



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUERRERO**  
**UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS**  
**UNIDAD ACADÉMICA DE MEDICINA**  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS**

**“POLIMORFISMO EN EL CODÓN 72 DE P53 Y EN EL  
CODÓN 31 DE P21 EN CÁNCER E HIPERPLASIA  
BENIGNA DE PRÓSTATA”**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS**

**PRESENTA:**

**FRANCISCO HERNÁNDEZ VARGAS**

**DIRECTORA DE TESIS: Dra. GLORIA FERNÁNDEZ TILAPA**  
**CODIRECTORA DE TESIS: Dra. ADAKATIA ARMENTA SOLÍS**

**CHILPANCINGO, GRO., DICIEMBRE DE 2007.**

## **ACTA DE APROBACION DE TESIS**

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Investigación Clínica de la Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero, en la Ciudad de Chilpancingo Gro.

Bajo la dirección de

Dra. Gloria Fernández Tilapa y

La codirección de

Dra. Adakatia Armenta Solís

la asesoría de

Dra. Amalia Vences Velázquez  
M en C Daniel Hernández Sotelo  
Dr. Fernando Enríquez Rincón

Con la colaboración de

Urólogo Jorge Roberto Espinosa García  
Instituto Mexicano del Seguro Social, Iguala, Gro.

Urólogo Jaime Carbajal Suástegui  
Instituto Mexicano del Seguro Social Vicente Guerrero, Acapulco, Gro.

Esta investigación se desarrolló con el financiamiento de la SEP a través del fondo integral de fortalecimiento institucional (PIFI 3.1).

Durante el período en que cursó la Maestría en Ciencias Biomédicas, el C. Francisco Hernández Vargas, recibió beca del CONACYT.

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A DIOS**

Por permitirme vivir un día más y sobre todo por dejarme vivir ese día con mucha intensidad

### **A MI ESPOSA**

Por darme el cariño más puro, por apoyarme en este reto y alentarme siempre en mis ideas y retos, por estar conmigo en las buenas y en las malas, por darme serenidad en los momentos necesarios

### **A MIS PADRES**

Que han estado conmigo a mi lado en estos logros de mi vida, que gracias a ellos he logrado alcanzar muchas metas y sobre todo por darme la vida misma

### **A MIS HERMANOS**

Diana, Raúl, Liz, Hans, Dino, Lore, Carlos y René por apoyarme en los momentos más difíciles, dándome su mejor consejo, sobre todo dando una amistad sincera, sobre todo por su gran amor

### **A MIS SUEGROS**

Por ser como son conmigo, por los momentos felices que me han hecho pasar, muchas gracias

### **A MIS MAESTROS**

Por el tiempo dedicado a este trabajo, por el empeño de sacar adelante a su estudiante, por los consejos y regaños

### **A MIS AMIGOS**

Agradezco de manera muy especial a Dino, Naty, Vero, Norma, Kenia, Santiago y a Luis por apoyarme en los momentos difíciles, por sus consejos y sobre todo por ser mis amigos

### **A MIS COMPAÑEROS DE CLASE**

Porque sin ellos no se hubieran logrado alcanzar muchas metas, por aquellos momentos difíciles y sobre todo por su amistad sincera

A todos los que participaron en la elaboración de este trabajo

Y aquellos..... que soportaron esas noches de desvelo junto a nosotros

Gracias

Francisco Hernández Vargas

## ÍNDICE

	Página
<b>ABREVIATURAS</b>	i
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	ii
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b>	iii
<b>RESUMEN</b>	iv
<b>ABSTRACT</b>	v
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>II. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	6
<b>III. RESULTADOS</b>	9
<b>IV. DISCUSIÓN</b>	16
<b>V. CONCLUSIONES</b>	20
<b>VI. REFERENCIAS</b>	21

## ABREVIATURAS

Aa	Amino ácido
APE	Antígeno Prostático Específico
Arg	Arginina
AS-PCR	Reacción en cadena de la polimerasa -alelo específica
EDTA	Ácido etilén-diamino-tetra-acético
CaP	Cáncer de próstata
Cdk's	Ciclinas dependientes de cinasas
DNA	Acido Desoxiribonucleico
HBP	Hiperplasia Benigna de Próstata
PCNA	Antígeno nuclear de proliferación celular
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
Pro	Prolina
RFLP's	Restricción de Fragmentos Polimórficos de Longitud variable
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1</b> AS-PCR para el polimorfismo en el codón 72 de p53	12
<b>Figura 2</b> Producto de amplificación del gen p21	12
<b>Figura 3</b> RFLP's para el polimorfismo del codón 31 de p21	13

## ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
<b>Cuadro 1</b> Características generales de los casos de cáncer de próstata, hiperplasia benigna de próstata y controles, captados en el Hospital del Instituto Mexicano del Seguro Social de la ciudad de Iguala y el Hospital General de Zona "Vicente Guerrero" de la ciudad de Acapulco, Guerrero.	10
<b>Cuadro 2</b> Asociación de factores de riesgo para el desarrollo de cáncer de próstata e hiperplasia benigna de próstata.	11
<b>Cuadro 3</b> Frecuencias de los genotipos del codón 72 de p53 y del codón 31 de p21 en casos de cáncer de próstata, hiperplasia benigna de próstata y controles	13
<b>Cuadro 4</b> Distribución de los haplotipos del codón 72 de p53 y del codón 31 de p21 en casos de cáncer de próstata, hiperplasia benigna de próstata y controles.	14
<b>Cuadro 5</b> Asociación de los genotipos del polimorfismo del codón 72 de p53 y del codón 31 de p21 con cáncer de próstata e hiperplasia benigna de próstata.	15

## RESUMEN

**Antecedentes.** El cáncer y la hiperplasia benigna de próstata son patologías muy frecuentes en el hombre. La proteína p53 es supresora de tumor, regulador crítico de mecanismos celulares que responden al estrés genotóxico que dañan al DNA. *p21* es un gen blanco de p53, que inhibe el complejo cdk/ciclinas. Variantes polimórficas en el codón 72 de p53 y en el codón 31 de p21 se han asociado al desarrollo de diferentes tipos de cáncer. **Objetivo.** Evaluar la asociación de estos polimorfismos con el riesgo de padecer cáncer ó hiperplasia benigna de próstata, así como conocer posibles factores de riesgo y su asociación con estas patologías. **Métodos.** Se seleccionaron 55 casos de cáncer, 56 de hiperplasia benigna de próstata y 112 controles del Hospital del Instituto Mexicano del Seguro Social de Iguala y el Hospital "Vicente Guerrero" de Acapulco, Guerrero. La detección del polimorfismo de *p53*<sup>Pro/Arg72</sup> se realizó mediante PCR-alelo específica y para *p21*<sup>Ser/Arg31</sup> mediante PCR-RFLP's. Se calcularon frecuencias alélicas y genotípicas; y las asociaciones se evaluaron mediante OR, IC<sub>95%</sub>, y  $p \leq 0.05$ . **Resultados.** El genotipo *Arg/Arg*<sup>72</sup> de *p53* fue más frecuente en hiperplasia y en controles (52.8% y 43.7%, respectivamente), mientras que en cáncer fueron los genotipos *Pro/Arg*<sup>72</sup> y *Arg/Arg*<sup>72</sup>, 40% en ambos casos. Para el polimorfismo de *p21* el genotipo más frecuente fue *Ser/Arg*<sup>31</sup> con 65.5% en cáncer, 64.3% hiperplasia y 66.1% controles. El genotipo *Pro/Pro*<sup>72</sup> de *p53* tuvo un OR de 1.5 (IC<sub>95%</sub>= 0.6-3.8) para cáncer, para hiperplasia no hubo asociación. Con respecto a *p21*, el genotipo *Arg/Arg*<sup>31</sup> tuvo un OR de 0.4 ((IC<sub>95%</sub>= 0.1-1.3) para cáncer y de 0.4 (IC<sub>95%</sub>= 0.1-1.2) para hiperplasia. **Conclusión.** Nuestros hallazgos sugieren que el genotipo *Pro/Pro*<sup>72</sup> de *p53* puede participar en el desarrollo de cáncer, no así en hiperplasia. Por otro lado el genotipo *Arg/Arg*<sup>31</sup> de *p21* actúa como factor protector en ambas patologías. No encontramos asociación con la combinación de genotipos de ambos polimorfismos.

Palabras clave. Cáncer de próstata, Hiperplasia Benigna de próstata, Polimorfismo

## ABSTRACT

**Background:** Prostate cancer and benign hyperplasia are pathologies very frequent in males. The *p53* tumor suppressor protein is a critical regulator of cellular mechanisms that respond to genotoxic stresses that damage DNA. *p21* is a target gene of *p53* that inhibits the cdk/cyclins complex. Polymorphic variants of *p53* at codon 72, and *p21* at codon 31, have been associated with the development of different types of cancers. **Objective:** Evaluate the association of polymorphisms with the risk of suffering from prostate cancer or benign hyperplasia and investigate the possible risk factors and their association with these pathologies. **Methods:** Fifty five cancer cases were selected, 56 of benign hyperplasia and 112 controls from the Hospital de Instituto Mexicano del Seguro Social of Iguala and the Hospital "Vicente Guerrero" of Acapulco, both in the State of Guerrero. The detection of polymorphism *p53*<sup>Pro/Arg72</sup> was performed by allelic-specific PCR and for *p21*<sup>Ser/Arg31</sup> by PCR/RFLP's. Allelic and genotypic frequencies were calculated and the associations were evaluated by OR, IC<sub>95%</sub>, and  $p \leq 0.05$ . **Results:** The genotype Arg/Arg<sup>72</sup> of *p53* was the most frequent in hyperplasia and controls (52.8% and 43.7%, respectively). In the cancer cases the most frequent were Pro/Arg<sup>72</sup> and Arg/Arg<sup>72</sup> (40% for both). For polymorphisms of *p21* the most frequent genotype was Ser/Arg<sup>31</sup> with 65.5% in cancer, 64.3% in hyperplasia and 66.1% in controls. The Pro/Pro<sup>72</sup> genotype of *p53* had an OR of 1.5 (CI<sub>95%</sub>= 0.6-3.8) for cancer, for hyperplasia there was no significant association. With respect to *p21*, the genotype Arg/Arg<sup>31</sup> has an OR of 0.4 (CI<sub>95%</sub>=0.1-1.3) for cancer, and 0.4 (CI<sub>95%</sub>= 0.1=1.2) for hyperplasia. **Conclusion:** Our findings suggest that the genotype Pro/Pro<sup>72</sup> of *p53* can participate in the development of cancer, but not in hyperplasia. On the other hand the genotype Arg/Arg<sup>31</sup> of *p21* acts as a protective factor in both pathologies. We did not find association with the combination of genotypes of both polymorphisms.

Keywords: Prostate cancer, prostate benign hyperplasia, polymorphism

## I. INTRODUCCIÓN

El cáncer de próstata (CaP) es una de las neoplasias malignas más frecuentes en el hombre. En el 2003 se registraron en México 260,657 defunciones de hombres, de estos 4595 fueron muertes por CaP, con una tasa nacional de 15.9 por 100,000 habitantes, mientras que en el Estado de Guerrero se registraron 118 defunciones con una tasa de 12.8 por 100,000 habitantes<sup>1,2</sup>. La prevalencia de CaP en México se desconoce; estudios en necropsias han encontrado 10.6% de casos entre los varones de 50 a 59 años, 43.6% entre los 80 a 89 años y el 83% en varones de 90 a 99 años presentaron CaP<sup>3</sup>. La hiperplasia benigna de próstata (HBP) es una condición muy común en hombres mayores de 40 años, y estudios realizados en autopsias alrededor del mundo han encontrado que la prevalencia de HBP es del 10% en hombres de 30 años, del 20% en varones de 40, del 50- 60% para los hombres en los 60s, y del 80%- 90% para los hombres entre los 70 y 80 años<sup>4-6</sup>.

El CaP y la HBP, son las patologías prostáticas más frecuentes, la HBP no está ligada al cáncer y no aumenta las posibilidades de tenerlo, aunque los síntomas pueden ser similares<sup>7-9</sup>. La HBP se considera una manifestación fenotípica debida a un desequilibrio en el aumento de los factores asociados al crecimiento de las células estromales y/o células epiteliales y a la disminución de la muerte celular. En el caso del CaP ciertos factores que pueden contribuir en su aparición son; alteraciones en la transducción de señales, alteración de la angiogénesis, defectos en el ciclo celular que pueden ser un evento temprano en la evolución de la patología y a efectos genéticos que llevan a la célula a transformarse<sup>3,9,10</sup>.

Histológicamente el 95% de los cánceres prostáticos son adenocarcinomas acinares originados en la porción glandular de la próstata, es raro encontrar sarcomas, carcinoma de células transicionales, de células pequeñas, epidermoides o escamosos. La mayoría de los patólogos clasifican el estadio del CaP de acuerdo con el sistema Gleason, que se basa en la diferenciación celular y la relación estroma-glándula del cáncer. La escala va del 2 al 10 siendo el 2 el estadio más benigno<sup>1,7</sup>.

Aunque no se conocen con precisión las causas del CaP, se ha propuesto que su etiología es multifactorial, y se reconoce la participación de algunos factores de riesgo, como la edad, raza, dieta, historia familiar y tabaquismo; mientras que el consumo de vitamina D, de extractos de soya que contienen genisteína, de antioxidantes, y de licopeno se consideran factores protectores<sup>1,11-17</sup>. La etiología de HBP es poco entendida, sin embargo, existen factores que pueden representar riesgo, entre ellos están la producción de hormonas, factores genéticos y la edad. El tabaquismo, obesidad, actividad sexual o la carencia de ésta no han sido asociados de manera concluyente. La actividad física se comporta como factor protector<sup>5,6</sup>.

El cáncer es fundamentalmente una enfermedad genética; el desarrollo del tumor se ve favorecido por una serie de alteraciones genéticas que incluyen pérdida o ganancia cromosomal, mutaciones que llevan al incremento o disminución de la expresión o cambios en la función de proteínas, pérdida de la función de genes supresores de tumor como *p53*, *p21*, alteraciones en las vías de transducción de señales, angiogénesis, alteración en las moléculas de adhesión, defectos en el control del ciclo celular, entre muchos otros que llevan al crecimiento anormal de las células<sup>7,16,18,19</sup>.

La proteína p53 es un supresor de tumor, regulador crítico de los mecanismos celulares que responden al estrés genotóxico que ocasiona daño al DNA, hipoxia, etc. Tiene una gran importancia en el control homeostático en la supervivencia y muerte celular. Es una proteína de vida corta que se mantiene en niveles indetectables en circunstancias normales. Cuando se encuentra expuesta a estímulos de estrés, se activan proteínas cinasas que fosforilan a p53. La fosforilación de algunos residuos de p53 evita su unión a Mdm2. Esta última es un regulador negativo lo que lleva a que p53 se active a través de modificaciones post-traduccionales que incrementan su actividad y estabilidad<sup>20</sup>. Una vez activada, p53 actúa como factor de transcripción involucrado en mantener la integridad genómica, a través del control de la progresión del ciclo celular y de la supervivencia de la célula. La proteína p53 regula la expresión de diversos genes blanco río abajo,

dentro de los cuales se encuentran Bax, NOXA, p21, que están implicados en el arresto del ciclo celular y la apoptosis. Asimismo, se ha implicado a p53 en la senescencia, diferenciación de las células e inhibición de la angiogénesis<sup>21</sup>.

El gen *p53* está localizado en el cromosoma 17p13 y codifica para la proteína p53, que contiene 393 aminoácidos. Estructural y funcionalmente, la proteína se divide en 4 dominios: un dominio ácido amino terminal (aa 1-43) que se requiere para la activación transcripcional; un dominio de unión al DNA y a secuencias específicas de actividad transcripcional (aa 100-300); un dominio de tetramerización (aa 324-355) y un dominio carboxilo terminal con función reguladora (aa 363- 393), rico en aminoácidos básicos. La región entre los aminoácidos 100 a 295 es hidrofóbica y determina su conformación<sup>10,21-23</sup>.

Se ha reportado un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) en el codón 72 del gen *p53*. Este codón está localizado en una región rica en prolina, entre los aminoácidos 60 y 92, que tiene un papel importante en la apoptosis mediada por p53. La forma de p53<sup>Pro72</sup> difiere del tipo p53<sup>Arg72</sup> por un residuo de aminoácido y, generalmente, carece de la habilidad para unirse al DNA o dicha función está disminuida. Este polimorfismo da como resultado una sustitución de una prolina, que es un residuo no polar, por una arginina, que es un residuo polar, cambio que resulta en la modificación estructural de la proteína<sup>23-25</sup>. Con respecto a estas variantes polimórficas en un estudio *in vitro* realizado por Thomas y col., encontraron diferencias en la habilidad para activar la expresión de genes y diferentes grados de interacción con los componentes básicos de la maquinaria transcripcional. Ellos observaron que la variante p53<sup>Arg72</sup> induce apoptosis con una cinética más veloz y suprime la transformación celular más eficientemente que la variante p53<sup>Pro72</sup>.<sup>24</sup> Huang y col., en un estudio epidemiológico, encontraron que la variante *Pro*<sup>72</sup> no influye el desarrollo de CaP, así mismo no encontraron una asociación significativa con respecto a la HBP<sup>4</sup>. Mientras que Suzuki y col., encontraron que el genotipo p53<sup>Pro/Pro72</sup> estuvo asociado con el riesgo de padecer cáncer de próstata, jugando un papel en la susceptibilidad hacia el cáncer en la población japonesa<sup>23</sup>.

Por otra parte uno de los genes blanco importantes de p53 es p21, miembro de la familia de inhibidores Cip/Kip del complejo cinasas dependientes de ciclinas (cdk's)/ciclinas. La proteína p21 se une estrechamente a este complejo y esta unión inhibe la función del complejo en células con el DNA dañado. El ciclo celular es regulado por cdk's, la sobreexpresión de las cdk's lleva al arresto de la célula en las fases G1, G2 o S. El arresto del ciclo celular esta mediado por sobre-regulación de p21 y de p53, ambas proteínas mantienen la homeostasis a través de la inducción del arresto en la fase G1. La proteína p21 también es esencial en la proliferación y en la apoptosis<sup>26-28</sup>.

p21 es un gen supresor de tumor, está localizado en el cromosoma 6p21.2, que codifica una proteína de 21 kDa y que juega un papel importante en la regulación del ciclo celular en las células normales<sup>29</sup>. p21 contiene una región conservada en el extremo amino-terminal, que es requerida y suficiente para la inhibición de los complejos cdk/ciclinas, mientras que en el extremo carboxilo-terminal tiene un sitio de unión al antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA) el cual juega un papel importante en la replicación del DNA<sup>30</sup>. Un SNP en el codón 31 de p21, que consiste en el cambio de una citosina por una adenina, causa una sustitución de una serina por una arginina en la proteína. Este cambio está localizado en un dominio de unión a DNA, por lo que puede originar proteínas funcionalmente diferentes. Estudios epidemiológicos han encontrado que el polimorfismo en el codón 31 de p21 está asociado con riesgo de cáncer de pulmón, cáncer cervical, cáncer de mama, cáncer de esófago y cáncer nasofaríngeo. Huang y col., encontraron que los portadores del genotipo  $p21^{Arg/Arg31}$  tenían 1.8 veces el riesgo (I.C. 95% 1.06-3.01 p= 0.029) de desarrollar cáncer de próstata, comparado con aquellos que tenían el genotipo  $p21^{Ser/Ser31}$ , especialmente cuando se trataba de hombres jóvenes. En el mismo estudio analizaron el efecto de este polimorfismo en la HBP donde encontraron que los portadores del genotipo  $p21^{Arg/Arg31}$  tenían 2.3 veces el riesgo (I.C. 95% 1.07-4.98 p= 0.032) de padecer HBP en comparación con los portadores del genotipo  $p21^{Ser/Ser31}$ . Algunos autores han sugerido que el polimorfismo de p21 está involucrado en la carcinogénesis y progresión del cáncer de próstata,

específicamente el independiente de andrógenos, pero se desconoce el mecanismo exacto de cómo el polimorfismo en el codón 31 de *p21* afecta las probabilidades de desarrollar CaP o de alterar el curso de la enfermedad. Sin embargo, se considera que el polimorfismo en el codón 31 de *p21* puede estar involucrado en el CaP y en la HBP y determinar la susceptibilidad a estas patologías<sup>10</sup>.

Mutaciones en *p53* o en *p21* pueden llevar a la pérdida del control homeostático<sup>24,28</sup>. Se ha observado que el genotipo *Pro/Pro* en el codón 72 de *p53* y el genotipo *Arg/Arg* en el codón 31 de *p21* aumentan el riesgo de tener cáncer de mama, de pulmón, cervical, hepatocelular, esofágico, sin embargo en CaP e HBP se han obtenido resultados controversiales con respecto a estos polimorfismos<sup>10,12,14,21-25,26,28-35</sup>. Debido a que son genes que están implicados en diversos mecanismos que contribuyen con el control homeostático de la célula, el estudio de estos genes y sus variantes puede llevar a comprender mejor el papel que tienen en las diferentes patologías.

En México no existen reportes sobre la relación individual o combinada de los polimorfismos en el codón 72 de *p53* y en el codón 31 de *p21* en cáncer o en hiperplasia benigna de próstata, por lo que se llevó a cabo un estudio de casos y controles con el objetivo de evaluar la asociación de estos polimorfismos con el riesgo de padecer cáncer ó hiperplasia benigna de próstata, así como conocer posibles factores de riesgo y su asociación con estas patologías.

## II. MATERIAL Y MÉTODOS

**Población.** Se realizó un estudio de casos y controles en el periodo de Febrero de 2006 a Febrero de 2007 donde se estudiaron pacientes diagnosticados con cáncer ó hiperplasia benigna de próstata por medio de biopsia y estudio histopatológico, atendidos en el Hospital del Instituto Mexicano del Seguro Social de la ciudad de Iguala y el Hospital General de Zona "Vicente Guerrero" de la ciudad de Acapulco, Guerrero. Durante este periodo, se captaron 111 casos: 55 de cáncer de próstata, 56 de hiperplasia benigna de próstata de 40 y más años de edad. Los controles fueron 112 hombres de 40 años de edad y más, captados en los mismos centros hospitalarios, pero que asistieron por problemas de salud sin relación con el tracto genitourinario y que no presentaban sintomatología prostática ni urológica. Todos los pacientes incluidos en el estudio firmaron un consentimiento informado y se les aplicó un cuestionario para obtener datos generales, hábitos alimenticios, de tabaquismo y antecedentes familiares de CaP o de HBP.

**Especímenes.** Para los casos y los controles se obtuvieron dos tubos con 3 mL de sangre periférica por punción venosa uno sin EDTA para la determinación de antígeno prostático específico y otro con EDTA para la extracción de DNA.

**Extracción de DNA a partir de sangre.** De la muestra de sangre sin EDTA se realizó la extracción de DNA a partir de leucocitos por medio de la técnica de Miller. Se determinó su concentración y pureza del DNA en un biofotómetro (Eppendorf, Alemania)<sup>36</sup>.

**Genotipificación del polimorfismo p53.** La detección del SNP  $p53^{Pro/Arg72}$  se realizó por reacción en cadena de la polimerasa alelo específica (AS-PCR) descrita por Wilson y col.<sup>37</sup>. Para  $p53^{Pro72}$  se utilizaron 12 pmol del iniciador sentido 5'-GCCAGAGGCTGCTCCCC-3' y 12 pmol del iniciador antisentido 5'-CGTGCAAGTCACAGACTT-3', que amplifican un producto de 178 pb. El volumen final de la mezcla de reacción fue de 20  $\mu$ L, conteniendo buffer para PCR 1X,  $MgCl_2$

1.75 mM, 0.8 U de Taq DNA polimerasa Platinum (Invitrogen, Brazil), 0.2 mM de dNTP's (Invitrogen, Brazil) y 250 ng de DNA. Para p53<sup>Arg72</sup> se utilizaron 12 pmol del iniciador sentido 5'-TCCCCCTTGCCGTCCCAA-3' y 12 pmol del iniciador antisentido 5'-CTGGTGCAGGGGCCACGC-3', que amplifican un producto de 136 pb<sup>38</sup>. El volumen final de la mezcla fue de 20 µL el cual contenía buffer para PCR 1X, MgCl<sub>2</sub> 1.75 mM, 0.8 U de Taq DNA polimerasa Platinum (Invitrogen, Brazil), dNTP's 0.2 mM (Invitrogen, Brazil) y 250 ng de DNA. Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: un periodo inicial de desnaturalización a 94°C por 10 minutos y 30 ciclos de: desnaturalización a 94°C por 30 segundos, alineamiento a 65°C por 30 segundos y una extensión a 72°C por 30 segundos, seguidos por un periodo final de extensión de 3 minutos a 72°C. Los productos de PCR se revelaron por electroforesis en gel de agarosa al 2.5% teñidos con bromuro de etidio, que se visualizaron bajo luz ultravioleta en un fotodocumentador (BIO-RAD, Milán, Italia).

**Genotipificación del polimorfismo p21.** La detección del SNP p21<sup>Ser/Arg31</sup> se realizó a través del método de PCR-RFLP'S, Se utilizaron 9 pmol del iniciador sentido 5'-GGATGTCCGTCAGAACCCAT-3' y 9 pmol del iniciador antisentido 5'-GGTGCCAGGCCGCCTGCCTC-3', que amplifican un producto de PCR de 274 pb<sup>34</sup>. El volumen final de la mezcla de reacción fue de 25 µL el cual contenía Buffer para PCR 1X, MgCl<sub>2</sub> 1.75 mM, 1 U de Taq DNA polimerasa Platinum, dNTP's 0.25 mM y 100 ng de DNA. Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: un periodo de desnaturalización inicial a 94°C por 10 minutos y 40 ciclos de: desnaturalización a 94°C por 40 segundos, alineamiento a 60°C por 40 segundos y una extensión a 72°C por 1 minuto, seguidos por un periodo de extensión final de 3 minutos a 72°C. Los productos de PCR se revelaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5 % teñidos con bromuro de etidio, que se observaron bajo luz ultravioleta en un fotodocumentador. Los productos de PCR se digirieron con 5 U de la enzima de restricción *B/p I* (New England Biolabs), y el patrón de restricción se reveló por electroforesis en geles de agarosa al 2% y tinción con bromuro de etidio. Los geles se visualizaron en un fotodocumentador (BIO-RAD, Milán, Italia).<sup>10</sup> El alelo p21<sup>Ser31</sup> tiene un sitio de corte para la enzima, originando dos fragmentos: 1 de 71 pb y otro

de 203 pb; mientras que para el alelo p21<sup>Arg31</sup> el cambio de base C-A, elimina el sitio de corte de la enzima quedando un producto sin digestión.

**Análisis estadístico.** Para la captura de datos se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 12.0 (SPSS Corporation, Chicago, IL) y el análisis estadístico se realizó mediante el paquete estadístico STATA 9.1 (Stata Corporation, College Station, TX, 2004). Se obtuvieron frecuencias simples y relativas de las variables cualitativas para cada uno de los grupos y las diferencias entre las frecuencias se realizaron por la prueba de chi-cuadrada ( $\chi^2$ ); para determinar la significancia estadística ( $p \leq 0.05$ ). Se obtuvo la mediana y rango intercuartilo de las variables cuantitativas no paramétricas aplicando la prueba de Kruskal-Wallis para la comparación de medianas entre casos y controles. Se realizó un análisis descriptivo de los polimorfismos seleccionados, estableciendo las frecuencias genotípicas y a partir de estas las frecuencias alélicas; asimismo se evaluó si nuestra población se encontraba en equilibrio de Hardy-Weinberg. La asociación de los polimorfismos p53<sup>Pro/Arg72</sup> y p21<sup>Ser/Arg31</sup> con CaP e HBP se hizo mediante un modelo de regresión logística multinomial, no condicional, obtuvimos la razón de momios (OR crudo y ajustado) e intervalos de confianza al 95%.

### III. RESULTADOS

#### **Características generales de los casos de cáncer e hiperplasia benigna de próstata y de los controles.**

Se estudió un grupo de 224 varones, compuesto por 55 casos de CaP, 56 casos de HBP y 112 controles sin sintomatología prostática ni urológica. El promedio de edad de los casos de CaP fue de 74 años, en los casos de HBP fue de 67 años y en los controles de 49 años. El 87.3% de los pacientes con CaP y el 63.5% de los de HBP tenían primaria o menos escolaridad, y el 42.9% de los controles tenían licenciatura y otros. El 81.8% de los casos de CaP, el 73.2% de los casos de HBP y el 76.8% de los controles no presentan antecedentes familiares a alguna de las patologías estudiadas. El 85.4% de los hombres con CaP, 64.3% con HBP y 72.3% de los controles tenían el hábito del tabaquismo. La mayor parte de la población tenía una concentración de APE sérica menor a 4 ng/ml, considerada como normal, cabe destacar que en el grupo de los controles no hubo casos con concentraciones mayores a 10 ng/ml (cuadro 1).

En nuestro estudio el rango de edad en el grupo de CaP fue de 61 a 93 años, sin embargo, el cáncer se puede presentar en personas más jóvenes. Con respecto a la HBP el rango fue de 40 a 90 años. En este estudio la edad se asoció significativamente con estas patologías, para CaP se obtuvo un OR de 96.8 (IC<sub>95%</sub> 27.2- 412.3) y para HBP un OR de 25.1 (IC<sub>95%</sub> 7.7- 104.1). El nivel de escolaridad estuvo asociado con el riesgo de CaP con un OR de 92.2 (IC<sub>95%</sub> 13.6 – 3789.2) y para HBP un OR de 9.6 (IC<sub>95%</sub> 3.5- 28.8), conforme el nivel de escolaridad avanza el riesgo disminuye. Para el caso del tabaquismo encontramos una asociación con el CaP con un OR de 2.2 (IC<sub>95%</sub> 0.9 – 6.1) pero no para la HBP, mientras que con los antecedentes familiares no hubo asociación en ninguna de las patologías (cuadro 2).

**Cuadro 1.** Características generales de los casos de cáncer, hiperplasia benigna de próstata y controles captados en el Hospital del Instituto Mexicano del Seguro Social de la ciudad de Iguala y el Hospital General de Zona "Vicente Guerrero" de la ciudad de Acapulco, Guerrero.

Características	CaP <sup>a</sup>		HBP <sup>b</sup>		CONTROLES	
	N	%	n	%	n	%
Edad (años)						
Medianas**	74 (68,78)		66.5 (56, 73)		49 (45,55)	
Valor P***						<b>P&lt; 0.0001</b>
Escolaridad						
Primaria o menos	48	87.3	35	63.5	25	22.3
Secundaria/bachillerato	6	10.9	14	25.0	39	34.8
Licenciatura y otros	1	1.8	7	12.5	48	42.9
Valor P*						<b>P&lt; 0.001</b>
Antecedentes familiares						
No	45	81.8	41	73.2	86	76.8
Si	10	18.2	15	26.8	26	23.2
Valor P*						P: 0.554
Ocupación						
No profesionista	43	78.2	45	80.4	59	52.7
Profesionista	12	21.8	11	19.6	53	47.3
Valor P*						<b>P&lt; 0.001</b>
Tabaquismo						
No	8	14.6	20	35.7	31	27.7
Si	47	85.4	36	64.3	81	72.3
Valor P*						<b>P= 0.038</b>
Concentración APE						
< 4.0 ng/mL	45	81.8	37	66.1	108	96.4
÷ 4.1 ng/mL y 10.0 ng/mL	3	5.5	12	21.4	4	3.6
> 10 ng/mL	7	12.7	7	12.5	0	0
Valor P*						<b>P= 0.001</b>

\*Chi cuadrada, \*\*\*prueba de Kruskal-Wallis, \*\*Reporte de medianas y rango intercuartilo

<sup>a</sup> Cáncer de próstata

<sup>b</sup> Hiperplasia benigna de próstata

**Cuadro 2.** Asociación de factores de riesgo para el desarrollo de cáncer de próstata e hiperplasia benigna de próstata.

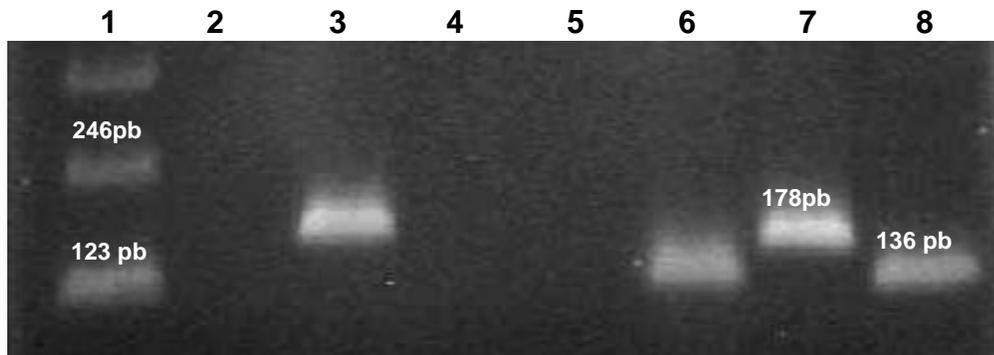
Características	Controles n=112	CaPa <sup>a</sup> n=55	OR <sup>t</sup> (IC 95%)	Casos	
				HBP <sup>b</sup> n=56	OR <sup>t</sup> (IC 95%)
<b>Edad</b>					
40-67 años	108	12	1.0*	29	1.0*
68-93 años	4	43	97 (27.2- 412.3)	27	25 (7.7-104.1)
<b>Ocupación</b>					
Profesionista	53	12	1.0*	11	1.0*
No profesionista	59	43	3 (1.5 -7.4)	45	4 (1.7- 8.7)
<b>Antecedentes familiares</b>					
No	86	45	1.0*	41	1.0*
Si	26	10	0.7 (0.3-1.8)	15	1.2 (0.5- 2.7)
<b>Escolaridad</b>					
Licenciatura y otros	48	1	1.0*	7	1.0*
Secundaria/bachillerato	39	6	7 (0.8-346.5)	14	2.5 (0.8-7.9)
Primaria o menos	25	48	92 (13.6- 3789.2)	35	9.6 (3.5-28.8)
<b>Tabaquismo</b>					
No	31	8	1.0*	20	1.0*
Si	81	47	2.2 (0.9-6.1)	36	0.7 (0.3-1.5)

\* Categoría y valor de referencia, <sup>a</sup> Cáncer de próstata, <sup>b</sup> Hiperplasia benigna de próstata, <sup>t</sup> OR no ajustado

### Frecuencias de los polimorfismos del codón 72 de p53 y del codón 31 de p21 en casos de cáncer de próstata, hiperplasia benigna de próstata y controles.

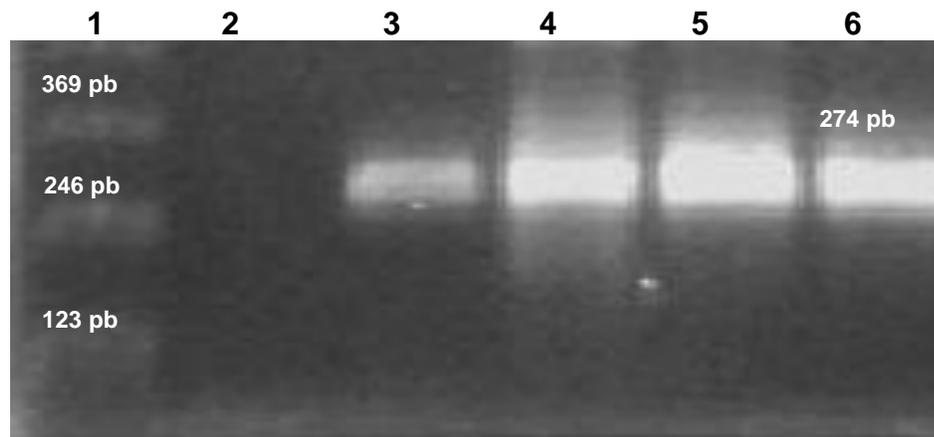
En cuanto a la distribución del polimorfismo del codón 72 de p53, en el grupo de CaP los genotipos más frecuentes fueron el heterocigoto *Pro/Arg*<sup>72</sup> y el homocigoto *Arg/Arg*<sup>72</sup> con un 40% (22) cada uno. El 52.8% (29) de los varones con HBP y el 43.7% (49) de los controles fueron homocigotos *Arg/Arg*<sup>72</sup>. En el total de sujetos estudiados, la frecuencia para el alelo *Pro*<sup>72</sup> fue de 0.35 y para el alelo *Arg*<sup>72</sup> es de 0.65. (Cuadro 3) Con respecto a la frecuencia del polimorfismo del codón 31 de p21 observamos que el 65.5% (36) de los casos de CaP, el 64.3% (36) de HBP y el 66.1% (74) de los controles encontramos que el genotipo más frecuente fue el heterocigoto *Ser/Arg*<sup>31</sup>. Con una frecuencia alélica para el alelo *Ser*<sup>31</sup> es de 0.55 y para el alelo *Arg*<sup>31</sup> es de 0.45 (Cuadro 3).

En la figura 1 se muestra la detección y genotipificación del polimorfismo del codón 72 de p53 por medio de la AS-PCR.

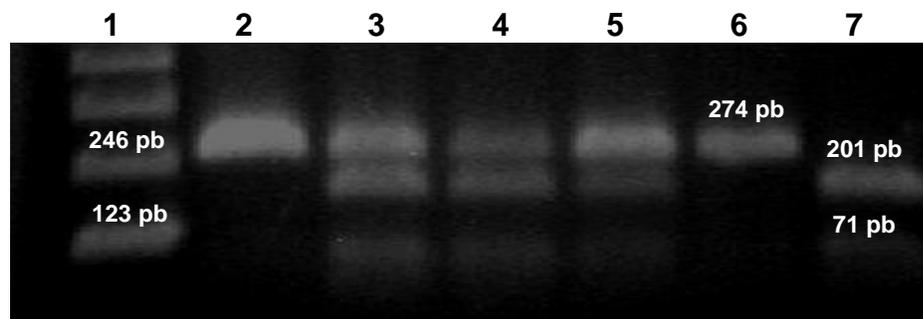


**Figura 1. AS-PCR para polimorfismo en el codón 72 de p53.** Productos de AS-PCR en gel de agarosa al 1.5%. Carril 1: Marcador de peso molecular de 123pb, carril 2: control negativo\*, carril 3 y 4: homocigoto p53<sup>Pro/Pro72</sup>, carril 5 y 6: homocigoto p53<sup>Arg/Arg72</sup>, carril 7 y 8: heterocigoto p53<sup>Pro/Arg72</sup>  
\* Mezcla de reacción en la que se sustituyó el DNA blanco por agua

En las figura 2 y 3 se muestra la detección y genotipificación del polimorfismo en el codón 31 de p21 por medio de PCR-RFLP's.



**Figura 2. Producto de amplificación del gen p21.** Producto de PCR en gel de agarosa al 2%. Carril 1: Marcador de peso molecular de 123 pb, carril 2: control negativo\*; del carril 3 al 6: producto de PCR de 274 pb.  
\* Mezcla de reacción en la que se sustituyó el DNA blanco por agua



**Figura 3. RFLP's para el polimorfismo del codón 31 de p21.** Identificación de alelos después de la digestión con *Blp I* en gel de agarosa al 2%. Carril 1: Marcador de peso molecular de 123 pb, carril 2: producto de PCR sin digestión, carril 3- 5: heterocigoto p21<sup>Ser/Arg31</sup>, carril 6: homocigoto p21<sup>Arg/Arg31</sup>, carril 7: homocigoto p21<sup>Ser/Ser31</sup>.

**Cuadro 3.** Frecuencias de los genotipos del codón 72 de p53 y del codón 31 de p21 en casos de cáncer de próstata, hiperplasia benigna de próstata y controles.

Genotipos	CaP <sup>a</sup>		HBP <sup>b</sup>		CONTROLES	
	n	%	n	%	n	%
<i>p53</i> <sup>Pro/Arg 72</sup>						
<i>Pro/Pro</i> <sup>72</sup>	11	20.0	9	16.1	16	14.3
<i>Pro/Arg</i> <sup>72</sup>	22	40.0	18	32.1	47	42.0
<i>Arg/Arg</i> <sup>72</sup>	22	40.0	29	52.8	49	43.7
FA <sup>d</sup>	Pro <sup>72</sup> : 35		Arg <sup>72</sup> : 65			
EH-W <sup>c</sup>						<b>0.4097</b>
<i>p21</i> <sup>Ser/arg31</sup>						
<i>Ser/Ser</i> <sup>31</sup>	11	20.0	12	21.4	14	12.5
<i>Ser/Arg</i> <sup>31</sup>	36	65.5	36	64.3	74	66.1
<i>Arg/Arg</i> <sup>31</sup>	8	14.5	8	14.3	24	21.4
FA <sup>d</sup>	Ser <sup>31</sup> : 55		Arg <sup>31</sup> : 45			
EH-W <sup>c</sup>						<b>0.0006</b>

<sup>a</sup> Cáncer de próstata, <sup>b</sup> Hiperplasia benigna de próstata, <sup>c</sup> Equilibrio de Hardy-Weinberg en los controles, <sup>d</sup>FA: Frecuencia alélica

### Distribución de haplotipos del codón 72 de p53 y del codón 31 de p21

El 27.2% (15) de de los pacientes con CaP, el 28.6% (16) de los que tenían HBP y 31.2% (35) de los controles fueron  $p53^{Pro/Arg72}$  y  $p21^{Ser/Arg31}$ . No se encontró asociación estadísticamente significativa (cuadro 4)

**Cuadro 4.** Distribución de los haplotipos del codón 72 de p53 y del codón 31 de p21 en casos de cáncer de próstata, hiperplasia benigna de próstata y controles.

	Genotipos $p53^{Pro/Arg72}$						Valor P*
	<i>Pro/Pro72</i>		<i>Pro/Arg72</i>		<i>Arg/Arg72</i>		
	n	%	n	%	N	%	
CaPa (n= 55)							
Genotipos $p21^{Ser/Arg31}$							
<i>Ser/Ser31</i>	3	5.5	4	7.3	4	7.3	p= 0.519
<i>Ser/Arg31</i>	8	14.5	13	23.6	15	27.2	
<i>Arg/Arg31</i>	0	0.0	5	9.1	3	5.5	
HBP <sup>b</sup> (n= 56)							
Genotipos $p21^{Ser/Arg31}$							
<i>Ser/Ser31</i>	2	3.6	3	5.3	7	12.5	p= 0.551
<i>Ser/Arg31</i>	6	10.7	14	25.0	16	28.6	
<i>Arg/Arg31</i>	1	1.8	1	1.8	6	10.7	
Controles (n= 112)							
Genotipos $p21^{Ser/Arg31}$							
<i>Ser/Ser31</i>	2	1.8	5	4.4	7	6.3	p= 0.159
<i>Ser/Arg31</i>	7	6.3	32	28.5	35	31.2	
<i>Arg/Arg31</i>	7	6.3	10	8.9	7	6.3	

<sup>a</sup> Cáncer de próstata, <sup>b</sup> Hiperplasia benigna de próstata, \*prueba  $\chi^2$

### Asociación de los genotipos del polimorfismo en el codón 72 de p53 y del codón 31 de p21 con cáncer de próstata e hiperplasia benigna de próstata

Para la asociación del polimorfismo del codón 72 de p53 encontramos un OR de 1.5 (IC<sub>95%</sub> 0.6- 3.8) para el genotipo de riesgo  $Pro/Pro^{72}$  con cáncer de próstata aunque esta asociación no es estadísticamente significativa, para la HBP no encontramos asociación con el genotipo de riesgo del polimorfismo del codón 72 de p53.

Con respecto al polimorfismo en el codón 31 de *p21* no encontramos asociación del genotipo de riesgo *Arg/Arg*<sup>31</sup> con CaP con un OR de 0.4 (IC<sub>95%</sub> 0.1-1.3) y un OR de 0.4 (IC<sub>95%</sub> 0.1-1.2) para HBP, donde se comporta como factor protector, aunque no es estadísticamente significativo. Cuando se realizó un ajuste por edad, antígeno prostático y tabaquismo asumiendo una dominancia del genotipo homocigoto *Arg*<sup>31</sup> en el codón 31 de *p21* el OR tuvo una disminución en el grupo de CaP y en el grupo de HBP. (cuadro 5)

**Cuadro 5.** Asociación de los genotipos del polimorfismo del codón 72 de p53 y del codón 31 de *p21* con cáncer de próstata e hiperplasia benigna de próstata.

Genotipos	CaP <sup>a</sup> n=55		HBP <sup>b</sup> n=56	
	OR <sup>c</sup> (IC 95%)	OR <sup>a</sup> (IC 95%)	OR <sup>c</sup> (IC 95%)	OR <sup>a</sup> (IC 95%)
<i>p53</i> <sup>Pro/Arg 72</sup>				
<i>Arg/Arg</i> <sup>72</sup>	1.0*		1.0*	
<i>Pro/Arg</i> <sup>72</sup>	1.0 (0.5- 2.1)		0.6 (0.3- 1.3)	
<i>Pro/Pro</i> <sup>72</sup>	1.5 (0.6- 3.8)		0.9 (0.4- 2.4)	
<i>Pro/Pro</i> <sup>72</sup> y <i>Pro/Arg</i> <sup>72**</sup>	1.2 (0.6- 2.2)		0.7 (0.4- 1.4)	
<i>p21</i> <sup>Ser/Arg31</sup>				
<i>Ser/Ser</i> <sup>31</sup>	1.0*		1.0*	
<i>Ser/Arg</i> <sup>31</sup>	0.6 (0.3- 1.5)		0.6 (0.2- 1.4)	
<i>Arg/Arg</i> <sup>31</sup>	0.4 (0.1- 1.3)		0.4 (0.1- 1.2)	
<i>Arg/Arg</i> <sup>31</sup> y <i>Ser/Arg</i> <sup>31**</sup>	0.6 (0.2- 1.4)	<b>0.2 (0.1 -0.8)</b>	0.5 (0.2- 1.2)	<b>0.3 (0.1- 0.9)</b>

\* Categoría y valor de referencia, <sup>a</sup> Cáncer de próstata, <sup>b</sup> Hiperplasia benigna de próstata, <sup>c</sup> OR crudo

<sup>a</sup> OR ajustado por edad, antígeno prostático, tabaquismo, \*\* asumiendo dominancia

#### IV. DISCUSION

El estudio de los polimorfismos ha ido en aumento debido a la importancia que estos tienen con respecto a la susceptibilidad a diversas enfermedades. En México no hay reportes de estudios sobre el polimorfismo del codón 72 de p53 y del codón 31 de p21 en cáncer ni en hiperplasia benigna de próstata. Este trabajo es uno de los primeros en población mexicana. La importancia de este estudio es el reportar las frecuencias en que se presentan estos polimorfismos y su posible asociación con estas patologías, además del reporte de posibles factores de riesgo como lo sería la edad, escolaridad, ocupación, antecedentes familiares y el tabaquismo.

Nosotros encontramos que pacientes mayores de 68 años tenían 96.8 (IC<sub>95%</sub>) veces el riesgo de CaP y 25.1 (IC<sub>95%</sub>) veces el riesgo de HBP. Lo que podría deberse a que son enfermedades asociadas a la edad. Esta asociación ha sido ampliamente documentada en diversos estudios epidemiológicos<sup>16,39-41</sup>. Dentro de los factores de riesgo analizados en este trabajo encontramos que aquellos pacientes que sólo tenían la primaria o menos escolaridad tenían 92.2 (IC<sub>95%</sub>) veces el riesgo de padecer CaP y de 9.6 (IC<sub>95%</sub>) veces para el caso de la HBP. Cuando tenían secundaria o bachillerato el riesgo disminuía a 7.4 (IC<sub>95%</sub>) con respecto al CaP y a 2.5 (IC<sub>95%</sub>) veces el riesgo de padecer HBP comparado con los que tenían mayor escolaridad, esto probablemente se deba a que a mayor escolaridad mayor información se puede tener con respecto a estas patologías. Estos resultados no pudieron ser comparados con otros estudios debido a que no se encontró información a este respecto. En el habito del tabaquismo observamos un OR de 2.2 (IC<sub>95%</sub> 0.9- 6.1) en aquellos individuos que tienen CaP, encontrando un mayor riesgo que el que encontraron Lora y col., en el 2003 donde los fumadores tenían un OR de 1.4 (IC<sub>95%</sub> 1.0- 2.0) con respecto a los no fumadores<sup>42</sup>.

Con respecto al polimorfismo del codón 72 de p53 encontramos que el genotipo más frecuente (40% CaP, 52.8% HBP y 43.7% controles) fue el heterocigoto *Pro/Arg*<sup>72</sup> en nuestros grupos de estudio, hallazgo que fue muy similar a lo que

encontró Huang y col., en un estudio en CaP e HBP en población taiwanesa, el que encontraron que el genotipo *Pro/Arg*<sup>72</sup> tuvo una frecuencia de 46% para CaP, 43% para HBP y 44% para el grupo de los controles. En otros dos trabajos realizados en pacientes con CaP uno en Argentina por Leiros y col., y otro realizado en Estados Unidos por Henner y col., encontraron que el genotipo más frecuente fue el homocigoto *Arg*<sup>72</sup> en el primero encontraron un 51% para los casos de CaP, mientras que Henner y col., observaron un 61% para los casos y un 64% para los controles en raza caucásica.<sup>10,32,43</sup> La frecuencia del alelo *Pro*<sup>72</sup> del polimorfismo del codón 72 de *p53*, en el total de los varones estudiados fue de 0.35, lo cual difiere de lo reportado por Huang y col., quienes informaron una frecuencia alélica para *Pro*<sup>72</sup> de 0.56. En cuanto al polimorfismo del codón 31 de *p21* observamos que el genotipo más frecuente fue el heterocigoto *Ser/Arg*<sup>31</sup> con un 65.8% para el grupo de CaP, de 64.3% para HBP y 66.1% para los controles, siendo frecuencias más altas a las reportadas por Huang y col., que informan frecuencias de 42.5% para CaP, 45.3% para HBP y 48.2% para su grupo control. En nuestro estudio encontramos una frecuencia alélica para el polimorfismo del codón 31 de *p21* para el alelo *Arg*<sup>31</sup> de 0.45 lo que concuerda con la frecuencia alélica reportada por Huang y col., quienes encuentran la misma frecuencia alélica de 0.45 para este polimorfismo<sup>10</sup>.

No encontramos asociación de las combinaciones de genotipos de los polimorfismos de *p53* y de *p21* con el CaP ni con la HBP sin embargo, cuando se estudiaron por separado, el genotipo de *p53 Pro/Pro*<sup>72</sup> arrojó un OR de 1.5 veces el riesgo de padecer cáncer de próstata con respecto a los que tenían el genotipo *Arg/Arg*<sup>72</sup>, aunque dicha asociación no fue estadísticamente significativa (OR 1.53, IC<sub>95%</sub> 0.6-3.8). No hubo asociación de la HBP con el genotipo de riesgo. Nuestros resultados concuerdan con los de Suzuki y col., quienes encuentran asociación del genotipo *Pro/Pro*<sup>72</sup> del polimorfismo del codón 72 de *p53* y el CaP con un OR de 2.4 (IC<sub>95%</sub> 0.9-6.4)<sup>4,43</sup>. Diferente a lo antes reportado por Huang y col., en población taiwanesa en donde no encuentran asociación con el genotipo de riesgo ni en su grupo de CaP ni en HBP con un OR de 1.0 (IC<sub>95%</sub> 0.6-1.7) y de 0.96 (IC<sub>95%</sub> 0.5-1.7), respectivamente, por lo que los autores asumieron que dicho polimorfismo puede no

influnciar el desarrollo de CaP o de HBP. En otro trabajo, Henner y col., reportan un OR de 0.2 (IC<sub>95%</sub> 0.1-0.8) para el genotipo *Pro/Pro*<sup>72</sup> de *p53* con respecto al CaP, ellos asocian este genotipo como un factor protector para el desarrollo de esta patología, sin embargo concluyen que dicha asociación debe tomarse con cautela.

En cuanto a los resultados del polimorfismo en el codón 31 de *p21* no encontramos una asociación del genotipo *Arg/Arg*<sup>31</sup> con el CaP (OR crudo de 0.6; IC<sub>95%</sub> 0.2-1.4) ni con la HBP (OR crudo de 0.5; IC<sub>95%</sub> 0.2-1.2); cuando se ajustó por edad, antígeno prostático y tabaquismo, este genotipo se comportó como factor protector tanto para CaP (OR 0.2; IC<sub>95%</sub> 0.1-0.8) como para HBP (OR 0.3; IC<sub>95%</sub> 0.1-0.9), es decir la falta del alelo *Arg*<sup>31</sup> puede aumentar el riesgo de tener CaP y de tener HBP. Por lo que nuestros resultados difieren con lo reportado por Huang y col., quienes encontraron asociación del genotipo *Arg/Arg*<sup>31</sup> con un OR de 1.8 (IC<sub>95%</sub> 1.1-3.0) para el caso de CaP y un OR de 1.8 (IC<sub>95%</sub> 0.97- 3.3) veces riesgo para padecer HBP<sup>10</sup>. Con respecto a otros tipos de cáncer Chen y col., en pacientes con cáncer de vejiga reportan una asociación del genotipo *Arg/Arg*<sup>31</sup> con un OR de 2.9 (IC<sub>95%</sub> 1.03-7.9) comparado con aquellos pacientes que portaban el genotipo *Ser/Ser*<sup>31</sup> <sup>44</sup>.

En cuanto a datos de estos polimorfismos en población mexicana Arcos y col.<sup>38</sup>, en el 2006 en mujeres guerrerenses con cáncer cervicouterino, lesiones precursoras y en mujeres sanas, encontró que la frecuencia del genotipo homocigoto *Arg*<sup>72</sup> del polimorfismo del codón 72 de *p53* fue el más frecuente con un 58.5% para cáncer cervicouterino, un 55.7% para lesiones escamosas intraepitelial de grado alto, 54.0% para lesiones escamosas intraepitelial de grado bajo y un 42.2% en los controles, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en este estudio donde encontramos un 40% para CaP, un 52.8% para HBP y un 43.7% para los controles, aunque la población estudiada difiere en el sexo. Con respecto al polimorfismo en el codón 31 de *p21* Arcos y col., encontraron que el genotipo más frecuente fue el homocigoto *Ser*<sup>31</sup> con un 49.1% para cáncer cervicouterino, un 50.0% para lesiones escamosas intraepitelial de grado alto, 54.0% para lesiones escamosas intraepitelial de grado bajo y un 49.0% en los controles en su grupo de estudio, difiriendo con nuestros

resultados debido a que nosotros encontramos en mayor frecuencia al heterocigoto *Ser/Arg*<sup>31</sup> donde encontramos un 65.5% para CaP, un 64.3% para HBP y un 66.1% para los controles.

Cabe destacar que tanto el CaP como la HBP son el resultado de diversas alteraciones en el organismo y a pesar de que estos polimorfismos pudieran estar implicados en el desarrollo de estas patologías, los co-factores de riesgo asociados juegan un papel importante en la etiología de las enfermedades.

Con los resultados obtenidos en este trabajo y con la comparación realizada con otros estudios, se evidencia la necesidad de realizar más estudios de asociación para tratar de conocer si dichos polimorfismos tienen un papel en el desarrollo de diversas patologías, así como poder comprender un poco más la complicada maquinaria de estas y otras enfermedades en donde se ven implicados genes clave como lo son *p53* y *p21*. A pesar de las limitaciones con respecto al tamaño de muestra los datos obtenidos pueden servir como un antecedente de las frecuencias génicas y alélicas de estos polimorfismos en una parte de la población mexicana.

## V. CONCLUSIONES

- En nuestro estudio el genotipo más frecuente del polimorfismo en el codón 72 de *p53* fue el heterocigoto *Pro/Arg*<sup>72</sup> y el homocigoto *Arg*<sup>72</sup> para los casos de CaP; para el grupo de HBP y el de los controles fue el heterocigoto *Pro/Arg*<sup>72</sup>, donde encontramos una mayor frecuencia para el alelo *Arg*<sup>72</sup>. El genotipo más frecuente del polimorfismo en el codón 31 de *p21* fue el heterocigoto *Ser/Arg*<sup>31</sup> comportándose muy similar en los tres grupos de estudio, con una mayor frecuencia alélica para el alelo *Ser*<sup>31</sup>.
- En base a los resultados obtenidos se encontró asociación del genotipo homocigoto *Pro*<sup>72</sup> de *p53* con respecto al CaP no así en el caso de la HBP, con respecto al genotipo homocigoto *Arg*<sup>31</sup> de *p21* se encontró que este se comportaba como factor protector y que la falta de este alelo podría aumentar el riesgo de padecer estas patologías. En el presente trabajo no encontramos asociación con la combinación de genotipos de los polimorfismos del codón 72 de *p53* y del polimorfismo del codón 31 de *p21*.
- La edad, la escolaridad y el tabaquismo son factores que se asocian con el riesgo de padecer CaP, mas no con la de padecer HBP. En este estudio los antecedentes familiares no se asociaron con estas patologías.

## VI. REFERENCIAS

1. Programa de acción: Cáncer de próstata. SSA. 2001. p14-18.
2. Estadísticas de mortalidad en México, 2003. Salud Pública Méx 2005; 47: 171-187
3. Gimba ERP, Barcinski MA. Molecular aspects of prostate cancer: implications for future directions. *int braz j urol* 2003; 29(5): 401-411.
4. Barry MJ, Roehrborn CG. Extracts from "clinical evidence" benign prostatic hyperplasia. *BMJ* 2001;323:1042–1046
5. Roehrborn CG. Benign prostatic hyperplasia: an overview. *Rev Urol.* 2005;7(9):S3-S14
6. Oesterling J E. Benign prostatic hyperplasia- medical and minimally invasive treatment options. *N Engl J Med* 1995; 332(2): 99-110
7. Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR, Bast RC, Gansler TS, Holland JF, et. al. *Cancer Medicine*. 6th ed. Hamilton, Canada: BC Decker Inc 2003 section 29
8. National Cancer Institute. Understanding prostate changes: A health guide for men. NIH Publication 2004; 02-5199
9. Simpson R J. Benign prostatic hyperplasia. *Br J Gen Pract.* 1997; 47(417): 235–240
10. Shu-Pin H, Wen-Jeng W, Wun-Shaing WC, Ming-Tsang W, Yun-Yun C, Yun-Ju C, et al. p53 codon 72 y p21 codon 31 polymorphisms in prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13(12): 2217-2224.
11. National Cancer Institute. What you need to know about: prostate cancer. NIH Publication 2005; 05–1576
12. Rao A, Coan A, Welsh JE, Barclay WW, Koumenis C, Cramer SD. Vitamin D receptor and p21/WAF1 are targets of genistein and 1,25- dihydroxyvitamin D3 in human prostate cancer cells. *Cancer Res* 2004; 5;64(6): 2143-2147.
13. Stewart LV, Weigel NL. Vitamin D and prostate cancer. *Exp Biol Med* 2004;229(4):277-284.
14. Bunker CH, Patrick AL, Konety BR, Dhir R, Brufsky AM, Vivas CA, et. al. High prevalence of screening-detected prostate cancer among Afro-Caribbeans: The Tobago prostate cancer survey. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 2: 726-729

15. Nelson WG, De Marzo AM, Isaacs WB. Mechanisms of disease: prostate cancer. *N Engl J Med* 2003;349:366-81
16. Mazhar D, Waxman J. Prostate cancer. *Postgrad. Med. J.* 2002;78:590-595.
17. Plaskon LA, Penson DF, Vaughan TL, Stanford JL. Cigarette smoking and risk of prostate cancer in middle-aged men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003; 12: 604-609
18. Foley R, Hollywood D, Lawler M. Molecular pathology of prostate cancer: the key to identifying new biomarkers of disease. *Endocr Relat Cancer* 2004; 11: 477–488
19. Huncharek M, Muscat J. Genetic characteristics of prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1995; 4: 681-687
20. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff K, Roberts PW. *Molecular Biology of the Cell.* 4th ed. New York 2002.
21. Somasundaram K, El-Deiry WS. Tumor suppressor p53: Regulation and function. *Front Biosci* 2000; 5: 424-437
22. Zhong-Zheng Z, Wen-Ming C, Shu-Fang L, Hui D, Guang-Shang Z, Meng-Chao W. Homozygosity for pro of p53 arg 72 Pro as a potential risk factor for hepatocellular carcinoma in Chinese population. *World J Gastroenterol* 2005; 11(2): 289-292
23. Suzuki K, Matsui H, Ohtake N, Nakata S, Takei T, Nakazato H, et al. A p53 codon 72 polymorphism associated with prostate cancer development and progression in Japanese. *J Biomed Sci* 2003;10:430–435
24. Thomas M, Kalita A, Labrecque S, Pim D, Banks L, Matlashewski G. Two polymorphic variants of wild-type p53 differ biochemically and biologically. *Mol Cel Biol* 1999; 19(2): 1092-1100
25. Yi-Ching W, Chih-Yi C, Shin-Kuang C, Yuan-Yen C, Pinpin L. p53 codon 72 polymorphism in Taiwanese lung cancer patients: association with lung cancer susceptibility and prognosis. *Clin cancer res* 1999; 5: 129-134
26. Su L, Liu G, Zhou W, Xu LL, Miller DP, Park S, et al. No association between the p21 codon 31 serine-arginine polymorphism and lung cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; 12: 174-175
27. Gartel AL, Tyner AL. The role of the cyclin-dependent kinase inhibitor p21 in apoptosis. *Mol Cancer Ther* 2002; 1: 639–64

28. Keshava C, Frye BL, Wolf MS, McCanlies EC, Weston A. Waf-1 (p21) and p53 polymorphisms in breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11: 127-130
29. Hai-Long X, Qi S, Xiu-Sheng H, Xiao-Qiu L, Jian-Guo Z, Yin S, et al. Expression of p21waf1 and p53 and polymorphism of p21waf1 gene in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2004; 10(8): 1125-1131
30. Li G, Liu Z, Sturgis EM, Shi Q, Chamberlain RM. Genetic polymorphisms of p21 are associated with risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Carcinogenesis* 2005; 26(9): 1596—1602
31. Bonafe M, Ceccarelli C, Farabegoli F, Santini D, Taffurelli M, Barbi C, et al. Retention of the p53 codon 72 arginine allele is associate with a reduction of disease-free and overall survival in arginine/ proline heterozygous breast cancer patients. *Clinical cancer research* 2003; 9: 4860- 4864
32. Leiros GJ, Galliano SR, Sember ME, Kahn T, Schwarz E, Eiguchi K. Detection of human papillomavirus DNA and p53 codon 72 polymorphism in prostate carcinomas of patients from Argentina. *BMC Urology* 2005; 5: 15.
33. Powell BL, Staveren ILV, Roosken P, Grieu F, Berns EMJJ, Iacopetta B. Associations between common polymorphisms in TP53 and p21 WAF1/Cip1 and phenotypic features of breast cancer. *Carcinogenesis* 2002; 23(2): 311-315
34. Ming-Tsang W, Deng-Chyang W, Hon-Ki H, Ein-Long K, Chien-Hui Y, Jang-Ming L. Association between p21 codon 31 polymorphism and esophageal cancer risk in a Taiwanese population. *Cancer Lett* 2003; 201: 175-80
35. Wu HC, Chang CH, Chen HY, Tsai FJ, Tsai JJ, Chen WC. p53 gene codon 72 polymorphism but not tumor necrosis factor-alpha gene is associated with prostate cancer. *Urol Int* 2004; 73(1):41-46.
36. Fernández TG, Román RA, Martínez CDN. Manual de técnicas de laboratorio. Laboratorio de Investigación Clínica Lab Inv Clin 2005 UAFCQB. UAG
37. Wilson RC, Ji-Qing W, Cheng KC, Mercado AB, New MI. Rapid deoxyribonucleic acid analysis by allele-specific polymerase chain reaction for detection of mutations in the steroid 21-hydroxylase gene. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 1635-1640
38. Arcos RA. Polimorfismo p53Pro/Arg72 y p21Ser/Arg31 en lesiones premalignas y cáncer cervicouterino. (Tesis de Maestría). UAFCQB: Universidad Autonoma de Guerrero; 2006.

39. Jacobsen SJ, Girman CJ, Lieber MM. Natural history of benign prostatic hyperplasia. *Urology* 2001; (6): 5–16
40. Malins DC, Johnson PM, Barker EA, Polissar NL, Wheeler TM, Anderson KM. Cancer-related changes in prostate DNA as men age and early identification of metastasis in primary prostate tumors. *PNAS* 2003; 100 (9): 5401–5406,
41. Malins DC, Johnson PM, Wheeler TM, Barker EA, Polissar NL, Vinson MA. Age-related radical-induced DNA damage is linked to prostate cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 6025-6028.
42. Lora A. Plaskon, David F. Penson, Thomas L. Vaughan, and Janet L. Stanford. Cigarette smoking and risk of prostate cancer in middle-aged men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; 12: 604–609.
43. Henner D, Evans AJ, Hough KM, Harris EL, Lowe BA, Beer TM. Association of codon 72 polymorphism of p53 with lower prostate cancer risk. *The Prostate* 2001; 49: 263-266.
44. Chen WC, Wu HC, Hsu CD, Chen HY, Tsai FJ. p21 gene codon 31 polymorphism is associated with bladder cancer. *Urologic Oncology* 2002 ;7: 63–66