



UN DILEMA DIAGNÓSTICO

BUSCANDO LOS BIOMARCADORES DEL CÁNCER DE PRÓSTATA

Marina Rigau Resina

Ilustraciones a cargo de Miquel Navarro

Hace cuatro días el mundo entero estaba en alerta por una nueva variante de la gripe porcina, la gripe A, causada por el virus H1N1. El 11 de junio de 2009, la Organización Mundial de la Salud (OMS) clasificó esta nueva gripe como pandemia. Las autoridades sanitarias de todo el planeta pusieron en marcha protocolos de emergencia por miedo a que esta nueva cepa viral provocase más bajas de las esperadas. La directora general de la OMS, Margaret Chan, advertía lo siguiente: «Puede que en un mes este virus desaparezca, puede que se quede como está o puede que se agrave la situación actual.»

La tasa de mortalidad de la enfermedad, que en un principio fue elevada, pasó a ser muy baja tras iniciar los tratamientos con antivirales. Casi cien años antes, la gripe española, también conocida como «la epidemia de gripe de 1918», causó la muerte de entre 25 y 40 millones de personas en todo el mundo. Esta gripe fue vehiculada por un virus de la misma cepa que la gripe del 2009, un virus gripal del tipo H1N1.

■ EL CÁNCER, UNA ENFERMEDAD SIN CURA

Una enfermedad infecciosa como la gripe es una manifestación clínica consecuencia de una infección provocada por un microorganismo o por priones. Si conocemos cuál es el microorganismo que causa la enfermedad, en la mayoría de los casos, somos capaces de combatirlo y, como pasó con la gripe de 2009, puede pasar de ocupar portadas de los diarios a desaparecer de nuestras mentes en cuestión de poco tiempo.

«EL CÁNCER ES UN TIPO DE ENFERMEDAD EN EL QUE UN GRUPO DE CÉLULAS ADQUIERE UN FENOTIPO QUE LES PERMITE CRECER DE MANERA DESCONTROLADA Y DIVIDIRSE MÁS DE LO NORMAL, DANDO LUGAR A LO QUE LLAMAMOS TUMORES MALIGNOS»

Todos nosotros tenemos, sin embargo, algún amigo, conocido o incluso hemos sufrido la proximidad de un familiar afectado por una enfermedad que ha pasado a formar parte de nuestra sociedad y que desgraciadamente aún hoy día no se puede curar: el cáncer. ¿Qué es el cáncer? ¿Por qué parece que todo el mundo deja este mundo por causa de esta enfermedad? ¿Por qué, en un mundo donde la tecnología y los avances científicos están a la orden del día, no somos capaces de

encontrar qué es lo que hace que la gente muera, a veces sin darse cuenta?

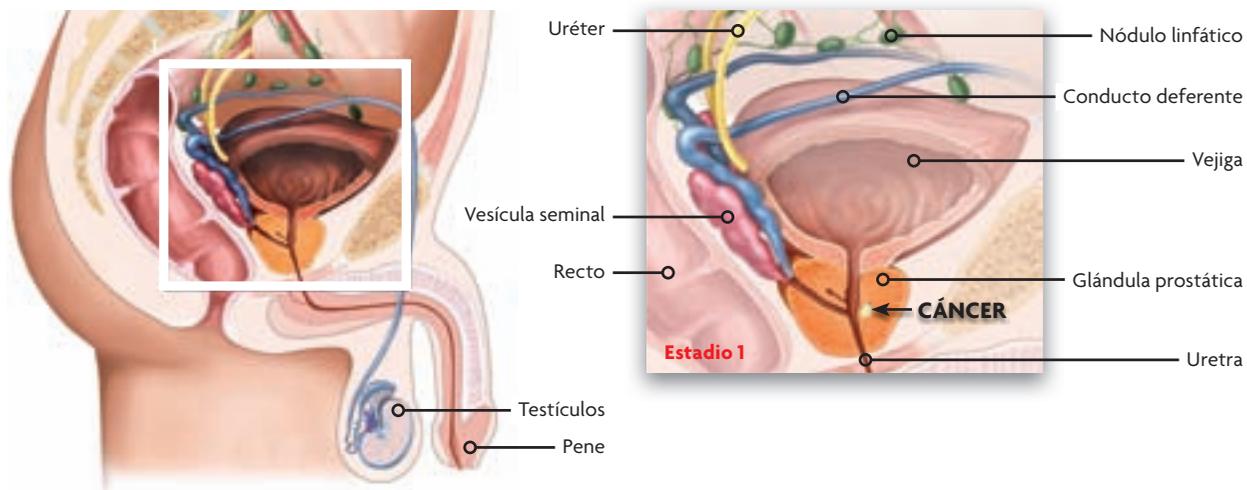
El cáncer es la segunda causa de muerte en Cataluña. Según la OMS, el número de muertos por cáncer no para de aumentar, a escala mundial. Hasta el 2030 se calcula que el número de muertos anualmente se habrá prácticamente doblado y habrá pasado de casi 8 millones de personas en el 2007 a 11 millones y medio en el 2030.

El cáncer es un tipo de enfermedad en el que un grupo de células adquiere un fenotipo que les permite crecer de manera descontrolada y dividirse más allá de lo normal, dando lugar a lo que llamamos tumores malignos. Al mismo tiempo, estas células son capaces de invadir células vecinas o tejidos adyacentes, e incluso de llegar a otros puntos del organismo mediante el sistema linfático o la circulación sanguínea para crear nuevos núcleos tumorales que llamamos metástasis.

La mayoría de los cánceres son provocados por anomalías en el material genético de las células cancerosas. Las anomalías genéticas pueden ser causadas por carcinógenos externos, los cuales se pueden adquirir de

Para ilustrar este artículo, MÈTODE ha contado con la colaboración del artista valenciano Miquel Navarro (Mislata, 1945), autor de conocidas esculturas en gran formato y uno de los artistas valencianos de mayor proyección internacional. Miquel Navarro recibió el Premio Nacional de Artes Plásticas en 1986 y actualmente es académico de la Real Academia de Bellas Artes de San Fernando.

A la izquierda, Miquel Navarro. *Falo en reposo*, 2011. Terracota, dimensiones variables.



Esquema de la evolución del cáncer de próstata. Inicialmente el cáncer se encuentra localizado dentro del órgano pero a medida que este va progresando es capaz de salir del órgano e invadir tejidos adyacentes. Dada la localización de la próstata, envolviendo la uretra, es posible pensar que productos derivados de la próstata se pueden encontrar en la orina, y de esta manera detectar el cáncer de próstata.

manera aleatoria, por errores en los sistemas de reparación del material genético, o bien pueden heredarse, y por tanto, están presentes en todas las células desde el nacimiento del individuo.

El diagnóstico definitivo de esta enfermedad acostumbra a realizarse mediante el análisis histológico del tejido afectado, el cual se obtiene mediante una biopsia. Al mismo tiempo, existen una serie de marcadores de cribaje (*screening*) en suero, que ayudan al médico en la decisión de realizar o no esta biopsia. La mayoría de cánceres cuando son detectados en estadios iniciales, es decir, cuando este está localizado dentro del órgano y aún no ha invadido tejidos adyacentes, se pueden tratar eliminando el foco tumoral. Sin embargo, si el tumor se detecta en estadios ya avanzados, en la mayoría de los casos no se conoce aún ninguna terapia curativa. En la mayoría de los casos, el tratamiento se basa en una combinación de cirugía, quimioterapia (administración de tóxicos químicos) y radioterapia (radiaciones ionizantes). Todos ellos atacan de una manera más o menos directa las células cancerosas.

■ EL DILEMA DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER DE PRÓSTATA

El cáncer de próstata es el cáncer diagnosticado con más frecuencia y la segunda causa de muerte por enfermedad oncológica en los hombres del mundo occidental. Se estima que uno de cada seis hombres desarrollará un cáncer de este tipo a lo largo de su vida. En Cataluña el cáncer de próstata es el más frecuente antes que el cáncer de pulmón y el cáncer colorrectal y es la tercera causa de muerte oncológica que afecta a la población masculina; datos recogidos a cargo de la IARC (International Agency for Research on Cancer) 2007 demuestran que el cáncer de próstata es el tipo de cáncer más frecuente.

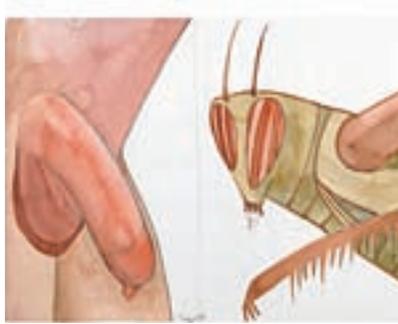
El cáncer de próstata afecta, como su nombre indica, a la próstata. La próstata es un órgano glandular del aparato genital-urinario masculino. Tiene el tamaño de un nuez y se localiza bajo la vejiga, rodeando la uretra y delante del recto. Su función es secretar productos que se añadirán al líquido seminal con la finalidad de nutrir y proteger los espermatozoides.

El diagnóstico actual del cáncer de próstata se basa en una elección diagnóstica que consta del análisis de los niveles de PSA (antígeno prostático específico en sus siglas en inglés) en suero, el tacto rectal y finalmente la biopsia prostática. El antígeno prostático específico o PSA es una proteína secretada exclusivamente por las glándulas prostáticas, que participa en la licuación del semen eyaculado. Hoy en día, aún no se conoce si esta proteína representa un papel importante en el desarrollo del cáncer de próstata, sin embargo, cuando menos, su uso como marcador de *screening* es conocido y utilizado mundialmente.

Desde que se introdujo a finales de los años ochenta, el diagnóstico del cáncer de próstata ha mejorado significativamente. Pero aunque la mortalidad debida a este tipo de cáncer ha disminuido, continúa siendo una de las formas cancerosas más mortíferas que atacan a nuestra sociedad. Cuando los niveles de PSA en suero se sitúan por encima de 4 ng/ml, el urólogo puede estimar cuál es la probabilidad de que el paciente esté afectado por un cáncer. Además, junto a la palpación de la próstata a través del tacto rectal, se decide la necesidad de practicar o no una biopsia prostática que permitirá establecer el diagnóstico definitivo.

El principal problema del PSA como marcador de *screening* es que este presenta un nivel de especificidad bajo, un 33%, y al mismo tiempo, un valor predictivo negativo bajo. La especificidad de una prueba se define como la probabilidad de que un individuo sano dé un resultado negativo y el valor predictivo negativo, como la probabilidad de que la enfermedad no esté presente cuando la prueba resulta negativa. Ejemplificado de manera numérica, eso implicaría que, de cada 100 pacientes que se sometan a un test de PSA y tengan valores superiores a 4 ng/ml, mediante la biopsia se diagnosticarán aproximadamente 66 pacientes negativos y solo 33 pacientes positivos por cáncer de próstata.

Para detectar esta enfermedad de manera precoz, se aconseja que los



Miquel Navarro. *Saltamontes en espera*, 2011. Acuarela, 44 x 33 cm.
Debajo, Miquel Navarro. *Néctar*, 2011. Acuarela, 44 x 33 cm.

hombres a partir de los cincuenta años se hagan regularmente un análisis de los niveles de PSA en suero y, cuando los niveles del marcador superen los 4 ng/ml o bien cuando el paciente tenga antecedentes de la enfermedad, se realizará un tacto rectal para determinar la necesidad de realizar una biopsia. El problema es que, así como las mujeres se someten regularmente a exámenes ginecológicos exploratorios, los hombres muestran un rechazo hacia este tipo de exploraciones.

Es por todo eso que el cáncer de próstata se beneficiaría de la existencia de nuevos marcadores de *screening* más específicos y al mismo tiempo de un diagnóstico menos invasivo. Por otra parte, una mejora en el diagnóstico evitaría un gran número de biopsias innecesarias y consecuentemente un importante ahorro económico en el coste sanitario actual.

La búsqueda de nuevos marcadores en el cáncer de próstata representa un campo de trabajo importante en la detección precoz de este tipo de cáncer. Dada la situación de la próstata en el organismo, bajo la vejiga y envolviendo la uretra, las secreciones e incluso las propias células prostáticas, ya sean normales o malignas, pueden encontrarse presentes en la orina. Es por eso que consideramos la orina como una fuente importante de información, a través de la cual se podría llegar a determinar qué situación se da en el órgano en cuestión.

Otros estudios evidencian la existencia de potenciales biomarcadores en la orina, que podrían ayudar a mejorar el diagnóstico del cáncer de próstata. A nosotros nos ocupa el estudio de aquellas moléculas proteicas que se encuentran en la orina, ya sean secretadas por las células prostáticas o bien de las mismas células que, por descamación, van a parar a la orina.

Supongamos, pues, que un masaje prostático enriquece la muestra de orina de todo tipo de moléculas proteicas. Así pues, nuestra hipótesis de trabajo apoya que la orina, después de un masaje prostático, puede ser el fluido ideal para la búsqueda



«EL CÁNCER DE PRÓSTATA ES EL CÁNCER DIAGNOSTICADO CON MÁS FRECUENCIA Y LA SEGUNDA CAUSA DE MUERTE POR ENFERMEDAD ONCOLÓGICA EN LOS HOMBRES DEL MUNDO OCCIDENTAL. UNO DE CADA SEIS HOMBRES DESARROLLARÁ UN CÁNCER DE ESTE TIPO A LO LARGO DE SU VIDA»



Miquel Navarro. *Anatomías*, 2011. Terracota, dimensiones variables.

queda de nuevos biomarcadores capaces de discriminar entre pacientes con o sin cáncer de próstata.

■ LA CLAVE, EN LAS PROTEÍNAS

En el siglo XXI nos encontramos en plena era de las «ómicas». El término *ómico* se refiere al análisis global de los sistemas biológicos. Dentro de un sistema biológico el «todo» gana importancia sobre las «partes». El proteoma es la imagen dinámica de todas las proteínas expresadas por un organismo, en un momento dado y bajo determinadas condiciones de tiempo y ambiente. La proteómica se define como el análisis del proteoma.

Las proteínas son compuestos orgánicos formados por aminoácidos ordenados en una cadena lineal y unidos por enlaces peptídicos. La secuencia de aminoácidos que forma una proteína está definida por el ADN, secuencia de nucleótidos del gen que la codifica. Poco después, o incluso durante la síntesis, los residuos de una proteína a menudo son modificados químicamente por modificaciones postraduccionales, que alteran las propiedades físicas y químicas, el plegamiento, la estabilidad, la actividad y la función de la proteína.

El dogma general de la biología, hasta hace poco tiempo, establecía que un gen (DNA) se transcribe a un RNA mensajero (mRNA) y posteriormente se traduce para dar lugar a una proteína. Hoy en día se sabe que a causa del procesamiento alternativo (*splicing*), un mis-

mo gen puede dar lugar a diferentes proteínas. Por tanto, si el genoma humano consta de unos 30.000 genes, el número de proteínas es exponencialmente mayor. Es por ello que hoy día el estudio del proteoma, y por tanto el análisis proteómico de elevado rendimiento (*High Throughput Analysis*), está adquiriendo mucha importancia en el campo de la investigación.

Los estudios proteómicos se basan principalmente en la técnica de la espectrometría de masas con combinación de métodos de fraccionamiento y separación de proteínas y péptidos (fragmentos proteicos), como la electroforesis bidimensional (geles de 2D) o la cromatografía líquida de elevada resolución (HPLC). La espectrometría de masas es una técnica experimental que permite la medida de iones derivados de moléculas (proteínas y péptidos). Mediante esta metodología se pueden realizar análisis cualitativos y comparativos, pero también cuantitativos, de todo tipo de muestras proteicas.

■ DESARROLLANDO EL ESTUDIO

Ponemos en marcha nuestro proyecto en el Hospital de la Vall d'Hebron, que nos abastece de todas las muestras que necesitamos, clínicos dedicados y gente con muchas ganas de trabajar. El principal objetivo es llegar a determinar un perfil proteómico en la orina capaz de diferenciar entre pacientes con cáncer de próstata y controles sanos.

En primer lugar el estudio requiere una investigación exhaustiva de un grupo de pacientes, todos ellos bien caracterizados: hombres de edad avanzada, que se someten a un diagnóstico rápido de cáncer de próstata, con niveles de PSA por encima de 4 ng/ml y por tanto con una cierta probabilidad de esconder un cáncer de próstata. Clasificamos los pacientes en dos grupos: los *problemas*, o dicho de otra manera, aquellos que sufren la enfermedad (ya sea en estadios iniciales o avanzados), y, no menos importantes, los *controles*, aquellos que no presentan ninguna anomalía considerable, es decir, controles sanos. De todos ellos se obtiene una muestra de orina tras la realización de un masaje prostático. La muestra de orina se procesa de acuerdo con el protocolo estandarizado para extraer la fracción proteica que forma parte de ella. Todos los pacientes seleccionados por el estudio se someterán posteriormente a una biopsia prostática, de manera que conoceremos con certeza cuál es su diagnóstico definitivo.

La metodología escogida para llevar a cabo el análisis comparativo se basa en la electroforesis bidimensional (2D). Esta técnica permite separar las proteínas por su peso molecular y por su carga (punto isoeléctrico), situándolas en un gel de 2D. Al mismo tiempo, marcamos las





Miquel Navarro. *Gancho*, 2011. Caucho, dimensiones variables.

«NUESTRA HIPÓTESIS DE TRABAJO ABONA QUE LA ORINA, DESPUÉS DE UN MASAJE PROSTÁTICO, PUEDE SER EL FLUIDO IDEAL PARA LA BÚSQUEDA DE NUEVOS BIOMARCADORES CAPACES DE DISCRIMINAR ENTRE PACIENTES CON O SIN CÁNCER DE PRÓSTATA»

proteínas de cada grupo (control y problema) de muestras con un fluorocromo diferente, el cual nos permitirá visualizar las diferentes muestras en un mismo gel, y por tanto, compararlas entre sí. Esta metodología se conoce con el nombre de *differential in gel electrophoresis* (DIGE).

En total, comparamos quince muestras control con quince muestras problema. Del análisis comparativo extraemos la información necesaria para establecer cuáles son las proteínas (puntos situados en el gel de 2D) que más difieren entre ambos tipos de muestras. Determinados los puntos más relevantes, los recortamos del gel y mediante espectrometría de masas, identificamos el contenido, es decir a qué proteína corresponde. Tenemos una lista de veinticuatro proteínas a destacar, pero ¿cuál es la más importante? No somos capaces de señalarla con el dedo, ya que podríamos errar, quizá no es una, quizá son unas cuantas juntas o quizá ninguna.

Llegados a este punto, el estudio se adentra en un experimento de validación. Una validación experimental implica la obtención del mismo resultado mediante otro método experimental. En este caso es importante que el método seleccionado nos permita evaluar los niveles de las proteínas identificadas en un gran número de pacientes. Debe ser, pues, un método altamente reproducible y muy sensible, capaz de detectar las proteínas a baja concentración. Partiremos de un número elevado de muestras de orina para dar certeza a los resultados. Las muestras se obtienen y se procesan de la misma forma que anteriormente, pero en este caso la población no se selecciona sino que se toma al azar. De esta manera podemos saber cuál es el comportamiento de estas proteínas en la población real.

Los resultados que se obtengan de este experimento podrán ser, pues, concluyentes, no concluyentes –y por tanto requerir de un análisis aún más minucioso– o, incluso, no satisfactorios. Pero eso no lo sabemos de momento. Los resultados preliminares señalan que no será una proteína sola sino un conjunto de proteínas que a través de la orina quizá podrán, algún día, ayudar al facultativo a tomar una decisión. Eso sí, creemos que sin dejar de lado el actual marcador diagnóstico, el PSA.

Puede que nuestro estudio ayude en el diagnóstico, puede que finalmente no saquemos nada y por tanto que quede como está, pero en este caso la situación no se agravará, ya que somos muchos los que estamos luchando contra esta enfermedad, ya sea sufriendola o combatiéndola. ☺

Este artículo ha ganado el Premio de Comunicación Científica Joan Lluís Vives 2010 (Modalidad ciencias básicas, ciencias de la salud, ingenierías y arquitecturas), convocado por la Xarxa Vives d'Universitats.

Marina Rigau Resina. Instituto de Investigación Hospital Universitario de La Vall d'Hebron.