

Score genético predice agresividad del cáncer de próstata

Pablo Rojas¹, Paola Viviani², Viviana Montecinos³, Yu Ting Zhou⁴, Claudio Morales⁵, Alejandro Godoy^{6,7}, Ignacio San Francisco¹

Resumen

Introducción: Establecer un score genético utilizando los polimorfismos de nucleótido único (SNPs) del gen que codifica para Ribonucleasa L (RNASEL) y regiones cromosómicas 8q24 y 17q12-24 en combinación con el antígeno específico de la próstata (PSA) para predecir la agresividad del cáncer de próstata (CaP). **Pacientes y métodos:** hombres con CaP tratados con prostatectomía radical. Se analizaron variables clínicas y patológicas: edad al diagnóstico, PSA al diagnóstico, el volumen tumoral (TV) y extensión extracapsular (ECE) según el TNM (*tumour, node and metastasis*) (ECE \geq T3) y score de Gleason. Desarrollamos un modelo de puntaje genético usando regresión logística multivariable. **Resultados:** se incluyeron 86 pacientes sometidos a prostatectomía radical. Edad promedio fue de $62 \pm 7,5$ años. El promedio de PSA fue de $11,3 \pm 10,6$ ng/mL. Treinta y un pacientes (36%) tuvieron ECE. La mediana del TV fue de 3,8 cc. Un PSA ≥ 10 ng/mL se asoció con una mayor tasa de ECE ($p < 0,05$) y TV más alto ($p = 0,032$). En el análisis univariable, los pacientes con > 1 SNP tienen mayor riesgo de ECE que los pacientes con ≤ 1 SNP (42% vs. 10,5%, $p = 0,01$), y los pacientes con ≥ 3 SNP tienen más TV que los pacientes con < 3 SNP (60% vs. 32%, $p = 0,015$). Se crearon dos modelos de riesgo usando el número de SNP y PSA \geq o < 10 ng/mL para predecir ECE (sensibilidad 67% y especificidad 84%) y TV (sensibilidad 59% y especificidad 70%). **Conclusiones:** El score genético presentado en este estudio es una herramienta novedosa para predecir indicadores de agresividad del CaP, como ECE y TV.

Palabras clave: score genético; cáncer de próstata; antígeno prostático específico; SNPs; volumen tumoral.

Abstract

Introduction: To establish a genetic score using SNPs (from *RNASEL* and chromosomal regions 8q24 and 17q12-24) in combination with Prostate Specific Antigen (PSA) at diagnosis to predict aggressiveness of PCa (tumor volume (TV) and extracapsular extension (ECE)). **Patients and methods:** Men with PCa diagnosed by needle biopsy and treated with radical prostatectomy (RP). Clinical and pathological variables such as age at diagnosis, PSA at diagnosis, TV, extension of tumor according TNM (ECE \geq T3) and Gleason score were analyzed. We developed a genetic score model using Multivariate Logistic Regression. **Results:** We included 86 patients who underwent RP. Mean age 62 ± 7.5 years. Mean PSA was 11.3 ± 10.6 ng/mL. Thirty-one patients (36%) had ECE. Median TV was 3.8 cc. PSA ≥ 10 ng/mL was associated with increased rate of ECE ($p < 0.05$) and higher TV ($p = 0.032$). In univariate analysis, patients with more than 1 SNP had a greater risk of ECE than patients with ≤ 1 SNP (42% vs. 10.5%, $p = 0.01$), and patients with ≥ 3 risk SNPs had more TV than patients with < 3 SNPs risk (60% vs. 32%, $p = 0.015$). Two models of risk using the number of SNPs and PSA \geq or < 10 ng/mL to predict ECE (sensitivity 67% and specificity 84%) and TV (sensitivity 59% and specificity 70%) were created. **Conclusions:** Genetic score using described SNPs and preoperative PSA can predict aggressiveness of PCa, which would be useful to define a management with more information at diagnosis especially in localized cancers.

Keywords: genetic score; prostate cancer; Prostate Specific Antigen; SNPs; tumor volume.

Fecha de envío: 1 de marzo de 2018 - Fecha de aceptación: 17 de julio de 2018

(1) Departamento Urología, Facultad Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

(2) Departamento Salud Pública, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

(3) Departamento de Hemato-Oncología, Facultad de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile.

(4) Escuela de Medicina, Facultad de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile.

(5) Hospital Félix Bulnes.

(6) Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

(7) Department of Urology, Roswell Park Cancer Institute, Buffalo NY, 14263.

Autor de correspondencia: isanfrancisco@med.puc.cl



Introducción

El cáncer de próstata (CaP) es uno de los cánceres más comunes en los hombres. En USA se diagnosticaron 137,9 por 100000 hombres por año entre 2008 y 2012 y se estima que 1 de cada 7 hombres serán diagnosticados con CaP a lo largo de su vida (Siegel *et al.*, 2014). En Chile, el CaP es el cáncer más común en los hombres, con una tasa de incidencia ajustada de 50,6 por 100000 hombres y una tasa de mortalidad de 22,7 por 100000 hombres en 2010 (Ministerio de Salud de Chile, 2012).

Se han asociado diversas variables genéticas y ambientales con la patogénesis del CaP. Se ha descrito que muchos factores ambientales, incluida la dieta grasa (Zhou *et al.*, 1997) y la obesidad (Giovanucci *et al.*, 2003), están involucrados en el desarrollo del CaP. Por otro lado, se sabe que los antecedentes familiares, la edad y la raza son factores de riesgo para CaP (Steinberg *et al.*, 1990). Además, estudios de asociación de todo el genoma o GWAS (Genome-Wide Association Studies) han identificado múltiples polimorfismos de nucleótido único (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs) asociados con la presencia de CaP (Hindorff *et al.*, 2009), y recientemente, estos SNPs se han asociado con la agresividad del CaP. Por ejemplo, El Gammal *et al.*, (2010) mostró que SNPs del cromosoma 8q se asociaron con un aumento de la recurrencia bioquímica en análisis univariable, pero no en el análisis multivariable. Chan *et al.*, (2013) demostraron que el genotipo A/A del SNP rs4430796 del cromosoma 17q tenía mayor nivel de Antígeno Prostático Específico (PSA) y del puntaje de Gleason en el momento del diagnóstico, ambos parámetros de mal pronóstico del CaP.

Recientemente, hemos demostrado una asociación entre varios SNPs y la presencia de CaP en la población hispana (Rojas *et al.*, 2014; San Francisco *et al.*, 2014). En estos estudios observamos, además, que algunos SNP del gen *RNASEL* y de las regiones cromosómicas 18q24 y 17q12-24 se asociaron con parámetros clínicos de agresividad del CaP (PSA, TV y ECE).

En nuestros estudios previos, establecemos que cada SNP se ha asociado independientemente con diferentes resultados. Sin embargo, algunos SNPs podrían tener un fuerte efecto acumulativo (Hindorff *et al.*, 2009) y podrían usarse en combinaciones con PSA, aumentando su función predictiva (Nam *et al.*, 2009; Aly *et al.*, 2011). Por esta razón, podría ser útil agrupar los SNPs y otras variables en los perfiles de riesgo de agresividad del CaP. El objetivo del presente estudio es establecer un modelo de *score* genético utilizando los SNPs de riesgo descritos en nuestros estudios previos en combinación con variables pre-quirúrgicas para predecir parámetros de agresividad histológicos del CaP, que se evidencian en el espécimen operatorio y que como consecuencia se pudieran relacionar, a largo plazo, con recidiva bioquímica y mortalidad específica por CaP.

Metodología

Pacientes

La muestra de este estudio incluyó a hombres chilenos diagnosticados con CaP en dos Centros: el Hospital Clínico de la Pontificia Universidad Católica de Chile y el Hospital Sótero del Río, ambos de Santiago de Chile. Los pacientes fueron reclutados entre 2010 y 2014. El estudio fue aprobado por el comité de ética de ambas instituciones y todos los pacientes firmaron un consentimiento informado previo a los procedimientos. Los pacientes con CaP fueron diagnosticados mediante biopsia transrectal y tratados con prostatectomía radical (RP). En este estudio se analizaron variables clínicas y patológicas como la edad al momento del diagnóstico, el PSA en el momento del diagnóstico, el TV, extensión del tumor según TNM descrito por American Joint Committee on Cancer (AJCC) (órgano confinado: T ≤ T2c, y no-órgano confinado: ECE ≥ T3) y Gleason Score de la pieza quirúrgica.

Extracción y cuantificación de ADN

El ADN se extrajo del *buffycoat*, utilizando el kit de extracción de QIAGEN (QLAamp DNA Mini Blood Kit) (QIAGEN, Valencia, CA) de acuerdo con nuestro estudio anterior (San Francisco *et al.*, 2014). La cuantificación del ADN extraído se realizó usando el sistema espectrofotométrico de microvolúmenes Epoch de BioTek (QIAGEN, Valencia, CA).

Análisis genético

Los polimorfismos del gen *RNASEL* (Arg462Gln y Asp541Glu) y los de las regiones cromosómicas 8q24 (rs620861, rs1447295, rs6983267, rs7837328 y rs921146) y 17q12-24 (rs1859962 y rs4430796) se analizaron mediante pruebas de genotipado utilizando sondas Taqman. Las siguientes composiciones se usaron para cada prueba: 20 ng de ADN genómico, 1X de *TaqMan Genotyping Master Mix* y 1X *TaqMan*® SNP *Genotyping Assays* prediseñados. Los análisis de qPCR se realizaron usando el equipo *StepOne* (Applied Biosystems, Foster City, CA).

Análisis estadístico y puntaje genético

Las variables numéricas se presentan como media y desviación estándar (DE) o como medianas y mínimo/máximo cuando no hay distribución normal. Las variables categóricas se presentan como número de casos y porcentajes.

Para asociar los órganos confinados (-) con variables independientes de tipo categórico, se utilizó la prueba de *chi* cuadrado. Para asociar variables numéricas, se usaron la prueba *t* de Student o la prueba de *Mann Whitney*.

Se usó la curva ROC para encontrar el mejor corte del número de SNPs con genotipos de riesgo descritos en nuestros estudios previos (Rojas *et al.*, 2014; San Francisco *et al.*, 2014). Finalmente, para construir un puntaje de riesgo para el volumen tumoral y la enfermedad no órgano confinada, se utilizó regresión logística multivariable. Se consideró una significancia de $p < 0,05$.

Resultados

Un total de 205 pacientes diagnosticados con CaP en el período de estudio fueron reclutados. De estos, 86 pacientes fueron sometidos a RP, y, por lo tanto, corresponden a la muestra del estudio. La Tabla 1 muestra las características de los pacientes: la edad media fue de $62 \pm 7,5$ años, el PSA promedio fue de $11,3 \pm 10,6$ ng/mL. Cincuenta y cuatro pacientes (63%) tenían PSA < 10 ng/mL. Cincuenta y cinco pacientes (64%) tenían enfermedad órgano- confinada en el espécimen, mientras que el 36% restante presentó ECE, sólo con extensión microscópica sin comprometer las vesículas seminales ni

otros órganos (T3a de acuerdo al TNM). Trece pacientes (15%) tenían un puntaje de Gleason $\leq 6,56$ (65%) tenían un puntaje de Gleason 7 y 14 (16%) tenían un puntaje de Gleason ≥ 8 . El volumen tumoral mediano fue de 3,8 cc (DE 4,89) con un rango de 0,17 a 22 cc. Las frecuencias de los genotipos de SNPs se muestran en la Tabla 1.

El análisis univariable mostró que el PSA ≥ 10 ng/mL se asoció con una mayor probabilidad de tener ECE ($p < 0,0001$). Ni la edad ni los SNPs individuales mostraron asociación con este resultado. En un segundo análisis univariable, PSA ≥ 10 ng/mL y genotipo T/T del SNP rs921146 se asoció con un mayor volumen tumoral ($p = 0,015$ y $0,037$, respectivamente) (Tabla 2).

Tabla 1: Características de los pacientes incluidos y distribución de los genotipos Arg462Gln y Asp541Glu del gen que codifica para *RNASEL* y los SNP rs620861, rs1447295, rs6983267, rs7837328, rs921146 de la región cromosómica 8q24, y rs1859962 y rs4430796 de la región cromosómica 17q24-17q12.

Características	Número (%)
Edad media (años)	$62 \pm 7,5$
PSA media (ng/mL)	$11,3 \pm 10,6$
PSA < 10 (ng/mL)	54 (63)
≥ 10 (ng/mL)	32 (37)
CaP Organo-confinado	55 (64)
Gleason espécimen ≤ 6	13 (15)
7	56 (65)
≥ 8	14 (16)
TV media (mL)	3,8 (0,17-22)
Asp541Glu A/A, A/C, C/C n(%)	30 (35), 39 (45), 17 (20)
Arg462Gln C/C, C/T, T/T	41 (57), 31 (36), 6 (7)
rs7837328 A/A, A/G, G/G	12 (14), 41 (48), 33 (38)
rs921146 G/G, G/T, T/T	9 (10), 30 (35), 47 (55)
rs1447295 A/A, A/C, C/C	4 (5), 20 (23), 62 (72)
rs620861 A/A, A/G, G/G	5 (6), 36 (42), 45 (52)
rs6983267 G/G, G/T, T/T	32 (37), 34 (40), 19 (22)
rs4430796 A/A, A/G, G/G	43 (50), 36 (42), 6 (7)
rs1859962 G/G, G/T, T/T	24 (28), 45 (52), 17 (20)

Luego, para relacionar los SNPs con ECE, agrupamos los genotipos según su asociación con agresividad en nuestros estudios previos, considerando los genotipos de riesgo como: Asp541Glu = A/A, Arg462Gln = C/C, rs7837328 = G/G, rs921146 = G/G, rs1447295 = A/A, rs620861 = G/G, rs6983267 = T/T, rs4430796 = G/G, rs1859962 = T/T. Se observó que los pacientes con CaP órgano-confinado tenían una

mediana de 2 SNPs de riesgo en comparación con los hombres con ECE que tenían una mediana de 3 SNPs de riesgo ($p = 0,035$, datos no mostrados). A su vez, los pacientes con >1 SNP de riesgo (curva ROC; no mostrado) tienen significativamente más ECE que los pacientes con ≤ 1 SNP de riesgo (42% vs 10,5%, $p = 0,01$) (Tabla 3).

Tabla 2: Asociación del PSA y SNP (Arg462Gln y Asp541Glu del gen *RNASEL* codifica para ribonucleasa L, y los SNP rs620861, rs1447295, rs6983267, rs7837328, rs921146 de la región cromosómica 8q24, y rs1859962 y rs4430796 de la región cromosómica 17q24-17q12) con ECE (extensión extraprostática) y TV (volumen tumoral).

	Órgano-confinado (%)	No órgano-confinado (ECE, %)	P	TV $\leq 3,8$	TV > 3,8	P
PSA < 10 (ng/mL) ≥ 10 (ng/mL)	42 (79) 13 (41)	11 (21) 19 (59)	<0,0001	31 9	20 19	0,015
Edad < 70 (años) ≥ 70 (años)	45 (62,5) 10 (77)	27(37,5) 3 (23)	0,317	33 7	34 5	0,56
Asp541Glu A/A A/C C/C	16 (55) 27 (69) 12 (71)	13 (45) 12 (31) 5 (29)	0,415	14 18 8	14 17 8	0,992
Arg462Gln C/C C/T T/T	30 (63) 21 (68) 4 (67)	18 (37) 10 (32) 2 (33)	0,888	24 13 3	19 17 3	0,576
rs7837328 A/A A/G G/G	9 (75) 26 (65) 20 (61)	3 (25) 14 (35) 13 (39)	0,67	7 17 16	4 20 15	0,582
rs921146 G/G G/T T/T	5 (56) 23 (77) 27 (59)	4 (44) 7 (23) 19 (41)	0,23	2 20 18	5 9 25	0,037
rs1447295 A/A A/C C/C	2 (50) 15 (75) 38 (62)	2 (50) 5 (25) 23 (38)	0,481	1 10 29	1 10 28	0,998
rs620861 A/A A/G G/G	4 (80) 24 (69) 27 (60)	1 (20) 11 (31) 18 (40)	0,555	3 19 18	2 14 23	0,46
rs6983267 G/G G/T T/T	23 (72) 20 (60) 11 (58)	9 (28) 13 (40) 8 (42)	0,513	17 14 9	11 18 9	0,42
rs4430796 A/A A/G G/G	30 (70) 23 (66) 2 (33)	13 (30) 12 (34) 4 (67)	0,213	21 18 1	18 16 4	0,35
rs1859962 G/G G/T T/T	18 (75) 29 (64) 9 (53)	6 (25) 16 (36) 8 (47)	0,339	16 17 7	6 23 10	0,051

Tabla 3: Análisis univariable con el número de SNP (Arg462Gln y Asp541Glu del gen que codifica para *RNASEL*, y los SNP rs620861, rs1447295, rs6983267, rs7837328, rs921146 de las regiones cromosómicas 8q24, y rs1859962 y rs4430796 de la región cromosómica 17q24-17q12) y ECE (extensión extraprostática).

	Órgano-confinado (%)	ECE (%)	P
SNP ≤1	17 (89,5)	2 (10,5)	0,01
SNP >1	38 (58)	28 (42)	

Para relacionar los SNPs con TV, agrupamos los genotipos según su asociación con agresividad en nuestros estudios previos considerando los siguientes genotipos de riesgo: Asp541Glu = A/A o C/C, Arg462Gln = C/T, rs7837328 = A/G, rs921146 = G/ G, rs1447295 = A/A o A/C, rs620861 = G/G, rs6983267 = G/T, rs4430796 = G/G, rs1859962 = T/T. Se observó que los pacientes con TV ≤3,8 tenían una mediana de 2 SNPs de riesgo, mientras que los pacientes con TV por encima de 3,8 tenían 3 SNPs de riesgo (p = 0,053, datos no mostrados). Además, se encontró que los pacientes con más de 2 SNPs de riesgo (curva ROC; no mostrado) tenían un volumen tumoral por encima de la mediana (3,8 cc) en comparación con los hombres que tenían 2 o menos SNPs (60% vs 32%, p = 0,015) (Tabla 4).

Tabla 4: Análisis univariable con el número de SNP (Arg462Gln y Asp541Glu del gen codifica para *RNASEL*, y los SNP rs620861, rs1447295, rs6983267, rs7837328, rs921146 de las regiones cromosómicas 8q24, y rs1859962 y rs4430796 de la región cromosómica 17q24-17q12) y TV (volumen tumoral).

	TV ≤3,8	TV >3,8	P
SNP ≤2	21 (68)	10 (32)	0,015
SNP >2	19 (40)	29 (60)	

Se realizaron 2 análisis multivariables, el primero con PSA <10 ng/mL o ≥ 10 ng/mL y el número de SNPs de riesgo. Establecimos una puntuación genética (probabilidad entre 0 y 1) para presentar ECE (Tabla 5). Este modelo tiene una sensibilidad del 67% y una especificidad del 84%. El segundo análisis multivariable se realizó para el volumen de tumor de resultado, considerando la mediana de 3,8 cc como punto de corte. Utilizando este análisis multivariable y considerando PSA <10 ng/mL o ≥10 ng/mL y el número de SNPs de riesgo, establecimos una puntuación genética (probabilidad entre 0 y 1) para TV > 3,8 cc (Tabla 6). Este modelo tiene una sensibilidad del 59% y especificidad del 70%.

En ambos modelos (es decir, para tener ECE o TV más alta que la mediana) se consideraron un máximo de 6 SNPs de riesgo ya que ningún paciente tenía más de 6 SNP presentes.

Tabla 5: Modelo score genético para predecir ECE. Los casilleros muestran probabilidad, p. e. un paciente con PSA <10 ng/mL y 3 SNP de riesgos, tiene un 24% aproximadamente de presentar extensión extraprostática.

	Nº SNP ECE						
	0	1	2	3	4	5	6
PSA <10	0,0817	0,1194	0,1714	0,2398	0,3248	0,4231	0,5280
PSA >10	0,3261	0,4246	0,5295	0,6318	0,7235	0,7996	0,8589

Tabla 6: Modelo de score genético para predecir TV. Los casilleros muestran probabilidad, p. e. un paciente con PSA <10 ng/mL y 4 SNP de riesgos, tiene un 48% aproximadamente de presentar volumen tumoral > 3,8 mL.

	Nº SNP TV >3,8						
	0	1	2	3	4	5	6
PSA <10	0,1436	0,2041	0,2818	0,375	0,4785	0,584	0,6822
PSA >10	0,4007	0,5056	0,61	0,7052	0,7854	0,8484	0,8954

Discusión

Según nuestro conocimiento, este es el primer modelo que usa diferentes SNP de riesgo junto con el nivel de PSA en el momento del diagnóstico, estableciendo una probabilidad de riesgo para parámetros de agresividad del PCa. Estudios previos establecieron la asociación de SNPs y PSA en un puntaje genético con presencia de CaP (Nordström *et al.*, 2014). Para Eeles & Ni-Raghallaigh (2018), en una reciente revisión del tema, el uso en conjunto de información genética y PSA podría significar un gran avance en el screening del CaP. Nuestro trabajo se basa en el análisis de SNPs en suero, utilizando el nivel de PSA en el momento del diagnóstico para predecir criterios histológicos de agresividad del PCa, como TV y ECE, predictores históricos y avalados por la literatura de recidiva bioquímica y finalmente, mortalidad específica por CaP, indicadores que no fueron evaluados en el presente estudio debido al diseño y objetivo de éste.

La selección de los SNPs analizados se basa en una amplia literatura que respalda la asociación de ciertos genes con CaP. El gen *RNASEL* codifica para una endorribonucleasa con un papel importante como gen supresor de tumores (Álvarez-Cubero *et al.*, 2015). Por su parte, los SNPs del 8q24 pueden interactuar con el locus MYC (un factor transcriptor) e influir en su regulación (Reinhardt *et al.*, 2014). De forma similar, los cromosomas 17q12 están presente en la región no codificante del gen HNF1B, que podría modular la relación entre los andrógenos y las células cancerosas (Hu *et al.*, 2014).

Uno de los primeros hallazgos de nuestro actual estudio es que el PSA en el momento del diagnóstico se asoció con más ECE y a un mayor volumen tumoral en la biopsia final, resultados ampliamente descritos previamente (Caire *et al.*, 2010). Tanto el TV

como la extensión de CaP más allá de la cápsula ($T \geq 3$ de acuerdo a *American Joint Committee on Cancer*) son factores de riesgo para la recurrencia bioquímica y la mortalidad específica del CaP (Chung *et al.*, 2011). D'Amico *et al.*, (1998) describieron grupos de riesgo para la recidiva bioquímica, mostrando que los pacientes con PSA > mayor a 10 tenían un riesgo relativo mayor a 3 veces de recurrencia bioquímica. Este modelo de predicción también incluye la edad al momento del diagnóstico y el tacto rectal. En el estudio actual, la edad no se asoció con los resultados estudiados y el tacto rectal no se consideró en el momento del desarrollo del reclutamiento prospectivo.

Una de las principales desventajas en la utilidad de los SNPs como biomarcadores ha sido que los diferentes genes implicados se consideran de baja penetrancia (Kashyap *et al.*, 2014) y, por lo tanto, deben analizarse en conjunto. De acuerdo a Benaff *et al.*, (2016) y Eeles & Ni-Raghallaigh (2018) las variaciones genéticas pueden conferir un riesgo bajo, sin embargo, ante varias alteraciones se puede lograr un efecto genético más potente y de significancia clínica. Es por esta razón que realizamos el análisis de los SNPs considerando la cantidad de genotipos de riesgo. Por lo tanto, observamos que tener más de 1 SNP se asoció con ECE ($p = 0,01$, Tabla 3). Del mismo modo, tener más de 2 SNP de riesgo se asoció con un aumento del volumen tumoral ($p = 0,015$, tabla 5).

Una vez establecidos los primeros análisis, y luego, utilizando el análisis multivariable, creamos tablas que predicen parámetros de agresividad, utilizando PSA en el momento del diagnóstico y la cantidad de SNPs de riesgo. Por lo tanto, observamos que no tener genotipos de riesgo más PSA <10 ng/mL presenta un riesgo de 8% de tener ECE, en comparación con pacientes con el mismo rango de PSA, pero cuatro SNPs, que presentan más del 30% de probabilidad de tener ECE. Si analizamos pacientes con PSA > 10 ng/mL y con los mismos 4 genotipos de riesgo, la probabilidad de ECE aumenta dos veces, llegando a más del 70%. De manera similar, al establecer un puntaje para predecir TV mayor a 3,8 mL, notamos que en pacientes con PSA <10 ng/mL y sin genotipos de riesgo, la probabilidad de TV es cercana al 10%. En el mismo tipo de pacientes, pero con 4 SNPs de riesgo, la probabilidad de TV >3,8 mL es cercana al 50%, quintuplicando el riesgo de TV mayor de 3,8 mL. Si los pacientes presentan PSA > 10 ng/mL sumado a 4 SNPs de riesgo, la probabilidad fue del 78%. Por lo tanto, la suma del PSA elevado en el momento del diagnóstico asociado con un mayor número de SNPs de riesgo, aumenta la probabilidad de ECE y TV más alto.

Respecto a la sensibilidad y especificidad de los modelos, vemos que para extensión fuera de la próstata el score genético construido es capaz de detectar a un 67% de los pacientes con ECE, y es capaz

de descartar correctamente a un 84% de los pacientes sin ECE. Lo anterior refleja que es un modelo perfectible, sin embargo, tendría utilidad principalmente en descartar ECE, y por lo tanto, sería confiable a la hora de predecir si un tumor se encuentra confinado (localizado) en la próstata. De la misma manera, el modelo para TV >3,8 mL es capaz de detectar a un 59% de los pacientes con TV sobre el punto de corte, y de descartar volumen sobre los 3,8 mL en un 70% de los pacientes, presentando una capacidad media de descartar a los pacientes con volúmenes tumorales más elevados.

Actualmente se han desarrollado una serie de test genéticos, principalmente en tejido prostático (ya sea obtenido de la biopsia, como del espécimen operatorio) que buscan precisar cuál es el mejor tratamiento, predecir mortalidad y presencia de metástasis, es decir agresividad del tumor (Cucchiara *et al.*, 2018), de tal manera que sea posible predecir cáncer clínicamente significativo y ofrecer tratamientos radicales tempranos a los pacientes con los perfiles de mayor riesgo (Eeles & Ni-Raghallaigh, 2018). Es en este contexto, donde nuestros actuales hallazgos podrían ser útiles. La vigilancia activa (AS) es un tratamiento alternativo para pacientes con bajo riesgo de recurrencia según lo determina D'Amico: PSA <10 ng/mL, Gleason ≤ 6 y tacto rectal T1-T2c. El objetivo de la AS es retrasar el tratamiento definitivo en pacientes con bajo riesgo de recurrencia, sin embargo, hasta el 30% de las cohortes estudiadas presentan progresión de la enfermedad a etapas de mayor riesgo y por lo tanto requieren tratamiento definitivo (RP, radioterapia o terapia de privación de andrógenos). Por esta razón, se requieren nuevos biomarcadores de agresividad del CaP para seleccionar los candidatos más adecuados para el monitoreo. Entonces, al aplicar nuestro puntaje propuesto, un paciente que cumple con criterios de bajo riesgo, es decir, PSA <10 ng/mL, pero con un mayor número de SNPs de riesgo tendrá una mayor probabilidad de mayor TV o mayor extensión del tumor, y por lo tanto, el paciente no sería un buen candidato para diferir el tratamiento definitivo. Recientemente, a propósito de la utilidad de los SNPs en AS, Kearns *et al.*, (2016) mostraron los resultados de los SNP en una cohorte de pacientes en AS, observando que un SNP específico (rs11568818 en el cromosoma 11q22) se asocia con *upgrading* (progresión) de los pacientes.

Nuestro trabajo tiene limitaciones. En primer lugar, el número de pacientes incluidos es una debilidad del trabajo, sin embargo, de acuerdo a nuestra realidad no es un número despreciable. Evidentemente se encuentra pendiente la validación de los actuales resultados con un mayor número de pacientes, de tal manera que el modelo pueda tener una aplicación real en la clínica. Otra limitación del presente manuscrito hace referencia a la poca relación del Gleason score del espécimen con las variables preclínicas. Es conocido que el Gleason de la biopsia operatoria es, sin duda, el mayor predictor de recidiva

y mortalidad específica por CaP, sin embargo en nuestra cohorte la mayoría de los pacientes presentó un puntaje Gleason igual a 7 por lo que no fue posible realizar comparaciones significativas en este aspecto. Ciertamente, una debilidad del trabajo es que no se ha completado seguimiento oncológico de los pacientes y por lo tanto el objetivo a medir no puede ser recidiva propiamente, sin embargo, como se menciona previamente tanto el TV como la ECE son predictores indiscutidos de recidiva y por tanto son reflejo de la agresividad del CaP (Chung *et al.*, 2011). Finalmente, un factor limitante es la posible influencia genética de los SNPs en los niveles de PSA, de hecho, de acuerdo con nuestros estudios previos, hay una asociación de algunos SNPs con niveles de PSA más altos en el diagnóstico (Rojas *et al.*, 2014; San Francisco *et al.*, 2014)). Esta pregunta se resolverá a medida que se comprenda mejor la influencia de los SNPs en la patogénesis del CaP, para que pueda determinarse si ambos marcadores (PSA y SNP) tienen diferentes formas de interacción y, por lo tanto, se pueden usar combinados formando un puntaje "genético", como se propuso en el estudio actual.

Conclusiones

Como conclusión, creemos que nuestro *score* genético es una herramienta novedosa para predecir parámetros de agresividad del CaP, como ECE y TV, variables que se relacionan de acuerdo a la evidencia con mayor recidiva bioquímica, y finalmente, mortalidad.

Contribuciones y reconocimientos

Contribuciones: P Rojas participó del diseño del estudio, análisis genético, análisis estadístico y redacción del manuscrito. P Viviani participó del análisis estadístico y redacción del manuscrito. V Montecinos participó del diseño del estudio, análisis genético. YT Zhou y C Morales participaron del análisis genético. A Godoy participó del diseño del estudio y redacción y revisión del manuscrito. I San Francisco participó del diseño del estudio, análisis estadístico y redacción del manuscrito y es el Investigador principal del estudio. **Agradecimientos:** Los autores agradecen a los pacientes que participaron en el estudio desinteresadamente. El estudio fue apoyado por FONDECYT n° 11110334; División de Cirugía de la Pontificia Universidad Católica, Departamento de Urología y VRI UC.

Conflictos de interés: Ninguno.

Referencias

Aly, M., Wiklund, F., Xu, J., Isaacs, W. B., Eklund, M., D'Amato, M., Adolfsson, J., & Grönberg, H. (2011). Polygenic risk score improves prostate cancer risk prediction: results from the Stockholm-1 cohort study. *European urology* **60**, 21-28.

Álvarez-Cubero, M. J., Martínez-González, L. J., Saiz, M., Carmona-Saez, P., Alvarez, J. C., Pascual-Geler, M., & Cozar, J. M. (2015). Prognostic role of genetic biomarkers in clinical progression of prostate cancer. *Experimental & molecular medicine* **47**, e176.

Benafif, S. & Eeles, R. (2016). Genetic predisposition to prostate cancer. *British Medical Bulletin* **120**, 75-89.

Caire, A. A., Sun, L., Lack, B. D., Lum, K., Tang, P., Stackhouse, D. A., & Moul, J. W. (2010). Predicting non-organ-confined prostate cancer in men diagnosed after 2000. *Prostate cancer and prostatic diseases* **13**, 248-251.

Chan, J. Y., Li, H., Singh, O., Mahajan, A., Ramasamy, S., Subramaniyan, K., & Chia, S. E. (2013). 8q24 and 17q prostate cancer susceptibility loci in a multiethnic Asian cohort. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations* **31**, 1553-1560.

Chung, B. I., Tarin, T. V., Ferrari, M., & Brooks, J. D. (2011). Comparison of prostate cancer tumor volume and percent cancer in prediction of biochemical recurrence and cancer specific survival. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations* **29**, 314-318.

Cucchiara, V., Cooperberg, M. R., Dall'Era, M., Lin, D. W., Montorsi, F., Schalken, J. A., & Evans, C. P. (2018). Genomic Markers in Prostate Cancer Decision Making. *European Urology* **73**, 572-582.

D'Amico, A. V., Whittington, R., Malkowicz, S. B., Schultz, D., Blank, K., Broderick, G. A., & Wein, A. (1998). Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer. *Jama* **280**, 969-974.

Eeles, R., & Ni-Raghallaigh, H. (2018). Men with a susceptibility to prostate cancer and the role of genetic based screening. *Translational Andrology and Urology* **7**, 61-69.

El Gammal, A. T., Brüchmann, M., Zustin, J., Isbarn, H., Hellwinkel, O. J., Köllermann, J., & Bokemeyer, C. (2010). Chromosome 8p deletions and 8q gains are associated with tumor progression and poor prognosis in prostate cancer. *Clinical cancer research* **16**, 56-64.

Giovannucci, E., Rimm, E. B., Liu, Y., Leitzmann, M., Wu, K., Stampfer, M. J., & Willett, W. C. (2003). Body mass index and risk of prostate cancer in US health professionals. *Journal of the National Cancer Institute* **95**, 1240-1244.

Hindorf, L. A., Sethupathy, P., Junkins, H. A., Ramos, E. M., Mehta, J. P., Collins, F. S., & Manolio, T. A. (2009). Potential etiologic and functional implications of genome-wide association loci for human diseases and traits. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **106**, 9362-9367.

- Hu, Y. L., Zhong, D., Pang, F., Ning, Q. Y., Zhang, Y. Y., Li, G., & Mo, Z. N. (2013). HNF1b is involved in prostate cancer risk via modulating androgenic hormone effects and coordination with other genes. *Genet Mol Res* **12**, 1327-1335.
- Kashyap, A., Kluźniak, W., Wokołorczyk, D., Gołąb, A., Sikorski, A., Słojewski, M., & Antczak, A. (2014). The presence of prostate cancer at biopsy is predicted by a number of genetic variants. *International journal of cancer* **134**, 1139-1146.
- Kearns, J. T., Lapin, B., Wang, E., Roehl, K. A., Cooper, P., Catalona, W. J., & Helfand, B. T. (2016). Associations between iCOGS single nucleotide polymorphisms and upgrading in both surgical and active surveillance cohorts of men with prostate cancer. *European urology* **69**, 223-228.
- Nam, R. K., Zhang, W. W., Trachtenberg, J., Seth, A., Klotz, L. H., Stanimirovic, A., Punnen, S., Venkateswaran, V., Toi, A., Loblaw, D.A., Sugar, L., Siminovitch, K.A., & Sugar, L. (2009). Utility of incorporating genetic variants for the early detection of prostate cancer. *Clinical Cancer Research* **15**, 1787-1793.
- Nordström, T., Aly, M., Eklund, M., Egevad, L., & Grönberg, H. (2014). A genetic score can identify men at high risk for prostate cancer among men with prostate-specific antigen of 1–3 ng/ml. *European urology* **65**, 1184-1190.
- Partin, A. W., Kattan, M. W., Subong, E. N., Walsh, P. C., Wojno, K. J., Oesterling, J. E., Scardino, P.T., & Pearson, J. D. (1997). Combination of prostate-specific antigen, clinical stage, and Gleason score to predict pathological stage of localized prostate cancer: a multi-institutional update. *Jama* **277**, 1445-1451.
- 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. *The Journal of urology* **191**, 1733-1736.
- Rojas, P. A., Torres-Estay, V., Cerda-Infante, J., Montecinos, V. P., Domínguez, J., Arenas, J., Godoy, A.S., & San Francisco, I. F. (2014). Association of a single-nucleotide polymorphism from chromosome 17q12 with the aggressiveness of prostate cancer in a Hispanic population. *Journal of cancer research and clinical oncology* **140**, 783-788.
- San Francisco, I. F., Rojas, P. A., Torres-Estay, V., Smalley, S., Cerda-Infante, J., Montecinos, V. P., Hurtado, C., & Godoy, A. S. (2014). Association of *RNASEL* and 8q24 variants with the presence and aggressiveness of hereditary and sporadic prostate cancer in a Hispanic population. *Journal of cellular and molecular medicine* **18**, 125-133.
- Siegel, R., Ma, J., Zou, Z., & Jemal, A. (2014). Cancer statistics, 2014. *CA: a cancer journal for clinicians* **64**, 9-29.
- Ministerio de Salud de Chile. (2012). Primer informe de registros poblacionales de cáncer de Chile. Quinquenio 2003-2007. Ministerio de Salud. Gobierno de Chile, pp. 8-12. Accedido en https://www.paho.org/chi/index.php?option=com_docman&view=download&alias=174-informe-rpc-chile-2003-2007&category_slug=cancer&Itemid=1145 el 15 de octubre de 2017.
- Steinberg, G. D., Carter, B. S., Beaty, T. H., Childs, B., & Walsh, P. C. (1990). Family history and the risk of prostate cancer. *The prostate* **17**, 337-347.
- Zhou, J. R., & Blackburn, G. L. (1997). Bridging animal and human studies: what are the missing segments in dietary fat and prostate cancer?. *The American journal of clinical nutrition* **66**, 1572S-1580S.