



**UNIVERSIDAD
DE GRANADA**

**MARCADORES VOLÁTILES URINARIOS COMO HERRAMIENTA
DIAGNÓSTICA Y DE SCREENING DEL CÁNCER DE PRÓSTATA**

Tesis Doctoral

Programa Oficial de Doctorado en Bioquímica y Biología Molecular

María Salinero Bachiller

Granada, Mayo, 2018

Directores:

Dr. José María Peinado Herreros

Dr. Antonio Jiménez Pacheco

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: María Salinero Bachiller
ISBN: 978-84-9163-928-2
URI: <http://hdl.handle.net/10481/52359>

“Da tu primer paso ahora.
No importa que no veas el camino completo.
Solo da tu primer paso y el resto del camino
irá apareciendo a medida que camines”

Martin Luther King

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo no se habría podido realizar sin la colaboración de muchas personas que me brindaron su ayuda, por lo que me gustaría dejar constancia en estas líneas de mi más sincero agradecimiento a todas ellas. Sin vosotros, la finalización de esta tesis doctoral no hubiese sido posible.

En primer lugar, me gustaría agradecer, de manera especial, al Dr. José María Peinado y al Dr. Antonio Jiménez Pacheco su confianza en mí para la realización de esta tesis. Bajo su dirección me han guiado, apoyado y orientado en la labor científica con su dedicación y entrega, permitiéndome crecer tanto personal como profesionalmente.

También me gustaría agradecerle a la Dra. Iribar Ibabe su gran paciencia y su ayuda en los momentos de desesperación y nervios; a la Prof. María Teresa Miranda León, por guiarme con el análisis estadístico de los resultados; a José Miguel Ramos, por su colaboración en el análisis cromatográfico de las muestras, y en general, al Departamento de Bioquímica y Biología Molecular III e Inmunología, donde siempre me he sentido muy cómoda y desde el principio me han tratado como a una más.

Por otro lado, me gustaría también agradecer a mis compañeros y amigos de Medicina Legal por su ánimo y su apoyo desde que me adentré en este proyecto, en especial a María Saiz, que también ha sido un referente para mí en todo esto; y a mis amigos, especialmente a Gema, Zaida, José Ángel, Sara, Elena y Alba, a los que también he hecho partícipes de mi aventura con mis alegrías y mis penas.

Para terminar, mi agradecimiento más sentido va para mi familia. Gracias a ellos hoy estoy aquí. A mi padre, porque de él he aprendido a luchar y a ser valiente; a mi madre, porque no he conocido a una persona más generosa que ella, a mi hermano, porque tiene tanta paciencia conmigo que a veces me hace parecer a mí la pequeña de los dos; y a José, porque realmente, él es quien vive día a día mis pequeños y grandes pasos en este proyecto, quien aguanta mis cambios de humor y quien, aun así, no se ha separado de mí ni un solo momento.

Y mi agradecimiento más especial va para mi abuelo Gerardo, porque hoy te echo más de menos que nunca.

A todos, gracias.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	177
RESUMEN	233
1. INTRODUCCIÓN	29
1.1 La Glándula prostática	31
1.1.1 Embriogénesis	31
1.1.2 Anatomía e histología de la próstata	32
1.1.3 Fisiología de la próstata.....	37
1.1.3.1 Regulación hormonal de la glándula prostática.....	37
1.2 Afecciones prostáticas	39
1.2.1 Afecciones Benignas.....	39
1.2.1.1 Hiperplasia Benigna de Próstata (HBP)	39
1.2.1.2 Prostatitis	44
1.2.2 Afecciones precursoras del cáncer de próstata	45
1.2.2.1 Atrofia proliferativa inflamatoria (PIA)	46
1.2.2.2 Neoplasia intraepitelial prostática (PIN)	46
1.2.2.3 Carcinoma intraductal de próstata (IDC-P)	47
1.3 Cáncer de Próstata	48
1.3.1 Concepto	48
1.3.2 Epidemiología.....	48
1.3.2.1 Incidencia	49
1.3.2.2 Mortalidad.....	53
1.3.3 Factores de riesgo del cáncer de próstata	55
1.3.3.1 Causas Intrínsecas	55
1.3.3.1.1 Edad.....	55
1.3.3.1.2 Raza	56
1.3.3.1.3 Antecedentes familiares y herencia.....	57
1.3.3.1.4 Hormonales.....	58
1.3.3.2 Causas Extrínsecas.....	58
1.3.3.2.1 Factores de exposición ocupacional	58
1.3.3.2.2 Dieta	59

1.3.3.2.3	Obesidad	59
1.3.3.2.4	Factores sociales	60
1.3.3.2.5	Tabaquismo y consumo de alcohol.....	60
1.3.4	Clasificación del Cáncer de Próstata	61
1.3.4.1	Clasificación TNM. Estudio de la extensión del Cáncer de Próstata	61
1.3.4.2	Clasificación según el grado histopatológico (Puntuación de Gleason).....	62
1.3.4.3	Clasificación según el estadio clínico.....	65
1.3.4.4	Clasificación según factores de riesgo (Clasificación D'Amico).....	67
1.3.5	Diagnóstico del cáncer de próstata.....	68
1.3.5.1	Screening y detección temprana.....	68
1.3.5.2	Diagnóstico clínico.....	72
1.3.5.2.1	Examen dígito rectal (EDR).....	72
1.3.5.2.2	Marcadores tumorales de cáncer de próstata.....	72
1.3.5.2.3	Biopsia de próstata	79
1.3.5.2.4	Biopsia líquida	81
1.3.5.2.5	Pruebas de imagen.....	84
1.3.5.2.5.1	Ecografía transrectal	84
1.3.5.2.5.2	Ecografía Doppler color estándar y Power Doppler.....	85
1.3.5.2.5.3	Resonancia magnética multiparamétrica (RMNmp).....	86
1.3.5.2.5.4	Tomografía computerizada (TC) aislada y combinada con Tomografía por emisión de positrones.....	89
1.3.5.3	Estudio de Biomarcadores en el cáncer de próstata.....	91
1.3.5.3.1	Basados en el ADN	92
1.3.5.3.2	Basados en el ARN.....	93
1.3.5.3.3	Basados en las proteínas.....	95
1.3.6	Factores Pronósticos En Cancer De Próstata	98
1.3.7	Tratamiento Del Cáncer De Próstata.....	100
1.3.7.1	Opciones Terapéuticas Según Grupos De Riesgo.....	100
1.3.7.1.1	Vigilancia activa.....	102
1.3.7.1.2	Prostatectomía Radical	104
1.3.7.1.3	Radioterapia externa.....	106
1.3.7.1.4	Braquiterapia.....	107
1.3.7.1.5	Hormonoterapia.....	108
1.3.7.2	Opciones terapéuticas alternativas del CaP localizado.....	111

1.4	Compuestos orgánicos volátiles.....	111
1.4.1	Compuestos volátiles de interés en medicina.....	113
1.4.2	Compuestos orgánicos volátiles y cáncer de próstata.....	122
1.5	El olfato.....	122
1.5.1	Percepción del olor.....	123
1.5.2	El sentido olfativo del perro.....	124
1.5.3	El sentido olfativo en el perro y el cáncer de próstata.....	127
2.	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	129
3.	METODOLOGÍA.....	133
3.1	Diseño del estudio.....	135
3.2	Selección de casos y controles.....	135
3.3	Criterios de Inclusión.....	136
3.4	Criterios de Exclusión.....	137
3.5	Consideraciones éticas.....	137
3.6	Método de recogida de información.....	139
3.7	Recogida y almacenamiento de muestras.....	139
3.8	Análisis cromatográfico.....	140
3.9	Análisis estadístico.....	143
4.	RESULTADOS.....	145
4.1	Características sociodemográficas y variables diagnósticas.....	147
4.1.1	Descripción de las características de los grupos de estudio.....	147
4.1.2	Resultados obtenidos para el PSA.....	150
4.1.3	Resultados obtenidos para el IMC.....	151
4.2	Compuestos orgánicos volátiles en las muestras de orina.....	153
4.2.1	Antes del masaje prostático.....	155
4.2.2	Después del masaje prostático.....	156
4.2.3	Correlación entre compuestos orgánicos volátiles y PSA.....	158
4.2.4	Correlación entre compuestos orgánicos volátiles y Grado de Gleason.....	159
4.2.5	Correlación entre compuestos orgánicos volátiles e IMC.....	160
5.	DISCUSIÓN.....	161
5.1	Sobre la Metodología.....	163
5.1.1	Diseño del estudio.....	163
5.1.2	Análisis cromatográfico.....	163

5.2	Sobre los Resultados	165
5.2.1	Sobre la relación entre PSA e IMC con el cáncer de próstata	165
5.2.2	Sobre los compuestos orgánicos volátiles	167
5.3	Limitaciones y perspectivas futuras	177
6.	CONCLUSIONES.....	179
7.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	183
8.	ANEXOS	219

ABREVIATURAS

3D-CRT: Radioterapia Conformal Tridimensional

ACR: Colegio Americano de Radiología

ACTH: Hormona Adrenocorticotropa

AMACR: Coenzima A racemasa alfa-metilicilina

ASAP: Proliferación Acinar Pequeña Atípica

AUA: Asociación Americana de Urología

BAC: Bloqueo Androgénico Completo

CaP: Cáncer de Próstata

CTCs: Células Tumorales Circulantes

ctDNA: Cell-free tumoral DNA

cfDNA: Cell-free DNA

COVs: Compuestos Orgánicos Volátiles

DHT: Dihidrotestosterona

ECA: Ensayo Clínico Aleatorizado

EDR: Examen dígito-rectal

EGF: Factor de Crecimiento Epidemiológico

ERSPC: European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer

ESUR: Sociedad Europea de Radiología Urogenital

ETR: Ecografía Transrectal

ETS: Factor de Transcripción E

EAU: Asociación Europea de Urología

FDA: Food and Drug Administration

FGF: Factor de Crecimiento relacionado con Fibroblastos

FSH: Hormona Estimuladora del Folículo

GC-MS: Cromatografía de Gases con detector de Espectrometría de Masas

GnRH: Hormona Liberadora de Gonadotrofinas

GOLM1: Proteína de membrana Golgi 1

GSTP1: Glutatió-S-transferasa P

HBP: Hiperplasia Benigna de Próstata

HIFU: High Intensity Focused Ultrasound

IARC: International Agency for Research on Cancer

IC: Intervalo de Confianza

ICD-P: Carcinoma Intraductal de Próstata

ID: Número de Identificación

IGF-I/II: Factor de Crecimiento semejante a la Insulina

IMC: índice de Masa Corporal

INE: Instituto Nacional de Estadística

LH: Hormona Luteinizante

LHRH: Hormona Liberadora de la Hormona Luteinizante

LUTS: Síntomas del Tracto Urinario Inferior

NCCN: National Comprehensive Care Network

NIH: National Institute of Health

OMS: Organización Mundial de la Salud

PAP: Fosfasasa Ácida Prostática

PET: Tomografía por Emisión de Positrones

PIA: Atrofia Proliferativa Inflamatoria

PHI: Índice de Salud de la Próstata

PIN: Neoplasia Intraepitelial Prostática

PIVOT: Prostate Cancer Intervention Versus Observation Trial

PR: Prostatectomía Radical

PSA: Antígeno Prostático Específico

PSAD: Densidad del PSA

PSA-DT: Tiempo de duplicación del PSA

PSA_c: PSA complejo

PSA_f: PSA libre

PSA_t: PSA total

PSAV: Velocidad del PSA

QoL: Calidad de vida mantenida

RA: Receptor de Andrógenos

RMN: Resonancia Magnética Nuclear

RMNmp: Resonancia Magnética Multiparamétrica

RR: Riesgo Relativo

RT: Radioterapia

SA: Supresión Androgénica

SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica

SG: Supervivencia Global

SHBG: Globulina transportadora de hormonas sexuales

SIBL: Sociedad Internacional de Biopsia Líquida

SNC: Sistema Nervioso Central

SPME: Microextracción en fase sólida

TDA: Terapia de Deprivación Androgénica

TFG- β : Factor de Crecimiento Transformante- β

TC: Tomografía Computerizada

TMPRSS2: Gen 2 andrógeno regulado la proteasa serina transmembrana

TR: Tacto Rectal

UICC: Unión Internacional contra el Cáncer

USEPA: United States Environmental Protection Agency

VPN: Valor Predictivo Negativo

VPP: Valor Predictivo Positivo

ZA: Zona anterior de la próstata

ZC: Zona central de la próstata

ZP: Zona periférica de la próstata

ZT: Zona de transición de la próstata

RESUMEN

El cáncer de próstata (CaP) es el tumor maligno no cutáneo diagnosticado con mayor frecuencia entre los hombres en el mundo occidental. Desde hace varias décadas, el antígeno prostático específico (PSA) se ha considerado el biomarcador más importante para la detección del cáncer de próstata; sin embargo, a pesar de su sensibilidad, su especificidad es baja, lo que ha llevado a la búsqueda de nuevos biomarcadores alternativos. Una opción que ha suscitado creciente interés y resultados en otros tipos de tumores son los compuestos orgánicos volátiles (COVs), que se liberan durante el metabolismo celular y se pueden encontrar en el aliento exhalado, la orina y otros fluidos. Se ha demostrado que los COVs son útiles en el diagnóstico de pacientes con cáncer de pulmón, mama, ovario y colorrectal, entre otros. Por otra parte, se ha demostrado que perros entrenados son capaces de distinguir la orina de pacientes con cáncer de próstata de la perteneciente a pacientes sanos. En base a lo anterior, el objetivo de este estudio ha sido identificar los compuestos orgánicos volátiles presentes en la orina de pacientes con cáncer de próstata, comparando los resultados con los obtenidos en pacientes con hiperplasia benigna de próstata, esperando un comportamiento diferencial entre ambos grupos, así como su relación con marcadores diagnósticos ya establecidos como PSA y grado de Gleason.

El estudio incluyó a 29 pacientes con CaP y 21 con hiperplasia benigna de próstata (HBP). Se obtuvieron muestras de orina de todos los participantes antes y después de la realización de un masaje prostático. Los compuestos orgánicos volátiles se identificaron y semicuantificaron mediante cromatografía de gases y detección por espectrometría de masas (GC-MS). El programa estadístico IBM SPSS Statistics v.20 se usó para el análisis de los resultados. Se estudiaron la normalidad de la muestra y la homogeneidad de las varianzas y, de acuerdo con la normalidad de la distribución, se evaluaron las diferencias significativas entre los grupos. La prueba de Pearson se usó para establecer correlaciones.

Nuestros resultados han dado lugar a la identificación de cincuenta y siete COVs. El 3-metilfenol, el dimetildisulfuro, el CO₂ y la 4-heptanona han estado dentro de los seis compuestos más abundantes en ambos grupos de estudio tanto antes como después de la realización del masaje prostático.

Las muestras obtenidas antes del masaje, mostraron diferencias significativas entre ambos grupos de estudio en los niveles de furano ($p \leq 0.001$), 2-etilhexanol ($p = 0.032$), 3,5-dimetilbenzaldehído ($p = 0.027$), santolina trieno ($p = 0.032$), y 2,6-dimetil-7-octen-2-ol ($p = 0.003$), siendo, en el caso del furano, los niveles superiores en pacientes con CaP, y en los otros cuatro compuestos, sin embargo, los niveles superiores se encontraron en los pacientes con HBP. Aunque la literatura es bastante escasa en cuanto a algunos de estos compuestos, ciertos autores también han demostrado que el 2-etilhexanol y el 2,6-dimetil-7-octen-2-ol se encuentran en niveles inferiores en pacientes con diferentes tipos de cáncer.

Las muestras obtenidas después del masaje prostático mostraron diferencias significativas en los niveles de furano ($p \leq 0.001$), 3-metilfenol ($p = 0.014$), p-xileno ($p = 0.002$), fenol ($p \leq 0.001$) y 2-butanona ($p = 0.001$), mostrando, en todos ellos, niveles superiores en pacientes con CaP. Además, se analizaron las posibles correlaciones entre estos compuestos y el grado de Gleason y el PSA. Solamente el p-xileno mostró una correlación positiva con ambas variables. En este caso, compuestos como el 3-metilfenol o la 2-butanona han sido anteriormente propuestos como biomarcadores de cáncer en general, y el p-xileno, como biomarcador de cáncer de próstata.

Por otra parte, se ha encontrado una correlación positiva entre el PSA y el grado de Gleason en pacientes con CaP ($p = 0.01$). Aunque ciertos estudios han encontrado una relación inversa entre estas dos variables, otros evidencian que un mayor nivel de PSA está relacionado con la presencia de cáncer de próstata avanzado y puede considerarse un marcador fiable de CaP metastásico.

Asimismo, también se ha encontrado una correlación positiva entre el índice de masa corporal (IMC) y el grado de Gleason ($p < 0,01$) en el grupo de pacientes con CaP, lo que reafirmaría la idea propuesta por algunos autores de que de todos los parámetros que miden la obesidad, solo el IMC ha demostrado tener relación específica con un mayor riesgo de padecer cáncer de próstata avanzado.

Así, teniendo en cuenta esto y las diferencias significativas existentes entre los pacientes con CaP y HBP en los niveles de ciertos compuestos orgánicos volátiles tanto antes como después del masaje prostático, se podría confirmar que los COVS podrían servir como biomarcadores específicos del CaP.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 La Glándula prostática

1.1.1 Embriogénesis

La próstata deriva del endometrio primitivo. La diferenciación regional del tubo intestinal primitivo en intestino anterior, medio y posterior, es seguida por una dilatación del extremo caudal, creando la cloaca. Esta cloaca recibe la producción tanto urinaria como intestinal, y está muy diferenciado en aves, reptiles, anfibios, marsupiales y monotrenes. En mamíferos placentarios, sin embargo, se divide por el tabique urorectal durante la embriogénesis, creando una salida urinaria y una salida digestiva. El compartimento urinario ventral recibe el nombre de seno urogenital primitivo, que se segmentará originando la vejiga urinaria y la uretra (Nathoo et al., 2011).

En humanos, la próstata se desarrolla caudal al cuello de la vejiga, por proliferación de yemas epiteliales que se extienden hacia fuera desde el epitelio del seno urogenital. Esta formación se produce en la semana 10 de gestación, aunque como proceso completo, la próstata inicia su desarrollo en la séptima semana de la embriogénesis, y se diferencia completamente entre las semanas 11 y 13 (Nathoo et al., 2011).

Las yemas epiteliales invaden regiones estereotipadas que condicionarán el desarrollo de las distintas zonas prostáticas. Estas regiones se preparan para la invasión del brote epitelial por "condensación mesenquimal (Thomson, 2008). Esta condensación es independiente de andrógenos, ya que ocurre tanto en mujeres como en hombres. Por el contrario, el proceso de invasión del brote epitelial si está ligado a los andrógenos, y representa los primeros eventos en el desarrollo de la próstata, identificables a nivel microscópico. Este proceso requiere que las células mesenquimales y epiteliales interactúen (Thomson, 2008; Nathoo et al., 2011).

La zona mesenquimal situada por encima del conducto wolfiano originará la próstata craneal, en la que habitualmente se desarrolla la hiperplasia benigna de próstata. Por el contrario, la

zona mesenquimal inferior al conducto de Wolf derivará en la zona caudal de la próstata, que dará lugar al 80% de los carcinomas prostáticos (Thomson, 2008; Nathoo et al., 2011).

1.1.2 Anatomía e histología de la próstata

La próstata es una glándula de secreción exocrina que presenta una parte glandular y otra fibromuscular. Forma parte del aparato genital masculino, aunque está muy relacionado con la vejiga y la uretra.

Se ubica en la zona retroperitoneal de la cavidad pélvica del hombre. La base se orienta hacia arriba, bajo la vejiga; el vértice hacia abajo, apoyado en el diafragma urogenital, delante del recto y por debajo de la vejiga urinaria, rodeando la uretra y los conductos eyaculadores que desembocan en ella (Lue et al., 2014). El peso de una próstata normal es de aproximadamente unos 18 gramos, y sus dimensiones son, 3 x 4 x 2 cm (Wein et al., 2015). Durante la pubertad, su crecimiento es más rápido debido a la acción de la testosterona y de la dihidrotestosterona (DHT), que se producen en los testículos. Esta hormona hace que, mientras está presente, el tamaño de la próstata se mantenga más o menos similar o crezca muy lentamente. Sin embargo, con la edad, se produce un aumento relativo de las hormonas femeninas respecto a la testosterona, provocando cambios histológicos que aumentan el tamaño de la glándula prostática, pudiendo originar una hiperplasia benigna de próstata (HBP). La próstata presenta en su interior células glandulares que se encargan de producir parte del fluido seminal y ayudan a transportar los espermatozoides hacia el exterior como parte del semen en el momento de la eyaculación (Latarjet and Ruiz-Liard, 2008).

Después de Lowseley en 1912, el primero en realizar una división de la próstata fue McNeal en 1981 (McNeal, 1981). Según él, las estructuras que atraviesan la próstata, la uretra y los conductos eyaculadores dividen la próstata en cuatro regiones claramente diferenciadas (Figura 1):

- 1- Zona anterior o estroma fibromuscular (ZA): Ocupa un tercio de la masa total de la próstata. La forma un tejido no glandular que se extiende posterolateralmente formando la glándula prostática. No participa en ninguna patología de la próstata.
- 2- Zona periférica (ZP): Se extiende desde la base hasta el apéndice a lo largo de la pared posterior, y rodea la uretra distal. representa el 70% del volumen de la próstata glandular, ya que comprende las superficies laterales, dorsales y apicales de la próstata, y es donde se localizan casi el 80% de los carcinomas y la más afectada por la prostatitis crónica (De Marzo et al., 2007; Delongchamps et al., 2009). Esta región es palpable mediante examen digital del recto o tacto rectal.
- 3- Zona central (ZC): Está localizada en la base de la próstata, entre la zona de transición y la periférica, y es atravesada por los conductos eyaculadores. Constituye en torno al 20% del volumen del tejido glandular prostático. Aquí ocurren el 10% de las neoplasias malignas y es menos sensible a los procesos inflamatorios que la ZP (DeLongchamps et al., 2009). Sus conductos tienen una mayor longitud que los del resto de las áreas, y el citoplasma de las células secretoras es mucho más granular y oscuro.
- 4- Zona de transición (ZT) (periuretral): Consta de dos pequeños lóbulos que rodean a la uretra, y representa aproximadamente el 10% del volumen de la próstata. Es el lugar donde se desarrolla la HBP y es donde asientan el 10-20% de los tumores malignos de la próstata (DeLongchamps et al., 2009), aunque únicamente el 2% asientan en ella de forma exclusiva (Pelzer et al., 2005).

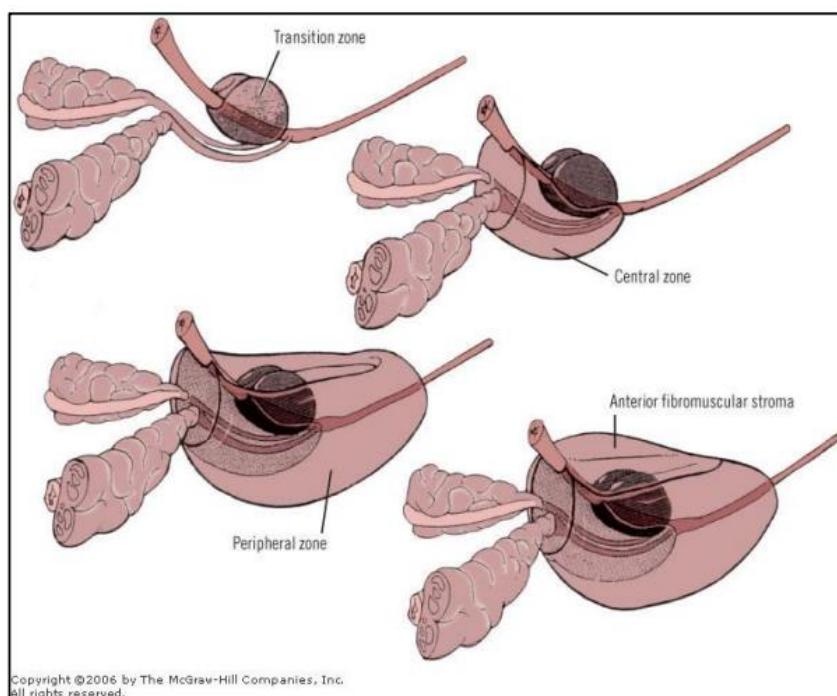


Figura 1. Estructura anatómica de la próstata. Disponible en: <http://ueu.co/es/accesssurgery-print-25/>

Además de estas cuatro zonas, el esfínter preprostático también forma parte del órgano prostático. Actúa como esfínter en el momento de la eyaculación, evitando el reflujo del fluido seminal hacia la vejiga. Se compone principalmente de un esfínter cilíndrico de musculatura lisa alrededor de la uretra preprostática, dentro del que se encuentran las glándulas periuretrales, que representan menos del 1% de la masa glandular prostática pero que también dan lugar a la hiperplasia benigna de próstata (Villers et al., 1991).

Histológicamente, la glándula prostática está constituida por un componente glandular y otro no glandular, ambos dentro de la cápsula prostática. El componente glandular se compone de unas 40-40 glándulas tuboalveolares que se vacían en unos 20 conductos excretores independientes, los cuales, a su vez, desembocan la uretra, a ambos lados del colículo seminal (Kierszenbaum and Tres, 2016). Las glándulas están incluidas en un estroma compuesto, en su mayor parte, por células musculares lisas separadas por hebras de tejido conectivo. El músculo conforma una masa muy densa alrededor de la uretra y por debajo de la cápsula prostática, que la delimita. El epitelio glandular, que descansa sobre una delgada lámina propia, presenta

glándulas ramificadas y conductos, y en él se pueden diferenciar tres tipos de células: secretoras luminales, basales y neuroendocrinas (Lang et al., 2009; Bruel et al., 2014) (Figura 2).

- Células epiteliales secretoras luminales

Presentan un aspecto cilíndrico y un tamaño entre 10-20 μm , son muy abundantes en la próstata y están totalmente diferenciadas. Forman una capa continua de células columnares polarizadas que secretan proteínas y expresan marcadores tumorales característicos, como el antígeno prostático específico (PSA) (Toivanen and Shen, 2017), y la fosfatasa ácida prostática (PAP) (Sinha et al., 1987) o las citoqueratinas 8 y 18. Además, expresan altos niveles de receptor de andrógenos (Shen and Abate-Shen, 2010). El núcleo de estas células se encuentra en la base, y presenta abundante aparato de Golgi, gránulos de secreción y enzimas. Forman un anillo alrededor del acino, hacia el que producen las secreciones que drenan a los conductos conectados con la uretra (Toivanen and Shen, 2017).

- Células basales

Son mucho más pequeñas que las células secretoras, tienen bajo índice mitótico y son menos abundantes, representando menos del 10% de la cantidad total de células. Es probable que el compartimento de este tipo de células sea la fuente de las células madre epiteliales de la próstata (Uzagre et al., 2004) ya que son poco diferenciadas, tienen bajo índice de proliferación y que carecen de actividad secretora. Se encuentran debajo del epitelio luminal, bajo las células secretoras y neuroendocrinas (Figura 2). Tienen forma fibroblástica y expresan p63 y las citoqueratinas de alto peso molecular 5 y 14 (Toivanen and Shen, 2017). Sin embargo, expresan receptor de andrógenos en niveles muy bajos o indetectables (Shen and Abate-Shen, 2010).

- Células neuroendocrinas

Se encuentran distribuidas de forma irregular entre los acinos y los conductos de la glándula, así como en el urotelio de la mucosa uretral prostática. Carecen de receptores de andrógenos, se encuentran bien diferenciadas y no proliferan. Su función es desconocida y expresan marcadores endocrinos como la cromogranina A y la sinaptofisina (Shen and Abate-Shen, 2010). Hay dos tipos de células neuroendocrinas: unas abiertas, que poseen microvellosidades especializadas que sobresalen hacia el interior de la luz; y otras cerradas por largas prolongaciones similares a dendritas que se extienden hasta las células epiteliales vecinas y las células basales cercanas a los nervios aferentes y eferentes (Toivanen and Shen, 2017). Además, experimentos de reconstrucción de tejidos han demostrado que los tejidos epiteliales adultos pueden regenerar células neuroendocrinas (Wang et al., 2013).

La proporción de epitelio glandular y epitelio estromal es de 5:1, lo que, en parte, se debe a que el estroma es el encargado de comprimir el epitelio glandular en el acto de la eyaculación para secretar el contenido a la luz de la glándula.

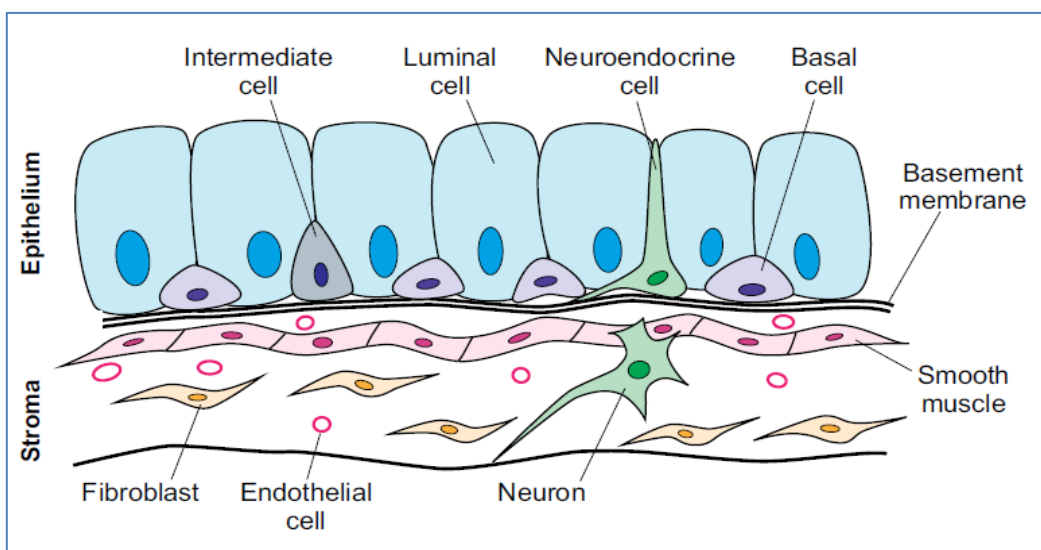


Figura 2. Tipos de células diferenciadas en la próstata. Obtenido de Toivanen and Shen, 2017.

1.1.3 Fisiología de la próstata

La principal función de la glándula prostática es la secreción del líquido prostático. Éste, es un líquido alcalino rico en zinc de color claro y aspecto lechoso. En la eyaculación, este líquido se une al semen, representando aproximadamente un 30% del mismo (Hall, 2016). El hecho de que se trate de un líquido alcalino puede ser muy importante para una buena fertilización del óvulo, ya que el conducto deferente es relativamente ácido, lo que inhibe su fertilidad (Hall, 2016). Así, posiblemente el líquido prostático neutralice la acidez de las demás secreciones después de la eyaculación, permitiendo un aumento de la motilidad y de la fertilidad de los espermatozoides (Gómez and Serrano, 2016).

Los productos proteicos mayoritarios en la secreción prostática son la fosfatasa ácida específica de la próstata, el antígeno prostático específico, la amilasa y la profibrinolisisina (Kierszenbaum and Tres, 2016), así como la enzima de coagulación.

Por un lado, la fosfatasa ácida de la próstata regula la proliferación celular y el metabolismo del epitelio glandular de la próstata, y el PSA mantiene el fluido eyaculado (Geneser, 2001). Por otra parte, la enzima de coagulación del líquido prostático hace que el fibrinógeno del líquido de la vesícula seminal forme un coágulo de fibrina para mantener el semen en las regiones profundas de la vagina, en el cuello uterino. Una vez aquí, este coágulo se deshace debido a la lisis de la fibrinolisisina formada por la profibrinolisisina prostática, dando a los espermatozoides mayor movilidad (Hall, 2016).

1.1.3.1 *Regulación hormonal de la glándula prostática*

La regulación y el crecimiento de la próstata están influidos por andrógenos, hormonas esteroideas sexuales masculinas, hormonas peptídicas y factores de crecimiento. En la próstata normal, la tasa de proliferación de las células epiteliales está regulada por estos andrógenos, y compensada por una tasa similar de apoptosis.

Los andrógenos son los esteroides sexuales responsables del desarrollo fenotípico masculino. Se producen principalmente en los testículos, aunque pequeñas cantidades son producidas también en las glándulas suprarrenales, y en las mujeres, en el tejido ovárico (Hall, 2016). El andrógeno más abundante es la testosterona, aunque el más activo es su metabolito, la dihidrotestosterona (DHT).

El eje hipotálamo-hipófiso-gonadal es el encargado de regular la síntesis de andrógenos. En él, la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH), también llamada hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), actúa sobre las células de la adenohipófisis estimulando la secreción pulsátil de hormona luteinizante (LH), la que, a su vez, estimula las células de Leydig para inducir la síntesis de andrógenos en los testículos (testosterona). Por otro lado, la glándula suprarrenal es estimulada por la hormona adrenocorticotrófica (ACTH) y libera andrógenos menores como la androstenediona, que también es convertida en estrógenos. Además, la prolactina también tiene un efecto menor sobre la estimulación del crecimiento de la próstata inducido por andrógenos (Wein et al., 2015) (Figura 3).

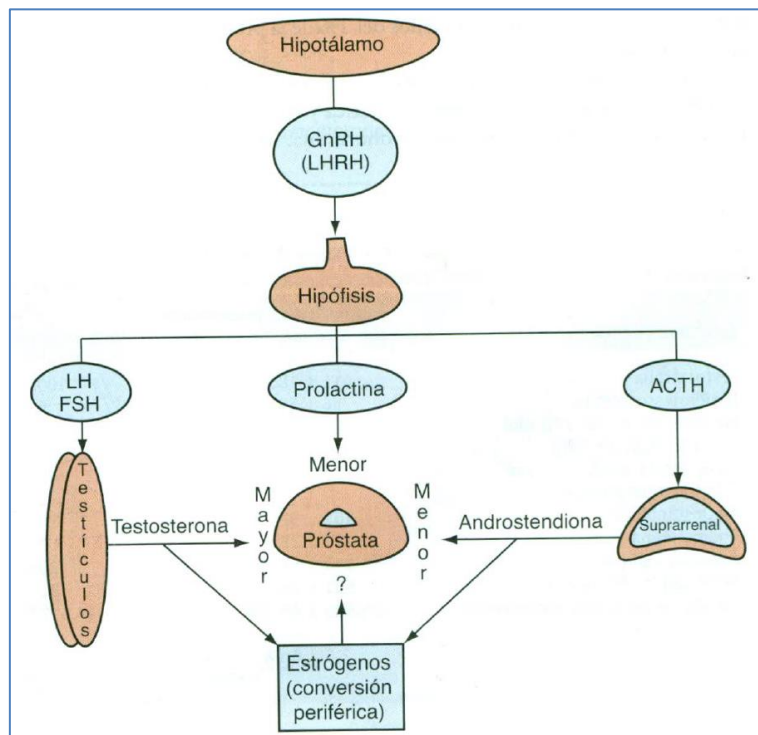


Figura 3. Endocrinología simplificada de la próstata. Obtenido de Wein et al., 2015.

La testosterona liberada pasa a la circulación sanguínea, unida a la albúmina o a la globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG) para ejercer sus efectos, mediados por el receptor de andrógenos (RA) a nivel intracelular (Acuña-Tapia et al., 2015). La testosterona se difunde a través de las membranas y entra en la célula prostática. Allí, la 5-alpha reductasa la transforma en DHT, y es transportada al citoplasma de la célula epitelial, considerándose como el principal andrógeno regulador del crecimiento prostático (Ekman, 2000).

Por otro lado, entre los factores de crecimiento presentes en la próstata están el TFG- β (factor de crecimiento transformante- β), FGF (factor de crecimiento relacionado con fibroblastos), IGF-I/II (factor de crecimiento semejante a la insulina) y EGF (factor de crecimiento epidémico), que regulan la proliferación celular, la diferenciación y la apoptosis de las células epiteliales. Si el equilibrio que debe existir entre estos factores de crecimiento y sus inhibidores es alterado, pueden ocasionarse lesiones como la hiperplasia benigna de próstata y estados premalignos que pueden dar lugar al desarrollo de cáncer de próstata (Zhu and Kyprianou, 2008).

1.2 Afecciones prostáticas

1.2.1 Afecciones Benignas

Entre las patologías benignas que afectan a la glándula prostática destacan la hiperplasia benigna de próstata y la prostatitis prostática (Rodríguez-López et al., 2007). Ambas se tratan a continuación.

1.2.1.1 Hiperplasia Benigna de Próstata (HBP)

También es llamada hiperplasia nodular. Es una de las afecciones benignas más comunes en hombres de edad avanzada que puede conducir a síntomas del tracto urinario inferior (LUTS). Se caracteriza por un incremento de tamaño de la glándula prostática en la zona de transición periuretral (Priest and, 2012).

- *Epidemiología*

Desde hace una década, la HBP es el tumor benigno más frecuente del varón (Fernández-Arjona and Pereira-Sanz, 2008). Comienza a desarrollarse aproximadamente a los 30 años, y aumenta con la edad hasta llegar a un 90% de los hombres de alrededor de los 80 años (Thiruchelvam, 2014). A los 60 años, ya han sido diagnosticados de HBP el 50% de los varones, y el 75% a los 70 años (Priest et al., 2012).

La incidencia regional de la HBP no es fácil de analizar, ya que los criterios de evaluación utilizados en cada región son diferentes. En EEUU, las razas blanca y negra tienen una incidencia equivalente, pero los hombres de raza negra comienzan a presentar síntomas a una edad más temprana. Los asiáticos presentan una prevalencia clínica muy baja (11% a los 80 años) respecto a la raza blanca. Estas diferencias podrían estar influidas por factores raciales, dietéticos y genéticos (Rodríguez-Reina et al., 2011).

- *Factores de riesgo*

Los factores de riesgo para el desarrollo de la HBP pueden agruparse en cinco grupos: edad, genética, hormonas sexuales esteroideas, estilos de vida e inflamación (Parsons, 2010).

La edad, como ya se ha comentado, se asocia con un aumento del tamaño prostático (McNicholas and Swallow, 2011). La historia familiar, por su parte, también ha sido considerada un factor de riesgo para el desarrollo de la HBP. Esto es más probable en pacientes que precisan cirugía antes de los 60 años. Además, la HBP hereditaria se caracteriza por desarrollar volúmenes prostáticos elevados (82,7 ml), mientras que en la esporádica, el volumen medio es bastante inferior (55,5 ml) (Rodríguez-Reina et al., 2011).

Existen estudios que han evaluado la asociación de los niveles de hormonas sexuales endógenas con la HBP (Parsons et al., 2010). Algunos de ellos no han observado asociaciones, pero otros han informado una relación inversa entre la testosterona en suero y la HBP

(Parsons et al., 2010). Eso implica que concentraciones elevadas de testosterona en suero no promueven la HBP. Por el contrario, otros estudios han observado que el riesgo de padecer HBP aumenta con el incremento de las concentraciones séricas de DHT y sus metabolitos.

Un gran avance en la epidemiología de la HBP fue el hecho de que se reconociera que ciertos factores del estilo de vida influyen en la historia natural de la enfermedad. Un estudio de Massachusetts observó un mayor riesgo de padecer HBP asociado a niveles elevados de PSA libre, enfermedad coronaria y el uso de beta-bloqueantes. Por el contrario, un bajo riesgo se asoció con fumar de 1 a 20 cigarrillos diarios y con niveles mayores de actividad física. Sin embargo, el riesgo no se alteraba por la ingesta calórica total, la actividad sexual, el consumo de alcohol, etc (Meigs et al., 2010).

Por último, la inflamación se considera muy relacionada con el desarrollo de HBP según la mayoría de estudios (Parsons, 2010). En un estudio longitudinal se constató que la prostatitis se asociaba con un aumento del riesgo de padecer HBP (Sauver et al., 2008).

- *Fisiopatología y etiopatogenia*

Se desconocen las bases moleculares del proceso hiperplásico, pero es posible que el aumento sea consecuencia de la proliferación de las células epiteliales y del estroma, o de una alteración del proceso de muerte celular programada que conduce a una acumulación de células. Además, el aumento de estrógenos afecta al crecimiento anómalo de las células epiteliales e incrementa la proliferación de las células del estroma de la próstata (Prins, 2000).

Los síntomas de la HBP están causados por dos mecanismos: obstrucción «mecánica», y obstrucción «dinámica» (Rodríguez-Reina et al., 2011). Inicialmente hay una obstrucción a nivel del cuello vesical y de la uretra prostática que dificulta la salida de la orina, produciéndose una hiperplasia del músculo detrusor de la vejiga como mecanismo compensador, disminuyendo así la capacidad del reservorio. En una segunda fase, el detrusor

no puede vencer la obstrucción, pudiendo aparecer retención de orina e hipersensibilidad vesical. En la fase más avanzada, la retención de orina es crónica y se pierde la capacidad contráctil, dando lugar a incontinencia urinaria con riesgo de infección e incluso de insuficiencia renal (Figura 4) (Veiga et al., 2010).

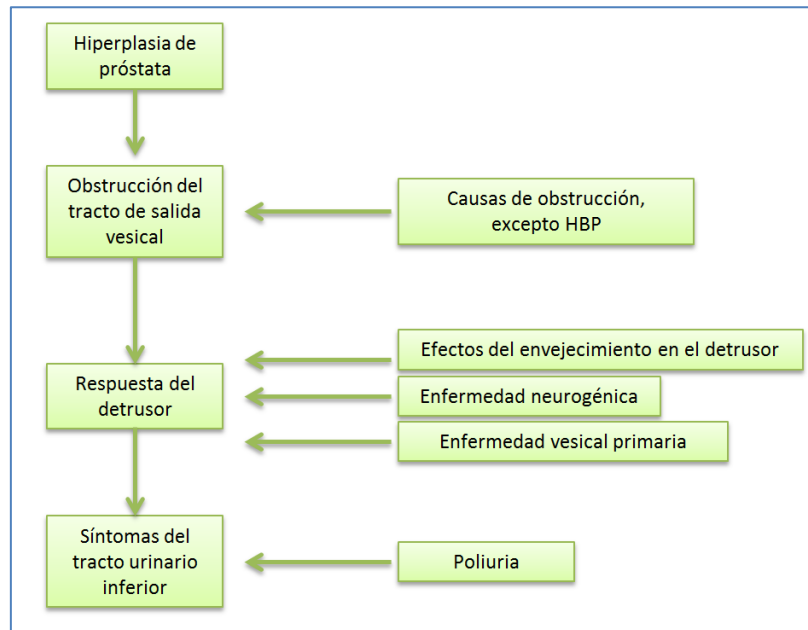


Figura 4. Fisiopatología de la hiperplasia benigna de próstata. Obtenida de Wein et al., 2015. *Histología*

McNeal, en 1978, demostró que la HBP comienza en la zona de transición periuretral de la próstata. Esta zona está compuesta por dos glándulas separadas localizadas inmediatamente por fuera del esfínter prostático. Los conductos principales de la zona de transición nacen en la parte lateral de la pared uretral en el punto de angulación uretral cerca del verumontanum (colículo seminal). Cerca del nacimiento de estos conductos se encuentran las glándulas, confinadas en el esfínter prostático. La cápsula prostática desempeña un papel importante en el desarrollo de síntomas del tracto urinario inferior (Rohr and Bartsch, 1980).

Existen evidencias clínicas de la importancia de esta cápsula, que derivan de series en las que se observa que la incisión transuretral de la próstata produce una mejoría significativa de la obstrucción al flujo de salida urinario, a pesar de que no se modifique el volumen de la

próstata. El tamaño prostático no se correlaciona con el grado de obstrucción. Por ende, la aparición de síntomas clínicos puede depender de otros factores, como la resistencia uretral dinámica, la cápsula prostática o el pleomorfismo anatómico. En algunos casos, el crecimiento predominante de los nódulos periuretrales en el área del cuello vesical origina el “lóbulo medio” de la próstata (Rohr and Bartsch, 1980) (Figura 5).

En el proceso de HBP, McNeal documentó un incremento de la cantidad de células y que los nódulos periuretrales tempranos están compuestos exclusivamente por estroma. Durante los primeros años de desarrollo de una HBP, la enfermedad puede caracterizarse sobre todo por el incremento de la cantidad de nódulos (McNeal et al., 1990).

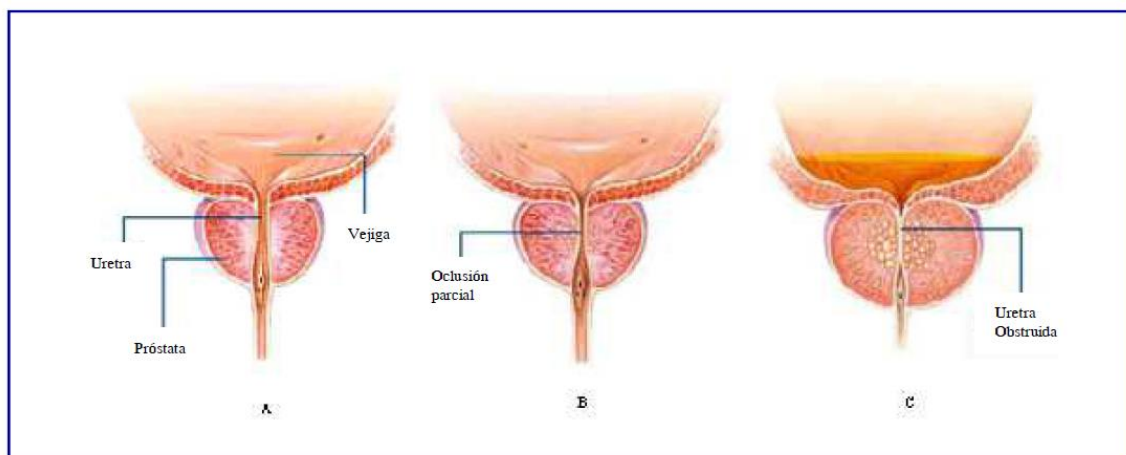


Figura 5. Fases evolutivas en la obstrucción por hiperplasia benigna de próstata. A: próstata normal, B: primera fase, C: segunda fase. Obtenido de <http://www.nlm.nih.gov/>

- *Clínica*

Las manifestaciones clínicas de la HBP comprenden síntomas de las vías urinarias inferiores, vaciamiento vesical inadecuado, retención urinaria, vejiga hiperactiva, infección urinaria, hematuria e insuficiencia renal. Estos síntomas se tienden a englobar dentro del término LUTS (Low Urinary Tract Symptoms), del cual, se distinguen dos tipos: los de la fase de llenado

(irritativos) y los miccionales (obstructivos) (Rozman-Borstnar and Cardellach, 2016). Los síntomas del tracto urinario inferior se pueden ver esquematizados en la tabla 1:

OBSTRUCTIVOS	IRRITATIVOS
Retardo en el inicio miccional	Polaquiuria
Disminución de la fuerza y calibre del chorro de orina	Dolor suprapúbico
Chorro intermitente	Urgencia miccional
Goteo posmiccional	Incontinencia urinaria
Sensación de vaciamiento incompleto	Aumento de la frecuencia nocturna
Escozor miccional	

Tabla 1. Síntomas del tracto urinario inferior (LUTS). Modificada de Fernández-Arjona and Pereira-Sanz, 2008.

Aunque los síntomas de vaciado son más frecuentes, los pacientes consideran que son más molestos los de llenado, y que interfieren más con sus actividades diarias (Carretero-Colomer, 2005).

1.2.1.2 Prostatitis

La glándula prostática puede verse afectada por diversos procesos de naturaleza inflamatoria o infecciosa. Uno de estos síndromes benignos comunes en los hombres es la prostatitis. Es un diagnóstico que abarca 4 entidades clínicas: prostatitis bacteriana aguda, prostatitis bacteriana crónica, el síndrome de dolor pélvico crónico (inflamatorio y no inflamatorio) y la prostatitis asintomática (Sharp et al., 2010).

La prostatitis se caracteriza por síntomas miccionales y dolor genitourinario, a veces asociado con disfunción sexual. Hasta un 25% de los hombres reciben un diagnóstico de prostatitis en su vida, pero menos de un 10% tienen infección bacteriana probada (Weidner et al., 2008). La glándula prostática tiene varias defensas naturales contra la infección, incluida la producción de sustancias antibacterianas y el enrojecimiento mecánico de la uretra prostática por micción y eyaculación. Sin embargo, el drenaje deficiente de las secreciones de los conductos

periféricos o el reflujo de la orina al tejido prostático pueden provocar inflamación, fibrosis o cálculos (Fair and Parrish, 1981).

Las causas y el tratamiento de la prostatitis no bacteriana son en gran parte desconocidos, pero la prostatitis bacteriana es causada por la infección con uropatógenos, especialmente bacilos gramnegativos, aunque la infección a veces se debe a microorganismos grampositivos y atípicos (Lipsky et al., 2010). La prostatitis bacteriana aguda se diagnostica por síntomas urogenitales abruptos y, a menudo, sistémicos, junto con bacteriuria, y se trata fácilmente mediante terapia antibiótica sistémica. La prostatitis bacteriana crónica se caracteriza por síntomas prolongados o recurrentes y bacteriuria recidivante; el diagnóstico tradicionalmente requiere comparar muestras de orina obtenidas anteriormente con muestras obtenidas después del masaje prostático. El tratamiento de la prostatitis bacteriana crónica requiere una terapia prolongada con un antibiótico que penetre en la próstata (es decir, uno con alta solubilidad en lípidos, un bajo grado de ionización, alta constante de disociación, baja unión a proteínas y tamaño molecular pequeño) (Lipsky et al., 2010).

1.2.2 Afecciones precursoras del cáncer de próstata

Para que una lesión sea considerada premaligna debe cumplir una serie de criterios:

- Debe de haber una similitud con el cáncer (morfología, inmunohistoquímica, genética).
- Debe existir una asociación espacial con el cáncer.
- Debe ser posible observar a una lesión cancerosa “surgir” de la lesión premaligna.
- La lesión premaligna ha de progresar en el tiempo hacia el cáncer.

Actualmente, son dos las lesiones prostáticas que se postulan como lesiones premalignas, una con más fuerza y evidencia que la otra, la neoplasia prostática intraepitelial (PIN) y la atrofia inflamatoria proliferativa (PIA). No obstante, hay que mencionar una tercera entidad que ha estado sometida a un extenso debate recientemente para ser o no incluida como lesión

precursora. Se trata del carcinoma intraductal prostático (CID-P). Todas ellas se tratan a continuación.

1.2.2.1 Atrofia proliferativa inflamatoria (PIA)

Este término hace referencia a un tipo de lesión causada por daños repetitivos en las células epiteliales derivados de un proceso inflamatorio crónico. Estas células inflamatorias son altamente proliferativas, presentan unas características morfológicas y moleculares similares a las del CaP y se encuentran fundamentalmente en la periferia de la glándula prostática, tanto del epitelio como del estroma, produciendo muerte celular y atrofiando el tejido (Joshua et al., 2008). Existen dos tipos de atrofia: difusa y focal. La supresión androgénica se asocia a una atrofia prostática difusa, sin embargo son las lesiones focales las que se han implicado en la carcinogénesis prostática (Celmaa et al., 2014).

Estas lesiones provocan daño celular y conllevan a una inflamación crónica de la próstata, causando estrés oxidativo, daño oxidativo en el ADN y mutaciones en células que escapan a la apoptosis. Algunos estudios han encontrado alteraciones genéticas en la lesión de PIA compartidas por el CaP, como ganancias del cromosoma 8p u 8q24. Ambas lesiones están implicadas en la carcinogénesis prostática y contienen genes cuya alteración se ha relacionado con el desarrollo del CaP (Perletti et al., 2010). Si la persona tiene una mutación hereditaria en este cromosoma, solo necesitaría un evento en el alelo para que el CaP progresara y se desarrollara (Bostwick et al., 2004).

1.2.2.2 Neoplasia intraepitelial prostática (PIN)

Se define como la presencia de células atípicas o displásicas confinadas dentro de la zona periférica de la glándula prostática que conservan el revestimiento basal (Devita et al., 2015), que es donde se desarrollan la mayoría de los casos de próstata. Es considerada una lesión precursora del cáncer, ya que histológicamente muestran muchas características genéticas,

morfológicas e inmunohistoquímicas semejantes a este tumor, aunque no sean invasivas. Este proceso de lesión celular produce una disrupción de la capa celular basal como consecuencia de la elevación de la secreción de enzimas proteolíticas, que provoca una invasión en el estroma y se puede extender hacia otros tejidos (Witte, 2009). Se caracteriza por una proliferación displásica del epitelio ducto-acinar prostático cuyo grado más avanzado sólo se diferencia del carcinoma por la no invasión del estroma, considerándose por muchos, por tanto, como un verdadero carcinoma “in situ”.

Las PIN se pueden clasificar en tres grados, dependiendo de los cambios estructurales relativos al tamaño celular, estratificación celular y aparición del nucléolo entre otros (Epstein, 2015): un PIN de bajo grado, donde se incluye el grado I (baja malignidad) y otro de alto grado que incluiría los de grado II y III (alta malignidad). La distinción entre PIN de bajo y alto grado es el hallazgo de nucleolos prominentes en estos últimos.

El PIN de grado bajo consiste en glándulas prostáticas benignas preexistentes con mínima proliferación epitelial en términos de estratificación nuclear, donde los núcleos se agrandan mínimamente sin nucléolos prominentes, es decir, la capa de células basales está intacta u ocasionalmente interrumpida. El PIN de alto grado se caracteriza por atipia nuclear sin hiperplasia epitelial significativa. La capa de células basales puede ser visible o no, y la diferencia entre los núcleos atípicos y normales suele ser abrupta. Además, cuanto mayor la cantidad de PIN de alto grado, mayor número de carcinomas multifocales podrá existir (Joniau et al., 2005; Dickinson, 2010).

1.2.2.3 Carcinoma intraductal de próstata (IDC-P)

En muestras de prostactomía radical, se define como una lesión glandular atípica que abarca todo el lumen de los conductos prostáticos o acinos, mientras que su arquitectura normal se mantiene (Cohen et al., 2000).

En raras ocasiones, IDC-P puede identificarse en material de biopsia si no hay un carcinoma infiltrante. Así, para definirlo, se han establecido criterios morfológicos objetivos que permite diferenciarlo de un PIN de alto grado: presentar un patrón cribiforme denso o presentar un patrón cribiforme o micropapilar laxo con atipia nuclear marcada (Guo and Epstein, 2006). IDC-P es un precursor más propenso a estar asociado con cáncer de próstata agresivo que el PIN de alto grado (Epstein, 2015).

1.3 Cáncer de Próstata

1.3.1 Concepto

El cáncer de próstata es un tumor maligno no cutáneo originado por la multiplicación incontrolada de células, generalmente glandulares. Por este motivo, también recibe el nombre de adenocarcinoma de próstata, aunque también puede haber otros tipos, tales como sarcomas, carcinomas de células pequeñas, tumores neuroendocrinos y carcinomas de células transicionales (Swallow et al., 2011).

1.3.2 Epidemiología

La Organización Mundial de la Salud (OMS), por medio de la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC), en el proyecto Globocan del año 2012, señala que el cáncer de próstata es el segundo cáncer más frecuente en el mundo y el primero en Europa y España en hombres (Ferlay et al., 2013), convirtiéndose en uno de los problemas de salud pública más importante en el mundo. Su crecimiento es lento, y se trata de un cáncer poco agresivo en estadios iniciales, lo que hace que sea un campo interesante para investigaciones epidemiológicas, de prevención (Tabla 2).

Cáncer de próstata	Casos	Tasa cruda *	Tasa ajustada**	Muertes	Tasa cruda*	Tasa ajustada**
Mundo	1.094.916	30,8	30,6	307,481	8,6	7,8
Norteamérica	260.336	150,2	97,2	43.112	19,7	9,8
Estados unidos	23.159	149,5	98,2	30.383	19,5	9,8
Japón	55.970	90,9	30,4	11.644	18,9	5,0
China	46.745	6,6	5,3	22.603	3,2	2,5
Europa (EU 28)	345.195	139,0	70,4	71.789	28,9	10,9
Europa del Este	65.432	47,5	31,3	25.862	18,8	11,6
Polonia	11.029	59,7	35,9	4.242	23,0	12,2
Norte de Europa	81.696	165,4	85,0	18.099	36,7	14,5
Reino unido	45.406	146,7	73,2	10.595	34,2	13,1
Suecia	11.596	244,9	119,0	2.444	51,6	17,8
Finlandia	5.366	202,2	96,6	832	32,4	12,0
Dinamarca	5.205	187,6	91,3	1.316	47,4	19,5
Sur de Europa	91.355	118,0	58,6	20.229	26,1	9,1
Italia	44.525	149,0	67,6	7.814	26,2	7,9
España	27.853	120,5	65,2	5.481	23,7	8,6
Portugal	6.622	127,7	63,6	1.582	30,5	10,7
Europa Occidental	161.881	174,2	85,8	28.138	30,3	10,7
Alemania	68.262	169,7	77,3	12.548	31,2	10,4
Francia	56.841	184,0	98,0	8.606	27,9	10,0
Holanda	13.300	160,2	83,4	2.650	31,9	13,5
Bélgica	9.393	177,6	90,9	1.913	36,2	12,7

*Tasa cruda por 100.000 habitantes

**Tasa ajustada a la población mundial por 100.000 habitantes

Tabla 2. Representación de los datos epidemiológicos referentes al cáncer de próstata durante el año 2013. Obtenido de Ferlay et al., 2013.

1.3.2.1 Incidencia

A nivel mundial, el cáncer de próstata se ha convertido en el segundo tumor más frecuente diagnosticado en hombres, con aproximadamente 1.094.916 nuevos casos en 2012. La incidencia del CaP presenta una gran variabilidad geográfica, con tasas de incidencia más elevada en países desarrollados: Australia/Nueva Zelanda y Norte América (111,6 y 97,2 casos por 100.000 personas/año respectivamente); y también en regiones menos desarrolladas como Caribe y África del Sur con 79,8 y 61,8 casos por 100.000 personas/año. En contraposición, la incidencia es baja en países asiáticos y en Europa Central y del Este, con 10,5 y 4,5 nuevos casos por cada 100.000 personas al año respectivamente.

La incidencia del CaP en el mundo ha ido aumentando de forma continua durante los últimos años, hecho que puede deberse a tres factores:

- Aumento de la esperanza de vida, aumentando la media de edad poblacional.
- La utilización generalizada como marcador diagnóstico del antígeno prostático específico (PSA), que permite la detección del CaP en fase preclínica.
- La extensión de los métodos de diagnóstico por imagen.

En la figura 6 se puede observar el aumento de la incidencia a lo largo de las últimas tres décadas, tanto en Europa, como en Asia y en América. En Europa, el aumento se ha dado sobre todo en las últimas dos décadas, mientras que en América, este aumento se ha dado desde mucho antes. En ambos casos, dicha evolución es muy notable, mientras que en Asia, la progresión de la incidencia es mínima.

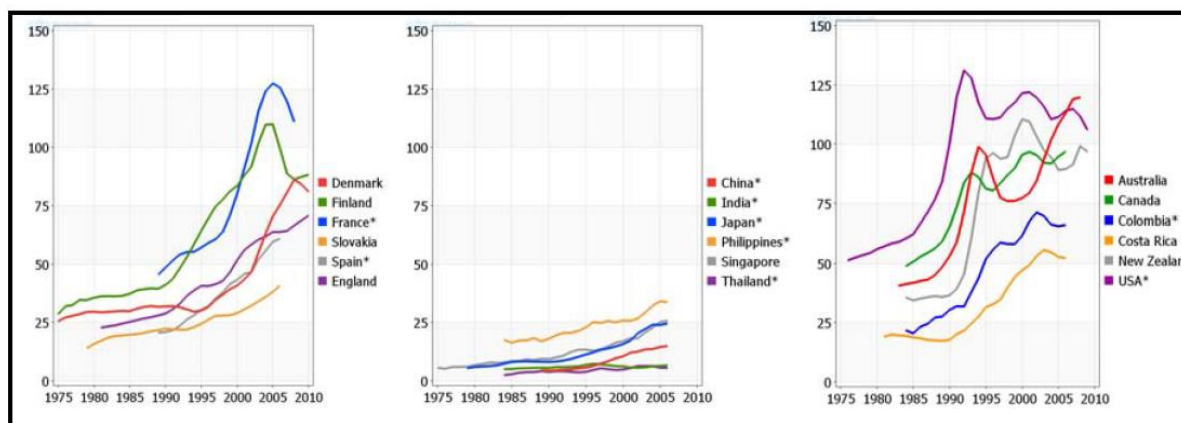


Figura 6. Evolución de la tasa de incidencia del CaP. Obtenido de Ferlay et al., 2013.

En EEUU, el CaP representa el 19% de los nuevos diagnósticos de cáncer, lo que supone un total de 121.680 nuevos casos en 2017 (Siegel et al., 2018). Aquí, la incidencia del CaP incrementó a principios de 1990 debido a la introducción del screening basado en el PSA. Desde 1992 hasta 1995, esta incidencia fue disminuyendo probablemente debido al hecho de

que el aumento de cribado de años anteriores había diagnosticado con éxito gran parte de los pacientes con CaP previamente no detectados en la población.

En Europa, el CaP representa aproximadamente el 12% de los casos de cáncer de nuevo diagnóstico, diagnosticándose un total de 345.195 nuevos casos de CaP en 2012. La incidencia en los países de la Unión Europea presenta una amplia variabilidad, que oscila entre los 193.2 casos por 100.000 varones de Noruega, que corresponde a 5.789 nuevos casos y los 24.8 de Albania, correspondiente a 335 nuevos casos durante el año. (Figura 7).

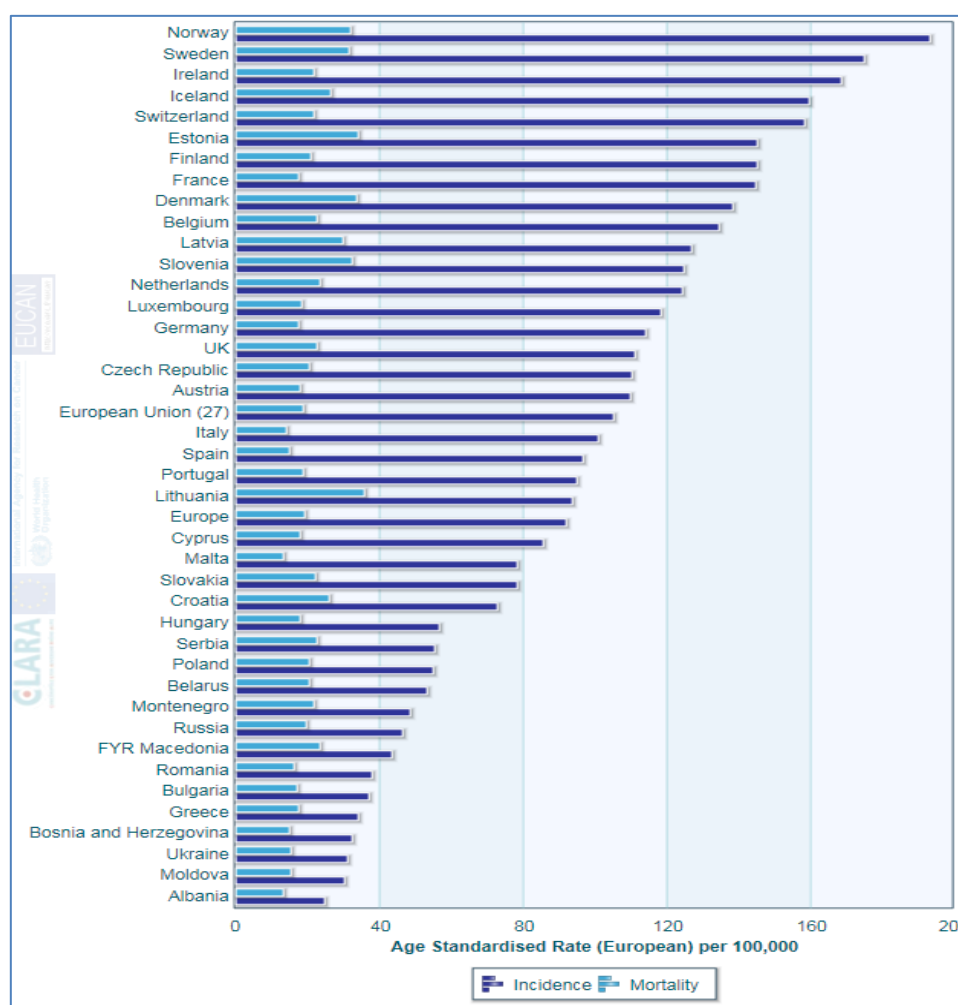


Figura 7. Tasa estandarizada de la incidencia del CaP en la Unión Europea en 2012. Obtenido de la International Agency for Research on Cancer (IARC).

En España, según el informe de la IARC 2012, la incidencia estimada es 65,2 casos por cada 100.000 personas/año con 27.853 nuevos diagnósticos en el año 2012, lo que representa un

21,7% del total las neoplasias diagnosticadas en hombres. En 2014 se registraron un total de 32.641 casos siendo el cáncer más frecuente en hombres. El 71% de los pacientes tienen más de 65 años en el momento del diagnóstico; sin embargo, hasta un 14,6% de los pacientes tienen menos de 60. Solo un 4% de los pacientes se diagnostican con enfermedad ya diseminada, y en un 90% de los casos, la enfermedad está clínicamente localizada, siendo el 37% neoplasias de riesgo bajo, el 23% de riesgo intermedio y el 28% de riesgo alto (Cózar et al., 2013).

La incidencia del cáncer en España se estimó hasta el año 2015 en función de los registros poblacionales existentes durante el periodo comprendido entre 1993 y 2007. Así, en la figura 8 podemos observar cómo a partir del 2007, la tasa de incidencia del cáncer de próstata se mantiene constante en primera posición hasta el año 2015. Además, puede verse que la tendencia del cáncer colorrectal es a aumentar con el paso de los años hasta posicionarse como el segundo tipo de cáncer con mayor tasa de incidencia, por delante del de pulmón, que se situaría tercero. Estos datos coinciden con los establecidos actualmente por la Sociedad Española de Oncología Médica, que estima incidencia del CaP en 33.370 nuevos casos por 100.000 varones, seguido del colorrectal (24.764), pulmón (22.430), vejiga (17.439), estómago (5.150), hígado (4.252), etc. (SEOM, 2017).

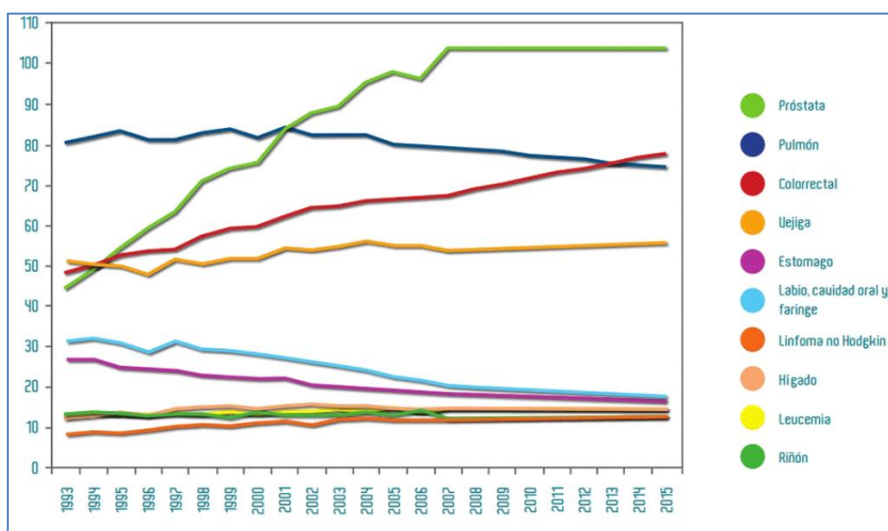


Figura 8. Evolución de la tasa de incidencia del cáncer desde 1993 hasta 2015. Obtenido de SEOM, 2017.

1.3.2.2 Mortalidad

En EEUU, el cáncer supone la segunda causa de muerte después de las enfermedades coronarias, aunque puede ser considerado como la primera causa en personas con edades comprendidas entre 40 y 80 años. En 2016, murieron casi 30.000 pacientes por CaP, siendo la segunda causa de muerte por cáncer, después del cáncer de pulmón (Siegel et al., 2018). El riesgo general de morir por CaP en un varón es menor del 3%. La mayoría de los fallecimientos por esta causa (70%) ocurren en varones mayores de 75 años. El 28% de las muertes se producen en varones con edades comprendidas entre 55 y 74 años, y el 2% restante, en varones menores de 55 años (Hayes and Barry, 2014).

En Europa, el CaP es la tercera causa de muerte por cáncer, con una tasa de 89.300 muertes/año, después del cáncer de pulmón y colorrectal (Malvezzi et al., 2015).

En España, según el Centro Nacional de Epidemiología del Instituto de Salud Carlos III, en 2014, los tumores fueron la causa más frecuente de muerte entre varones (65.014 fallecimientos), y la segunda causa de fallecimiento en mujeres (41.020 fallecimientos), por detrás de las enfermedades cardiovasculares, responsables de 63.546 fallecimientos (SEOM, 2017). Según la edad, el cáncer supone la principal causa de muerte en personas entre 40 y 80 años (Figura 9).

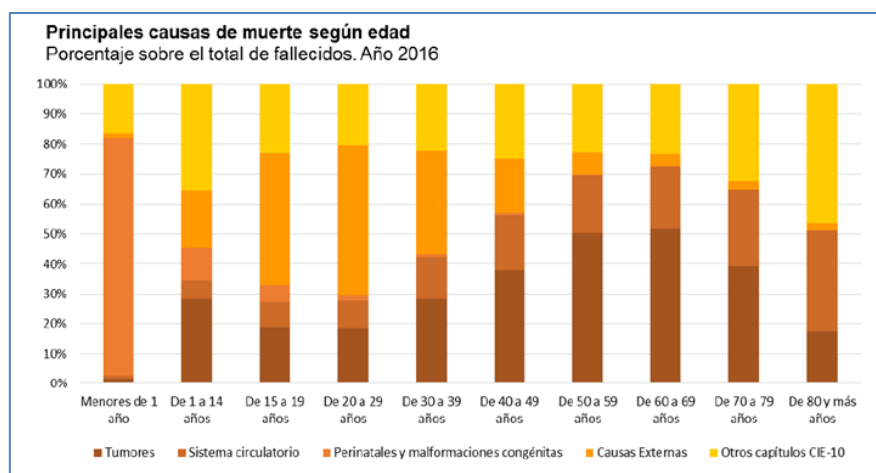


Figura 9. Principales causas de muerte según edad en España, 2016. Obtenido de INE, 2017.

El CaP se sitúa como quinta causa de muerte por cáncer en 2014, con 5.855 fallecimientos/año, después del cáncer de pulmón (21.220), colorrectal (15.449), páncreas (6.278) y mama (6.213) (SEOM, 2017). Desde hace años, existe una tendencia decreciente de mortalidad que se hace patente en todas las autonomías. La provincia que presenta una tasa de mortalidad más alta en 2014 es Barcelona (Figura 10).

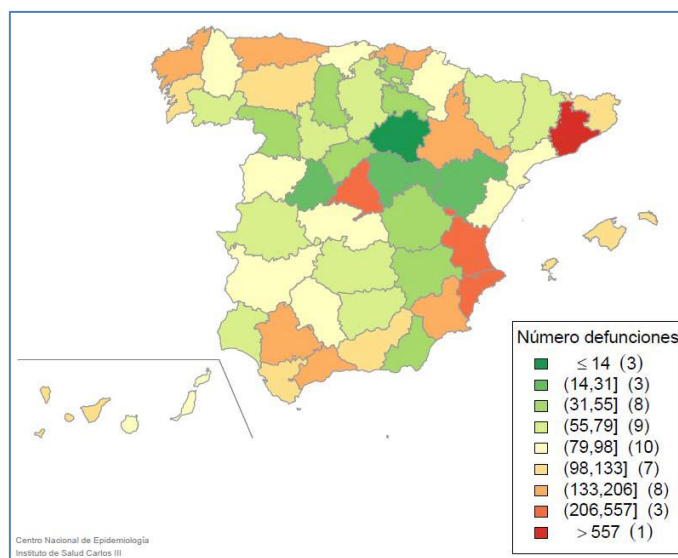


Figura 10. Número de defunciones por provincia. España, 2014. Obtenido de Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Madrid, España; 2015.

Por otra parte, los pacientes con CaP de bajo grado presentan una tasa de mortalidad <math><10\%</math> a los 10 años. Si son diagnosticados en estadio localizado, la tasa de supervivencia es casi del 100% en la actualidad (Cózar et al., 2013). Los pacientes con enfermedad de riesgo medio, tienen una probabilidad del 13% de morir y una probabilidad del 40% de progresión a los 10 años. Por su parte, los pacientes diagnosticados de CaP de alto grado tienen un 60% de tasa de mortalidad.

De forma generalizada, aproximadamente el 40% de los pacientes diagnosticados con CaP presentará en algún momento una progresión de la enfermedad, y el 17% desarrollarán metástasis. Si la enfermedad se hace ósea metastásica, la tasa de mortalidad asciende al 75% a

los 5 años y al 80% a los 10 años. Cuando el paciente entra en fase de cáncer de próstata resistente a la castración, la supervivencia media clásica ha sido de 18-24 meses, aunque los nuevos tratamientos disponibles están permitiendo ampliar estas cifras (Siegel et al., 2014).

1.3.3 Factores de riesgo del cáncer de próstata

El origen del CaP es multifactorial, incluyendo factores endocrinos, ambientales y genéticos. Las causas del CaP se han clasificado en intrínsecas y extrínsecas. Entre las primeras se han descrito la edad, la raza, los antecedentes familiares y herencia, y las causas hormonales. Como causas extrínsecas se consideran los factores de exposición ocupacional, la dieta, la obesidad, los factores sociales, el tabaquismo y el consumo de alcohol.

1.3.3.1 Causas Intrínsecas

1.3.3.1.1 Edad

Es el principal factor de riesgo para el desarrollo de CaP. La incidencia general de este tipo de cáncer es aumentar a medida que envejecemos, aunque su agresividad disminuye con la edad. Raramente existen casos que se diagnostiquen antes de los 40 años (Martínez et al., 2013), ya que la probabilidad de desarrollo de CaP a esta edad es de 1 de cada 10.000 hombres (Attard et al., 2016). Entre los 70 y 74 años, aumenta la probabilidad de ser diagnosticado de CaP, y es a partir de los 65 años de edad cuando se diagnostican el 85% de este tipo de tumores (Swallow et al., 2011).

Desde hace años se ha estimado que aproximadamente un 70% de los varones con más de 80 años presenta cambios histológicos de carácter oncológico en la próstata (Pienta and Esper, 1993). El riesgo de desarrollar CaP aumenta a partir de los 50 años en varones de raza blanca, y a partir de los 40 en varones de raza negra o con antecedentes familiares (Bray et al., 2010) (Figura 11).

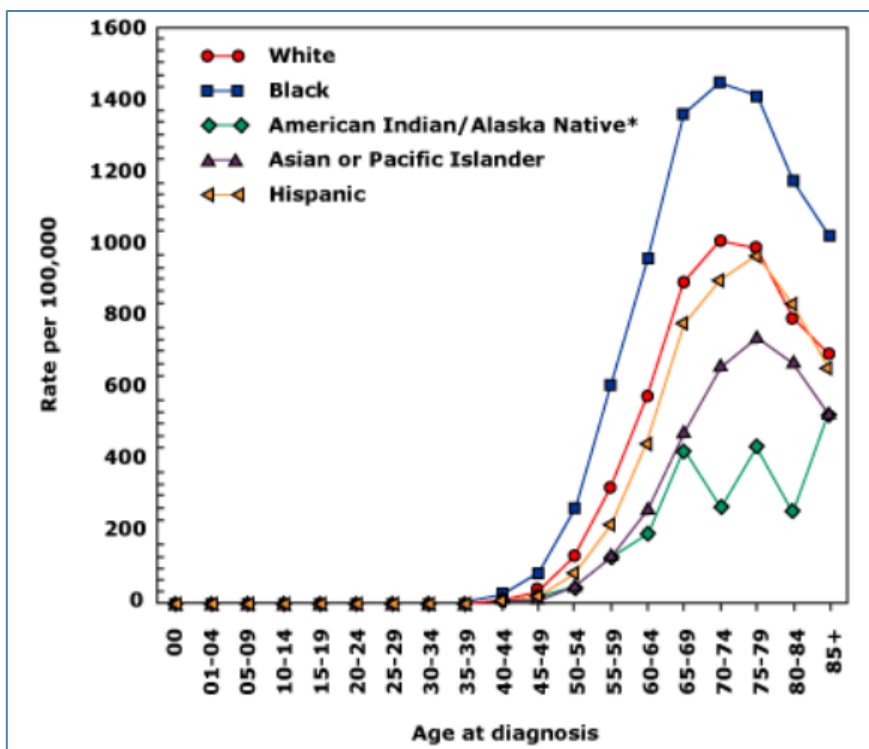


Figura 11. Tasa de incidencia por edad y raza para el cáncer de próstata. Obtenido de: http://www.uptodate.com/contents/image?imageKey=ONC%2F55572&topicKey=ONC%2f6938&rank=1~150&source=see_link&search=c%C3%A1ncer+de+pr%C3%B3stata+epidemiologia

1.3.3.1.2 Raza

Este tipo de cáncer es más frecuente en varones de raza negra que en varones de otras razas. Esto se ha relacionado desde hace décadas con un nivel de testosterona superior a la raza caucásica (Montie and Pienta, 1994). En varones con niveles de PSA <10 ng/ml, la población afroamericana tiene un mayor riesgo de presentar tumores de alto grado (Ankerst et al., 2014). En general, el riesgo de que los hombres de raza negra padezcan cáncer de próstata, es 1,8 veces mayor que en la población blanca (Martínez et al., 2013).

La incidencia más baja de cáncer de próstata se observa en individuos de raza asiática que, si bien no presentan menores niveles de testosterona que la población caucásica, sí presentan una actividad reducida de la 5 α -reductasa, encargada de convertir la testosterona en dihidrotestosterona, su forma activa. A pesar de la menor prevalencia, recientes estudios les

atribuyen un mayor grado histológico de CaP que la población caucásica (Martínez et al., 2013).

1.3.3.1.3 Antecedentes familiares y herencia

Se ha descrito que aproximadamente un 10% de los cánceres de próstata son hereditarios (Jansson et al., 2012) siendo el resto de carácter esporádico. Desde hace décadas, se considera que el cáncer de próstata es hereditario cuando se cumple uno de estos tres criterios: la existencia de cáncer de próstata en 3 ó más familiares de primer grado; o en 3 generaciones sucesivas por parte de madre o de padre; o en 2 familiares de primer grado con edad <55 años (Carter et al., 1993).

Los hombres con un historial familiar de CaP, tienen un mayor riesgo de diagnóstico de cáncer prostático y de mortalidad, y aquellos en los que su familiar directo, el padre, fue diagnosticado con CaP, tienen aproximadamente el doble de riesgo que los hombres sin antecedentes familiares paternos (Suzuki et al., 2013). Tener un hermano afectado aumenta el riesgo casi tres veces. El riesgo de muerte por CaP es aproximadamente dos veces mayor en los hombres con un padre o un hermano que murió de CaP, en comparación con los hombres con CaP que no tienen una historia familiar positiva (Zeegers et al., 2003).

Por otra parte, el CaP también puede desarrollarse debido a defectos producidos en las vías de reparación cuando el ADN sufre daños. Estos daños pueden originar mutaciones genéticas, que pueden persistir en generaciones de células hijas, originando inestabilidad genómica, y en última instancia, CaP.

Existe evidencia de variaciones genéticas que predisponen la aparición de CaP. Por ejemplo, las mutaciones en el gen BRCA2, localizado en el cromosoma 13, aumentan el riesgo de desarrollar CaP en 8,6 veces en varones portadores de más de 65 años, y están asociadas a una puntuación de Gleason mayor, a una rápida progresión y a una menor supervivencia; y las mutaciones en el gen BRCA1, en el cromosoma 17, aumentan el riesgo en 3,4 veces (Castro et

al., 2013). Además, recientes estudios señalan una relación de 2 polimorfismos en el cromosoma 8q24 con el volumen tumoral y no con el volumen prostático, lo que puede indicar una mayor susceptibilidad de presentar cáncer (Reinhardt et al., 2014).

1.3.3.1.4 Hormonales

Los tumores de próstata dependen de los andrógenos para su crecimiento en etapas iniciales. En el desarrollo normal de la próstata, los andrógenos actúan a través del receptor androgénico. La testosterona (andrógeno circulante) y el dihidrotestosterona (DHT) (andrógeno tisular) son los más importantes. En el epitelio prostático normal, el receptor androgénico reprime la proliferación celular; sin embargo, en la próstata tumoral, el receptor inhibe la proliferación de células basales, pero estimula la supervivencia de las células lumbinales y promueve las metástasis. Estos efectos duales llevan a pensar que las distintas funciones del receptor en las células normales y tumorales están moduladas por su interacción con otras proteínas reguladoras del epitelio prostático (Shen and Abate-Shen, 2010).

1.3.3.2 Causas Extrínsecas

1.3.3.2.1 Factores de exposición ocupacional

El lugar de trabajo puede llegar a convertirse en un lugar de exposición a diversos factores de riesgo. Algunas investigaciones aportaron evidencias sobre un mayor riesgo de sufrir CaP entre los hombres expuestos en el medio laboral a la inhalación o ingestión de un metal tóxico como el cadmio, a lo largo de su vida profesional (Nakamura et al., 2002).

Los plaguicidas también pueden ser un posible factor de riesgo para el CaP. Un estudio con veteranos en la guerra de Vietnam, expuestos a herbicidas, respecto a veteranos no expuestos, mostró un doble riesgo de padecer CaP entre los expuestos, con aparición a edades más tempranas y mayor gradación de Gleason (Schechter et al., 2009). Además, diversos datos también sugieren la posibilidad de que los trabajadores expuestos a situaciones donde su

cuerpo vibre en su totalidad, como por ejemplo, trabajar con martillos neumáticos, sean más susceptibles al riesgo de padecer enfermedades de la próstata y al cáncer en particular (Nadalin et al., 2012).

1.3.3.2.2 Dieta

Algunos factores dietéticos se han relacionado tanto con el riesgo de desarrollo de cáncer de próstata como con un supuesto efecto protector. Existen estudios que sugieren que el elevado consumo de grasas animales, carne roja muy hecha, carne industrial o la ingesta excesiva de leche, puede aumentar el riesgo de padecer CaP (Mandair et al., 2014).

Una alta ingesta de calcio aumenta el riesgo de padecer cáncer de próstata. Los productos lácteos contienen una gran cantidad de calcio. El aumento del nivel de calcio disminuye la concentración de 1,25-dihidroxicalciferol, útil en la prevención del cáncer. Un estudio realizado para investigar la asociación de la ingesta de calcio, los productos lácteos y el riesgo de cáncer de próstata, mostró que existe un mayor riesgo padecer este tipo de cáncer en personas que ingieren una alta ingesta de calcio y productos lácteos (Abid et al., 2014). Por otro lado, también se ha demostrado que la vitamina D y el selenio disminuyen el riesgo de padecer cáncer de próstata (Peters et al., 2008), al igual que el consumo de café (Shafique et al., 2012).

1.3.3.2.3 Obesidad

La relación entre obesidad y riesgo de padecer cáncer de próstata está establecida desde hace varios años, pero aún no es del todo clara. Al igual que el sedentarismo, la obesidad se relaciona con una mayor agresividad tumoral (Morote et al., 2014). De todos los parámetros utilizados para medir el grado de obesidad, solo el aumento del índice de masa corporal (IMC) ha demostrado estar relacionado con mayor riesgo de CaP avanzado y con menor riesgo de presentación de CaP localizado (Discacciati et al., 2012). El IMC y la circunferencia de cintura

muestran una correlación positiva con marcadores del estrés oxidativo. El tratamiento de la obesidad mediante la reducción de ingesta de grasas y el ejercicio físico reduce el estrés oxidativo, sugiriendo que una modificación en el estilo de vida podría reducir el riesgo de padecer cáncer de próstata (Allot et al., 2013).

1.3.3.2.4 Factores sociales

Las diferencias socioeconómicas entre habitantes de una misma población y la posibilidad de acceso a la consulta de urología teniendo en cuenta la cobertura de salud o la vida en área rural, son factores potenciales para el aumento del riesgo de desarrollo de cáncer de próstata, especialmente de diagnóstico en estadios avanzados (Major et al., 2012).

Un nivel socioeconómico alto incrementa la posibilidad de detección temprana debido al más fácil acceso de esta población a la consulta médica. Otro factor que aumenta el riesgo es el presentar numerosas parejas sexuales y el inicio precoz de la actividad sexual, debido a la mayor probabilidad de exposición de la próstata a agentes infecciosos que pudieran participar en su patogénesis (Lund-Nilse et al., 2000).

1.3.3.2.5 Tabaquismo y consumo de alcohol

El hábito de fumar es un factor de riesgo importante para varios tipos de cáncer, aunque la relación con el riesgo de desarrollo de cáncer de próstata permanece incierta. Ciertos estudios han demostrado que existe una asociación entre el hábito de fumar y el desarrollo del cáncer de próstata, así como su peor pronóstico una vez establecido el diagnóstico (Lavery et al., 2015). Las diferencias encontradas entre fumadores y no fumadores podrían ser consecuencia de alteraciones en las hormonas sexuales y de crecimiento producidas por los tóxicos del humo del cigarrillo (Watters et al., 2009). Además, la exposición al humo puede ser un factor de riesgo por su contenido en cadmio, que provoca, en el organismo de los fumadores, un

aumento en la concentración de andrógenos circulantes y un importante estrés oxidativo celular (Nawrot et al., 2008).

En cuanto al consumo de alcohol, su relación con el CaP tampoco es clara, aunque algunos datos sugieren un moderado aumento del riesgo de la enfermedad en grandes consumidores de alcohol (Watters et al., 2010).

1.3.4 Clasificación del Cáncer de Próstata

Los sistemas para clasificar la fase en la que se encuentra un tumor de próstata son imprescindibles, ya que la terapia depende del estadio del tumor, y varía en función del método utilizado. La clasificación del CaP se suele hacer en base a la extensión del tumor (TNM), el grado histopatológico (Grado de Gleason), el estadio clínico y el factor de riesgo o pronóstico (Álvarez-Cubero, 2012).

1.3.4.1 Clasificación TNM. Estudio de la extensión del Cáncer de Próstata

Este sistema es uno de los más utilizados y aceptados mundialmente. Se fundamenta en la evaluación de la extensión del tumor y el pronóstico, según la clasificación de la Unión Internacional Contra el Cáncer (UICC) (Tabla 3).

T= tumor primario	
Tx	No se puede evaluar el tumor primario
T0	No hay evidencia de tumor primario
T1	Tumor no evidente clínicamente, no palpable ni visible mediante pruebas de imagen
T1a	Tumor detectado como hallazgo fortuito en una extensión menor o igual al 5% del tejido resecado
T1b	Tumor detectado como hallazgo fortuito en una extensión mayor del 5% del tejido resecado
T1c	Tumor identificado mediante punción biópsica (por ejemplo, a consecuencia de

		un PSA elevado)
T2	Tumor confinado en la próstata.	
	T2a	El tumor abarca la mitad de un lóbulo o menos
	T2b	El tumor abarca más de la mitad de un lóbulo pero no ambos lóbulos
	T2c	El tumor abarca ambos lóbulos
T3	Tumor que se extiende más allá de la cápsula prostática	
	T3a	Extensión extracapsular unilateral o bilateral
	T3b	Tumor que invade la/s vesícula/s seminal/es
T4	Tumor fijo o que invade estructuras adyacentes distintas de las vesículas seminales: cuello vesical, esfínter externo, recto, músculos elevadores del ano y/o pared pélvica	
N: Ganglios linfáticos regionales		
Nx	No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales	
N0	No se demuestran metástasis ganglionares regionales	
N1	Metástasis en ganglios linfáticos regionales	
M: Metástasis a distancia		
Mx	No se pueden evaluar las metástasis a distancia	
M0	No hay metástasis a distancia	
M1	Metástasis a distancia	
	M1a	Ganglio/s linfático/s no regionales
	M1b	Hueso/s
	M1c	Otra/s localización/es

Tabla 3. Clasificación del TNM, cáncer de próstata. Obtenido de Hoboken and Wiley-Blackwell, 2017.

1.3.4.2 Clasificación según el grado histopatológico (Puntuación de Gleason)

Éste es el sistema más utilizado para determinar los grados de diferenciación glandular y el patrón de crecimiento en relación con el estroma del CaP. Identifica cinco patrones histológicos de crecimiento del adenocarcinoma, representando en una escala la diferenciación glandular de manera decreciente (Delahunt et al., 2012).

Este sistema tiene en cuenta la disposición de las células tras el análisis histológico de la muestra tumoral. Los patrones arquitectónicos de las células son identificados y se les asigna una puntuación de 1 a 5, siendo el 1 el más diferenciado (Figura 12).

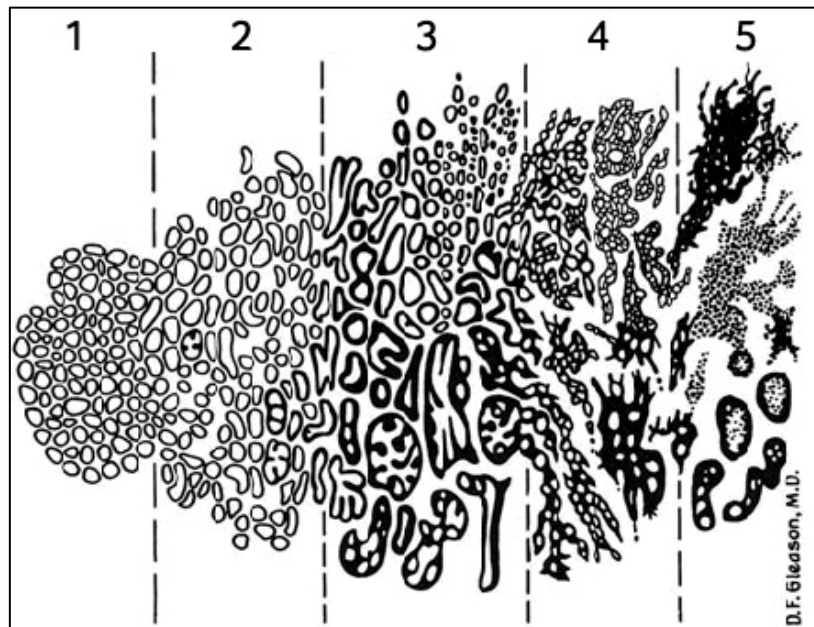


Figura 12. Representación anatomopatológica del grado de Gleason. Obtenido de Gleason, 1977.

Las células tumorales que se asemejan a las sanas reciben una puntuación baja, y a medida que dejan de parecerse a ellas, reciben una mayor puntuación. Como existen dos patrones que influyen en el pronóstico: el primario o predominante, y el secundario, la puntuación de Gleason se obtiene por la suma de ambos. El rango más bajo es 1+1, que representa tumores de composición uniforme; y el más alto, 5+5, que representa tumores totalmente indiferenciados. Esto facilita una información útil sobre el pronóstico de la enfermedad (Bolaños and Chacón, 2017).

Según Chen y Zhou (Chen and Zhou, 2016), el sistema clásico de Gleason define 5 patrones de crecimiento histológico:

- Grado 1: Glándulas uniformes, bien diferenciadas, pequeñas, únicas y adosadas entre sí con poca cantidad de estroma. Este patrón es muy raro. Es posible que la mayoría de

los casos que fueron descritos por el Dr. Gleason en su estudio original, realmente pudieran ser lesiones que imiten estas características, como la adenosis o la hiperplasia adenomatosa atípica (Chen and Zhou, 2016).

- Grado 2: Es bastante similar al 1, pero con más cantidad de estroma entre las glándulas uniformes y acinos, que varían en morfología y tamaño. También es un patrón muy raro (Chen and Zhou, 2016).
- Grado 3: Es el grado más común, y es representado por glándulas neoplásicas discretas y distintas, agrupadas o individuales, típicamente pequeñas, aunque es frecuente que su tamaño sea variable y que invadan el estroma existente entre glándulas benignas. Este patrón incluye originalmente estructuras cribiformes, algunas con contornos irregulares y algunas dentro de espacios glandulares redondeados, pequeños y suaves o una formación de "glándula en glándula" (Chen and Zhou, 2016).
- Grado 4: Los acinos glandulares se fusionan en forma de cadena, nido o masas difíciles de distinguir con infiltraciones en el estroma. Una variante es el patrón hipernefrotomatoide con capas de células con abundante citoplasma claro (Chen and Zhou, 2016).
- Grado 5: no existe prácticamente diferenciación glandular. Es un tumor anaplásico con células características en anillo y que infiltran el estroma. En este caso, la necrosis se involucra en el contexto de estas estructuras (Chen and Zhou, 2016).

Al interpretar estos grados, puntuaciones bajas indican que el tumor crece lentamente y con menor probabilidad de diseminarse en comparación con aquellos que presentan puntuaciones por encima de 6, que se encuentran asociados a una mayor agresividad y una menor supervivencia. El riesgo de muerte por CaP es 10 veces mayor en tumores de alto grado (Gleason 8-10), que en los de bajo grado (Gleason 2-4) (Heidenreich et al., 2008) (Tabla 4).

La sumatoria del grado de Gleason en pacientes sometidos a prostactectomía radical es importante para establecer la agresividad del tumor y pronosticar los resultados de la cirugía (Gleason and Mellinger, 2016)

Puntuación de Gleason	Características histológicas	Probabilidad de progresión local a los 10 años
≤6	Las células están bien diferenciadas	25%
7	Las células están moderadamente diferenciadas	50%
>7	Las células están mal diferenciadas o indiferenciadas	75%

Tabla 4. Puntuación de Gleason y probabilidad de progresión. Obtenido de Gleason & Mellinger, 2016.

1.3.4.3 Clasificación según el estadio clínico

La fase del tumor se puede definir en función del estadio clínico mediante exploración física, información clínica o pruebas complementarias que apoyen al diagnóstico, como endoscopias, técnicas de imagen, test bioquímicos, etc. También puede definirse el estadio patológico a través de la cirugía, si procede, con la información que proporciona el tejido extirpado. Así, pueden diferenciarse varias fases (Aus et al., 2005):

- Cáncer de próstata localizado: Desde el punto de vista anatomopatológico, el paciente con cáncer de próstata localizado es aquel en el que el adenocarcinoma se encuentra dentro de la glándula prostática y no presenta afección linfática (N0) ni metástasis (M0). El paciente se corresponde con estadio cT1-cT2, N0-Nx, M0-Mx.
- Cáncer de próstata localmente avanzado: El paciente con cáncer de próstata localmente avanzado es aquel en el que se comprueba la presencia de adenocarcinoma con invasión extra-capsular o de vesículas seminales, sin invasión

linfática (N0) ni metástasis (M0). El paciente se corresponde con un estadio cT3, N0-Nx, M0-Mx.

- Cáncer de próstata diseminado o metastásico: El paciente con cáncer de próstata diseminado es aquel en el que se comprueba la presencia de un adenocarcinoma de próstata con invasión linfática (N1) y/o metástasis (M1), y/o un tumor primario fijo o invasivo que invade estructuras adyacentes distintas de las vesículas seminales. El paciente se corresponde, en este caso, con un estado N1, M1, cT4.

El cáncer de próstata también puede clasificarse, en función del estadio de la enfermedad, a través de:

- *Estadificación mediante el sistema de Whitmore-Jewett (sistema ABCD)*

En este caso, cada letra corresponde a un estadio y unas características clínicas determinadas (Álvarez-Cubero, 2012):

- Estadío A: Dentro de este estadio se engloban los tumores prostáticos clínicamente indetectables hallados casualmente en cirugía de próstata por otro motivo.
- Estadío B: El tumor se encuentra localizado en la próstata. Dentro de este estadio, el tumor se puede clasificar en: B0, donde el tumor no es palpable pero la PSA sí se detecta; B1, cuando solamente un lóbulo prostático está afectado por un único nódulo; B2, cuando se afectan de manera más extensa uno o ambos lóbulos.
- Estadío C: El tumor se extiende a la cápsula prostática o afecta a las vesículas seminales.
- Estadío D: Se corresponde con un cáncer de próstata metastásico.

- *Estadificación sistema I-IV.*
 - Estadío I: El cáncer no se ha extendido a los ganglios linfáticos ni a ninguna parte del cuerpo (escala de Gleason baja (2-4) y estadío T1a, N0, M0).
 - Estadío II: El cáncer se localiza en la próstata pero posee un grado de Gleason intermedio o alto (5 o más). Normalmente es diagnosticado mediante la realización de una biopsia cuando el paciente presenta un nivel alto de PSA y no se ha detectado mediante examen dígito-rectal ni ecografía transrectal (Álvarez-Cubero, 2012).
 - Estadío III: El cáncer sobrepasa los límites de la próstata y puede afectar a las vesículas seminales, pero no a ganglios linfáticos ni a ninguna otra parte del cuerpo (estadíos T3, N0, M0 y cualquier Gleason).
 - Estadío IV: Engloba los estadíos T4, N0, M0 y cualquier Gleason; cualquier T, N1, M0 y cualquier Gleason; y cualquier T, N, M1 y cualquier Gleason (Álvarez-Cubero, 2012). Además, se cumplen uno o más de los siguientes parámetros:
 - El cáncer se extiende a tejidos próximos a la próstata distintos de las vesículas seminales.
 - Se extiende a los ganglios linfáticos o a órganos distantes del cuerpo.

1.3.4.4 Clasificación según factores de riesgo (Clasificación D'Amico)

Este modelo de estadificación fue desarrollado por D'Amico en 1998, y se utiliza para evaluar el riesgo de reincidencia y determinar las opciones más óptimas de tratamiento de pacientes con CaP localizado (D'Amico et al., 1998). Así, los pacientes se clasifican en categorías de riesgo (bajo, intermedio y alto), teniendo en cuenta el tamaño del tumor, la puntuación de Gleason y la concentración de PSA en sangre (Tabla 5):

Categorías de riesgo	Factores de riesgo
Bajo riesgo	Estadio clínico cT1-cT2a, Gleason <7 y PSA ≤10 ng/ml
Riesgo intermedio	Estadio clínico cT2b, Gleason =7 ó (PSA>10 y ≤20 ng/ml)
Riesgo alto	Estadio clínico cT2 o Gleason>7 ó PSA>20 ng/ml

Tabla 5. Clasificación del cáncer de próstata según los factores de riesgo. Clasificación D'Amico. Obtenido de D'Amico et al., 1998.

La supervivencia de los pacientes estratificados en bajo riesgo sin reincidencia a los 5 años es del 80%; la de los pacientes pertenecientes al riesgo intermedio es del 60%, y las de los pacientes con alto riesgo, del 30% (D'Amico et al., 1998).

1.3.5 Diagnóstico del cáncer de próstata

Actualmente sabemos gracias a estudios de autopsia, que entre el 30 y el 40% de los hombres mayores de 50 años presentan evidencia histológica de enfermedad y aproximadamente el 70% los hombres mayores de 70 años (Murphy et al., 1999), situándose el riesgo de ser diagnosticado de un carcinoma de próstata (CaP) a lo largo de la vida en el 9.5%, siendo del 3% la probabilidad de fallecer por la enfermedad (McNeal et al., 1986). Estos datos sugieren que solo un mínimo porcentaje de los CaP presentará manifestaciones clínicas (Smith and Catalona, 1994). Además, la prevalencia de CaP detectable clínicamente no ha aumentado en los últimos años, lo que refuerza la opinión de que la mayoría de los CaP histológicos o latentes no desarrollarán enfermedad clínica evidente.

1.3.5.1 *Screening y detección temprana*

El cribado poblacional o masivo se define como el "examen sistemático de hombres asintomáticos (en riesgo)" y generalmente es iniciado por las autoridades de salud. Por el contrario, la detección temprana o la prueba oportunista (*ad-hoc*) consiste en los hallazgos de

casos individuales, que son iniciados por el hombre que está siendo evaluado (paciente) y/o su médico.

Los objetivos co-primarios de ambas estrategias son:

- Reducción de la mortalidad por CaP;
- Al menos, una calidad de vida mantenida (QoL) expresada por la ganancia ajustada en QoL en años de vida (QUALYs).

Las tendencias de mortalidad por cáncer de próstata varían ampliamente de un país a otro en el mundo industrializado. La mortalidad debido al CaP ha disminuido en la mayoría de los países occidentales, pero la magnitud de la reducción varía entre países. La reducción de la tasa de mortalidad observada recientemente en los EE.UU se debe en parte a la adopción de una política agresiva de detección de CaP (Etzioni et al. 2013). Sin embargo, aún no hay evidencia de nivel 1 de que el cribado en masa de PSA sea rentable para reducir la mortalidad por CaP (Ilic et al., 2013). En consecuencia, la detección del CaP en la actualidad, es uno de los temas más controvertidos en la literatura urológica (Ilic et al., 2013).

Un ensayo clínico realizado en 76.693 pacientes no mostró, a los 10 años de seguimiento, diferencias entre la mortalidad por cáncer de próstata y la mortalidad por otras causas entre los pacientes que se sometieron a cribado mediante PSA con respecto a los que se sometieron a un cribado mediante tacto rectal (Andriole et al., 2009).

Otro ensayo clínico realizado en 162.243 pacientes entre 50 y 74 años sí mostró una reducción en la mortalidad por cáncer de próstata en el grupo sometido a cribado por PSA con respecto al grupo control que no recibió ningún tipo de cribado. Estas diferencias en mortalidad se observaron a partir del séptimo año y consistían en una reducción del riesgo absoluto de 0,71 por 1.000 (reducción del 20% del riesgo relativo). La conclusión del estudio fue que es necesario someter a cribado mediante PSA a 1.440 hombres para evitar 1 muerte por cáncer

de próstata. Como consecuencia, de estos 1.440 pacientes, 48 serían sometidos a tratamientos innecesarios (Schroder et al., 2009).

Según las guías de la Asociación Americana de Urológica (AUA) (Carter et al., 2013) o las recomendaciones del *US Preventive Services Task Force* (Chou et al., 2011) el cribado puede llevar a que una cantidad importante de hombres no desarrollen una enfermedad agresiva.

En cambio, informes preliminares de un ensayo clínico europeo, muestran que aunque un cribado produce más frecuentemente diagnósticos de cáncer, siendo la detección de cánceres agresivos similar entre los grupos de cribado a 2 y 4 años (Bonis, 2010).

Una revisión actualizada de la biblioteca *Cochrane* publicada en 2013 (Ilic et al., 2013) mostró que:

- El cribado se asocia con un incremento en el diagnóstico de CaP (RR: 1,3; IC del 95%: 1,02-1,65).
- A su vez, el cribado se asocia con la detección de una enfermedad más localizada (RR: 1.79, IC 95%: 1.19-2.70) y menos CaP en estadios avanzados (T3-4, N1, M1) (RR: 0,80; IC del 95%: 0,73-0,87).
- A partir de los resultados de cinco ECA, aleatorizando a más de 341,000 hombres, no se observó un beneficio en la supervivencia CaP específica (RR: 1.00, IC 95%: 0.86-1.17). De hecho esta fue la conclusión principal de todos los ensayos.
- Tras el análisis de los resultados de cuatro ECA, no se observó beneficio en términos de supervivencia global (SG): RR: 1,00; IC del 95%: 0.96-1.03).

Otros estudios, han demostrado que un 20-30% de CaP detectados mediante el screening es de tipo pequeño (menos de 0,5cc) y puede ser considerado "insignificante" (Carter and Epstein, 1997; Roehl et al., 2001).

Podría concluirse que el efecto adverso del *screening* es el sobrediagnóstico (detección de cáncer de próstata en pacientes que no hubieran sido diagnosticados de CaP sino se hubieran sometido a las pruebas de screening) y el sobretratamiento (pacientes que no deberían ser tratados si no se hubieran sometido al screening), con el consiguiente aumento del coste y el uso de procedimientos más invasivos.

Desde 2013, los datos del *European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer* (ERSPC) (Schroder et al., 2014), han sido actualizados con 13 años de seguimiento. El mensaje clave es que con un seguimiento prolongado, la reducción de la mortalidad se mantiene sin cambios (21 y 29% después del ajuste por incumplimiento). Sin embargo el número necesario para detectar y tratar está disminuyendo, y ahora se ha observado en los ensayos que está por debajo del número necesario para detectar el cáncer de mama. Se puede por tanto ofrecer una estrategia individualizada, adaptada al riesgo para la detección temprana, a un hombre bien informado con al menos diez-quince años de esperanza de vida. Sin embargo, este enfoque aún puede estar asociado con un riesgo sustancial de sobrediagnóstico y sobretratamiento como hemos referido anteriormente.

Los hombres con riesgo elevado de tener CaP son aquellos mayores de 50 años, o mayores de 45 años, con antecedentes familiares de CaP (tanto paterno o materno), o afroamericanos. Además, los hombres con un PSA >1 ng/mL a 40 años y >2 ng/mL a los 60 años también tienen un mayor riesgo de CaP metastásico, o muerte por CaP varias décadas después. Hombres que tienen menos de quince años de esperanza de vida es poco probable que se beneficien de estos procedimientos, en base a los datos del *Prostate Cancer Intervention Versus Observation Trial* (PIVOT) y los ensayos ERSPC (Mottet et al., 2017).

1.3.5.2 Diagnóstico clínico

Algunas de las principales técnicas utilizadas en la evaluación del CaP en su etapa inicial son el examen dígito-rectal (EDR), la determinación sérica del antígeno prostático específico (PSA), y la ecografía transrectal de próstata (Metzlin et al., 1991; Catalona et al., 1991). Sin embargo, se ha observado que los niveles de PSA, como variable independiente, parece ser mejor predictor de cáncer que los hallazgos encontrados con el tacto rectal o los ultrasonidos (Mottet et al., 2017).

1.3.5.2.1 Examen dígito rectal (EDR)

La mayoría de los CaP se encuentran en la zona periférica y pueden detectarse mediante EDR cuando el volumen es >0.2 ml. En aproximadamente el 18% de los casos, el CaP se detecta solo por EDR sospechoso, independientemente del nivel de PSA (Richie et al., 1993). Un EDR sospechoso en pacientes con un nivel de PSA <2 ng/mL tiene un valor predictivo positivo de 5-30% (Carvalho et al. 1991). El EDR anormal está asociado con un aumento del riesgo de mayor puntaje de Gleason y es una indicación para la biopsia (Okotie et al., 2007; Gosselaar et al., 2008).

1.3.5.2.2 Marcadores tumorales de cáncer de próstata

- *Antígeno prostático específico (PSA o hK3)*

El marcador más notable de la familia de las kaliceínas es hK3, conocido como también como PSA. El PSA se identificó y purificó por primera vez a finales de la década de los 70, aunque el uso generalizado en urología clínica se demoró otra década (Rao et al., 2008), siendo considerado actualmente, el biomarcador más importante para la detección y monitorización del CaP (Hara et al., 1971; Wang et al., 1979). Fue aprobado por la *USA Food and Drug Administration (FDA)* en 1986 para la monitorización del CaP. En 1994 el test fue aprobado para su uso en la detección del CaP en combinación con el tacto rectal (Nogueira et al., 2009).

El PSA es una glucoproteína de 33 KDa. Inicia su producción como una pre proteína de 261 aminoácidos. La eliminación de 17 aminoácidos da origen a una proteína precursora llamada proPSA, inactiva. Después de ser secretada al líquido seminal por acción de hKlk2 o la Hklk4, se convierte en PSA maduro y activo (237 aminoácidos). Este PSA activo del líquido seminal puede difundir hasta llegar a la sangre, donde se une rápidamente de manera irreversible y covalente a los inhibidores de proteasas séricas (antiquimiotripsina o alpha 1-proteasa) o a la alpha 2-macroglobulina formando complejos. La alfa1-antiquimiotripsina se une aproximadamente al 90 % del PSA sérico y este PSA conjugado a la alfa1-antiquimiotripsina funciona como una serin proteasa enzimáticamente inactiva (Carroll, 2001). También puede ser degradado por proteólisis y originar un PSA inactivo que puede encontrarse en sangre como PSA libre (Liu, et al., 2012).

Hay por tanto, dos formas moleculares de PSA circulantes en sangre periférica: el PSA libre (PSA_f), no fijado, que representa entre el 5 y el 35% del PSA total; y el PSA complex o complejo (PSA_c), unido a proteínas, que representa del 65 al 95% del PSA. En ambos casos, el PSA carece de actividad enzimática, pero sí posee inmunorreactividad.

La forma precursora del PSA, ProPSA, también puede servir como un indicador adicional en la diferenciación de procesos malignos y benignos (Oh et al., 2003). Sin embargo, en un grupo de pacientes examinados con niveles de PSA entre 2.5 y 4 ng/ml, el cociente ProPSA/ PSA_f mostró más especificidad en la detección del CaP en comparación con el PSA_L solo (Sokoll et al., 2003). La función de esta proteasa regulada por andrógenos es licuar el semen por su acción sobre las proteínas del semen formadoras de gel (semenogelina y fibronectina) después de la eyaculación. Su vida media sérica es de 2-3 días.

Inicialmente, se pensaba que era sintetizado exclusivamente por las células del epitelio prostático, de ahí que fuera utilizado como biomarcador para el diagnóstico y manejo del CaP (Chu, 1997). Sin embargo, el PSA se ha encontrado también en líneas celulares normales y

tumorales así como en fluidos biológicos sintetizados por numerosas células, aunque principalmente por el epitelio prostático (Diamandis and Yu, 1997; Polascik et al., 1999).

La principal ventaja del PSA es su sensibilidad, siendo su principal desventaja su escasa especificidad. No existe una concentración de PSA en la que el riesgo de CaP sea inexistente. Esto da lugar a la realización de biopsias innecesarias por valores elevados de PSA, que en algunos casos reflejan un gran volumen prostático en lugar de alto riesgo de CaP (Ploussard and de la Taille, 2010). La forma precursora del PSA, ProPSA, también puede servir como un indicador adicional en la diferenciación de procesos malignos y benignos. Sin embargo, en un grupo de pacientes examinados con niveles de PSA entre 2.5 y 4 ng/ml, el cociente ProPSA/PSA_L mostró más especificidad en la detección del CaP en comparación con el PSA_L solo.

Las concentraciones séricas elevadas de PSA son producto de la ruptura de la arquitectura celular dentro de la glándula prostática. Un sitio de salida del PSA al torrente sanguíneo podría ser la pérdida de la barrera formada por la membrana basal dentro del epitelio normal de la glándula prostática. Esto ocurre en determinadas afecciones prostáticas, como la hiperplasia benigna de próstata, la prostatitis, o el CaP, pero también en situaciones en las que existe manipulación prostática, como puede ser un masaje prostático o una biopsia.

Por ello, la principal ventaja del PSA es su sensibilidad, siendo su principal desventaja su escasa especificidad. No existe una concentración de PSA en la que el riesgo de CaP sea inexistente. Esto da lugar a la realización de biopsias innecesarias por valores elevados de PSA, que en algunos casos reflejan un gran volumen prostático en lugar de alto riesgo de CaP (Ploussard and de la Taille, 2010).

Se ha constatado un aumento de PSA tanto con la edad como con el volumen prostático. En varones sin hiperplasia benigna de próstata (HBP), se ha observado un aumento de 0.04 ng/ml por año del PSA, mientras que en varones con HBP, el aumento fue de entre 0.07 a 0.27 ng/ml

(Morote and Placer, 2011). Cualquier situación clínica que implique una patología de próstata con rotura de su membrana basal conlleva a un aumento de los niveles séricos de PSA, por lo que es posible observar niveles elevados en HBP, prostatitis, cáncer de próstata, etc. (Shariat et al., 2011).

En busca de mejorar dicha especificidad se ha recurrido a la densidad (PSAD), velocidad (PSAV; incremento anual del PSA) y *doubling time* (PSA-DT) y % PSA_L (PSA_L/PSA_T) los cuales solo han aportado mejoras marginales en términos de especificidad.

- Densidad de PSA (PSAD): La densidad del antígeno específico de la próstata es el nivel de PSA en suero dividido por el volumen de próstata determinado por ecografía transrectal. Cuanto mayor es la densidad de PSA, es más probable que el CaP sea clínicamente significativo (PSAD > 0.15ng/ml/cc).
- Velocidad de PSA (PSAV) y tiempo de duplicación del PSA (PSA-DT): Hay dos métodos para medir la cinética del PSA:
 - *Velocidad del PSA (PSAV)*: aumento absoluto anual del PSA sérico (ng/ml/año) (Carter et al., 1992). A favor de un diagnóstico de cáncer, se han propuesto los valores umbral de cinética del PSA superiores a 0,75 ng/ml/año, pero sin que exista consenso sobre su uso de rutina (Gretzer and Partin, 2008).
 - *Tiempo de duplicación del PSA (PSA-DT)*: que mide el aumento exponencial del PSA sérico a lo largo del tiempo (Schmid et al, 1993).

La velocidad del antígeno específico de la próstata y el PSA-DT pueden tener un papel pronóstico en el tratamiento del CaP, pero limitado uso diagnóstico debido al volumen total de próstata e HBP, diferentes intervalos entre las determinaciones de PSA y aceleración/desaceleración de PSAV y PSA-DT a lo largo del tiempo. Estas mediciones no proporcionan información adicional en comparación con PSA solo (Heidenreich, 2008; O'Brien et al., 2009).

- Cociente PSA_f/PSA: En 1995 Luderer et al (Luderer et al., 1995), promulgaron por primera vez el uso del porcentaje de PSA libre (PSA_L) para la indicación de biopsia de próstata en el rango de PSA_t (4-10 ng/ml). En su estudio mediante curvas ROC demostraron que aisladamente el PSA_t entre 4-10 ng/ml no era capaz de determinar con precisión la positividad o no de cáncer de próstata en la biopsia de próstata y en contraste, el % PSA_L era útil para identificar aquellos hombres con cáncer. Observaron una especificidad del 31% para el % PSA_L frente a un 0% del PSA_t y establecieron el punto de corte en un 25%.

López et al (López-Luque et al., 2006), en su estudio, confirman las conclusiones de Luderer, ya que en su serie la curva ROC obtenida para el PSA_t no nos permite afirmar, con una significación estadística adecuada, que sea un buen predictor de positividad para cáncer de próstata en los pacientes seleccionados. En dicho estudio, el punto de corte obtenido para una sensibilidad del 90% y una especificidad del 20% es del 19%. Refieren que si hubiesen incluido 26% como criterio de inclusión, hubieran ahorrado la realización de 139 biopsias (19,11%) y la tasa de biopsia prostática positiva hubiese ascendido del 14,6% al 18,02%, dejando sin diagnosticar 10 tumores prostáticos.

Muchos han sido los estudios posteriores que hay publicados en la literatura presentando puntos de corte que oscilan entre el 14% y el 26%. Catalona et al (Catalona et al., 1998), publican en 1998 un estudio prospectivo multicéntrico en el que se establece inicialmente el punto de corte en un 25% con una sensibilidad del 90% y especificidad del 20% para pacientes con PSA_t entre 4-10 ng/ml y llegando a la conclusión que usando este punto de corte se ahorrarían aproximadamente un 20% de las biopsias realizadas. Posteriormente este mismo autor incluye el subgrupo de pacientes con PSA entre 2,6-4ng/ml, estableciendo, con una sensibilidad del 90% el punto de corte en 26% para este subgrupo. En el estudio de López et al (Lopez-Luque et al., 2006), el punto de corte obtenido para una sensibilidad del 90% y una

especificidad del 20% es del 19%. Refieren que si hubiesen incluido 26% como criterio de inclusión, hubieran ahorrado la realización de 139 biopsias (19,11%) y la tasa de biopsia prostática positiva hubiese ascendido del 14,6% al 18,02%, dejando sin diagnosticar 10 tumores prostáticos.

Por el contrario, el PSA se muestra como excelente marcador en la monitorización terapéutica de los pacientes, siendo su cinética determinante en el manejo de la enfermedad tras prostatectomía radical, radioterapia, braquiterapia, hormoterapia, etc. (Zhang et al., 2013).

- *PCA3*

Mediante presentación diferencial e inmunotransferencia Northern para comparar tejido normal y de CaP, Bussemakers y col (Bussemakers et al., 1999), en 1999, identificaron el gen prostático específico *DD3* del cromosoma 9q21-22.

Se trata de un RNA no codificante producido casi con exclusividad por la próstata, y se ha demostrado que está altamente sobreexpresado en los tejidos con CaP (95%), incluyendo las metástasis, cuando se compara con el tejido adyacente prostático no tumoral.

Ha demostrado una utilidad clínica en los estudios multicéntricos llevados a cabo. En particular, esta herramienta puede ser muy útil a la hora de determinar la necesidad de una re-biopsia en pacientes con un elevado riesgo de cáncer de próstata (pero sin embargo la primera biopsia es negativa), para decidir la primera biopsia, detección de recurrencias después de la prostatectomía radical o radioterapia o para la monitorización de pacientes que estén tomando fármacos que afecten a los niveles de PSA (inhibidores de la 5-alfa reductasa) (Day et al., 2011). Hay alguna evidencia acerca de que el PCA3 se puede correlacionar con los determinantes de la agresividad del cáncer, tales como el tamaño del tumor, grado del Gleason y extensión extracapsular (Day et al., 2011).

No está influenciado por el volumen prostático ni por las prostatitis. Los resultados preliminares de un estudio multicéntrico demostraron que la puntuación del PCA3 fue superior al PSA, al cociente PSA libre/PSA total y densidad de PSA para predecir los resultados de biopsia en pacientes sometidos a una primera biopsia. Los estudios también demostraron una fuerte correlación entre la puntuación del PCA3, la agresividad del cáncer en términos de enfermedad no órgano-confinada y volumen tumoral (en la pieza de prostatectomía radical) (Nakanishi et al., 2008; Whitman et al., 2008). La sensibilidad clínica del test PCA3 oscila entre el 50-75% según muchos estudios, sin embargo, esta es menor cuando se usa para la detección de PIN de alto grado. En la actualidad, la única prueba comercialmente disponible utiliza la amplificación mediada por transcripción en muestras de orina después de un examen digito-rectal, estando comercializada en Europa y EE.UU bajo la marca comercial PROGENSA PCA3 (Day et al., 2011).

- *Prueba de suero adicional*

Algunos ensayos que miden un panel de kaliceinas en suero o plasma ahora están disponibles comercialmente, incluyen la prueba del Índice de Salud de la Próstata (PHI), por sus siglas en inglés) aprobada por la FDA, que combina el PSA libre y total y el (-2) pro-PSA isoforma (p2PSA), y la prueba de puntuación de cuatro kaliceinas (4K) (que mide el PSA libre, intacto y total y similar a la kaliceina-like *peptidasa 2 [hK2]*). Ambas pruebas tienen como objetivo reducir el número de biopsias de próstata innecesarias. Unos pocos estudios multicéntricos prospectivos demostraron que tanto la prueba de PHI como la de 4K superaron el rendimiento del cociente PSA_f/PSA_t en la detección del CaP, con una predicción mejorada del CaP clínicamente significativo en hombres con un PSA entre 2-10 ng/ml (Loeb et al., 2014; Bryant et al., 2015; de la Calle et al., 2015).

1.3.5.2.3 Biopsia de próstata

El diagnóstico de CaP se establece mediante la biopsia de próstata, que es una prueba invasiva que se realiza fundamentalmente guiada por ecografía endorrectal, introducida por Lee en 1989 (Lee et al., 1989). La biopsia sextante ya no se considera adecuada. Para un volumen prostático de 30-40 mL, > 8 cilindros deben ser muestreados. Se recomiendan de diez a doce cilindros biopsicos (Donovan et al., 2003; Mottet et al., 2017).

La incidencia de CaP detectados por biopsia por saturación (>20 cilindros) es del 30-43% (Mottet et al., 2017).

Según las recomendaciones de la Guía de CaP de la *European Urology Association* y el proceso de Hiperplasia Benigna de Próstata/Cáncer de próstata del Servicio Andaluz de Salud (Proceso hiperplasia benigna de próstata y/o cáncer de próstata, 2004; Mottet et al., 2017), la indicación de biopsia sería la siguiente:

- a) Sujetos con una edad comprendida entre 50-70 años, con síntomas de tracto urinario inferior y un PSA total (PSA_t) entre 3 y 10ng/ml con un cociente $PSA_L/PSA_t < 20\%$.
- b) Sujetos entre 40-50 años, con un $PSA_t > 2.5-3ng/ml$ y con antecedentes familiares directos -un familiar de primer grado multiplica por dos el riesgo de CaP, mientras que si son dos los familiares de primer grado que presentan CaP, se multiplican entre 5 y 11 veces el riesgo-, y/o raza negra).
- c) Velocidad de crecimiento $PSA_t > 0.75ng/ml$ en pacientes con niveles elevados de PSA.
- d) $PSA_t > 10ng/ml$.
- e) Tacto rectal (TR) sospechoso independientemente de la cifra de PSA (un TR sospechoso en pacientes con un nivel de PSA por encima de 2ng/ml tiene un VPP de 5-30%).

En términos diagnósticos, la primera elevación de PSA no debería llevar a realizar una biopsia inmediatamente sino que debería repetirse (en el mismo laboratorio, usando los mismos

métodos) a las pocas semanas, en ausencia de eyaculación, infecciones del tracto urinario o manipulaciones como cateterización uretral, cistoscopia o resección transuretral de próstata. Si el PSA aumenta o se mantiene persistente tras una nueva muestra se indicará la biopsia, así como en los casos de proliferación acinar atípica pequeña (ASAP) detectado en biopsia previa, se repetirá la biopsia. Si la sospecha clínica de cáncer persiste y las biopsias son negativas, podría estar indicada una resonancia magnética nuclear (RMN) para investigar la posibilidad de un cáncer de próstata de localización anterior, seguido de una biopsia endorrectal guiada por ultrasonidos.

Sin embargo la tasa de positividad en la primera biopsia, depende de factores conocidos como el PSA, tacto rectal, volumen prostático, PSAt/ PSA_L, etc., y de otros no tan conocidos como la prevalencia de CaP en la población a estudiar. Se ha descrito una tasa de positividad, en primera biopsia, para cáncer de próstata en pacientes con PSA entre 4 y 10 ng/ml y tacto rectal normal del 20-30% (Hodge et al., 1989), ascendiendo al 60% para los que tienen un PSA > 10ng/ml (Andriole and Catalona, 1993). Por otra parte, la biopsia incluye un porcentaje de falsos negativos que se acerca al 30% (Sanz-Pérez et al., 2000).

Rohel y et (Roehl et al., 2001), observaron que de los tumores detectados a partir de PSA 2,6 a 4,0 ng/ml, el 80% eran órgano-confinado y de los casos detectados con un PSA mayor de 4,0 ng/ml, esta cifra se redujo al 66%. Además, encontró una correlación inversa entre el volumen prostático y la tasa de detección de cáncer en la biopsia. Los casos en los que el volumen, medido mediante ecografía endorrectal, era mayor de 30cc, un 23% fueron diagnosticados de CaP en comparación con el 44% de aquellos con un volumen inferior o igual a 30cc ($p > 0,001$). De este artículo también se puede obtener como conclusión, que la rentabilidad de obtener una biopsia positiva disminuye con el número de biopsias.

1.3.5.2.4 Biopsia líquida

El *National Institute of Health* (NIH) americano definió hace años a la biopsia líquida como *“toda aquella prueba que se realiza en una muestra de sangre con el fin de buscar células cancerosas circulantes en la sangre, o bien fragmentos de ADN de esas células tumorales circulantes”*. Sin embargo, esta definición quedó obsoleta y actualmente el concepto engloba también otros tipos de análisis, como exosomas, ARN, proteínas, etc., realizados siempre a través de un fluido corporal del paciente y de forma mínimamente invasiva (Lianidou et al., 2015).

Esta técnica ha crecido y se ha desarrollado de manera exponencial durante los últimos años en el área científico-médica. En 2016, se ha creado la Sociedad Internacional de Biopsia Líquida (SIBL), que define la biopsia líquida como un *“test mínimamente invasivo que se realiza utilizando un fluido corporal (sangre, orina, semen, líquido cefalorraquídeo) y que permite la detección de biomarcadores celulares o moleculares con el fin de obtener información diagnóstica, pronóstica o predictiva de la enfermedad”*.

La biopsia líquida se puede utilizar para ayudar a encontrar un cáncer en estadio temprano, y para ayudar a planificar el tratamiento, determinar su eficacia y detectar la recidiva. La posibilidad de tomar varias muestras de sangre a lo largo de un tiempo, también ayuda a entender los cambios moleculares que están ocurriendo en el tumor (Lianidou et al., 2015).

En el caso de ciertos tumores, la biopsia tisular del tumor o de sus metástasis permite descifrar biomarcadores pronósticos y predictivos con más facilidad. Sin embargo, una de las principales metástasis del cáncer de próstata es al hueso, lo que supone una importante barrera en la obtención de muestras para su análisis y monitorización molecular. La biopsia líquida puede plantearse como alternativa a este problema.

Existen 3 tipos de marcadores a estudiar en biopsia líquida oncológica: Células tumorales circulantes (CTCs), ADN celular libre (cfDNA o ctDNA) y exosomas (Herrero & García-Foncillas, 2017).

- *Células tumorales circulantes*

Las CTCs son células procedentes del tumor, que se encuentran en el torrente sanguíneo en una proporción estimada de 1:1.000.000 células (Joosse et al., 2015). Según el modelo del proceso de metástasis, estas células son liberadas al torrente sanguíneo desde el tumor primario, y tras adquirir unas determinadas características, serían capaces de alcanzar otros órganos diana y provocar enfermedad metastásica a distancia (Stott et al., 2010). Las CTCs han sido recientemente aceptadas como marcadores pronósticos en la metástasis del cáncer de próstata (Puche-Sanz et al., 2017).

Si bien, el modelo clásico supone a las CTCs distribuyéndose desde el tumor primario hacia otros órganos diana, hoy se ha demostrado también el proceso inverso. En ratones a los que se les extirpó un tumor primario, se ha observado que las CTCs generadas por la metástasis, pueden volver a su órgano inicial provocando recidiva local. Esto se conoce como “*self-seeding*” tumoral (Kim et al., 2009).

- *ADN libre circulante (cfDNA o ctDNA)*

Al hablar de DNA libre en sangre, conviene diferenciar entre dos conceptos:

- Cell-free tumoral DNA (ctDNA): Son fragmentos de ADN liberados a la sangre por la necrosis y apoptosis de células tumorales
- Cell-free DNA (cfDNA): Son fragmentos de ADN liberados a la sangre por la necrosis y apoptosis de células NO tumorales.

Al igual que un tumor es capaz de liberar al torrente sanguíneo células (CTCs), la necrosis y apoptosis de las células tumorales pueden liberar a la sangre fragmentos de ctDNA, susceptibles de ser detectados (Fleischhacker and Schmidt, 2007), y que se eliminan a través del hígado y los riñones.

Las dianas terapéuticas suelen ser normalmente proteínas, por ello, el ctDNA puede aportar información muy valiosa acerca de alteraciones en los genes que codifican dichas proteínas, y que pueden alterar la eficacia de los fármacos dirigidos a estas dianas. Así, por ejemplo, se pueden detectar mutaciones del gen RA en el caso del CaP. Las aberraciones en este gen detectadas en el ctDNA demuestran ser predictores de la respuesta a la terapia de deprivación androgénica (Azad et al., 2015).

- *Exosomas*

Los exosomas son vesículas intracelulares que pueden ser secretadas por las células tumorales y pasar al a sangre, donde pueden ser detectadas. Estas vesículas contienen diferentes moléculas, como proteínas, moléculas de RNA de membrana, y el citoplasma de las células tumorales de las que provienen. Se piensa que pueden tener un papel importante en la transferencia de información y sustancias de célula a célula durante el desarrollo tumoral (Junker et al., 2016).

El estudio más relevante que relaciona los exosomas con el CaP ha sido publicado por Del Re y cols en 2017 (Del Re et al., 2017). En él se describe un método para detectar una variante del receptor de andrógenos, RA-V7, en el ARN exosomal plasmático circulante de pacientes con CaP, coincidiendo con otros estudios (Wicha and Hayes, 2011) en la capacidad de esta variante para predecir la resistencia a la terapia de deprivación androgénica en estos pacientes.

Tanto los estudios en tejido tumoral (Welti et al., 2016) como los estudios con CTCs (Onstenk et al., 2015) y en exosomas (Del Re et al., 2017), han demostrado que la presencia de AR-V7 en

pacientes con CaP reduce la tasas de respuesta de PSA y acorta el tiempo libre de progresión de la enfermedad con respecto a los pacientes AR-V7 negativos.

1.3.5.2.5 Pruebas de imagen

1.3.5.2.5.1 Ecografía transrectal

La ecografía transrectal (ETR) fue descrita por primera vez en 1968 por Watanabe y cols (Watanabe et al., 1968). Hoy en día la ETR aporta su mayor valor como vehículo para realizar biopsias de próstata y la estimación del volumen glandular (Hricack et al., 2007). Sin embargo, la principal limitación que tiene este tipo de ecografía, es que la inmensa mayoría de lesiones hipoecoicas no son cáncer, y que más de la mitad de los cánceres que se diagnostican no son palpables y son menores de un cm, por lo que resulta muy difícil visualizarlo gracias a esta técnica.

El valor de la ETR en la detección de la lesión primaria está limitado a un 50% de los casos, debido a su baja sensibilidad y especificidad. De hecho, la ETR sin biopsia puede considerarse de una precisión semejante al examen físico.

El patrón de imagen del CaP es muy variado. La imagen más típica de un tumor prostático es la de un nódulo hipoecoico en la zona periférica de la glándula (Figura 13). La extensión de una lesión hipoecoica directamente a la vesícula seminal se correlaciona desde hace mucho tiempo con su invasión (Ohori et al., 1993). El problema surge es que entre el 24 y el 40% de los tumores son isoecoicos, indistinguibles en la imagen y solo detectables mediante biopsias aleatorizadas de la glándula (Passas Martínez et al., 2008). El tipo menos probable de lesión es la hiperecoica, la cual representa tan solo el 1% del total.

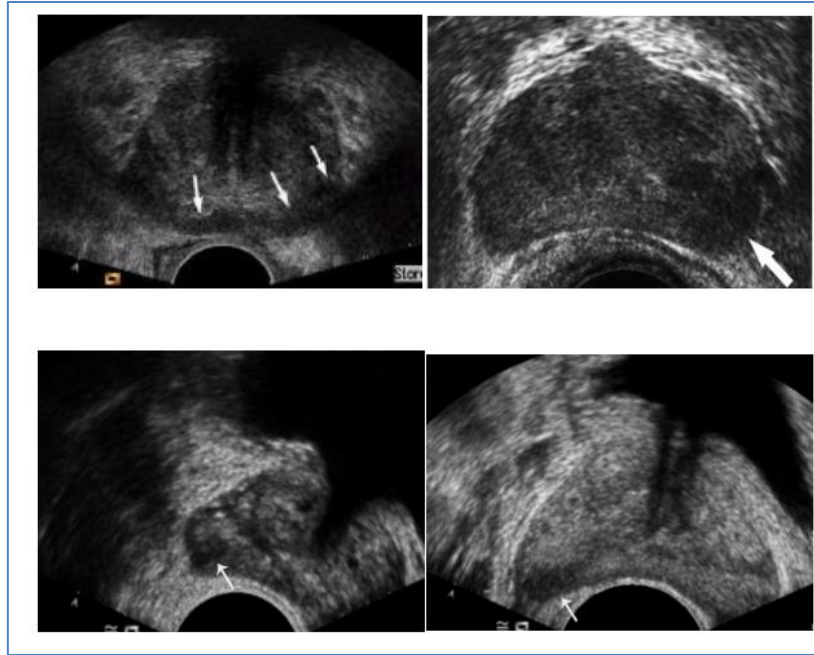


Figura 13. Imagen de ecografía transrectal donde se visualizan imágenes hipoecoicas en el área periférica de la próstata.

1.3.5.2.5.2 Ecografía Doppler color estándar y Power Doppler

La primera descripción de este principio físico fue realizada por Johan Christian Doppler en la Real Sociedad Bohemia de enseñanza. Se utiliza para valorar el flujo sanguíneo, permitiendo, por tanto, valorar el flujo normal y anormal dentro de la próstata. Su introducción ha significado una mejora para la detección del foco primario de carcinoma (Sauvain et al., 2003). En el cáncer de próstata, se ha identificado un aumento tumoral anormal de flujo sanguíneo, cosa que no sucede en el caso de la HBP (Choyke et al., 2009). Además, el desarrollo de contrastes específicos, como las microburbujas, podría favorecer la detección de lesiones primarias y ayudar a evaluar la vascularización como señal de angiogénesis (Ellegala et al., 2013).

Por otro lado, el Power Doppler es una técnica ecográfica altamente sensible que permite visualizar los pequeños vasos sanguíneos de baja velocidad dentro de la próstata y demostrar la distribución vascular simétrica de la glándula (Fanti, 2012). Las lesiones malignas poseen

vasos de neoangiogenesis que en principio son de muy baja velocidad. Por lo tanto, las lesiones prostáticas que todavía no son palpables por el urólogo o visibles por ecografía, el Power Doppler sí es capaz de detectar una asimetría en la distribución del flujo vascular. No obstante, pueden darse lesiones en la zona periférica de la próstata y que no correspondan necesariamente a adenocarcinomas, sino por ejemplo, a prostatitis crónica (Fanti, 2012).

1.3.5.2.5.3 Resonancia magnética multiparamétrica (RMNmp)

La RMNmp (T2 potenciada) representa el método de imagen más útil en la estadificación local del cáncer de próstata. Su capacidad de detección de afectación extraprostática aumenta con el incremento del radio de extensión en la grasa periprostática, así Jager et al. (Jager et al., 1996) demostraron un aumento del 14% al 100% de detección al incrementarse el radio de extensión desde <1 mm a >3 mm. Cornud et al. (Cornud et al., 2002), observan un aumento de la sensibilidad para la detección de pT3 en caso de afectación extraprostática extensa frente a local (62% vs 40%), siendo la especificidad del 95% en ambos casos. El uso de RMNmp de 3T (Teslas) mejora la sensibilidad de diagnóstico de afectación extraprostática e invasión de las vesículas seminales (de Rooij et al., 2016). Otros parámetros derivados de la RMNmp, como el volumen del tumor, la longitud de contacto del tumor con la cápsula, o el score de Gleason obtenido a través de la biopsia guiada por RMNmp podrían mejorar aún más la estadificación local (Mayor de Castro et al., 2018).

La RMNmp puede detectar con fiabilidad tumores agresivos en pacientes candidatos para biopsia de próstata con un valor negativo (VPN) y un valor predictivo positivo (VPP) del 63 al 98% y del 34 al 68%, respectivamente (Futterer et al., 2015), de ahí, que la RMNmp se realiza cada vez más antes de la biopsia de próstata con el objetivo de detectar CaP clínicamente significativos y realizar la biopsia selectiva de dicha área (Figura 14).

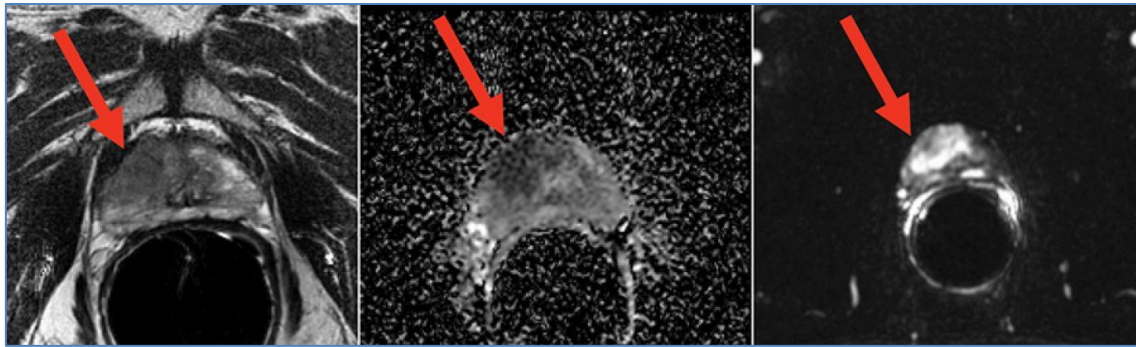


Figura 14. Se muestra un tumor de gran tamaño (flechas) de la glándula prostática anterior en una resonancia magnética por imágenes multiparamétrica, que combina imágenes ponderadas en T2 (izquierda), imágenes ponderadas por difusión (centro) e imágenes dinámicas mejoradas con contraste (derecha).

Actualmente, la evidencia científica sugiere que la Biopsia guiada por RMN tiene una mayor tasa de detección de CaP clínicamente significativos en comparación con las biopsias sistemáticas (van Hove et al., 2014; Schoots et al., 2015; Wegelin et al., 2016).

Sin embargo, el análisis de los subgrupos mostró que el impacto de la RMNmp fue más marcada en la biopsia de repetición, pero no en los hombres que no habían recibido biopsia previa (van Hove et al., 2014; Schoots et al., 2015).

Dos grandes estudios multicéntricos (MRI-FIRST y PRECISION) están actualmente en curso para definir el valor agregado de la resonancia magnética previa a la biopsia en pacientes sin experiencia previa en biopsia. Por lo tanto, es demasiado pronto para hacer recomendaciones sobre el uso de rutina de la RMNmp prebiopsia en pacientes sin experiencia previa en biopsia.

Entre las limitaciones que muestra la RMNmp, además de las propias técnicas de la prueba, son la variación excesiva en el rendimiento, la interpretación y el informe de los exámenes de RM de próstata. En un intento de solucionar dichas limitaciones, la Sociedad Europea de Radiología Urogenital (ESUR) elaboró unas directrices, incluido un sistema de puntuación, para la RM de próstata conocida como PI-RADS™ versión 1 (PI-RADS™ v1). Desde su publicación en 2012, PI-RADS™ v1 ha sido validado en ciertos escenarios clínicos y de investigación (PI-RADS™, 2015).

Sin embargo, la experiencia también ha revelado varias limitaciones, en parte debido al rápido progreso en el campo. En un esfuerzo por hacer que la estandarización de PI-RADS™ sea más aceptable a nivel mundial, el Colegio Americano de Radiología (ACR), ESUR y la Fundación AdMeTech establecieron un Comité Directivo para construir, actualizar y mejorar los cimientos de PI-RADS™ v1. Este esfuerzo resultó en el desarrollo de PI-RADS™ v2, el cual está diseñado para promover la estandarización global y disminuir la variación en la adquisición, interpretación y reporte de exámenes de RMNmp de próstata (PI-RADS™, 2015).

En base a los usos y capacidades actuales de mpMRI y procedimientos dirigidos a MRI, para PI-RADS™ v2 el cáncer clínicamente significativo se define en patología/histología como puntuación de Gleason ≥ 7 (incluidos 3 + 4 con componente de Gleason 4 prominente pero no predominante), y/o volumen $\geq 0.5\text{cc}$, y/o extensión extraprostática adicional (PI-RADS™, 2015).

La evaluación PI-RADS™ v2 usa una escala de 5 puntos basada en la probabilidad (probabilidad) de que una combinación de los hallazgos de mpMRI en T2W, DWI y DCE se correlacione con la presencia de un cáncer clínicamente significativo para cada lesión en la glándula prostática (PI-RADS™, 2015).

Categorías de evaluación de PI-RADS™ v2:

- PIRADS 1 - Muy bajo (es poco probable que haya cáncer clínicamente significativo)
- PIRADS 2: bajo (es poco probable que exista cáncer clínicamente significativo)
- PIRADS 3 - Intermedio (la presencia de cáncer clínicamente significativo es equívoca)
- PIRADS 4 - Alto (es probable que haya cáncer clínicamente significativo)
- PIRADS 5: muy alto (es muy probable que haya cáncer clínicamente significativo)

A pesar del uso del nuevo sistema de puntuación PI-RADS™ v2 (Weinreb et al., 2016), la RMNmp tiene una baja especificidad, con altas tasas de falsos positivos, especialmente entre las lesiones puntuadas 3/5 y 4/5 (Mertan et al., 2016).

1.3.5.2.5.4 Tomografía computerizada (TC) aislada y combinada con Tomografía por emisión de positrones

La tomografía computerizada presenta poca sensibilidad y especificidad para la estadificación local del cáncer de próstata, aunque puede mostrar la evidencia de diseminación a ganglios linfáticos, vesículas seminales, y afectación a distancia.

La tomografía por emisión de positrones (PET), es una técnica de imagen que utiliza radiofármacos marcados con isótopos emisores de positrones, para visualizar en *in vivo* diversos procesos fisiológicos y fisiopatológicos. Los isótopos emisores de positrones son básicamente cuatro: ^{15}O , ^{11}C , ^{18}F y ^{13}N . Desafortunadamente no existe ningún trazador PET específico para la próstata, por lo que actualmente se están utilizando en la clínica y en investigación en la estadificación del cáncer de próstata: ^{18}F -FDG, ^{11}C -colina, ^{18}F -colina, ^{11}C -acetato, ^{18}F -acetato, ^{18}F -Fluoruro, el antígeno de membrana específico prostático (PSMA) entre otros.

En dos metanálisis diferentes, las sensibilidades y especificidades combinadas del PET/TC colina para todos los sitios de la recidiva en pacientes con recurrencia bioquímica fue del 86-89% y 89-93%, respectivamente (Evangelista et al., 2013; Fanti et al., 2016). El PET/TC colina puede detectar metástasis óseas múltiples en pacientes que muestran una sola metástasis en la gammagrafía ósea y pueden ser positivos para metástasis óseas en hasta el 15% de pacientes con recidiva bioquímica después de Prostatectomía radical y gammagrafía ósea negativa (Fuccio et al., 2012).

La sensibilidad del PET/TC colina depende en gran medida del nivel de PSA y la cinética (Treglia et al., 2014) En pacientes con recidiva bioquímica después de la prostatectomía radical las tasas de detección de PET/TC colina son solo del 5-24% cuando el nivel de PSA es <1 ng / ml, pero se eleva al 67-100% cuando el nivel de PSA es > 5 ng/mL. En un metanálisis, las tasas de

detección PET/TC colina fueron del 65% (IC 95%: 58% -71%) cuando el PSA-DT fue <6 meses, y fue del 71% (IC 95%: 66% -76%) y 77% (IC 95%: 71% -82%) cuando la velocidad del PSA fue > 1 y > 2 ng / mL / año, respectivamente (Treglia et al., 2014).

Dado que la expresión del marcador de membrana PSMA se ha correlacionado con los niveles de PSA y el score de Gleason (Uprimny et al., 2017), se ha propuesto la PET/TC 68 Ga-PSMA para la estadificación de la enfermedad primaria, con una mejoría de los resultados obtenidos respecto de la TC estándar a la hora de detectar afectación metastásica (Lenzo et al., 2018), Por otra parte, se ha comparado su uso frente a la RMNmp para la localización del tumor intraprostático, e incluso se ha propuesto su uso combinado, obteniendo mejores resultados que de forma aislada en tumores de riesgo alto e intermedio.

La principal importancia de este método diagnóstico es el cambio de manejo que puede suponer en el paciente con cáncer de próstata, aunque la principal rentabilidad se obtiene en pacientes con recidiva bioquímica (Roach et al., 2018) (Figura 15).

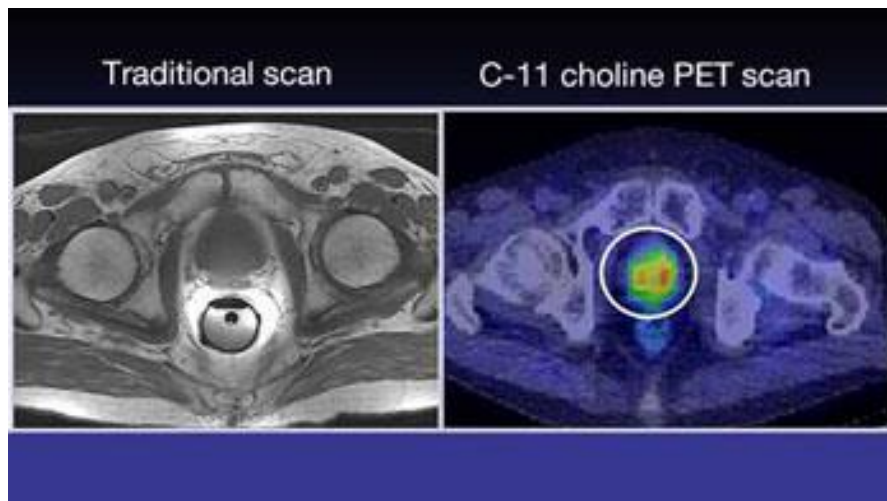


Figura 15. Comparación de un examen tradicional y una PET con Colina C-11 para la detección de los sitios de recurrencia del cáncer de próstata.

1.3.5.3 Estudio de Biomarcadores en el cáncer de próstata.

El análisis de la literatura parece demostrar que los niveles séricos de PSA aportan información altamente órgano-específica, pero poco específica para la enfermedad, ya que tanto en hiperplasia benigna de próstata como en la prostatitis se producen aumentos séricos de este biomarcador, pero además muchos pacientes con CaP localizado presentan valores de PSA que se solapan con los de sujetos sanos, resultando una zona gris de difícil interpretación el intervalo entre 4-10ng/ml (Fernández-Serra et al., 2011).

Por todo esto es muy importante la identificación de nuevos biomarcadores que representen herramientas útiles en el diagnóstico y manejo clínico del CaP. Actualmente, se está trabajando en la búsqueda de biomarcadores tanto urinarios como en sangre, que supongan una alternativa, para superar esa falta de especificidad que ofrece el PSA.

La sangre y la orina contienen productos de degradación de células benignas y malignas y sus productos secretados (Ploussard and de la Taille, 2010). La detección de biomarcadores en estos fluidos corporales tiene ventajas sobre el uso de marcadores tisulares tales como la no invasividad y el coste económico. Por tanto, el empleo de estos test, a diferencia de la biopsia de próstata, podrían ser particularmente atractivos para una gran selección de candidatos.

Un biomarcador se define como “una molécula encontrada en la sangre u otros fluidos corporales, o en tejidos que es un signo de un proceso normal o anormal o de una condición o una enfermedad”. Usualmente se clasifican en tres categorías: pronósticos (predicen el curso de la enfermedad), predictivos (evalúan el probable beneficio de un tratamiento en particular) y farmacodinámicos (evalúan los efectos inminentes del tratamiento sobre el tumor y posiblemente, pueden determinar la dosis adecuada en las primeras etapas del desarrollo clínico de un nuevo fármaco contra el cáncer) (Sawyers, 2008). Un biomarcador ideal debe ser rápido, coherente, económico y cuantificable en un fluido biológico accesible o en la muestra

clínica (por ejemplo plasma, orina o líquido prostático) y que sea fácilmente interpretable. Además la cantidad y/o sobreactividad del mismo debe ser similar en todos los sujetos. De esta manera proporciona una gran ventaja para el diagnóstico clínico y el seguimiento de actividad de la enfermedad (Sawyers, 2008).

En este estudio, nos vamos a centrar en los biomarcadores urinarios. Los tres grupos de marcadores urinarios pueden ser considerados: basados en el ADN, basados en el ARN y basados en proteínas (Tabla 6) (Ploussard and de la Taille, 2010).

Marcadores ADN	Marcadores ARN	Marcadores proteicos
Hipermetilación GSTP1 Otros genes (RASSF, ARF)	PCA3 Genes de fusión TMPRSS2-ETS AMACR GOLM1 Exomas	PSA Anexina 3 Metaloproteinasas de la matriz Actividad de la Telomerasa Sarcosina

Tabla 6. Relación de biomarcadores urinarios.

1.3.5.3.1 Basados en el ADN

- **La metilación del ADN:** La metilación de los dinucleótidos citosina-guanina dentro de las regiones promotoras de genes es uno de los principales mecanismos de inactivación de genes supresores de tumores. La hipermetilación de varios locus de genes se ha asociado con un rango de enfermedades malignas, incluido el CaP. En orina, los marcadores de la metilación son detectados con el uso de una PCR de metilación específica sobre células urinarias obtenidas con o sin masaje prostático.
- **GSTP1:** La pérdida de la expresión de la glutatión-S-transferasa P (GSTP1) como resultado de la hipermetilación del promotor es la alteración molecular más común publicada en el cáncer de próstata (Martignano et al., 2016). La especificidad de la metilación del GSPT1 para detectar el cáncer de próstata oscila entre el 93-100%. La

sensibilidad puede variar del 21.4% al 38.9% (Carns et al., 2001; Gonzalzo et al., 2003), pero mejora con el masaje prostático al 75% (Goessl et al., 2001; Woodson et al., 2008). Hoque y cols (Hoque et al., 2005), examinaron la metilación de 9 genes promotores y encontraron que una combinación de 4 genes (p16, ARF (p14), MGMT y GSTP1) detectaba el 87% de los cánceres de próstata con una especificidad del 100%.

- **Otros DNA biomarcadores:** Chiou et al (Chiou et al., 2003), refiere concentraciones más altas de 8-hidroxideoxiguanosina (es un marcador de la oxidación celular y se ha relacionado con enfermedades malignas) en muestras de orina de pacientes con CaP comparada con controles.

1.3.5.3.2 Basados en el ARN

- **PCA3:** ver apartado 1.3.5.2.2
- **Genes de fusión ETS:** Los genes de fusión son el resultado de translocaciones cromosómicas que se encuentran comúnmente en las neoplasias de origen hematológico, siendo raro su hallazgo en tumores sólidos (You et al., 2010). El primer informe de fusiones entre el gen 2 de una proteasa serina transmembrana (TMPRSS2) y el factor de transcripción E 26 (ETS) en cáncer de próstata humano fue en 2005 (Tomlins et al., 2005). Hessels y cols (Hessels et al., 2007), analizaron las transcripciones de la fusión TMPRSS2-ETS en la orina de 108 individuos con CaP y encontraron una sensibilidad del 37% y una especificidad del 93%. Los VPN y VPP fueron del 36% y 94% respectivamente. No se ha encontrado significación estadística entre las transcripciones de la fusión TMPRSS2-ETS y el Gleason de las biopsias. La sensibilidad de una combinación de PCA3 y análisis de la transcripción TMPRSS2-ETS para detectar CaP fue del 73% (Hessels et al., 2007). La fusión del gen TMPRSS2: ERG es la alteración genómica más frecuente en casos de cáncer de próstata, y da como resultado la sobreexpresión del factor de transcripción ERG (Kissick et al., 2015).

- **AMACR:** La coenzima A racemasa alfa-metilina, es una enzima que regula la beta-oxidación perioxomal de la cadena de los ácidos grasos. La inmunotinción para AMACR en los tejidos prostáticos es actualmente una herramienta estándar adyuvante usada para el diagnóstico del CaP en lesiones atípicas por punción biopsia (Jiang and Woda, 2004). Cuando los tejidos de cáncer de próstata se compararon con los controles normales, los niveles de ARNm de AMACR estaban unas 9 veces aumentados en el 88% de la muestra de tejidos de cáncer de próstata, aunque también se ha visto incrementados en pacientes con hiperplasia benigna de próstata (Rogers et al., 2004). Ouyang y cols (Ouyang et al., 2009), estudiaron la puntuación de AMACR para llevar a cabo el diagnóstico. El test urinario de AMACR fue superior al PSA sérico en la detección del CaP. Los autores también informaron que el uso combinado de los valores de AMACR y PCA3 incrementan la sensibilidad al 81% y la especificidad al 84% (comparada con el 70% y 71% respectivamente de la puntuación AMACR sola).
- **GOLM1:** Proteína de membrana Golgi 1, también conocida como GOLPH2, cuya función es desconocida. El incremento en la expresión de esta proteína se ha observado en los tejidos con cáncer de próstata (Dhanasekaran et al., 2001; Yamoah et al., 2015). En estudios realizados, se ha observado que el ARNm GOLM1 ha superado al PSA sérico en la detección del cáncer de próstata. La sensibilidad, especificidad, VPP y VPN para el ARNm GOLM1 fueron del 59%, 71%, 73% y 49% respectivamente (Varambally et al., 2008).
- **Análisis de múltiples marcadores ARNm:** Se piensa que pueden mejorar la sensibilidad de la prueba sin sacrificar la especificidad. Laxman y cols (Laxma et al., 2008), realizaron una PCR cuantitativa después de una amplificación transcritora en 257 muestras de orina, incluyendo 152 pacientes con CaP y 105 con resultados negativos de la biopsia. Siete marcadores ARNm fueron evaluados (AMACR, ERG, GOLM1, PCA3,

SPINNK1, TFF3, TMPRSS2-ERG). En un análisis uni y multivariante, los niveles de expresión de la transcripción (GOLM1, PCA3, SPINNK1, y la fusiónTMPRSS2-ETS), fueron predictores significativos de cáncer de próstata.

- **Exosomas urinarios:** Los exosomas son vesículas de tamaño nanométrico secretadas por una amplia gama de tipos de células normales y neoplásicas. Contienen funcionalidad de ARNm y microARN, llamada ARN exomal transporte. Debido a que a menudo llevan componentes genéticos que vienen directamente de los tumores, como vesículas, pueden ser una fuente útil no invasiva como marcadores en enfermedades renales, incluyendo el cáncer de la próstata (Tomlins et al., 2005). Además, la secreción de exosomas en hombres con CaP se ha encontrado elevada en comparación con los que no lo tienen (Mitchell et al., 2009; Nilsson et al., 2009).

1.3.5.3.3 Basados en las proteínas

- **PSA urinario:** la primera publicación de la presencia de PSA urinario fue 1985 (Graves et al., 1985). Posteriormente, la presencia de PSA urinario después de la prostatectomía radical se asoció con recurrencia de la enfermedad (Iwakiri et al., 1993). Se han realizado estudios en los que se demuestra que el cociente PSA urinario/sérico puede ser útil para la detección del cáncer de próstata cuando el nivel de PSA sérico está entre 2.5-10 ng/ml (Bolduc et al., 2007). Sin embargo en un estudio este cociente no reporta mejoras en la detección y estadificación del cáncer de próstata con respecto al PSA sérico solo (Pannek et al., 1997).
- **Actividad de la Telomerasa:** La Telomerasa transcriptasa inversa (TERT) tiene un papel importante en mantener los telómeros de los extremos cromosómicos. Se ha

demostrado una sobreactividad de la TERT en el 90% de los cánceres de próstata (Sommerfeld et al., 1996; Castelo-Branco et al., 2013).

- **Anexina A3:** Está implicada en la diferenciación y migración celular, y es un marcador proteico inversamente relacionado con el adenocarcinoma de ovario y el cáncer colorrectal (Madoz-Gurpide et al. 2006)). La Anexina fue detectada mediante Western-blot en orina, y se observó que su nivel era complementario a los del PSA sérico teniendo una relación inversa con el cáncer. La combinación de PSA y anexina A3 urinaria fue superior a la combinación anexina 3 y PSA libre total o porcentaje (Schostak et al. 2009).
- **Metaloproteinasas de la matriz:** Las metaloproteinasas tienen un papel putativo en el crecimiento, invasión y metástasis tumoral, sobre todo en el cáncer de vejiga. Roy y cols (Roy et al. 2008), encontraron que estas proteínas se detectaban con más frecuencia en la orina de los pacientes con CaP. La presencia de cualquier matriz metaloproteínasa mostró una especificidad del 82% y una sensibilidad del 74% para cáncer de próstata. La presencia de la matriz metaloproteínasa MMP9 fue un predictor independiente de CaP en un análisis multivariado (Roy et al. 2008).
- **Proteómica y metabolómica:** Las plataformas proteómicas permiten el análisis rápido de cientos de péptidos, además del análisis de las alteraciones en las modificaciones post-traduccionales y de los niveles totales de expresión de proteínas que no son detectados por el ARN-basado o ARN-enfocado. Los primeros estudios fueron realizados por Rehman, que identificó la *calgranulina B* (MRP-14) en orina como un marcador potencial de CaP. Los investigadores fueron capaces de discriminar el cáncer de la hiperplasia prostática con una sensibilidad del 64.7% y una especificidad del 71.2% con *calgranulina B* (Rehman et al. 2004). Por otro lado, *la sarcosina*, que es un derivado de la N-metilglicina, se encontraba aumentada en el 79% de los CaP

metastásicos, en comparación con el 42% del localizado y ninguno en las muestras benignas. La sarcosina y sus enzimas reguladoras probablemente tengan un papel intermediario en la progresión, invasión, migración y modulación tumoral. Los niveles de sarcosina pueden detectarse de forma no invasiva en la orina de los pacientes con CaP órgano-confinado.

- **Otros marcadores proteicos:** Lu y cols (Lu et al., 2009), investigaron la expresión de la *delta-catenina* en la orina de pacientes control y con CaP. Sus niveles se incrementaron significativamente en la orina de los pacientes con CaP en comparación con la muestra control. El receptor del factor de crecimiento de los hepatocitos (*c-met*) es un receptor de la tirosin-kinasa que se encuentra sobreexpresado o mutado en diversos tumores malignos, y se ha asociado al CaP agresivo. Russo y cols (Russo et al., 2009), investigaron el *c-met* como un biomarcador de la enfermedad en progresión en muestras de orina de pacientes con CaP localizado y metastásico, observando sobreexpresión en los pacientes con enfermedad progresiva en comparación con los órgano-confinados o sin tumor. Sin embargo, el *c-met* podría ser detectado en pacientes sin tumor, y la diferencia en los niveles de este marcador entre pacientes con enfermedad localizada y benigna no es significativa (Russo et al., 2009). Otros autores han estudiado la *β15 timosina*, que está prácticamente ausente en el tejido normal, y han observado que en combinación con el PSA sérico mejora la sensibilidad y especificidad en la detección del CaP en un 15% en comparación con el valor del PSA solo (Hutchinson. et al., 2005). El posible valor diagnóstico de la 5 alfa-reductasa tipo 2, bradeion, transferrina, etc., como marcadores urinarios, también ha sido estudiado (Ploussard and de la Taille, 2010).

Las comparaciones entre estudios son difíciles debido a las grandes discrepancias entre las cohortes, metodología y manipulación de las muestras de orina, por lo tanto cuestiones como

la recolección de orina, la congelación, almacenamiento y técnicas de laboratorio empleadas deben de ser tratados.

1.3.6 Factores Pronósticos En Cancer De Próstata

El colegio americano de patólogos (CAP) clasificó estos factores pronósticos en tres categorías (Bostwick et al., 2000):

- *Categoría I*

Factores que han probado ser importantes en el pronóstico y la utilidad clínica en el manejo del paciente: PSA preoperatorio, grado histológico (Gleason Score), estadio TNM y márgenes quirúrgicos positivos.

PSA preoperatorio: como variable independiente, el PSA es mejor predictor de cáncer de próstata que el TR o la ecografía transrectal (ETRP) (Catalona et al., 1994). No hay estándares definidos para su medición. El PSA es un parámetro continuo, en el que niveles más altos indican mayor probabilidad de CaP (Dong et al., 2008).

Gleason Score: múltiples estudios han confirmado que el Gleason Score es el factor pronóstico más importante en el cáncer de próstata (Partin et al., 2001).

Ya Mellinger en 1977, y posteriormente Sogani en 1985, confirmaron una buena correlación entre el sumatorio de Gleason y el pronóstico sobre un total de 2.911 pacientes y su seguimiento a largo plazo. Cuando se relaciona el estadio del tumor con su grado, mejoran las posibilidades pronósticas (Mellinger, 1977). La capacidad pronostica del Score Gleason se traduce tanto en predicción de la historia natural de la enfermedad, como en el riesgo de recurrencia bioquímica tras prostatectomía o radioterapia (Stephenson ,2002).

Estadio TNM: Los estadios T1a-T1b ya no están incluidos en la mayoría de nomogramas

pronósticos ya que, actualmente, el 50% de los casos de CaP diagnosticados son T1c (Eichler et al., 2006). El estadio clínico T2 (cT2) se asoció con un mayor riesgo de detectar cáncer de próstata de alto grado (Score Gleason 8 a 10) (Gosselaar et al., 2008). En una serie de 565 hombres con presunta enfermedad órgano-confinada basada en TR, la sensibilidad y la especificidad fueron 52% y 81%, respectivamente (Partin et al., 1993). Sin embargo, el TR puede usarse en combinación con otros parámetros para ayudar a predecir la extensión del tumor.

La mayoría de los pacientes con estadio clínico T3 no son candidatos a prostatectomía radical. Entre el 50% y 60% de los cánceres de próstata en estadio clínico T3 tienen metástasis ganglionares en el momento del diagnóstico. Más del 50% de los pacientes con enfermedad en estadio clínico T3 desarrollan metástasis a distancia en cinco años, y el 75% de estos pacientes mueren por esta causa en el plazo de unos 10 años (Freedland et al., 2004).

Márgenes quirúrgicos positivos: Existen estudios que concluyen que los márgenes quirúrgicos positivos representan un factor predictor de mayor riesgo de progresión bioquímica (Ceylan et al., 2016). Otros autores no han encontrado significación pronóstica independiente cuando estos se localizan a nivel del ápex a diferencia de otras localizaciones (Wadhwa et al., 2016). No obstante, para algunos autores este efecto de los márgenes quirúrgicos positivos se debe a su asociación con otras variables que empeoran el pronóstico, como invasión de las vesículas seminales, extensión extracapsular, PSA preoperatorio, grado Gleason o volumen tumoral (Jack et al., 2002), lo cual se evidencia también en las últimas revisiones sistemáticas publicadas al respecto (Yossepowitch et al., 2014).

- *Categoría II*

Factores que han sido ampliamente estudiados clínica y biológicamente, pero cuya importancia debe aún ser validada por estudios más robustos: Volumen tumoral, invasión

perineural, invasión linfovascular, tipo histológico, ploidía del DNA y algunos oncogenes, como mutaciones en BRCA-2.

- *Categoría III*

Otros factores no suficientemente estudiados en lo concerniente a su valor pronóstico: Diferenciación neuroendocrina, densidad microvascular, cambios nucleares distintos a la ploidía, marcadores de proliferación, oncogenes y genes supresores tumorales.

1.3.7 Tratamiento Del Cáncer De Próstata

Debido a que el CaP es prevalente en numerosos países y muestra un amplio espectro de agresividad, se han desarrollado diferentes métodos terapéuticos.

La selección del tratamiento apropiado exige evaluar la agresividad potencial del tumor y la salud general, la expectativa de vida y las preferencias de calidad de vida el paciente, debiéndose adoptar de manera conjunta entre el médico y el paciente, una vez que el paciente dispone de la información necesaria en base a los diferentes niveles de evidencia disponibles al respecto. La toma de decisiones compartidas en la gestión del cáncer de próstata ha demostrado que se asocia con un aumento de la satisfacción del paciente (Fischer et al., 2006) y conduce a tasas inferiores de arrepentimientos respecto a la decisión tomada (Davison et al., 2007).

1.3.7.1 *Opciones Terapéuticas Según Grupos De Riesgo*

Las recomendaciones de tratamiento para el cáncer de próstata recogidas en la guía NCCN 2018 (National Comprehensive Cancer Network) (<http://www.nccn.org/>) son las siguientes. La elección de uno u otro tipo se establecerá entre otros aspectos en función de la expectativa de vida del paciente:

- **Cáncer de próstata de muy bajo riesgo** (*T1c, PSA < 10 ng/ml, Gleason ≤ 6 (ISUP 1), menos de 3 cilindros afectados con menos del 50% de afectación cada uno, densidad PSA < 0,15 ng/ml/gr*). Las opciones de tratamiento que se proponen son: vigilancia activa, radioterapia externa, braquiterapia o prostactectomía radical +/- linfadenectomía pélvica si la probabilidad de metástasis ganglionar es igual o superior al 2% y Observación. En este grupo, la vigilancia activa se recomienda por encima del resto de tratamientos.
- **Cáncer de próstata de bajo riesgo** (*T1c-T2a, PSA < 10 ng/ml, Gleason ≤ 6 (ISUP 1)*). Las opciones de tratamiento estándar de este grupo son: vigilancia activa, radioterapia externa, braquiterapia o prostactectomía radical +/- linfadenectomía pélvica si la probabilidad de metástasis ganglionar es igual o superior al 2% y Observación. En este caso, no se han encontrado ensayos que recomienden un tratamiento antes que otro.
- **Cáncer de próstata de riesgo intermedio favorable** (*T2b-T2c, PSA 10 - 20 ng/ml, Gleason 3+4 (ISUP2) y ≤ 50% de afectación de cada cilindro*). Para este grupo, las posibles opciones de tratamiento son: vigilancia activa, prostactectomía radical +/- linfadenectomía pélvica si la probabilidad de metástasis ganglionar es igual o superior al 2%, radioterapia externa o braquiterapia y Observación.
- **Cáncer de próstata de riesgo intermedio desfavorable** (*T2b-T2c, PSA 10 - 20 ng/ml, Gleason 3+4 (ISUP2) o 4+3 (ISUP 3)*).

En este grupo las opciones de tratamiento que se contemplan son: prostatectomía radical +/- linfadenectomía pélvica si la probabilidad de metástasis ganglionar es igual o superior al 2%, radioterapia externa con la terapia de deprivación androgénica durante un periodo de tiempo de 6 meses o radioterapia externa + Braquiterapia asociada o no a deprivación androgénica durante 4-6 meses y la Observación

En este caso, no se recomienda la vigilancia activa.

- **Cáncer de próstata de alto riesgo** (*T3a, PSA > 20, Gleason ≥ 8 (ISUP 4) o 4+5 (ISUP 5>).*

En este caso, se contempla la prostactectomía radical + linfadenectomía pélvica, radioterapia combinada con supresión androgénica durante 2-3 años o radioterapia externa + Braquiterapia asociada o terapia de deprivación androgénica durante 1-3 años.

- **Cáncer de próstata de muy alto riesgo** (*T3b o T4, Patrón primario de Gleason 5, mayor de 4 cilindros con Gleason 8-10 (ISUP 4 o 5).*

En este caso las opciones terapéuticas sería igual que en el grupo de alto riesgo

1.3.7.1.1 Vigilancia activa

Los términos “tratamiento diferido” o “watchful waiting” (esperar y vigilar) se usan para describir una estrategia de tratamiento que incluye una política activa de posponer el tratamiento hasta que éste sea preciso. Hay que seguir de forma estrecha a los pacientes a los que se les ofrece “watchful waiting”.

La vigilancia activa ha surgido como una alternativa terapéutica en hombres con CaP y bajo riesgo de progresión de la enfermedad basándose en los datos iniciales de Chodak y cols (Chodak et al., 1994) y Albertsen y cols (Albertsen et al., 1998) que demostraban que los varones con CaP bien diferenciados tienen una supervivencia cáncer específica a los 20 años del 80-90%.

Esta estrategia de tratamiento limita la morbilidad producida por los tratamientos invasivos asumiendo que en determinados pacientes, el tratamiento local definitivo brinda escasos beneficios. La Asociación Americana de Urología (AUA), la Asociación Europea de Urología (EAU) y la *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN), reflejan en sus guías a la vigilancia activa como una opción terapéutica para el cáncer de próstata localizado de bajo riesgo (Gómez et al., 2016).

Los beneficios de la vigilancia activa son evitar los efectos adversos de los tratamientos en un paciente donde la terapia activa no modificaría la expectativa de vida. La contra, es perder la oportunidad de tratar a un paciente antes de que progrese su enfermedad o genere metástasis. Otra contra es la ansiedad que puede generarle a un paciente padecer cáncer de próstata y no tratarlo, así como los controles reiterados y las eventuales biopsias de control.

La vigilancia activa precisa de un seguimiento estrecho que permita identificar a los pacientes y tratarlos de forma temprana y eficaz (Reese et al., 2013), ya que algunos de los pacientes inicialmente diagnosticados como de “bajo grado” pueden estar infradiagnosticados (Rider et al., 2013).

El seguimiento de pacientes incluidos en vigilancia activa debe basarse en la biopsia repetida, mediciones seriadas de PSA y tacto rectal. Los protocolos propuestos a realizar en estos pacientes varían según las series actuales revisadas. Si bien los periodos de seguimiento pueden sufrir ciertas variaciones, los criterios empleados en éstos parecen claros (Bastian et al., 2009). Hay grupos que escalan las revisiones de modo semestral, otros anuales, cada 2 años, y otros incluso, espacian las BTRP tras el primer año de VA, realizándolas cada 3 años. Los intervalos óptimos para el seguimiento, a tenor de lo publicado, aún no están claros.

La identificación de los signos indicativos de progresión de enfermedad es vital para poder proporcionar un tratamiento adecuado dentro del tiempo en que sea posible la curación. Los criterios utilizar como base para la decisión de proceder al tratamiento activo son: la no aceptación del paciente de la vigilancia activa y la sospecha de progresión, basada en el aumento del grado de Gleason, la modificación de los resultados de la biopsia (un mayor número de cilindros positivos y/o aumento de la afectación por cilindro), progresión del estadio clínico T y un tiempo de doblaje de PSA inferior a 3 años (Planas et al., 2014).

Los beneficios de la vigilancia activa son evitar los efectos adversos de los tratamientos en un paciente donde la terapia activa no modificaría la expectativa de vida. La contra, es perder la

oportunidad de tratar a un paciente antes de que progrese su enfermedad o genere metástasis. Otra contra es la ansiedad que puede generarle a un paciente padecer cáncer de próstata y no tratarlo, así como los controles reiterados y las eventuales biopsias de control.

1.3.7.1.2 Prostatectomía Radical

La PR fue el primer tratamiento utilizado en el cáncer de próstata, y actualmente es el tratamiento quirúrgico principal del CaP (36,89% de los casos). Este tratamiento es adecuado en CaP de bajo riesgo e intermedio, y en CaP de alto riesgo cuando la extensión extraprostática del tumor es limitada (Heidenreich et al., 2014).

La PR con preservación de bandeletas representa la técnica de elección en todos los hombres con erecciones normales y enfermedad organoconfinada, mejorando la calidad de vida sin comprometer los resultados oncológicos (Walsh, 2007).

Actualmente, la cirugía radical es el único tratamiento para el CaP localizado que ha demostrado un beneficio en supervivencia global y supervivencia específica de cáncer en un ensayo clínico prospectivo aleatorizado al compararse con otras técnicas de tratamiento más conservadoras (Bill-Axelsson et al., 2014). A lo largo de 23 años, este ensayo demostró que la prostatectomía radical se asoció a una reducción de todas las causas de muerte.

La PR puede realizarse mediante abordaje abierto (retropúbica extraperitoneal o perineal, laparoscópico o asistido por robot. La cirugía por laparoscopia se ha implantado en la última década para el tratamiento del cáncer de próstata. Las tasas informadas de incontinencia y estenosis anastomótica son comparables con las observadas con cirugía abierta. Se ha alegado que la preservación de nervios es equivalente o incluso mejor con cirugía laparoscópica, aunque no existen comparaciones directas ni resultados validados (Menon et al., 2007). Las tasas iniciales publicadas de márgenes quirúrgicos positivos han sido más altas con cirugía

laparoscópica, y todavía es incierto el control adecuado del cáncer, porque no se conocen resultados a largo plazo. Entre sus ventajas destacan el menor sangrado, la menor estancia hospitalaria del paciente y el menor requerimiento analgésico postoperatorio. Como inconvenientes se encuentran que exige un mayor consumo de recursos, mayor tiempo quirúrgico y una curva de aprendizaje prolongada (McCullough, 2005; Soto-González et al., 2017) .

Una comparación de una muestra de pacientes de la base de datos de Medicare que fueron sometidos a PR mínimamente invasiva o a cirugía abierta entre 2003 y 2005 reveló una tasa mas baja de complicaciones médicas con abordajes laparoscópicos; sin embargo, los hombres sometidos a PR mínimamente invasiva tuvieron una tasa de mas del triple de tratamiento de rescate por recidiva del tumor dentro de los 6 meses de la cirugía (Hu et al., 2008).

Entre sus ventajas destacan el menor sangrado, la menor estancia hospitalaria del paciente y el menor requerimiento analgésico postoperatorio. Sin embargo, un estudio reveló que aunque la PR laparoscópica se asociaba con menor pérdida de sangre con respecto a la cirugía abierta, en cambio había una tasa más alta de visitas posoperatorias a las urgencias, rehospitalizaciones y cirugía adicional por complicaciones (Touijer et al., 2008) Como inconvenientes se encuentran que exige un mayor consumo de recursos, mayor tiempo quirúrgico y una curva de aprendizaje prolongada (McCullough, 2005; Soto-González et al., 2017) .

La cirugía robótica se ha popularizado en los últimos años debido a su mayor facilidad técnica para el cirujano, en especial para la realización de la sutura intracorpórea y la anastomosis vésico-uretral. La visualización tridimensional es una ventaja respecto a las técnicas laparoscópicas convencionales. En un ensayo clínico fase III, se demostró que la PR asistida por robot reduce el tiempo de hospitalización y pérdida sanguínea intraoperatoria sin embargo no

existían a corto plazo (12 semanas) diferencias en los resultados funcionales y oncológicos (Yaxley et al., 2016; Allan et al., 2016).

Estudios recientes basados en datos comparativos han revelado desventajas de las PR laparsocópica y robótica en cuanto a recidiva del tumor, incontinencia urinaria y satisfacción del paciente.

1.3.7.1.3 Radioterapia externa

La radioterapia es eficaz para el tratamiento del cáncer de próstata localizado y localmente avanzado. Es la segunda forma más frecuente de tratamiento de CaP (26,19%) (Cózar et al., 2013). Aunque no existen muchos estudios comparativos de radioterapia frente a cirugía radical, ciertos resultados en muestras no comparativas demuestran una eficacia similar de ambas modalidades en el control oncológico de la enfermedad (Critz et al., 2013; Orozco and Aguayo, 2016). Según los datos del Cancer of the Prostate Strategic Urologic Research Endeavor, el 25-45% de los hombres diagnosticados de cáncer de próstata eligen la radioterapia como su tratamiento primario (Gugliemetti et al., 2016).

Desde hace una década, dosis de 76-80 Gy o más altas han demostrado mejorar el control del cáncer (Dearnaley et al., 2007). Los pacientes de bajo riesgo suelen tratarse al menos con una dosis de 72 Gy. Para el CaP de riesgo intermedio, muchas series han demostrado un impacto significativo de la escalada de dosis en la supervivencia libre de recidiva bioquímica a los 5 años en los pacientes clasificados como cT1c-cT3, con un rango de dosis de 76 a 81 Gy (Zelefsky et al., 1998). En la práctica diaria, aunque no se ha alcanzado un consenso acerca de la magnitud del incremento de la dosis, 78 Gy aparentemente es un buen acuerdo. En pacientes con enfermedad de alto riesgo, la radioterapia externa con escalada de dosis mejora la supervivencia libre de enfermedad bioquímica (Pollack et al., 2000). Se considera desde

entonces que están indicadas dosis superiores a 75 Gy, pero no se ha demostrado que dosis por encima de los 80 Gy sean beneficiosas (Dearnaley et al., 2007).

Los principales efectos adversos de la radioterapia se relacionan con la microvascularización de la vejiga, el recto, el músculo estriado esfinteriano y la uretra, aunque los síntomas desaparecen, en la mayoría de las ocasiones, una vez finalizado el tratamiento. Además, alrededor de la mitad de los pacientes presenta disfunción eréctil después de la radioterapia por cáncer de próstata (Roach, 2004).

1.3.7.1.4 Braquiterapia

Consiste en la implantación de una fuente radiactiva en estrecha proximidad al tejido que se desea tratar. Puede ser clasificada en función de varios criterios, como la duración del implante (temporario, permanente), la dosis (baja, media, alta o en pulsos), y el sitio de implantación (intersticial, intracavitario, intraluminal, intravascular). Su uso en el CaP data de 1911 (Pasteau, 1911).

En general, la braquiterapia es aceptada como monoterapia en los pacientes con cáncer de próstata localizado, dado que la probabilidad de enfermedad extraprostática es baja (Sánchez-Gómez et al., 2017).

Los implantes permanentes empleados con mayor frecuencia son semillas de yodo-125 y el paladio 103. La efectividad de ambos en el control oncológico de la enfermedad es similar. Si bien se ha indicado implante transitorio de alambres de Iridio-192 de alta tasa de dosis para tumores más agresivos, consideraciones logísticas lo toman incómodo y poco práctico.

Si bien la propia próstata puede tolerar altas dosis de radiación, la toxicidad rectal limita la dosis que se puede administrar por braquiterapia. La dosis de radiación administrada a la próstata son de alrededor de 145 Gy en el caso del yodo y de 125 Gy en el caso de paladio, que son sustancialmente más altas que las de la radioterapia de haz externo.

En cuanto a su toxicidad, los síntomas urinarios son más frecuentes después de la braquiterapia que de la radioterapia de haz externo, en especial en pacientes con hiperplasia prostática, requiriendo alrededor del 10% una resección transuretral de próstata por retención aguda de orina. La proctitis y la lesión rectal son menos frecuentes con braquiterapia que con radioterapia, mientras que la disfunción eréctil es más frecuente con braquiterapia que con radioterapia de haz externo. Las tasas de impotencia son más altas cuando se combina braquiterapia con radioterapia de haz externo.

La evaluación del PSA de forma periódica es mandatorio para el control de la braquiterapia, que puede registrar una oscilación de sus valores en los primeros 2-3 años en torno al 30% de los pacientes. Si bien, se cree que eso podría deberse a zonas de inflamación prostática, y no suele ser superior a 1 ng/ml (Taira et al., 2011).

1.3.7.1.5 Hormonoterapia

La privación de andrógenos puede lograrse suprimiendo la secreción de andrógenos testiculares o inhibiendo la acción de los andrógenos circulantes a nivel de su receptor. Estos dos métodos se pueden combinar para conseguir lo que se conoce como bloqueo androgénico completo (BAC). En términos generales, actualmente se recomienda en pacientes con CP metastásico, afectación ganglionar locorregional y como adyuvancia a la radioterapia en el tratamiento de los CP riesgo intermedio y alto riesgo. También puede ser apropiado como tratamiento de primera línea en pacientes mayores, con una comorbilidad importante que impide un tratamiento curativo o en aquellos que no desean someterse a un tratamiento curativo; sin embargo, es prudente la evaluación cardiovascular antes de iniciar dicho tratamiento en pacientes con riesgo de complicaciones cardiovasculares, y aunque muchos pacientes presentarán remisiones a largo plazo, hay que tener en cuenta que la hormonoterapia no es curativa.

La castración quirúrgica (orquiectomía bilateral) todavía se considera la modalidad de tratamiento primario para la terapia de deprivación androgénica (TDA), y lleva a un declive considerable en niveles de testosterona: el "nivel de castración".

El nivel de castración se definió hace más de 40 años, siendo este $<50 \text{ ng / dL}$ (1.7 nmol / L). Los métodos actuales han demostrado que el valor medio después de la castración quirúrgica es 15 ng / dL . Por lo tanto, un nivel más apropiado se define como $<20 \text{ ng / dL}$ (1 nmol / L). Esta nueva definición es importante ya que se observan resultados mejores con niveles de testosterona más bajos en comparación con 50 ng / dL (Mottet et al., 2017).

Desde hace tiempo, los agonistas de la hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH) se han convertido en el tratamiento estándar dentro de la terapia hormonal, ya que evitan las secuelas físicas y psicológicas asociadas a la orquiectomía y carecen de la cardiotoxicidad potencial asociada al Dietilestilbestrol (forma sintética del estrógeno) (Seidenfeld et al., 2000). Los agonistas de la LHRH, logran desensibilizar permanentemente los receptores hipofisarios de la LHRH, suprimiendo la producción de LH y FSH (Hormona estimuladora del folículo), y por tanto, la producción de testosterona (Mottet et al., 2015). Destacan la buserelina, Triptorelina, leuprolida y goserelina, utilizados desde hace más de dos décadas (Limonta et al., 2001).

Otra modalidad de TDA es el uso de antagonistas de la LHRH, lo cuales compiten con la LHRH a nivel del receptor hipofisario, bloqueando la capacidad de la LHRH para estimular la secreción de LH y FSH, y por ello, no hay secreción de testosterona (Mottet et al., 2015). El degalerix es el antagonista más utilizado en la actualidad.

Los antiandrógenos compiten con la testosterona y la Dihidrotestosterona (DHT) a nivel del receptor del núcleo de la célula prostática, lo que favorece la apoptosis e inhibe el desarrollo del CaP (Anderson, 2003). Dentro de los antiandrógenos esteroideos, encontramos el acetato de ciproterona, mientras que la Nilutamida, Flutamida y Bicalutamida, corresponde al grupo de

antiandrógenos no esteroideos. Los antiandrógenos producen menos disfunción sexual y osteoporosis, aunque conllevan un mayor riesgo de complicaciones cardiovasculares.

Como tratamiento primario antiandrógeno en monoterapia, se ha comparado 150 mg/día de bicalutamida con la castración médica o quirúrgica en dos grandes estudios prospectivos aleatorizados con un idéntico diseño de estudio, incluyendo un total de 1.435 pacientes con CaP localmente avanzado M0 o M1a1. En los pacientes M1, se demostró una mejoría en la supervivencia global en el grupo de castración, aunque la diferencia en la mediana de supervivencia entre ambos grupos fue de sólo 6 semanas. Los antiandrógenos no esteroideos podrían ser una alternativa terapéutica en un subgrupo de pacientes M1 si el PSA sérico es ≤ 400 ng/ml, mientras que los antiandrógenos esteroideos no lo son (Loblaw et al., 2007). En los pacientes M0, no se halló una diferencia significativa en la supervivencia global.

La deprivación androgénica se puede realizar de forma intermitente, alternando periodos de bloqueo androgénico con periodos sin él. La idea del bloqueo androgénico intermitente es la de preservar la calidad de vida y reducir los costes asociados al tratamiento sin comprometer la eficacia terapéutica de la manipulación hormonal. Varios estudios en fase 2 han demostrado la viabilidad del bloqueo androgénico intermitente en la enfermedad metastásica o en la recurrencia bioquímica, con una tasa de respuesta del PSA y de mejoría de los síntomas similar al bloqueo androgénico completo. El trabajo más importante SWOG 9346 aleatorizó a 1.134 hombres con CaP estadio D2 a bloqueo androgénico completo o intermitente tras 7 meses de inducción de bloqueo y una reducción de PSA < 4 ng/ml (Hussain et al., 2006). La reducción del PSA a $< 0,2$, < 4 y > 4 ng/ml fue identificado como un factor pronóstico significativo en relación con la supervivencia, siendo de 75, 44 y 13 meses respectivamente. Por tanto, se puede ofrecer bloqueo androgénico intermitente a pacientes seleccionados pero aún carecemos de resultados de estudios aleatorizados. Parece ser preciso un periodo mínimo de inducción de 7 meses con tratamiento hormonal continuo y una reducción del PSA a < 4 ng/ml para que el protocolo intermitente tenga éxito (Heidenreich et al., 2009).

1.3.7.2 Opciones terapéuticas alternativas del CaP localizado

Aparte de la PR, la radioterapia externa y/o la braquiterapia, han surgido como opciones terapéuticas la crioterapia de la próstata y el HIFU (“high intensity focused ultrasound”) para aquellos pacientes con CaP clínicamente localizado que no son adecuados para una PR o deciden otra alternativa diferente (Aus, 2006). Los pacientes candidatos ideales para la crioablación de la próstata son aquellos con enfermedad organoconfinada, tamaño prostático ≤ 40 ml, PSA sérico < 20 ng/ml, y un grado Gleason en la biopsia < 7 . Dado que hay sólo pocos datos acerca de los resultados a largo plazo en términos de control del cáncer, los pacientes con una esperanza de vida > 10 años deberían ser informados al respecto (Heidenreich et al., 2009).

1.4 Compuestos orgánicos volátiles

El término compuestos orgánicos volátiles (COVs), incluye un conjunto de hidrocarburos que se encuentran en forma gaseosa a temperatura ambiente cuando las condiciones son normales, o que tienen una alta volatilidad en esas condiciones. La Directiva 1999/13/CE los define como: *“todo compuesto orgánico que tenga a 293.15 K, una presión de vapor de 0,01 kPa o más, o tenga una volatilidad equivalente en las condiciones particulares de uso”* (Directiva 1999/13/CE del Consejo, 1999).

Existen otras definiciones de COV aplicables en Europa. La Directiva 2004/42/CE, que modifica la Directiva 1999/13/CE, define COV como cualquier compuesto orgánico que tenga un punto de ebullición inicial menor o igual a 250 C a una presión estándar de 101.3 kPa. La Directiva 1993/13/CE quedó derogada por la Directiva 2010/75/UE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 24 de noviembre de 2010, sobre las emisiones industriales (prevención y control integrados de la contaminación).

La definición original de COV propuesta por la *United States Environmental Protection Agency* (USEPA) hacía referencia a la presión de vapor. Actualmente, se incluyen todos los compuestos de base carbono (excluidos el monóxido de carbono, ácido carbónico, los carburos y carbonatos metálicos y el carbonato amónico) y que participan en las reacciones atmosféricas fotoquímicas (USEPA, 2009). El Real Decreto Legislativo 1/2016, de 16 de diciembre, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de prevención y control integrados de la contaminación, actualiza la normativa sobre estos compuestos.

Junto con el carbono, los COVs contienen elementos como hidrógeno, oxígeno, flúor, cloro, bromo, azufre o nitrógeno. Se excluyen del término COV los óxidos de carbono, los carbonatos y bicarbonatos inorgánicos y el metano, que es tratado aparte. Generalmente, cuentan con hasta 12 átomos de carbono.

Los compuestos orgánicos volátiles presentan propiedades características responsables de sus efectos sobre la salud y el medio ambiente:

- Volatilidad: se evaporan rápidamente a la atmósfera. Esto da lugar tanto a contaminación atmosférica como a graves problemas de salud. La principal vía de entrada, así como la más peligrosa, es la inhalación.
- Liposolubilidad: son moléculas orgánicas, y por tanto, liposolubles, presentan afinidad por las grasas y se acumulan en los tejidos grasos del cuerpo humano.
- Inflamabilidad: generalmente son compuestos inflamables.
- Toxicidad: las propiedades tóxicas van a depender de cada compuesto y de las condiciones de exposición. A corto plazo, pueden causar alergia o mareos, y en exposiciones más prolongadas, pueden originar lesiones neurológicas, irritabilidad, falta de memoria, e incluso cáncer.

- Reactividad química: estos compuestos tienen una química atmosférica muy activa (Figueruelo and Dávila, 2004), y en unión a la luz solar y los óxidos de nitrógeno, generan un tipo de contaminación atmosférica conocido como smog.

Los COVs son emitidos a la atmósfera por un gran número de fuentes, tanto antropogénicas como naturales. Gran parte de COVs son de naturaleza orgánica, fundamentalmente procedentes de bosques y explotaciones forestales, así como la degradación bacteriana de la materia orgánica y los océanos. Los COVs también presentan fuentes de origen antrópico, representadas principalmente por el uso de disolventes y otros productos en el sector industrial, así como por la combustión incompleta en el transporte y los procesos de tratamiento y disposición de residuos orgánicos. Sin embargo, la mayoría son generados por el cuerpo humano y particularmente emitidos por aire exhalado, a través de la piel, por sangre, orina y muestras fecales. Estos compuestos a menudo son tratados como metabolitos orgánicos o biomarcadores y recientemente son considerados como herramientas potenciales para el diagnóstico clínico y la monitorización terapéutica de enfermedades.

1.4.1 Compuestos volátiles de interés en medicina

Entre las principales familias de COVs destacan las cetonas, los alcoholes, los xilenos, hidrocarburos, ácidos, terpenos, compuestos heterocíclicos, ésteres y éteres, aldehídos, aminas o tioles. Dentro de estas familias, entre los compuestos de interés en medicina, y en la presente investigación, destacan:

- Cetonas:
 - **4-heptanona**: también llamada dipropil cetona o butirona. Se ha estudiado en personas con diabetes, y sus niveles en orina no difieren de los de personas sanas. Sí se encuentra a niveles superiores en el plasma de personas con hemodiálisis. Ciertos estudios la señalan como posible biomarcador de cáncer (Qiao et al.,

2015), y ha sido encontrada en el aliento exhalado de pacientes con cáncer colorrectal (Arasaradnam et al., 2015). También se utiliza como disolvente de la nitrocelulosa y de aceites, en la preparación de lacas y como aromatizante de alimentos. La figura 16 muestra su estructura.

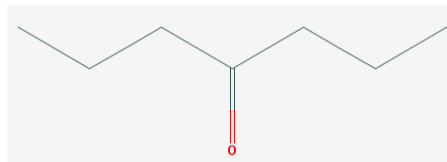


Figura 16. Estructura de la 4-heptanona. Obtenido de PubChem Compounds.

- **Acetona:** También llamada propan-2-ona. Se produce de forma natural en el cuerpo a través de la oxidación de ácidos grasos. La diabetes y el ejercicio intenso aumentan su generación endógena. Existen estudios que lo plantean como un compuesto no cancerígeno pero que genera cierto riesgo para la salud humana (Hong et al., 2015). Sin embargo, otros estudios han demostrado que es uno de los marcadores que se encuentra presente en el aliento exhalado de pacientes que padecen cáncer colorrectal (Arasaradnam et al., 2015). Su estructura se muestra en la figura 17.

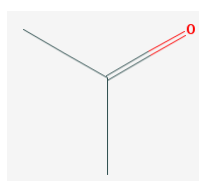


Figura 17. Estructura de la acetona. Obtenido de PubChem Compounds.

- **2-butanona:** llamada también metiletilcetona. Se produce en la orina humana normal, y tiene un posible origen dietético. Es la responsable del olor de las frambuesas maduras, y se usa principalmente como solvente y para eliminar cera en aceites lubricantes. También es un producto natural de ciertos árboles y se encuentra en frutas y vegetales. Se ha visto que se encuentra presente en niveles

superiores en pacientes con cáncer que en pacientes sanos (Schumer et al., 2015).

Su estructura se muestra en la figura 18.

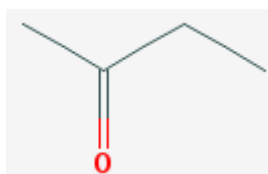


Figura 18. Estructura de la 2-butanona. Obtenido de PubChem Compounds.

- **2-pentanona:** también conocida como metilpropilcetona. Se absorbe por la piel y se elimina fundamentalmente por el aire expirado. Se usa como saborizante alimentario y como disolvente. Se han encontrado niveles superiores de este compuesto en pacientes con cáncer colorrectal al compararlos con los de personas sanas (Arasaradnam et al., 2015). La figura 19 muestra su estructura.

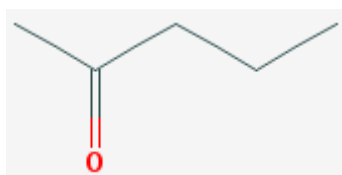


Figura 19. Estructura de la 2-pentanona. Obtenido de PubChem Compounds.

- Alcoholes:

- **2-etil-1-hexanol:** también 2-etilhexanol. Se encuentra en fragancias naturales de las plantas. Se produce a escala masiva para su uso en aplicaciones tales como disolventes, fragancias, y especialmente como precursor para la producción de otros productos químicos como plastificantes. En este caso, se ha documentado que este compuesto está presente en niveles inferiores en personas que padecen cáncer al comparar sus muestras de sangre con las de personas sanas (Wang et al., 2014). Su estructura se muestra en la figura 20.

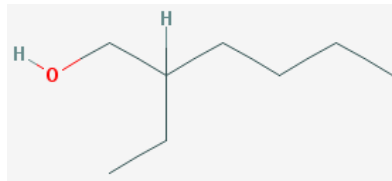


Figura 20. Estructura del 2-etil-1-hexanol. Obtenido de PubChem Compounds.

- **Fenol:** se absorbe en el tracto gastrointestinal, y la excreción renal es la principal ruta de eliminación. Es un compuesto que desnaturaliza proteínas. Los fenoles son sometidos a metabolismo oxidativo, que conduce a la producción de compuestos orto y para-hidroxilados, transformándose en dos conjugados, los sulfatos y los glucuronidos. Están presentes en nueces, almendras, pimientos rojos, clavos, pimentón, judías, café, cacao, algarrobo o chocolate. Ha sido identificado en pacientes que padecen cáncer de mama (Li et al., 2014), e incluso algunos autores, como Qiao y cols, lo describen como posible biomarcador de cáncer (Qiao et al., 2015). La estructura de este compuesto es la que se muestra en la figura 21.

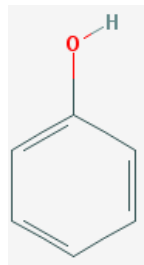


Figura 21. Estructura del fenol. Obtenido de PubChem Compounds.

- **3-metilfenol:** también llamado M-cresol. Es un producto contaminante del medio ambiente. Se usa en adhesivos y productos químicos de sellado, como solvente para la limpieza o desengrasado y en el tratamiento del cuero y pinturas. Existe controversia sobre si es un posible carcinógeno humano, pero ciertos autores describen que este compuesto se encuentra presente en mayores concentraciones

en pacientes que presentan adenocarcinoma gástrico y de esófago (Kumar et al., 2015). Su estructura se muestra en la figura 22.

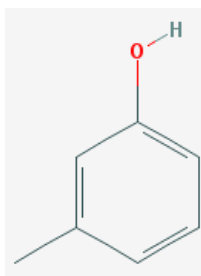


Figura 22. Estructura del 3-metilfenol. Obtenido de PubChem Compounds.

- Xilenos

- **O-xileno:** en humanos, causa la muerte si se encuentra a niveles superiores a 3-4 ug/ml. Atraviesa la membrana de la placenta. La mayoría de los xilenos absorbidos son expulsados a través de la orina como metabolitos. Se ha encontrado en niveles estadísticamente superiores en pacientes con cáncer de pulmón al compararlos con los de personas sanas (Haick et al., 2009). En la figura 23 puede verse su estructura.

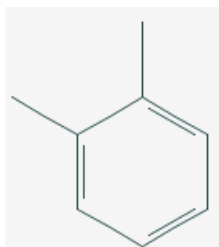


Figura 23. Estructura del o-xileno. Obtenido de PubChem Compounds.

- **P-xileno:** es distribuido a tejidos ricos en lípidos y también a órganos altamente perfundidos con sangre, como riñón e hígado. Ciertos estudios han demostrado que se encuentra presente en concentraciones significativamente más altas en pacientes que padecen cáncer de mama al comparar sus muestras con las de personas sanas (Ligor et al., 2009), e incluso, otros estudios, lo señalan como

posible biomarcador de cáncer de próstata (Sun et al., 2016). Su estructura se muestra en la figura 24.

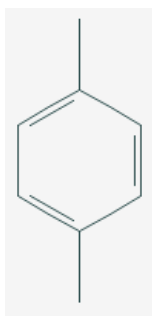


Figura 24. Estructura del *p*-xileno. Obtenido de PubChem Compounds.

- Hidrocarburos

- **Etilbenceno:** Se encuentra en productos naturales como el carbón y el petróleo, pinturas, insecticidas y en sustancias para pegar, en productos del tabaco, etc. Su principal uso es la formación de estireno. El Programa Nacional de Toxicología observó que su inhalación dio lugar a un aumento de la incidencia de tumores renales y testiculares en ratas, y también se ha visto que está presente en concentraciones muy altas en pacientes con cáncer de pulmón (Handa et al., 2014). La figura 25 muestra su estructura.

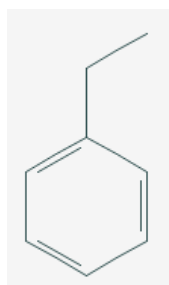


Figura 25. Estructura del etilbenceno. Obtenido de PubChem Compounds.

- **Tolueno:** existe en forma natural en el petróleo crudo y en el árbol tolú. También está presente en el humo de cigarrillos y en ciertos combustibles. Se usa como

disolvente para pinturas, caucho, resinas, etc. Este compuesto se comporta como depresor del sistema nervioso central y periférico, y cuando su exposición es crónica, pueden verse alterados varios órganos y tejidos. Se dice que la exposición a tolueno, ha aumentado la incidencia de padecer cáncer de mama (Arvelo et al., 2016). Su estructura se muestra en la figura 26.

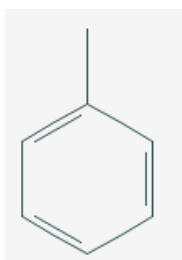


Figura 26. Estructura del tolueno. Obtenido de PubChem Compounds.

- Compuestos heterocíclicos

- **Furano:** su ingestión causa depresión en el SNC. Es mutagénico en animales y se anticipa que sea un carcinógeno humano basado en animales de experimentación. Por ejemplo, ya se ha demostrado que sus niveles son superiores en pacientes con cáncer de pulmón en relación con personas sanas (Buszewski et al., 2012). La estructura del furano puede verse en la figura 27.

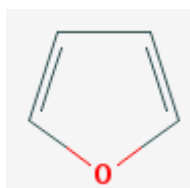


Figura 27. Estructura del furano. Obtenido de PubChem Compounds.

- **2,5-dimetilfurano:** se ha identificado en cantidades muy grandes en el azúcar de los caramelos, y también es un componente de los cigarrillos, además de tener numerosas utilidades como biofuel. Ciertos estudios han informado que se encuentra en niveles superiores en pacientes con cáncer de pulmón al

compararlos con personas sanas (Sun et al., 2016). Su estructura puede verse en la figura 28.

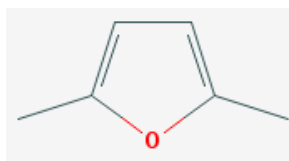


Figura 28. Estructura del 2,5-dimetilfurano. Obtenido de PubChem Compounds.

- **2-metilfurano:** puede encontrarse en el mirto común y en la lavanda. Su inhalación y contacto puede irritar o quemar la piel y ojos, y sus vapores pueden causar mareos o sofocos. Se usa como sustancia aromatizante y como combustible. Se ha encontrado presente en pacientes con cáncer de pulmón (Ligor et al., 2009). Su estructura se muestra en la figura 29.

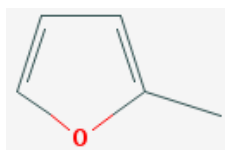


Figura 29. Estructura del 2-metilfurano. Obtenido de PubChem Compounds.

- Ácidos

- **Ácido acético:** tiene propiedades antibacterianas y antifúngicas. El ácido acético no disociado puede mejorar la solubilidad de lípidos, y como ácido débil, puede inhibir el metabolismo de hidratos de carbono, resultando en la muerte del organismo. Se encuentra en el vinagre. Existen estudios que demuestran que este compuesto se halla en niveles significativamente inferiores en paciente con cáncer que en pacientes sanos (Peng et al., 2010). La figura 30 muestra la estructura de este compuesto.

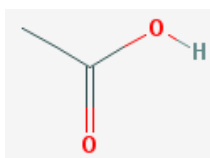


Figura 30. Estructura del ácido acético. Obtenido de PubChem Compounds.

- **Ácido octanoico:** se metaboliza en el hígado en forma de dióxido de carbono y dos fragmentos de carbono, que se incorporan a los ácidos grasos de cadena larga. Está presente en el aceite de palma y en el de coco, y también en la grasa de la leche de mamíferos. Ciertos estudios lo proponen como antagonista de la hormona liberadora de la hormona de crecimiento, y dicen que puede ser eficaz en el tratamiento de varios tipos de cáncer (Zarandi et al., 2006). Su estructura puede verse en la figura 31.

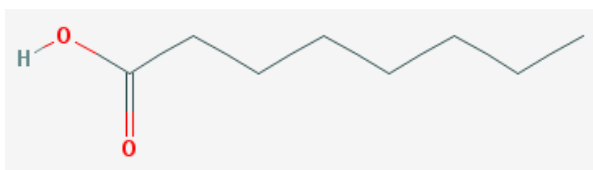


Figura 31. Estructura del ácido octanoico. Obtenido de PubChem Compounds.

- Terpenos

- **P-cimeno:** en ratones, bloquea la fosforilación de las proteínas MAPK de señalización. Es constituyente de una serie de aceites esenciales, sobre todo el aceite de comino y tomillo. Es un componente de la planta “Damiana”, planta utilizada en EEUU y Méjico como afrodisíaca y para el asma, bronquitis, etc. Sin embargo, también se ha encontrado presente en pacientes con cáncer de pulmón (Ligor et al., 2009). Su estructura se muestra en la figura 32.

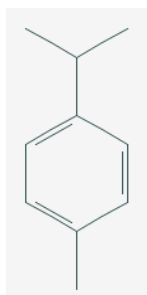


Figura 32. Estructura del *p*-cimeno. Obtenido de PubChem Compounds.

1.4.2 Compuestos orgánicos volátiles y cáncer de próstata

La relación entre los compuestos orgánicos volátiles y el cáncer de próstata está muy poco estudiada y la literatura sobre este tema es bastante escasa. Sin embargo, sí que existen algunos estudios han comparado las orinas de pacientes que padecen este tipo de cáncer con las orinas de personas sanas, y han informado que existen compuestos diferentes entre ellas. Por ejemplo, Khalid y cols en 2015, demostraron que el nivel de algunos compuestos, como el 2,6-dimetil-7-octen-2-ol, la 3-octanona y la 2-octanona, se encontraba significativamente por debajo en pacientes con CaP al comparar sus muestras de orina con pacientes sin esta enfermedad (Khalid et al., 2015). Previamente a este estudio, en 2010, Peng y cols también habían encontrado que ciertos compuestos, como el *p*-xileno, eran significativamente superiores en pacientes con CaP que en pacientes sanos (Peng et al., 2010). Este compuesto, incluso, ha sido propuesto como posible biomarcador de cáncer de próstata por algunos autores (Sun et al., 2016).

1.5 El olfato

El olfato es uno de los cinco sentidos clásicos, que junto con el gusto, conocemos como sentidos químicos. Se trata de un sentido muy importante para los animales, ya que les sirve para buscar comida, refugio y pareja. Es capaz de sensor miles de productos químicos

diferentes. El sentido del olfato es, anatómicamente, el más conservado desde un punto de vista filogenético.

En la nariz se encuentra el área que recibe los estímulos olorosos, el epitelio olfativo, en el que se sitúan las neuronas sensoriales olfativas. Cada una de ellas dirige una prolongación dendrítica que termina en 20-30 cilios en la mucosa que recubre la cavidad nasal, permitiendo aumentar la superficie de contacto entre la neurona y el exterior. En el cilio es donde surge la interacción inicial entre el compuesto volátil y el sistema nervioso. La unión de los estímulos olfatorios con los receptores conduce a una serie de eventos moleculares y electrofisiológicos que determinan la transducción del estímulo olfatorio en señal eléctrica. Esta señal viaja por los axones de las neuronas sensoriales hasta las células mitrales y empenachadas que se agrupan en los glomérulos, localizados en la capa más superficial del bulbo olfatorio. Aquí, la información se organiza en patrones únicos, siendo esta característica la que posibilita la capacidad y agudeza de la olfacción, por ejemplo de los perros para el reconocimiento y determinación de olores. (López-Mascaraque and Ramón Alonso, 2017).

Algunos investigadores han realizado estudios comparativos entre especies (Boniface and Jameela, 2011) prestando especial atención al tamaño del bulbo olfatorio ya la correlación entre el volumen de las áreas y estructuras implicadas en la percepción olfatoria. En general, parece que la correlación entre el volumen del bulbo olfatorio y el volumen del cerebro varía según las necesidades olfativas de cada especie a lo largo de la evolución, alcanzando un 1,95% de proporción en el perro frente al 0.03 en humano (Boniface and Jameela, 2011).

1.5.1 Percepción del olor

Los estímulos olorosos están mediados por moléculas emitidas en diferentes orígenes (comida, productos naturales, otros animales, etc.) que viajan por el aire y llegan a las células sensoriales olfativas, responsables del reconocimiento del olor. Un olor determinado activa un

conjunto característico de receptores nasales, lo que crea una señal que se procesará en el encéfalo. Carecemos de un receptor específico para cada aroma. Según Richard Axel, el cerebro interpreta el olor de la siguiente manera: “El cerebro dice esencialmente algo así como: estoy detectando actividad en las posiciones 1, 15 y 54 del bulbo olfativo, que corresponden a los receptores odoríferos 1, 15 y 54; por lo tanto, el olor percibido debe ser el del jazmín”. Es decir, el olor de cualquier sustancia es identificado por el cerebro como una combinación de moléculas diferentes que dan ese aroma determinado generalmente aprendido previamente (López-Mascaraque and Ramón Alonso, 2017).

1.5.2 El sentido olfativo del perro

Como se ha indicado, el sentido del olfato es el más conservado anatómicamente, y por ende, el más importante para los carnívoros (Coren and Hodgson, 2010). El epitelio sensorial de la nariz del perro es, dependiendo de la raza, entre 6 y 50 veces más sensible que el de la especie humana (Breed and Moore, 2016), aunque para determinados olores, la diferencia puede ser mayor. Por ejemplo, en el caso del butírico, un perro puede detectar una concentración entre uno y cien millones de veces menor que la concentración más pequeña que puede percibir una persona (Vilanova, 2009). Los perros, además, pueden discriminar entre dos olores muy parecidos y detectar la procedencia del olor por la diferencia temporal entre la llegada del estímulo oloroso al orificio nasal izquierdo y derecho (Vilanova, 2009).

No se conoce exactamente el porqué de la gran sensibilidad olfativa de los perros, pero sí es cierto que tienen unas características anatómicas y fisiológicas que la favorecen:

- La superficie de la mucosa olfativa canina es muy grande: 75-150 cm², frente a los 2-10 cm² del hombre.
- Su epitelio olfatorio tiene entre 125-300 millones de receptores, mientras que los hombres tienen aproximadamente 5 millones.

- La conformación del hocico del perro influye muy directamente sobre el sentido del olfato. En los braquicéfalos (bull dogs), los cráneos son aproximadamente iguales de largo y de ancho, creando un obstáculo para el paso del aire; en los dolicocefalos (lebreles), hay un predominio del largo sobre el ancho, por lo que la longitud del testuz disminuye el paso de moléculas odoríferas; en cambio, en los mesocéfalos (pastor alemán o border collie), las dimensiones tanto del hocico como del cráneo son intermedias entre las dos anteriores, por lo que el sentido olfativo es más óptimo (Rodríguez, 2009).
- La parte del encéfalo encargada de procesar los estímulos olorosos, los bulbos olfatorios, está muy desarrollada.
- La proporción de aire inspirado que alcanza la mucosa olfatoria de los perros es superior a la de otras especies (Coren and Hodgson, 2010).

Además, los perros presentan un desarrollo anatómico de su nariz que favorece su gran capacidad olfativa. La cavidad nasal se divide por el tabique nasal en dos vías respiratorias simétricas, que divide a cada región en tres partes: vestíbulo nasal, respiratorio y olfativo. La región nasal es la parte que da más hacia el rostro del perro; la región respiratoria consta de la concha o nasal ventral y dorsal, que se ramifican; y la región olfativa porta los cornetes etmoidales, que proporcionan una gran superficie para la transferencia de olores (Craven, 2008).

En cuanto a la membrana olfativa, está constituida por tres capas principales de células: las células de soporte; las olfatorias, derivadas del SNC y que poseen cilios olfatorios proyectados hacia el moco que recubre la superficie interna de la cavidad nasal; y las células basales, que tienen la capacidad de diferenciarse a células olfatorias (Figura 33) (Bianchi, 2011).

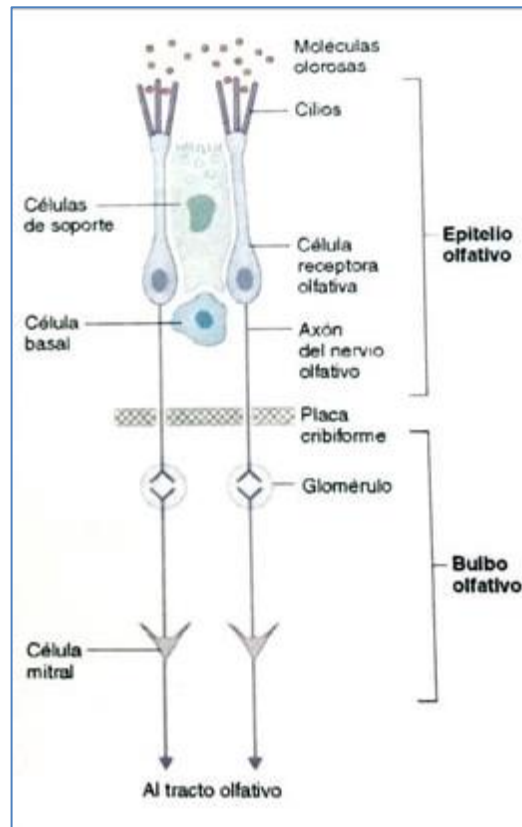


Figura 33. Fisiología del olfato canino. Obtenido de <http://sistemanerviosohumano.weebly.com/sentido-del-olfato.html>

Los perros utilizan el olfato para maximizar la detección de olores, aunque en realidad se trata de una alteración del patrón de respiración normal, donde las inhalaciones y exhalaciones cortas y rápidas aumentan la entrada de aire de manera considerable. El hueso subetmoidal que existe debajo de los huesos etmoturbinados de la cavidad nasal permite que el aire inhalado entre en esta región y evita que salga el aire con olor inhalado durante la exhalación (Bianchi, 2011).

Las moléculas deben ser volátiles y ligeramente hidrosolubles para poder atravesar la barrera acuosa del moco que recubre la membrana olfativa, y deben ser ligeramente liposolubles, ya que los lípidos que constituyen la membrana del cilio repelen los receptores proteicos de la membrana cuando las sustancias no son liposolubles (Bianchi, 2011).

En bioquímica se especula que el impulso nervioso generado como respuesta a una molécula capaz de producir un aroma, resulta de una variación de voltaje en la membrana celular, originada por una alteración en los niveles de monofosfato de adenosina cíclico o inositol trifosfato. Esto permite postular tres mecanismos hipotéticos mediante los que llevar a cabo la traducción del mensaje olfativo (García et al., 2010):

- Apertura directa de los canales iónicos al contacto con la molécula del olor
- Alteración de la fluidez de la membrana al interactuar los receptores con los aromas
- Transmisión indirecta del olor, a través de proteínas receptoras ligadas a rutas, dependientes de segundos mensajeros.

1.5.3 El sentido olfativo en el perro y el cáncer de próstata

La selección efectuada por el hombre ha conseguido perros con una enorme capacidad olfativa empleados no solo para la caza, sino también para encontrar drogas o para buscar personas enterradas como consecuencia de catástrofes naturales (Breed and Moore, 2016). Actualmente, incluso están adiestrando perros para detectar el descenso de la glucosa sanguínea en personas diabéticas, la aparición de crisis epilépticas o el cáncer de próstata al oler sustancias volátiles contenidas en la orina (Girardier et al., 2012).

En 1971, Pauling y cols, y en 2012 Lippi y Cervellin, demostraron que los COVs estaban presentes en muestras de orina humana (Pauling et al., 1971; Lippi and Cervellin, 2012). Varios estudios han demostrado que los perros pueden ser entrenados para identificar a los pacientes con cáncer de próstata al rastrear la presencia de un olor específico en su orina. La primera evidencia sobre perros rastreadores fue proporcionada por Williams y Pembroke en 1989 (Williams and Pembroke, 1989). En 2001 Church y Williams demostraron cómo un Labrador fue capaz de identificar un carcinoma de células basales en un hombre de 66 años (Church and Williams, 2001). Desde entonces, muchos grupos de investigación han utilizado

perros entrenados para detectar cáncer de vejiga (Willis et al., 2004), pulmón y mama (McCulloch et al., 2006), piel (Campbell et al., 2013), y cáncer ovárico (Horvath et al., 2013) a través del olfato. Cornu y cols. fueron quienes introdujeron el uso de perros entrenados en la detección del CaP (Cornu et al., 2011), y aunque el mismo autor reconoció ciertos sesgos en su estudio, como una serie limitada de pacientes y el uso de un solo perro, obtuvieron una sensibilidad y especificidad del 91% (Cornu et al., 2011).

Además, en un estudio realizado por Taverna y cols en 2015 se demostró que 2 perros entrenados adecuadamente fueron capaces de detectar la presencia de cáncer de próstata en orinas humanas con una sensibilidad y especificidad del 98,6 y 94,4% respectivamente. La capacidad de los perros para reconocer los COVs específicos para el CaP fue independiente del grado de Gleason, el estadio clínico y patológico, el nivel de PSA, el volumen de próstata, la edad del paciente y la topografía del tumor. Además, los perros nunca detectaron pacientes con otra neoplasia, lo que sugiere la especificidad de los COVs y la capacidad selectiva de la olfacción canina (Taverna et al., 2015). Un año después, este mismo autor demostró que estos dos perros entrenados fueron capaces de identificar una recurrencia bioquímica en pacientes sometidos a prostactectomía radical. Su estudio se compuso de 114 pacientes: 104 presentaron niveles de PSA < 0,01 ng/ml alrededor de 50 días después de la cirugía; 6 presentaron niveles de PSA entre 0,01 y 0,02 ng/ml; y 4 de ellos, tuvieron niveles superiores a 0,02 ng/ml. Los perros no distinguieron COVs característicos de cáncer de próstata en ninguno de los 104 primeros pacientes, pero sí en los 4 últimos, identificando, por tanto, la recurrencia bioquímica (Taverna et al., 2016).

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis

Se ha demostrado que la orina de pacientes con cáncer de próstata presenta especificidades detectables por el olfato de perros entrenados, que la diferencian de la orina procedente de varones sanos. Los compuestos detectables por el olfato son volátiles y podrían estar relacionados con procesos metabólicos específicos que ocurren en las células tumorales.

La identificación en orina de pacientes con cáncer de próstata de compuestos orgánicos volátiles específicamente relacionados con dicho proceso, proporcionaría una herramienta diagnóstica, e incluso pronóstica en un futuro, específica, sensible y no invasiva.

Objetivo principal

Identificar los compuestos orgánicos volátiles presentes en la orina de pacientes con cáncer de próstata e hiperplasia benigna de próstata mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas y comparar los niveles de dichos compuestos entre las muestras de orina de ambos grupos de pacientes.

Objetivos secundarios

- Evaluar la posible correlación de los niveles de los compuestos orgánicos volátiles con los niveles de PSA, el grado de Gleason y el índice de masa corporal, particularmente de aquellos que pudieran presentar diferencias significativas entre ambos grupos.
- Analizar las posibles diferencias existentes entre ambos grupos de estudio respecto a variables como el índice de masa corporal y nivel de PSA.
- Evaluar las posibles correlaciones existentes entre IMC y niveles de PSA con otras variables tales como el volumen prostático, tabaquismo, consumo de alcohol, y condiciones ambientales laborales entre otras.

3. METODOLOGÍA

3.1 Diseño del estudio

Para cumplir con los objetivos propuestos, se diseñó un estudio de casos y controles emparejados por frecuencia de edad. La figura 34 resume las características de la selección de la población de estudio.

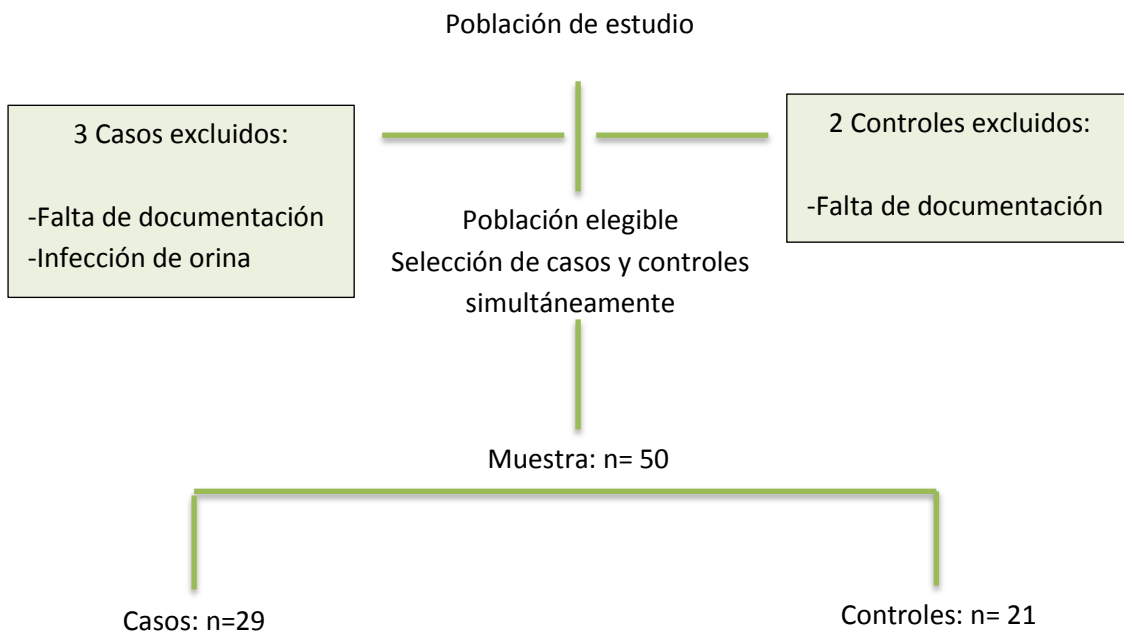


Figura 34. Esquema del estudio de casos y controles.

3.2 Selección de casos y controles

Los pacientes fueron seleccionados en los Servicios de Urología del Hospital Comarcal Santa Ana de Motril, Granada y del Hospital Clínico de Granada, ambos pertenecientes al distrito Granada Sur.

Para la realización de este proyecto se seleccionaron dos cohortes:

- Grupo control (Grupo HBP): pacientes afectados por hiperplasia benigna de próstata confirmada histopatológicamente.

- Grupo experimental (Grupo CaP): pacientes afectados por cáncer de próstata confirmado histopatológicamente.

Debido a la patología analizada, la población de estudio estuvo compuesta exclusivamente por hombres, aunque inicialmente se recogieron muestras de mujeres para establecer un tercer grupo control, que finalmente se eliminó por insuficiencia de la muestra.

3.3 Criterios de Inclusión

- Hombres con una edad comprendida entre 40 y 70 años.
- Consentimiento informado para participar en el estudio adecuadamente firmado.
- Acudir a la consulta de Urología de los centros sanitarios mencionados y cumplir las siguientes recomendaciones de la Guía de CaP de la *European Urology Association* y el proceso de Hiperplasia Benigna de Próstata/Cáncer de próstata del Servicio Sanitario Andaluz para la indicación de biopsia:
 - Síntomas de tracto urinario inferior y un PSA total (PSAt) entre 3 y 10ng/ml con un cociente PSAL /PSAt < 20%.
 - Edad entre 40-50 años con PSAt > 2.5-3ng/ml y con antecedentes familiares directos de CaP.
 - Ratio PSAf / PSAt >20% pero con densidad de PSA > 0.15ng/ml/g.
 - PSA >10 ng/ml.
 - Tasa de crecimiento de PSAt es > 0.75 ng/ml/año.
 - Examen rectal sospechoso (RE), independientemente del valor de PSA.
 - PCA3 >35 en una segunda biopsia (después de una primera biopsia negativa)

3.4 Criterios de Exclusión

- Diagnóstico anatomopatológico de ASAP (proliferación atípica de pequeños acinos) PIN (neoplasia intraepitelial prostática) de bajo y/o alto grado y presencia de proceso inflamatorio agudo o crónico en la biopsia prostática.
- Pacientes con síntomas del tracto urinario inferior de predominio de llenado secundarios a patología obstructiva, hiperactividad vesical, etc., que le impida aguantar la micción 3-4 horas.
- Infección del tracto urinario inferior, confirmado mediante cultivo de orina, en el momento de la recogida de la muestra de orina.
- Pacientes sondados en el momento de recogida de la muestra de orina.
- Consumo de alcohol o tabaco en las últimas 12 horas a la recogida de la muestra orina.
- Haber recibido tratamiento previo para el cáncer de próstata (Prostatectomía radical, RT, braquiterapia, crioterapia, bloqueo hormonal, etc.) en el momento de recogida de la muestra de orina.
- Estar diagnosticado de enfermedad neoplásica en cualquier localización en el momento de la recogida de la muestra de orina.
- Estar en tratamiento con inhibidores de la 5-alfa-reductasa en el momento de la recogida de la muestra de orina.
- Pacientes diagnosticados de insuficiencia renal modera-grave.

3.5 Consideraciones éticas

Se ofreció la participación en el estudio a todos aquellos pacientes que acudieron al Servicio de Urología de los dos centros mencionados, con síntomas del tracto urinario inferior (LUTS) y sospecha de cáncer de próstata que se sometieron a una biopsia eco-dirigida. A todos ellos se les invitó a participar y, en los casos en los que mostraron interés, se les informó con detalle de todos los aspectos del estudio (Anexo I) y se contestó a todas la preguntas que pudieran tener.

A todos aquellos que finalmente desearon participar, se les pidió que firmasen el consentimiento informado (Anexo II) y se les asignó un ID (número de identificación).

Como parte de la información recibida, se les indicó que tenían que acudir al centro en el que se les citaba sin haber orinado, a fin de recoger "*in situ*" la primera orina de la mañana, y posteriormente someterse a un masaje prostático tras el cual se recogería una segunda muestra de orina. Además, era necesario responder a un cuestionario de variables sociodemográficas (Anexo III). En todo momento se les dijo que podrían retirarse del estudio cuando lo considerasen oportuno, sin tener que dar ningún tipo de explicación y sin que ello supusiese ninguna merma o diferencia en el tratamiento recibido.

La confirmación diagnóstica se realizó posteriormente con los informes recibidos del servicio de anatomía patológica, y se validó el diagnóstico por un grupo de expertos que cumplimentaron el apartado final del formulario de selección de casos o controles (Anexo IV). En función de este diagnóstico, el participante fue designado al grupo control con hiperplasia benigna de próstata (HBP) o al grupo experimental con cáncer de próstata (CaP).

A lo largo del todo el proceso relacionado con el estudio se preservó el anonimato de los pacientes incluidos en él. No existió conflicto de intereses en ninguno de los miembros del equipo de investigación. Los investigadores declaran que este estudio ha sido parcialmente financiado por la empresa Astellas Pharma, a través de un proyecto de la Fundación para la Investigación Biosanitaria de Andalucía Oriental Alejandro Otero (FIBAO).

El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética de la Investigación de Centro de Granada (CEI-GRANADA), Consejería de Salud. Junta de Andalucía (Anexo V).

3.6 Método de recogida de información

Una vez que los pacientes fueron informados del proceso y después de comprobar que habían firmado el consentimiento informado del estudio, se procedió a verificar el número de identificación y a realizarles el cuestionario de variables sociodemográficas y de diagnóstico.

En el primero de los cuestionarios, se trataron cuestiones tanto antropométricas (talla, peso, Índice de Masa Corporal (IMC)) como antecedentes personales de otro tipo de enfermedades (diabetes, dislipemia, hipertensión, etc), antecedentes familiares de cáncer de próstata, antecedentes laborales y temas relacionado con adicción al tabaco y al alcohol.

En el segundo, se trataron temas clínicos, como el valor del PSA, el volumen de próstata, el cociente del PSA, el grado de Gleason, el número de lóbulos afectados, la anatomía patológica, tacto rectal, etc.

3.7 Recogida y almacenamiento de muestras

De cada paciente, se recogieron dos muestras, una antes de realizar un masaje prostático, y otra después del mismo. Durante la primera entrevista con el paciente en la consulta de Urología, se le explicó que debían reducir su consumo de líquido la tarde/noche anterior a su cita para intentar evitar orinar después de las 2-3 am y recoger "*in situ*" la primera orina de la mañana. Una vez en consulta, se le proporcionó un bote de recolección de orina, del que se tomaron una alícuota de 11 mL para realizar un cultivo que nos permitiese descartar infección, y otra de 25 mL para analizar los compuestos orgánicos volátiles. Esta última muestra se congeló a -22°C hasta el momento del análisis.

Dos horas más tarde, el paciente fue sometido a un masaje prostático (tres toques en cada lóbulo). Después de éste, el paciente debió orinar de nuevo para recoger de esta muestra de orina, otra alícuota de 25 mL, que también era congelada a -22°C hasta el momento del análisis.

A la hora de realizar el análisis de los compuestos orgánicos volátiles, las muestras fueron descongeladas a temperatura ambiente, y agitadas para despegar los sedimentos de la orina depositados en las paredes del tubo. A continuación se extrajeron 5 mL de muestra y se saturaron con 1.85 g de cloruro de sodio (NaCl), ajustando el pH a 1-2 con 5.0 M de ácido clorhídrico (HCl).

Los valores normales de pH en orina fluctúan entre 4,6 y 8. El ácido clorhídrico es un conservante de la orina, y al ser un ácido fuerte, disminuye su pH provocando la muerte de todo microbioma o tejido que pudiera existir en la muestra. Sin embargo, la cantidad de ácido condiciona la extracción de los componentes de la orina, por lo que se debió garantizar un pH menor que 2, evitando excesos que dificultasen el rendimiento de la extracción.

Por su parte, al agregar cloruros, como el cloruro de sodio, a una disolución acuosa de HCl, el valor de pH prácticamente no cambia, aunque ayuda a conservar el equilibrio apropiado de líquidos corporales y mantener el equilibrio ácido-básico del cuerpo. La adición de sal permite aumentar la eficacia de extracción de muchos metabolitos, particularmente los polares. La presencia de sal puede influir en la adsorción de dos maneras: cambiando las propiedades de la unión de fase y disminuyendo la solubilidad de los metabolitos hidrófilos en la fase acuosa (efecto *salting-out*). El efecto de salazón es ampliamente utilizado para aumentar la sensibilidad de una metodología analítica (Silva et al., 2012).

Una vez saturadas las muestras, se taparon con un septum de SILICONE/PTFE y un tapón de aluminio (Chromacol, Hertfordshire, Reino Unido) y se mantuvieron en frío hasta su análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrómetro de masas.

3.8 Análisis cromatográfico

El análisis, identificación y semi-cuantificación de los compuestos orgánicos volátiles se realizó mediante cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas (GC-MS). La

inyección de las muestras se llevó a cabo empleando un inyector automático provisto de espacio de cabeza (*head space*) y realizando una microextracción en fase sólida (SPME) previa de los compuestos volátiles de la orina (Figura 35). La inyección de se realizó mediante el sistema “*splitless*”. Se realizó una determinación de COVs en orina por cada uno de los participantes del estudio.

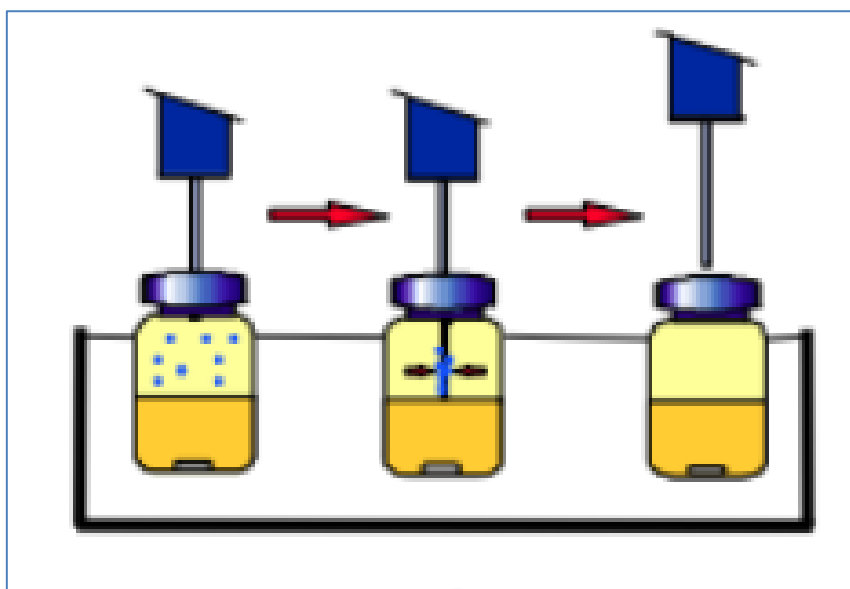


Figura 35. Sistema HS-SPME

De acuerdo con Silva y cols, 2012 (Silva et al., 2012), la fibra empleada para una mayor eficiencia de la SPME fue CAR/PDMS. Esta fibra con el adsorbente estuvo en contacto con la fase gaseosa de la muestra durante 40 minutos a 50°C. Los compuestos volátiles adsorbidos se desorbieron térmicamente a 250°C durante 6 minutos en el puerto de inyección de un cromatógrafo de gases Agilent® 7890, equipado con una columna HP-INNOWAX® de sílice fundido de 30m x 0,25mm x 0,25µm, cuya fase estacionaria es polietilenglicol, y con un detector de espectrometría de masas MS de triple cuádruplo Quattro Micro GC (Waters) (Figura 36).

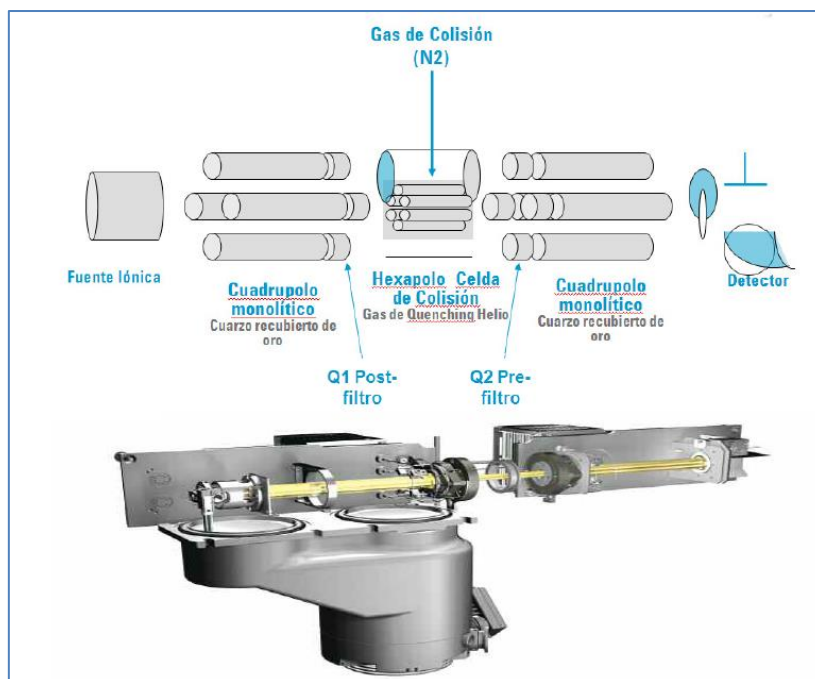


Figura 36. Esquema del equipo Agilent 7890 utilizando un analizador triple cuadrupolo Quattro Micro GC (Waters).

El programa cromatográfico fue el siguiente: la temperatura inicial fue de 35°C, y se mantuvo durante dos minutos. Posteriormente, la temperatura fue aumentando a un ritmo de 3°C/min hasta 220°C, mantenidos durante 3,3 minutos, lo que hizo un total de 67 minutos. El flujo de helio se mantuvo a 1 ml/min.

Los parámetros del espectrómetro de masas fueron: Ionización por Impacto Electrónico y adquisición en “full scan” con rango de masas desde 35 a 400 Da. La identificación de los metabolitos se realizó mediante comparación de los espectros de masas adquiridos con los existentes en la biblioteca de espectros masa NIST/NBS. El software empleado para el control del sistema GC-MS fue MASSLINX. Los picos correspondientes a cada compuesto volátil obtenido en cada una de las muestras recogidas se expresaron como áreas.

3.9 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los datos, se utilizó el programa estadístico SPSS Statistics versión 20 (IBM®). Después de calcular las medidas de tendencia central y dispersión, se verificó la distribución de las variables con la prueba de Shapiro-Wilks y la homogeneidad de la varianza con la prueba de Levene.

En primer lugar, se hallaron diferentes frecuencias descriptivas de parámetros como la edad, la historia familiar de cáncer de próstata, el IMC, el valor del PSA, el tacto rectal, el tabaco o el alcohol.

Para analizar las posibles diferencias existentes en algunas de estas variables, como el valor del PSA, el IMC, etc., entre el grupo CaP y el Grupo HBP, se realizó una prueba *t de student* para muestras independientes.

Dentro de cada grupo, las posibles diferencias existentes entre ciertas variables (PSA, IMC, tabaco, alcohol, cociente de PSA, volumen de próstata, etc) se establecieron mediante la prueba *t* para muestras relacionadas. Además, para ver si, a parte de existir diferencia significativa entre dos variables, existía una correlación positiva entre ellas, se utilizó la prueba de correlación de Pearson.

Para el análisis estadístico de compuestos orgánicos volátiles, las variables distribuidas normalmente se compararon entre los grupos CaP y HBP mediante la prueba de Kruskal-Wallis y las variables no distribuidas normalmente con ANOVA. La prueba de correlación de Pearson se utilizó para determinar las correlaciones entre los diferentes COVs identificados y las correlaciones de cada COV con el puntaje de Gleason, el valor de PSA y el IMC. $p < 0.05$ se consideró significativo.

4. RESULTADOS

4.1 Características sociodemográficas y variables diagnósticas.

4.1.1 Descripción de las características de los grupos de estudio.

De entre los pacientes atendidos en los Servicios de Urología del Hospital Santa Ana de Motril, Granada, y del Hospital Clínico de Granada, durante el periodo de tiempo comprendido entre Abril de 2014 y Junio de 2015, se seleccionaron cincuenta pacientes. Esta selección de pacientes se dividió en dos grupos en función del resultado anatomopatológico obtenido tras realizarles una biopsia eco-dirigida: el grupo de pacientes con cáncer de próstata (Grupo CaP), constituido por 29 pacientes, con un rango de edad que oscilaba entre los 59 y los 78 años de edad, con una edad media de $68,03 \pm 0,890$ años; y el grupo de pacientes con hiperplasia benigna de próstata (Grupo HBP), constituido por 21 pacientes con edades comprendidas entre los 50 y los 73 años, cuya edad media fue de $62,96 \pm 1,271$ años (Figura 37).

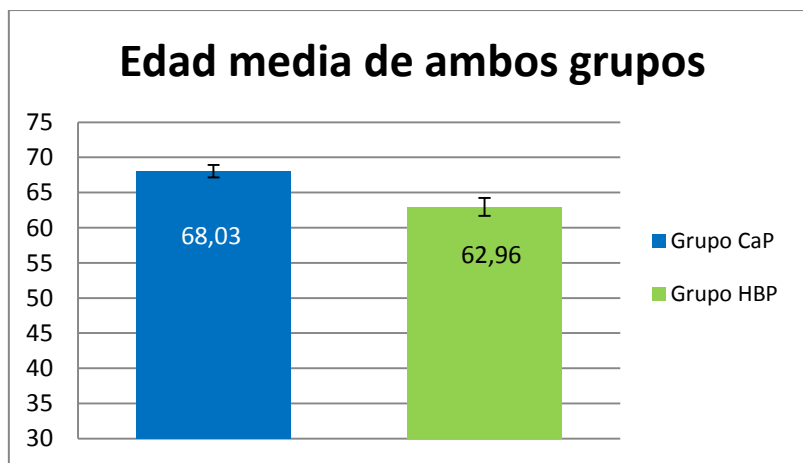


Figura 37. Representación de la media de edades en ambos grupos de estudio.

Entre las características clínicas de los pacientes de ambos grupos destacan las siguientes:

- Grupo CaP: 8 pacientes (27,58%) tuvieron antecedentes familiares de cáncer de próstata, y 22 de ellos presentaron un IMC ≥ 25 (75,86%), de los cuales, 13 (59,09%) se

categorizaron como sobrepeso, y 9 (40,01%), como obesidad. De estos 29 pacientes, a 21 (72,41%) se les observó un tacto rectal positivo. El nivel de PSA estuvo entre 4 y 10 ng/ml en 15 pacientes (51,72%) y fue mayor de 10 ng/ml en 14 (49,28%) (Figura 38).

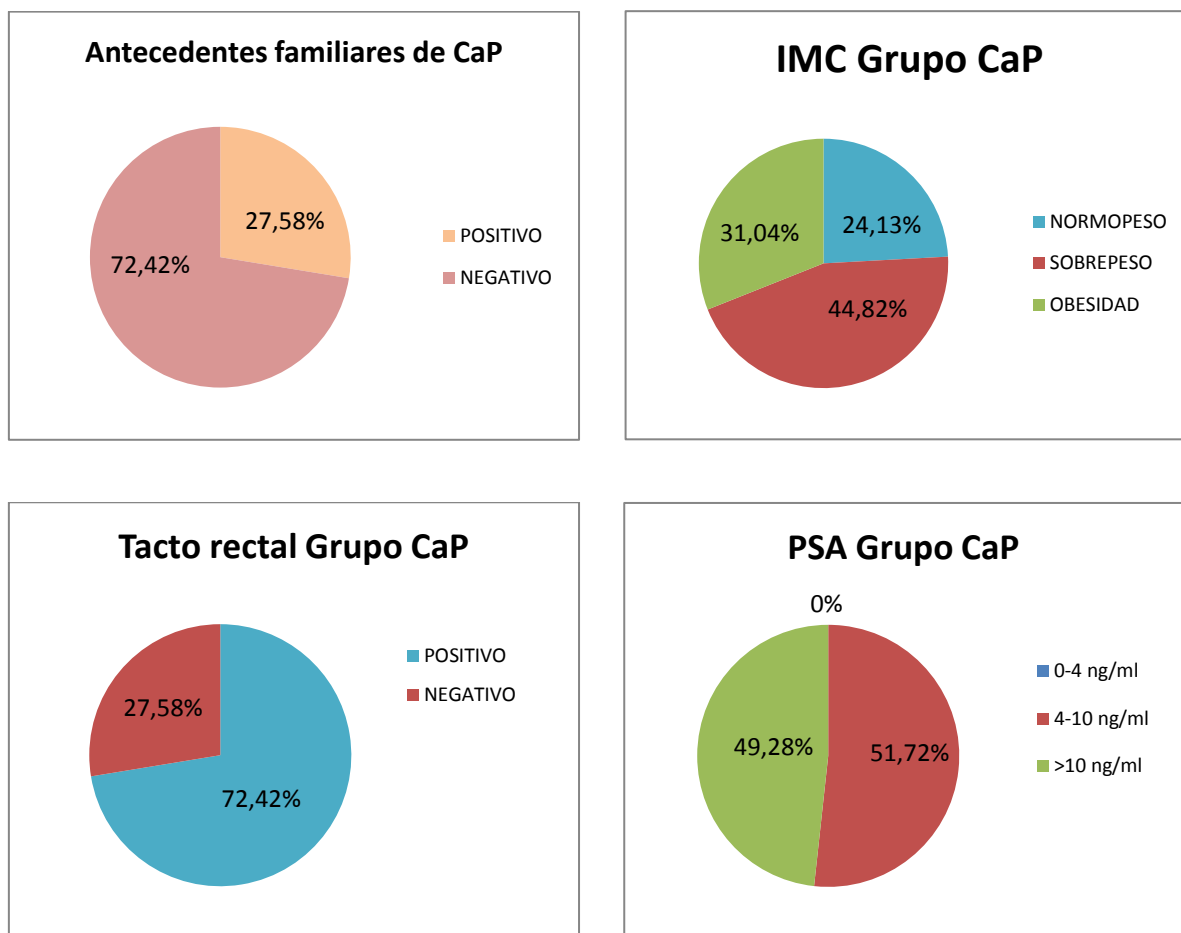


Figura 38. Gráficos descriptivos de las características clínicas de los pacientes pertenecientes al grupo CaP.

- Grupo 2 (HBP): en este caso, solo 4 pacientes (19,04%) tuvieron antecedentes familiares de cáncer de próstata. 15 de ellos (71,42%) informaron un IMC ≥ 25 , categorizándose como sobrepeso a 10 de ellos (66,6%) y como obesidad a 5 (33,3%). De los 21 pacientes que formaron parte de este grupo, a 10 de ellos (47,62%) se les observó un tacto rectal positivo, y en 17 (80,95%), el valor del PSA estuvo entre los 4 y los 10 ng/ml, aumentando por encima de 10 ng/ml solo en 4 pacientes (19,05%) (Figura 39).

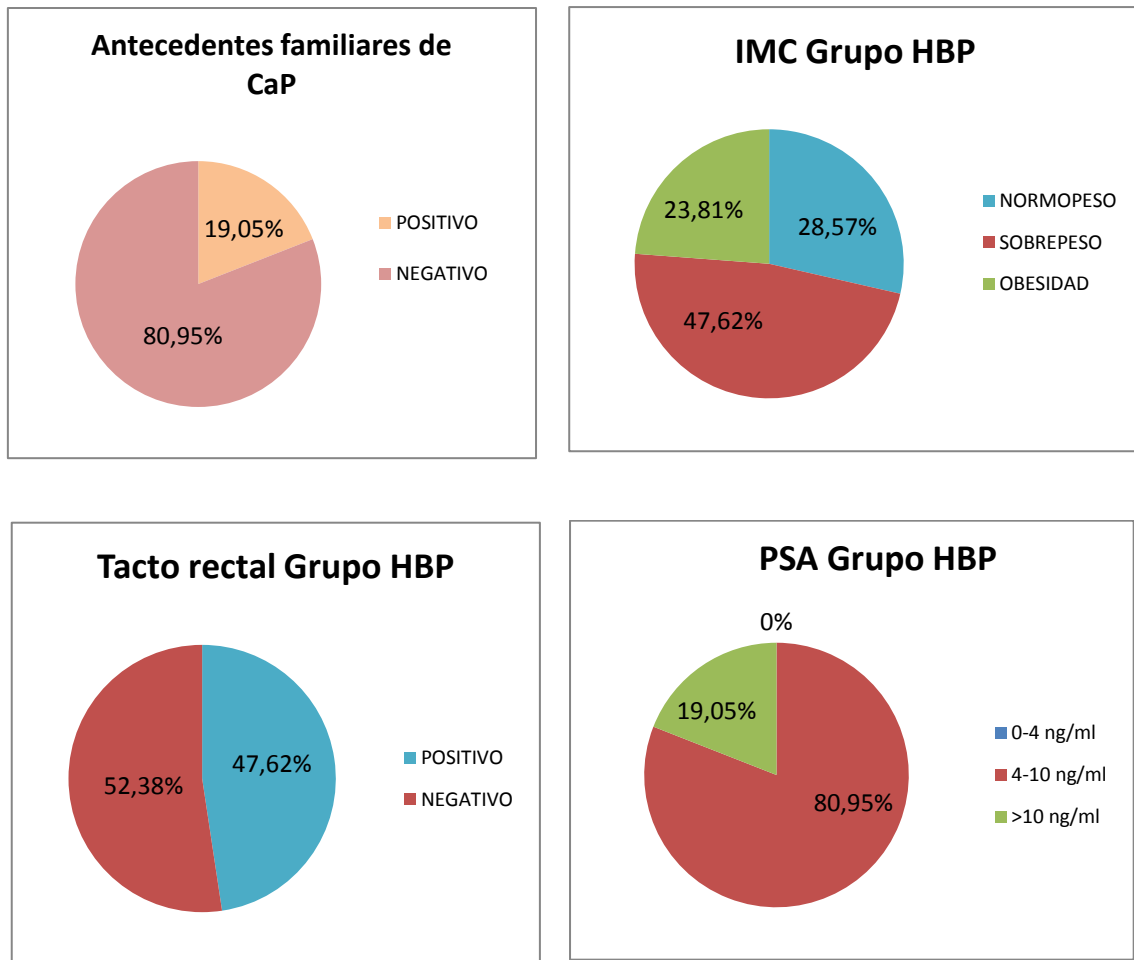


Figura 39. Gráficos descriptivos de las características clínicas de los pacientes pertenecientes al grupo HBP.

Diferentes variables sociodemográficas y de diagnóstico pueden verse descritas en la tabla 7.

		Grupo CaP	Grupo HBP
Edad		68,03 ± 0,890	62,96 ± 1,271
Antecedentes familiares de CaP	SÍ	8 (27,58%)	4 (19,05%)
	NO	21 (72,42%)	17 (80,95%)
IMC	Infrapeso	0	0
	Normopeso	7 (24,13%)	6 (28,57%)
	Sobrepeso	13 (44,82%)	10 (47,62%)
	Obesidad	9 (31,04%)	5 (23,81%)
PSA	0-4 ng/ml	0	0
	4-10 ng/ml	15 (51,72%)	17 (80,95%)
	>10 ng/ml	14 (49,28%)	4 (19,05%)
Tacto rectal	Positivo	21 (72,42%)	10 (47,62%)
	Negativo	8 (27,58%)	11 (52,38%)
Tabaco	No fumador	10 (38,48%)	8 (38,09%)

	Ex fumador	11 (37,93%)	11 (52,38%)
	Fumador	8 (27,58%)	2 (9,52%)
Alcohol	Riesgo bajo	28 (96,55%)	18 (85,71%)
	Riesgo medio	1 (3,45%)	3 (14,29%)
	Riesgo alto	0	0

Tabla 7. Representación de las variables más características de los dos grupos de estudio.

4.1.2 Resultados obtenidos para el PSA

El valor del antígeno prostático específico en el caso de los pacientes pertenecientes al Grupo CaP, varió entre 5,03 y 31,00 ng/ml, y su valor medio fue de $10,54 \pm 1,02$ ng/ml. En el caso de los pacientes pertenecientes al grupo HBP, el valor del PSA fluctuó entre los 4,20 y los 19,00 ng/ml, estando el valor medio en $8,70 \pm 0,659$ ng/ml. Entre ambos grupos no se encontraron diferencias significativas en esta variable de estudio, siendo su $p=0,121$. Sin embargo, sí se estableció una correlación positiva entre el valor del PSA y el volumen prostático en los dos grupos de estudio, siendo $r=0,422$ y $p=0,028$ en el Grupo CaP y $r=0,583$ y $p=0,014$ en el grupo de pacientes HBP (Figura 40).

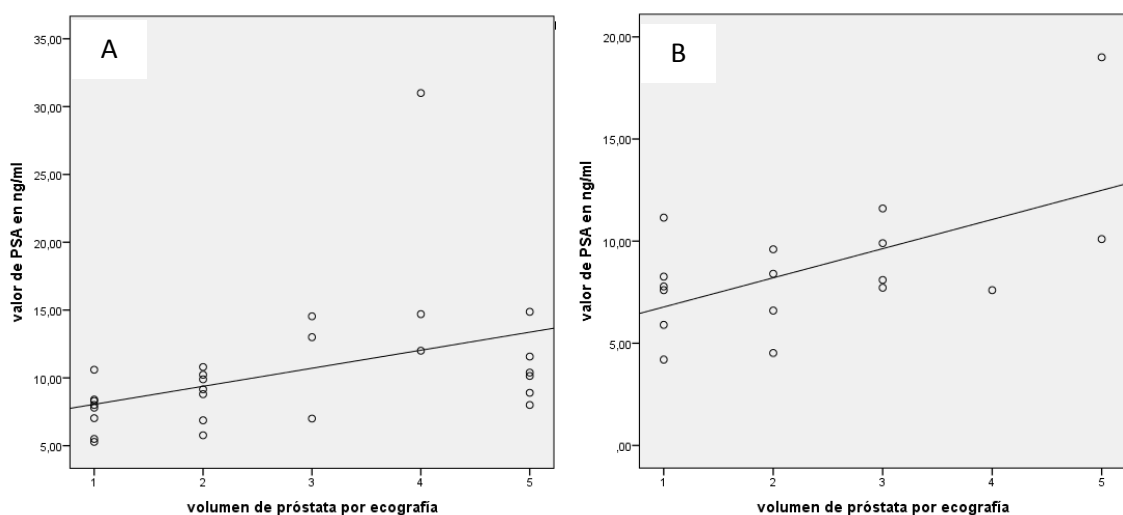


Figura 40. A) Correlación existente entre el valor del PSA y el volumen prostático en el grupo CaP ($p=0,028$). B) Correlación existente entre el valor del PSA y el volumen prostático HBP ($p=0,014$).

También se analizó la relación entre el PSA y el Grado de Gleason. En este caso, el análisis estadístico solo se realizó con los pacientes pertenecientes al grupo CaP, al ser esta variable

una característica específica únicamente de este grupo. La correlación entre ambas fue positiva ($r=0,468$; $P=0,01$). En la figura 41 se muestra la relación existente entre ambas variables. En ella, puede verse cómo, a medida que el grado de Gleason es mayor, el valor medio del PSA va aumentando. Los pacientes con CaP que tienen un grado de Gleason menor o igual que 6 (denominados Gleason 1), presentan un valor medio de PSA de $8,14 \pm 0,49$; para los que tienen un grado de Gleason igual a 7 (Gleason 2), el valor medio del PSA es de $10,48 \pm 2,06$; y el valor medio del PSA de los pacientes que presentan un grado de Gleason mayor de 7 (Gleason 3), es de $13,91 \pm 0,71$.

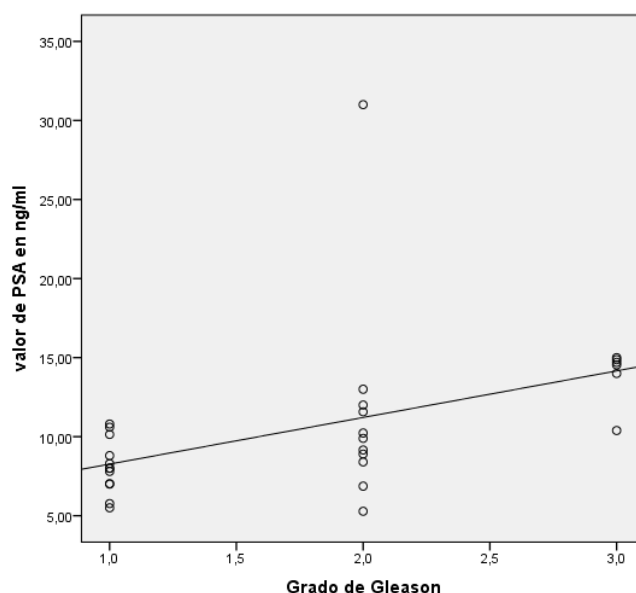


Figura 41. Relación entre el grado de Gleason y el valor del PSA en el grupo CaP. 1,0 = grado de Gleason menor o igual a 6; 2,0 = Grado de Gleason =7; 3,0 = grado de Gleason mayor a 7 ($p=0,01$).

4.1.3 Resultados obtenidos para el IMC

En el caso de los adultos, la Organización Mundial de la Salud establece como sobrepeso un IMC igual o superior a 25, y como obesidad un IMC igual o superior a 30 (Organización Mundial de la Salud, 2017). Al realizar una comparación del IMC entre los dos grupos de estudio, no se encontraron diferencias significativas entre ellos ($p=0,392$). Sin embargo, el IMC correlacionó positivamente con el grado de Gleason en los pacientes con CaP. Como ocurrió con el PSA, esta

relación solo se pudo establecer con este grupo de pacientes por ser el grado de Gleason una característica exclusiva de este grupo. Al analizar la relación entre ambas variables, se encontró una correlación de Pearson de $r=0,755$, y una $p<0,01$. Esto puede verse expresado en el histograma representado en la figura 42. Si analizamos esta figura por partes, puede observarse que cuando el grado de Gleason es menor o igual a 6, los pacientes que se encuentran en este grupo presentan normopeso o sobrepeso, pero no obesidad. Cuando el grado de Gleason es igual a 7, el número de personas con normopeso disminuye y el número de personas con sobrepeso se mantiene similar. Sin embargo, empiezan a aparecer pacientes con obesidad, que en el primer caso no se encontraban. Al fijarnos en la parte de la figura donde se muestra el grado de Gleason mayor que 7, puede verse que solo hay personas con obesidad, desapareciendo las que presentan normo o sobrepeso.

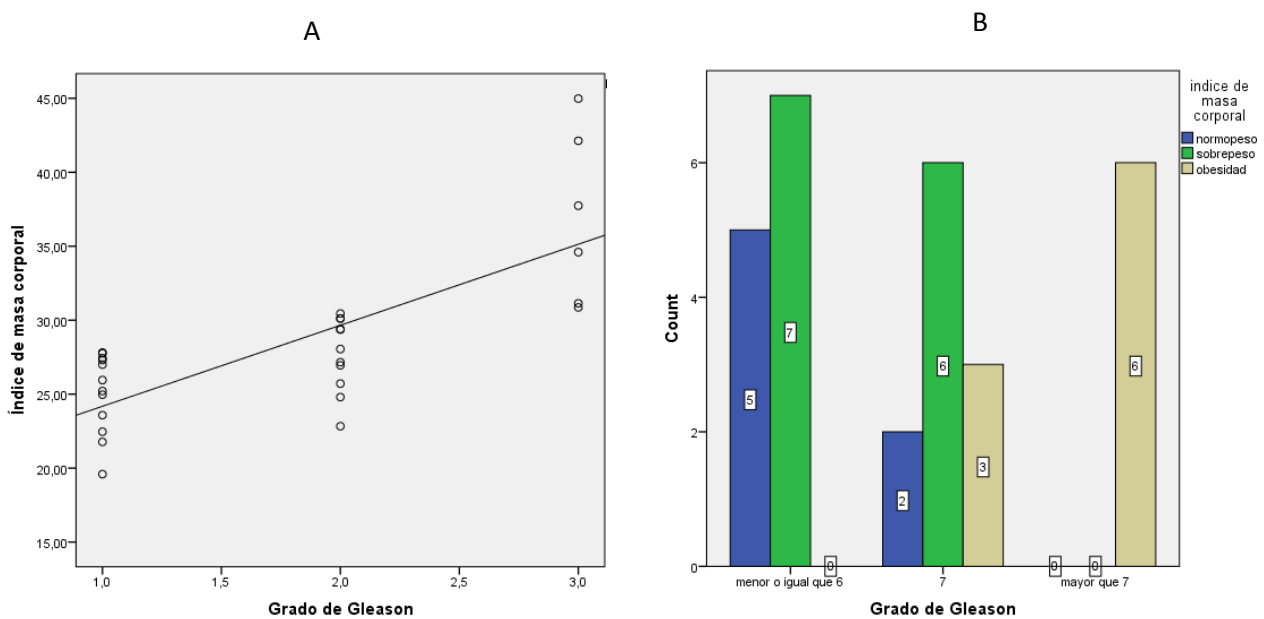


Figura 42. A) Relación entre el IMC y el Grado de Gleason en el grupo CaP. 1,0 = grado de Gleason menor o igual a 6; 2,0 = Grado de Gleason =7; 3,0 = grado de Gleason mayor a 7. B) Histograma representando el número de pacientes (count) con un valor del grado de Gleason menor o igual que 6, valor igual que 6, y valor mayor de 7 ($p<0,01$).

También se evaluó la posible relación entre el IMC y el valor del PSA. No se encontró correlación positiva entre ellas ni en el grupo CaP ($r=0,356$; $p=0,058$) ni en el grupo HBP ($r=-0,073$; $p=0,752$)

4.2 Compuestos orgánicos volátiles en las muestras de orina

Se identificaron y semi-cuantificaron cincuenta y siete compuestos orgánicos volátiles diferentes por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. La tabla 8 muestra los compuestos detectados en las muestras de orina de los pacientes, recogidas tanto antes como después de la realización del masaje prostático, ordenados según el tiempo de retención en el que aparecen, así como el valor medio de sus áreas. En la tabla también aparece el valor de p en aquellos compuestos que han resultado ser significativamente diferentes entre los dos grupos de estudio.

ÁREAS DE LOS PICOS (valor medio)

Nombre del compuesto	Tiempo de retención (min)	PRE-MASAJE			POST-MASAJE		
		Grupo HBP	Grupo CaP	p-value	Grupo HBP	Grupo CaP	p-valor
CO2	1.37	3.06x10 ⁸	3.38x10 ⁸		3.14x10 ⁸	4.31x10 ⁸	
Metanotiol	1.64	3.32x10 ⁷	6.73x10 ⁷		4.38x10 ⁷	6.00x10 ⁷	
Furano	2.11	2.95x10⁷	3.87x10⁸	≤0.001	1.17x10⁷	2.21x10⁸	≤0.001
Acetona	2.23	1.08x10 ⁸	1.29x10 ⁸		3.04x10 ⁸	3.69x10 ⁸	
2-metilfurano	2.72	7.35x10 ⁶	1.19x10 ⁷		1.09x10 ⁷	1.37x10 ⁷	
Alil mercaptano	2.89	4.70x10 ⁶	2.19x10 ⁶		6.34x10 ⁶	1.79x10 ⁶	
2-butanona	3.04	1.21x10 ⁷	1.87x10 ⁷		1.86x10⁷	2.45x10⁸	0.001
2,5-dimetilfurano	3.89	1.12x10 ⁶	1.79x10 ⁶		2.75x10 ⁷	2.57x10 ⁷	
2-pentanona	4.30	1.16x10 ⁸	1.46x10 ⁸		1.85x10 ⁸	2.31x10 ⁸	
2-metil-3-hexanona	4.70	7.30x10 ⁶	8.30x10 ⁶		9.56x10 ⁶	1.52x10 ⁷	
3,7-dimetil-1,6-octadieno	5.58	2.20x10 ⁷	4.50x10 ⁷		6.14x10 ⁷	4.07x10 ⁷	
2-hexanona	6.08	2.06x10 ⁷	1.94x10 ⁷		2.27x10 ⁷	1.89x10 ⁷	
Dimetil disulfuro	6.69	5.28x10 ⁸	6.75x10 ⁸		5.39x10 ⁸	4.92x10 ⁸	
Etilbenzeno	8.24	4.91x10 ⁷	1.23x10 ⁷		4.37x10 ⁷	6.13x10 ⁷	
4-heptanona	8.30	4.17x10 ⁸	7.80x10 ⁸		5.34x10 ⁸	8.66x10 ⁸	
1,3-dimetilbenzeno	8.54	7.70x10 ⁷	1.71x10 ⁷		7.79x10 ⁷	1.04x10 ⁸	
p-xileno	8.77	1.18x10 ⁸	2.08x10 ⁸		5.93x10⁷	2.20x10⁸	0.002
Terpineol	10.01	6.71x10 ⁷	2.77x10 ⁸		5.74x10 ⁷	3.92x10 ⁷	
o-xileno	10.36	6.69x10 ⁷	1.02x10 ⁸		6.57x10 ⁷	1.18x10 ⁸	
2-heptanona	10.47	2.36x10 ⁷	2.71x10 ⁷		3.50x10 ⁷	3.67x10 ⁷	
Eucaliptol	11.05	1.38x10 ⁷	1.89x10 ⁷		1.53x10 ⁷	1.58x10 ⁷	
4-metil-2-heptanona	11.43	1.43x10 ⁷	1.38x10 ⁷		1.87x10 ⁶	2.35x10 ⁶	
Derivado del furano	12.75	1.05x10 ⁸	1.71x10 ⁸		1.32x10 ⁸	1.24x10 ⁸	
o-cimeno	13.82	9.39x10 ⁷	1.88x10 ⁸		6.90x10 ⁷	8.56x10 ⁷	

t-butil metil sulfoxido	14.40	5.59x10 ⁷	1.21x10 ⁸		3.09x10 ⁷	5.25x10 ⁷	
Metil propil disulfide	14.59	4.34x10 ⁷	2.02x10 ⁷		5.46x10 ⁷	1.19x10 ⁷	
2-metil-2-octanol	17.30	8.18x10 ⁷	3.29x10 ⁷		5.99x10 ⁷	2.45x10 ⁷	
Dimetil trisulfuro	18.28	1.91x10 ⁸	2.28x10 ⁸		1.80x10 ⁸	1.56x10 ⁸	
2-nonanona	18.92	1.55x10 ⁷	1.87x10 ⁷		1.95x10 ⁷	2.18x10 ⁷	
Falcarnicol	19.90	1.06x10 ⁷	1.78x10 ⁷		1.02x10 ⁷	8.23x10 ⁶	
Dimetil estireno	20.83	2.77x10 ⁸	6.48x10 ⁸		2.54x10 ⁸	2.49x10 ⁸	
Óxido de linalilo	21.13	9.70x10 ⁷	1.58x10 ⁸		1.15x10 ⁸	1.10x10 ⁸	
Mircenol	22.30	2.71x10 ⁷	4.52x10 ⁷		2.13x10 ⁷	3.90x10 ⁷	
2,6-dimetil-7-octen-2-ol	22.59	7.31x10⁸	2.43x10⁸	0.003	2,34x10 ⁸	5.66x10 ⁸	
2-etilhexanol	23.40	6.48x10⁷	1.62x10⁷	0.032	3.68x10 ⁷	4.65x10 ⁷	
2-furil metil cetona	23.85	6.45x10 ⁶	4.90x10 ⁶		1.06x10 ⁷	5.50x10 ⁷	
Santolina trieno	24.12	1.57x10⁸	5.26x10⁷	0.032	7.01x10 ⁷	9.05x10 ⁷	
Ionona	24.24	4.40x10 ⁷	9.06x10 ⁷		5.30x10 ⁷	5.30x10 ⁷	
3-metilhexano	26.77	1.56x10 ⁷	8.08x10 ⁶		1.36x10 ⁷	4.68x10 ⁶	
4-isopropil-1-metil ciclohexanol	27.38	7.80x10 ⁷	1.51x10 ⁸		6.81x10 ⁷	1.58x10 ⁸	
Menthol	29.01	3.19x10 ⁸	3.06x10 ⁸		2.24x10 ⁸	5.78x10 ⁸	
5-etil-3-metildihidro-2-furanona	31.13	6.04x10 ⁷	6.91x10 ⁷		1.49x10 ⁸	5.22x10 ⁷	
Piperitona	31.72	3.46x10 ⁷	2.17x10 ⁷		4.31x10 ⁷	2.82x10 ⁸	
d-carvona	32.07	5.20x10 ⁶	1.40x10 ⁷		4.19x10 ⁷	2.41x10 ⁷	
1,2-dihidro-1,4,6-trimetil nftaleno	32.40	1.06x10 ⁸	1.85x10 ⁸		1.21x10 ⁸	8.36x10 ⁷	
Metil salicilato	33.62	5.39x10 ⁶	1.15x10 ⁷		5.59x10 ⁶	7.94x10 ⁶	
3,5-dimetil benzaldehido	34.19	3.29x10⁷	1.74x10⁷	0.027	2.14x10 ⁷	2.38x10 ⁷	
Derivado de la Butanona	35.31	8.98x10 ⁶	4.01x10 ⁷		1.10x10 ⁷	1.79x10 ⁷	
p-cymen-8-ol	36.72	3.30x10 ⁷	6.64x10 ⁷		2.66x10 ⁷	6.21x10 ⁷	
Guaiacol	37.04	1.37x10 ⁷	1.31x10 ⁷		1.30x10 ⁷	1.15x10 ⁷	
4,4- dimetil butirolactona	37.90	3.02x10 ⁷	3.02x10 ⁷		3.22x10 ⁷	2.25x10 ⁷	
Fenol	42.25	1.10x10 ⁸	3.08x10 ⁸		3.38x10⁷	4.20x10⁸	≤0.001
Ácido Octanoico	44.03	1.21x10 ⁷	4.36x10 ⁷		9.83x10 ⁶	2.25x10 ⁷	
3-metilfenol	44.62	9.46x10 ⁸	7.06x10 ⁸		3.68x10⁸	1.28x10⁹	0.014
Ácido nonaoico	47.29	1.64x10 ⁷	4.77x10 ⁷		1.34x10 ⁷	2.48x10 ⁷	
6-t-butil-m-cresol	49.20	1.95x10 ⁷	3.04x10 ⁷		1.69x10 ⁷	2.57x10 ⁷	
Dibutil ftalato	57.27	1.30x10 ⁸	2.28x10 ⁸		9.40x10 ⁷	2.16x10 ⁸	

Tabla 8. Compuestos identificados con el área media de los picos, el tiempo de retención en minutos y el p-valor para aquellos compuestos que muestran diferencias significativas entre pacientes con CaP y HBP. En negrita se resaltan los compuestos que presentaron diferencias estadísticas entre grupos.

El análisis de las muestras de orina permitió identificar qué compuestos eran más abundantes proporcionalmente en los participantes de ambos grupos de estudio, tanto antes como después del masaje prostático. Así, en las muestras de orina recogidas antes del masaje

prostático, los seis compuestos más abundantes en los pacientes con HBP fueron el 3-metilfenol (9.46×10^8), el 2,6-dimetil-7-octen-2-ol (7.31×10^8), el dimetil disulfuro (5.28×10^8), la 4-heptanona (4.17×10^8), el mentol (3.19×10^8) y el CO_2 (3.06×10^8); y en los pacientes pertenecientes al grupo CaP, los seis compuestos mayoritarios fueron la 4-heptanona (7.80×10^8), el 3-metilfenol (7.06×10^8), el dimetil disulfuro (6.75×10^8), el dimetil estireno (6.48×10^8), el furano (3.87×10^8) y el CO_2 (3.38×10^8).

Después del masaje prostático, los seis compuestos que más abundaron en los pacientes con HBP fueron el dimetil disulfuro (5.39×10^8), la 4-heptanona (5.34×10^8), el 3-metilfenol (3.68×10^8), el CO_2 (3.14×10^8), la acetona (3.04×10^8) y el dimetil estireno (2.54×10^8); y en los pacientes del grupo CaP, el 3-metilfenol (1.28×10^9), la 4-Heptanona (8.66×10^8), el mentol (5.78×10^8), el 2,6-dimetil-7-octen-2-ol (5.66×10^8), el dimetil disulfuro (4.92×10^8) y el CO_2 (4.31×10^8). Todo esto puede verse resumido en la tabla 9.

PREMASAJE		POSTMASAJE	
Pacientes con HBP	Pacientes con CaP	Pacientes con HBP	Pacientes con CaP
3-metilfenol	4-heptanona	Dimetil disulfuro	3-metilfenol
2,6-dimetil-7-octen-2-ol	3-metilfenol	4-heptanona	4-heptanona
Dimetil disulfuro	Dimetil disulfuro	3-metilfenol	Mentol
4-heptanona	Dimetil estireno	CO_2	2,6-dimetil-7-octen-2-ol
Mentol	Furano	Acetona	Dimetil disulfuro
CO_2	CO_2	Dimetil estireno	CO_2

Tabla 9. Relación de los seis compuestos más abundantes en ambos grupos de estudio tanto antes como después del masaje prostático.

4.2.1 Antes del masaje prostático

De los 57 compuestos identificados, antes del masaje prostático se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos analizados en los compuestos furano, 3,5-dimetilbenzaldehído, santolina trieno, 2,6-dimetil-7-octen-2-ol, y 2-etilhexanol.

Los niveles de furano fueron ocho veces más altos ($p < 0,001$) en los pacientes del grupo CaP cuando se compararon con los niveles de este mismo compuesto en los pacientes del grupo HBP. Sin embargo, el resto de los compuestos mencionados presentaron niveles superiores en los pacientes del grupo HBP al compararlos con los pacientes del grupo CaP. En el caso del 3,5-dimetilbenzaldehido, su valor medio fue dos veces superior en los pacientes del grupo HBP que en los del grupo CaP ($p = 0,027$). La santolina trieno ($p = 0,032$) y el 2,6-dimetil-7-octen-2-ol ($p = 0,003$), mostraron niveles tres veces más altos en los pacientes del grupo HBP; y el 2-etilhexanol ($p = 0,032$) apareció cuatro veces más alto en el grupo HBP que en el grupo CaP (Figura 43).

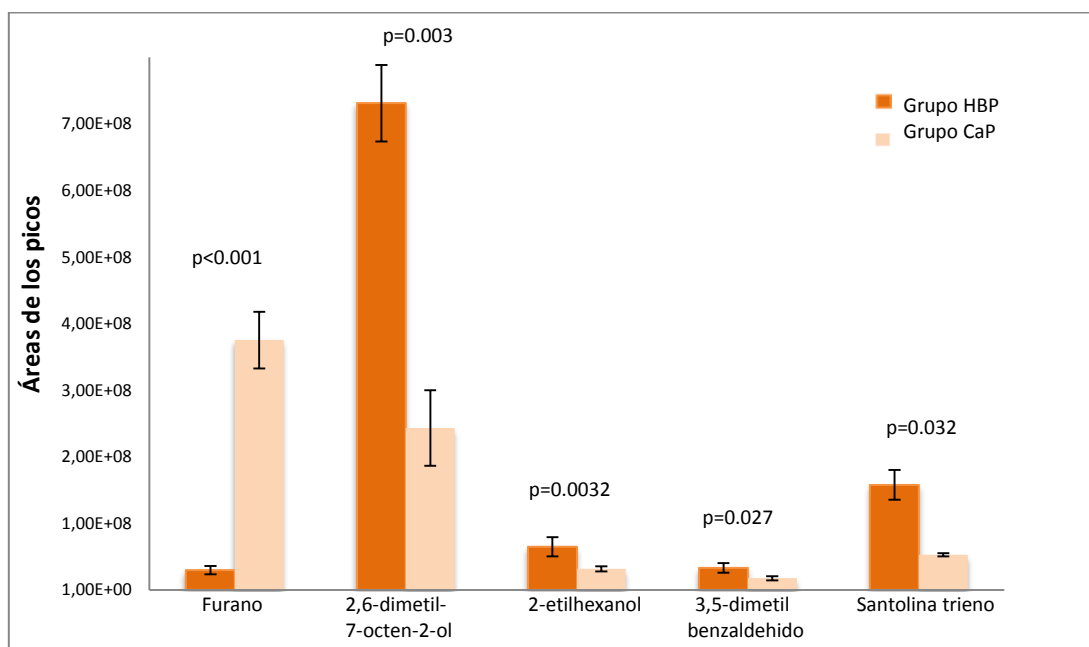


Figura 43. Representación de los compuestos que presentan diferencias significativas antes del masaje prostático entre los grupos CaP y HBP.

4.2.2 Después del masaje prostático

El análisis de los compuestos identificados en las muestras obtenidas tras el masaje prostático, mostró diferencias significativas en el furano, 3-metilfenol (m-cresol), p-xileno, fenol y 2-butanona.

Los niveles de furano siguieron siendo ocho veces superiores en pacientes con CaP que en pacientes con HBP ($P < 0,001$). Los niveles de 3-metilfenol (m-cresol) ($p = 0,014$) y p-xileno ($p = 0,002$), fueron cuatro veces más altos en los pacientes del grupo CaP que en los pacientes del grupo HBP, y el fenol ($p < 0,001$) y la 2-butanona ($p = 0,001$) presentaron niveles más de diez veces superiores en los primeros (Figura 44).

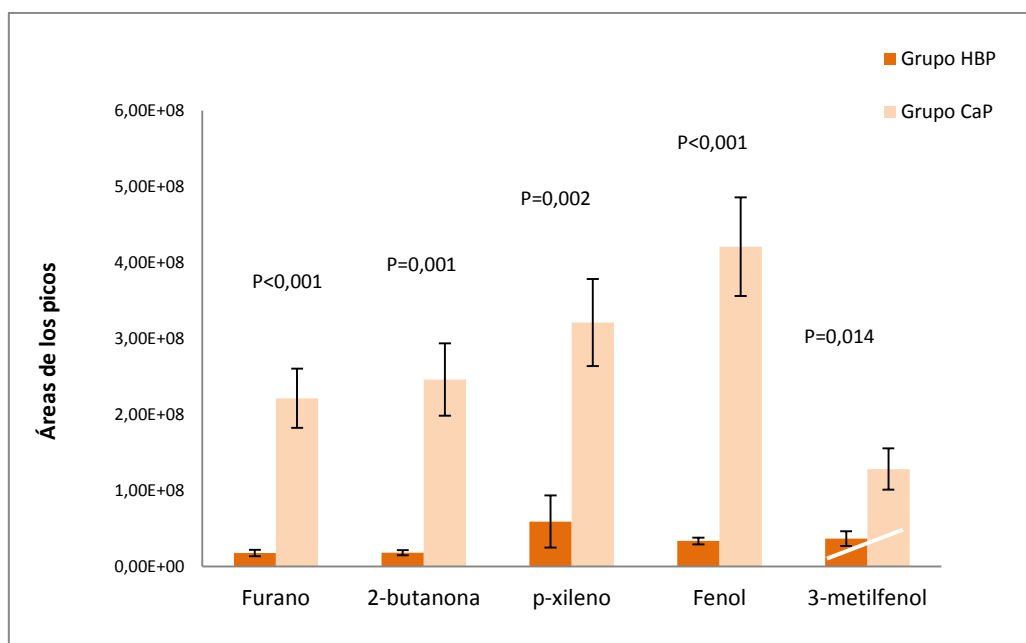


Figura 44. Representación de las diferencias significativas de los compuestos (excepto el furano) entre los pacientes de los grupos CaP y HBP después del masaje prostático. Los valores del 3-metilfenol están divididos entre 10.

Puede observarse que el furano es el único compuesto significativamente mayor en pacientes con CaP, tanto antes como después del masaje prostático. En ambos grupos, los niveles de este compuesto fueron más bajos en el postmasaje en comparación con los niveles obtenidos en el premasaje. En cualquier caso, las diferencias entre pacientes con CaP e HBP fueron proporcionalmente idénticas ($p < 0,001$) (Figura 45).

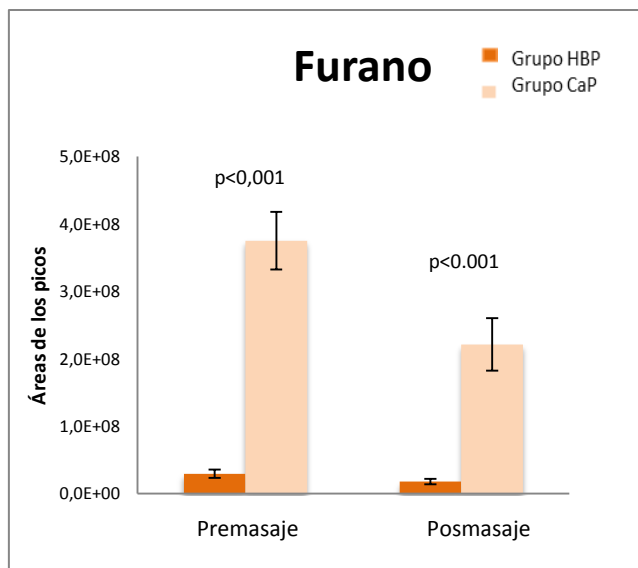


Figura 45. Representación de las diferencias significativas en los niveles de furano entre los pacientes de los grupos CaP y HBP antes y después del masaje.

4.2.3 Correlación entre compuestos orgánicos volátiles y PSA

El índice de correlación de Pearson solo mostró una correlación positiva entre el nivel de p-xileno obtenido en las muestras postmasaje y el valor del PSA en el grupo de pacientes con CaP ($r=0,448$; $p=0,022$) (Figura 46). Para el resto de compuestos, no existió correlación con la variable PSA, ni en el grupo CaP ni en el grupo HBP.

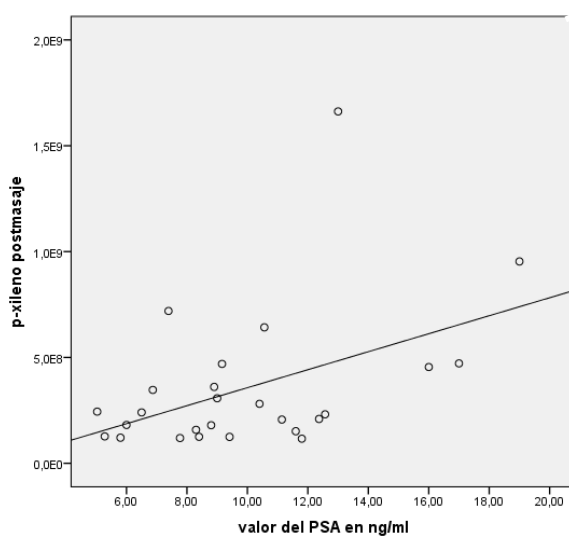


Figura 46. Representación de la correlación entre el PSA y el p-xileno obtenido en las muestras postmasaje en el grupo de pacientes con CaP ($p=0,022$).

4.2.4 Correlación entre compuestos orgánicos volátiles y Grado de Gleason

No se encontró correlación entre el grado de Gleason y los niveles urinarios de furano ni antes ni después del masaje prostático. Sin embargo, los niveles de 3-metilfenol ($p=0,034$), fenol ($p=0,006$), 2-butanona ($p=0,002$) y p-xileno ($p<0,001$) obtenidos en las muestras recogidas después del masaje prostático mostraron una correlación positiva con el grado de Gleason (Figura 47) (Tabla 10).

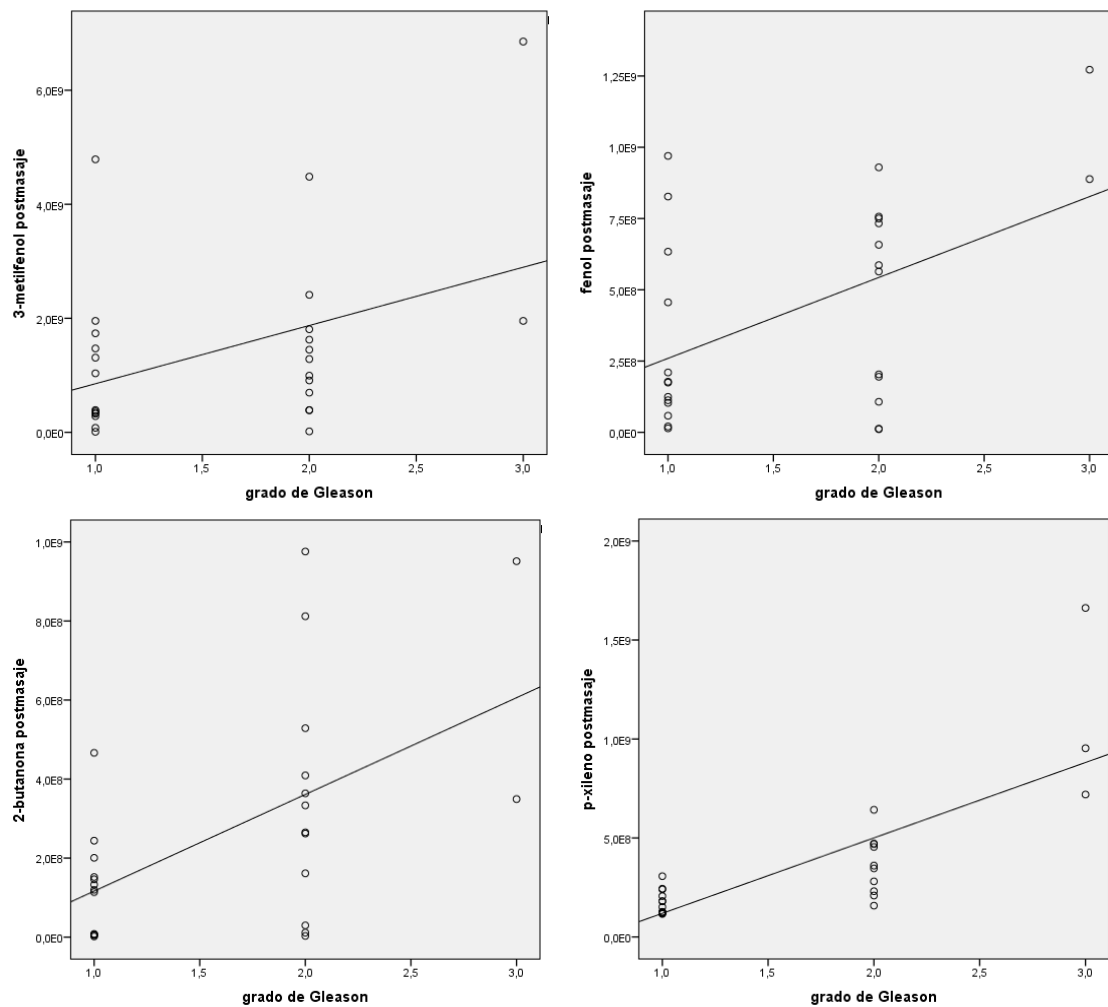


Figura 47. Correlaciones analizadas entre los niveles de 3-metilfenol ($p=0,034$), fenol ($p=0,006$), 2-butanona ($p=0,002$) y p-xileno ($p<0,001$) con el grado de Gleason.

POSTMASAJE					
Grado de Gleason		3-metilfenol	Fenol	2-Butanona	P-xileno
	≤6	1.08X10 ⁹	2.98X10 ⁸	1.23X10 ⁸	1.72X10 ⁸
	7	1.37X10 ⁹	4.85X10 ⁸	3.46X10 ⁸	3.62X10 ⁸
	>7	4.4X10 ⁹	1.08X10 ⁹	6.5X10 ⁸	1.11X10 ⁹
Correlación de Pearson (P-valor)		0.417 (0.034)	0.521 (0.006)	0.587 (0.002)	0.794 (<0,001)

Tabla 10. Correlación entre los valores promedio de los compuestos 3-metilfenol, fenol, 2-butanona y p-xileno y el grado de Gleason. El valor de p se muestra para cada compuesto.

4.2.5 Correlación entre compuestos orgánicos volátiles e IMC

No se encontró correlación positiva entre el IMC y ninguno de los compuestos orgánicos volátiles que fueron diferentes entre ambos grupos, ni antes ni después del masaje prostático, con la excepción de la 2-butanona identificada en las muestras recogidas después del masaje prostático de los pacientes pertenecientes al grupo CaP ($r=0,473$; $p=0,013$) (Figura 48).

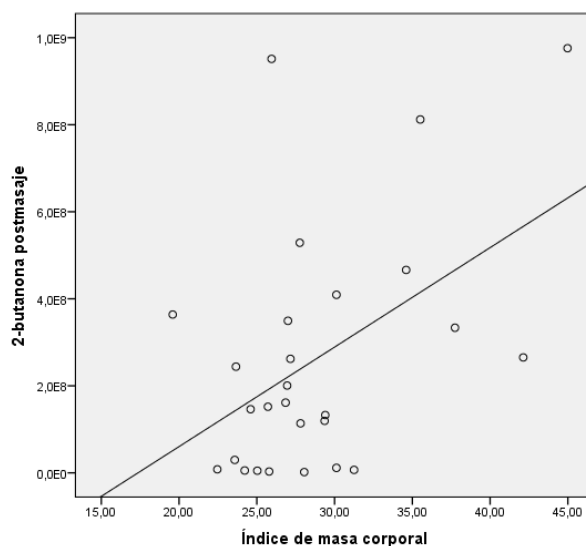


Figura 48. Representación de la correlación entre el IMC y la 2-butanona obtenida en las muestras postmasaje de los pacientes pertenecientes al grupo CaP ($p=0,013$).

5. DISCUSIÓN

5.1 Sobre la Metodología

5.1.1 Diseño del estudio

En el presente estudio, se tomaron dos muestras de orina de cada participante: la primera muestra se obtuvo de la primera orina de la mañana, y la segunda, después de realizarles un masaje prostático, consistente en tres toques en cada lóbulo de la próstata. Según el Instituto de Enfermedades Prostáticas, el masaje prostático aumenta los niveles de PSA (Park et al., 2015) y aumenta el porcentaje de resultados válidos de la prueba PCA3 del 80 al 98% (Chéchile, 2002), por lo que sería posible pensar que el masaje prostático también incrementase los niveles de COVs en la orina.

Por otro lado, nuestro estudio comparó la orina de los pacientes con cáncer con la de aquellos que presentaban hiperplasia benigna prostática. Ciertos estudios relacionados con el cáncer de próstata, también han utilizado, como en nuestro caso, a pacientes con HBP como grupo control (Aydin et al., 2017; X. Wang et al., 2017). Esta elección puede deberse al hecho de que los procesos metabólicos entre las células cancerosas e hipertróficas son diferentes, haciendo que el estudio comparativo de estos pacientes con aquellos que presentan cáncer de próstata sea de gran interés. No obstante, otras investigaciones incluyen también – o en lugar del grupo HBP- un grupo con pacientes cuya próstata es de tamaño normal y sin sintomatología ninguna, al menos para obtener orinas basales de referencia (Kumar et al., 2017; Wu et al., 2018).

5.1.2 Análisis cromatográfico

La cromatografía es considerada generalmente como una técnica de separación, aunque su gran capacidad para separar e identificar muestras complejas ha llevado a utilizarla cada vez más como técnica analítica. Entre las técnicas cromatográficas más utilizadas para la determinación de compuestos volátiles y semivolátiles, la cromatografía de gases es la que se utiliza en más ámbitos de estudio, dada su capacidad y sensibilidad a la hora de distinguir en una mezcla compleja compuestos de características similares (López-González, 2015).

En esta técnica se usa una fase móvil en estado gaseoso para hacer pasar una mezcla de solutos volátiles a través de una columna que contiene la fase estacionaria. De acuerdo con Silva y cols en 2012 (Silva et al., 2012), la fase móvil utilizada fue helio, que es un gas inerte que no interfiere ni interactúa con la muestra, y la columna usada fue HP-INNOWAX® de sílice fundido de 30m x 0,25mm x 0,25µm, utilizada, entre otras cosas, para el análisis de hidrocarburos aromáticos C8 para cromatografía de gases, xilenos, alcoholes, etc (Agilent Technologies). En el presente estudio se utilizó esta columna porque presenta una gran eficacia de separación (Silva et al., 2012). La inyección de las muestras se realizó mediante el sistema “*splitless*”, donde la totalidad de la muestra es dirigida a la columna, cosa que no ocurre con el sistema “*split*”, que divide el flujo que pasa a través de la columna en dos, haciendo que la cantidad de muestra que llega al detector sea más pequeña y dificultando la discriminación entre ciertos componentes de la misma.

De acuerdo también con Silva y cols (Silva et al., 2012), el detector utilizado fue un espectrómetro de masas. La espectrometría de masas presenta una alta especificidad analítica, sirve para trabajar tanto con moléculas pequeñas como grandes y facilita la automatización y miniaturización del equipo (Hauschild et al., 2007). Además, permite medir la masa molecular exacta de la sustancia así como obtener información a partir de fragmentos iónicos de un compuesto. La ionización se llevó a cabo por impacto electrónico, en el que las muestras se bombardean con una corriente de electrones a alta velocidad, fragmentándose. Los fragmentos cargados viajan a lo largo de un cuadrupolo para separarse a nivel molecular (Dart, 2004). Para el análisis de los compuestos en esta Tesis Doctoral, se ha utilizado un analizador triple cuadrupolo, formado por tres cuadrupolos situados de forma secuencial. Esto permite una mayor fragmentación de la muestra y hacer un barrido completo (*full scan*) de los compuestos que forman parte de ella.

La interpretación de los resultados se realizó de acuerdo con la biblioteca de espectros de masa disponible en el Centro de Instrumentación Científica de la Universidad de Granada, que fue el lugar donde se analizaron las muestras. Esta biblioteca fue NIST/NBS, que consta de una colección de electrones ionizados y espectros de masas más un software de búsqueda para identificar sus propios espectros desconocidos.

Esta técnica ha sido especialmente útil en el presente trabajo, ya que permite la identificación directa de cada uno de los compuestos, sin necesidad de recurrir a patrones individualizados de cada uno de los picos detectados, ya que, en un principio, desconocíamos el número y tipo de compuestos que podíamos encontrar. Con las técnicas cromatográficas clásicas, hubiera sido necesario identificar cada uno de los compuestos entre una amplísima gama de posibilidades, representando esto un trabajo muy costoso tanto desde el punto de vista temporal como económico.

En el presente estudio se ha realizado un análisis semicuantitativo de los COVs identificados, tal como se había previsto inicialmente. Una vez identificados los compuestos de interés que presentan diferencias en el CaP, será posible realizar la cuantificación de los mismos. Este estudio se ha iniciado en los pasados meses y será la continuación de la presente tesis doctoral.

5.2 Sobre los Resultados

5.2.1 Sobre la relación entre PSA e IMC con el cáncer de próstata

PSA

Para la detección precoz del CaP, clásicamente se han utilizado técnicas como la determinación del antígeno prostático específico en suero (PSA) entre otras (Raja et al., 2006). En los últimos 20 años, el valor de PSA se ha considerado la mejor herramienta para la detección y monitorización del cáncer de próstata (Ruiz-Aragón and Márquez-Peláez, 2010). Sin embargo,

su baja especificidad, junto con su uso clínico rutinario, genera la necesidad de realizar un gran número de biopsias que pueden resultar innecesarias (Wolf et al., 2010; Neste et al., 2016). Además, se ha visto que ciertas actividades, como el ciclismo, montar a caballo, o una alta actividad sexual, pueden influir en el nivel PSA, aumentándolo (Díaz-Murillo, 2018).

Nuestros resultados muestran un incremento en los valores de PSA tanto en pacientes con CaP ($r=0,422$; $p=0,028$) como en pacientes con HBP ($r= 0,583$; $p= 0,014$), a medida que aumenta el volumen prostático, confirmando resultados obtenidos por otros autores. El PSA es una glucoproteína producida por exclusivamente por el epitelio prostático, y es característica de enfermedad de la glándula prostática, incluido el cáncer de próstata. Por tanto, es lógico pensar que cuanto mayor es el volumen de la próstata, mayor cantidad de antígeno se producirá, tal como confirman otros estudios tanto en cáncer de próstata (Bo et al., 2003), como en hiperplasia benigna de próstata (Carvajal-García, 2014).

Esta glucoproteína (PSA) también se ha relacionado con el grado del tumor de los pacientes con cáncer de próstata a través del sistema de puntuación de Gleason. En este estudio se han establecido tres grados de CaP en función del número de lóbulos afectados: grado 1: puntuación de Gleason menor o igual a 6; grado 2: puntuación igual a 7; y grado 3: puntuación mayor que 7. Así, nuestros datos muestran que existe una correlación positiva entre estas dos variables ($r= 0,468$; $p=0,01$), lo que indica que el valor de PSA es mayor a medida que aumenta la puntuación de Gleason. Ciertos estudios, como el de Shakarchi y cols, encontraron ciertas discrepancias en la relación entre estas dos variables (Shakarchi and Wasfi, 2009), y otros autores, como Gyasi-Sarpong, incluso informaron una relación inversa entre ellas (Gyasi-Sarpong et al., 2008). Sin embargo, existen estudios que, como en este caso, evidencian que un mayor nivel de PSA está relacionado con la presencia de cáncer de próstata avanzado y puede considerarse un marcador fiable de CaP metastásico (Szot et al., 2014).

IMC

Durante la última década, varios estudios epidemiológicos han sugerido que la obesidad está asociada a un mayor riesgo de padecer CaP (Allott et al., 2013), aunque su relación aún no está del todo clara. Tanto la obesidad como el sedentarismo se han relacionado con una mayor agresividad tumoral (Morote et al., 2014).

De todos los parámetros que miden la obesidad, solo el IMC ha demostrado tener relación específica con un mayor riesgo de padecer cáncer de próstata avanzado (Discacciati et al., 2012). Además, ciertos estudios también han demostrado que el IMC está fuertemente relacionado con el riesgo de padecer otros tipos de cáncer en hombres, como el cáncer colorrectal (Sánchez et al., 2014). Estos datos concuerdan con los resultados obtenidos en el presente estudio, en el que todos los pacientes que presentan cáncer de próstata con un grado de Gleason mayor de 7 fueron obesos.

El IMC ha sido un parámetro también muy estudiado en su relación con el PSA. Algunos estudios, al igual que el nuestro, no han encontrado relación entre estas dos variables (Optar et al., 2017), lo que puede explicarse fisiológicamente con la teoría de la hemodilución, que hace referencia a que, en las personas obesas, el volumen plasmático aumenta haciendo que las concentraciones séricas de PSA disminuyan. Este efecto podría ser el responsable de que estas personas tengan un diagnóstico tardío de cáncer de próstata, al enmascarar una concentración de PSA que en un individuo normopeso indicaría la necesidad de profundizar en el diagnóstico o de realizar una biopsia (López-Laur et al., 2011).

5.2.2 Sobre los compuestos orgánicos volátiles

La baja especificidad y alta tasa de falsos positivos del PSA ha llevado a buscar biomarcadores alternativos para el diagnóstico y seguimiento del cáncer de próstata (Van Neste et al., 2016). Un biomarcador ideal debe ser cuantificable en un líquido biológico accesible (por ejemplo,

plasma, orina o líquido prostático), permitiendo reducir el retraso en la obtención de resultados y los costes económicos, y debe ser fácil de interpretar. También debería presentar variaciones mínimas en los resultados entre individuos (Sawyers, 2008).

En base a lo anterior, se han propuesto diferentes biomarcadores alternativos al PSA, como el **PCA3**, útil para evaluar la necesidad de una nueva biopsia en pacientes con alto riesgo de CaP y con primera biopsia negativa, y para detectar recurrencia después de la prostactectomía radical (Day, et al., 2011). El PCA3 presenta una relación controvertida con la agresión tumoral y el valor pronóstico de la enfermedad (Auprich et al., 2011).

Otros marcadores descritos como posibles biomarcadores alternativos al PSA, y que se muestran en el apartado “Diagnóstico del Cáncer de próstata” de la presente tesis doctoral, son la Anexina A3, aunque su valor diagnóstico no ha sido claramente establecido, ya que se desconoce la asociación entre su baja expresión y el grado y estadio patológico de la enfermedad (Ding et al., 2010), o el GSTP1 y el GOLM1, aunque no son específicos de CaP, ya que se ha demostrado que están descritos en otros tipos de cáncer (Byrne et al., 2015).

En los últimos años, los compuestos orgánicos volátiles (COVs), también se han propuesto como biomarcadores alternativos, aunque su desarrollo ha sido menor, dada la complejidad de su análisis (Lima et al., 2018). El interés de la investigación de los COVs como posibles biomarcadores alternativos se inspiró en el hallazgo de que perros entrenados adecuadamente, son capaces de identificar a los pacientes con CaP por el olor de la orina con una sensibilidad del 98,6% y una especificidad del 94,4% (Cornu et al., 2011; Taverna et al., 2015).

Identificación de los compuestos orgánicos volátiles

En el presente estudio, el análisis de las muestras de orina permitió la identificación y semi-cuantificación de 57 compuestos orgánicos volátiles en ambos grupos de estudio. El análisis de

compuestos volátiles en orina no es muy frecuente en la literatura, ya que la mayoría de investigaciones se centran en la valoración del aliento exhalado para su identificación (Ligor et al., 2009; Peng et al., 2010). Además, no se han encontrado estudios que anteriormente hayan identificado una cantidad tan alta de compuestos volátiles urinarios. Hasta donde hemos podido comprobar, la cantidad más alta descrita previamente es de 21 COVs (Khalid et al., 2015).

Una vez identificados los 57 compuestos, se ha tratado de comprobar cuáles presentaban una mayor proporción, prestándose especial atención a los seis más abundantes en los pacientes de ambos grupos tanto antes como después de la realización del masaje prostático. De estos seis compuestos, cuatro (el 3-metilfenol, el dimetil disulfuro, la 4-heptanona y el CO₂) se encontraron en los dos grupos de estudio tanto antes como después del masaje. El **3-metilfenol**, aunque se halle entre los compuestos más abundantes en ambos grupos de estudio, es un metabolito del tolueno que ha sido propuesto por otros autores como biomarcador indicativo de riesgo oncológico (Akdeniz et al., 2013). Esto podría confirmarse también con nuestros resultados obtenidos para este compuesto en el postmasaje. Por otro lado, el **dimetil disulfuro** es un compuesto químico de origen sistémico, junto con la acetona, y es responsable de la halitosis (López-López et al., 2014). Por tanto, sería lógico pensar que se encuentre tanto en personas con CaP como en personas con HBP.

Por su parte, el **CO₂** es un compuesto producido por el propio metabolismo, por lo que también es lógico que se encuentre en ambos grupos de estudio. Además, existen estudios que han identificado CO₂ en el aire exhalado de pacientes con cáncer colorrectal y en el de pacientes del grupo control, sin existir entre ambos diferencias significativas en este compuesto (Ishibe et al., 2018), como ocurre en nuestro caso.

Por último, la **4-heptanona** es una cetona orgánica que se utiliza como aromatizante de alimentos y como disolvente de aceites. Ciertos autores han identificado este compuesto en

personas con cáncer colorrectal (Arasaradnam et al., 2015), e incluso la han llegado a describir como un posible biomarcador de cáncer (Qiao et al., 2015). En nuestro caso, aunque este compuesto se ha hallado entre los compuestos más abundantes en ambos grupos de estudio tanto antes como después del masaje prostático, sus niveles en el premasaje se han quedado cercanos a la significación, presentando niveles superiores en pacientes con CaP. De confirmarse esta significación mediante un aumento del tamaño muestral de los grupos, se podría ratificar en cierto modo lo descrito anteriormente.

Por tanto, la abundancia de estos compuestos en ambos grupos, podría deberse bien a que fuesen compuestos producidos por el propio organismo y no tuviesen un origen prostático; o bien porque fuesen producidos por la próstata y se encontrasen presentes en cualquier tipo de patología prostática. Además no podemos descartar la influencia de factores ambientales, nutricionales, laborales o hábitos como el tabaco, que podría afectar a la presencia de COVs en la orina (Jareño-Esteban et al., 2013).

Diferencias significativas encontradas entre ambos grupos de estudio

En el presente estudio, se encontró que los niveles de **furano** en orina fueron significativamente más altos en pacientes con CaP que en pacientes con HBP, tanto antes ($p < 0,001$) como después ($p < 0,001$) de recibir un masaje prostático. Estos datos coinciden con la observación, previamente descrita, de una mayor concentración de furano en el aire exhalado de pacientes con cáncer de pulmón que en el de pacientes controles sanos (Rudnicka et al., 2014). El furano y sus derivados se consideran poderosas feromonas en hormigas y ácaros, y son responsables, junto con los aceites esenciales, del aroma de algunas plantas (Belardini and Lanzetta, 1983). La cantidad significativamente mayor de furano en la orina de pacientes con CaP sugiere que éste podría ser uno de los compuestos identificados por el olfato de los perros en estos pacientes. Sin embargo, el origen metabólico de este compuesto en la orina humana es controvertido. El furano se produce por la deshidratación natural de los

monosacáridos y la oxidación de algunos ácidos grasos catalizada por lipoxigenasas (Boots et al., 2012). En línea con estos hallazgos, se ha sugerido que los productos volátiles formados por la peroxidación de lípidos pueden ser liberados a la circulación general por células inflamatorias, como resultado del estrés oxidativo o por la actividad de microorganismos que invaden el tejido afectado (Boots et al., 2012). Se ha demostrado que los derivados nitrogenados del furano tienen capacidades antibacterianas y citotóxicas (Monasterios et al., 2006). De hecho, se ha propuesto que el furano producido por el tumor o las células circundantes sanas podría funcionar como un mecanismo de defensa contra el cáncer, ya que se ha demostrado que los furanos de origen bacteriano pueden inducir apoptosis en ciertas líneas celulares tumorales (Pereira et al., 2011).

Nuestros resultados sugieren que el incremento en la liberación de furano podría ser consecuencia de aumento del número de células tumorales prostáticas – no tanto por las células de HBP-, convirtiéndose así en un posible marcador de CaP. El furano es el único compuesto, de los 57 analizados, que mostró niveles diferentes entre ambos grupos de estudio tanto antes como después del masaje prostático. Sin embargo es difícil interpretar nuestros resultados obtenidos después del masaje prostático. En este caso, aunque se mantienen las diferencias entre pacientes con CaP e HBP, los resultados postmasaje muestran niveles menores que en el premasaje, a diferencia de hallazgos descritos por otros autores para PSA y PCA3 (Chéchile, 2002; Park et al., 2015). Nuestros resultados podrían explicarse considerando un posible agotamiento de los mecanismos responsables de la cantidad de furano liberada, de tal forma que a pesar del masaje, la cantidad valorada sería menor en ambos grupos de pacientes.

El resto de compuestos analizados que presentaron diferencias significativas entre pacientes con CaP y HBP no coincidieron en el pre y el postmasaje.

Así, entre las muestras de orina obtenidas **antes del masaje prostático**, los niveles de 2,6-dimetil-7-octen-2-ol ($p=0,003$), 2-etilhexanol ($p=0,032$), 3,5-dimetilbenzaldehído ($p=0,027$) y santolina trieno ($p=0,032$) mostraron niveles significativamente inferiores en pacientes con CaP al compararlos con los niveles de los pacientes con HBP.

El **2,6-dimetil-7-octen-2-ol** también recibe el nombre de dihidromircenol. Se trata de un monoterpenol utilizado ampliamente como ingrediente de fragancias con un olor fuerte a lima (Palitano et al., 2009). Khalid y cols, en 2015 (Khalid et al., 2015), también han descrito niveles más bajos de 2,6-dimetil-7-octen-2-ol en pacientes con CaP al compararlos con pacientes sanos, atribuyéndolo a su uso por las células cancerosas para responder a una mayor demanda de energía, así como su posible conversión en otros compuestos. Por otra parte no hemos encontrado datos en la literatura que relacionen al 2,6-dimetil-7-octen-2-ol con procesos metabólicos en células normales o cancerosas.

Por otro lado, el **2-etilhexanol** es un alcohol graso ramificado que se encuentra en fragancias naturales de plantas y en bebidas alcohólicas. Se han observado niveles reducidos de este compuesto en la sangre de pacientes con otros tipos de cáncer, como el colorrectal, cuando existe una mayor proliferación de células tumorales (Wang et al., 2014). No se ha encontrado bibliografía que relacione este compuesto con el cáncer de próstata.

En cuanto al **3,5-dimetilbenzaldehído**, se trata de un compuesto de la familia de los benzaldehídos, formados por un anillo de benceno con un sustituyente aldehído que pueden sintetizarse por oxidación del tolueno. Es un componente que se encuentra en el aceite extraído de almendras amargas, y que también puede extraerse de ciertas fuentes naturales, como los huesos de albaricoque, cerezas, etc (Arrázola et al., 2014). Los benzaldehídos se usan comúnmente como saborizante alimentario, pero también en la síntesis de otros compuestos orgánicos, como ciertos fármacos (Maloney, 2008). No se ha encontrado relación entre este compuesto y ningún tipo de cáncer, incluido el de próstata.

Por último, la **santolina trieno** es un compuesto que pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como alkatrienos, que son hidrocarburos que contienen tres dobles enlaces carbono-carbono. Se trata de un compuesto natural de las esencias volátiles de las flores (Ramón, 2013). La bibliografía existente sobre este compuesto es muy escasa, y no se ha podido encontrar nada que relacione a este compuesto con la presencia o ausencia de ningún tipo de cáncer.

El hecho de que todos estos compuestos presenten niveles inferiores en pacientes con CaP, podría sugerir su utilización metabólica por parte de las células tumorales y por tanto, su menor presencia en la orina de estos pacientes, aunque como hemos mencionado más arriba, los datos en la literatura sobre su participación en el metabolismo son muy escasos.

Después del masaje prostático, se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos de estudio en el furano ($p \leq 0.001$) –ya descrito- y en cuatro nuevos compuestos: fenol ($p \leq 0.001$), 2-butanona ($p = 0.001$), 3-metilfenol ($p = 0.014$) y p-xileno ($p = 0.002$). En este caso, todos presentaron niveles significativamente superiores en los pacientes con CaP al compararlos con los pacientes con HBP, sugiriendo de nuevo un posible origen tumoral de los mismos, que en este caso se pondría de manifiesto tras el masaje prostático.

Por un lado, el **fenol**, también conocido como ácido fénico, es un compuesto que puede sintetizarse por oxidación parcial del benceno. Se utiliza como desinfectante y antiséptico, se absorbe fácilmente por todas las vías, y la renal es su principal vía de eliminación (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2011). El fenol se encuentra presente en nueces, almendras, pimiento rojo, clavos, pimentón, frijoles, café, cacao, algarrobo, chocolate (Gimeno-Creus, 2004). En relación a su papel en el metabolismo celular se trata de un compuesto mutagénico, que está presente en el aire exhalado de pacientes con cáncer esofagogástrico (Sun et al., 2016), habiéndose propuesto como un posible biomarcador de cáncer en general (Qiao et al., 2015).

También se ha descrito la existencia de niveles de **2-butanona** más altos en el aire exhalado de pacientes con cáncer de pulmón que en individuos sanos (Schumer et al., 2015). La 2-butanona es un compuesto perteneciente a la familia de las cetonas, que se produce en la orina humana normal y tiene un posible origen dietético, ya que se encuentra en ciertas frutas y verduras, como en el pepino (Calero-Consuegra, 2011). Además, la 2-butanona ha sido el único compuesto que se ha relacionado con el IMC en el grupo de pacientes con CaP, aunque no se han encontrado estudios que investiguen a cerca de esta misma relación. Existen numerosas publicaciones que correlacionan cetogénesis, obesidad y diabetes. Los cuerpos cetónicos se producen cuando el organismo procesa triglicéridos, oxidando ácidos grasos, para usarlos como fuente de energía alternativa cuando no hay insulina suficiente o no se responde adecuadamente a la misma. Esto puede dar lugar a una cetoacidosis diabética, por acumulación de cetonas en sangre y como consecuencia en orina. (Guthrie, 2015). Además, el impacto del sobrepeso y la obesidad en la evolución de la diabetes ha sido ampliamente estudiado (Gómez-Huelgas et al., 2015), por lo que sería lógico pensar que pacientes con sobrepeso (IMC superior a 25) pudieran tener más riesgo de padecer diabetes, y por tanto, de acumular, aunque subclínicamente, una mayor cantidad de cetonas en su organismo, detectables por tanto en la orina.

El **3-metilfenol**, que también recibe el nombre de M-cresol, es un metabolito del tolueno, y se usa como solvente para limpieza o desengrasado (National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database, 2018). En relación al posible papel del 3-metilfenol, se ha descrito su presencia en el aire exhalado de pacientes con varios tipos de cáncer, lo que también ha hecho que se proponga como un posible biomarcador de cáncer en general (Sun et al., 2016). Este metabolito ha sido descrito como uno de los compuestos que con mayor frecuencia indica riesgo oncológico (Akdeniz et al., 2013) y, por lo tanto, puede aumentar en pacientes con cáncer (Cormier, 2015), como lo confirman los resultados obtenidos en la presente tesis, después de la estimulación mecánica de la próstata.

Finalmente, se ha demostrado que el **p-xileno** está presente en la orina de pacientes con CaP y también se ha propuesto como un buen biomarcador de cáncer (Sun et al., 2016). El p-xileno es un isómero de xileno, que pertenece a la familia de hidrocarburos aromáticos. El aroma de este compuesto también podría ser uno de los identificados en pacientes con CaP por perros entrenados. El xileno es lipofílico y, por lo tanto, se absorbe rápidamente a través de todas las vías de exposición, distribuyéndose uniformemente entre la sangre y los tejidos (Arana et al., 2010). En los seres humanos, alrededor del 95% del xileno absorbido se metaboliza rápidamente y los metabolitos se excretan en la orina (Arana et al., 2010). La concentración de xileno aumenta con el ejercicio físico (Arana et al., 2010), p.e. el ciclismo, lo que está en consonancia con el aumento de los niveles de este compuesto después de la estimulación prostática en nuestros pacientes con CaP. Además, nuestros datos muestran que el p-xileno correlaciona positivamente con los valores de PSA y el grado de Gleason. El grado de Gleason también correlacionó positivamente con fenol, 2-butanona y 3-metilfenol en las muestras obtenidas después del masaje prostático, pero el único compuesto correlacionado tanto con el grado de Gleason como con los valores de PSA fue el p-xileno, lo que respalda su valor potencial como biomarcador de CaP.

Como se ha comentado anteriormente, el único compuesto que mantiene una diferencia estadística entre los dos grupos de estudio, tanto antes como después del masaje prostático, es el furano. Sin embargo, aunque el resto de compuestos significativamente diferentes entre ambos grupos de estudio no coincide, la mayoría de compuestos analizados sigue la misma tendencia, es decir, antes del masaje prostático, los niveles son superiores en pacientes con HBP, y después del masaje prostático, los niveles superiores se encuentran en los pacientes con CaP. Como puede verse en la tabla 8, algunos de los compuestos que presentaron niveles estadísticamente superiores en pacientes con HBP antes del masaje, como el 2-etilhexanol, la santolina trieno o el 3,5-dimetilbenzaldehído, mostraron niveles superiores en pacientes con cáncer de próstata después del masaje prostático, aunque, en este caso, la diferencia entre

ambos grupos no fue significativa. Además, otros compuestos que presentaron niveles estadísticamente superiores en pacientes con CaP tras el masaje, como el 3-metilfenol, mostraron niveles inferiores, aunque no significativos, en los mismos pacientes antes del masaje al compararlos con los del grupo HBP. Esta misma tendencia, nivel superior en pacientes con HBP antes del masaje y nivel superior en pacientes con CaP después del masaje, también ocurre en otros compuestos que no resultaron significativamente diferentes entre los dos grupos de estudio ni antes ni después del masaje, como el etilbenceno, el 4-metil-2-heptanona o el mentol, que estuvieron cerca de la significación estadística. Esto sugiere que, al igual que masaje prostático hace que aumenten los niveles de PSA (Park et al., 2015), la estimulación prostática podría hacer que se liberasen a la orina células y/o compuestos orgánicos volátiles procedentes de la próstata, y el hecho de que solo algunos hayan sido estadísticamente diferentes entre los dos grupos después del masaje, podría precisamente confirmar su origen prostático.

Por último, es importante destacar que el análisis de las muestras de orina obtenidas en esta investigación, ha permitido identificar compuestos orgánicos volátiles simples de una mezcla compleja. Sin embargo, el olor de una sustancia se suele identificar en el cerebro como una combinación de moléculas diferentes que originan un determinado aroma. Éste es generalmente aprendido de forma previa y asociado a determinados productos: un perfume, una comida, una planta, etc. (López-Mascaraque and Ramón-Alonso, 2017). Por tanto, los perros utilizados por Taverna y cols para identificar la orina de pacientes con CaP (Taverna et al., 2015), es posible que no oliesen un solo compuesto, sino la mezcla de varios de ellos, por lo que el siguiente paso en nuestra línea de investigación debe ser identificar la posible correlación entre los compuestos de interés y ver si la presencia de CaP se debe a uno o varios compuestos.

5.3 Limitaciones y perspectivas futuras

Los resultados presentados en esta tesis doctoral deben entenderse como un *estudio piloto*, necesario para poder avanzar en el análisis de compuestos volátiles como posible biomarcadores del CaP.

La principal limitación de nuestro estudio es que el tamaño de la muestra ha sido relativamente pequeño. Esto ha supuesto que varios compuestos orgánicos volátiles se queden cercanos a la significación siendo posible que, al aumentar el tamaño muestral, sean diferentes entre ambos grupos de estudio. Otra limitación es el uso de métodos semicuantitativos a la hora de analizar los compuestos identificados, aunque este primer paso es necesario, ya que, al inicio del estudio, se desconocía el tipo y el número de compuestos que se podían encontrar en las muestras de orina, por lo que era imposible establecer curvas de calibración cromatográfica para compuestos determinados.

Sin embargo, el análisis de los COVs presenta ciertas ventajas, ya que es un procedimiento simple, económico, cómodo y completamente no invasivo, al contrario que la biopsia de próstata. Por tanto, es necesario seguir profundizando en este tema, incluyendo un aumento el número de muestra y cuantificando los compuestos que han sido diferentes entre los dos grupos de estudio para verificar nuestros resultados. Además, sería conveniente añadir un grupo control, sin sintomatología de próstata, al diseño del estudio para poder establecer si también existen compuestos diferentes entre este grupo y los otros dos ya estudiados.

6. CONCLUSIONES

Primera. Nuestros resultados confirman que un mayor volumen de próstata es indicativo de un mayor nivel de antígeno prostático específico (PSA), tanto en pacientes que presentan hiperplasia benigna de próstata como en los que presentan cáncer de próstata. En estos últimos, el nivel de esta glicoproteína también aumenta a medida que aumenta el grado de la enfermedad establecido en base al grado de Gleason.

Segunda. Los resultados del presente estudio muestran que el IMC aumenta a medida que va aumentando el grado de enfermedad, lo que sugiere que la obesidad se podría considerar un factor de riesgo de padecer cáncer de próstata.

Tercera. El análisis de compuestos volátiles en la orina de pacientes con CaP e HBP es un método sensible, fiable, económico y no invasivo. Es necesario, sin embargo, proceder a la cuantificación de cada compuesto a fin de poder correlacionar cantidades absolutas y cambios metabólicos propios del proceso.

Cuarta. Se han identificado 57 compuestos volátiles en la orina de pacientes con cáncer de próstata e hiperplasia benigna de próstata, aunque solo se ha podido realizar un análisis semicuantitativo-proporcional en esta primera fase de nuestro estudio.

Quinta. Antes del masaje prostático, los seis compuestos más abundantes han sido: el 3-metilfenol, el 2,6-dimetil-7-octen-2-ol, el dimetil disulfuro, la 4-heptanona, el mentol, y el CO₂ en el grupo HBP; y la 4-heptanona, el 3-metilfenol, el dimetil disulfuro, el dimetil estireno, el furano, y el CO₂ en el grupo CaP. Después del masaje prostático, los seis compuestos más abundantes han sido: el dimetil disulfuro, la 4-heptanona, 3-metilfenol, CO₂, acetona, dimetil estireno en el grupo HBP; y el 3-metilfenol, 4-heptanona, mentol, 2,6-dimetil-7-octen-2-ol, dimetil disulfuro, CO₂ en el grupo CaP.

Sexta: El hecho de que el furano haya sido el único compuesto que ha presentado niveles diferentes entre ambos grupos tanto antes como después del masaje prostático, y de que el p-xileno haya sido el único compuesto que ha correlacionado con el PSA y el grado de Gleason, sugiere que ambos compuestos podrían ser marcadores diagnósticos de cáncer de próstata, aunque estimamos necesario el análisis cuantitativo de los mismos para confirmar estos hallazgos.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abid, Z., Cross, A. J., & Sinha, R. (2014). Meat, dairy, and cancer. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 100 Suppl 1(1), 393S. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24847855>
- Abrahamsson, P. (2010). Potential benefits of intermittent androgen suppression therapy in the treatment of prostate cancer: A systematic review of the literature. *European Urology*, 57(1), 49-59. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S0302283809007970>
- Acuña-Tapia, S., Fresco, R., & Acosa-Naranjo, W. (2015). Cambios en la densidad mineral ósea en pacientes que reciben terapia de privación androgénica para el cáncer de próstata. *Rev Méd Urug*, 31(4), 249-258.
- Agilent Technologies. Guía de selección de columnas. Agilent para GC.
- Akdeniz, N., Jacobson, L. D., & Hetchler, B. P. (2013). Health risk assessment of occupational exposure to hazardous volatile organic compounds in swine gestation, farrowing and nursery barns. *Environmental Science. Processes & Impacts*, 15(3), 563-572. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23738354>
- Al Shakarchi, J. A., & Wasfi, D. (2009). Audit of PSA and gleason scoring in prostatic carcinoma. *European Urology Supplements*, 8(8), 567. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S1569905609747773>
- Albertsen PC, Hanley JA, Gleason DF, Barry MJ. (1998). Competing risk analysis of men aged 55 to 74 years at diagnosis managed conservatively for clinically localized prostate cancer. *JAMA*, 280, 975-980.
- Allan, C., et al. (2016). Laparoscopic versus Robotic-Assisted Radical Prostatectomy for the Treatment of Localised Prostate Cancer: A Systematic Review. *Urol Int*, 96, 373.
- Allott, E. H., Masko, E. M., & Freedland, S. J. (2013). Obesity and prostate cancer: Weighing the evidence. *European Urology*, 63(5), 800-809. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S0302283812013449>
- Álvarez-Cubero, M. J. (2012). *Nuevos biomarcadores genéticos para el cáncer de próstata esporádico*. Tesis Doctoral. Departamento de Medicina Legal y Toxicología. Universidad de Granada.
- Anderson, J. (2003). The role of antiandrogen monotherapy in the treatment of prostate cancer. *BJU International*, 91(5), 455-461. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1464-410X.2003.04026.x/abstract>
- Andriole G.L., Catalona W.J. (1993). Using PSA to screening for prostate cancer; The Washington University experience. *Urol Clin North Am*; 20, 647-651.

- Andriole, G.L., et al. (2009). Mortality results from a randomized prostate-cancer screening trial. *N Engl J Med*, 360, 1310-1319.
- Ankerst, D. P., Hoefler, J., Bock, S., Goodman, P. J., Vickers, A., Hernandez, J., Thompson, I. M. (2014). Prostate cancer prevention trial risk calculator 2.0 for the prediction of low- vs high-grade prostate cancer. *Urology*, 83(6), 1362-1368. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S0090429514002490>
- Arana, D., Blanco, C., Caldes, A., Gallego, E., Gomez, J., Martín, P., & Mendez, M. (2010). "Agentes químicos en el ámbito sanitario"
- Arasaradnam, R. P., McFarlane, M. J., Westenbrink, E., Ryan-Fisher, C., Hodges, P., Thomas, M. G., . . . Covington, J. A. (2015). Detection of colorectal cancer (CRC) by urinary volatile organic compound analysis. *PLoS One*, 10(3), e0118975. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25742627>
- Arrázola, G., Grané, N., & Dicenta, F. (2014). Importancia de los glucósidos cianogénicos en el sabor de frutos de almendros (*prunus dulcis miller*) y su incidencia en la agroindustria. *Revista Colombiana De Ciencias Hortícolas*, 8(1), 57-66.
- Arvelo, F., Sojo, F., & Cotte, C. (2016). Contamination, endocrine disruptors and cancer. *Investigación clínica*, 57(1), 77. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27382804>
- Attard, G., Parker, C., Eeles, R. A., Schröder, F., Tomlins, S., Tannock, I., . . . de Bono, J. S. (2016). Prostate cancer. *Lancet, The*, 387(10013), 70-82. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S0140673614619474>
- Auprich, M., Chun, F. K., & Ward, J. F. (2011). Critical assessment of preoperative urinary prostate cancer antigen 3 on the accuracy of prostate cancer staging. *European Urology*, 59, 96-105.
- Aus, G., Abbou, C. C., Bolla, M., Heidenreich, A., Schmid, H., van Poppel, H., . . . Zattoni, F. (2005). EAU guidelines on prostate cancer. *European Urology*, 48(4), 546-551. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0302283805003623>
- Aus G. (2006). Current status of HIFU and cryotherapy in prostate cancer - a review. *Eur Urol*, 50, 927-934.
- Aydin, M., Bozkurt, A., Cikman, A., Gulhan, B., Karabakan, M., Gokce, A., . . . Kara, M. (2017). Lack of evidence of HPV etiology of prostate cancer following radical surgery and higher frequency of the arg/pro genotype in turkish men with prostate cancer. *Int Braz J Urol*, 43, 36-46.
- Azad, A. A., Volik, S. V., Wyatt, A. W., Haegert, A., Le Bihan, S., Bell, R. H., . . . Chi, K. N. (2015). Androgen receptor gene aberrations in circulating cell-free DNA: Biomarkers of

therapeutic resistance in castration-resistant prostate cancer. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 21(10), 2315-2324. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25712683>

Bastian P.J., Carter B.H., Bjartell A., Seitz M., Stanislaus P., Montorsi F., Stief C.G., Schröder F. (2009). Insignificant prostate cancer and active surveillance: from definition to clinical implications. *Eur Urol*, 55(6), 1321-1330.

Belardini, M., & Lanzetta, R. (1983). A facile synthesis of dendrolasin. *Journal of Natural Products*, 46(4), 481-482.

Bianchi, C. (2011). *Fisiología de los sentidos químicos: Gusto y olfato*. Facultad de Ciencias Veterinarias UNCPBA, Buenos Aires, Argentina.

Bill-Axelsson, A., Holmberg, L., Garmo, H., Rider, J. R., Taari, K., Busch, C., . . . Johansson, J. (2014). Radical prostatectomy or watchful waiting in early prostate cancer. *The New England Journal of Medicine*, 370(10), 932. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24597866>

Bo, M., Ventura, M., Marinello, R., Capello, S., Casetta, G., & Fabris, F. (2003). Relationship between prostatic specific antigen (PSA) and volume of the prostate in the benign prostatic hyperplasia in the elderly. *Critical Reviews in Oncology and Hematology*, 47(3), 207-211. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1040842803000945>

Boccon-Gibod, L., van der Meulen, E., & Persson, B. (2011). *An update on the use of gonadotropin-releasing hormone antagonists in prostate cancer*. London, England: SAGE Publications.10.1177/1756287211414457 Retrieved from <http://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/1756287211414457>

Bolaños, P., & Chacón, C. (2017). *Escala patológica de gleason para el cáncer de próstata y sus modificaciones*. Medicina Legal de Costa Rica - Edición Virtual. 34(1). ISSN 1409-0015.

Bolduc, S. et al. (2007). Urinary PSA: a potential useful marker when serum PSA is between 2.5 ng/mL and 10 ng/mL. *Can. Urol. Assoc. J.*, 1, 377–381.

Boniface, M. K., & Jameela, H. (2011). Comparative morphometry of the olfactory bulb, tract and stria in the human, dog and goat. *International Journal of Morphology*, 29(3), 939-946.

Bonis J. (2010). Cribado de cáncer poblacional. *AMF*, 6, 480-486.

Boots, A. W., van Berkel, J J B N, Dallinga, J. W., Smolinska, A. M., Wouters, E. F. M., & van Schooten, F. J. (2012). The versatile use of exhaled volatile organic compounds in human health and disease. *Journal of Breath Research*, 6(2), 027108. 10.1088/1752-7155/6/2/027108 Retrieved from

<http://www.narcis.nl/publication/RecordID/oai:cris.maastrichtuniversity.nl:publications%2F2d9f6f35-29ed-438c-8ba1-7ab861aa2764>

- Bostwick D.G., Grignon D.J., Hammond M.E., Amin M.B., Cohen M., Crawford D., Gospodarowicz M., Kaplan R.S., Miller D.S., Montironi R., Pajak T.F., Pollack A., Srigley J.R., Yarbro J.W. (2000). Prognostic factors in prostate cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med*, 124(7), 995-1000.
- Bostwick, D. G., Burke, H. B., Djakiew, D., Euling, S., Ho, S., Landolph, J., . . . Timms, B. (2004). Human prostate cancer risk factors. *Cancer*, 101(S10), 2371-2490. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cncr.20408/abstract>
- Bray, F., Lortet-Tieulent, J., Ferlay, J., Forman, D., & Auvinen, A. (2010). Prostate cancer incidence and mortality trends in 37 european countries: An overview. *European Journal of Cancer*, 46(17), 3040-3052. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S0959804910008786>
- Breed, M. D., & Moore, J. (2016). *Animal behavior* (2^a ed.). London: Academic Press, an imprint of Elsevier.
- Bruel, Christensen, Tranum-Jensen, & Qvortrup-Geneser. (2014). *Geneser histología* (4^a ed.) Panamericana.
- Bryant, R.J., et al. (2015). Predicting high-grade cancer at ten-core prostate biopsy using four kallikrein markers measured in blood in the ProtecT study. *J Natl Cancer Inst*, 107.
- Bussemakers M.J., van Bokhoven A., Verhaegh G.W., et al. (1999). DD3: a new prostate specific gene, highly overexpressed in prostate cancer. *Cancer Res* 59, 5975–5979.
- Buszewski, B., Ligor, T., Jezierski, T., Wenda-Piesik, A., Walczak, M., & Rudnicka, J. (2012). Identification of volatile lung cancer markers by gas chromatography–mass spectrometry: Comparison with discrimination by canines. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 404(1), 141-146. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22660158>
- Byrne, A. M., Bekiaris, S., Duggan, G., Prichard, D., Kirca, M., Finn, S., . . . Long, A. (2015). Golgi phosphoprotein 2 (GOLPH2) is a novel bile acid-responsive modulator of oesophageal cell migration and invasion. *The British Journal of Cancer*, 113(9), 1332. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26461057>
- Calero-Consuegra, D. L. (2011). *Estudio de la naturaleza química de los compuestos volátiles de aromas: Identificación de aquellos presentes en varias especies frutales endémicas del ecuador*. Maestría en tecnologías para el aprovechamiento de los recursos naturales no tradicionales. Universidad politécnica Salesiana, Sede Quito.

- Campbell, L. F., Farmery, L., George, S. M. C., & Farrant, P. B. J. (2013). Canine olfactory detection of malignant melanoma. *BMJ Case Reports*, 201310.1136/bcr-2013-008566 Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24127369>
- Carns P., et al. (2001). Molecular detection of prostate cancer in urine by GSTP1 hypermethylation. *Clin. Cancer Res*; 7, 2727–2730.
- Carretero-Colomer, M. (2005). Síntomas del tacto urinario inferior: Nuevas perspectivas en el tratamiento farmacológico de la HBP. *Offarm: Farmacia Y Sociedad*, 24, 118-122.
- Carroll P. (2001). Serum prostate specific antigen for prostate cancer early detection: total, free, age stratified, or complexed? *Urology*; 57; 591-593.
- Carter, H.B., et al. (1992). Longitudinal evaluation of prostate-specific antigen levels in men with and without prostate disease. *JAMA*. 267, 2215.
- Carter, B. S., Bova, G. S., Beaty, T. H., Steinberg, G. D., Childs, B., Isaacs, W. B., & Walsh, P. C. (1993). Hereditary prostate cancer: Epidemiologic and clinical features. *The Journal of Urology*, 150(3), 797. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8345587>
- Carter H.B., Epstein J.I. (1997). Prediction of significant cancer in men with stage T1c adenocarcinoma of the prostate. *World J Urol*; 15, 359.
- Carter, H.B., et al. (2013). Early detection of prostate cancer: AUA Guideline. *J Urol*, 190, 419.
- Carvalho, G.F., et al. (1999). Digital rectal examination for detecting prostate cancer at prostate specific antigen levels of 4 ng./ml. or less. *J Urol*, 161, 835.
- Carvajal García, R. (2014). *Relación entre el antígeno prostático específico y la hiperplasia prostática benigna en pacientes mexicanos. estudio REPSA*//doi.org/10.1016/j.uromx.2014.10.006 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2007408514000299>
- Castelo-Branco, P., PhD, Choufani, S., PhD, Mack, S., BSc, Gallagher, D., PhD, Zhang, C., MSc, Lipman, T., MSc, . . . Tabori, U., Dr. (2013). Methylation of the TERT promoter and risk stratification of childhood brain tumours: An integrative genomic and molecular study. *Lancet Oncology, The*, 14(6), 534-542.
- Castro, E., Goh, C., Olmos, D., Saunders, E., Leongamornlert, D., Tymrakiewicz, M., . . . Eeles, R. (2013). Germline BRCA mutations are associated with higher risk of nodal involvement, distant metastasis, and poor survival outcomes in prostate cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 31(14), 1748-1757. Retrieved from <http://jco.ascopubs.org/content/31/14/1748.abstract>

- Catalona W.J., Smith D.S., Ratliff T.L., Dodds K.M., Coplen D.E., Yuan J.J., et al. (1991). Measurement of prostate-specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer. *N Engl J Med*, 324, 1156-1161.
- Catalona W.J., Richie J.P., Ahmann F.R., et al. (1994). Comparison of digital rectal examination and serum prostate specific antigen in the early detection of prostate cancer: results of a multicenter clinical trial of 6,630 men. *J Urol*, 151(5), 1283.
- Catalona W.J., Partin A.W., Slawin K.M., Brawer M.K., Flanigan R.C., Patel A., et al. (1998). Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: A prospective multicenter clinical trial. *JAMA*, 279, 1542-1547.
- Celmaa, A., Serviána, P., Planasa, J., Placera, J., Quilezb, M. T., Arbósb, M. A., . . . Morote, J. (2014). Significado clínico de la atrofia proliferativa inflamatoria en la biopsia prostática. *Actas Urol Esp*, 38(2), 122-126.
- Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Madrid, España, 2015.
- Chéchile, G. E. (2002). Instituto virtual de urología. Retrieved from http://www.urovirtual.net/lo_que_debe_saber/cancer_de_prostata/nueva_prueba_diagnostica_para_el_cancer_de_prostata.
- Chen, N., & Zhou, Q. (2016). The evolving Gleason grading system. *Chin J Cancer Res*, 28(1), 58-64. Retrieved from <http://lib.cqvip.com/qk/85190X/201601/668266232.html>
- Chodak G.W., Thisted R.A., Gerber G.S., Johansson J.E., Adolfsson J., Jones G.W., Chisholm G.D., Moskovitz B., Livne P.M., Warner J. (1994). Results of conservative management of clinically localized prostate cancer. *N Engl J Med*, 330, 242-248.
- Ceylan C., Tonyali S., Keles I. (2016). Impact of positive surgical margin on biochemical recurrence following radical prostatectomy in locally advanced prostate cancer. *Kaohsiung J Med Sci*, 32(10), 514-517.
- Chiou C.C., et al. (2003). Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine and its analogs as DNA marker of oxidative stress: development of an ELISA and measurement in both bladder and prostate cancers. *Clin. Chim. Acta*; 334, 87-94.
- Chou, R., et al. (2011). Screening for prostate cancer: a review of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med*, 155, 762.
- Choyke, P.L., Pinto, P.A., & Turkbey, B. (2009). Imaging techniques for prostate cancer: Implications for focal therapy. *Nature Reviews Urology*, 6(4), 191-203. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1038/nrurol.2009.27>

- Chu M.T. (1997). Prostate-specific antigen and early detection of prostate cancer. *Tumor Biol*; 18: 123-134.
- Church, J., & Williams, H. (2001). Another sniffer dog for the clinic? *The Lancet*, 358(9285), 930. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673601060652>
- Cohen, R. J., McNeal, J. E., & Baillie, T. (2000). Patterns of differentiation and proliferation in intraductal carcinoma of the prostate: Significance for cancer progression. *The Prostate*, 43(1), 11-19. Retrieved from [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1097-0045\(20000401\)43:13.0.CO;2-B/abstract](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1097-0045(20000401)43:13.0.CO;2-B/abstract)
- Coren S., & Hodgson, S. (2010). *Entiende a tu perro para dummies*. Barcelona: Parramon Ediciones, SA.
- Cormier, J. (2015). *Method and apparatus for non-invasive detection of conditions such as lung cancer* United States Patent Application. Retrieved from US 2015/0335266 A1.
- Cornu, J., Cancel-Tassin, G., Ondet, V., Girardet, C., & Cussenot, O. (2011). Olfactory detection of prostate cancer by dogs sniffing urine: A step forward in early diagnosis. *European Urology*, 59(2), 197-201. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S0302283810009449>
- Cornud F., Flam T., Chauveinc L., Hamida K., Chrétien Y., Vieillefond A., et al. (2002). Extraprostatic spread of clinically localized prostate cancer: factors predictive of pT3 tumor and of positive endorectal MR imaging examination results. *Radiology*; 224(1), 203-210.
- Cózar, J.M., Miñana, B., Gómez-Veiga, F., Rodríguez-Antolín, A., Villavicencio, H., Cantalapiedra, A., & Pedrosa, E. (2013). Registro nacional de cáncer de próstata en España. *Actas Urológicas Españolas*, 37(1), 12-19. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S0210480612002501>
- Craven, B. A. (2008). *A fundamental study of the anatomy, aerodynamics, and transport phenomena of canine olfaction* Available from Dissertations & Theses Europe Full Text: Science & Technology. Retrieved from <https://search.proquest.com/docview/304495817>
- Critz, F. A., Benton, J. B., Shrake, P., & Merlin, M. L. (2013). 25-year disease-free survival rate after irradiation for prostate cancer calculated with the prostate specific antigen definition of recurrence used for radical prostatectomy. *Journal of Urology*, The, 189(3), 878-883. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S0022534712053426>
- D'Amico A.V., Whittington R., Malkowicz S.B., Schultz D., Blank K., Broderick G.A., Tomaszewski J.E., Renshaw A.A., Kaplan I., Beard C.J., Wein A. (1998). Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy

for clinically localized prostate cancer. *JAMA*, 280(11), 969-74. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9749478>

Dart, R. (2004). *Medical toxicology* (3^a ed.) Lippincott Williams and Wilkins.

Davison B.J., So A.I., Goldenberg S.L. (2007). Quality of life, sexual function and decisional regret at 1 year after surgical treatment for localized prostate cancer. *BJU Int*, 100(4), 780-785.

Day, J. R., Jost, M., Reynolds, A., Groskopf, J., & Rittenhouse, H. (2011). PCA3: From basic molecular science to the clinical lab. *Cancer Letters*, 301, 1-6.

De la Calle, C., et al. (2015). Multicenter Evaluation of the Prostate Health Index to Detect Aggressive Prostate Cancer in Biopsy Naive Men. *J Urol*, 194, 65.

De Marzo, A. M., Nelson, W. G., Grönberg, H., Nakai, Y., Isaacs, W. B., Xu, J., . . . Drake, C. G. (2007). Inflammation in prostate carcinogenesis. *Nature Reviews Cancer*, 7(4), 256-269. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1038/nrc2090>

De Rooij M., Hamoen E.H., Witjes J.A., Barentsz J.O., Rovers M.M. (2016). Accuracy of Magnetic Resonance Imaging for Local Staging of Prostate Cancer: A Diagnostic Meta-analysis. *Eur Urol.*, 70(2), 233-245.

Dearnaley D.P., Sydes M.R., Graham J.D., Aird E.G., Bottomley D., Cowan R.A., Huddart R.A., Jose C.C., Matthews J.H., Millar J., Moore A.R., Morgan R.C., Russell J.M., Scrase C.D., Stephens R.J., Syndikus I., Parmar M.K. (2007). Escalated-dose versus standard-dose conformal radiotherapy in prostate cancer: first results from the MRC RT01 randomised controlled trial. *Lancet Oncol.*, 8(6), 475-487.

Del Re, M., Biasco, E., Crucitta, S., Derosa, L., Rofi, E., Orlandini, C., . . . Danesi, R. (2017). The detection of androgen receptor splice variant 7 in plasma-derived exosomal RNA strongly predicts resistance to hormonal therapy in metastatic prostate cancer patients. *European Urology*, 71(4), 680-687. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S0302283816304791>

Delahunt, B., Miller, R. J., Srigley, J. R., Evans, A. J., & Samaratunga, H. (2012). Gleason grading: Past, present and future. *Histopathology*, 60(1), 75-86. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2559.2011.04003.x/abstract>

Delongchamps, N. B., de la Roza, G., Jones, R., Jumbelic, M., & Haas, G. P. (2009). Saturation biopsies on autopsied prostates for detecting and characterizing prostate cancer. *BJU International*, 103(1), 49-54. Retrieved from <http://www.ingentaconnect.com/content/bsc/bju/2009/00000103/00000001/art00012>

Devita, V., Lawrence, T., & Rosenberg, S. (2015). *Hellman and Rosenberg's cancer principles, practice of oncology* (10^a ed.). USA: Wolters Kluwer Health.

- Dhanasekaran, S. M. et al. (2001). Delineation of prognostic biomarkers in prostate cancer. *Nature*, 412, 822–826.
- Diamandis E.P., Yu H. (1997). Nonprostatic sources of prostate-specific antigen. *Urol Clin North Am*, 24, 275-282.
- Diaz-Murillo, G.E. (2018). Antígeno prostático específico. Retrieved from <http://drgdiaz.com/eco/prostata/psa.shtml>
- Dickinson, S. I. (2010). Premalignant and malignant prostate lesions: Pathologic review. *Cancer Control: Journal of the Moffitt Cancer Center*, 17(4), 214. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20861809>
- Ding, T., YanYan, L., Yin Huai Wan, Y., Yuan, J. B., Chen, T. G., & Cai, X. J. (2010). Down-regulation of annexin II in prostate cancer is associated with gleason score, recurrence, metastasis and poor prognosis. *Molecular Medicine Reports*, 3, 381-387.
- Directiva 1999/13/CE del Consejo. (1999). *DIRECTIVA 1999/13/CE DEL CONSEJO de 11 de marzo de 1999 relativa a la limitación de las emisiones de compuestos orgánicos volátiles debidas al uso de disolventes orgánicos en determinadas actividades e instalaciones.*
- Discacciati, A., Orisini, N., & Wolk, A. (2012). Body mass index and incidence of localized and advanced prostate cancer: A dose-response-meta-analysis of prospective studies. *Ann Oncol*, 23(7), 1665-1671.
- Dong F., Kattan M.W., Steyerberg E.W., Jones J.S., Stephenson A.J., Schröder F.H., Klein E.A. (2008). Validation of pretreatment nomograms for predicting indolent prostate cancer: efficacy in contemporary urological practice. *J Urol*, 180(1), 150-154.
- Donovan, J., et al. (2003). Prostate Testing for Cancer and Treatment (ProtecT) feasibility study. *Health Technol Assess*. 7, 1.
- Eichler K., Hempel S., Wilby J., Myers L., Bachmann L.M., Kleijnen J. (2006). Diagnostic value of systematic biopsy methods in the investigation of prostate cancer: a systematic review. *J Urol*, 175(5), 1605-1612.
- Ekman, P. (2000). The prostate as an endocrine organ: Androgens and estrogens. *The Prostate*, 45(S10), 14-18. Retrieved from [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1097-0045\(2000\)45:10+3.0.CO;2-7/abstract](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1097-0045(2000)45:10+3.0.CO;2-7/abstract)
- Ellegala, D. B., Leong-Poi, H., Carpenter, J. E., Klibanov, A. L., Kaul, S., Shaffrey, M. E., . . . Lindner, J. R. (2013). Imaging tumor angiogenesis with contrast ultrasound and microbubbles targeted to alpha(v)beta3. *Circulation*, 108(3), 336. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12835208>

- Epstein, J. (2015). *Biopsy interpretation of the prostate* (4^a ed.). Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
- Etzioni, R., et al. (2013) Limitations of basing screening policies on screening trials: The US Preventive Services Task Force and Prostate Cancer Screening. *Med Care*. 51, 295.
- Evangelista, L., et al. (2013). Choline PET or PET/CT and biochemical relapse of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Clin Nucl Med*, 38, 305.
- Fair, W. R., & Parrish, R. F. (1981). Antibacterial substances in prostatic fluid. *Progress in Clinical and Biological Research*, 75A, 247. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7041133>
- Fanti, M. F. (2012). *El uso del doppler-color potenciado transrectal como guía para la punción biopsia prostática* (1^a ed.) Síntesis.
- Fanti, S., et al. (2016) PET/CT with (11)C-choline for evaluation of prostate cancer patients with biochemical recurrence: meta-analysis and critical review of available data. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 43, 55.
- Ferlay, J., Soejomatarum, I., Ervik, M., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., . . . Bray, F. (2013). *GLOBOCAN 2012, cancer incidence and mortality worldwide: IARC CancerBase no. 11*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer: Retrieved from <http://globocan.iarc.fr>.
- Fernández-Arjona, M., & Pereira-Sanz, I. (2008). Hiperplasia benigna de próstata: Una afección de elevada prevalencia en el paciente de edad avanzada. *Revista Española De Geriatría Y Gerontología*, 43(1), 44-51.
- Fernández-Serra A., Rubio-Briones J., Garcia-Casado Z., Solsona E., López-Guerrero J.A. (2011). Cáncer de próstata: la revolución de los genes de fusión. *Actas Urol Esp*, 35, 420-428.
- Figueroa, C., & Jampierre, F. (2015). *Terapia de supresión androgénica como factor de riesgo para síndrome metabólico en pacientes con cáncer de próstata*. Proyecto de tesis para optar al título de médico cirujano. Universidad Privada Antenor Orrego.
- Figueroa J.E. y Dávila M.M. (2004). Química física del ambiente y de los procesos ambientales. *Reverté* 212.
- Fischer M., Visser A., Voerman B., et al. (2006). Treatment decision making in prostate cancer: patients' participation in complex decisions. *Patient Educ Couns*, 63(3), 308– 313.
- Fleischhacker, M., & Schmidt, B. (2007). Circulating nucleic acids (CNAs) and cancer—A survey. *BBA - Reviews on Cancer*, 1775(1), 181-232. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304419X0600059X>

- Freedland S.J., Terris M.K., Csathy G.S., Kane C.J., Amling C.L., Presti J.C. Jr, Dorey F., Aronson W.J. (2004). Search Database Study Group. Preoperative model for predicting prostate specific antigen recurrence after radical prostatectomy using percent of biopsy tissue with cancer, biopsy Gleason grade and serum prostate specific antigen. *J Urol*, 171, 2215-2220.
- Fuccio, C., et al. (2012). Role of 11C-choline PET/CT in the re-staging of prostate cancer patients with biochemical relapse and negative results at bone scintigraphy. *Eur J Radiol*, 81: e893.
- Futterer, J.J., et al. (2015). Can Clinically Significant Prostate Cancer Be Detected with Multiparametric Magnetic Resonance Imaging? A Systematic Review of the Literature. *Eur Urol*, 68: 1045.
- García, J., Martín, M. P., Aguayo, M. P., Astillero, J. M., Cañizares, G., & Galiana, A. (2010). Disfunción eréctil tras prostactectomía radical. guía de información de enfermería. *Asoc Esp Enf Urol*, 116.
- García, O., Guzmán, Y., Mendoza, R., Muñoz, O., & Sánchez, S. (2010). *El fascinante mundo de los olores*. Universidad de Veracruzana: Revista de divulgación científica y tecnológica.
- Geneser, F. H. (2001). *Histología* (3ª ed.). España: Médica Panamericana.
- Gimeno Creus, E. (2004). Compuestos fenólicos. *Offarm: Farmacia Y Sociedad*, 23(6), 80-84.
- Girarder, C., Cornu, J. N., & Cussenor, O. (2012). Olfactory detection of prostate cancer by dogs. in: Selected abstracts from the 2011 international working dog conference. *Journal of Veterinary Behavior*, 7, 55-58.
- Gleason, D. F. (1977). The veteran's administration cooperative urologic research group: Histologic grading and clinical staging of prostatic carcinoma. in tannenbaum M urologic pathology: The prostate. lea and febiger, philadelphia., 171-198.
- Gleason, D. F., & Mellinger, G. T. (2016). Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging. *Journal of Urology*, The, 197(2), S139. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S0022534716316524>
- Goessl, C. et al. (2001). DNA-based detection of prostate cancer in urine after prostatic massage. *Urology*; 58, 335–338.
- Gómez Huelgas, R., Gómez Peralta, F., Carrillo Fernández, L., Galve, E., Casanueva, F. F., Puig Domingo, M., . . . Álvarez Guisasola, F. (2015). *Hacia un manejo integral del paciente con diabetes y obesidad. Posicionamiento de la SEMI, SED, redGDPS, SEC, SEEDO, SEEN, SEMERGEN y SEMFYC* doi.org/10.1016/j.rce.2015.07.003 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014256515001940>

- Gómez, E., & Serrano, B. (2016). *Urología básica para estudiantes de medicina*. Universidad Nacional de Loja, Ecuador.
- Gómez, E., Soto, J., Ortiz, M., Fumadó, L., López, P. A., Chantada, V., . . . Campá, J. M. (2016). Programa de monitorización de la vigilancia activa en cáncer de próstata en España de la Sociedad Española de Urología; resultados preliminares. *Actas Urológicas Españolas*, 40(40), 3-10. Retrieved from <https://medes.com/publication/106639>
- Gonzalzo, M. L., Pavlovich, C. P., Lee, S. M. & Nelson, w. G. (2003). Prostate cancer detection by GSTP1 methylation analysis of postbiopsy urine specimens. *Clin. Cancer Res*, 9, 2673–2677.
- Gosselaar, C., et al. (2008). The role of the digital rectal examination in subsequent screening visits in the European randomized study of screening for prostate cancer (ERSPC), Rotterdam. *Eur Urol*, 54, 581.
- Graves, H. C., Sensabaugh, G. F. & Blake, E. T. (1985). Postcoital detection of a male-specific semen protein. Application to the investigation of rape. *N. Engl. J. Med*, 312, 338–343.
- Gretzer, M. B., & Partin, A. W. (2008). *Marcadores tumorales del cáncer de próstata*. *Campbell-Walsh Urología*. Ed. Panamericana (9ª ed).
- Grossmann, M., Cheung, A. S., & Zajac, J. D. (2013). Androgens and prostate cancer; pathogenesis and deprivation therapy. *Best Practice & Research: Clinical Endocrinology & Metabolism*, 27(4), 603-616. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S1521690X1300047X>
- Gugliemetti, G., Sukhu, R., Conca, M. A., Meeks, J., Sjoberg, D. D., Eastham, J. A., . . . Touijer, K. (2016). Number of metastatic lymph nodes as determinant of outcome after salvage radical prostatectomy for radiation-recurrent prostate cancer. *Actas Urol Esp*, 40, 434-439.
- Guía Europea de Urología. (2012). European association of urology guidelines, 80-94.
- Guo, C.C., & Epstein, J.I. (2006). Intraductal carcinoma of the prostate on needle biopsy: Histologic features and clinical significance. *Modern Pathology*, 19(12), 1528-1535. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1038/modpathol.3800702>
- Guthrie, G. (2015). *Diccionario de la diabetes: Lo que toda persona con diabetes debe saber* (2ª ed.) American Diabetes Association.
- Gyasi-Sarpong, K., Boateng, K., Aboah, K., Opoku, P., & Adu-Gyamfi, M. (2008). Correlation of pre-operative prostate specific antigen (PSA) with gleason grading in prostate cancer diagnosis. *Urology*, 72(5), S123. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S0090429508013046>

- Haick, H., Adams, O., Hakim, M., Abdah-Bortnyak, R., Kuten, A., Tisch, U., . . . Peng, G. (2009). Diagnosing lung cancer in exhaled breath using gold nanoparticles. *Nature Nanotechnology*, 4(10), 669-673. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1038/nnano.2009.235>
- Hall, J. E. (2016). *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica* (13ª ed.). Barcelona: Elsevier Health Sciences Spain. Retrieved from [http://ebookcentral.proquest.com/lib/\[SITE_ID\]/detail.action?docID=4508106](http://ebookcentral.proquest.com/lib/[SITE_ID]/detail.action?docID=4508106)
- Handa, H., Usuba, A., Maddula, S., Baumbach, J. I., Mineshita, M., & Miyazawa, T. (2014). Exhaled breath analysis for lung cancer detection using ion mobility spectrometry. *PLoS One*, 9(12), e114555. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25490772>
- Hara M., Koyanagi Y., Inoue T., Fukuyama T. (1971). Some physico-chemical characteristics of “-seminoprotein”, an antigenic component specific for human seminal plasma. Forensic immunological study of body fluids and secretion. VII. *Nihon Hoigaku Zasshi*, 25, 322-324.
- Hauschild, J. P., Wapelhorst, E., & Müller, J. (2007). Mass spectra measured by a fully integrated MEMS mass spectrometer. *International Journal of Mass Spectrometry*, 264, 53-60.
- Hayes, J. H., & Barry, M. J. (2014). Screening for prostate cancer with the prostate-specific antigen test: A review of current evidence. *Jama*, 311(11), 1143-1149. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2014.2085>
- Heidenreich, A. (2008). Identification of high-risk prostate cancer: role of prostate-specific antigen, PSA doubling time, and PSA velocity. *Eur Urol*, 54, 976.
- Heidenreich, A., Semrau, R., Thüer, D., & Pfister, D. (2008). Radical salvage prostatectomy : Treatment of local recurrence of prostate cancer after radiotherapy. *Der Urologe. Ausg. A*, 47(11), 1441. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18806991>
- Heidenreich A., Aus G., Bolla M., Joniau S., Matveev V.B., Schmid H.P., Zattoni F. (2009). Guía de la EAU para el Cáncer de Próstata. *Actas Esp Urol*, 2009, 32(2), 113-126.
- Heidenreich, A., Bastian, P. J., Bellmunt, J., Bolla, M., Joniau, S., van der Kwast, T., . . . Mottet, N. (2014). EAU guidelines on prostate cancer. part 1: Screening, diagnosis, and local treatment with curative Intent—Update 2013. *European Urology*, 65(1), 124-137. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S0302283813010403>
- Hernández Pinzón J., Ferrarotti C., Ferrari L., Mena D., Larrañaga N., Gallo J.C., Bastianello M. (2016). Prostate cancer: concordance between 18F-choline PET and CT in biochemical relapse. *Rev Argent Radiol*, 80(4), 241-251.
- Herrero, A., & García-Foncillas, J. (2017). Liquid biopsy in colorectal cancer. *Revisiónes En Cáncer*, 31, 3.

- Hessels, D. et al. (2007). Detection of TMPRSS2-ERG fusion transcripts and prostate cancer antigen 3 in urinary sediments may improve diagnosis of prostate cancer. *Clin. Cancer Res*, 13, 5103–5108.
- Hoboken, N. J., & Wiley-Blackwell. (2017). *TNM classification of malignant tumors. UICC international union against cancer (7th ed.)* Gospodariwicz M, Brierley JD, Wittekind C, editors.
- Hodge K.K., McNeal J.E., Terris M.K., Stamey T.A. (1989). Random systematic versus directed ultrasound guided transrectal core biopsies of the prostate *J Urol*, 142, 71-74.
- Hong, Y., Huang, Y., Lee, I., Chiang, C., Lin, C., & Jeng, H. A. (2015). Assessment of volatile organic compounds and particulate matter in a dental clinic and health risks to clinic personnel. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 50(12), 1205-1214. Retrieved from <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10934529.2015.1055129>
- Horvath, G., Andersson, H., & Nemes, S. (2013). Cancer odor in the blood of ovarian cancer patients: A retrospective study of detection by dogs during treatment, 3 and 6 months afterward. *BMC Cancer*, 13(1), 396. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23978091>
- Hoque, M. O. et al. (2005). Quantitative methylation specific polymerase chain reaction gene patterns in urine sediment distinguish prostate cancer patients from control subjects. *J. Clin. Oncol*, 23, 6569–6575.
- Hricack, H., Choyke, P. L., Eberhardt, S. C., Leibel, S. A., & Scardino, P. T. (2007). Imaging prostate cancer: A multidisciplinary perspective. *Radiology*, 243, 28-53.
- Hull G.W., Rabbani F., Abbas F., Wheeler T.M., Kattan M.W., Scardino P.T. (2002). Cancer control with radical prostatectomy alone in 1,000 consecutive patients. *J Urol*, 167, 528-534.
- Hussain M., Tangen C.M., Higano C., et al. (2006). Absolute prostate specific antigen value after androgen deprivation is a strong independent predictor of survival in new metastatic prostate cancer- data from Southwest Oncology Group Trial 9346 (INT-0162). *J Clin Oncol*, 24, 3984-3990.
- Hussain, M., Tangen, C. M., Berry, D. L., Higano, C. S., Crawford, E. D., Liu, G., . . . Thompson, J., Ian M. (2013). Intermittent versus continuous androgen deprivation in prostate cancer. *The New England Journal of Medicine*, 368(14), 1314. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23550669>
- Hutchinson, L. M. et al. (2005). Development of a sensitive and specific enzyme-linked immunosorbent assay for thymosin beta15, a urinary biomarker of human prostate cancer. *Clin. Biochem*, 38, 558–571.

- Ilic, D., et al. (2013). Screening for prostate cancer. *Cochrane Database Syst Rev*, 1, CD004720.
- INE. (2017). Instituto nacional de estadística.
- Ishibe, A., Ota, M., Takeshita, A., Tsuboi, H., Kizuka, S., Oka, H., ... & Momiyama, M. (2018). Detection of gas components as a novel diagnostic method for colorectal cancer. *Annals of Gastroenterological Surgery*. DOI: 10.1002/ags3.12056
- Iwakiri, J., Granbois, K., wehner, N., Graves, H. C. & Stamey, T. (1993). An analysis of urinary prostate specific antigen before and after radical prostatectomy: evidence for secretion of prostate specific antigen by the periurethral glands. *J. Urol*, 149, 783–786.
- Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. (2011). *Documentación toxicológica par el establecimiento del límite de exposición profesional del fenol*.
- Jager G.J., Ruijter E.T., van de Kaa C.A., de la Rosette J.J., Oosterhof G.O., Thornbury J.R., et al. (1996). Local staging of prostate cancer with endorectal MR imaging: correlation with histopathology. *AJR Am J Roentgenol*, 66(4), 845-852.
- Jack GS, Cookson MS, Coffey CS, Vader V, Roberts RL, Chang SS, Smith JA Jr, Shappell SB. (2002). Pathological parameters of radical prostatectomy for clinical stages T1c versus T2 prostate adenocarcinoma: decreased pathological stage and increased detection of transition zone tumors. *J Urol.*, 168(2), 519-524.
- Jansson, K. F., Akre, O., Garmo, H., Bill-Axelsson, A., Adolfsson, J., Stattin, P., & Bratt, O. (2012). Concordance of tumor differentiation among brothers with prostate cancer. *European Urology*, 62(4), 656-661. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S0302283812002266>
- Jareño-Esteban, J. J., Munoz-Lucas, M. Á., Carrillo-Aranda, B., Maldonado-Sanz, J. Á., de Granda-Orive, I., Aguilar-Ros, A., ... & Grupo de Estudio. (2013). Estudio de compuestos orgánicos volátiles en aire exhalado en una población clínicamente sana: efecto del tabaquismo. *Archivos de Bronconeumología*, 49(11), 457-461.
- Jiang, Z. & woda, B. A. (2004). Diagnostic utility of alpha-methylacyl CoA racemase (P504S) on prostate needle biopsy. *Adv. Anat. Pathol*, 11, 316–321.
- Joniau, S., Goeman, L., Pennings, J., & Van Poppel, H. (2005). Prostatic intraepithelial neoplasia (PIN): Importance and clinical management. *European Urology*, 48(3), 379-385. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0302283805001491>
- Joniau, S., Van den Bergh, L., Lerut, E., Deroose, C. M., Haustermans, K., Oyen, R., . . . Van Poppel, H. (2013). Mapping of pelvic lymph node metastases in prostate cancer. *European Urology*, 63(3), 450-458. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S0302283812007713>

- Joosse, S. A., Gorges, T. M., & Pantel, K. (2015). Biology, detection, and clinical implications of circulating tumor cells. *EMBO Molecular Medicine*, 7(1), 1-11. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.15252/emmm.201303698/abstract>
- Joshua, A. M., Evans, A., Van der Kwast, T., Zielenska, M., Meeker, A. K., Chinnaiyan, A., & Squire, J. A. (2008). Prostatic preneoplasia and beyond. *BBA - Reviews on Cancer*, 1785(2), 156-181. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304419X07000716>
- Junker, K., Heinzehman j, Beckhan, C., Ochiya, T., & Jenster, G. (2016). Extracellular vesicles and their role in urologic malignancies. *European Urology*, 70, 323-331.
- Khalid, T., Aggio, R., White, P., De Lacy Costello, B., Persad, R., Al-Kateb, H., . . . Ratcliffe, N. (2015). Urinary volatile organic compounds for the detection of prostate cancer. *PLoS One*, 10(11), e0143283. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26599280>
- Kierszenbaum, A. L., & Tres, L. L. (2016). *Histología y biología celular: introducción a la anatomía patológica* (4ª ed.). Barcelona: Elsevier Health Sciences Spain. Retrieved from [http://ebookcentral.proquest.com/lib/\[SITE_ID\]/detail.action?docID=4626738](http://ebookcentral.proquest.com/lib/[SITE_ID]/detail.action?docID=4626738)
- Kim, M., Oskarsson, T., Acharyya, S., Nguyen, D. X., Zhang, X. H. -, Norton, L., & Massagué, J. (2009). Tumor self-seeding by circulating cancer cells. *Cell*, 139(7), 1315-1326. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867409014378>
- Kissick, H. T., On, S. T., Dunn, L. K., Sanda, M. G., Asara, J. M., Pellegrini, K. L., . . . Arredouani, M. S. (2015). The transcription factor ERG increases expression of neurotransmitter receptors on prostate cancer cells. *BMC Cancer*, 15(1), 604. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26310325>
- Klotz, L., Zhang, L., Lam, A., Nam, R., Mamedov, A., & Loblaw, A. (2010). Clinical results of long-term follow-up of a large, active surveillance cohort with localized prostate cancer. *Journal of Clinical Oncology*, , 126-131.
- Klotz, L. (2013). Active surveillance for prostate cancer: Overview and update. *Current Treatment Options in Oncology*, 14(1), 97-108. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23318986>
- Kumar, D., Gupta, A., Chandra, D., Sankhwar, S. N., & Mandhani, A. (2017). Relevance of MIC-1 in the era of PSA as a serum based predictor of prostate cancer: A critical evaluation. *Sci Rep*, 7(1), 16824.
- Kumar, S., Huang, J., Abbassi-Ghadi, N., Mackenzie, H., Veselkov, K., Hoare, J., . . . Hanna, G. (2015). Mass spectrometric analysis of exhaled breath for the identification of volatile organic compound biomarkers in esophageal and gastric adenocarcinoma. *Annals of Surgery*, 262(6), 981-990. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25575255>

- Lang, S. H., Frame, F. M., & Collins, A. T. (2009). Prostate cancer stem cells. *The Journal of Pathology*, 217(2), 299-306. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19040209>
- Latarjet, M., & Ruiz-Liard, A. (2008). *Anatomía humana* (4^a ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.
- Lavery, A., Kirby, R. S., & Chrowdhury, S. (2015). Prostate cancer. *Medicine*, 44, 47-51.
- Laxman, B. et al. (2008). A first-generation multiplex biomarker analysis of urine for the early detection of prostate cancer. *Cancer Res*, 68, 645–649.
- Lee, F., Torp-Pedersen, S. T., & Siders, D. B. (1989). The role of transrectal ultrasound in the early detection of prostate cancer. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 39(6), 337-360. Retrieved from <http://caonline.amcancersoc.org/cgi/content/abstract/39/6/337>
- Lenzo N.P., Meyrick D., Turner J.H. (2018). Review of Gallium-68 PSMA PET/CT Imaging in the Management of Prostate Cancer. *Diagnostics (Basel)*, 11, 8(1).
- Li, J., Peng, Y., Liu, Y., Li, W., Jin, Y., Tang, Z., & Duan, Y. (2014). Investigation of potential breath biomarkers for the early diagnosis of breast cancer using gas chromatography-mass spectrometry. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, 436, 59-67. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24815034>
- Lianidou, E. S., Mavroudis, D., Sotiropoulou, G., Agelaki, S., & Pantel, K. (2015). What's new on circulating tumor cells? *Barcat JA. Biopsia Líquida. Medicina*.
- Ligor M, Ligor T, Bajtarevic A, Ager C, Pienz M, Klieber M, Denz H, Fiegl M, Hilbe W, Weiss W, Lukas P, Jamnig H, Hackl M, Buszewski B, Miekisch W, Schubert J, Amann A. (2009). Determination of volatile organic compounds in exhaled breath of patients with lung cancer using solid phase microextraction and gas chromatography mass spectrometry. *Clin Chem Lab Med*, 47(5), 550-60. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19397483>
- Lima, A. R., Araújo, A. M., Pinto, J., Jerónimo, C., Henrique, R., Bastos, M. L., . . . Pinho, P. G. (2018). Discrimination between the human prostate normal and cancer cell exometabolome by GC-MS. *Scientific Reports*, 8(5539), 9.
- Limonta, P., Montagnani, M. M., & Moretti, R. M. (2001). LHRH analogues as anticancer agents: Pituitary and extrapituitary sites of action. *Expert Opin Investig Drugs*, 10, 709-720.
- Lippi, G., & Cervellin, G. (2012). Canine olfactory detection of cancer versus laboratory testing: Myth or opportunity? *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 50(3), 435-439. Retrieved from <http://www.degruyter.com/doi/10.1515/cclm.2011.672>

- Lipsky, B. A., Byren, I., & Hoey, C. T. (2010). Treatment of bacterial prostatitis. *Clinical Infectious Diseases*, 50(12), 1641-1652. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/25679930>
- Liu, Y., Hegde, P., Zhang, F., Hampton, G., & Jia, S. (2012). Prostate cancer - a biomarker perspective. *Frontiers in Endocrinology*, 3, 72. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22661971>
- Loblaw D.A., Virgo K.S., Nam R., et al. (2007). Initial hormonal management of androgen-sensitive metastatic, recurrent, or progressive prostate cancer: 2006 update of an American Society of Clinical Oncology practice guideline. *J Clin Oncol*, 25, 1596-1605.
- Loeb, S., et al. (2014). The Prostate Health Index: a new test for the detection of prostate cancer. *Ther Adv Urol*, 6, 74.
- López Laur, J. D., López Fontana, C., Pérez Elizalde, R., Maselli, M. E., Di Milta, N., & Corica, P. (2011). La obesidad modifica el antígeno prostático específico en hombres mayores de 45 años de edad. *Archivos Españoles de Urología*, 64(64), 35-42. Retrieved from <https://medes.com/publication/63671>
- López-López, J., Otero-Rey, E., Estrugo-Devesa A., Jané-Salas, E. (2014). Etiopatogenia de la halitosis. Revisión. *Avances En Odontoestomatología*, 30, 3.
- Lopez-Luque A., Gomez-Bermudo J., Marquez-Lopez J., Leva-Vallejo M., Regueiro-Lopez J.C., Requena-Tapia M.J. (2006). Determination of free prostatic specific antigen cut point for the selection of patients in first prostate biopsy. *Actas Urol Esp*, 30, 13-17.
- López-González, R. (2015). Monitoreo de fármacos por cromatografía de gases acoplado A espectrometría de masas en el laboratorio clínico del hospital nacional psiquiátrico. *Revista Cúpula*, 29(1), 17-22.
- López-Mascaraque, L., & Ramón Alonso, J. (2017). *El olfato*. Madrid: Editorial CSIC Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Retrieved from [http://ebookcentral.proquest.com/lib/\[SITE_ID\]/detail.action?docID=4908788](http://ebookcentral.proquest.com/lib/[SITE_ID]/detail.action?docID=4908788)
- Lu et al. (2009). Identification of extracellular delta catenin accumulation for prostate cancer detection. *Prostate*, 69, 411-418.
- Luderer A.A., Chen Y.T., Soriano T.F., et al. (1995). Measurement of the proportion of free to total PSA improves diagnostic performance of PSA in the diagnostic gray zone of total PSA. *Urology*, 46, 187-194.
- Lue, T. F., McAninch, J. W., Pineda Rojas, E., & Smith, D. R. (2014). *Smith y tanagho. Urología General* (18ª ed.). México, D.F: McGraw-Hill Interamericana Editores, S. A. de C. V.s. Retrieved from <http://accessmedicina.mhmedical.com/book.aspx?bookid=1487>

- Lund-Nilse, T. I., Johnsen, R., & Vatten, L. J. (2000). Socio-economic and lifestyle factors associated with the risk of prostate cancer. *Br J Cancer*, *82*(7), 1358-1363.
- Madoz-Gurpide, J. et al. (2006). Proteomics-based validation of genomic data: applications in colorectal cancer diagnosis. *Mol Cell Proteomics*; *5*, 1471–1483.
- Major, J. M., Oliver, M. N., Doubeni, C. A., Hollenbeck, A. R., Graubard, B. I., & Sinha, R. (2012). Socioeconomic status, healthcare density, and risk of prostate cancer among african american and caucasian men in a large prospective study. *Cancer Causes & Control*, *23*(7), 1185-1191. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/23254987>
- Maloney, J. O. (2008). *Perry's chemical engineers' handbook* Ed. McGraw-Hill.
- Mayor de Castro J., Caño Velasco J., Aragón Chamizo J., Andrés Boville G., Herranz Amo F., Hernández Fernández C. (2018). Cáncer de próstata localmente avanzado. Definición, diagnóstico y tratamiento. *Arch Esp Urol*, *71* (3), 231-238.
- Malvezzi, M., Bertuccio, P., Rosso, T., Rota, M., Levi, F., La Vecchia, C., & Negri, E. (2015). European cancer mortality predictions for the year 2015: Does lung cancer have the highest death rate in EU women? *Annals of Oncology : Official Journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*, *26*(4), 779-786. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25623049>
- Mandair, D., Rossi, R. E., Pericleous, M., Whyand, T., & Caplin, M. E. (2014). Prostate cancer and the influence of dietary factors and supplements: A systematic review. *Nutrition & Metabolism*, *11*(1), 30. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24976856>
- Manferrari, F., Brunocilla, E., Baccos, A., Bertaccini, A., Garofalo, M., Borghesi, M., . . . Martorana, G. (2014). Laparoscopic radical prostatectomy: 10 years of experience at a single institution. *Anticancer Research*, *34*(5), 2443. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24778058>
- Martignano, F., Gurioli, G., Salvi, S., Calistri, D., Costantini, M., Gunelli, R., . . . Casadio, V. (2016). GSTP1 methylation and protein expression in prostate cancer: Diagnostic implications. *Disease Markers*, *2016*, 4358292. 10.1155/2016/4358292 Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27594734>
- Martínez, B., Poveda, M. D., Encinas, M. S., & Villaverde, R. M. (2013). Actualización en cáncer de próstata. *Medicine*, *11*, 1578-1587.
- McCulloch, M., Jezierski, T., Broffman, M., Hubbard, A., Turner, K., & Janecki, T. (2006). Diagnostic accuracy of canine scent detection in early- and late-stage lung and breast cancers. *Integrative Cancer Therapies*, *5*(1), 30-39. Retrieved from <http://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/1534735405285096>

- McCullough, A. R. (2005). Sexual dysfunction after radical prostatectomy. *Reviews in Urology, 7 Suppl 2*(Suppl 2), S10. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16985895>
- McNeal, J. E. (1981). The zonal anatomy of the prostate. *The Prostate, 2*(1), 35-49. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7279811>
- McNeal J.E., Bostwic D.G., Kindrachuk R.A., et al. (1986). Patterns of progresión in prostate cancer. *Lancet, 1*, 60-63.
- McNeal, J.E., Villers, A.A., Redwine, E.A., Freiha, F.S., & Stamey, T.A. (1990). Histologic differentiation, cancer volume, and pelvic lymph node metastasis in adenocarcinoma of the prostate. *Cancer, 66*(6), 1225-1233. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2400973>
- McNicholas, T., & Swallow, D. (2011). Benign prostatic hiperplasia. *Surgery (Oxford), 29*, 282-286.
- Meigs, J.B., Mohr, B., Barry, M.J., Collins, M.M., & McKinlay, J.B. (2010). Risk factors for clinical benign prostatic hyperplasia in a community-based population of healthy aging men. *Journal of Clinical Epidemiology, 54*(9), 935-944. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0895435601003511>
- Mellinger GT. Prognosis of prostatic carcinoma. *Recent Results Cancer Res. 1977, (60)*, 61-72.
- Menon K.V., Hayden J.D., Prasad K.R., Verbeke C.S. (2007). Total laparoscopic pancreaticoduodenectomy and reconstruction for a cholangiocarcinoma of the bile duct. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A, 17*(6), 775-780.
- Mertan, F.V., et al. (2016). Prospective Evaluation of the Prostate Imaging Reporting and Data System Version 2 for Prostate Cancer Detection. *J Urol, 196*, 690.
- Mettlin C., Lee F., Drago J., Murphy G.P. (1991). The American Cancer Society National Prostate Cancer Detection Project. Findings on the detection of early prostate cancer in 2425 men. *Cancer, 67*, 2949-2958.
- Mitchell, P.J. et al. (2009). Can urinary exosomes act as treatment response markers in prostate cancer? *J. Transl. Med, 7*, 4.
- Miyamoto, D.T., Sequist, L.V., & Lee, R.J. (2014). Cicutlatin tumour cells-monitoring treatment response in prostate cáncer. *Nat Rev Clin Oncol, 11*, 401-412.
- Monasterios, M., Avendaño, M., Amaro, M. I., Infante, W., & Charris, J. (2006). Relation between molecular electrostatic potential, several electronic properties and antibacterial activity of some synthetic furane derivatives. *Journal of Molecular Structure, 798*(1), 102-108. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022286006003474>

- Montie, J.E., & Pienta, K.J. (1994). Review of the role of androgenic hormones in the epidemiology of benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. *Urology*, 43(6), 892. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7515207>
- Morote, J., Placer, J. (2011). Utilidad del antígeno prostático específico (PSA) para el diagnóstico y estadificación de los pacientes con cáncer de próstata. *Arch Esp Urol*, 64(8), 659-680.
- Morote, J., Celma, A., Planas, J., Placer, J., Konstantinidis, C., Iztueta, I., . . . Doll, A. (2014). Sedentarism and overweight as risk factors for the detection of prostate cancer and its aggressiveness. *Actas Urológicas Españolas*, 38(4), 232. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24156935>
- Mottet, N., Bellmunt, J., Briers, E., van der Bergh, R., Bolla, M. & van Casteren, N. J. (2015). Guidelines on prostate cancer.
- Mottet N., Bellmunt J., Briers E., Bolla M., Bourke L., Cornford P., et al. (2017). EAU-ESTRO-ESUR-SIOD Guidelines on Prostate Cancer. *European Association of Urology*.
- Murphy M., Johnston C., Whelan P., et al. (1999) Changing trends in prostatic cancer. *BJU International*, 83, 786-791.
- Nadalin, V., Kreiger, N., Parent, M., Salmoni, A., Sass-Kortsak, A., Siemiatycki, J., . . . Purdham, J. (2012). Prostate cancer and occupational whole-body vibration exposure. *The Annals of Occupational Hygiene*, 56(8), 968-974. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22539558>
- Nakamura, K., Yasunaga, Y., Ko, D., Xu, L.L., Moul, J.W., Peehl, D.M., . . . Rhim, J.S. (2002). Cadmium-induced neoplastic transformation of human prostate epithelial cells. *International Journal of Oncology*, 20(3), 543-547. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11836566>
- Nakanishi H., Groskopf J., Fritsche H.A., et al. (2008). PCA3 molecular urine assay correlates with prostate cancer tumor volume: implication in selecting candidates for active surveillance. *J Urol*, 179, 1804–1809.
- Nathoo, N., Caris, E.C., Wiener, J.A., & Mendel, E. (2011). History of the vertebral venous plexus and the significant contributions of breschet and batson. *Neurosurgery*, 69(5), 1007. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21654535>
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database. (2018). Metacresol. Retrieved from National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=342, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/342>

- National Comprehensive Cancer Network, (NCCN). (2014). NCCN clinical practice guidelines in oncology. *Prostate Cancer*, 2 Retrieved from http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp.
- Nawrot, T. S., Van Hecke, E., Thijs, L., Richart, T., Kuznetsova, T., Jin, Y., . . . Staessen, J. A. (2008). Cadmium-related mortality and long-term secular trends in the cadmium body burden of an environmentally exposed population. *Environmental Health Perspectives*, 116(12), 1620-1628. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/25165513>
- Nilsson, J. et al. (2009). Prostate cancer-derived urine exosomes: a novel approach to biomarkers for prostate cancer. *Br. J. Cancer*, 100, 1603–1607.
- Nogueira L., Corradi R., Eastham J.A. (2009). Other biomarkers for detecting prostate cancer. *BJU International*, 105, 166-169.
- O'Brien, M.F., et al. (2009). Pretreatment prostate-specific antigen (PSA) velocity and doubling time are associated with outcome but neither improves prediction of outcome beyond pretreatment PSA alone in patients treated with radical prostatectomy. *J Clin Oncol*. 27: 3591.
- Oh W.K., Hurwitz M., D'Amico A.V., Richie J.P., Kantoff P.W. (2003). Neoplasms of the Prostate. In: Kufe DW, et al editors. *Cancer Medicine*. (6th ed). Hamilton, Ontario, Canada: BC Decker Inc.
- Ohori, M., Shinohara, K., Wheeler, T. M., Aihara, M., Wessels, E. C., Carter, S. S., & Scardino, P. T. (1993). Ultrasonic detection of non-palpable seminal vesicle invasion: A clinicopathological study. *British Journal of Urology*, 72, 799-808. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7506627>
- Okotie, O.T., et al. (2007). Characteristics of prostate cancer detected by digital rectal examination only. *Urology*, 70, 1117.
- Onstenk, W., Sieuwerts, A. M., Kraan, J., Van, M., Nieuweboer, A. J. M., Mathijssen, R. H. J., . . . Sleijfer, S. (2015). Efficacy of cabazitaxel in castration-resistant prostate cancer is independent of the presence of AR-V7 in circulating tumor cells. *European Urology*, 68(6), 939-945. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S0302283815006119>
- Optar, P., Profesional, T., Cirujano, D., Agapito, M., Luz, C. & Osorio, U. (2017). Impacto del índice de masa corporal (IMC) con los niveles de antígeno prostático específico (PSA): Revisión sistemática y meta-análisis. Universidad peruana de ciencias aplicadas.
- Organización Mundial de la Salud. (2017). Obesidad y sobrepeso.

- Orozco, A., & Aguayo, A. (2016). Prostatectomía radical, radioterapia y vigilancia activa sin diferencias estadísticamente significativas en los resultados de mortalidad de pacientes con cáncer de próstata localizado. *Rev Mex Urol*, 77(2), 85-88.
- Ouyang, B. et al. (2009). A duplex quantitative polymerase chain reaction assay based on quantification of alpha-methylacyl-CoA racemase transcripts and prostate cancer antigen 3 in urine sediments improved diagnostic accuracy for prostate cancer. *J. Urol*, 181, 2508–2513.
- Palitano, V.T., Lewis, E.M., & Hoberman, A.M. (2009). Evaluation of the developmental toxicity of dihydromyrcenol in rats. *Int J Toxicol*, 28, 80-87.
- Pannek, J. et al. (1997). Molecular forms of prostate specific antigen and human kallikrein 2 (hK2) in urine are not clinically useful for early detection and staging of prostate cancer. *Urology*, 50, 715–721.
- Park, C. S., Seob Shin, Y., Teo Zhang, L., Sik Kim, D., Zoo Kim, S., Cheol Park, N., . . . Kwan Park, J. (2015). Prospective investigation of change in the prostate-specific antigens after various urologic procedures. *Clinical Interventions in Aging*, 10, 1213-1218.
- Parsons, J. K. (2010). Benign prostatic hiperplasia and male lower urinary tract symptoms: Epidemiology and risk factors. *Curr Bladder Dysfunct Rep*, 5, 212-218.
- Parsons, J. K., Palazzi-Churras, K., Bergstrom, J., & Barrett-Connor, E. (2010). Prospective study of serum dihydrotestosterone and subsequent risk of benign hiperplasia in community dwelling men: The rancho bernardo study. *J Urol*, 184, 1040-1044.
- Partin AW, Yoo J, Carter HB, Pearson JD, Chan DW, Epstein JI, Walsh PC. J (1993). The use of prostate specific antigen, clinical stage and Gleason score to predict pathological stage in men with localized prostate cancer. *Urol*, 150(1), 110-114.
- Partin A.W., Mangold L.A., Lamm D.M., Walsh P.C., Epstein J.I., Pearson J.D. (2001). Contemporary update of prostate cancer staging nomograms (Partin Tables) for the new millennium. *Urology*, 58(6), 843-848.
- Passas Martínez, J., Rodríguez Antolín, A., & De La Rosa, S. (2008). Ecografía en urología. *Actas Urológicas Espanolas*, 26(9), 650-665. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S021048060272843X>
- Pasteau, O. (1911). Traitement du cáncer de la prostate par le radium. *Review Du Maladies Et Nutrición*, 363.
- Pauling, L., Robinson, A. B., Teranishi, R., & Cary, P. (1971). Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 68(10), 2374-2376. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/61049>

- Pelzer, A. E., Bektic, J., Berger, A. P., Halpern, E. J., Koppelstätter, F., Klauser, A., . . . Frauscher, F. (2005). Are transition zone biopsies still necessary to improve prostate cancer detection? results from the tyrol screening project. *European Urology*, *48*(6), 916. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16126324>
- Peng, G., Hakim, M., Broza, Y. Y., Billan, S., Abdah-bortnyak, R., Kuten, A., . . . Haick, H. (2010). Detection of lung, breast, colorectal, and prostate cancers from exhaled breath using a single array of nanosensors. *British Journal of Cancer*, *103*(4), 542-551. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bjc.6605810>
- Pereira, M. F., Martino, T., Dalmau, S. R., Albano, R. M., Férézou, J., Costa, S. S., . . . Sabino, K. G. C. (2011). Terpenic subfraction of pterodon pubescens induces apoptosis of K562 leukemic cells by modulating gene expression. *Oncology Reports*, *25*(1), 215-221. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21109979>
- Perletti, G., Montanari, E., Vral, A., Gazzano, G., Marras, E., Mione, S., & Magri, V. (2010). Inflammation, prostatitis, proliferative inflammatory atrophy: 'Fertile ground' for prostate cancer development? *Molecular Medicine Reports*, *3*(1), 3. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21472193>
- Peters, U., Littman, A. J., Kristal, A. R., Patterson, R. E., Potter, J. D., & White, E. (2008). Vitamin E and selenium supplementation and risk of prostate cancer in the vitamins and lifestyle (VITAL) study cohort. *Cancer Causes & Control*, *19*(1), 75-87. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/40271795>
- PI-RADS™. Prostate Imaging-Reporting and Data System 2015 v2. American College of Radiology (ACR).
- Pienta, K.J., & Esper, P.S. (1993). Risk factors for prostate cancer. *Ann Intern Med*, *15*(118), 793-803.
- Planas, J., Celma, A., & Morote, J. (2014). Optimización del seguimiento de cáncer de próstata en vigilancia activa. *Archivos Españoles de Urología*, *67*(67), 442-451. Retrieved from <https://medes.com/publication/91352>
- Ploussard G., de la Taille A. (2010). Urinarie biomarkers in prostate cancer. *Nat Rev Urol*, *7*, 101-109.
- Polascik T.J., Oesterling J.E., Partin A.W. (1999). Prostate specific antigen. A decade of discovery-what we have learned and where we are going?. *J Urol*, *162*, 293-306.
- Pollack A., Zagars G.K., Smith L.G., et al. (2000). Preliminary results of a randomized radiotherapy dose-escalation study comparing 70 Gy with 78 Gy for prostate cancer. *J Clin Oncol*, *18*, 3904-3911.

- Priest, R., Garzoto, M., & Kaufman, J. (2012). Benign prostatic hiperplasia: A brief overview of pathogenesis, diagnosis and therapy. *Tech Vasc Interventional Rad*, 15, 261-264.
- Prins, G. S. (2000). Molecular biology of the androgen receptor. *Mayo Clinic Proceedings*, 75(1), S32. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10959213>
- Proceso hiperplasia benigna de próstata y/o cáncer de próstata. Cartera de Servicios por Procesos Asistenciales Integrados Servicio Andaluz de Salud. <http://www.sas.juntaandalucia.es/contenidos/publicaciones/datos/180/html/CSProcAsist2004/ProcesoHiperplasiaProstata.pdf>
- Puche-Sanz, I., Álvarez-Cubero, M. J., Pascual-Geler, M., Rodríguez-Martínez, A., Delgado-Rodríguez, M., García-Puche, J. L., . . . Serrano, M. J. (2017). A comprehensive study of circulating tumour cells at the moment of prostate cancer diagnosis: Biological and clinical implications of EGFR, AR and SNPs. *Oncotarget*, 8, 70472-70480.
- Qiao, Z., Perestrelo, R., Reyes-Gallardo, E. M., Lucena, R., Cárdenas, S., Rodrigues, J., & Câmara, J. S. (2015). Octadecyl functionalized core-shell magnetic silica nanoparticle as a powerful nanocomposite sorbent to extract urinary volatile organic metabolites. *Journal of Chromatography A*, 1393, 18-25.
- Raja, J., Ramachandran, N., Munneke, G., & Patel, U. (2006). Raja J, ramachandran N, munneke G, patel U. current status of transrectal ultrasound-guided prostate biopsy in the diagnosis of prostate cancer. *Clinical Radiology*, 61, 142-153.
- Ramón, J.D. (2013). Determination of volatile organic compounds in an atmosphere rural biogenic (natural park valderejo). *Revista Ambiental Agua, Aire Y Suelo*, 4(1), 9178.
- Rao, A. R., Motiwala, H. G., & Karim, O. M. A. (2008). The discovery of prostate-specific antigen. *BJU International*, 101(1), 5-10. 10.1111/j.1464-410X.2007.07138.x Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1464-410X.2007.07138.x/abstract>
- Reese, A.C., Landis, P., Han, M., Epstein, J.I., & Carter, H.B. (2013). Expanded criteria to identify men eligible for active surveillance of low risk prostate cancer at Johns Hopkins: A preliminary analysis. *Journal of Urology*, The, 190(6), 2033-2038. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S0022534713043516>
- Rehman, I. et al. (2004). Proteomic analysis of voided urine after prostatic massage from patients with prostate cancer: a pilot study. *Urology*, 64, 1238-1243.
- Reinhardt, D., Helfand, B.T., Cooper, P.R., Roehl, K.A., Catalona, W.J., & Loeb, S. (2014). Prostate cancer risk alleles are associated with prostate cancer volume and prostate size. *Journal of Urology*, The, 191(6), 1733-1736. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S0022534713061284>

- Richie, J.P., et al. (1993). Effect of patient age on early detection of prostate cancer with serum prostate specific antigen and digital rectal examination. *Urology*, 42, 365.
- Rider, J.R., Sandin, F., Andren, O., Wiklund, P., Hugosson, J., & Stattin, P. (2013). Long-term outcomes among noncuratively treated men according to prostate cancer risk category in a nationwide, population-based study. *European Urology*, 63(1), 88. Retrieved from <http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:umu:diva-63755>
- Roach M. (2004). Neoadjuvant hormonal therapy in men being treated with radiotherapy for localized prostate cancer. *Rev Urol*, 6 Suppl 8, S24-31.
- Roach P.J., Francis R., Emmett L., Hsiao E., Kneebone A., Hruby G., et al. (2018). The impact of 68Ga-PSMA PET/CT on management intent in prostate cancer: Results of an Australian prospective multicenter study. *J. Nucl. Med*, 59, 82-88.
- Rodríguez, D. (2009). *Olfato canino nociones básicas para el trabajo con perros*. Revista electrónica de veterinaria.
- Rodríguez-Antolín, A., & Leiva-Galvis, O. (2005). Modalidades de supresión hormonal en el cáncer de próstata avanzado. *Revista Médica*, 52, 78-81.
- Rodríguez-López M.R., Baluja-Conde I.B., Bermúdez-Velásquez S. (2007). Patologías benignas de la próstata: prostatitis e hiperplasia benigna. *Rev Biomed*, 18, 47-59
- Rodríguez-Reina, G., Vázquez-Alba, D., Martínez-Salamanca y, J. I., & Carballido-Rodríguez, J. (2011). Hiperplasia benigna de próstata. *Medicine*, 10(83), 5628-5641. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S0304541211701494>
- Roehl K.A., Antenor L.V., Catalona W.J. (2001). Serial biopsy results in prostate cancer screening study. *J Urol*, 167, 2435-2439.
- Rogers C.G., Ya G., Zha S., et al. (2004). Prostate cancer detection on urinalysis for alpha methylacyl coenzyme A racemase protein. *J Urol*, 172, 1501-1503.
- Rohr, H. P., & Bartsch, G. (1980). Human benign prostatic hyperplasia: A stromal disease? new perspectives by quantitative morphology. *Urology*, 16(6), 625-633. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0090429580905774>
- Ross, M. H., & Paulina, W. (2012). *Histología: Texto y atlas color con biología celular y molecular* (6ª ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.
- Roy, R. et al. (2008). Tumor-specific urinary matrix metalloproteinase fingerprinting: identification of high molecular weight urinary matrix metalloproteinase species. *Clin. Cancer Res*, 14, 6610–6617.

- Rozman Borstnar, C., & Cardellach, F. (2016). *Farreras Rozman. Medicina interna* (18ª ed.). Barcelona: Elsevier Health Sciences Spain. Retrieved from [http://ebookcentral.proquest.com/lib/\[SITE_ID\]/detail.action?docID=4626743](http://ebookcentral.proquest.com/lib/[SITE_ID]/detail.action?docID=4626743)
- Rudnicka, J., Walczak, M., Kowalkowski, T., Jezierski, T., & Buszewski, B. (2014). Determination of volatile organic compounds as potential markers of lung cancer by gas chromatography–mass spectrometry versus trained dogs. *Sensors and Actuators B: Chemical*, *202*, 615-621.
- Ruiz-Aragón, J., & Márquez-Peláez, S. (2010). Evaluación del test PCA3 para el diagnóstico de cáncer de próstata: Revisión sistemática y metanálisis. *Actas Urológicas Españolas*, *34*(4) 10.4321/S0210-48062010000400007
- Russo, A.L. et al. (2009). Urine analysis and protein networking identify met as a marker of metastatic prostate cancer. *Clin. Cancer Res*, *15*, 4292–4298.
- Sánchez R,C., Ibáñez, C., & Klaassen, J. (2014). The link between obesity and cancer. *Revista médica de Chile*, *142*(2), 211. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24953110>
- Sánchez-Gómez, L.M., Polo-deSantos, M., Rodríguez-Melcón, J.I., Angulo, J.C., & Luengo-Matos, S. (2017). High-dose rate brachytherapy as monotherapy in prostate cancer: A systematic review of its safety and efficacy. *Spanish Urology (Actas Urológicas Españolas, English Edition)*, *41*(2), 71-81. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S2173578616301585>
- Sanz Perez G.G., Zudaire Bergara J.J., Maalik A., et al. (2000). Factores influyentes en la presencia de carcinoma en las biopsias de próstata. *Actas Urol Esp*, *24*, 801-804.
- Sauvain, J.L., Palascak, P., Palascak, R., Bourscheid, D., Chabi, C., Atassi, A., & Bregon, J.M. (2003). Value of power Doppler and 3D vascular sonography as a method for diagnosis and staging of prostate cancer. *European Urology*, *44*(1), 21-31. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0302283803002045>
- Sauver, J.L., Jacobson, D.J., McGree, M.E., Girman, C.J., Lieber, M.M., & Jacobsen, S.J. (2008). Longitudinal association between prostatitis and development of benign prostatic hyperplasia. *Urology*, *71*(3), 475-479. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S0090429507026258>
- Savage, C.J., Lilja, H., Cronin, A.M., Ulmert, D., & Vickers, A.J. (2010). Empirical estimates of the lead time distribution for prostate cancer based on two independent representative cohorts of men not subject to prostate-specific antigen screening. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention : A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, *19*(5), 1201-1207. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20406957>

- Sawyers, C. L. (2008). The cancer biomarker problem. *Nature*, *452*, 548-552.
- Schechter, A., Needham, L., Pavuk, M., Michalek, J., Colacino, J., Ryan, J., Birnbaum, L. (2009). Agent orange exposure, vietnam war veterans, and the risk of prostate cancer. *Cancer*, *115*(14), 3369-3371. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19415730>
- Schmid, H.P., et al. (1993). Observations on the doubling time of prostate cancer. The use of serial prostate specific antigen in patients with untreated disease as a measure of increasing cancer volume. *Cancer*. *71*, 2031.
- Schoots, I.G., et al. (2015). Magnetic resonance imaging-targeted biopsy may enhance the diagnostic accuracy of significant prostate cancer detection compared to standard transrectal ultrasound guided biopsy: a systematic review and meta-analysis. *Eur Urol*, *68*, 438.
- Schostak, M. et al. (2009). Annexin A3 in urine: a highly specific noninvasive marker for prostate cancer early detection. *J Urol*, *181*, 343–353.
- Schroder, F.H., et al. (2009) Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. *N Engl J Med*, *360*, 1320-1328.
- Schröder, F., Crawford, E.D., Axcrone, K., Payne, H., & Keane, T.E. (2012). Androgen deprivation therapy: Past, present and future. *BJU International*, *109*, 1-12. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1464-410X.2012.11215.x/abstract>
- Schroder, F.H., et al. (2014). Screening and prostate cancer mortality: results of the European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) at 13 years of follow-up. *Lancet*, *384*, 2027.
- Schumer, E.M., Trivedi, J.R., van Berkel, V., Black, M.C., Li, M., Fu, X.A., & Bousamra, M. (2015). High sensitivity for lung cancer detection using analysis of exhaled carbonyl compounds. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, The*, *150*(6), 1517-1524. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S002252231501555X>
- Seidenfeld J., Samson D.J., Hasselblad V., et al. (2000). Single-therapy androgen suppression in men with advanced prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med*, *132*, 566-577.
- SEOM. (2017). *Sociedad Española de Oncología Médica*.
- Shafique, K., McLoone, P., Quershi, K., Leung, H., Hart, C., & Morrison, D.S. (2012). Coffee consumption and prostate cancer risk: Further evidence for inverse relationship. *Nutr J*, *11*(1), 42.
- Shariat, S. F., Scherr, D. S., Gupta, A., Bianco, J., Fernando J, Karakiewicz, P. I., Zeltser, I. S., Akhavan, A. (2011). Emerging biomarkers for prostate cancer diagnosis, staging, and

- prognosis. *Archivos Españoles De Urología*, 64(8), 681. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22052751>
- Sharp, V. J., Takacs, E. B., & Powell, C. R. (2010). Prostatitis: Diagnóstico y tratamiento. *Am Fam Physician*, 82(4), 297-406.
- Shen M.M, Abate-Shen C. (2010). Molecular genetics of prostate cancer: new prospects for old challenges. *Genes Dev*, 24(18), 1967-2000.
- Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2018). Cancer statistics, 2018. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68(1), 7-30.
- Siegel, R., Ma, J., Zou, Z., & Jemal, A. (2014). Cancer statistics, 2014. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 64(1), 9-29. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.21208/abstract>
- Silva, C. L., Passos, M., & Câmara, J. S. (2012). Solid phase microextraction, mass spectrometry and metabolomic approaches for detection of potential urinary cancer biomarkers—A powerful strategy for breast cancer diagnosis. *Talanta*, 89, 360-368. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003991401101109X>
- Sinha, A. A., Wilson, M. J., & Gleason, D. F. (1987). Immunoelectron microscopic localization of prostatic-specific antigen in human prostate by the protein A-gold complex. *Cancer*, 60(6), 1288-1293. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2441840>
- Smith D.S., Catalona W.J. (1994). The nature of prostate cancer detected through PSA based screening. *J Urol*, 152, 1732-1740.
- Sokoll L.J., Partin A.W., Mikolajczyk S.D., Rittenhose H.R., Evans C.E., Linton H.J., et al. (2003). Proenzyme PSA for the early detection of prostate cancer in the 2.5-4.0 ng/ml total PSA range. *Urology*, 61, 274-276.
- Sommerfeld, H.J. et al. (1996). Telomerase activity: a prevalent marker of malignant human prostate tissue. *Cancer Res*, 56, 218–222.
- Soto-González, M., da Cuña-Carrera, I., Gutierrez, M., & Lantarón, E.M. (2017). Physiotherapy in severe urinary incontinence and erectile dysfunction after prostatectomy: A case study. *Fisioterapia*, in press.
- Stephenson R.A. (2002). Prostate cancer trends in the era of prostate-specific antigen. An update of incidence, mortality, and clinical factors from the SEER database. *Urol Clin North Am*, 29(1), 173-181.
- Stott, S. L., Lee, R. J., Nagrath, S., Yu, M., Miyamoto, D. T., Lindsey Ulkus, . . . Maheswaran, S. (2010). Isolation and characterization of circulating tumor cells from patients with localized and metastatic prostate cancer. *Science Translational Medicine*, 2(25), 25ra23. Retrieved from <http://stm.sciencemag.org/content/2/25/25ra23.abstract>

- Sun X, Shao K, Wang T (2016). Detection of volatile organic compounds (VOCs) from exhaled breath as noninvasive methods for cancer diagnosis. *Anal Bioanal Chem*, 408 (11), 2759-2780. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26677028>
- Suzuki, K., Matsui, H., & Ohtake, N. (2013). Clinical and basic aspects of familial prostate cancer. *Gan to Kagaku Ryoho. Cancer & Chemotherapy*, 40(2), 159. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23411953>
- Swallow, T., Chowdhury, S., & Kirby, R.S. (2011). Cancer of the prostate gland. *Medicine*, 40(1), 10-13. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S1357303911002453>
- Szot, W., Kostkiewicz, M., Zając, J., Owoc, A., & Bojar, I. (2014). Prostate cancer in patients from rural and suburban areas--PSA value, gleason score and presence of metastases in bone scan. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine : AAEM*, 21(4), 888-892. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25528940>
- Taira, A.V., Merrick, G.S., Butler, W.M., Galbreath, R.W., Lief, J., Adamovich, E., & Wallner, K.E. (2011). Long-term outcome for clinically localized prostate cancer treated with permanent interstitial brachytherapy. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 79(5), 1336-1342. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S0360301610000222>
- Taverna, G., Tidu, L., Grizzi, F., Stork, B., Mandressi, A., Seveso, M., . . . Guazzoni, G. (2016). Highly-trained dogs' olfactory system for detecting biochemical recurrence following radical prostatectomy. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 54(3), 67-70. Retrieved from <http://www.degruyter.com/doi/10.1515/cclm-2015-0717>
- Taverna, G., Tidu, L., Grizzi, F., Torri, V., Mandressi, A., Sardella, P., Graziotti, P. (2015). Olfactory system of highly trained dogs detects prostate cancer in urine samples. *Journal of Urology, The*, 193(4), 1382-1387. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S002253471404573X>
- Terrier, J., & Mottet, N. (2013). Metabolic syndrome and insulin resistance in patients with prostate cancer treated with androgen deprivation hormone. *Progrès en urologie : journal de l'Association française d'urologie et de la Société française d'urologie*, 23(2), 88. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23352300>
- Thiruchelvam, N. (2014). Benign prostatic hiperplasia. *Surgery (Oxford)*, 32, 314-322.
- Thomson A.A. (2008). Mesenchymal mechanisms in prostate organogenesis. *Differentiation*, 76(6), 587-598
- Toivanen, R., & Shen, M. M. (2017). Prostate organogenesis: Tissue induction, hormonal regulation and cell type specification. *Development*, 144(8), 1382-1398.

- Tomlins, S. A. et al. (2005). Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science*, 310, 644–664.
- Touijer K., Eastham J.A., Secin F.P., Romero Otero J., Serio A., Stasi J., Sanchez-Salas R., Vickers A., Reuter V.E., Scardino P.T., Guillonneau B. (2008). Comprehensive prospective comparative analysis of outcomes between open and laparoscopic radical prostatectomy conducted in 2003 to 2005. *J Urol*, 179(5), 1811-1817.
- Treglia, G., et al. (2014). Relationship between prostate-specific antigen kinetics and detection rate of radiolabelled choline PET/CT in restaging prostate cancer patients: a meta-analysis. *Clin Chem Lab Med*, 52, 725.
- Uprimny C., Kroiss A.S., Decristoforo C., Fritz J., von Guggenberg E., Kendler D. et al. (2017). 68Ga-PSMA-11 PET/CT in primary staging of prostate cancer: PSA and Gleason score predict the intensity of tracer accumulation in the primary tumour. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 44, 941-944.
- Uzage, A. R., Xu, Y., & Isaacs, J. T. (2004). In vitro culturing and characteristics of transit amplifying epithelial cells from human prostate tissue. *J Cell Biochem*, 91, 196-205.
- Van der Kwast, T., Bubendorf, L., Mazerolles, C., Raspollini, M., Van Leenders, G., Pihl, C. -, & Kujala, P. (2013). Guidelines on processing and reporting of prostate biopsies: The 2013 update of the pathology committee of the european randomized study of screening for prostate cancer (ERSPC). *Virchows Archiv*, 463(3), 367-377. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23918245>
- Van Hove, A., et al. (2014). Comparison of image-guided targeted biopsies versus systematic randomized biopsies in the detection of prostate cancer: a systematic literature review of well-designed studies. *World J Urol*, 32, 84.
- Van Neste, L., Hendriks, R. J., Dijkstra, S., Trooskens, G., Cornel, E. B., & Jannink, S. A. (2016). Detection of high-grade prostate cancer using a urinary molecular Biomarker-Based risk score. *European Urology*, 70, 740-748.
- Varambally, S. et al. (2008). Golgi protein GOLM1 is a tissue and urine biomarker of prostate cancer. *Neoplasia*, 10, 1285–1294.
- Veiga, F., Malfeito, R., & López, C. (2010). Hiperplasia benigna de próstata. *Tratado De Geriatria Para Residentes*, 63, 647-653.
- Vilanova, M. (2009). *Etología veterinaria* (1ª ed.). Sant Cugat del Vallés, Barcelona: Multimèdica Ediciones Veterinarias.
- Villers A., Steg A., Boccon-Gibod L. (1991). Anatomy of the prostate: review of the different models. *Eur Urol*, 20(4), 261-268.

- Wadhwa H., Terris M.K., Aronson W.J., Kane C.J., Amling C.L., Cooperberg M.R., Freedland S.J., Abern M.R. (2016) Long-term oncological outcomes of apical positive surgical margins at radical prostatectomy in the Shared Equal Access Regional Cancer Hospital cohort. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 19(4), 423- 428.
- Walsh P.C. (2007). The discovery of the cavernous nerves and development of nerve sparing radical retropubic prostatectomy. *J Urol*, 177, 1632-1635.
- Wang M.C., Valenzuela L.A., Murphy G.P., Chu T.M. (1979). Purification of a human prostate specific antigen. *Invest Urol*, 17, 159-163.
- Wang, C., Li, P., Lian, A., Sun, B., Wang, X., Guo, L., . . . Li, E. (2014a). Blood volatile compounds as biomarkers for colorectal cancer. *Cancer Biol Ther*, 15, 200-206.
- Wang, C., Li, P., Lian, A., Sun, B., Wang, X., Guo, L., . . . Li, E. (2014b). Blood volatile compounds as biomarkers for colorectal cancer. *Cancer Biology & Therapy*, 15(2), 200-206. Retrieved from <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/cbt.26723>
- Wang, X., An, P., Zeng, J., Liu, X., Wang, B., Fang, X., . . . Min, J. (2017). Serum ferritin in combination with prostate-specific antigen improves predictive accuracy for prostate cancer. *Oncotarget*, 14, 17862.
- Wang, Z. A., Mitrofanova, A., Bergren, S. K., Abate-shen, C., Cardiff, R. D., Califano, A., & Shen, M. M. (2013). Lineage analysis of basal epithelial cells reveals their unexpected plasticity and supports a cell-of-origin model for prostate cancer heterogeneity. *Nature Cell Biology*, 15(3), 274. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23434823>
- Watanabe, H., Kato, H., Kato, T., & et al. (1968). Diagnostic application of the ultrasound tomography for the prostate. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi*, 59(4), 273-279.
- Watters, J. L., Park, Y., Hollenbeck, A., Schatzkin, A., & Albanes, D. (2009). Cigarette smoking and prostate cancer in a prospective US cohort study. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 18(9), 2427-2435. Retrieved from <http://cebp.aacrjournals.org/content/18/9/2427.abstract>
- Watters, J. L., Park, Y., Hollenbeck, A., Schatzkin, A., & Albanes, D. (2010). Alcoholic beverages and prostate cancer in a prospective US cohort study. *American Journal of Epidemiology*, 172(7), 773-780. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20813803>
- Wegelin, O., van Melick H.H.E., Hooft L., Bosch J.L.H.R., . . . & Somford D.M. (2017). Comparing Three Different Techniques for Magnetic Resonance Imaging-targeted Prostate Biopsies: A Systematic Review of In-bore versus Magnetic Resonance Imaging-transrectal Ultrasound fusion versus Cognitive Registration. Is There a Preferred Technique? *Eur Urol*, 71(4), 517-531.

- Weidner, W., Wagenlehner, F. M. E., Marconi, M., Pilatz, A., Pantke, K. H. P., & Diemer, T. (2008). Acute bacterial prostatitis and chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome: Andrological implications. *Andrologia*, *40*(2), 105-112. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1439-0272.2007.00828.x/abstract>
- Wein, A. J., Kavoussi, L. R., Novick, A. C., Partin, A. W., & Peters, C. A. (2015). *Campbell-walsh urology* (10th ed.). Saint Louis: Saunders. Retrieved from <http://lib.myilibrary.com?ID=755135>
- Weinreb, J.C., et al. (2016). PI-RADS Prostate Imaging - Reporting and Data System: 2015, Version 2. *Eur Urol*, *69*, 16.
- Welti, J., Rodrigues, D. N., Sharp, A., Sun, S., Lorente, D., Riisnaes, R., . . . Plymate, S. R. (2016). Analytical validation and clinical qualification of a new immunohistochemical assay for androgen receptor splice variant-7 protein expression in metastatic castration-resistant prostate cancer. *European Urology*, *70*(4), 599-608. Retrieved from <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S0302283816300276>
- Whitman E.J., Groskopf J., Ali A., et al. (2008). PCA3 score before radical prostatectomy predicts extracapsular extension and tumor volume. *J Urol*, *180*, 1975–1978.
- Wicha, M. S., & Hayes, D. F. (2011). Circulating tumor cells: Not all detected cells are bad and not all bad cells are detected. *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, *29*(12), 1508-1511. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21422428>
- Williams, H., & Pembroke, A. (1989). Sniffer dogs in the melanoma clinic? *Lancet (London, England)*, *1*(8640), 734. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2564551>
- Willis, C.M., Church, S.M., Guest, C.M., Cook, W.A., McCarthy, N., Bransbury, A.J., . . . Church, J.C.T. (2004). Olfactory detection of human bladder cancer by dogs: Proof of principle study. *Bmj*, *329*(7468), 712-714. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.329.7468.712>
- Witte, J. S. (2009). Prostate cancer genomics: Towards a new understanding. *Nature Reviews Genetics*, *10*(2), 77-82. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1038/nrg2507>
- Wolf, A. M., Wender, R. C., Etzioni, R. B., Thompson, I. D., D'Amico, A. V., & Volk, R. J. (2010). Comparison of percent free PSA, PSA density, and age-specific PSA cutoffs for prostate cancer detection and staging. *Urology*, *60*, 70-98.
- Woodson, K. et al. (2008). The usefulness of the detection of GSTP1 methylation in urine as a biomarker in the diagnosis of prostate cancer. *J. Urol*, *179*, 508–511.

- Wu, Y., Chen, H., Jiang, G., Mo, Z., Ye, D., Wang, M., . . . Sun, Y. (2018). Genome-wide association study (GWAS) of germline copy number variations (CNVs) reveal genetic risks of prostate cancer in chinese population. *J Cancer*, 9(5), 923-928.
- Yamoah, K., Johnson, M. H., Choeurng, V., Faisal, F. A., Yousefi, K., Haddad, Z., . . . Schaeffer, E. M. (2015). Novel biomarker signature that may predict aggressive disease in african american men with prostate cancer. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 33(25), 2789-2796.
- Yaxley, J.W., et al. (2016). Robot-assisted laparoscopic prostatectomy versus open radical retropubic prostatectomy: early outcomes from a randomised controlled phase 3 study. *Lancet*, 388, 1057.
- Yossepowitch O., Briganti A., Eastham J.A., Epstein J., Graefen M., Montironi R., Touijer K. (2014). Positive surgical margins after radical prostatectomy: a systematic review and contemporary update. *Eur Urol*, 65(2), 303-313.
- You J., Cozzi P., Walsh B., Willcox M., Kearsley J., Russell P., Li Y. (2010). Innovative biomarkers for prostate cancer early diagnosis and progression. *Crit Rev Oncol Hematol*, 73, 10-22.
- Zarandi, M., Varga, J. L., Schally, A. V., Horvath, J. E., Toller, G. L., Kovacs, M., . . . Halmos, G. (2006). Lipopeptide antagonists of growth hormone-releasing hormone with improved antitumor activities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(12), 4610-4615. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/30048989>
- Zeegers, M. P. A., Jellema, A., & Ostrer, H. (2003). Empiric risk of prostate carcinoma for relatives of patients with prostate carcinoma: A meta-analysis. *Cancer*, 97(8), 1894-1903.
- Zelefsky M.J., Leibel S.A., Gaudin P.B., et al. (1998). Dose escalation with three-dimensional conformal radiation therapy affects the outcome in prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 41, 491-500.
- Zhang, L., Jiang, H., Tong, S., Zhu, H., Liu, J., & Ding, Q. (2013). Prostate-specific antigen kinetics under androgen deprivation therapy and prostate cancer prognosis. *Urologia Internationalis*, 91(1), 38-48. Retrieved from <https://www.karger.com/Article/Abstract/345939>
- Zhu, M. L., & Kyprianou, N. (2008). Androgen receptor and growth factor signaling cross-talk in prostate cancer cells. *Endocrine-Related Cancer*, 15(4), 841-849. Retrieved from <http://erc.endocrinology-journals.org/content/15/4/841.abstract>

8. ANEXOS

ANEXO 1

DOCUMENTO INFORMATIVO PARA LOS PARTICIPANTES EN EL ESTUDIO TITULADO

“Marcadores volátiles urinarios como herramienta diagnóstica y de screening del Cáncer de próstata”

Antes de proceder a la firma de este consentimiento informado, lea atentamente la información que a continuación se le facilita y realice las preguntas que considere oportunas.

Naturaleza

El servicio de Urología del Hospital Campus de la Salud de Granada, junto con el Departamento de Bioquímica e Inmunología de la facultad de Medicina de la Universidad de Granada, está realizando un estudio sobre el impacto que tiene en el diagnóstico de los pacientes con sospecha de carcinoma de próstata la determinación de sustancias volátiles en la orina de estos sujetos.

Descripción

Ha sido invitado a participar en una investigación sobre salud y estrés. El estudio está realizado por un equipo de investigadores de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada, dirigidos por el Dr, Antonio Jiménez Pacheco, Urólogo del Hospital Campus de la Salud, el Prof. D. José María Peinado Herreros. Los investigadores de contacto del proyecto son María Salinero Bachiller, graduada en biología y la Dra. Concepción Iribar Ibabe, departamento de bioquímica de la Universidad de Granada.

Usted fue seleccionado para participar en esta investigación ya que cumple una serie de características. Se espera que en este estudio participen al menos 50 voluntarios.

Si acepta participar en esta investigación, se le solicitará que rellene los siguientes cuestionarios:

1. Cuestionario de variables sociodemográficas

Objetivo

Determinar la presencia de compuestos orgánicos volátiles en la orina de pacientes que van a ser sometidos a biopsia endorrectal ecodirigida y en sujetos sanos, para poder predecir, a priori, el resultado de la biopsia.

Procedimiento

El equipo investigador deberá recoger la primera orina de la mañana de cada paciente que sea citado. Posteriormente, el urólogo responsable del estudio le realizará un masaje prostático y después de esto, el paciente deberá orinar una segunda vez.

Importancia:

El urólogo controlará estrechamente su enfermedad y su evolución durante todo el estudio.

Implicaciones para el participante:

- Debe entender que su participación es totalmente **voluntaria**.
- Usted puede **retirarse** del estudio cuando así lo manifieste, sin dar explicaciones y sin que esto tenga ningún tipo de repercusión sobre su situación actual.
- Todos los datos carácter personal, obtenidos en este estudio son **confidenciales** y se tratarán conforme a la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal 15/99. La identidad de cada participante será protegida mediante la identificación anónima de las muestras. Se le pedirá al participante que identifique las muestras y cuestionarios con un número o pseudónimo que solamente él conocerá.
- La información obtenida se utilizará exclusivamente para los **finés específicos** de este estudio.
- Usted no recibirá ningún **incentivo** económico ni en bienes por su participación en el estudio, pero sí recibirá un informe personalizado sobre sus resultados en el contexto general del estudio.
- También tienen derecho a no contestar alguna/s pregunta/s en particular. Además, tiene derecho a recibir una copia de este documento así como del consentimiento firmado.
- Será informado/a de cualquier descubrimiento inesperado que se pueda producir con el fin de evitar un grave perjuicio para su salud.

Riesgos de la investigación para el participante:

No existen riesgos para la participación en este estudio ya que no entraña ningún peligro para la salud.

Beneficios de la investigación.

Durante el estudio, usted será informado de su evolución y controlado estrechamente por su urólogo.

Aun cuando Vd. En particular no obtenga beneficio directo de su participación en el estudio, la información que este proporcione se espera que pueda beneficiar al tratamiento de otros pacientes con su misma enfermedad en el futuro.

Si tiene alguna pregunta o desea más información sobre esta investigación, por favor comuníquese con María Salinero Bachiller, en el teléfono 666115032 o correo electrónico: msaliner@ugr.es

ANEXO 2

CONSENTIMIENTO INFORMADO – CONSENTIMIENTO POR ESCRITO DEL PACIENTE
Proyecto sobre “Biomarcadores Volátiles Urinarios Como Herramienta Diagnóstica Y De
Screening Del Cáncer De Próstata”

Yo (Nombre, Apellidos):

- He recibido suficiente información sobre el estudio “Biomarcadores volátiles urinarios como herramienta diagnóstica y de screening del cáncer de próstata”.
- He hablado con el profesional sanitario informador: Prof. José M. Peinado Herreros, con el Dr. Antonio Jiménez Pacheco o con otros miembros del equipo investigador.
- He podido hacer preguntas sobre el estudio “Biomarcadores volátiles urinarios como herramienta diagnóstica y de screening del cáncer de próstata”.
- Comprendo que mi participación es voluntaria y soy libre de participar o no en el estudio.
- Se me ha informado que todos los datos obtenidos en este estudio serán confidenciales y se tratarán conforme establece la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal 15/99.
- Se me ha informado de que la información obtenida sólo se utilizará para los fines específicos del estudio.
- Deseo ser informado/a de mis datos y otros de carácter personal que se obtengan en el curso de la investigación, incluidos los descubrimientos inesperados que se puedan producir, siempre que esta información sea necesaria para evitar un grave perjuicio para mi salud o la de mis familiares biológicos.

Sí No

- Comprendo que puedo retirarme del estudio:
 - ✓ Cuando quiera
 - ✓ Sin tener que dar explicaciones
 - ✓ Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Presto libremente mi conformidad para participar en el proyecto titulado “Biomarcadores volátiles urinarios como herramienta diagnóstica y de screening del cáncer de próstata”.

Nombre y apellidos del participante

Dr. José M. Peinado Herreros

Dr. Antonio Jiménez Pacheco

María Salinero Bachiller

Firma del participante

Firma del investigador

En Granada, a.....de.....

ANEXO III

VARIABLES SOCIODEMOGRÁFICAS:

Nº identificación:

1. Edad del paciente en el momento de participación en el estudio. AÑOS CON 1 DECIMAL
2. Estado civil:
3. Talla En cm
4. Peso en Kg
5. IMC peso/talla², kg/m²
6. Antecedentes personales:
 - a. Diabetes SI o NO
 - b. Dislipemia SI o NO
 - c. Hipertensión SI o NO
 - d. EPOC SI o NO
7. Antecedentes familiares de Ca. de próstata. SI o NO
8. Antecedentes genitourinarios.
 - a. Hiperplasia benigna de próstata. SI o NO
 - b. Infecciones de tracto urinario inferior en el último año SI o NO
 - c. Infecciones de tracto urinario superior en el último año SI o NO
 - d. Insuficiencia Renal y otros problemas en el último año SI o NO
9. Antecedentes laborales. Exposición a contaminantes.
10. Composición del hogar.
 - Vive solo
 - Vive acompañado ¿con quién vive? ¿Personas a su cargo?
¿Hijos?
11. ¿A qué hora se levanta?
12. ¿Cuántas horas duerme normalmente al día?
 - Por la noche:
 - Siesta: tiempo:
13. Tabaquismo
 - a. NO FUMADOR
 - b. EXFUMADOR. ¿Hace cuánto que no fuma?
 - c. SI. número de cigarrillos/día.
14. Alcoholismo: (1 lata de cerveza es aproximadamente 13-14 gr; 9 latas se sitúa en torno a los 180 gr. Una botella de vino, 750 ml, graduación 14-15, da 90 gr de alcohol. Una botella de destilado, 750 ml, 40 grados, da 240 gramos)
 - a. Riesgo bajo. Menos de 170 gr/semana
 - b. Riesgo moderado. 170-400 gr/semana
 - c. Riesgo alto. Más de 400 gr/semana.
15. Otros hábitos tóxicos:
 - a. cannabis SI o NO
 - b. Cocaína. SI o NO
 - c. Otros SI o NO, ¿Cuál?
16. ¿Padece alguna enfermedad crónica? ¿Cuál?
17. Tratamiento farmacológico.
18. Alimentación día anterior
19. Ingesta hídrica.
 - a. Menos de 1/día
 - b. 1-2 l/día
 - c. Más de 2 l/día

ANEXO IV

VARIABLES DIAGNÓSTICO:

13. Tiempo en meses desde el inicio de los síntomas.
14. Síntomas de tracto urinario inferior.
 - a. SI
 - b. NO
 - c. Escala IPSS (cuestionario que valora los síntomas de tracto urinario inferior)
 - i. 0-7 leve
 - ii. 8-19 moderado
 - iii. 20-35 grave
15. PSA
 - a. Valor de PSA_t:
 - b. Paciente con cualquier valor de PSA y velocidad de crecimiento de PSA de 0,75 ng/ml/año
16. Volumen de próstata por Ecografía
 - a. Menos de 30 ml
 - b. 30-40 ml
 - c. 40-50 ml
 - d. 50-60 ml
 - e. Más de 60 ml
17. Alteraciones ecoestructura SI o NO
18. Grado de Gleason (grado de diferenciación glandular)
 - a. Menor o igual de 6
 - b. 7-8
 - c. Más de 8
19. Lóbulo afecto
 - a. Dcho
 - b. Izq
 - c. ambos
20. Porcentaje de muestra afectada.
 - a. Número de cilindros afectados.(0-10) 5 en cada lóbulo
 - b. % afecto de cada cilindro expresado en mm
21. Tacto rectal. SI o NO
22. Fosfatasa alcalina. SI o NO
23. Anatomía patológica (salvo el T1c que sería cualquier paciente diagnosticado de CaP por biopsia, el resto sería tras prostatectomía)
 - a. T0
 - b. T1c
 - c. 1 T2a afecta a menos de la mitad de un lóbulo.
 - d. 2 T2b afecta a más de la mitad de un lóbulo.
 - e. 3 T2c afectación de ambos lóbulos
 - f. 4 T3a
 - g. 5 T3b
 - h. 6 T4

ANEXO V



Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERIA DE SALUD

D. Miguel Ángel Calleja Hernández Secretario del Comité de Ética de la Investigación de Centro de Granada (CEI-GRANADA)

CERTIFICA

Que este Comité ha analizado la propuesta del Investigador Dr. Antonio Jiménez Pacheco del Servicio de Urología del Hospital Santa Ana de Motril para que se realice el estudio titulado: "Estudio de posibles nuevos marcadores volátiles en la orina de pacientes diagnosticados de cáncer de próstata" y considera que:

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del proyecto en relación con los objetivos del estudio.

La capacidad del investigador y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Entendiendo que dicho estudio se ajusta a las normas éticas esenciales y criterios deontológicos que rigen en este centro.

Y que este Comité acepta que dicho estudio sea realizado por el Dr. Antonio Jiménez Pacheco como investigador principal en el mismo y colaboradores.

Lo que firmo en Granada a veintires de diciembre de dos mil once.



20

Hospital Universitario Virgen de las Nieves
C/ose. Fuerzas Armadas 2, 18014 Granada
Tel. 958 02 60 00, 1-4 958 02 61 30

