

Variación de secuencias alélicas STR (TAAA y TG) del gen *PCA3* en pacientes con cáncer de próstata

STR allele sequence variation (TAAA and TG) of *PCA3* gen in patients with prostate cancer

Artículo de
Investigación

Martín Irigoyen Arredondo¹, Eliakym Arámbula Meraz², Héctor Brito Rojas³, Anette Gastelum Quiroz^{2,3}, Fred Luque Ortega^{4*}

¹Lic. en Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Occidente

²Laboratorio de Genética y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa.

³Ingeniería en Biotecnología, Universidad Politécnica de Sinaloa

⁴Laboratorio de Ciencias Básicas, Facultad de Odontología, Universidad Autónoma de Sinaloa.

* Autor correspondiente: fredluque@uas.edu.mx

Resumen: En México, el cáncer de próstata (CaP) es la segunda causa de muerte por tumores malignos en hombres mayores de 65 años. Estudios sugieren que *PCA3* es la clave para el desarrollo del CaP, ya que podría estar asociado con la regulación de genes clave en la proliferación prostática. *PCA3* no posee elementos convencionales para la transcripción; sin embargo, contiene una gran cantidad de elementos que son necesarios para su expresión. Repeticiones cortas en tándem (STR's) podrían intervenir en su regulación. Los STR's TAAA y TG en *PCA3* se han estudiado como posibles marcadores genéticos para detectar la presencia de esta patología y se han asociado con un mayor riesgo de desarrollar CaP agresivo. El objetivo del presente trabajo fue identificar los STR's TAAA y TG en pacientes mexicanos con CaP y determinar la relación entre las repeticiones y la expresión de *PCA3*. Se analizaron un total de 80 pacientes varones mayores de 18 años diagnosticados con y sin CaP. El análisis de expresión absoluta de *PCA3* se realizó por PCR en tiempo real (sistema StepOneplus de Applied Biosystems) utilizando sondas TaqMan con marca FAM (Applied Biosystems, Foster City, EE. UU.). La determinación del número de repeticiones TAAA y TG se realizó por análisis de fragmentos en el analizador ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (de Applied Biosystems). Se determinó que no existía asociación entre los alelos y genotipos STR-TG y STR- TAAA de *PCA3* con el riesgo de desarrollar CaP así como con la expresión absoluta de *PCA3*.

Palabras clave: *Cáncer de próstata, PCA3, STR's, TAAA, TG*

Abstract: In Mexico, prostate cancer (PCa) is the second cause of death from malignant tumors in men over 65 years of age. Studies suggest that *PCA3* is the key to the development of PCa, since it could be associated with the regulation of key genes in prostate proliferation. *PCA3* does not possess conventional elements for transcription; however, it contains many elements that are necessary for its expression. Short tandem repeats (STR's) could intervene in its regulation. The TAAA and TG STR's in *PCA3* have been studied as possible genetic markers to detect the presence of this pathology and have been associated with an increased risk of developing aggressive PCa. The objective of this work was to identify the TAAA and TG STR's in Mexican patients with PCa and to determine the relationship between the repeats and the expression of *PCA3*. A total of 80 male patients older than 18 years diagnosed with and without PCa were analyzed. *PCA3* relative expression analysis was performed by real-time PCR (Applied Biosystems StepOneplus system) using FAM-labeled TaqMan probes (Applied Biosystems, Foster City, USA). Determination of the number of TAAA and TG repeats was performed by fragment analysis on the ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (from Applied Biosystems). It was determined that there was no association between the *PCA3* STR-TG and STR-TAAA genotypes and alleles with the risk of developing PCa as well as with the relative expression of *PCA3*.

Keywords: *Prostate cancer, PCA3, STR's, TAAA, TG*

Recibido: 09/10/2022; **Aceptado:** 20/12/2022; **Publicado:** 25/01/2023

Introducción

El cáncer de próstata (CaP) es el cuarto cáncer más común en el mundo y es el segundo tipo de cáncer más común diagnosticado en hombres, convirtiéndolo en el tumor maligno más frecuente en hombres mayores de 50 años [1]. En México el CaP tiene una mortalidad del 16%, lo que representa una tasa de mortalidad de 13 muertes por cada 100.000 hombres [2]. Actualmente se dispone de diferentes valores clínicos o biomarcadores que ayudan en el seguimiento y prevención del CaP. El antígeno prostático específico (PSA), codificado por el

gen *KLK3*, es un miembro de la familia de peptidasas relacionadas con la calicreína tisular (*KLK*). La familia *KLK* está codificada por un grupo contiguo de genes de proteasa (*KLK1-KLK15*) en el cromosoma 19q13.3-13.4. La evaluación de los niveles séricos de PSA es especialmente útil en el seguimiento de pacientes con CaP y se utiliza como parte de la estratificación de riesgo de los pacientes recién diagnosticados con este tipo de cáncer debido a que se reportan elevados en condiciones como como inflamación o neoplasia debido a la fuga de PSA a la circulación cuando se altera la arquitectura de la glándula prostática [1]. Otro de los biomarcadores más

utilizados para el monitoreo del CaP es el gen PCA3, compuesto por 4 exones y un tamaño de 25 Kb. Se encuentra en el cromosoma 9q21.2 y su producto de expresión es un ARNm no codificante. Algunos estudios proponen que PCA3 puede ser la clave para la regulación de CaP, ya que podría estar asociado con la regulación de genes clave, incluidos los que codifican biomarcadores y cofactores del receptor de andrógenos en las células de la próstata [2]. Además, este gen no posee elementos convencionales para la regulación de la transcripción; sin embargo, varios estudios han identificado subregiones en la región promotora que contienen una gran cantidad de elementos que actúan en cis que son necesarios para su expresión. Un ejemplo de estas subregiones es FP2, donde se identificaron repeticiones cortas en tándem (STR) que contienen principalmente adeninas y timinas [3]–[5]. Los STR, conocidos como microsatélites, consisten en motivos repetidos de 1 a 6 pares de bases (pb) y comprenden alrededor del 3 % del genoma humano [6]. Se ha demostrado que los STR desempeñan un papel fundamental en ciertos tipos de cáncer [7] y estudios recientes indican que los STR desempeñan un papel generalizado en la regulación de la expresión génica y otros fenotipos moleculares [6].

Específicamente en procesos moleculares que intervienen en el desarrollo del CaP, los microsatélites TAAA y TG en PCA3 se han estudiado como posibles marcadores genéticos para detectar la presencia de esta patología. Se ha encontrado que la presencia repeticiones TAAA y TG se asocian con un mayor riesgo de desarrollar cáncer de próstata agresivo. Sin embargo, es importante tener en cuenta que estos marcadores genéticos no son diagnósticos confiables y deben utilizarse junto con otros métodos de diagnóstico para determinar si un paciente tiene cáncer de próstata.

Materiales y Métodos

Reclutamiento de pacientes

Se obtuvieron muestras de sangre de 80 pacientes varones mayores de 18 años diagnosticados con y sin CaP, atendidos en la clínica privada “Álvarez & Arrazola Radiólogos”, el Hospital General “Dr. Martiniano Carvajal” en Mazatlán Sinaloa, y el “Hospital Civil” de Culiacán Sinaloa. Cumplieron con los criterios de inclusión de este estudio y los familiares aprobaron el presente estudio mediante la firma de un consentimiento por escrito que fue revisado y aprobado por un Comité de Ética y de Investigación.

Análisis histopatológico

Las muestras de tejido fueron obtenidas por un profesional capacitado a través de una biopsia. Las muestras fueron analizadas por un patólogo, quien proporcionó un informe

completo de cada paciente sobre la diferenciación tumoral a nivel celular. Los resultados incluyeron la puntuación de Gleason.

Extracción de ácidos nucleicos

La extracción de ADN de sangre periférica entera se realizó siguiendo el método de Gustinchi (Gustinich et al, 1991). El ARN genómico se extrajo y purificó con el kit MiRNeasy Mini, Qiagen de acuerdo con el protocolo proporcionado por el fabricante.

Análisis de expresión absoluta por PCR tiempo real

Para el análisis de expresión de PCA3, se sintetizó cDNA a partir de muestras de RNA con el kit ImProm-II Reverse Transcription System (Promega Corporation, Madison, EE. UU.). La cuantificación se realizó mediante PCR en tiempo real (sistema StepOneplus de Applied Biosystems) utilizando sondas TaqMan con marca FAM (Applied Biosystems, Foster City, EE. UU.) para cuantificar la expresión génica absoluta en el tejido prostático. Finalmente, se calculó el número de copias de PCA3 presentes en el ADNc.

Análisis de fragmentos

Para el análisis de fragmentos se preparó una mezcla de inyección de 1 µl de producto PCR, 0,25 µl de GS500 ROX de tamaño estándar y 12 µl de formamida HiDi. Después, se procedió a una desnaturalización con ciclos de 93 °C durante 2 min y hielo durante 2 min, la mezcla se inyectó en un ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (de Applied Biosystems) y se procesó en las siguientes condiciones: colorante de imprimación FAM4, capilar de 30 cm, voltaje de inyección a 15 kV, tiempo de inyección 5 s, tiempo de ejecución 25 min, juego de filtros F y polímero POP4. El tamaño de la repetición TAAA de tipo salvaje (349 pb) y TG (107 pb) se tomó como referencia para discriminar el número de repeticiones de todas las muestras.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico para ciencias sociales para Windows (v. 20.0; SPSS). La normalidad de los datos se verificó empleando la prueba estadística de Shapiro Wilks. Se utilizó el estadístico t de Student para evaluar la distribución de las muestras. Se realizaron análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de significancia de Tukey para determinar la significancia de los subgrupos. La significación se definió como valores de P de pruebas de 2 colas inferiores a 0,05.

Resultados y Discusión

Características clinicopatológicas

Del total de pacientes (n=80), el 50% fueron diagnosticados con CaP a través de un análisis histopatológico, donde, el 50% fueron diagnosticados con patología prostática benigna (PBP), los cuales fueron considerados como controles para el estudio. La edad media del grupo CaP fue de $68,08 \pm 9,07$ años y en el grupo PBP se observó una media de $66,05 \pm 8,40$ años. No se observó diferencia estadísticamente significativa entre las edades de ambos grupos ($p = 0,47$). Nuestros resultados reportados respecto a la media de edad del grupo CaP concuerdan con lo reportado en estudios previos, como el realizado en pacientes caucásicos, donde se establece que la incidencia del CaP aumenta abruptamente con la edad, iniciando con su intervalo moderado entre los 55 y 59 años [8] y de acuerdo a un estudio realizado en pacientes mexicanos que establecen que todos los hombres mexicanos ≥ 45 años deben someterse a exámenes de detección mediante tacto rectal y PSA, debido a que se han reportado como la edad de riesgo de aparición de la enfermedad [9].

Los niveles de PSA sérico de nuestros pacientes presentaron una media de $27,71 \pm 91,57$ ng/mL, donde los rangos de concentración oscilaron entre 0,14 ng/mL y 726 ng/mL. En cuanto al grupo CaP se obtuvo una media de $29,18 \pm 42,14$ ng/mL, siendo el rango de 0,15 -200 ng/mL. Los pacientes del grupo PBP presentaron una media de $26,40 \pm 120,33$ ng/mL, con un rango de 0,14-726 ng/mL. No hubo diferencia significativa entre las medias de ambos grupos ($p = 0,67$). Estas variaciones en los niveles de PSA en varones han sido reportadas en diversos estudios [10], [11], ya que, los rangos de oscilamiento de los niveles de PSA en pacientes con y sin CaP suelen presentar grandes variaciones. Es por ello que es importante tener en cuenta que los niveles de PSA pueden variar de persona a persona y no siempre indican la presencia de CaP, siendo actualmente la biopsia de próstata la única técnica diagnóstica para confirmar la presencia de CaP [12].

De acuerdo con el análisis histopatológico, utilizando el puntaje de Gleason, observamos que en el CaP, el 3% se clasificó como 5 (3+2), el 16% como 6 (3+3), correspondiente a baja agresividad, el 32% como 7 (3+4), 32% 7 (4+3), 3% como 8 (4+4), agresividad intermedia y 8% 9 (4+5), 8% 9 (5+4), agresividad alta. Al realizar la prueba de correlación de Spearman, se observó que existía una relación proporcional entre el nivel de PSA sérico y la agresividad del tumor ($p = 0,030$, $\rho = 0,597$).

Expresión absoluta

En el presente estudio se analizó la expresión absoluta de PCA3, el número de copias se determinó en el grupo CaP con

una media de $4.1 \times 10^7 \pm 2.8 \times 10^7$ copias/ μ g de tejido, y $2.2 \times 10^6 \pm 3.5 \times 10^6$ copias/ μ g de tejido para PBP, al analizar la distribución de medias entre nuestros grupos de estudio, se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,027$). Lo que concuerda con lo reportado en diversos estudios, donde se establece que PCA3 es un marcador genético que se encuentra en altas concentraciones en las células cancerosas de tejido prostático. Su expresión se ha utilizado como una herramienta para el diagnóstico y el seguimiento del CaP, en donde, una expresión elevada de PCA3 se asocia con un mayor riesgo de recurrencia del cáncer después de una cirugía o radioterapia, lo que sugiere que podría ser un potencial marcador pronóstico [13]–[15]. Nuestros resultados reportan existe un mayor número de copias del ARNm de PCA3 en el tejido de pacientes con CaP, similar al informe de Hessels et al en 2003, donde los tumores de próstata mostraron una sobreexpresión de PCA3 (media de $158,4 \times 10^5$ copias/ μ g de tejido) en comparación con el tejido prostático benigno (mediana de $2,4 \times 10^5$ copias/ μ g de tejido). Según los resultados, se encontró sobreexpresión en más del 95% de los CaP [16]. En otro estudio realizado en 2002, por Kok et al, reportaron que PCA3 se sobreexpresó en el 95% del tejido de CaP [17]. Además, informes como los metaanálisis, sugieren que PCA3 era un método no invasivo con la aceptable sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de CaP, para distinguir entre pacientes e individuos sanos [18].

Dada su importancia en la detección de CaP, se analizó la correlación entre el número de copias de ARNm de PCA3 y los niveles séricos de PSA. Tras el análisis de correlación estadística de Spearman, encontramos una relación existente entre estos dos biomarcadores ($p = 0,027$). Además, observamos que esta correlación es moderada y directamente proporcional ($Rho = 0,578$). La combinación de PSA y PCA3 se ha utilizado para mejorar la precisión del diagnóstico del CaP en la práctica clínica. Estudios han demostrado que la combinación de ambos biomarcadores es más sensible y específica que el uso de PSA por sí solo, debido a que un nivel elevado de PSA puede ser indicativo de CaP, pero también puede ser causado por otras afecciones de la próstata, como la hiperplasia benigna de próstata (HBP) o una infección de la próstata [14], [19], [20]. Los pacientes con niveles elevados de PSA y PCA3 tienen un mayor riesgo de tener cáncer de próstata. Sin embargo, aún no se ha establecido si la combinación de PSA y PCA3 es más útil que la biopsia de próstata para confirmar la presencia de esta enfermedad [21]–[24].

Es importante mencionar que los niveles elevados de PSA y PCA3 no son un diagnóstico definitivo de CaP, pero pueden ser indicativos de la necesidad de realizar más estudios o procedimientos para determinar la presencia de cáncer. Es importante contar con una evaluación médica y una

interpretación clínica adecuada para determinar el diagnóstico y el tratamiento de CaP.

Análisis de fragmentos STR-TAAA y STR-TG

En informes anteriores, determinamos los tamaños de las repeticiones de TAAA mediante análisis de fragmentos y observamos en nuestra población ($n=19$) los tamaños de 349 y 345 pb [25]. En el presente estudio y de acuerdo al aumento del tamaño de la población de estudio, se identificaron de 3 a 5 repeticiones para STR-TAAA. La distribución de alelos en el grupo PCa fue 1,2 % para el alelo 3, 8,8 % para el alelo 4 y 90 % para el alelo 5 (tipo silvestre). En el grupo de PBP se observó un 2,5 % para el alelo 3, un 11,2 % para el alelo 4 y un 86,2 % para el alelo 5. Coincidiendo con el estudio de Zhou et al, quienes reportaron que la mayoría de sus pacientes con y sin CaP presentaban predominantemente el alelo de tipo silvestre, concordando también con lo previamente reportado en uno de nuestros estudios [25]. Los genotipos identificados en ambos grupos de pacientes fueron 3/5, 4/5 y 5/5. Siendo el más común el 5/5 en ambos grupos con un 80% en el CaP y un 72,5% en el grupo PBP. Según el análisis de Pearson no existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de pacientes con sus genotipos ($p=0,462$). Los genotipos identificados no se asociaron a la enfermedad ($p=0,694$), lo que concuerda con lo reportado por Arámbula et al, 2020 y difiriendo con lo analizado por Zhou et al en 2014 quienes identificaron 8 genotipos, siendo los más asociados a la enfermedad, los alelos ≥ 12 (5/7, 5/8, 6/6, 6/7 OR= 8.95 IC 95% LI=2.53 LS=31.66 $p=0,001$), sin embargo en nuestra población no estuvieron presentes, por lo cual se propone seguir analizando a la población mexicana [5], [25]. Además, los genotipos TAAA se compararon en cuanto a la agresividad, sin embargo, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre ellos ($p=0,537$). Esta información no se pudo contrastar con la literatura, debido a la falta de estudios previos. Según el equilibrio de Hardy-Weinberg, los STR-TAAA de los pacientes con CaP estaban en equilibrio ($p=0,494$) al igual que los STR-TAAA de los PBP ($p=0,797$). En la figura 1 se esquematizan los tamaños de tipo silvestre para cada STR (figura 1).

De acuerdo con el análisis de fragmentos del STR-TG, se identificaron un total de 5 alelos que contenían 9, 10, 11, 12 y 13 repeticiones. En el grupo CaP se identificaron los alelos de 10-13 repeticiones y para el grupo PBP los alelos 9-12 repeticiones, dichas distribuciones concuerdan con lo reportado en la literatura [26]. Siendo el alelo 10 el más común en ambos grupos con un 76,2% en el grupo CaP y un 78,8% en el PBP. Siendo el menos común el alelo 12 con un 2,5% en ambos grupos. Lo que difiere con lo reportado en la literatura, donde se establece que el alelo más predominante en pacientes con CaP, es el alelo correspondiente a 11 repeticiones [26]. Los

genotipos identificados en el grupo CaP fueron 10/10, 10/11, 10/12, 10/13, 13/13 y en el PBP los genotipos 9/10, 10/10, 10/11, 10/12, y 11/11. Siendo el más común el 10/10 en ambos grupos con un 57,5% en el CaP y un 62,5% en el grupo PBP, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la presencia de CaP y los genotipos STR-TG ($p=0,631$). Dado que se ha sugerido que existe una correlación entre los alelos y la enfermedad [26], se decidió determinar si existe una asociación entre los alelos y la presencia de CaP, sin embargo, no se observó significancia estadística ($p=0,402$). Por otra parte, se analizó la asociación de los alelos STR-TG con la agresividad del tumor en función de la puntuación de Gleason, sin embargo, no se observaron diferencias significativas ($p=0,695$). Según la prueba de equilibrio de Hardy Weinberg, el STR-TG del grupo CaP no está en equilibrio ($p=0,003$) y el STR-TG del grupo PBP está en equilibrio ($p=0,969$). Lo que difiere con lo reportado con estudios previos [26].

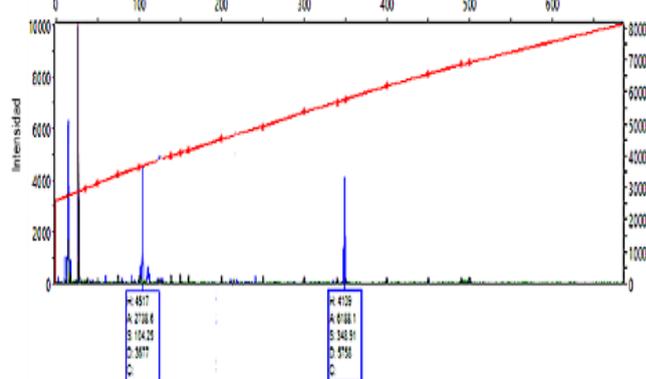


Figura 1. Electroferograma de los STR identificados por análisis de fragmentos. En el eje X se observa el tamaño de fragmento correspondiente y en el eje Y se muestra la intensidad de cada pico. De izquierda a derecha se observa un pico de color azul de 104.25 que corresponde alelo 10 del STR-TG de PCA3. Finalmente se observa un último pico azul de un tamaño de 348.91 correspondiente al alelo 5 del STR-TAAA de PCA3.

Correlación de genotipos y expresión absoluta

La expresión absoluta media de PCA3 fue ligeramente superior en los genotipos STR-TG que portaban el alelo 11 ($2,4 \times 10^7$ copias/ μg de tejido) en comparación con los que portaban solo el alelo 10 ($6,6 \times 10^6$ copias de ARNm/ μg de tejido) lo que concuerda con lo reportado por lei et al en 2017, donde observaron que el alelo 11 presentaba una sobreexpresión del gen PCA3 en su población de estudio, sugiriendo que uno de los mecanismos por los que el alelo de 11 repeticiones se asocia con un mayor riesgo de CaP es por medio de la regulación de la expresión de PCA3. Desregulando la expresión del gen al modificar la región semilla 3'UTR donde los microARN se unen para la regulación del ARNm [26]. Sin embargo, en el presente estudio no se encontró una diferencia estadísticamente

significativa ($p= 0,189$). En el caso de STR-TAAA, la expresión absoluta media de PCA3 fue ligeramente superior en aquellos genotipos que portaban el alelo 5 ($1,9 \times 10^7$ copias/ μg de tejido) en comparación con los que portaban solo el alelo 10 ($2,0 \times 10^6$ mRNA copias/ μg de tejido), no se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p= 0,324$). Lo que concuerda y afirma nuestro estudio previamente reportado en 2020 [25].

Conclusiones

El alelo 5 del STR-TAAA y el alelo 10 del STR-TG del gen PCA3 son los más frecuentes en población mexicana. Siendo el genotipo 5/5 del STR-TAAA y el 10/10 del STR-TG los más predominantes en nuestra población. El presente estudio no reveló asociación entre los alelos y genotipos presentes en STR-TG y STR-TAAA del gen PCA3 de los pacientes con el riesgo de desarrollar CaP. Así mismo no se encontró asociación entre la expresión del gen PCA3 y los polimorfismos del gen.

Agradecimientos

Este trabajo fue apoyado por la Universidad Politécnica de Sinaloa y la Universidad Autónoma de Sinaloa. Queremos agradecer al gabinete de la clínica privada "Álvarez & Arrazola radiólogos" por el apoyo durante el muestreo del presente estudio.

Conflicto de Intereses

Los autores expresan que no existen conflictos de interés al redactar el manuscrito.

Referencias

- [1] A. Moradi, S. Srinivasan, J. Clements, y J. Batra, «Beyond the biomarker role: prostate-specific antigen (PSA) in the prostate cancer microenvironment», *Cancer Metastasis Rev.*, vol. 38, n.o 3, pp. 333-346, sep. 2019, doi: 10.1007/s10555-019-09815-3.
- [2] A. E. G. Lemos, A. da R. Matos, L. B. Ferreira, y E. R. P. Gimba, «The long non-coding RNA PCA3: an update of its functions and clinical applications as a biomarker in prostate cancer», *Oncotarget*, vol. 10, n.o 61, pp. 6589-6603, nov. 2019, doi: 10.18632/oncotarget.27284.
- [3] G. W. Verhaegh, A. van Bokhoven, F. Smit, J. A. Schalken, y M. J. G. Bussemakers, «Isolation and Characterization of the Promoter of the Human Prostate Cancer-specific DD3 Gene», *J. Biol. Chem.*, vol. 275, n.o 48, pp. 37496-37503, dic. 2000, doi: 10.1074/jbc.M006293200.
- [4] W. Zhou et al., «Association of Short Tandem Repeat Polymorphism in the Promoter of Prostate Cancer Antigen 3 Gene with the Risk of Prostate Cancer», *PLoS ONE*, vol. 6, n.o 5, p. e20378, may 2011, doi: 10.1371/journal.pone.0020378.
- [5] W. Zhou et al., «Long noncoding RNA PCA3 gene promoter region is related to the risk of prostate cancer on Chinese males», *Exp. Mol. Pathol.*, vol. 97, n.o 3, pp. 550-553, dic. 2014, doi: 10.1016/j.yexmp.2014.11.005.
- [6] M. Gymrek, T. Willems, D. Reich, y Y. Erlich, «Interpreting short tandem repeat variations in humans using mutational constraint», *Nat. Genet.*, vol. 49, n.o 10, pp. 1495-1501, oct. 2017, doi: 10.1038/ng.3952.
- [7] E. Vilar y S. B. Gruber, «Microsatellite instability in colorectal cancer-the stable evidence», *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, vol. 7, n.o 3, pp. 153-162, mar. 2010, doi: 10.1038/nrclinonc.2009.237.
- [8] T. Grozescu y F. Popa, «Prostate cancer between prognosis and adequate/proper therapy», *J. Med. Life*, vol. 10, n.o 1, pp. 5-12, 2017.
- [9] M. Lajous et al., «Prostate cancer screening in low- and middle- income countries: the Mexican case», *Salud Pública México*, vol. 61, n.o 4, jul-ago, p. 542, jul. 2019, doi: 10.21149/10373.
- [10] P. E. Lonergan et al., «Active surveillance in intermediate-risk prostate cancer with PSA 10–20 ng/mL: pathological outcome analysis of a population-level database», *Prostate Cancer Prostatic Dis.*, vol. 25, n.o 4, pp. 690-693, dic. 2022, doi: 10.1038/s41391-021-00448-8.
- [11] A. Ozorak, A. E. Zumrutbas, G. Bingol, Y. Ozlulerden, y S. A. Ozturk, «Prostate cancer incidence and diagnosis in men with PSA levels >20 ng/ml: is it possible to decrease the number of biopsy cores?», *Aging Male*, vol. 23, n.o 5, pp. 893-900, dic. 2020, doi: 10.1080/13685538.2019.1620204.
- [12] M. R. Haythorn y R. J. Ablin, «Prostate-specific antigen testing across the spectrum of prostate cancer», *Biomark. Med.*, vol. 5, n.o 4, pp. 515-526, ago. 2011, doi: 10.2217/bmm.11.53.
- [13] Y. Cui et al., «Evaluation of prostate cancer antigen 3 for detecting prostate cancer: a systematic review and meta-analysis», *Sci. Rep.*, vol. 6, n.o 1, p. 25776, may 2016, doi: 10.1038/srep25776.
- [14] I. M. Thompson et al., «Assessing Prostate Cancer Risk: Results from the Prostate Cancer Prevention Trial», *JNCI J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 98, n.o 8, pp. 529-534, abr. 2006, doi: 10.1093/jnci/djj131.

- [15] A. Uhr, L. Glick, y L. G. Gomella, «An overview of biomarkers in the diagnosis and management of prostate cancer», *Can. J. Urol.*, vol. 27, n.o S3, pp. 24-27, ago. 2020.
- [16] D. Hessels et al., «DD3PCA3-based Molecular Urine Analysis for the Diagnosis of Prostate Cancer», *Eur. Urol.*, vol. 44, n.o 1, pp. 8-16, jul. 2003, doi: 10.1016/S0302-2838(03)00201-X.
- [17] J. B. de Kok et al., «DD3(PCA3), a very sensitive and specific marker to detect prostate tumors», *Cancer Res.*, vol. 62, n.o 9, pp. 2695-2698, may 2002.
- [18] J. Ruiz-Aragón y S. Márquez-Peláez, «[Assessment of the PCA3 test for prostate cancer diagnosis: a systematic review and meta-analysis]», *Actas Urol. Esp.*, vol. 34, n.o 4, pp. 346-355, abr. 2010.
- [19] G. L. Andriole et al., «Prostate Cancer Screening in the Randomized Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer Screening Trial: Mortality Results after 13 Years of Follow-up», *JNCI J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 104, n.o 2, pp. 125-132, ene. 2012, doi: 10.1093/jnci/djr500.
- [20] F. H. Schröder et al., «Prostate-Cancer Mortality at 11 Years of Follow-up», *N. Engl. J. Med.*, vol. 366, n.o 11, pp. 981-990, mar. 2012, doi: 10.1056/NEJMoa1113135.
- [21] L. Cao, C. H. Lee, J. Ning, B. C. Handy, E. A. Wagar, y Q. H. Meng, «Combination of Prostate Cancer Antigen 3 and Prostate-Specific Antigen Improves Diagnostic Accuracy in Men at Risk of Prostate Cancer», *Arch. Pathol. Lab. Med.*, vol. 142, n.o 9, pp. 1106-1112, sep. 2018, doi: 10.5858/arpa.2017-0185-OA.
- [22] E. D. Crawford, K. H. Ventii, y N. D. Shore, «New Markers for Prostate Cancer Detection and Prognosis», en *Prostate Cancer*, Elsevier, 2016, pp. 623-632. doi: 10.1016/B978-0-12-800077-9.00066-9.
- [23] S. S. Salami et al., «Combining urinary detection of TMPRSS2:ERG and PCA3 with serum PSA to predict diagnosis of prostate cancer», *Urol. Oncol. Semin. Orig. Investig.*, vol. 31, n.o 5, pp. 566-571, jul. 2013, doi: 10.1016/j.urolonc.2011.04.001.
- [24] C. Stephan et al., «Comparative Assessment of Urinary Prostate Cancer Antigen 3 and TMPRSS2:ERG Gene Fusion with the Serum [-2]Prostate-Specific Antigen-Based Prostate Health Index for Detection of Prostate Cancer», *Clin. Chem.*, vol. 59, n.o 1, pp. 280-288, ene. 2013, doi: 10.1373/clinchem.2012.195560.
- [25] E. Arámbula-Meraz et al., «Promoter polymorphisms of the PCA3 gene are not associated with its overexpression in prostate cancer patients», *J. Genet.*, vol. 99, p. 51, 2020.
- [26] J. Lai et al., «A microsatellite repeat in PCA3 long non-coding RNA is associated with prostate cancer risk and aggressiveness», *Sci. Rep.*, vol. 7, n.o 1, p. 16862, dic. 2017, doi: 10.1038/s41598-017-16700-y.