

REVISIÓN

Biomarcadores de pronóstico en pacientes con cáncer de próstata localizado



Natalia Acosta^{a,*}, Rodolfo Varela^{b,c}, Jorge Andrés Mesa^d,
Martha Lucía Serrano López^{a,e}, Alba Lucía Cómbita^{a,f} y María Carolina Sanabria-Salas^a

^a Grupo de Investigación en Biología del Cáncer, Subdirección General de Investigaciones, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá D. C., Colombia

^b Clínica de Urología, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá D. C., Colombia

^c Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D. C., Colombia

^d Grupo de Patología Oncológica, Subdirección General de Atención Médica y Docencia, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá D. C., Colombia

^e Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D. C., Colombia

^f Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D. C., Colombia

Recibido el 21 de diciembre de 2015; aceptado el 8 de julio de 2016

Disponible en Internet el 30 de noviembre de 2016

PALABRAS CLAVE

Neoplasias de la
próstata;
Marcadores
biológicos;
Pronóstico

Resumen El tratamiento para cáncer de próstata localizado (prostatectomía radical o radioterapia) ofrece unas altas tasas de curación; sin embargo, del 20 al 30% de los casos desarrollan recurrencia bioquímica. Actualmente, existen factores clínicos y patológicos que ayudan a predecir recurrencia; no obstante tanto el carácter heterogéneo de estos tumores, las diferencias en los tiempos de progresión de cáncer localizado a metastásico como la resistencia al tratamiento han dado lugar a imprecisiones en la predicción del pronóstico y a tratamientos insuficientes o excesivos. Debido a esto se han estudiado biomarcadores con el fin de estratificar más acertadamente el riesgo y mejorar las decisiones de tratamiento de una manera adecuada y oportuna. Este manuscrito presenta una revisión de marcadores moleculares de pronóstico que se han propuesto en los pacientes con cáncer de próstata localizado, lo que podría permitir establecer con mayor precisión el riesgo de recurrencia de la enfermedad.
© 2016 Instituto Nacional de Cancerología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: nlacosta@cancer.gov.co (N. Acosta).

KEYWORDS

Prostatic neoplasms;
Biological markers;
Prognosis

Prognostic biomarkers in patients with localised prostate cancer

Abstract Treatment for localised prostate cancer (radical prostatectomy or radiotherapy), offers high cure rates; nevertheless, 20% to 30% of the cases develop biochemical recurrence. There are clinical and pathological features that are currently being used to predict recurrence of the disease. However, tumour heterogeneity in prostate cancer, along with differences in time of progression to metastasis and treatment resistance, have led to inaccuracies in predicting the risk of biochemical relapse, and therefore, misleading in treatment decisions. Because of this, many genetic markers have been studied in order to refine risk stratification and improve treatment decisions in a suitable and opportune manner. This paper presents a review of molecular prognostic markers that have been proposed in patients with localised prostate cancer, which potentially could allow establishing the risk of recurrence of the disease more accurately. © 2016 Instituto Nacional de Cancerología. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

A nivel mundial el cáncer de próstata (PC, por sus siglas en inglés) es el segundo cáncer más incidente y la quinta causa de muerte por cáncer en hombres¹. En Colombia, es el tipo de cáncer más incidente con cerca de 9.000 casos nuevos al año por cada 100.000 habitantes, que ocasionan 2.400 muertes, y lo constituye en la segunda causa de mortalidad por cáncer en hombres².

A partir de la implementación de la prueba del antígeno prostático específico (PSA, por sus siglas en inglés), aprobada en 1994 como prueba de tamización, se registró un aumento en el número de casos con PC, principalmente en estadios tempranos^{3,4}. Algunos de estos casos corresponden a enfermedad latente, y deben estar sujetos a seguimiento para detectar una posible progresión; mientras que otros casos son sometidos a tratamientos con intención curativa, como prostatectomía radical (PR) o radioterapia, a pesar de sus efectos secundarios. Dentro de estos últimos, pueden existir algunos pacientes mal clasificados que realmente no requerían tratamiento sino seguimiento y que tuvieron un deterioro en su calidad de vida sin un beneficio significativo en la supervivencia⁵.

Con el fin de mejorar la clasificación de los pacientes, actualmente se usan herramientas clínicas y patológicas, como el nivel de PSA inicial, la estadificación clínica y el puntaje de Gleason en la biopsia, para ayudar a predecir el pronóstico del PC al momento del diagnóstico y determinar el tratamiento (tabla 1); sin embargo, estas aún no son suficientes. Por ejemplo, se ha reportado que cerca del 15% al 20% de los pacientes con cáncer localizado y 30% de los pacientes con riesgo intermedio presentan recurrencia bioquímica (BCR, por sus siglas en inglés, y definida posterior a la PR como la presencia de PSA de 0,2 ng/ml o mayor en los exámenes de seguimiento) posterior al tratamiento estándar con intención curativa⁶⁻⁸. Lo anterior exhibe una gran limitación en el manejo de la enfermedad puesto que una clasificación imprecisa y un tratamiento inadecuado pueden afectar la supervivencia global de los pacientes y aumentar innecesariamente los costos relacionados con el tratamiento.

Tabla 1 Clasificación del riesgo de BCR. Parámetros clínicos/patológicos establecidos para la clasificación del riesgo de BCR al momento del diagnóstico^{6,13,14}

Riesgo de recurrencia bioquímica	Parámetros clínicos/patológicos
Riesgo bajo	Estadio T1c-T2a, y PSA $\leq$ 10 ng/ml, y Puntaje de Gleason $\leq$ 6
Riesgo intermedio	Estadio T2b, o PSA $>$ 10 ng/ml $\leq$ 20 ng/ml, o Puntaje de Gleason 7
Riesgo alto	Estadio T2c, o PSA $>$ 20 ng/ml, o Puntaje de Gleason $\geq$ 8

Con el propósito de abordar estas limitaciones, se han estudiado una serie de marcadores genéticos con el fin de precisar la estratificación del riesgo mediante mediciones estandarizadas y delimitaciones establecidas que no dependan del observador; esto con el fin de ofrecer un tratamiento oportuno y así evitar el sobretratamiento en casos innecesarios. Este manuscrito hace una revisión de nuevos marcadores propuestos para predecir con mayor precisión el pronóstico de los pacientes con PC localizado al momento del diagnóstico.

Metodología

Se realizó una búsqueda en la base de datos Pubmed con los términos “*prostate cancer prognosis biomarkers*”, con los siguientes filtros: fechas de publicación en los últimos cinco años y artículos en idioma inglés. Se seleccionaron únicamente artículos originales cuyas investigaciones involucraran específicamente el análisis de muestras de PR de pacientes con PC, con el fin de seleccionar y describir los biomarcadores de pronóstico más relevantes relacionados con el pronóstico en estos pacientes.

Actuales herramientas en el diagnóstico y seguimiento del cáncer de próstata y sus limitaciones

Actualmente, existen dos pruebas de tamización que permiten una detección temprana del PC: el PSA y el examen del tacto rectal. Resultados anormales en alguno de estos exámenes conllevan a la realización de la biopsia para establecer el diagnóstico que puede ir desde una enfermedad confinada al órgano o localizada hasta una enfermedad avanzada o metastásica. En la biopsia se establece el puntaje de Gleason que define el grado de diferenciación histológica del tumor y en el que se reportan los dos patrones de diferenciación más prevalentes en la muestra⁹. Esta clasificación se correlaciona con el pronóstico del paciente, tanto en la predicción de BCR como en la aparición de metástasis, donde el patrón más diferenciado tiene un mejor pronóstico, y el patrón más indiferenciado tiene un peor pronóstico^{6,9-12}.

El estadio clínico tumoral (cT) evaluado en el examen del tacto rectal, junto con el puntaje de Gleason y el nivel de PSA inicial, permiten clasificar al momento del diagnóstico el riesgo de BCR del paciente en tres grupos: bajo, intermedio y alto^{6,13,14} (tabla 1). Esta clasificación contribuye a la toma de decisión del tratamiento al que debe ser sometido el paciente una vez que es diagnosticado, ya que la BCR siempre precede a la recurrencia clínica con un tiempo promedio de 8 a 10 años¹⁵. Además, el uso del PSA y del puntaje de Gleason se han extendido en diversos métodos de estimación del riesgo pronóstico, no solo en la clasificación desarrollada por D'Amico^{6,14}, sino también en el puntaje CAPRA (Determinación del riesgo de PC)^{16,17} y en los diferentes nomogramas que involucran modelos matemáticos y variables de riesgo^{18,19}. Con respecto al seguimiento, las mediciones de PSA posteriores al tratamiento, trimestralmente durante el primer año y semestralmente en el segundo año²⁰, son una de las principales herramientas de seguimiento de la enfermedad en la práctica clínica^{21,22}.

Sin embargo, todas estas herramientas exhiben limitaciones. Por ejemplo, los niveles de PSA no siempre conservan una relación directa con el diagnóstico de la enfermedad o su recurrencia, ya que estos también aumentan en respuesta a otras afectaciones de la próstata como prostatitis, y también porque algunos casos pueden recurrir en ausencia del incremento de PSA^{23,24}. De otra parte, el examen del tacto rectal permite la palpación únicamente de la zona periférica de la próstata y es examinador dependiente, por lo que puede no detectar algunos tumores. Finalmente, el uso del Gleason se ve limitado por la variabilidad de la lectura histopatológica (inter-observador e intra-observador)²⁵. Estas imprecisiones conllevan a que la estratificación del riesgo varíe en rangos muy amplios que se superponen entre ellos, con la consecuencia de ser poco útil para diferenciar especialmente los casos de riesgo bajo e intermedio al momento del diagnóstico.

Estas dificultades han conllevado a la búsqueda de marcadores moleculares que sean más sensibles y específicos y que permitan mejorar la clasificación del riesgo de recurrencia, incluso en pacientes con tumores latentes. En la actualidad, se han adelantado esfuerzos de la comunidad científica con el fin de entender mejor la biología del tumor y su pronóstico, mediante la utilización de metodologías de punta

para la identificación de nuevos marcadores que permitan determinar de manera más acertada el pronóstico de los pacientes; además, se han asociado específicamente con el puntaje de Gleason dado que se ha constituido como el marcador de pronóstico más ampliamente usado en la clínica^{6,10,11}. Se espera que el hallazgo de una firma o perfil de expresión génica permita clasificar los pacientes como potenciales respondedores o no respondedores al tratamiento inicial, con gran uso clínico en biopsias de diagnóstico iniciales o muestras líquidas, como orina y suero.

Biomarcadores de BCR en cáncer de próstata localizado y asociados con el puntaje de Gleason

Numerosos estudios han sido enfocados en la identificación de marcadores moleculares que permitan definir un mejor pronóstico relacionado con BCR. Algunos de estos son descritos en la tabla 2. Dentro de los biomarcadores identificados, se ha observado que una fuerte expresión de la integrina $\alpha 3$, determinada por inmunohistoquímica triplica el riesgo de BCR de la enfermedad²⁶; asimismo, la ausencia de expresión de la integrina $\beta 1$ se asoció con una mayor probabilidad de BCR (2,8 veces más alta) con supervivencia media de 77 meses frente a 112 meses en pacientes con expresión positiva²⁷. Otro biomarcador estudiado ha sido la proteína interactuante DAB2 (DAB2IP), también conocido como proteína activante de Ras GTPasa²⁸⁻³⁰, cuya pérdida de expresión citoplasmática junto con una fuerte tinción nuclear del receptor de andrógenos es más frecuente en muestras de pacientes recurrentes y hormonorrefractarios³¹.

En un estudio realizado por Zhang *et al.*³², se observó que aumento en la expresión génica de nucleobindina 2 (NUCB2) en tejido tumoral prostático comparado con tejido adyacente no canceroso se correlaciona con un mayor puntaje de Gleason, así como un mayor nivel de PSA prequirúrgico, metástasis a los ganglios linfáticos e invasión linfovascular. Igualmente, pacientes con niveles incrementados presentan una menor supervivencia libre de BCR, lo cual permite identificar pacientes con un mayor riesgo y que probablemente necesitarían un tratamiento más agresivo.

La fusión génica entre TMPRSS2 (21q22.2) y ERG (21q22.3), TMPRSS2-ERG (proteasa transmembrana serina 2 - gen relacionado con ETS), presente en el 30% a 70% de los casos de PC, favorece la expresión oncogénica de ERG³³. Asimismo, se ha reportado que la fusión TMPRSS2-ERG está altamente asociada con una mayor BCR en el 58% de los pacientes positivos para la fusión, frente al 8% de recurrencias observadas en pacientes sin la fusión en un periodo de 5 años posterior al tratamiento³⁴. Sin embargo, un estudio publicado recientemente que fue realizado en muestras de biopsias no encontró asociación entre la expresión de TMPRSS2-ERG con un riesgo incrementado en la mortalidad por PC³⁵.

El gen SPOP (proteína speckle-type POZ) codifica la proteína adaptadora de la ubiquitin ligasa E3 "speckle-type" POZ (siglas en inglés de: proteína de dedos de zinc y virus de pox)^{36,37}, y presenta mutaciones somáticas en el 6% al 15% de los casos de PC³⁸. Su baja expresión fue asociada con menor supervivencia libre de BCR y supervivencia libre de progresión, así como con patrones de Gleason más

Tabla 2 Biomarcadores de pronóstico descritos en cáncer de próstata (PC) localizado, identificados en tejido de PR, CTCs, orina, plasma y suero

	Biomarcador (gen)	Función normal	Función aberrante en cáncer	Cambio en la expresión	Significancia en pronóstico	Referencias
Identificados en Prostatectomía Radical	Integrina $\alpha 3$	Interacción entre la célula con la matriz extracelular, adhesión celular	Metástasis	↑	MENOR SUPERVIVENCIA DE BCR	26,80
	Integrina b1	Interacción entre la célula con la matriz extracelular, adhesión celular	Metástasis	↓		26,80
	DAB2IP	Inhibe transición epitelial-mesenquimal, induce apoptosis	Crecimiento celular y supervivencia	↑		81
	TMPRSS2-ERG	Fusión génica ausente en células normales	Desarrollo y progresión de cáncer de próstata	↑		33
	NUCB2	Mantenimiento de niveles de calcio, homeóstasis energética y control del apetito en el hipotálamo	Secreción gástrica en ca. gástrico. Metástasis ganglionar en ca. seno ER+	↑		82-84
	SPOP	Regula expresión génica por ubiquitinación		↓		36,37
	HMGB1	Regulación de transcripción génica, inflamación, diferenciación celular	Proliferación, angiogénesis, metástasis	↑		85,86
	ARSB	Regula expresión de proteoglicanos de la matriz extracelular	Proliferación celular	↓		42,87
	EZH2	Remodelamiento de cromatina y silenciamiento de genes	Proliferación, invasión, formación tumoral y metástasis	↑		88,89
	CNR1	Modula liberación de neurotransmisores	Proliferación celular	↑		90,91
	APN	Procesamiento postsecretorio de neuropéptidos y su acceso a los receptores en la célula	Invasión, metástasis, neoangiogénesis	↓		46-48
	MAP3K7	Controla crecimiento celular, diferenciación y apoptosis	Desregulación de crecimiento celular y apoptosis	↓		51
	PTEN	Supresor tumoral, regula proliferación, supervivencia celular, estabilidad genómica, migración celular, auto-renovación de células madre	Regula el microambiente tumoral	↓		92

	Biomarcador (gen)	Función normal	Función aberrante en cáncer	Cambio en la expresión	Significancia en pronóstico	Referencias
	Cbx3	Reparación del DNA, empaquetamiento de cromatina, regulación génica	Regulación génica alterada	↑		55,93
	Cyr61	Adhesión, migración, proliferación, diferenciación, supervivencia celular	Migración, invasión y proliferación	↓		94,95
	SOX9	Proliferación, diferenciación celular en embriogénesis	Proliferación	↑		58
	SOX7	Regulación de la transcripción, degradación de B-catenina	Proliferación	↓		96,97
Identificado en CTCs y orina	TMPRSS2-ERG	Fusión génica ausente en células normales	Desarrollo y progresión de cáncer de próstata	↑		33
Identificado en plasma	hTERT	En células germinales mantiene la longitud telomérica y actividad basal en células somáticas normales	Síntesis de DNA telomérico para el mantenimiento de la longitud telomérica y capacidad proliferativa de células tumorales	↑		62,98
Identificado en orina	SPINK1	Inhibición de proteasas serina, como la tripsina, para prevención prematura de zimógenos	Estimula crecimiento celular	↑		68,99
Identificado en suero	mir-26a	Regulación de expresión génica	Expresión reducida en carcinoma hepatocelular, de tiroides, rabdomiosarcoma y carcinoma renal de células claras. Expresión aumentada en gliomas	↓		100-103

avanzados. Esta expresión no se asoció con las mutaciones del gen que fueron una variable independiente de mal pronóstico en casos negativos para la fusión génica TMPRSS2-ERG³⁹. En otro estudio no se encontró asociación entre las mutaciones del gen con el puntaje de Gleason ni con la BCR de la enfermedad⁴⁰.

La proteína de alta movilidad del grupo de caja 1 (HMGB1) o anfoterina es una proteína de unión al DNA nuclear de la cromatina. Una correlación positiva de la proteína fue observada con una menor supervivencia de BCR, con una tasa de supervivencia a 5 años del 6%, frente a un 54% en los casos con ausencia de expresión. Sin embargo, este mismo estudio encontró que la expresión positiva estuvo más representada por casos con puntaje de Gleason favorable ≤ 6 ⁴¹.

Otra proteína estudiada como marcador es la enzima arilsulfatasa B (ARSB), que fue analizada en casos pareados con y sin BCR. Una expresión disminuida fue observada en el 82% de las muestras de PR de casos recurrentes⁴². Al comparar los niveles de PSA iniciales, estos estuvieron disminuidos en el 65% de los casos, por lo que al combinar la expresión aumentada de ARSB junto con los bajos niveles de PSA, se encontró una predicción del 95% de las recurrencias. Adicionalmente, la expresión de ARSB estuvo inversamente asociada con el puntaje de Gleason, encontrándose mayor expresión en los puntajes 6 y 7 y menor expresión en Gleason 8 y 9.

Por su parte, el gen enhancer de zeste 2 asociado al complejo represor polycomb 2 (EZH2) codifica una enzima lisina metiltransferasa de histonas⁴³. Su expresión en pacientes con riesgo intermedio y tratados con PR constituye un predictor de BCR en PC localizado⁴⁴. Sin embargo, una mayor precisión en la predicción de la BCR posterior a la PR se observó al identificar la expresión en conjunto del protooncogen c-Myc y EZH2 con ausencia de expresión de la enzima inhibidora de quinasas dependiente de ciclina (CDKN1B), codificada por el gen p27^{Kip1}⁴⁴.

La alta expresión del gen receptor canabinoide tipo 1 (CNR1), encargado de inhibir la actividad de la adenilato ciclase en PC fue asociada con mal pronóstico y se determinó, mediante inmunohistoquímica, que en pacientes con riesgo intermedio los niveles de expresión de la proteína discriminan el pronóstico⁴⁵.

La expresión de la proteína de membrana celular aminopeptidasa N (APN), codificada por el gen ANPEP⁴⁶⁻⁴⁸, está disminuida en tejido tumoral respecto a tejido normal. En cáncer avanzado o metastásico se ha observado que la expresión se pierde por completo⁴⁹ y se asocia con menores tiempos de supervivencia libre de recurrencia tumoral. Por lo tanto, la expresión de APN fue confirmada como un factor de pronóstico independiente en pacientes con PC clínicamente localizado⁴⁹. Sin embargo, la predicción de supervivencia mejora considerablemente al analizar la expresión conjunta de APN con la de densidad de microvasos (MVD), o con la del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)⁴⁹.

Una de las alteraciones genéticas encontrada en tumores de PC es la delección de la región 6q14-21 que implica la pérdida de expresión de la proteína Tak1 en el 35% de los casos⁵⁰. Esta es una proteína supresora tumoral, miembro de la familia de proteínas MAPKKK y codificada por el gen MAP3K7 (proteína 3 quinasa activada por mitógeno 7)⁵¹. Esta

proteína ha sido asociada con: altos valores de PSA prequirúrgicos (≥ 10 ng/ μ l); estadios avanzados del tumor (desde estadios pT3 establecidos por patología); presencia de ganglios linfáticos metastásicos, y PC de alto grado (Gleason ≥ 8)^{50,52}. Asimismo, las delecciones de este gen se asocian con una BCR más rápida y mayor agresividad tumoral⁵⁰.

Otro de los genes que se asocia con una menor supervivencia libre de progresión en pacientes tratados con PR, específicamente en pacientes positivos para ERG, es el gen supresor tumoral que codifica para la proteína fosfatasa y homólogo de tensina (PTEN) y que presenta delección o mutaciones puntuales en PC⁵³. Constituye un marcador de pronóstico independiente en los subgrupos tumorales con estadio pT2, puntaje de Gleason 7 y ERG positivos, así como en tumores pT2, Gleason < 7 y niveles de PSA iniciales entre 10 y 30 ng/ml. Dentro de estos subgrupos, los casos con expresión negativa de PTEN tienen una menor supervivencia libre de progresión⁵⁴.

En PC también se reporta expresión incrementada de la proteína gamma 1 de la heterocromatina (HP1 γ), codificada por el gen Cromobox homólogo 3 (Cbx3)⁵⁵, la cual se asocia con patrones de Gleason superiores a 4 + 3, y cuya expresión citoplasmática predice BCR en pacientes con PR y permite separar pacientes con Gleason 7 con alta y baja probabilidad de BCR⁵⁵.

Otra proteína secretada a la matriz extracelular que se encuentra aumentada en tumores con Gleason ≥ 8 es la proteína inductor angiogénico rico en cisteína 61 (Cyr61)⁵⁶. Tumores con al menos una región con una fuerte tinción de la proteína, medida por inmunohistoquímica, fueron 56% menos propensos a presentar BCR. Sin embargo, la intensidad de la tinción no se asoció linealmente con el riesgo de BCR. Al analizar la asociación entre el nivel de expresión de Cyr61 con las características clínicopatológicas de los pacientes, se encontró una mayor proporción de estadios pT3b o superiores con una mayor expresión proteica⁵⁷.

Los genes SOX (caja HMG - grupo conservado de alta movilidad relacionada con SRY - región Y determinante del sexo) son una familia de factores de transcripción involucrados en el desarrollo embrionario de la próstata que posteriormente en células diferenciadas restringe su expresión a células basales⁵⁸. La alta expresión de Sox9 (caja 9 de SRY) y baja expresión de Sox7 (caja 7 de SRY) en PC localizado predicen una supervivencia más corta libre de BCR⁵⁹, en la que expresión de Sox7 se asoció con altos niveles séricos de PSA iniciales y presencia de metástasis. La expresión incrementada de la proteína Sox9 se asoció con mayores puntajes de Gleason y estadios clínicos, y la baja expresión de Sox10 se asoció con mayores niveles séricos de PSA y estadios patológicos avanzados.

Biomarcadores de pronóstico identificados en células tumorales circulantes (CTRCs), suero y orina

El gen fusión TMPRSS2-ERG también ha sido reportado en células tumorales circulantes (CTCs) y tumor de pacientes con PC hormonorrefractario, independientemente si los pacientes recibieron tratamiento con un inhibidor selectivo de la enzima 17 α -hidroxilasa/C17, 20-liasa (CYP17), la cual interviene en la biosíntesis de los andrógenos. Estos

resultados sugieren que la fusión no cambia durante la progresión del PC ni durante el tratamiento con el inhibidor⁶⁰. También se halló en el 50% de muestras de orina, lo que permite aumentar el valor predictivo del Gleason y del estadio clínico en biopsias, y en la predicción de extensión extraprostática en la pieza quirúrgica; esta metodología podría usarse para seleccionar casos con PC clínicamente significativos⁶¹.

Por su parte, hTERT, subunidad catalítica con actividad transcriptasa inversa de la enzima telomerasa, se ha encontrado elevada en el 85-100% de los pacientes con cáncer⁶². También, la expresión génica de hTERT plasmático y el PSA están asociados con las características tumorales del PC, como puntaje de Gleason, el estadio tumoral, y la invasión vascular y perineural⁶³. Por ejemplo, niveles aumentados de hTERT se asocian con una menor supervivencia de BCR, por lo que se sugirió como marcador de seguimiento y en la detección de enfermedad mínima residual; no obstante, debe validarse en estudios a gran escala que incluya más eventos de recurrencia^{64,65}.

La expresión incrementada del inhibidor de proteasa serina Kazal tipo 1 (SPINK1) en muestras de orina de pacientes con tumores negativos para rearrreglos ETS, es un predictor de BCR⁶⁶; sin embargo, no todos los estudios son concordantes con estos hallazgos^{54,67,68}. Por otro lado, llama la atención que a nivel de proteína, solo se identificó su expresión en los casos de PC resistentes positivos para rearrreglos ETS.

Uno de los microRNAs que regula la expresión del gen EZH2 en próstata es miR-26a⁴³. Este microRNA es silenciado por metilación en lesiones de HGPIN y PC, lo que permite una sobrerregulación del gen EZH2 involucrado en carcinogénesis de próstata. Su asociación con el pronóstico ha sido evaluada en suero de pacientes con PC localizado e identifica pacientes con PC de alto riesgo^{69,70}.

Firmas génicas o panel de biomarcadores de pronóstico de BCR en cáncer de próstata localizado

Los avances recientes en técnicas a gran escala y en bioinformática han permitido identificar paneles de biomarcadores o firmas génicas más acertadas para la estratificación del riesgo pronóstico de PC, que incluso han llevado a la comercialización de pruebas actualmente disponibles como lo son OncotypeDx® y Prolaris® (tabla 3).

OncotypeDx® Prostate Cancer Assay (Genomic Health®, Redwood, California, Estados Unidos) es un clasificador genómico que incluye 17 genes, 12 relacionados con cáncer y 5 genes de referencia, involucrados en las vías de señalización de andrógenos, de respuesta estromal, de organización celular y de proliferación. La medición de la actividad de estos genes arroja un resultado personalizado, denominado *Genomic Prostate Score* (GPS, Puntaje Genómico de Próstata), relacionado directamente con el grado de agresividad de la enfermedad. El uso de esta prueba en Estados Unidos contempla la determinación del riesgo del paciente de acuerdo con lo establecido en las guías de práctica clínica, como la NCCN (*National Comprehensive Cancer Center*—Red Nacional Integral del Cáncer, USA), e indica que pacientes con riesgo alto no son candidatos mientras que

para los demás grupos de riesgo la prueba confirma la clasificación o establece el verdadero grupo de riesgo de BCR al que pertenecen los pacientes, con un área bajo la curva (AUC, por sus siglas en inglés) de 0,68, el cual supera al del riesgo definido por las guías de NCCN de 0,59, y permite personalizar las decisiones del tratamiento en el momento del diagnóstico^{71,72}.

Por su parte, Prolaris® incluye 31 genes relacionados con ciclo celular y tiene la capacidad de predecir tanto BCR a 10 años en pacientes tratados con PR como muerte en pacientes en vigilancia activa y diagnosticados mediante resección transuretral. Al combinar el puntaje de la prueba con el puntaje de los factores clínicos el valor AUC es de 0,842 para BCR a 10 años en pacientes con PR, y de 0,878 para muerte en pacientes en vigilancia activa, frente a 0,825 y 0,806 en los factores clínicos, respectivamente⁷³. Este marcador demostró además ser un factor pronóstico del puntaje de Gleason y de los niveles de PSA⁷³, y fue validado en dos cohortes de pacientes sometidos a PR y resección transuretral, respectivamente, donde permitió subestratificar a los pacientes de riesgo bajo y alto clasificados mediante el puntaje CAPRA-S (posquirúrgico), que es otro método de determinación del riesgo pronóstico en PC⁷⁴. Actualmente está disponible comercialmente para uso sobre biopsias.

Otros trabajos en investigación han conducido a la identificación de posibles clasificadores del pronóstico. A partir del análisis comparativo en diferentes cohortes de pacientes con y sin la fusión TMPRSS2-ERG se identificó un panel de expresión de 9 genes que permite clasificar los pacientes TMPRSS2-ERG positivos en alto y bajo riesgo de BCR. La segregación de los pacientes fue mejorada por la combinación con el puntaje de Gleason y el estado de fusión de TMPRSS2-ERG³⁴. En el 2013, se reportó un clasificador de 36 genes en muestras TMPRSS2-ERG positivas y con altos niveles de expresión de ERG que segregó a los pacientes en grupos de alto y bajo riesgo de BCR. Los resultados fueron validados en una cohorte externa con un seguimiento a 5 años, y se sugiere corroborar el clasificador mediante qPCR o coloración de inmunohistoquímica en biopsias, para aquellos pacientes positivos para la fusión y con altos niveles de expresión de ERG⁷⁵.

Un clasificador basado en genes conformado por los genes DPT, MYH11 y SSBP1, logró también estratificar el riesgo de BCR que fue validado en un grupo independiente de pacientes, y clasificó pacientes con Gleason 6 y 7. El DPT y MYH11 fueron nuevos marcadores de pronóstico de PC mientras que SSBP1 ya había sido previamente asociado con PC agresivo⁷⁶.

Recientemente, se estableció un predictor molecular de tres genes (FGFR1, PMP22 y CDKN1A) a partir del análisis de expresión de genes relacionados con envejecimiento y senescencia, que segregó en grupos de alto y bajo riesgo la BCR de pacientes con tumores con Gleason bajo (puntaje 6 y 7 3 + 4), y superó al nomograma de clasificación de D'Amico. Sin embargo, el mejor nomograma a nivel de expresión de RNA fue el predictor molecular de tres genes junto con el puntaje de Gleason, y a nivel de expresión proteica solo el predictor. Estos resultados fueron validados en biopsias y en grupos de datos de cohortes independientes provenientes de pacientes monitoreados mediante vigilancia activa y que habían sido sometidos a resección transuretral⁷⁷.

En muestras de sangre también se ha realizado la búsqueda de un panel de biomarcadores de pronóstico que

Tabla 3 Principales firmas génicas o biomarcadores en panel para el pronóstico en cáncer de próstata (PC)

No. Genes del panel	Población	Tipo de muestra	Técnica	Referencia	Vías de señalización	Relación con pronóstico
17 genes (OncotypeDx®): SFRP4, BGN, COL1A1, KLK2, SRD5A2, FAM13C1, AZGP1, GSN, GSTM2, TPM2, FLNC, TPX2	Estudio de PR: 441 pacientes con cT1-T2, tratados con PR. Estudio de biopsias: 167 pacientes con riesgo bajo e intermedio 402 hombres tratados con PR, en riesgo muy bajo, bajo e intermedio	Estudio de PR: tejido de PR en FFPE. Estudio de biopsias: tejido de biopsia en FFPE Biopsias en FFPE de pacientes con puntaje de Gleason 6 o 7, PSA ≤ 20 ng/ml, estadio ≤ cT2	RT-PCR	Klein et al. 2014 ⁷¹ Cullen et al. 2014 ⁷²	17 genes de respuesta estromal, señalización de andrógenos, organización celular y proliferación	Predice PC agresivo en biopsias para discriminar pacientes que deben ir a vigilancia activa vs. pacientes que deben ser sometidos a tratamiento definitivo inmediato Predice BCR temprana y tardía, patología adversa (patrón de Gleason 4 o 5, pT3, enfermedad no confinada al órgano) y tiempo hasta metástasis en muestras de biopsias. El pronóstico es similar en Afroamericanos y Europeos
31 genes (Prolaris®)	366 pacientes tratados con PR. 337 pacientes tratados conservativamente	Tejido de PR y Resección Transuretral en FFPE	qRT-PCR	Cuzick et al. 2011 ⁷³	Progresión del ciclo celular	Predictor de BCR y muerte posterior a la progresión de la enfermedad
9 genes (Genes en muestras TMPRSS2-ERG positivas)	413 pacientes tratados con PR 139 pacientes positivos para TMPRSS2-ERG	Tejido de PR en FFPE Tejido congelado de PR	qRT-PCR Microarreglos de expresión	Cooperberg et al. 2013 ⁷⁴ Barwick et al. 2010 ³⁴	Reparación del DNA, desacetilación de histonas, señalización del factor de crecimiento similar a la insulina (IGF) y Jak-Stat	Estratificación de BCR y riesgo de mortalidad por PC Clasifica pacientes en alto y bajo riesgo de BCR
36 genes (Clasificador en pacientes TMPRSS-ERG positivos)	48 pacientes sometidos a PR	Tejido congelado de PR	Microarreglos de expresión	Gasi Tandefelt et al. 2013 ⁷⁵	Comunicación célula-célula, señalización de TGF-β y adhesión focal	Supervivencia libre de BCR, supervivencia específica de cáncer y supervivencia completa
Firma basada en 23 genes que se redujo a 3: DPT, MYH11, SSBP1	316 pacientes con PC localizado tratados con PR	Tejido de PR en FFPE	Microarreglos de expresión y qRT-PCR	Talantov et al. 2010 ⁷⁶	Proliferación celular, adhesión celular, estructural, estabilidad del genoma y biogénesis mitocondrial.	Clasificador de 23 genes predictor de BCR. Clasificador de 3 genes: estratificación de Gleason 6 y 7 en bajo y alto riesgo de BCR

Tabla 3 (continuación)

No. Genes del panel	Población	Tipo de muestra	Técnica	Referencia	Vías de señalización	Relación con pronóstico
Panel de 19 genes, que se redujo a una firma molecular de 3 genes: FGFR1, PMP22, CDKN1A	Bases de datos. Taylor: 131 muestras de PR y 29 muestras de tejido adyacente normal. Yu: 29 tumores localmente invasivos y 58 tejidos de próstata normal adyacente. Muestras de biopsias de pacientes en vigilancia activa	Muestras de biopsias de pacientes con PC de bajo riesgo, que fallaron (n = 14) o no (n = 29) la vigilancia activa	Métodos computacionales e inmunohistoquímica	Irshad et al. 2013 ⁷⁷	Envejecimiento y senescencia celular	Predice BCR en pacientes con puntaje de Gleason 6 y 7(3 + 4)
7 genes (Firma de 7 biomarcadores en sangre): CRTAM, CXCR3, FCRL3, KIAA1143, TMEM204	803 casos diagnosticados con PC antes del tratamiento	Sangre	Microarreglos de expresión y qRT-PCR	Liong et al. 2012 ⁷⁸	Respuesta inmune, quimiotaxis y regulación de transcripción génica en carcinogénesis	Estratifica Gleason de alto riesgo (7(4 + 3) a 10) de riesgo bajo a intermedio (6 y 7(3 + 4)). Predicción de PC agresivo
7 genes (Firma de cáncer de próstata): RRAGD, PQBP1, ALDH1A2, TRIM22, RBPMS, HSPB8, Cluster de Histonas	228 PR: 121 con BCR, 101 sin recurrencia y 6 sujetos sanos	Tejido congelado de PR	Microarreglos de expresión y qRT-PCR	Chen et al. 2012 ⁷⁹	Señalización asociada a Ras, regulación de la transcripción, metabolismo de aldehídos	Predicción de BCR posterior a la PR. Estratificación del riesgo para tratamientos adyuvantes y blancos para el desarrollo de terapias en PC progresivo

Abreviaciones. **Genes:** SFRP4: Proteína 4 relacionada con frizzled secretada. BGN: biglicano. COL1A1: Colágeno tipo 1 alfa 1. KLK2: Peptidasa 2 relacionada con Kalikreína. SRD5A2: Esteroide-5-alfa-reductada, Polipéptido alfa 2. FAM13C1: Familia con semejanza en secuencia 13, Miembro C. AZGP1: zinc alfa-2-glicoproteína 1. GSN: gelsolina. GSTM2: Glutathione S Transferasa Mu 2. TPM2: Tropomiosina 2. FLNC: Filamina C gama. TPX2: TPX2 asociada a microtúbulos. DPT: Dermatopontina. MYH11: Miosina de músculo liso, cadena pesada 11. SSBP1: Proteína 1 de unión al DNA de una cadena, mitocondrial. FGFR1: Receptor del factor de crecimiento de fibroblastos 1. PMP22: Proteína 22 de la mielina periférica. CDKN1A: Inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1A (también nombrado P21, Cip1). CRTAM: Molécula de células T reguladoras y citotóxicas. CXCR3: Receptor 3 de quimiocina (motivo C-x-C). FCRL3: Proteína 3 similar al receptor Fc. KIAA1143: Gen codificante de proteína no caracterizada. TMEM204: Proteína transmembranal 204. RRAGD: Proteína D de unión a GTP relacionada con Ras. PQBP1: Proteína 1 de unión a poliglutamina. ALDH1A2: Miembro A2 de la familia aldehído deshidrogenasas 1. TRIM22: Motivo tripartito 22. RBPMS: Proteína de unión a RNA con múltiples variantes. HSPB8: Proteína de choque térmico 8 de 22 kDa.

PR: prostatectomía radical. FFPE: siglas en inglés de tejidos fijados en formalina y embebidos en parafina. RT-PCR: Reacción en cadena de la polimerasa acoplada a transcripción inversa. qRT-PCR: Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa, acoplada a transcripción inversa.

discrimine el riesgo de BCR, de tal forma que pueda ser útil desde el momento del diagnóstico sin realizar procedimientos invasivos en el paciente. En estas muestras un clasificador de siete biomarcadores logró discriminar a los pacientes en dos grupos: un grupo de pacientes con Gleason de alto riesgo de 7 (4 + 3) a 10 y otro grupo con riesgo bajo a intermedio con Gleason 6 (3 + 3) y 7 (3 + 4)⁷⁸. Otro grupo reportó un pronosticador constituido por siete genes diferentes, con una mayor sensibilidad y precisión en la predicción de BCR posterior a la PR en comparación a otros clasificadores; estos indicadores mejoraron al combinarse con el puntaje de Gleason y fueron validados en dos sets de datos independientes⁷⁹.

Finalmente, en esta revisión se concluye que el uso de variables clínicas y patológicas en la predicción del pronóstico en pacientes con PC sigue siendo la herramienta más empleada actualmente en la clínica para la clasificación del riesgo de BCR. No obstante, existe la necesidad de nuevos biomarcadores de pronóstico que permitan una estratificación más precisa, no solo del riesgo de BCR sino también del riesgo de recaída clínica y de enfermedad hormonorrefractaria. Algunos de los biomarcadores estudiados ya tienen pruebas disponibles comercialmente, otros están validándose y otros requieren de una validación en sets de datos o pacientes con tamaños de muestra que sean grandes e independientes antes de usarse en la clínica. Las nuevas aproximaciones metodológicas permitirán dirigir los esfuerzos de una manera más acertada para identificar el verdadero riesgo pronóstico y así guiar el manejo de forma personalizada para contribuir al control de la enfermedad con una mayor supervivencia y mejor calidad de vida, y eventualmente, a la optimización en los costos en el tratamiento.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Ferlay J SI, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rabelo M, et al. Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base No. 11 Lyon, France: International Agency for Research on Cancer 2012. Disponible en: <http://globocan.iarc.fr>
2. Pardo C, Cendales R. Incidencia, mortalidad y prevalencia de cáncer en Colombia 2007-2011 2015. 148 p.
3. Etzioni R, Tsodikov A, Mariotto A, Szabo A, Falcon S, Wegelin J, et al. Quantifying the role of PSA screening in the US prostate cancer mortality decline. *Cancer Causes Control*. 2008;19:175-81.
4. Schröder FH, Hugosson J, Roobol MJ, Tammela TL, Zappa M, Nelen V, et al. Screening and prostate cancer mortality: results of the European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) at 13 years of follow-up. *Lancet*. 2014;384:2027-35.
5. Bradford TJ, Tomlins SA, Wang X, Chinnaiyan AM. Molecular markers of prostate cancer. *Urol Oncol*. 2006;24:538-51.
6. D'Amico AV, Whittington R, Malkowicz SB, Schultz D, Blank K, Broderick GA, et al. Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer. *JAMA*. 1998;280:969-74.
7. Van der Kwast TH, Bolla M, Van Poppel H, Van Cangh P, Veke-mans K, Da Pozzo L, et al. Identification of patients with prostate cancer who benefit from immediate postoperative radiotherapy: EORTC 22911. *J Clin Oncol*. 2007;25:4178-86.
8. Bibikova M, Chudin E, Arsanjani A, Zhou L, Garcia EW, Modder J, et al. Expression signatures that correlated with Gleason score and relapse in prostate cancer. *Genomics*. 2007;89:666-72.
9. Epstein JI, Allsbrook WC, Amin MB, Egevad LL, Committee IG. The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2005;29:1228-42.
10. Albertsen PC, Hanley JA, Fine J. 20-year outcomes following conservative management of clinically localized prostate cancer. *JAMA*. 2005;293:2095-101.
11. van Oort IM, Hulsbergen-vandeKaa CA, Witjes JA. Prognostic Factors in Radical Prostatectomy Specimens: What Do We Need to Know from Pathologists? 2008;7:715-22.
12. Simmons MN, Stephenson AJ, Klein EA. Natural history of biochemical recurrence after radical prostatectomy: risk assessment for secondary therapy. *Eur Urol*. 2007;51:1175-84.
13. Mohler J, Bahnson RR, Boston B, Busby JE, D'Amico A, Eastham JA, et al. NCCN clinical practice guidelines in oncology: prostate cancer. *J Natl Compr Canc Netw*. 2010;8:162-200.
14. D'Amico AV, Whittington R, Malkowicz SB, Fondurulia J, Chen MH, Kaplan I, et al. Pretreatment nomogram for prostate-specific antigen recurrence after radical prostatectomy or external-beam radiation therapy for clinically localized prostate cancer. *J Clin Oncol*. 1999;17:168-72.
15. Pound CR, Partin AW, Eisenberger MA, Chan DW, Pearson JD, Walsh PC. Natural history of progression after PSA elevation following radical prostatectomy. *JAMA*. 1999;281:1591-7.
16. Cooperberg MR, Freedland SJ, Pasta DJ, Elkin EP, Presti JC, Amling CL, et al. Multiinstitutional validation of the UCSF cancer of the prostate risk assessment for prediction of recurrence after radical prostatectomy. *Cancer*. 2006;107:2384-91.
17. Cooperberg MR, Broering JM, Carroll PR. Risk assessment for prostate cancer metastasis and mortality at the time of diagnosis. *J Natl Cancer Inst*. 2009;101:878-87.
18. Kattan MW, Eastham JA, Stapleton AM, Wheeler TM, Scardino PT. A preoperative nomogram for disease recurrence following radical prostatectomy for prostate cancer. *J Natl Cancer Inst*. 1998;90:766-71.
19. Stephenson AJ, Kattan MW, Eastham JA, Bianco FJ, Yosse-powitch O, Vickers AJ, et al. Prostate cancer-specific mortality after radical prostatectomy for patients treated in the prostate-specific antigen era. *J Clin Oncol*. 2009;27:4300-5.
20. Social MdSyP, Departamento Administrativo de Ciencia TelC, Salud IdETe, Urología SCd, Cancerología IND. Guía de práctica clínica (GPC) para la detección temprana, diagnóstico, tratamiento, seguimiento y rehabilitación del cáncer de próstata para el Sistema General de Seguridad Social en Salud, Colombia: Ministerio de Salud y Protección Social, Dirección General de Aseguramiento Riesgos Profesionales y Pensiones, Departamento Administrativo de Ciencia Tecnología e Innovación (Colciencias), Dirección de Fomento a la Investigación, Programa de Ciencia y Tecnología de la Salud; 2013.
21. Vesely S, Jarolim L, Duskova K, Schmidt M, Dusek P, Babjuk M. The use of early postoperative prostate-specific antigen to stratify risk in patients with positive surgical margins after radical prostatectomy. *BMC Urol*. 2014;14:79.
22. Guía de práctica clínica (GPC) para la detección temprana, diagnóstico, tratamiento, seguimiento y rehabilitación del cáncer de próstata - Sistema General de Seguridad Social en Salud - Colombia, Guía No. GPC-2013-21 (2013).
23. Nishio R, Furuya Y, Nagakawa O, Fuse H. Metastatic prostate cancer with normal level of serum prostate-specific antigen. *Int Urol Nephrol*. 2003;35:189-92.

24. Leibovici D, Spiess PE, Agarwal PK, Tu SM, Pettaway CA, Hitzhusen K, et al. Prostate cancer progression in the presence of undetectable or low serum prostate-specific antigen level. *Cancer*. 2007;109:198–204.
25. Dong F, Wang C, Farris AB, Wu S, Lee H, Olumi AF, et al. Impact on the Clinical Outcome of Prostate Cancer by the 2005 International Society of Urological Pathology Modified Gleason Grading System. *Am J Surg Pathol*. 2012;36:838–43.
26. Pontes-Junior J, Reis ST, de Oliveira LC, Sant'anna AC, Dall'oglio MF, Antunes AA, et al. Association between integrin expression and prognosis in localized prostate cancer. *Prostate*. 2010;70:1189–95.
27. Pontes-Junior J, Reis ST, Bernardes FS, Oliveira LC, Barros EA, Dall'Oglio MF, et al. Correlation between beta1 integrin expression and prognosis in clinically localized prostate cancer. *Int Braz J Urol*. 2013;39:335–42, discussion 43.
28. Wang Z, Tseng CP, Pong RC, Chen H, McConnell JD, Navone N, et al. The mechanism of growth-inhibitory effect of DOC-2/DAB2 in prostate cancer. Characterization of a novel GTPase-activating protein associated with N-terminal domain of DOC-2/DAB2. *J Biol Chem*. 2002;277:12622–31.
29. Min J, Zaslavsky A, Fedele G, McLaughlin SK, Reczek EE, De Raedt T, et al. An oncogene-tumor suppressor cascade drives metastatic prostate cancer by coordinately activating Ras and nuclear factor-kappaB. *Nat Med*. 2010;16:286–94.
30. Hsieh JT, Karam JA, Min W. Genetic and biologic evidence that implicates a gene in aggressive prostate cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2007;99:1823–4.
31. Wu K, Liu J, Tseng SF, Gore C, Ning Z, Sharifi N, et al. The role of DAB2IP in androgen receptor activation during prostate cancer progression. *Oncogene*. 2014;33:1954–63.
32. Zhang H, Qi C, Li L, Luo F, Xu Y. Clinical significance of NUCB2 mRNA expression in prostate cancer. *J Exp Clin Cancer Res*. 2013;32:56.
33. Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S, Dhanasekaran SM, Mehra R, Sun XW, et al. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science*. 2005;310:644–8.
34. Barwick BG, Abramovitz M, Kodani M, Moreno CS, Nam R, Tang W, et al. Prostate cancer genes associated with TMPRSS2-ERG gene fusion and prognostic of biochemical recurrence in multiple cohorts. *Br J Cancer*. 2010;102:570–6.
35. Carozzi F, Tamburrino L, Bisanzi S, Marchiani S, Paglierani M, Di Lollo S, et al. Are biomarkers evaluated in biopsy specimens predictive of prostate cancer aggressiveness? *J Cancer Res Clin Oncol*. 2016;142:201–12.
36. La M, Kim K, Park J, Won J, Lee JH, Fu YM, et al. Daxx-mediated transcriptional repression of MMP1 gene is reversed by SPOP. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004;320:760–5.
37. Kwon JE, La M, Oh KH, Oh YM, Kim GR, Seol JH, et al. BTB domain-containing speckle-type POZ protein (SPOP) serves as an adaptor of Daxx for ubiquitination by Cul3-based ubiquitin ligase. *J Biol Chem*. 2006;281:12664–72.
38. Barbieri CE, Baca SC, Lawrence MS, Demichelis F, Blattner M, Theurillat JP, et al. Exome sequencing identifies recurrent SPOP, FOXA1 and MED12 mutations in prostate cancer. *Nat Genet*. 2012;44:685–9.
39. García-Flores M, Casanova-Salas I, Rubio-Briones J, Calatrava A, Domínguez-Escrib J, Rubio L, et al. Clinico-pathological significance of the molecular alterations of the SPOP gene in prostate cancer. *Eur J Cancer*. 2014;50:2994–3002.
40. Blattner M, Lee DJ, O'Reilly C, Park K, MacDonald TY, Khani F, et al. SPOP mutations in prostate cancer across demographically diverse patient cohorts. *Neoplasia*. 2014;16:14–20.
41. Li T, Gui Y, Yuan T, Liao G, Bian C, Jiang Q, et al. Overexpression of high mobility group box 1 with poor prognosis in patients after radical prostatectomy. *BJU Int*. 2012;110 11 Pt C:E1125–30.
42. Feferman L, Bhattacharyya S, Deaton R, Gann P, Guzman G, Kajdacsy-Balla A, et al. Arylsulfatase B (N-acetylgalactosamine-4-sulfatase): potential role as a biomarker in prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2013;16: 277–84.
43. Koh CM, Iwata T, Zheng Q, Bethel C, Yegnasubramanian S, De Marzo AM. Myc enforces overexpression of EZH2 in early prostatic neoplasia via transcriptional and post-transcriptional mechanisms. *Oncotarget*. 2011;2:669–83.
44. Li K, Chen MK, Situ J, Huang WT, Su ZL, He D, et al. Role of co-expression of c-Myc, EZH2 and p27 in prognosis of prostate cancer patients after surgery. *Chin Med J (Engl)*. 2013;126:82–7.
45. Chung SC, Hammarsten P, Josefsson A, Stattin P, Granfors T, Egevad L, et al. A high cannabinoid CB(1) receptor immunoreactivity is associated with disease severity and outcome in prostate cancer. *Eur J Cancer*. 2009;45: 174–82.
46. Petrovic N, Schacke W, Gahagan JR, O'Connor CA, Winnicka B, Conway RE, et al. CD13/APN regulates endothelial invasion and filopodia formation. *Blood*. 2007;110:142–50.
47. Hashida H, Takabayashi A, Kanai M, Adachi M, Kondo K, Kohno N, et al. Aminopeptidase N is involved in cell motility and angiogenesis: its clinical significance in human colon cancer. *Gastroenterology*. 2002;122:376–86.
48. Ishii K, Usui S, Sugimura Y, Yoshida S, Hioki T, Tatematsu M, et al. Aminopeptidase N regulated by zinc in human prostate participates in tumor cell invasion. *Int J Cancer*. 2001;92:49–54.
49. Sorensen KD, Abildgaard MO, Haldrup C, Ulhoi BP, Kristensen H, Strand S, et al. Prognostic significance of aberrantly silenced ANPEP expression in prostate cancer. *Br J Cancer*. 2013;108:420–8.
50. Kluth M, Hesse J, Heintz A, Krohn A, Steurer S, Sirma H, et al. Genomic deletion of MAP3K7 at 6q12-22 is associated with early PSA recurrence in prostate cancer and absence of TMPRSS2:ERG fusions. *Mod Pathol*. 2013;26: 975–83.
51. Yamaguchi K, Shirakabe K, Shibuya H, Irie K, Oishi I, Ueno N, et al. Identification of a member of the MAPKKK family as a potential mediator of TGF-beta signal transduction. *Science*. 1995;270:2008–11.
52. Liu W, Chang BL, Cramer S, Koty PP, Li T, Sun J, et al. Deletion of a small consensus region at 6q15, including the MAP3K7 gene, is significantly associated with high-grade prostate cancers. *Clin Cancer Res*. 2007;13:5028–33.
53. Taylor BS, Schultz N, Hieronymus H, Gopalan A, Xiao Y, Carver BS, et al. Integrative genomic profiling of human prostate cancer. *Cancer Cell*. 2010;18:11–22.
54. Leinonen KA, Saramäki OR, Furusato B, Kimura T, Takahashi H, Egawa S, et al. Loss of PTEN is associated with aggressive behavior in ERG-positive prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2013;22:2333–44.
55. Slezak J, Truong M, Huang W, Jarrard D. HP1gamma expression is elevated in prostate cancer and is superior to Gleason score as a predictor of biochemical recurrence after radical prostatectomy. *BMC Cancer*. 2013;13:148.
56. D'Antonio KB, Toubaji A, Albadine R, Mondul AM, Platz EA, Netto GJ, et al. Extracellular matrix associated protein CYR61 is linked to prostate cancer development. *J Urol*. 2010;183:1604–10.
57. D'Antonio KB, Schultz L, Albadine R, Mondul AM, Platz EA, Netto GJ, et al. Decreased expression of Cyr61 is associated with prostate cancer recurrence after surgical treatment. *Clin Cancer Res*. 2010;16:5908–13.
58. Thomsen MK, Francis JC, Swain A. The role of Sox9 in prostate development. *Differentiation*. 2008;76:728–35.

59. Zhong WD, Qin GQ, Dai QS, Han ZD, Chen SM, Ling XH, et al. SOXs in human prostate cancer: implication as progression and prognosis factors. *BMC Cancer*. 2012;12:248.
60. Attard G, Swennenhuis JF, Olmos D, Reid AH, Vickers E, A'Hern R, et al. Characterization of ERG, AR and PTEN gene status in circulating tumor cells from patients with castration-resistant prostate cancer. *Cancer Res*. 2009;69:2912–8.
61. Leyten GH, Hessels D, Jannink SA, Smit FP, de Jong H, Cornel EB, et al. Prospective Multicentre Evaluation of PCA3 and TMPRSS2-ERG Gene Fusions as Diagnostic and Prognostic Urinary Biomarkers for Prostate Cancer. *Eur Urol*. 2012.
62. Verdun RE, Karlseder J. Replication and protection of telomeres. *Nature*. 2007;447:924–31.
63. Dasi F, Martinez-Rodes P, March JA, Santamaria J, Martinez-Javaloyas JM, Gil M, et al. Real-time quantification of human telomerase reverse transcriptase mRNA in the plasma of patients with prostate cancer. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1075:204–10.
64. March-Villalba JA, Martinez-Jabaloyas JM, Herrero MJ, Santamaria J, Alino SF, Dasi F. Plasma hTERT mRNA discriminates between clinically localized and locally advanced disease and is a predictor of recurrence in prostate cancer patients. *Expert Opin Biol Ther*. 2012;12 Suppl 1:S69–77.
65. March-Villalba JA, Martinez-Jabaloyas JM, Herrero MJ, Santamaria J, Alino SF, Dasi F. Cell-free circulating plasma hTERT mRNA is a useful marker for prostate cancer diagnosis and is associated with poor prognosis tumor characteristics. *PLoS One*. 2012;7:e43470.
66. Tomlins SA, Rhodes DR, Yu J, Varambally S, Mehra R, Perner S, et al. The role of SPINK1 in ETS rearrangement-negative prostate cancers. *Cancer Cell*. 2008;13:519–28.
67. Grupp K, Diebel F, Sirma H, Simon R, Breitmeyer K, Steurer S, et al. SPINK1 expression is tightly linked to 6q15- and 5q21-deleted ERG-fusion negative prostate cancers but unrelated to PSA recurrence. *Prostate*. 2013;73:1690–8.
68. Flavin R, Pettersson A, Hendrickson WK, Fiorentino M, Finn S, Kunz L, et al. SPINK1 protein expression and prostate cancer progression. *Clin Cancer Res*. 2014;20:4904–11.
69. Westermann AM, Schmidt D, Holdenrieder S, Moritz R, Semjonow A, Schmidt M, et al. Serum microRNAs as biomarkers in patients undergoing prostate biopsy: results from a prospective multi-center study. *Anticancer Res*. 2014;34:665–9.
70. Tian L, Fang YX, Xue JL, Chen JZ. Four microRNAs promote prostate cell proliferation with regulation of PTEN and its downstream signals in vitro. *PLoS One*. 2013;8:e75885.
71. Klein EA, Cooperberg MR, Magi-Galluzzi C, Simko JP, Falzarano SM, Maddala T, et al. A 17-gene assay to predict prostate cancer aggressiveness in the context of Gleason grade heterogeneity, tumor multifocality, and biopsy undersampling. *Eur Urol*. 2014;66:550–60.
72. Cullen J, Rosner IL, Brand TC, Zhang N, Tsiatis AC, Moncur J, et al. A Biopsy-based 17-gene Genomic Prostate Score Predicts Recurrence After Radical Prostatectomy and Adverse Surgical Pathology in a Racially Diverse Population of Men with Clinically Low- and Intermediate-risk Prostate Cancer. *Eur Urol*. 2014.
73. Cuzick J, Swanson GP, Fisher G, Brothman AR, Berney DM, Reid JE, et al. Prognostic value of an RNA expression signature derived from cell cycle proliferation genes in patients with prostate cancer: a retrospective study. *Lancet Oncol*. 2011;12:245–55.
74. Cooperberg MR, Simko JP, Cowan JE, Reid JE, Djalilvand A, Bhatnagar S, et al. Validation of a cell-cycle progression gene panel to improve risk stratification in a contemporary prostatectomy cohort. *J Clin Oncol*. 2013;31:1428–34.
75. Gasi Tandefelt D, Boormans JL, van der Korput HA, Jenssen GW, Trapman J. A 36-gene signature predicts clinical progression in a subgroup of ERG-positive prostate cancers. *Eur Urol*. 2013;64:941–50.
76. Talantov D, Jatke TA, Bohm M, Zhang Y, Ferguson AM, Stricker PD, et al. Gene based prediction of clinically localized prostate cancer progression after radical prostatectomy. *J Urol*. 2010;184:1521–8.
77. Irshad S, Bansal M, Castillo-Martin M, Zheng T, Aytes A, Wenske S, et al. A molecular signature predictive of indolent prostate cancer. *Sci Transl Med*. 2013;5, 202ra122.
78. Liong ML, Lim CR, Yang H, Chao S, Bong CW, Leong WS, et al. Blood-based biomarkers of aggressive prostate cancer. *PLoS One*. 2012;7:e45802.
79. Chen X, Xu S, McClelland M, Rahmatpanah F, Sawyers A, Jia Z, et al. An accurate prostate cancer prognosticator using a seven-gene signature plus Gleason score and taking cell type heterogeneity into account. *PLoS One*. 2012;7:e45178.
80. Pontes-Junior J, Reis ST, Dall'Oglio M, Neves de Oliveira LC, Cury J, Carvalho PA, et al. Evaluation of the expression of integrins and cell adhesion molecules through tissue microarray in lymph node metastases of prostate cancer. *J Carcinog*. 2009;8:3.
81. Tsai YS, Lai CL, Lai CH, Chang KH, Wu K, Tseng SF, et al. The role of homeostatic regulation between tumor suppressor DAB2IP and oncogenic Skp2 in prostate cancer growth. *Oncotarget*. 2014;5:6425–36.
82. Garcia-Galiano D, Navarro VM, Gaytan F, Tena-Sempere M. Expanding roles of NUCB2/nesfatin-1 in neuroendocrine regulation. *J Mol Endocrinol*. 2010;45:281–90.
83. Kalnina Z, Silina K, Bruverer R, Gabruseva N, Stengrevics A, Barnikol-Watanabe S, et al. Molecular characterisation and expression analysis of SEREX-defined antigen NUCB2 in gastric epithelium, gastritis and gastric cancer. *Eur J Histochem*. 2009;53:7–18.
84. Suzuki S, Takagi K, Miki Y, Onodera Y, Akahira J, Ebata A, et al. Nucleobindin 2 in human breast carcinoma as a potent prognostic factor. *Cancer Sci*. 2012;103:136–43.
85. Stros M, Ozaki T, Bacikova A, Kageyama H, Nakagawara A. HMGB1 and HMGB2 cell-specifically down-regulate the p53- and p73-dependent sequence-specific transactivation from the human Bax gene promoter. *J Biol Chem*. 2002;277:7157–64.
86. Taguchi A, Blood DC, del Toro G, Canet A, Lee DC, Qu W, et al. Blockade of RAGE-amphoterin signalling suppresses tumour growth and metastases. *Nature*. 2000;405:354–60.
87. Bhattacharyya S, Solakyildirim K, Zhang Z, Linhardt RJ, Tobacman JK. Chloroquine reduces arylsulphatase B activity and increases chondroitin-4-sulphate: implications for mechanisms of action and resistance. *Malar J*. 2009;8:303.
88. Sparmann A, van Lohuizen M. Polycomb silencers control cell fate, development and cancer. *Nat Rev Cancer*. 2006;6:846–56.
89. Simon JA, Lange CA. Roles of the EZH2 histone methyltransferase in cancer epigenetics. *Mutat Res*. 2008;647(1–2):21–9.
90. Gómez-Ruiz M, Hernández M, de Miguel R, Ramos JA. An overview on the biochemistry of the cannabinoid system. *Mol Neurobiol*. 2007;36:3–14.
91. Melck D, De Petrocellis L, Orlando P, Bisogno T, Laezza C, Bifulco M, et al. Suppression of nerve growth factor Trk receptors and prolactin receptors by endocannabinoids leads to inhibition of human breast and prostate cancer cell proliferation. *Endocrinology*. 2000;141:118–26.
92. Milella M, Falcone I, Conciatori F, Cesta Incani U, Del Curatolo A, Inzerilli N, et al. PTEN: Multiple Functions in Human Malignant Tumors. *Front Oncol*. 2015;5:24.
93. Luijsterburg MS, Dinant C, Lans H, Stap J, Wiernasz E, Lagerwerf S, et al. Heterochromatin protein 1 is recruited to various types of DNA damage. *J Cell Biol*. 2009;185:577–86.
94. Perbal B. The CCN family of genes: a brief history. *Mol Pathol*. 2001;54:103–4.

95. Sun ZJ, Wang Y, Cai Z, Chen PP, Tong XJ, Xie D. Involvement of Cyr61 in growth, migration, and metastasis of prostate cancer cells. *Br J Cancer*. 2008;99:1656–67.
96. Takash W, Cañizares J, Bonneaud N, Poulat F, Mattéi MG, Jay P, et al. SOX7 transcription factor: sequence, chromosomal localisation, expression, transactivation and interference with Wnt signalling. *Nucleic Acids Res*. 2001;29:4274–83.
97. Guo L, Zhong D, Lau S, Liu X, Dong XY, Sun X, et al. Sox7 Is an independent checkpoint for beta-catenin function in prostate and colon epithelial cells. *Mol Cancer Res*. 2008;6:1421–30.
98. Zhou J, Ding D, Wang M, Cong YS. Telomerase reverse transcriptase in the regulation of gene expression. *BMB Rep*. 2014;47:8–14.
99. Truninger K, Ammann RW, Blum HE, Witt H. Genetic aspects of chronic pancreatitis: insights into aetiopathogenesis and clinical implications. *Swiss Med Wkly*. 2001;131(39–40):565–74.
100. Kota J, Chivukula RR, O'Donnell KA, Wentzel EA, Montgomery CL, Hwang HW, et al. Therapeutic microRNA delivery suppresses tumorigenesis in a murine liver cancer model. *Cell*. 2009;137:1005–17.
101. Visone R, Pallante P, Vecchione A, Cirombella R, Ferracin M, Ferraro A, et al. Specific microRNAs are downregulated in human thyroid anaplastic carcinomas. *Oncogene*. 2007;26:7590–5.
102. Huse JT, Brennan C, Hambardzumyan D, Wee B, Pena J, Rouhanifard SH, et al. The PTEN-regulating microRNA miR-26a is amplified in high-grade glioma and facilitates gliomagenesis in vivo. *Genes Dev*. 2009;23:1327–37.
103. Heinzelmann J, Henning B, Sanjmyatav J, Posorski N, Steiner T, Wunderlich H, et al. Specific miRNA signatures are associated with metastasis and poor prognosis in clear cell renal cell carcinoma. *World J Urol*. 2011;29:367–73.