



## Estudio de la asociación entre el polimorfismo del gen TNF $\alpha$ y el cáncer de próstata.

**>>>** Según las últimas estimaciones realizadas por la Agencia Internacional de Investigación sobre Cáncer (IARC) en base a datos disponibles a nivel mundial para el año 2018, en Argentina, la mayor incidencia de cáncer en hombres está dada por el cáncer de próstata, con una ocurrencia de más de 11.000 casos anuales, que representan el 20% de todos los tumores malignos en varones y 9% de la totalidad de cánceres del país. El Antígeno prostático específico (PSA) sigue siendo el marcado de elección pero los datos disponibles confirman que mantiene un alto nivel de sensibilidad aunque la especificidad es baja. Por lo que el estudio de otros marcadores es de suma importancia, en este trabajo de investigación se determinará si los polimorfismos 308 y 238 del gen TNF $\alpha$  están asociados con cáncer de próstata.

### **>>> AUTORES**

Tatiana Pardo,(1) Pedro Salcedo,(2) José Miguel Quintero,(1) Lisbeth Borjas,(1) Mercedes Fernández-Mestre,(3) Yanira Sánchez,(1) Zuhey Carrillo,(2) Sergio Rivera(2)

1.Universidad del Zulia, Facultad de Medicina, Instituto de Investigaciones Genéticas, Maracaibo, Venezuela

2.Laboratorio HLA Inmunología y Genética, Instituto Hematológico de Occidente, Banco de

Sangre del Estado Zulia, Zulia, Venezuela  
3.Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Centro de Medicina Experimental, Laboratorio de Fisiopatología, Miranda, Venezuela  
Rev Alerg Mex. 2019;66(2):154-162

### **>>> CORRESPONDENCIA**

Sergio Rivera  
E-mail: sergio.rivera54@hotmail.es

## >>> RESUMEN

**Antecedentes:** El cáncer de próstata es la tercera causa de muerte por cáncer en hombres del hemisferio occidental y la segunda en zulianos de Venezuela.

**Objetivo:** Determinar si los polimorfismos 308 y 238 del gen TNF $\alpha$  están asociados con cáncer de próstata.

**Métodos:** El ADN extraído de sangre periférica de 40 pacientes con antígeno prostático específico y 40 controles fue amplificado por reacción en cadena de la polimerasa más digestión con enzimas NcoI y MspI.

**Resultados:** Respecto al polimorfismo 238 del gen TNF $\alpha$ , en los pacientes se observó 90 % de

genotipo GG y 10% de GA en los controles, 97.5% de GG y 2.5 % de GA, razón de momios (RM) = 4.000 para GA. En cuanto al polimorfismo 308, en los pacientes se identificó 85 % de genotipo GG y 15 % de GA y en los controles, 72.5 % de GG y 27.5 % de GA, RM = 0.545 para GA y 1.172 para GG. Las frecuencias alélicas de TNF $\alpha$ -238 en los pacientes fue de 95 % de G y 5 % de A; en los controles, 98.75 % de G y 1.25 % de A, con RM = 4.000 para A. Las frecuencias alélicas para TNF $\alpha$ -308 en los pacientes fueron 92.5% de G y 7.5% de A.

**Conclusiones:** No existieron asociaciones estadísticamente significativas. El alelo A del polimorfismo 238 del gen TNF- $\alpha$  resultó de riesgo para cáncer de próstata.

**Palabras clave:** Cáncer de próstata; TNF- $\alpha$ ; Polimorfismo TNF- $\alpha$ ; Polimorfismo TNF $\alpha$ -308;



## Análisis Multidisciplinarios de Alta Complejidad de Bahía Blanca para todo el país

- Clínico Humano
- Bromatológico
- Veterinario
- Agronómico
- Bioanalítica
- Industrial y Medio Ambiente



FUN. BIOQUIM. ARGENTINA  
Acreditado Mat. N° 00021

Asociación Laboratorios  
de Alta Complejidad

Antígeno prostático específico.

**Abreviaturas y siglas:** A, adenina ADN, ácido desoxirribonucleico CaP, cáncer de próstata G, guanina IL, interleucina PCR, reacción en cadena de la polimerasa RM, razón de momios TNF, tumoral necrosis factor.

## >>> ANTECEDENTES

La frecuencia de las alteraciones benignas y malignas de la próstata aumenta con el envejecimiento. Las necropsias de varones en el octavo decenio de la vida indican cambios hiperplásicos en más de 90 % de los casos y alteraciones cancerosas en más de 70 %. El cáncer de próstata (CaP) es la tercera causa más común de muerte por cáncer en hombres del hemisferio occidental y la segunda en el estado de Zulia, Venezuela.(1)

En los países desarrollados, el número absoluto de muertes por CaP ha disminuido en los últimos cinco años, ca que se atribuye a la generalización de las estrategias de detección basadas en la determinación del antígeno prostático específico. Aunque sigue siendo la segunda causa de muerte por cáncer en los hombres, solo uno de cada ocho individuos con CaP muere por esta enfermedad, dada la larga expectativa de vida y la evolución clínica de esta neoplasia.(2,3)

De los cánceres de próstata diagnosticados, más de 95 % corresponde a adenocarcinoma y el resto a tumores de células escamosas, de transición y menos frecuente a carcinosarcoma.

La metástasis a la próstata es rara, pero en algunos casos de cáncer de colon o tumores de células transicionales de la vejiga puede ocurrir invasión por extensión directa a la glándula

prostática.(2,4) La agresividad histológica del CaP se determina por el sistema de clasificación de Gleason, en el que los patrones histológicos glandulares, dominantes y secundarios establecen una puntuación que va de 1 (bien diferenciado) a 5 (no diferenciado) y se usan para dar una puntuación total de 2 a 10 para cada tumor. Se debe acotar que el área más pobremente diferenciada del tumor a menudo determina el comportamiento biológico del mismo.(2,4,5,6)

Diferentes estudios demuestran una agregación familiar para el CaP. Debido a que el riesgo de desarrollar este tipo de cáncer y a edades más temprana es del doble para los individuos con un pariente de primer grado afectado con esta enfermedad, que además suele tener un desarrollo distintivo y más severo, lo que claramente refiere la existencia de un componente genético.(2,4,5,6)

De tal forma, el CaP es una enfermedad multifactorial, su patogenia implica la interacción de factores ambientales y genéticos, de los cuales estos últimos explican un porcentaje significativo (de 5 a 10 %) de todos los casos, por lo que muchos investigadores proponen y tratan de determinar qué polimorfismos genéticos pueden servir como marcadores de riesgo genético en la génesis o pronóstico de esta neoplasia.(2,4,5,6)

Entre los posibles polimorfismos genéticos que puedan utilizarse como factores de riesgo se han explorado numerosas variantes genéticas en la biosíntesis y metabolismo de los andrógenos, en el metabolismo de ciertos carcinógenos, la reparación del ADN y de las diferentes vías de la inflamación crónica.(5,6)

Los marcadores relacionados con los genes de las proteínas involucradas en la inflamación crónica cada vez resultan de mayor interés debido a que se asocian directamente con



## PORQUE UN DIAGNÓSTICO PRECISO NECESITA RESULTADOS CONFIABLES.

Nuestro laboratorio integral está al servicio del profesional, brindando resultados confiables y asesoramiento en su interpretación, facilitando información precisa para colaborar en el diagnóstico, seguimiento y prevención de las enfermedades.

Nuestro compromiso: brindar un servicio personalizado a través de un equipo de especialistas, cumplir con los más exigentes estándares de calidad, y garantizar confiabilidad y exactitud en los resultados.

/ Biología Molecular / Hematología y Hemostasia / Microbiología / Endocrinología  
/ Citometría de Flujo / Inmunoserología / Química Clínica / Virología



Consultar alcance en  
[www.oaa.org.ar](http://www.oaa.org.ar)



RIQAS



  
**STAMBOULIAN**  
LABORATORIO

PLANTA DE LABORATORIO  
Av. Scalabrini Ortiz 676

DPTO. COMERCIAL  
4858-7061 al 63  
[laboratorio@stamboulian.com.ar](mailto:laboratorio@stamboulian.com.ar)

 2206-6000

 [WWW.STAMBOULIAN.COM.AR](http://WWW.STAMBOULIAN.COM.AR)

**STAMBOULIAN**  
SERVICIOS DE SALUD

el riesgo de desarrollar CaP, como se ha evidenciado en múltiples estudios.(7) Las interleucinas (IL) 1b, IL-10 y el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF, *tumor necrosis factor*) son críticos en la regulación de la inflamación. La producción de estas citocinas se ha asociado con determinados genotipos de polimorfismos de nucleótido único. Por ejemplo, la IL-1B es esencial en el desencadenamiento de la respuesta inflamatoria y varios polimorfismos de nucleótido único de la IL-1B se han asociado con diferentes tipos de cánceres. El TNF $\alpha$  es una molécula que participa en la apertura y mantenimiento de la respuesta inflamatoria.(8) Por su parte, la IL-10 es una citocina antiinflamatoria que inhibe al factor vascular de crecimiento epitelial, contribuye a la angiogénesis y a la supervivencia de las células tumorales. Los niveles reducidos de IL-10 se han asociado con la presencia de varios polimorfismos de nucleótido único tales como IL-10-1082a, IL-10-819T e IL-10-592a, así como con el aumento en el riesgo de cáncer en diversas poblaciones.(9,10)

La longitud del gen TNF es de 12 kilobases (kb) y se encuentra en el brazo corto del cromosoma 6.

Como la transcripción de TNF $\alpha$  está regulada por control genético, estudios recientes han demostrado que G-238A, G-308A, T-857C y 1031C del gen TNF $\alpha$  regulan la producción de TNF $\alpha$ ; G-308A y G-238A han sido identificados como factores de riesgo de cáncer.(11)

Diversas investigaciones se han abocado a evaluar el papel de los polimorfismos del gen TNF $\alpha$  en la severidad, protección o susceptibilidad del riesgo a sufrir CaP en diversas poblaciones. Por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real, en 296 individuos caucásicos evaluados se identificó asociación positiva (RM=1.61) entre CaP y el polimorfismo 308 de TNF $\alpha$ ; en

557 sujetos caucásicos la relación fue positiva (RM=2.14) entre CaP y el polimorfismo 238 de TNF $\alpha$ , en asociación con IL-10; en 96 individuos asiáticos no se encontró asociación entre CaP y polimorfismo 308 de TNF $\alpha$ ; en 247 personas caucásicos evaluados por PCR ARMS no se identificó asociación entre CaP y el polimorfismo 308.(8,9,12,13)

La heterogeneidad genética, los factores ambientales, las variaciones étnicas y la influencia de otros genes (no relacionados con inflamación) son causas probables que explicarían las diferencias e, incluso, las controversias en torno a estos estudios.(9,14)

El TNF $\alpha$  también está involucrado en la apoptosis, debido a la producción sistémica o local de este durante los procesos de crecimiento y desarrollo normales; sin embargo, en algunos momentos puede convertirse en una reacción celular patológica. La apoptosis mediada por TNF $\alpha$  tiene un papel importante en la actividad tumorocida que ejerce la citocina.(8,15)

Esta investigación tuvo como objetivo general determinar si los polimorfismos de los genes TNF $\alpha$ -238 y TNF $\alpha$ -308 son factores de riesgo de CaP en los pacientes con esta neoplasia que acuden a consulta en los servicios de urología del Hospital Universitario de Maracaibo y de otros centros médicos de occidente ubicados en Maracaibo, Zulia, Venezuela.

## >>> MÉTODO

Se llevó a cabo una investigación epidemiológica analítica. Los casos y controles fueron comparados respecto a la presencia de los polimorfismos del gen TNF $\alpha$  (variables independientes), que se consideran relevantes para la aparición de la enfermedad en estudio.

El estudio fue retrospectivo ya que se inició después de que los individuos desarrollaron la enfermedad, es decir, se conocía el efecto y se investigó la asociación con la causa.

La población analizada estuvo integrada por 80 pacientes masculinos genéticamente no relacionados, nacidos en Maracaibo, que acudieron a los servicios de urología del Hospital Universitario de Maracaibo y otros centros de esa ciudad, entre enero de 2012 y enero de 2013. Fueron divididos en dos grupos:

- Cuarenta pacientes con diagnóstico de CaP, edad promedio de 66 años (rango entre 46 y 82 años), valores promedio de antígeno prostático específico de  $138.6 \pm 47$  ng/mL y reportes de biopsias prostáticas mayores de seis puntos de la escala de Gleason.

- Cuarenta individuos sanos o controles, edad promedio de 63 años (rango entre 45 y 77 años) y media de antígeno prostático de  $134 \pm 0.9$  ng/mL.

### Recolección y preparación de las muestras

A partir de una muestra de sangre periférica se extrajo el ADN por un método combinado de las técnicas Fenol/Sevag y Salting-Out,<sup>15,16</sup> estandarizado en el Instituto de Investigaciones Genéticas de la Universidad del Zulia. La cantidad y pureza del ADN fueron medidas por absorbancia a 260 nm y por la relación DO<sub>260</sub>/DO<sub>280</sub> (>1.8), respectivamente.

La integridad del ADN se verificó en gel de agarosa teñido con bromuro de etidio; posteriormente, el ADN se ajustó a una concentración de 200 µg/mL para su posterior

MicroScan



## Microbiología Automatizada

### Identificación y Sensibilidad

Microscan responde a las necesidades de atención eficaz de los pacientes mediante resultados automatizados rápidos de ID/AST sin reducir la exactitud.



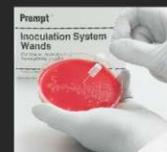
WalkAway 40 Plus



WalkAway 96 Plus

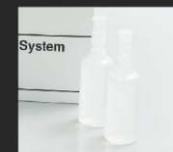


autoSCAN4



#### Selección de colonias con PROMPT

Estandarización de inóculos sin pérdida de tiempo por turbidez gracias al sistema de inoculación PROMPT™.



#### Preparación de inóculos con PROMPT

La estabilidad del inóculo de hasta cuatro horas flexibiliza el flujo de trabajo.



#### Inoculación de panel con RENOK

La inoculación simultánea de los 96 pocillos del panel simplifica el flujo de trabajo.

### Sistemas MicroScan

La línea se completa con múltiples opciones de paneles que han sido adaptados a la epidemiología local, de tipo Combo (ID/AST), solo CIM y solo identificación. También Paneles para identificación de levaduras, anaerobios y fastidiosos y Paneles especiales para sensibilidad de Microorganismos exigentes.

### LabPro Software Suite

La mejora de la gestión de datos con el conjunto de aplicaciones de LabPro promueve la eficacia en el laboratorio al agilizar el flujo de trabajo y facilitar el acceso a la información del paciente. LabPro Manager, LabPro Alert y LabPro Connect en forma conjunta, le ayudan a estandarizar y consolidar las pruebas, adaptar la creación versátil de informes de resultados y aumentar su capacidad para identificar la emergencia de nuevas resistencias.



Av. Ing. Huergo 1437 P.B. "I" C1107APB - Buenos Aires Argentina Tel./Fax: +54 11 4300-9090

info@biodiagnostico.com.ar www.biodiagnostico.com.ar

amplificación por PCR.

### Genotipificación del TNF $\alpha$

Los genotipos de los polimorfismos del gen TNF $\alpha$  se determinaron por PCR-RFLP. Las secuencias de los primers para el estudio de los polimorfismos 308 y 238 del gen TNF $\alpha$  fueron los siguientes:(17)

TNF-308 G > A (rs1800629) (5-ATCTGGAGGAAGCGGTAGTG-3) (5-AATAGGTTTTGAGGGCCATG-3).

TNF-238 G > A (rs361525) (5-ATCTGGAGGAAGCGGTAGTG-3) (5-GAAGACCCCCCTCGGAACC-3).

El protocolo de los ciclos de temperatura para TNF $\alpha$ -308 G > A (rs1800629) fue de 94 °C durante tres minutos, 35 ciclos durante 30 segundos; 55 °C durante 30 segundos, 72 °C durante 30 segundos y 72 °C por cinco minutos. El protocolo de ciclos de temperatura para TNF $\alpha$ -238 G > A (rs361525) fue de 94 °C durante tres minutos, 35 ciclos durante 30 segundos; 57 °C durante 30 segundos, 72 °C durante 30 segundos y 72 °C durante cinco minutos.

El producto amplificado fue de 144 pares de bases (pb), para el polimorfismo 308 y de 151 pb para el polimorfismo 238, lo que se evidenció en una banda sobre el de agarosa teñida con bromuro de etidio (figuras 1 y 2).

### Digestión y caracterización de los productos amplificados

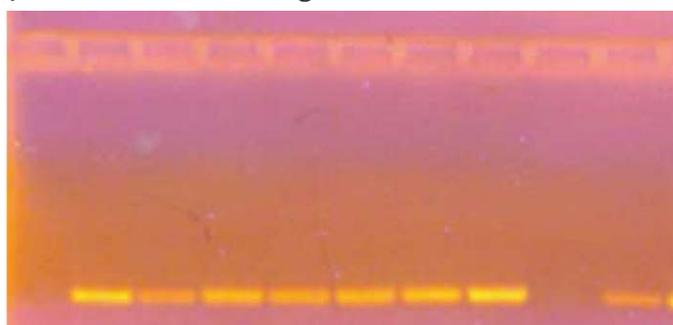
Los productos de la PCR fueron digeridos con enzimas de restricción diferentes seleccionadas para cada polimorfismo: para el 308 se utilizó NcoI (10 u/ $\mu$ L, Promega) y para el 238,

MspI (10 u/ $\mu$ L, Promega). Se dispuso de 2  $\mu$ L de cada producto amplificado, que se sometieron a digestión empleando una mezcla que consistió en 0.25  $\mu$ L de la enzima de restricción, 0.1  $\mu$ L de BSA (10 mg/mL, Promega), 1.0  $\mu$ L de buffer 10 $\times$  (Promega) y 16.3  $\mu$ L de agua ultra pura, a 37 °C por al menos cuatro horas.

>> **Fig.1.** Bandas sobre gel de agarosa de 144pb, teñidas con bromuro de etidio, que corresponden al producto amplificado del polimorfismo 308 del gen TNF $\alpha$ .



>> **Fig.2.** Bandas sobre gel de agarosa de 151 pb, teñidas con bromuro de etidio, que corresponden al producto amplificado del polimorfismo 238 del gen TNF $\alpha$ .



### Análisis de los polimorfismos 238 y 308 del gen TNF $\alpha$

El polimorfismo 238 del gen TNF $\alpha$  consiste en una transición guanina a adenina, en la posición 238 antes del promotor del gen, encontrada en más de 1 % de la población. El producto del ADN amplificado por PCR es de 151 pb. La enzima de restricción MspI corta el alelo G o TNFG en la

- NUEVA PLANTA AUTOMATIZADA -

*Agilidad y eficiencia  
diagnóstica*

*Diagnóstico  
genético*

*Seguridad y  
trazabilidad*

*40 años  
de trayectoria*

# AVANZAMOS

Con esfuerzo, inversión permanente en tecnología y profesionales con los más altos valores humanos inauguramos nuestra nueva planta automatizada con metodología Lean en sus procesos.

Un laboratorio de vanguardia al servicio de la salud.

**Labmedicina**  
ANÁLISIS CLÍNICOS

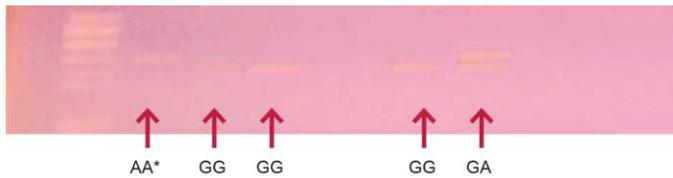


CALIDAD ACREDITADA ISO 15189  
Alcances en [www.oaa.org.ar](http://www.oaa.org.ar)

[www.labmedicina.com](http://www.labmedicina.com)

secuencia de restricción C'CGG, lo que da dos fragmentos, uno de 132 pb y otro de 19 pb; de tal forma, los sujetos homocigotos para el alelo G o TNFG en el gel de agarosa muestran una única banda de 132 pb, los individuos heterocigotos (TNFG/TNFA) dos bandas, una de 151 pb y otra de 132 pb; los homocigotos para el alelo A o TNFA una banda de 151 pb (figura 3).

>> **Fig. 3.** El producto es de 151 pb, la enzima de restricción MspI corta el alelo TNFG (secuencia de restricción: C'CGG), que da dos fragmentos diferentes: uno de 132 y otro de 19 pb. En los individuos homocigotos para G (o TNFG) se observa una única banda de 132 pb (GG); en los individuos heterocigotos G/A (TNFG/TNFA) se observarán dos bandas, una 151 y otra 132 pb (GA); y en los individuos homocigotos A (o TNFA) una única banda de 151 pb (AA).



>> **Fig. 4.** El producto es de 144 pb (S/E). La enzima de restricción NcoI corta el alelo TNF1 o GG (secuencia de restricción: C'CATGG), dando dos diferentes productos (de 126 y 18 pb), así el individuo homocigoto TNF1 muestra una sola banda de 126 pb (GG); los individuos heterocigotos (TF1/TNF2) muestran dos bandas de 144 y 126 pb (GA); y los homocigotos para la mutación o para el alelo TNF2 una única banda de 144 pb (AA).\* La línea AA en realidad es el producto sin enzima; se colocó a manera de ilustración debido a que en este estudio no se encontró el genotipo AA.



El polimorfismo 308 del gen TNF $\alpha$  consiste en una transición guanina a adenina, en la posición 308 antes del promotor del gen, encontrada en más del 1% de la población. El producto del ADN amplificado por PCR es de 144 pb. La enzima de restricción NcoI corta el alelo G (TNF1) en la secuencia de restricción C'CATGG, lo que da dos diferentes fragmentos, uno de 126 pb y otro de 18 pb, así los sujetos homocigotos para el alelo G o TNF1 exhiben en el gel de agarosa una única banda de 126 pb, los individuos heterocigotos (TNF1/TNF2) dos bandas, una de 144 pb y otra de 126 pb, y los homocigotos para el alelo A o TNF2, una banda de 144 pb (figura 4).

### >>> ANÁLISIS DE DATOS

La estimación de las frecuencias alélicas, genotípicas y haplotípicas se realizaron por conteo directo. Se determinó si los polimorfismos para los grupos estudiados se encontraron en equilibrio de Hardy-Weimberg. Se relacionaron las variables empleando una tabla de contingencia y se calculó la razón de momios (RM) para determinar la probable asociación entre algún genotipo de los polimorfismos y la enfermedad, con una significación estadística de  $p < 0.05$  para chi cuadrada de Pearson y donde no fue aplicable el estadístico exacto de Fischer. Para los cálculos se empleó el programa SPSS versión 20.0.(18)

### Consideraciones éticas

El protocolo del trabajo fue sometido a consideración de la Asamblea de Investigadores del Instituto de Investigaciones Genéticas de la Universidad del Zulia, que constató que se habían respetado las normas establecidas por el Código de Deontología Médica de Venezuela aprobado en 1985 durante la LXXVI de la Federación Médica Venezolana; el Código de Bioética y Seguridad aprobado en enero de 1999 por el Ministerio de

Ciencia y Tecnología y el Fondo Nacional para la Ciencia y la Tecnología (FONACIT), en su versión 2008 y la Declaración de Helsinki sobre principios éticos para investigaciones médicas en seres humanos en su versión Seúl, 2008.

### >>> RESULTADOS

Los polimorfismos 238 y 308 del gen TNF $\alpha$  se encontraron en equilibrio de Hardy-Weimberg en ambos grupos. Mediante chi cuadrada de Pearson se demostró que las frecuencias no difirieron estadísticamente de las esperadas (para un nivel de significación de  $p < 0.05$ ) para ambos grupos (casos y controles); en ambos polimorfismos se observó chi cuadrada  $< 3.84$  (cuadro 1).

Para el polimorfismo 238 del gen TNF $\alpha$ , la

RM para CaP fue de 4.333, con intervalo de confianza a 95 % (IC 95 %) = 0.462-40.608,  $p = 0.179$ ; la RM para el genotipo GA fue de 4000, IC 95 % = 0.467-38.238, no significativo estadísticamente (cuadro 2).

Cuadro 1. Equilibrio de Hardy-Weimberg en los grupos de pacientes con cáncer de próstata e individuos sanos, para los polimorfismos 238 y 308 del gen TNF $\alpha$

Grupo	Equilibrio de Hardy-Weimberg	
	238 TNF $\alpha$	308 TNF $\alpha$
Control	0.0067	0.2628
CaP	0.1108	1.0174

El polimorfismo 308 del gen TNF $\alpha$  mostró RM = 0.465, IC 95 % = 0.153-1.413 y  $p = 0.137$  para CaP; la RM para el genotipo GG fue de 1.172, IC 95 % = 0.931-1.477, no significativo estadísticamente (cuadro 3).

# BD Vacutainer®

Líder en Soluciones Preanalíticas

Calidad y Bioseguridad:  
Su interés y nuestro compromiso



Para contactarse, llámenos al: 0800-444-55BD (23)  
o escribanos a: [vacutainer@bd.com](mailto:vacutainer@bd.com)



Cuadro 2. Cálculo de razón de momios para frecuencia genotípica del polimorfismo 238 del gen TNF $\alpha$  y cáncer de próstata

	Frecuencia genotípica				Estimación del riesgo (RM)	
	CaP		Control		p	IC 95 %
	n	%	n	%		
					4.333	0.462-40.608
GA	4	10	1	2,5	4.000	0.467-34.238
GG	36	90	39	97,5	0.923	0.823-1.035

CaP = cáncer de próstata, RM = razón de momios, IC = intervalo de confianza

Cuadro 3. Cálculo de razón de momios para frecuencia genotípica el polimorfismo 308 del gen TNF $\alpha$  y cáncer de próstata

	Frecuencia genotípica				Estimación del riesgo (RM)	
	CaP		Control		p	IC 95 %
	n	%	n	%		
					0.465	0.153-1.413
GA	6	15	11	27,5	0,545	0.223-1.332
GG	34	85	29	72,5	1.172	0.931-1.477

CaP = cáncer de próstata, RM = razón de momios, IC = intervalo de confianza.

Cuadro 4. Cálculo de razón de momios para la frecuencia alélica en el polimorfismo 238 del gen TNF $\alpha$  y cáncer de próstata

	Frecuencia alélica				Estimación del riesgo (RM)	
	CaP		Control		p	IC 95 %
	n	%	n	%		
					4.158	0.454-38.047
A	4	5	1	1,25	4.000	0.457-35.008
G	76	95	79	98,75	0.962	0.910-1.017

CaP = cáncer de próstata, RM = razón de momios, IC = intervalo de confianza.

Cuadro 5. Cálculo de razón de momios para la frecuencia alélica en el polimorfismo 308 del gen TNF $\alpha$  y cáncer de próstata

	Frecuencia alélica				Estimación del riesgo (RM)	
	CaP		Control		p	IC 95 %
	n	%	n	%		
					0.730	0.241-2.208
A	6	7,5	11	13,75	0.750	0.273-2.064
G	74	92,5	69	86,25	1.028	0.934-1.131

CaP = cáncer de próstata, RM = razón de momios, IC = intervalo de confianza.

Cuadro 6. Frecuencia haplotípica de los polimorfismos 238 y 308 del gen TNF $\alpha$  en pacientes con cáncer de próstata y en individuos sanos control

Haplotipo 238/308	Control		CaP	
	n	%	n	%
GG + GG	28	70	30	75
GG + GA	11	27,5	6	15
GA + GG	1	2,5	4	10
GA + GA	0	0	0	0
Total	40	100	40	100

CaP = cáncer de próstata.

La probabilidad de riesgo entre las frecuencias alélicas y el CaP fue de 4.158, no significativa para ambos polimorfismos (A o G). Para el alelo A, en el polimorfismo 238 se observó RM = 4.00, IC 95 % = 0.457-35.008, no significativo estadísticamente (cuadro 4).

Tampoco no se encontraron diferencias significativas entre las frecuencias alélicas del polimorfismo 308 del gen TNF $\alpha$  y el desarrollo de CaP: RM = 0.730, IC 95 % = 0.241-2.208, p = 0.390; para el alelo G se observó RM = 1.028, no significativa (cuadro 5). La frecuencia haplotípica de los polimorfismos 238 y 308 del gen TNF $\alpha$  fue de 70 % para GG + GG en controles y 75 % en pacientes con CaP, con lo que constituyó el haplotipo más común en ambos grupos, seguido de GG + GA y GA + GG. Estos datos se resumen en el cuadro 6.

El riesgo de CaP asociado con la presencia de uno u otro polimorfismos GA (GG + GG, GG + GA o GA + GG) no fue significativo estadísticamente: RM = 1.286, IC 95 % = 0.480-3.442, p = 0.401; en el haplotipo GG + GG: RM = 1.071, IC 95 % = 0.817-1.404; en GA + GG y GG + GA: RM = 0.833, IC 95 % = 0.407-1.705. No se observó el haplotipo GA + GA en los sujetos control ni en los pacientes con CaP.

## >>> DISCUSIÓN

En este estudio de 40 pacientes CaP versus 40 controles pudimos observar varias asociaciones positivas (RM > 1): RM = 4.000 en frecuencia genotípica GA del polimorfismo 238 del gen TNF $\alpha$  y CaP; RM = 4.000 en el cálculo de las frecuencias alélicas para el alelo A. En ambos casos resultó estadísticamente no significativa.

En la frecuencia genotípica el polimorfismo 308 del gen TNF $\alpha$  y CaP observamos RM = 1.172 para el genotipo GG, que posteriormente se corroboró dependiente del



# ELITE InGenius

## PCR Real Time

### Totalmente Automatizado

#### ♥ Patógenos de trasplante

- CMV
- EBV
- BKV
- VZV
- HSV1
- HSV2
- Parvovirus B19
- Adenovirus
- Enterovirus
- JCV
- HHV6
- HHV7
- HHV8
- Toxoplasma gondii
- Hepatitis E (RUO)
- WNV
- Aspergillus

#### 💧 Onco-Hematológicas

- Coagulation factors panel
  - Factor V
  - Factor II
  - MTHFR

#### 🏠 Infecciones Resistencia a Antibióticos

- MRSA/SA
  - S. aureus
  - mecA/mecC

- C. difficile
  - Toxin A
  - Toxin B

- CRE 21
  - KPC
  - IMP, VIM, NDM
  - OXA

- ESBL
  - CTX-M-1,15
  - CTX-M-9,14

- Colistin Resistance
  - mcr1
  - mcr2

#### 🗨 Meningitis

- Viral panel 1
  - HSV1
  - HSV2
  - VZV

- Viral panel 2
  - Enterovirus
  - Parechovirus
  - Adenovirus

- Bacterial panel
  - N. meningitidis
  - S. pneumoniae
  - H. influenzae

#### 👤 Enfermedades de transmisión sexual

- MG + Resistance
  - M. genitalium
  - Macrolide resistance

- STI PLUS Panel
  - C. trachomatis
  - N. gonorrhoeae
  - M. genitalium
  - T. vaginalis

- C. trachomatis

#### 👤 Infecciones Respiratorias

- Viral panel
  - Flu A
  - Flu B
  - RSV

- Bacterial panel
  - C. pneumoniae
  - M. pneumoniae
  - Legionella pn.

- MTB + Resistance
  - MTB complex
  - Rifampicin resistance
  - Isoniazid resistance

#### 👤 Gastro-Intestinal Infection

- Norovirus
  - Genotypes I & II

- Viral Panel
  - Rotavirus
  - Adenovirus
  - Astrovirus

- Bacterial panel
  - Campylobacter spp.
  - Salmonella spp.
  - Y. enterocolitica

- Parasitic panel
  - G. lamblia
  - C. parvum
  - E. histolytica

alelo G, con  $RM = 1.028$ . Esta asociación tampoco fue estadísticamente significativa.

La frecuencia haplotípica de 238 y 308 del gen TNF $\alpha$  en pacientes con CaP y en individuos sanos control se identificó  $RM = 1.286$ . La tendencia de este resultado se repitió para el haplotipo GG + GG con  $RM = 1.071$ , estadísticamente no significativa. Sorprendió la ausencia en esta población del haplotipo GA + GA.

Varios estudios han informado la asociación entre el riesgo de CaP y los polimorfismos del pro-motor TNF $\alpha$ -308 alelos G y A y TNF $\alpha$ -238 alelos G y A, pero los resultados son controvertidos. Un solo estudio puede no tener suficiente poder para demostrar completamente esta complicada relación genética debido a que las muestras son relativamente pequeñas y tienen un bajo poder estadístico. Los estudios más grandes podrían superar esta desventaja.(9,10,12,13)

De hecho, como un ejercicio matemático y partiendo de la premisa de que los valores encontrados en este grupo se repetirían en grupos de igual tamaño, el aumento de la muestra de individuos control de 40 a 120 debería establecer una diferencia significativa para la presencia del polimorfismo 238 G o A, pero esta estimación es solo especulativa.

Un metaanálisis de todos los datos disponibles sobre la asociación entre el polimorfismo TNF $\alpha$ -238 alelos G y A y el riesgo de CaP (que incluyó cinco estudios), que en total abarcó 1967 casos de CaP y 2004 controles, demostró que el polimorfismo TNF $\alpha$ -238 alelos G y A no se asoció significativamente con el riesgo de CaP, no solo en la población general, sino también en los análisis de subgrupos estratificados por origen étnico y origen de los controles.

Respecto al polimorfismo TNF $\alpha$ -308 alelos G y A, se encontró que este polimorfismo no se asoció con la susceptibilidad al CaP. Sin embargo, es necesario aclarar que ese metaanálisis solo incluyó seis estudios elegibles y desde esa fecha se han publicado varios estudios nuevos con más datos; por lo tanto, ese metaanálisis puede no ser exhaustivo y su resultado final puede estar sesgado.(19)

Efectivamente, los datos de 14 estudios que incluyeron 5757 casos de CaP y 6137 controles sugirieron que no existía asociación significativa entre el polimorfismo TNF $\alpha$ -308 alelos G y A y el riesgo de CaP en los modelos genéticos en las poblaciones en general, lo que es consistente con los hallazgos previos.(19,20) Sin embargo, cuando se estratificó el análisis según la procedencia de los controles, se hizo evidente un aumento significativo en el riesgo de CaP en el modelo aditivo AG versus GG ( $RM = 1.477$ , IC 95 % = 1.047-2.085,  $p = 0.026$ ,  $I^2 = 0.0$  %,  $PQ = 0.602$  para la heterogeneidad) y el modelo dominante AA + AG versus GG ( $RM = 1.531$ , IC 95 % = 1.093-2.145,  $p = 0.013$ ,  $I^2 = 0.0$  %,  $PQ = 0.628$  para la heterogeneidad), pero no así en el modelo recesivo AA versus AG + GG ( $RM = 2.65$ , IC 95 % = 0.679-10.341,  $p = 0.161$ ,  $I^2 = 0.0$  %,  $PQ = 0.997$  para la heterogeneidad). Este resultado puede tener poco poder porque el tamaño de la muestra de los voluntarios sanos estudiados fue relativamente pequeño y los sujetos control pudieron no ser siempre representativos de la población general. Por lo tanto, se requerirá un diseño metodológicamente superior, como un estudio poblacional representativo, para aumentar el poder estadístico y evitar de esta forma el sesgo de selección.(21)

## >>> CONCLUSIONES

Los polimorfismos 238 y 308 del gen TNF $\alpha$  se encontraron en equilibrio de Hardy-Weimberg,

tanto en los individuos con CaP como en los individuos sanos. Aproximadamente uno de cada 10 pacientes con CaP presentó el genotipo GA en la región promotora 238, no así los individuos sanos o controles, en los que el genotipo GA en el polimorfismo 238 fue prácticamente inexistente. El polimorfismo 308 presentó una frecuencia similar a la del grupo de pacientes con CaP y controles. En este estudio no se encontraron asociaciones estadísticamente significativas entre los polimorfismos 308 y 238 de TNF $\alpha$  y CaP en ninguno de los modelos genéticos analizados.

Es de considerar que la etiología del CaP no pueda ser explicada por la variabilidad alélica en un solo gen, debido a su naturaleza poligénica y multifactorial, la cual resulta probablemente de interacciones complejas entre diferentes variantes genéticas y factores ambientales. Los estudios de asociación en enfermedades humanas complejas suelen presentar resultados contradictorios; las

diferencias pudieran atribuirse a variaciones metodológicas, limitaciones del tamaño de las muestras, clasificación errónea del fenotipo o diferencias en las frecuencias subyacentes de alelos en los grupos poblacionales estudiados. Para aclarar el papel de los polimorfismos 308 y 238 del gen TNF $\alpha$  en la carcinogénesis en la próstata son necesarios estudios de la población zuliana con muestras más grandes. ■

**AGRADECIMIENTO:** El trabajo presentado recibió financiamiento como parte del Proyecto CONDES 0444-10.

#### REFERENCIAS

- Ministerio del Poder Popular para la Salud. Anuario de mortalidad de la República Bolivariana de Venezuela. Venezuela: Ministerio del Poder Popular para la Salud; 2014.
- Scher HI. Enfermedades benignas y malignas de la próstata. En: Jameson JL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Loscalzo J. Harrison's principles of internal medicine. Décima novena edición. EE.UU.: McGraw-Hill; 2015.
- Zhu LB, Zhao ST, Xu TZ, Wang H. Tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced a disintegrin and metalloprotease 10 increases apoptosis resistance in prostate cancer cells. *Oncotarget*. 2014;3(3):897-901.
- Thum M, Thum M, Jermal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, et al. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin*. 2008;58(2):71-96.
- Kasper D, Braunwald E, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson J. Harrison's Principles of Internal Medicine. EE.UU.: McGraw-Hill; 2008.
- Beers M, Porter R, editores. El manual Merck. EE.UU.: Elsevier; 2007.
- MacLennan C, Eisenberg R, Fishman R, Taylor J, Fu P, Resnick M, et al. The influence of chronic inflammation in prostatic carcinogenesis: a 5-year follow-up study. *J Urol*. 2006;176(3):1049-1056.
- Abbas A, Lichtman A, Pillai S. Cellular and molecular immunology. Saunders; 2007.
- Sileno López P, Carretero R, Gózar J, Romero J, Canton J, Vilchez JK, et al. Genetic polymorphisms of RANTES, IL-1A, MCP-1 and TNF- $\alpha$  genes in patients with prostate cancer. *BMC Cancer*. 2008;8:335.
- Zabala J, Lin HY, Sierra RA, Hall MC, Clark PE, Sartor OA, et al. Interactions of cytokine gene polymorphisms in prostate cancer risk. *Carcinogenesis*. 2008;29(3):573-578.
- Lippitz BB. Cytokine patterns in patients with cancer: a systematic review. *Lancet Oncol*. 2013;14(6):218-228.
- Wu WC, 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(3):41-46.
- McCarron S, Edwards S, Evans PK, Gibbs R, Deansley DP, Dove A, et al. Influence of cytokine gene polymorphisms on the development of prostate cancer. *Cancer Res*. 2002;62(13):3369-3372.
- Danforth KN, Rodríguez C, Hayes RB, Sakoda LC, Huang WY, Yu K, et al. TNF polymorphisms and prostate cancer risk. *Prostate*. 2008;68(4):400-407. DOI: 10.1002/pros.20694
- Anayo J. Descripción molecular del TNF- $\alpha$ . *Reumatología*. 2003;19(2):112-120.
- Miller SA, Diekhoff DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucl Acid Res*. 1987;15(3):1315.
- Fargion S, Valentini L, Dongiovanni P, Ludovica A. TNF $\alpha$  promoter polymorphism. En: Cerri A, Ghezzi P. Tumor necrosis factor. Methods and protocols. EE.UU.: Humana Press; 2004.
- SPSS 20 statistical analysis, data mining, text analytics, data collection, collaboration & deployment. EE.UU.: International Business Machines; 2012.
- Wang J, Cao C, Luo H, Xiong S, Xu Y, Xiong W. Tumor necrosis factor alpha 308G/A polymorphism and risk of the four most frequent cancers: a meta-analysis. *Int J Immunogenet*. 2013;8:311-320.
- Mang Yuan W, Zhenwei H, Jiaming L, Banghua L. TNF $\alpha$  gene-308 G/A polymorphism and the risk of prostate cancer: a meta-analysis. *Chin J Evid based Med*. 2012;8:1030-1034.
- Aik A, Zhao J, Li T, He Y, Wang J, Xie L, et al. Association between tumor necrosis factor-alpha gene polymorphisms and prostate cancer risk: a meta-analysis. *Diagn Pathol*. 2014;25(3):74.

**GEMATEC**   
equipamiento para medicina



Int. Avalos 3651 | (1605) | Munro  
Buenos Aires, Rep. Argentina  
Tel./Fax: (54 11) 4512 5666

ventas@gematec.com.ar  
www.gematec.com.ar  
@Gematecarg