fluorescente (FISH)

Las técnicas de citogenética actual, han superado los problemas de las técnicas clásicas. La hibridación in situ fluorescente (FISH) es una técnica de recombinación de ADN que permite reconocer una determinada secuencia de ADN y marcarla con un fluorocromo fijado a una cadena de ADN (sonda de ADN) (Fig. 3). Permite el estudio de células en reposo (interfase), incluso conservadas en parafina, y su utilización en preparaciones histológicas, lo cual permite superar muchos de los problemas de la heterogeneidad tumoral. Las primeras sondas utilizadas eran específicas de

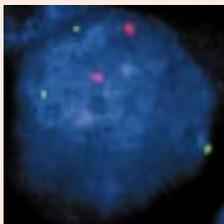


Figura 3. Estudio mediante "Hibridación in situ fluorescente". Las señales fluorescentes verde marcan los centrómeros del cromosoma 7. Presencia de una trisomía 7, la alteración más común en las células de cáncer de próstata.

Alteraciones genéticas en el cáncer de próstata

los centrómeros cromosómicos por lo que permitían la enumeración cromosómica, pero en la actualidad existen sondas específicas para el estudio de regiones cromosómicas de interés.⁹⁻¹²

1.7.2.2. Hibridación genómica comparada (CGH)

La hibridación genómica comparada (CGH), se fundamenta en un proceso de hibridación competitiva en base a la cual el ADN del tumor es marcado con un fluorocromo específico, y el ADN normal es marcado con otro fluorocromo distinto; estos ADN se combinan y son hibridados en cromosomas humanos sin anomalías, y posteriormente se identifican los diferentes patrones de color, que indicarán las localizaciones específicas de las ganancias o pérdidas de material genético ¹³ (Fig 4). Es una técnica con un gran potencial, que sin duda será de gran interés en el futuro inmediato en el cáncer de próstata ya que permitirá identificar nuevas regiones frecuentemente delecionadas y, por tanto, con una alta posibilidad de portar genes supresores de importancia en el cáncer de próstata.

Figura 4. Imagen correspondiente a un estudio mediante hibridación genómica comparada (CGH). Mediante una hibridación competitiva entre el DNA problema y una DNA normal de una célula en metafase, se obtiene un patrón colorimétrico (A) que al ser analizado informáticamente nos identifica las ganancias y pérdidas relativas de material en el DNA problema.(B).



1.7.2.2.3. Cariotipaje espectral

En la actualidad también se dispone de otra técnica fluorescente como es el cariotipaje espectral (SKY, spectral karyotyping), el cual emplea una combinación de 24 sondas coloreadas para cromosomas completos (los 22 autosomas y los 2 cromosomas sexuales) y unos fluorocromos distinguibles por su espectro de color. Un programa de ordenador detecta los diferentes colores emitidos por las sondas de hibridación, obteniendo diferentes combinaciones de color por la mezcla de los diferentes fluorocromos. Esto lo consigue a través de la utilización de conjuntos de diferentes filtros individuales, o por la conversión del espectro de color emitido empleando para ello un interferómetro Sagnac. Este procedimiento ofrece grandes expectativas en la detección e identificación de anomalías en tumores prostáticos que tengan, tanto un número escaso de figuras mitóticas como aquellos en los que posean múltiples anomalías cromosómicas no identificables por otros métodos convencionales.¹⁴

Estas técnicas de hibridación descritas, deben ser consideradas como un complemento y no como sustitutas de las técnicas de citogenética clásica.

1.7.2.3. Estudios moleculares

El siguiente nivel de estudio lo constituirían las técnicas moleculares, en las que se estudian regiones cromosómicas concretas y por tanto detectan alteraciones en el ADN, ARN o proteínas. Se basan en el principio de la desnaturalización del ADN por el que se obtiene una cadena simple (el ARN ya es monocatenario) que bajo determinadas condiciones puede unirse a una cadena complementaria (hibridación)

Alteraciones genéticas en el cáncer de próstata

que se marca para su detección, con P32 o bien con fluorescencia. Entre otras técnicas destacan la de Southern blot (para detección de ADN) y Northern blot (para detección de ARN). La técnica que estudia la longitud de fragmentos de ADN es lo que se conoce por polimorfismo de los fragmentos de restricción (RFLP), importantes en la localización de genes supresores al confirmarse la constante ausencia de una determinada región cromosómica. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) permite obtener un enorme número de copias de una determinada secuencia de ADN al aprovechar el mecanismo de replicación, mientras que la PCR utilizando la transcriptasa inversa (RT-PCR), permite la identificación de células que expresan un determinado ARNm.¹⁵

Alteraciones genéticas en el cáncer de próstata

Tal y como describimos en la introducción, en los tumores sólidos y por lo tanto en el cáncer de próstata, se van a producir una serie de alteraciones que incluyen desde

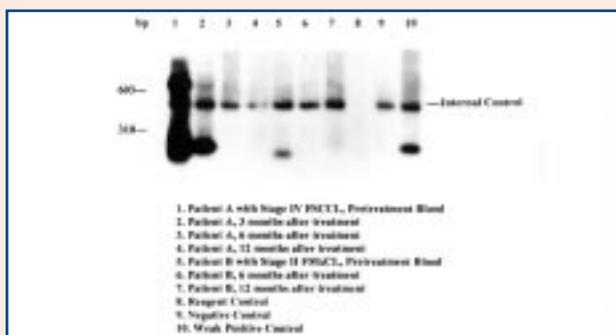


Figura 5. Estudio mediante PCR. Se detecta la presencia de una DNA problema

simples mutaciones puntuales hasta cambios groseros de la ploidía. El conocimiento de los cambios genéticos del cáncer de próstata debe incluir el estudio del contenido de ADN de las células tumorales, la detección de las alteraciones citogenéticas presentes en el tumor y el análisis de factores genéticos moleculares a nivel de oncogenes y genes supresores de tumor.

Ploidía del ADN en el cáncer de próstata

Al estudiar el contenido de ADN en el cáncer de próstata se han encontrado diferentes resultados. Inicialmente se encontró una correlación entre la ploidía anormal analizada a través de flujocitometría (FCM)^{16,17} con el Gleason de alto grado y con el aumento del volumen tumoral. Más tarde, se observó que aquellos pacientes con un valor de PSA inferior a 4 ng./ml., presentaban un contenido normal de ADN, mientras que aquellos otros con cifras de PSA superiores a 4 ng./ml., presentaban un contenido anormal del ADN.¹⁸ Otros estudios vienen a confirmar estos hallazgos al demostrar que aquellos casos con cifras de PSA inferiores a 2 ng./ml., suelen ser diploides en un 79%, tetraploides el 21% y ninguno aneuploide.²³³ Zincke y cols.¹⁹ estudiaron la ploidía en los cánceres de próstata estadio D1 observando que el 37% eran diploides, un 46% tetraploides y el 17% aneuploides y, detectaron que los tumores diploides presentaban una mayor supervivencia, sobretodo si se asociaba tratamiento hormonal.

Al relacionar la ploidía con el grado histológico, Borre y cols.²⁰ encontraron entre ambos una asociación estadísticamente significativa, así como con la supervivencia a largo plazo. Además, Adolfsson²¹ apreció que el contenido de ADN estaba relacionado con el grado tumoral

Alteraciones genéticas en el cáncer de próstata

y el estadio, demostrando tener valor pronóstico con respecto a ambos factores que correlacionaba con la supervivencia específica de la enfermedad.

Sin embargo también hay estudios que obtienen resultados discordantes respecto a la ploidía como factor pronóstico. Carmichael et al ²², comentó que la ploidía del ADN sólo añadía información pronóstica cuando eran tumores de bajo grado histológico ya que la escasa diferenciación tumoral parecía enmascarar el efecto de la ploidía, lo cual confirmaba estudios de Adolphsson et al ²³ por los cuales se demostraba un valor pronóstico de la ploidía en caso de tumores de bajo grado y bajo estadio, no tratados.^{24,25}

Alteraciones citogenéticas en el cáncer de próstata

Las alteraciones citogenéticas han podido ser estudiadas como factor pronóstico con la llegada de la "citogenética molecular", término que ha sido empleado para describir la técnica que emplea sondas de ADN o ARN para esclarecer preguntas específicas a cerca de alteraciones cromosómicas ²⁶, y están en constante evolución desde 1985.^{27,28}

Tales estudios citogenéticos aplicados en el cáncer de próstata, han detectado que las alteraciones cromosómicas están en relación con un mayor volumen tumoral, con el grado de Gleason elevado, y un estadio clínico-patológico²⁹ más avanzado, de forma que cuanto más agresivo es el comportamiento biológico más alteraciones cromosómicas son detectadas, y peor pronóstico.^{30,31}

La presencia de alteraciones cromosómicas a nivel de diferentes cromosomas ha sido asociada con un mal pronóstico. Entre ellas destaca, la aneusomía del cromosoma 7 que está significativamente asociada a un grupo de

pacientes de peor evolución, con tumores con grado de Gleason más elevado, y en especial, la trisomía de dicho cromosoma, que aparece como un cambio prácticamente constante en esos pacientes de mal pronóstico³¹⁻³³, por otra parte puede ser detectada en las muestras de tejido obtenido a partir de biopsias por punción³⁴. La aneusomía del cromosoma 7 ha sido también correlacionada tanto con la progresión local como con el comportamiento metastásico³¹, estando particularmente involucradas las deleciones de la región 7q31 con el grado de diferenciación histológica, estadio patológico y la progresión sistémica. Es también en esta región 7q31 donde se localizaría el proto-oncogen *met*^{35,36}, alterado en el carcinoma papilar de células renales³⁵, y en diferentes tipos de cáncer como son los de mama, colon, ovario y procesos linfoproliferativos de células T³⁸⁻⁴⁰, y también el de próstata, en los que estaría implicado en la progresión sistémica, menor tiempo de recidiva y menor tiempo de supervivencia.^{41,42}

Otra de las alteraciones asociadas de forma significativa con pronóstico de los tumores de próstata, es la aneusomía del cromosoma 8, que ha sido implicada en la carcinogénesis de varios tumores y que se muestra como un factor pronóstico de cara a progresión sistémica de la enfermedad⁴³⁻⁴⁵, además de tener una correlación significativa con el mayor grado histológico y estadio patológico en el cáncer de próstata.^{33,34} En el cáncer de próstata parece ser que existen deleciones homocigóticas y frecuentes pérdidas alélicas que afectan a los loci 8p22, lo cual sugiere la presencia de un gen supresor putativo tumoral en esa región.^{31, 46-48}

Es de interés destacar la presencia del oncogen *myc*, localizado en la región 8q24 y que en el cáncer de próstata se encuentra asociado con la presencia de afectación ganglionar,

Alteraciones genéticas en el cáncer de próstata

enfermedad recurrente, un menor tiempo libre de enfermedad y una menor supervivencia.⁴⁹

Entre otras alteraciones cromosómicas asociadas con mal pronóstico, encontramos la aneusomía del cromosoma Y que estaría asociada con una tasa incrementada de muerte atribuida al tumor, incluso comportándose como factor pronóstico independiente.⁴³ Las alteraciones del cromosoma Y son frecuentes en el cáncer de próstata cuando son estudiadas por citogenética clásica⁵⁰, y también están presentes en otros tumores como leucemias, carcinoma renal, entre otros.⁵¹⁻⁵³ Otro hecho a destacar es que la ganancia del cromosoma Y, junto la del cromosoma X, fue la alteración más frecuente, detectada por Gburek y cols., al analizar ganglios metastásicos en pacientes afectos de cáncer de próstata con un estadio D₁.⁵⁴

También parece de importancia el cromosoma 10, en el que han sido descritas deleciones que afectan a determinadas secuencias en el cáncer de próstata, fundamentalmente a nivel de la región 10q22-q24 55, y frecuentemente asociadas a pérdidas de la región 10p^{56,58}, en especial la región 10p11.2, siendo evidente la presencia de un gen supresor tumoral en dichas regiones. Las pérdidas que afectan a la región del brazo largo aisladamente son más frecuentes en aquellos tumores con metástasis en ganglios linfáticos que en aquellos localizados o localmente invasivos, mientras que las pérdidas que afectan a 10p aisladamente, son más frecuentes en los tumores localizados, sugiriendo que las pérdidas que afectan a 10p pueden determinar tumores menos invasivos, mientras que las pérdidas que afectan a 10q desempeñarían un papel importante en la progresión tumoral a estadios más avanzados, determinando un peor pronóstico.⁵⁹

Entre otras alteraciones cromosómicas asociadas a un mal pronóstico se encuentran las deleciones que afectan a la región 16q24 del cromosoma 16, que parecen ser una alteración frecuente en el cáncer de próstata y que se asocia a una expresión disminuida y función alterada en las E-caherinas, lo cual contribuiría al potencial metastásico del tumor.⁶¹

Teniendo en cuenta las revisiones previas de la literatura, se ha podido identificar un posible patrón citogenético de mal pronóstico que estaría representado por la presencia de aneuploidía y/o aneusomía del cromosoma 7, la existencia aneusomías que afecten a más de un cromosoma y la presencia de poblaciones celulares hipertetrasómicas.⁶²

Alteraciones moleculares en el cáncer de próstata

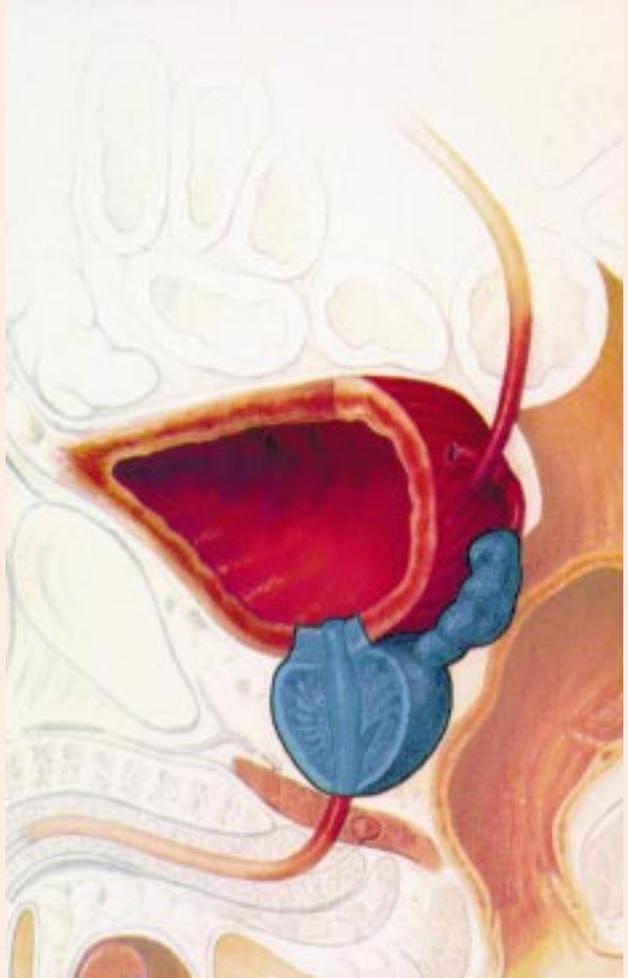
De forma simplista podríamos explicar la oncogénesis como un fallo en el control el ciclo celular (Fig. 6). La célula es estimulada a su proliferación a través de una serie de proteínas (reguladas por protooncogenes). Estos protooncogenes pueden sufrir alteraciones convirtiéndose en oncogenes que dan lugar a proteínas anómalas con función alterada que llevan a un estímulo proliferativo constante de la célula. No obstante, la célula tiene una serie de mecanismos defensivos previstos. Ante cualquier alteración en el genoma, el ciclo celular es detenido en alguno de los diferentes puntos de control que existen, mediante la acción de los llamados genes supresores, de manera que bien se repara dicha alteración o bien se induce a la célula a su muerte mediante el proceso de apoptosis. Las alteraciones de estos oncogenes y genes supresores

Al contrario de los tumores hematológicos, en los tumores sólidos no parecen jugar un papel muy destacado en el inicio de la tumorigénesis, por contra de lo que ocurre en los genes supresores. No obstante, en fases más evolucionadas, probablemente a consecuencia de la inestabilidad genética que se instaura es frecuente encontrar alteraciones de expresión de estas oncoproteínas que con frecuencia tienen implicaciones pronósticas. En concreto en el cáncer de próstata relacionadas con su hormonorresistencia.

1.9.4.3.1.1. Expresión de bcl-2

La sobreexpresión de bcl-2 actúa a través de la inhibición de la apoptosis (Fig. 5) con lo que se incrementa la supervivencia de la célula que a su vez le permite acumular mayor número de alteraciones genéticas, desempeñando un papel importante tanto en la iniciación como en la progresión del cáncer de próstata ⁶³. La sobreexpresión de bcl-2 permitiría la supervivencia de las células en un medio con privación hormonal androgénica, confiriendo por tanto hormonorresistencia y mal pronóstico. A diferencia de otros oncogenes, se encuentra expresado hasta en el 100% de células de PIN de alto grado y en el 60% aproximadamente de los cánceres de próstata ⁶³. Es habitual la valoración de bcl-2 con el gen bax, ya que ambos mantienen una relación inversa en la balanza que hace entrar a la célula en apoptosis (bax) o evitar la misma (bcl-2). De esta forma una relación bcl-2/bax elevada se ha correlacionado con radiorresistencia en el cáncer localizado de próstata.

Alteraciones genéticas en el cáncer de próstata



Expresión de factores de crecimiento: factor de crecimiento epidérmico (EGF)

Los factores de crecimiento son una familia de péptidos y oncoproteínas asociadas que actúan a través del mismo receptor, una glicoproteína transmembrana y una tirosin-kinasa, entre los que se incluyen el EGF (factor de crecimiento epidérmico), el TGF-, p160 erb-3 y el p185 erb-2. En cuanto al papel del EGF existen resultados contradictorios ⁶⁴, aunque parece que su producción está aumentada en el cáncer de próstata ⁶⁵. El TGF-, es sintetizado por las células cancerosas y fundamentalmente por aquellos cánceres en un estadio avanzado ^{66,67}, no existiendo o siendo despreciable la producción por células benignas, hiperplásicas o de PIN.^{66, 67}

La sobreexpresión de p160 erb-3 y el p185 erb-2 refleja una actividad proliferativa celular aumentada. El gen c-erbB-2 (HER-2/neu), codifica para la proteína p185 erb-2 y está implicado en la adquisición del fenotipo celular y el crecimiento tumoral ^{68, 69}, y su expresión es un factor pronóstico potencialmente útil, de forma que su sobreexpresión ha sido encontrada como factor predictivo independiente de mal pronóstico ^{70,71}, describiéndose una correlación positiva entre la expresión de c-erb-2 y el grado, aneuploidía del ADN y la presencia de metástasis ⁷². Sin embargo existen también resultados contradictorios sobre el papel del c-erb-2.⁷³⁻⁷⁵

Expresión de H-ras p21

La sobreexpresión de la proteína del gen H-ras p21, que actuaría potenciando la inestabilidad genética de las células tumorales, está presente en tumores con una alta capacidad

Alteraciones genéticas en el cáncer de próstata

metastásica ^{76, 77}, por lo que su detección tendría valor pronóstico, a pesar de que sólo se encuentre sobreexpresada en fases avanzadas de la enfermedad, ya que facilita la diferenciación hacia la independencia androgénica.^{78, 79}

Otras alteraciones moleculares en protooncogenes

Entre otros parámetros a nivel molecular con implicación pronóstica encontramos la expresión de catepsinas (catepsina D y B), enzimas que degradan la matriz celular, y que son marcadores de invasión y metástasis ^{80,83}, no sólo en el cáncer de próstata sino también en otros órganos.⁸⁰

El factor de crecimiento hepatocitario (scatter factor) y su receptor, el producto de la expresión del protooncogen c-met, están sobreexpresados tanto en la Neoplasia Intraepitelial Prostática (PIN) como en el carcinoma de próstata, pero alcanza el máximo nivel de sobreexpresión, hasta en el 90% de los casos, en el carcinoma metastásico andrógeno-independiente.^{84, 85}

Los andrógenos necesitan de un receptor para llevar a cabo su acción, y dicho receptor se encuentra a su vez codificado por un gen específico ^{86, 87}, el gen del receptor de los andrógenos, por lo que las mutaciones en este gen, que han sido detectadas hasta en el 50% de los cánceres de próstata metastásicos, sugieren el valor pronóstico del mismo, a través del potencial de crecimiento de las células tumorales independiente a la supresión androgénica.⁸⁸

Papel de la inactivación de los genes supresores de tumor

La existencia de los genes supresores quedó hace tiempo

demostrada al conseguirse la supresión del fenotipo tumoral en las células híbridas resultantes de la fusión de células tumorales con células normales. Estos resultados apoyaron el concepto de la presencia de genes inhibidores del crecimiento y que se han dado a conocer como genes supresores. Habitualmente, su pérdida de función, que acarrearía una falta de control inhibitorio sobre la proliferación celular, viene determinada por la pérdida de ambas copias del gen, algo que describió Knudson y se conoce como teoría del "doble suceso".

Han sido descritos múltiples tumores supresores. Sin duda entre ellos hay que destacar p53 y Retinoblastoma (Rb). Por supuesto han sido estudiados la mayoría de los genes supresores conocidos en las células de cáncer de próstata, tanto para estudiar su implicación en la oncogénesis como para evaluar su potencial valor pronóstico. No obstante, los resultados no han sido los esperados y su trascendencia escasa. Sin embargo, es conocido que existen otros genes supresores en el genoma cuya proteína es desconocida y que podrían ser de importancia en el cáncer de próstata. Los genes supresores pierden su acción al lesionarse ambas copias alélicas habitualmente una por delección y la segunda mediante una mutación. Es por ello que en la búsqueda de nuevos genes supresores han sido rastreados entre otros los cromosomas 7 y 8 (cromosomas que albergan las alteraciones numéricas más frecuentes), con el objetivo de observar delecciones. Dichas investigaciones han resultado en la detección de zonas cromosómicas frecuentemente perdidas en estos cromosomas, concretamente las regiones 7p31, 8q12 y 8q22. Estas regiones son asiento de genes supresores de interés en el cáncer de próstata, tanto en su iniciación como en la progresión. Vamos a revisar lo más interesante de lo que conocemos de los genes supresores

Alteraciones genéticas en el cáncer de próstata

conocidos.

HPC-1 (Gen del Cáncer de próstata hereditario-1)

Se estima que aproximadamente un 5% de los cánceres de próstata se transmiten de forma hereditaria a través de un defecto en el gen HPC-1. No existe acuerdo en las diferencias clínicas entre estos tumores hereditarios y los que no lo son, salvo en su edad de presentación más temprana. Este gen se encuentra en el cromosoma 1 (1q24-25).

Gen de p53

El gen del p53 y su proteína resultante desempeñan un papel crítico en el control del ciclo celular, controlando el crecimiento y la diferenciación celular⁸⁹. Sin embargo, en el cáncer de próstata las mutaciones del gen supresor del p53 son infrecuentes y aparentemente estarían implicadas en estadios tardíos, mostrando niveles de sobreexpresión en aquellos casos de alto grado metastásico⁹⁰⁻⁹⁴. No tendría valor para poder discernir entre aquellos tumores agresivos de los que van a permanecer prácticamente latentes durante largos períodos al tratarse de un fenómeno tardío. Es más bien un cambio secundario a la inestabilidad genética que se instaura en los tumores sólidos evolucionados.

Gen del Retinoblastoma

El gen Rb es el efector de la parada del ciclo celular p53-dependiente). Al igual que ocurre con p53, que es de una importancia vital en otras neoplasias, como por ejemplo la de vejiga, su falta de expresión parece no tener implicaciones pronósticas en el cáncer de próstata⁹⁵, a

pesar de que se ha encontrado un 27% de pérdidas de heterocigosidad en dicho gen.⁹⁶

Gen p27

A pesar de que no está demostrado que sea un gen supresor ejerce su acción inhibiendo la progresión en el ciclo celular al actuar sobre el complejo CDK2-ciclina E. La falta de expresión de la proteína p27 ha demostrado implicaciones pronósticas en neoplasias como la de colon y estómago. En el cáncer de próstata su papel pronóstico sigue en discusión, no así su papel en las fases iniciales de la oncogénesis, tal y como demuestra su falta de expresión en la mayoría de lesiones de PIN de alto grado en las que ha sido estudiada.

Otros genes supresores

Entre otros de los genes implicados en la tumorigénesis, se encuentran el nm23 (nm23-H1 y nm23-H2) que tienen valor pronóstico sobre el comportamiento metastásico en el cáncer de próstata.⁹⁷ El gen KAI-1, localizado a nivel de la región cromosómica 11p11.2, es idéntico a los genes que codifican las glicoproteínas de superficie de los leucocitos (CD9, CD37, CD53, CD63). La expresión disminuida de este gen estaría involucrada como marcador de progresión metastásica en el cáncer de próstata.⁹⁸

Resumen

Las alteraciones genéticas en los tumores sólidos, y por consiguiente, en el cáncer de próstata, suelen ser múltiples y es difícil conocer cuáles de ellas son de importancia etiopatogénica y cuáles simples epifenómenos consecuencia de la inestabilidad genética que se instaura en tumores evolucionados. No obstante, existen una serie de hechos irrefutables.

Alteraciones genéticas en el cáncer de próstata

En primer lugar los tumores de próstata con suficientes alteraciones en su genoma para poder ser detectados como aneuploides mediante flujometría son de peor pronóstico que los diploides. Es más, si el patrón citométrico muestra varias poblaciones celulares aneuploides el pronóstico es peor. A la hora de establecer qué alteraciones cromosómicas son las que contribuyen a este patrón aneuploide, observamos que las alteraciones numéricas de los cromosomas 7 y 8 son prácticamente constantes y que se encuentran desde la lesión de Neoplasia Intraepitelial Prostática (PIN) hasta las metástasis linfáticas de cáncer de próstata. Sin duda regiones de estos cromosomas deben albergar genes implicados en el inicio y progresión del cáncer de próstata.

Es conocido que en los tumores sólidos, al contrario de los hematológicos, los genes supresores tienen un papel de relevancia. El estudio de los genes supresores conocidos tanto en localización, estructura como función (p53, Rb, etc) han aportado poco al conocimiento de la oncogénesis y progresión tumoral prostática. Sin embargo, estudios de restricción de fragmentos polimórficos han señalado las regiones cromosómicas 7p31, 8q12 y 8q22 como de gran importancia en el cáncer de próstata. Posiblemente los cambios en oncogenes tales como el bcl-2 y HAR sean tardíos pero de gran trascendencia a la hora de determinar la hormonoresistencia de estos tumores.

Referencias

1. Slamon DJ.: Proto-oncogenes and human cancers. *N. Eng. J. Med.*, 317:955,1987.
2. Strohmeyer, TG., Slamon DJ.: Proto-oncogenes and tumor supressor genes in human urological malignancies. *J. Urol.*, 151: 1479, 1994.
3. Solé-Balcells F., Chéchile G., Algaba F., Villavivencio H., Cerdón-Cardo C.: *Biología molecular de los tumores urológicos*. ENE ediciones. Madrid, 1995.
4. Shankey TV., Kalliomeni OP., Koslowski JM., Lieber MM., Mayall BH., Miller G.: Consensus review of the clinical utility of DNA content cytometry in prostate cancer. *Cytometry*, 14:497-500, 1993.
5. Deitch AD., Strand MA., White RW.: Desoxirribonucleic acid flowcytometry of benign prostatic disease. *J. Urol.*, 142:759-762, 1989.
6. Fuhr JE., Frye A., Kattine AA., van Meter S.: Flow cytometric determination of breast tumour heterogeneity. *Cancer*, 67:1401-1405, 1991.
7. Breitkreutz T., Romanakis K., Lutz S., Seitz G., Bonkoff H.: Genotypic characterization of prostatic carcinomas: a combined cytogenetic, flowcytometric and in situ DNA hybridization study. *Cancer Res.*, 53:4035, 1993.
8. Micale MA., Sanford JS., Powell IJ, Sakr WA.: Defining the extent and nature of cytogenetic events in prostatic adenocarcinoma: paraffin FISH vs. metaphase analysis. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 69:7, 1993.
9. Pinkel D., Straume T., Gray JW.: Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 83: 2934, 1986.

Referencias

10. Brothman AR., Patel AM., Peehl DM., and Schellhammer PF.: Analysis of prostatic cultures using fluorescence in situ hybridization. *Cancer Gen. Cytogenet.*, 62:180, 1992.
11. Henke RP., Kruguer E., Ayan D.: Numerical chromosomal aberrations in prostate cancer: correlation with morphology and cell kinetics. *Virchows Arch. Path. Anat.*, 422:61, 1993.
12. Persons DL, Gibney DJ., Katzmann JA., Lieber MM., Farrow GM., and Jenkins RB.: Use of fluorescent in situ hybridization for deoxyribonucleic acid ploidy analysis of prostatic adenocarcinoma. *J. Urol.*, 150:120, 1993.
13. Kallioniemi OP., Kallioniemi D., Rutovitz D., Sudar D., Rotovitz D., Gray JW., Waldeman F., Pinkel D. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science*, 258:818-821, 1992.
14. Schrock E., du Manoir S., Veldman T., Schoell B., Wienberg J., Ferguson-Smith MA., Ning Y., Ledbetter DH., Bar-Am I., Soenksen D., Garini Y., Ried T. Multicolor spectral karyotyping of human chromosomes. *Science*, 273:494-497, 1996.
15. Lundberg S., Carstensen J., Rundquist I.: DNA flowcytometry and histopathological grading of paraffin-embedded prostate biopsy specimens in a survival study. *Cancer Res.*, 47, 1973-1977, 1987.
16. Ronstrom LTB., Esposti PL.: DNA pattern and cytological findings in fine needle aspirates of untreated prostatic tumors. A flow cytometric study. *Prostate*, 2:79-82, 1981.
17. Bichel P., Frederiksen P., Kgaert T., Thommesen P., Vindeler L.: Flow microfluorometry and transrectal fine-needle biopsy in the classification of human prostatic carcinoma. *Cancer*, 40:1206-1211, 1977.

Referencias

18. Nativ O., Myers R., Farrow G., Thernean T., Zincke M., Lieber MM.: Nuclear deoxyribonucleic acid ploidy and serum prostate specific antigen in operable prostatic adenocarcinoma. *J. Urol.*, 144: 303-308, 1990.
19. Zincke H., Bergstralth EJ., Larson-Keller JJ., et al.: Stage D1 prostate cancer treated by radical prostatectomy and adjuvant hormonal treatment. *Cancer*, 70:311-323, 1992.
20. Borre M., Hoyer M., Nerstrom B., Overgaard J.: DNA ploidy and survival of patients with clinically localized prostate cancer treated without intent to cure. *The Prostate*, 36:244-249, 1998.
21. Adolfson J.: Prognostic value of deoxyribonucleic acid content in prostatic cancer. A review of current results. *Int. J. Cancer*; 58:211-216, 1994.
22. Carmichael MJ., Veltri RW., Partin AW., Miller MC., Walsh PC., Epstein JL.: Deoxyribonucleic acid ploidy analysis as a predictor of recurrence following radical prostatectomy for stage T2 disease.: *J. Urol.*, 153:1015-1019, 1995.
23. Adolfson J., Rönstrom L., Hedlund P-O, Löwhagen T., Carstensen J., Tribukait B.: The prognostic value of modal deoxyribonucleic acid in low grade , low stage untreated prostate cancer. *J. Urol.*, 144:1404-1407, 1990.
24. Badalament RA., O'Toole RV., Young DC., Drago JR.: DNA ploidy and prostate specific antigen as prognostic factors in clinically resectable prostate cancer. *Cancer*, 67:3014-3023, 1991.
25. Nielsen K., Overgaard J., Bentzen SM., Bruun E.: Histological grade, DNA ploidy and mean nuclear volume as prognostic factors in prostatic cancer.: *APMIS*, 101:614-620, 1993.

Referencias

26. Dyer K., Meyne J.: Molecular cytogenetics: use of DNA probes as an adjunct to classical clinical cytogenetics. Chapter 12. The ACT Cytogenetics Laboratory Manual, ed. Barch MJ. The Association Of Cytogenetics Technologists, 1991. Raven Press, Ltd., New York.
27. Brothman AR., Zhu XL., Maxwell T., Cui J., Deubler DA.: Advances in cytogenetics of prostate cancer. The Journal of the Association of Genetic Technologists, 25:1-6, 1999.
28. Peehl DM.: Serial culture of adult human prostatic epithelial cells. J. Tissue Culture Methods, 9:53-60, 1985.
29. Henke RP., Krüger E., Ayhan N., Hübner D., Hammerer P.: Numeric chromosomal aberrations in prostate cancer: correlation with morphology and cell kinetics. Virchows Archiv. A. Pathol. Anat., 422:61-66, 1993.
30. Lundgren R., Heim S., Mandhal N., Anderson H., Mitelman F.: Chromosome abnormalities are associated with unfavorable outcome in prostatic cancer patients. J. Urol., 147:784-788, 1992.
31. Macoska JA., Micale MA., Sakr WA., Benson PD., Wolman SR.: Extensive genetic alterations in prostate cancer revealed by dual PCR and FISH analysis. Genes Chromosomes and Cancer, 8:88-97, 1993.
32. Bandyk M., Zhao LC., Troncso P., Pisters LL.: Trisomy 7: a potential cytogenetic marker of human prostate cancer progression. Genes Chromosomes Cancer, 9:19-27, 1994.
33. Brown JA., Alcaraz A., Takahashi S., Persons D., Lieber MM., Jenkins RB.: Chromosomal aneusomies detected by fluorescent in situ hybridization in clinically localized prostate cancer. J. Urol., 152:1157-1162, 1994.

Referencias

34. Takahashi S., Qian J., Brown JA., Alcaraz A., Bostwick DG., Lieber MM., Jenkins RB.: Potential markers of prostate cancer aggressiveness detected by fluorescent in situ hybridization in needle biopsies. *Cancer Res.*, 54:3574-3579, 1994.
35. Huang H., Qian C., Jenkins RB., Smith DI.: FISH mapping of YAC clones at human chromosomal band 7q31.2: identification of YACS spanning FRA7G within the common region of LOH in breast and prostate cancer. *Genes Chromosomes Cancer*, 1998.
36. Hayward-Lester A., Oefner PJ., Sabatini S., Doris PA.: Accurate and absolute quantitative measurement of gene expression by single-tube RT-PCR and HPLC. *Genome Res.*, 5:494-499, 1995.
37. Schimdt L., Duh FM., Chen F., Kishida T., Glenn G., Choyke P., Scherer SW., Zhuang Z., Lubensky I., Dean M., Allikmets R., Chidambaram A., Bergerheim UR., Feltis JT., Casadevall C., Zamarron A., Orcutt ML., Stackhouse T., Lipan J., Slife L., Brauch H., Decker J., Niehans G., Hughson MD., Moch M., Storkel S., Lerman MI., Linehan WM., Zbar B.: Germline and somatic mutations in the tyrosine kinase domain of the MET protooncogene in papillary renal carcinomas. *Nat. Genet.*, 16:68-73, 1997.
38. Zenklusen JC., Thompson JC., Klein-Szanto AJP., Conti CJ.: Frequent loss of heterozygosity in human primary squamous cell and colon carcinomas at 7q31.1: evidence of a broad range tumor suppressor gene. *Cancer Res.*, 55:1347-1350, 1995.
39. Zenklusen JC., Thompson JC., Troncoso P., Kagan J., Conti CJ.: Loss of heterozygosity in human primary prostate carcinomas: a possible tumor suppressor gene at 7q31.1. *cancer res.*, 54:6370-6373, 1994.

Referencias

40. Latil A, Cussenot O, Fournier G, Baron JC, Liderau R.: Loss of heterozygosity at 7q31.1 is a frequent and early event in prostate cancer. *Clin. Cancer Res.*, 1385-1389, 1995.
41. Takahashi S., Shan AL, Ritland SR., Delacey KA., Bostwick DG., Lieber MM.: Frequent loss of heterozygosity at 7q31.1 in primary prostate cancer is associated with tumor aggressiveness and progression. *Cancer Res.*, 55:5115-5119, 1995.
42. Jenkins RB., Qian J., Lee HK., Hirasawa K., Bostwick DG., Proffitt J., Wilber K., Lieber MM., Liu W., Smith D.: A molecular cytogenetic analysis of 7q31 in prostate cancer. *Cancer Res.*, 58:759-766, 1998.
43. Takahashi S., Alcaraz A., Brown JA., Borell J., Herath JF., Bergstralh EJ., Lieber MM., Jenkins RB.: Aneuploidies of chromosome 8 and Y detected by fluorescent in situ hybridization are prognostic markers for pathological stage C (pT3 N0 M0) prostate carcinoma. *Clin. Cancer Res.*, 2:137-145, 1996.
44. Emi M., Fujiwara Y., Nakajima T., Tsuchiya E., Tsuda H., Hirohashi S., Maeda Y., Tsuruta K., Miyaki M., Nakamura Y.: Frequent loss of heterozygosity for loci on chromosome 8p in hepatocellular carcinoma, colorectal cancer and lung cancer. *Cancer Res.*, 52:5368-5372.
45. Fujiwara Y., Emi M., Ohata H., Kato Y., Nakajima T., Mori T., Nakamura Y.: Evidence for the presence of two tumor suppressor genes on chromosome 8 for colorectal carcinoma. *Cancer Res.*, 53:1172-1174, 1993.

Referencias

46. Bova GS., Carter BS., Bussemakers MJG., Emi M., Fujiwara Y., Kyprianou N., Jacobs SC., Robinson JC., Epstein JI., Walsh PC., Isaacs WB.: Homozygous deletion and frequent allelic loss of chromosome 8p22 loci in human prostate cancer. *Cancer Res.*, 53:3869-3873, 1993.
47. Macoska JA., Trybus TM., Sakr WA., Wolf MC., Benson PD., Powell IJ., Pontes JE.: Fluorescent in situ analysis of 8p allelic loss and chromosome 8 instability in human prostate cancer. *Cancer Res.*, 54:3824-3830, 1994.
48. Matsuyama H., Pan Y., Skoog L., Tribukait B., Naito K., Ekman P., Lichter P., Bergerheim US.: Deletion mapping of chromosome 8 in prostate cancer by fluorescent in situ analysis. *Oncogene*, 9:3071-3076, 1994.
49. Van Den Berg C., Guan X., von Hoff D., Jenkins RB., Bittner M., Griffin C., Kalliomeni O., Visarkopi T., Epstein JI.: DNA sequence amplification in human prostate cancer identified by chromosome microdissection: potential prognostic implications. *Clin. Cancer Res.*, 1:11-18, 1995.
50. Sandberg AA.: Chromosome abnormalities and related events in prostate cancer. *Human Pathol.*, 23: 368-380, 1992.
51. Heim S.: Cytogenetics in the investigations of hematological disorders. *Bailleres Clin. Hematol.*, 3:921-948, 1990.
52. Walter TA., Berger CS. And Sandberg.: The cytogenetics of renal tumors. Where do we stand, where do we go ?. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 43: 15-34, 1989.
53. Kovacs G and Frisch S. Clonal chromosome abnormalities in tumor cells from patients with sporadic renal cell carcinomas. *Cancer Res.*, 49: 651-659, 1989.

Referencias

54. Gburek BM., Kollmorgen TA., Qian J., D'Souza S., Lieber MM., Jenkins RB.: Chromosomal anomalies in stage D1 prostate adenocarcinoma primary tumors and lymph node metastases detected by fluorescent in situ hybridization. *J. Urol.*, 157:223-227, 1997.
55. Arps S., Rodewald A., Schmalenberger B., Carl P., Bressel M and Kastendiek H.: Cytogenetic survey of 32 prostate cancers of the prostate. *Cancer Genet. And Cytogenet.*, 66:93-99, 1993.
56. Carter BS., Ewing CM., Ward WS., Treiger BF., Aalders TW., Schalken JA., Epstein JI and Isaacs WB. Allelic loss of chromosomes 16q and 10q in human prostate cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 87:8751-8755, 1990.
57. Bergerheim USR, Kunimi K., Collins VP., and Ekman P.: Deletion mapping of chromosomes 8, 10 and 16 in human prostatic carcinoma. *Genes Chromosomes and Cancer*, 3:215- 220, 1991.
58. Philips SMA., Morton DG., Lee SJ., Wallace DMA. And Neoptolemos JP.: Loss of heterozygosity of the retinoblastoma and adenomatous polyposis susceptibility gene loci in chromosomes 10p, 10q and 16q in human prostate cancer. *Br. J. Urol.*, 73: 390-395, 1994.
59. Trybus T., Burgess AC., Wojno KJ., Glover TW., Macoska JA.: Distinct areas of allelic loss on chromosomal regions 10p and 10q in human prostate cancer. *Cancer Res.*, 56:2263-2267, 1996.
60. Luu HH., Zagaja GP., Dubauskas Z., Chen SL., Smith RC., Watabe K., Ichikawa Y., Ichikawa T., Davis EM., Le Beau MM., Rinker-Schaeffer CW.: Identification of a novel metastasis-suppressor region on human chromosome 12. *Cancer Res.*, 58(16):3561-3565, 1998.

Referencias

61. Pan Y., Matsuyama H., Wang N., Yoshihiro S., Häggath L., Li C., Tribukait B., Ekman P. And Bergerheim USR.: Chromosome 16q24 deletion and decreased E-cadherine expression: possible association with metastatic potential in prostate cancer. *The prostate*, 36:31-38, 1998.
62. Alcaraz A., Takahashi S., Brown JA., Herath JF., Bergstralh EJ., Larson-Keller JJ., Lieber MM., Jenkins RB.: Aneuploidy and aneusomy of chromosome 7 detected by fluoresecent in situ hybridization are markers of poor prognosis in prostate cancer. *Cancer Res.*, 54:3998-4002, 1994.
63. Colombel M., Symmans F., Gil S.: Detection of the apoptosis suppressing oncoprotein bcl-2 in hormone refractory human prostate cancers. *Am. J. Pathol.*, 143: 390-499, 1993.
64. Myers RB., Kudlow JE., Grizzle WE.: Expression of transforming groeth factor-alpha, epidermal growth factor and the epidermal growth factor receptor in adenocarcinoma of the prostate and bening prostatic hyperplasia. *Mod. Pathol.*, 6:733-737, 1993.
65. Davis P., Eaton CL.: Binding of epidermal growth factor by human normal, hypertrophic and carcinomatous prostate. *Prostate*, 14:123-132, 1989.
66. Myers RB., Lampejo O., Herrera GA., Srivastava S., Oelschlager D., Brown DA., Waterbor JW., Grizzle WE: TGF-alpha expression is a relatively late event in the progression of prostatic adenocarcinoma. *J. Urol. Pathol.*, 3:195-204, 1995.
67. Harper ME., Goddard L., Glyne-Jones E., Wilson DW., Price-Thomas M., Peeling WB., Griffiths K.: An inmunocytochemical analysis of TGF-alpha expression in a benign and malignant prostatic tumors. *Prostate*, 23:9-23, 1993.

Referencias

68. Zhou HE., Wan DS., Zhou J., et al.: Expression of c-erb-2/neu proto-oncogen in human prostatic cancer tissue and cell lines. *Mol. Carcinog.*, 5::320-327, 1992.
69. Sikes RA., Chung LWK.: Acquisition of a tumorigenic phenotype by a rat ventral prostate epithelial cell line expressing a transfected activated neu oncogene. *Cancer Res.*,52:3174-3178, 1992.
70. Sadasivan R., Morgan R., Jennings S., et al.: Over expression of HER2/neu maybe an indicator of poor prognosis in prostate cancer. *J. Urol.*, 150:126-131, 1993.
71. Veltri RW., Partin AW., Epstein JI., Marley GM., Miller CM., Singer DS., Patton KP., Criley SR., Coffey DS.: Quantitative nuclear morphometry, Markovian texture descriptors, and DNA content captured on a CAS-200 image analysis system, combined with PCNA and HER-2/neu immunohistochemistry for prediction of prostate cancer progression. *J. Cell Biochem.*, 19(suppl.):249-258, 1994.
72. Ross JS., Nazeer T., Church K., et al.: Contribution of HER-2/neu oncogene expression to tumor grade and DNA content analysis in the prediction of prostatic carcinoma metastasis. *Cancer*, 72:3020-3028, 1993.
73. Grizzle WE., Myers RB., Arnold MM., Srivastava S.: Evaluation of biomarkers in breast and prostate cancer. *J. Cell Biochem.*, 19(suppl.):259-266, 1994.
74. Mellon K., Thompson S., Charlton RG, et al.: p53, c-erb-2 and the epidermal growth factor receptor in the benign and malignant prostate. *J. Urol.*, 147:496-499, 1992.
75. Giri DK., Wadha SN., Upadhaya SN., et al.: Expression of neu/HER-2 oncoprotein (p185 neu) in prostate tumors: an immunohistochemical study. *Prostate*, 23:329-336, 1993.

Referencias

76. Bos JL.: ras oncogenes in human cancer: a review. *Cancer Res.*, 49:4682-4689, 1989.
77. Treiger B., Isaacs JT.: Expression of a transfected v-Harvey-ras oncogene in a Dunning rat prostate adenocarcinoma and the development of high metastatic ability. *J. Urol.*, 140:1580-1586, 1988.
78. Cooke DB., Quarmby VE., Mickey DD., Isaacs JT., French FS.: Oncogene expression in prostate cancer: Dunning R3327 rat dorsal prostatic adenocarcinoma system. *Prostate*, 13:263-272, 1988.
79. Bussemakers MJG., Isaacs JT., Debruyne FMJ., Van de Ven WJM., Schalken JA.: oncogen expression in prostate cancer. *Eorld J. Urol.*, 9:58-63, 1991.
80. Ross JS., Nazeer T., Figge HL., Fischer HAG., Rifkin MD.: Quantitative inmunohistochemical determination of cathepsin D levels in prostatic carcinoma biopsies. Correlation with tumor grade, stage, PSA levels and DNA ploidy status. *Am. J. Cli. Pathol.*, 104:36-41, 1995.
81. Maygarden SJ., Novotny DB., Moul JW., Bae VL., Ware JL.: Evaluation of cathepsin D and epidermal growth factor receptor in prostate carcinoma. *Mod. Pathol.*, 7:930-936, 1994.
82. Makar R., Mason A., Kittelson JM., Bowden GT., Cress AE., Nagle RB.: Inmunohistochemical analysis of cathepsin D in prostate carcinoma. *Mod. Pathol.* 7:747-751, 1994.
83. Sinha AA., Wilson MJ., Gleason DF., Reddy PK., Sameni M., Sloane BF.: Inmunohistochemical location of cathepsin B in neoplastic human prostate. *Prostate*, 26:171-178, 1995.

Referencias

84. Pisters LL, Troncoso P, Zhau HE, Li W, von Eschembach AC, Chung LWK.: C-met protooncogen expression in benign and malignant human prostate tissues. *J. Urol.*, 154:293-298, 1995.
85. Humphrey PA, Zhu X, Zarnegar R, Swanson PE, Ratcliff TL, Vollmer RT, Day ML.: Hepatocyte growth factor and its receptor (c-MET) in prostatic carcinoma. *Am. J. Pathol.*, 147:386-396, 1995.
86. Van der Kwast TH, Ruizeveld de Winter JA, Trapman J.: Androgen receptor expression in human prostate cancer. *J. Urol. Pathol.*, 3:200-222, 1995.
87. Ruizeveld de Winter JA, Janssen PJA, Sleddens HMAB, et al.: Androgen receptor status in localized and progressive hormone refractory human prostate cancer. *Am. J. Pathol.*, 144:735-746, 1994.
88. Taplin ME, Bublely GJ, Shuster TD, Frantz ME, Spooner AE, Ogata GK, Keer HN, Balk SP.: Mutation of the androgen receptor gene in metastatic androgen independent prostate cancer. *N. Eng. J. Med.*, 332:1393-1398, 1995.
89. Btsakis JG., El-Naggar AK.: p53: fifteen years after discovery. *Adv. Anat. Pathol.*, 2:71-88, 1995.
90. Bookstein R, Mac Grogan D, Hilenbeck SG, et al.: p53 is mutated in a subset of advanced-stage prostate cancers. *Cancer Res.*, 53:2269-3373, 1993.
91. Effert Pj, McCoy RH, Walther PJ, et al.: p53 gene alterations in human prostate carcinoma. *J. Urol.*, 150:257-261, 1993.

Referencias

92. Kubota Y, Shuin T, Fujinami K, Miyamoto H, Torigoe S, Dobashi Y, Kitamura H, Iwasaki Y, Danenberg K, Danenberg PV.: Tumor suppressor gene p53 mutations in human prostate cancer. *Prostate*, 27:18-24, 1995.
93. Fan K, Dao DD., Schutz M., Fink LM.: Loss of heterozygosity and overexpression of p53 gene in human primary prostatic adenocarcinoma. *Diagn. Mol. Pathol.*, 3:265-270, 1994.
94. Hall MC, Navone NM., Troncoso P., Pollack A., Zagars GK., von Eschembach AC., Conti CJ., Chung LWK.: Frequency and characterization of p53 mutations in clinically localized prostate cancer. *Urology*, 45:470-475, 1995.
95. Sarkar FH., Sakr W., Li YW., et al.: Analysis of retinoblastoma (Rb) gene deletion in human prostatic carcinomas. *Prostate*, 21:145-152, 1992.
96. Brooks JD., Bova GS., Isaacs WB.: Allelic loss of the retinoblastoma gene in primary human prostatic adenocarcinoma. *Prostate*, 26:35-39, 1995.
97. Igawa M., Rukstalis DB., Tanabe T., Chodak GW.: High levels of nm23 expression are related to cell proliferation in human prostate cancer. *Cancer Res.*, 54:1313-1318, 1994.
98. Dong JT., Lamb PW., Rinker-Schaeffer CW., Vukanovic J., Ichikawa T., Isaacs JT., Barrett JC.: KAI-1, a metastasis suppressor gene for prostate cancer on human chromosome 11p11.2. *Science*, 268:884-886, 1995.