



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

FACULTAD DE MEDICINA  
BIOMEDICINA

**VARIANTES ALÉLICAS EN GENES NUCLEARES ASOCIADOS A METABOLISMO  
MITOCONDRIAL Y SU RELACIÓN CON LA EVOLUCIÓN DE CÁNCER DE PRÓSTATA EN  
SUJETOS CON SOBREPESO U OBESIDAD**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**DOCTOR EN CIENCIAS**

PRESENTA:

**BENÍTEZ GRANADOS JESÚS**

**TUTOR PRINCIPAL: DRA. ILEANA PATRICIA CANTO CETINA**  
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM

**COMITÉ TUTOR: DR. FEDERICO MARTINEZ MONTES**  
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM

**COMITÉ TUTOR: DR. JUAN PABLO MENDEZ BLANCO**  
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM

**CD. MX., FEBRERO 2018**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.





**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**FACULTAD DE MEDICINA**  
**BIOMEDICINA**

**VARIANTES ALÉLICAS EN GENES NUCLEARES ASOCIADOS A METABOLISMO**  
**MITOCONDRIAL Y SU RELACIÓN CON LA EVOLUCIÓN DE CÁNCER DE PRÓSTATA EN**  
**SUJETOS CON SOBREPESO U OBESIDAD**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**DOCTOR EN CIENCIAS**

PRESENTA:

**BENÍTEZ GRANADOS JESÚS**

**TUTOR PRINCIPAL: DRA. ILEANA PATRICIA CANTO CETINA**

**FACULTAD DE MEDICINA, UNAM**

**COMITÉ TUTOR: DR. FEDERICO MARTINEZ MONTES**

**FACULTAD DE MEDICINA, UNAM**

**COMITÉ TUTOR: DR. JUAN PABLO MENDEZ BLANCO**

**FACULTAD DE MEDICINA, UNAM**

**MÉXICO, CD. MX., FEBRERO 2018**


Lic. Ivonne Ramírez Wence  
Directora General de Administración Escolar, UNAM  
Presente

Me permito informar a usted que el Subcomité de Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas del Posgrado en Ciencias Biológicas, en su sesión ordinaria del día 31 de julio de 2017, aprobó el siguiente jurado para la presentación del examen para obtener el grado de **DOCTOR EN CIENCIAS** del alumno **BENÍTEZ GRANADOS JESÚS**, con número de cuenta **96201057**, con la tesis titulada **"VARIANTES ALÉLICAS EN GENES NUCLEARES ASOCIADOS A METABOLISMO MITOCONDRIAL Y SU RELACIÓN CON LA EVOLUCIÓN DE CÁNCER DE PRÓSTATA EN SUJETOS CON SOBREPESO U OBESIDAD"**, realizada bajo la dirección de la **DRA. ILEANA PATRICIA CANTO CETINA**:

Presidente: DRA. MARÍA SOLEDAD FUNES ARGUELLO  
Vocal: DR. ALEJANDRO ZENTELLA DEHESA  
Secretario: DR. JUAN PABLO MÉNDEZ BLANCO  
Suplente: DRA. JULIETA RUBIO LIGHTBOURN  
Suplente: DR. FEDERICO MARTÍNEZ MONTES

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Cd. Universitaria, Cd, Mx., a 17 de enero de 2018

  
DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA  
COORDINADOR DEL PROGRAMA



## **Agradecimientos**

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM.

Al CONACYT por la beca 202581

Al A poyo al F ortalecimiento y D esarrollo de l a I nfraestructura C ientífica y Tecnológica No. 250786

A la Dra. Patricia Canto por todo el apoyo que me ha otorgado en este tiempo. Al Dr. Juan Pablo Méndez y al Dr. Federico Martínez por la disposición y opiniones en relación al proyecto y mi formación.

Al Dr. Coral, Dr. Canizales, Dr. Vargas y Dr. Damián por las criticas durante la candidatura.

## **Agradecimientos a título personal**

A Lourdes y Jesús, recuerdo esa plática al salir de quinto de primaria donde veíamos como raro un festejo por terminar el ciclo escolar. Su guía fue increíble, como la mayoría de cosas que he logrado, no habría sido posible sin ustedes. La segregación de genes fue muy amable conmigo.

A Erandi, nuestra historia empezó en aquella aula del IFC, desde entonces he aprendido mucho a tu lado, difícil seguirte el ritmo cuando eres tan exitosa. Te admiro y te quiero, provocas una mejor versión de mí.

A Silverio por ser mi cómplice nocturno en los días de revisión de artículos y las “peleas” con la estadística.

A Paco por las charlas y la libertad, gracias por escucharme en la obsesión.

A la Dra. Canto, es una historia de mucho tiempo donde hemos compartido demasiadas cosas, gracias por la entrevista en el CMN SXXI, creo que ninguno de los dos imaginó que llegaríamos a esto. Ya no coincidimos en todo, creo que es parte de la formación, un gusto poder discutir con usted.

Al Dr. Pablo Gustavo, aquel esquema con tres círculos que interactuaban clarificó el proceso.

Compañeros corredores, ciclistas y montañistas, gracias por enseñarme y cuidarme para regresar a concluir este proyecto.

A mis amigos, familiares y alumnos con los que interactúe y me soportaron en el tiempo que desarrollé este proyecto.

## **Dedicatoria**

A Ramiro, eres un ejemplo de cómo disfrutar la vida y provocar que las personas que te rodean sean felices. Soy muy afortunado y me da mucho gusto que nuestras vidas se hayan encontrado.

Cuida tu mascara.

*” ...la puerta del enemigo esta abajo...”*

Andrew Wiggin



## Indice

Página	Tema
1	Resumen
2	Abstract
3	Introducción
4	Diagnóstico de cáncer de próstata
11	Epidemiología
12	Etiología y fisiopatología
13	Factores de riesgo
14	Obesidad y CaP
18	Sobrepeso y CaP
20	Genoma Mitocondrial
21	TFAM
23	POLG
24	PGC1a
26	NRF1
27	Justificación
29	Planteamiento del problema
30	Objetivos
31	Hipótesis
32	Metodología
32	Sujetos
33	Agresividad del tumor
34	Criterios de inclusión, exclusión y eliminación
35	Extracción de ADN
36	Genotipificación
37	Análisis estadístico
38	Resultados
53	Discusión
63	Conclusiones
64	Literatura citada
78	Anexos
79	Anexo 1 Artículo requisito Association of a TFAM haplotype with aggressive prostate cancer in overweight or obese Mexican Mestizo men.
85	Anexo 2 Artículo PPARGC1A and A DIPOQ polymorphisms are associated with aggressive prostate cancer in mexican-mestizo men with overweight or obesity.

## Resumen

Introducción: El cáncer de próstata (CaP), así como, el sobrepeso y la obesidad son condiciones frecuentes en la población mexicana. La disfunción mitocondrial ha sido asociada con el desarrollo de cáncer y con la obesidad, EL CaP es más agresivo en las personas con obesidad, lo cual sugiere que los genes que regulen la biogénesis mitocondrial (por ejemplo: *TFAM*, *POLG*, *PGC1a* y/o *NRF1*) pueden participar en este vínculo.

Objetivo: Analizar la posible asociación entre SNP's de genes relacionados con la biogénesis mitocondria con el desarrollo en la agresividad del CaP en pacientes con sobrepeso u obesidad.

Sujetos y métodos: Se analizaron 379 pacientes masculinos con diagnóstico histológico de CaP para determinar la agresividad (escala de Gleason) y el riesgo (clasificación de D'Amico). El índice de masa corporal (IMC) fue determinado en cada paciente de acuerdo a los criterios de la OMS. El ADN fue extraído de sangre periférica. Los SNP's rs1937, rs1049432, rs11006132 (*TFAM*); rs7665116 y rs2970870 (*PGC1a*); rs758130 (*POLG*) y rs6949152 (*NRF1*) fueron analizados por PCR en tiempo real mediante discriminación alélica. En los casos correspondientes se analizaron los haplotipos. Se analizó el equilibrio HW y análisis de ligamiento.

Resultados: el 78% de los pacientes presentó aumento del IMC ( $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup>), 50% en sobrepeso y 18% en obesidad. Así mismo, 43% presentaron formas agresivas (Gleason  $\geq 7$ ). De acuerdo con la clasificación de D'Amico el 21.8% presentaron riesgo alto. El rs2970870 de *PGC1a* se encuentra relacionado con el riesgo. El haplotipo A-G-G de *TFAM* se relaciona con riesgo alto. No encontramos asociación entre el resto de los SNP's analizados y la agresividad del CaP.

Conclusiones: es el primer estudio de que evalúa la posible asociación entre los SNP's de *TFAM*, *POLG*, *PGC1a* y/o *NRF1* con la agresividad de CaP en pacientes con sobrepeso u obesidad. El rs2970870 de *PGC1a* y el haplotipo A-G-G de *TFAM* se encuentran relacionados con el riesgo.

## Abstract

**Background:** Obesity constitutes a risk factor for the development of aggressive forms of prostate cancer. Mitochondrial dysfunction has been associated with the development of cancer and obesity, being prostate cancer more aggressive in obese men. It has been suggested that mitochondrial biogenesis gene's (TFAM, POLG, PGC1a and NRF1) plays a central role in these events.

**Objective:** The aim of this study was to analyze the possible association of TFAM, POLG, PGC1a and NRF1 polymorphisms, as well as their haplotypes, with the development of aggressive prostate cancer in overweight or obese Mexican Mestizo men.

**Subjects and methods:** A total of 379 unrelated men with histologically confirmed prostate cancer, of Mexican Mestizo ethnic origin, were included. Body mass index was determined and the degree of prostate cancer aggressiveness and risk were demarcated by the Gleason scale and D'Amico classification. DNA was obtained from blood leukocytes. The rs1937, rs1049432, rs11006132 (TFAM); rs7665116 and rs2970870 (PGC1a); rs758130 (POLG) and rs6949152 (NRF1), as well as their haplotypes, were studied by real-time polymerase chain reaction allelic discrimination. Deviations from Hardy-Weinberg equilibrium were tested. Pairwise linkage disequilibrium between single nucleotide polymorphisms was calculated; haplotype analysis was performed.

**Results:** 78% have increased BMI ( $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup>), 50% with overweight and 18% with obesity. Likewise, 43% have Gleason 7 (aggressive cancer). A high risk (D'Amico classification) was documented in 21.8%. A-G-G TFAM haplotype was associated with high risk and rs2970870 PGC1a was associated with cancer risk. We did not find a significant association between others polymorphisms analyzed.

**Conclusions:** To our knowledge, this is the first study regarding the relationship of TFAM, POLG, PGC1a and NRF1 polymorphisms with aggressive prostate cancer. A-G-G TFAM haplotype and rs2970870 PGC1a were associated with cancer risk.

## **Introducción**

El cáncer de próstata (CaP) se define como el crecimiento anormal de las células de la glándula prostática que además tiene la capacidad de invadir otros órganos (GPC IMSS 140 - 08). Es la segunda causa de muerte por cáncer en hombres en los países desarrollados y es la más frecuente de diagnóstico de malignidad (Hebert et al., 1998, Song et al., 2010). Se ha descrito que los diversos estilos de vida, así como los factores nutricionales, e n particular el consumo de alta energía, se encuentran relacionados con riesgo de este tipo de cáncer (Hebert et cols., 1998; Giovannucci et al., 2007). En pacientes con enfermedad localmente avanzada o cáncer metastásico, la ablación androgénica sigue siendo el pilar del tratamiento; sin embargo, el efecto de este tratamiento es sólo transitorio y la mayoría de los pacientes desarrollan un cáncer hormono-resistente a los 2 o 3 años por lo que es necesario comprender los mecanismos implicados en la regulación del crecimiento tumoral y la identificación de nuevos factores de crecimiento implicados en la progresión de la enfermedad para desarrollar nuevos enfoques terapéuticos (Amamoto et al., 2011).

En la actualidad, existen pocos marcadores clínicamente disponibles para la predicción exacta del pronóstico de los pacientes con este cáncer, además del antígeno prostático específico (PSA) y la puntuación de Gleason (Epstein et al., 2005).

## Diagnóstico de CaP

Los síntomas de la enfermedad no son específicos y pueden manifestarse varios años después de su inicio; éstos son secundarios a la obstrucción del flujo urinario debido al crecimiento de la glándula o por invasión de la neoplasia a otros sitios. La sospecha inicial de CaP se basa en un tacto rectal con hallazgos anormales (presencia de nódulos o induraciones) y/o con elevación en los niveles del antígeno prostático específico (APE) igual o mayor 4 ng/mL (GPC IMSS 140 - 08). De igual forma, se propone también que la ecografía transrectal (ETR) puede ayudar en el diagnóstico de este cáncer (Guía clínica sobre el cáncer de próstata), pero no siempre se observa el cuadro clásico de un área hipoecoica en la zona periférica de la próstata. La ETR en escala de grises no detecta áreas de CaP con una fiabilidad adecuada. Por consiguiente, no resulta útil sustituir las biopsias sistemáticas por biopsias dirigidas de las áreas sospechosas (Heidenreich et al., 2010).

A pesar de lo anterior, el diagnóstico definitivo se basa en la presencia de adenocarcinoma en muestras de biopsia de próstata o piezas quirúrgicas y el examen histopatológico permite la determinación del grado y la extensión del tumor (GPC IMSS 140-08).

En la mayoría de los casos, el desarrollo del tumor se localiza en la zona periférica de la glándula por tal motivo, cuando se realiza el tacto rectal (TR) se genera la sospecha diagnóstica. En aquellos casos en los que el volumen prostático es  $\geq 0.2$  mL se indica la biopsia. En aproximadamente el 18 % de todos los pacientes se detecta un CaP a partir de un TR sospechoso aislado, independientemente de la concentración de PSA; sin embargo, un TR sospechoso en pacientes con un valor de APE de hasta 2 ng/mL tiene un valor predictivo positivo del 5% - 30% (Heidenreich et al., 2010)

El APE es el primer marcador tumoral aprobado por la FDA para la detección oportuna del CaP. Este es una glucoproteína que se sintetiza casi exclusivamente en las células epiteliales de la próstata, tiene especificidad de órgano, pero no de cáncer, y a que las concentraciones séricas de éste, se pueden encontrar aumentadas en diversas patologías como es la hipertrofia prostática benigna (HPB), prostatitis y otras enfermedades no malignas (GPC IMSS 140 - 08). La concentración de APE es un parámetro continuo: cuanto mayor es el valor, más probabilidades hay de que exista un CaP; esto significa que no hay un valor umbral o límite superior aceptado de forma universal. Se considera que las concentraciones aumentadas de APE, tienen un valor predictivo positivo del 69%. Se han descrito varias modificaciones del valor de APE en suero, lo que podría mejorar la especificidad de éste, en la detección precoz del CaP; entre ellas se encuentran la densidad del APE de la zona de transición, intervalos de referencia específicos de la edad y formas moleculares de ésta. Sin embargo, estos derivados y ciertas isoformas del APE (cPSA, proPSA, BPSA, iPSA) tienen utilidad limitada en el contexto clínico habitual, por lo que no se ha considerado su inclusión en las guías clínicas (Heidenreich et al., 2010.)

De acuerdo con las Guías de Práctica Clínica, la biopsia de próstata está indicada de acuerdo con la concentración de APE, un TR sospechoso o ambos. También debe tenerse en cuenta la edad biológica del paciente, las posibles enfermedades concomitantes y las consecuencias terapéuticas. El primer valor elevado de APE no debería conllevar una biopsia inmediata; para ello, el valor de APE debe comprobarse al cabo de unas semanas con el mismo análisis en condiciones normalizadas (es decir, sin eyaculación ni manipulación, como colocación de

sondas, cistoscopia o resección transuretral, y sin infección urinaria) en el mismo laboratorio diagnóstico y utilizando los mismos métodos.

Por otra parte, se considera que la norma en las instituciones de salud, es la práctica de biopsias de próstata guiadas por ecografía. Aunque se utiliza un abordaje transrectal en la mayoría de las biopsias de próstata, algunos urólogos prefieren emplear un acceso perineal, ya que las tasas de detección de cáncer en biopsias de próstata perineales son equivalentes a las obtenidas mediante biopsia transrectal. En las biopsias basales, los focos de obtención de muestras deben ser lo más posteriores y laterales posibles en la zona periférica de la glándula y se obtendrán cilindros adicionales, a partir de las áreas sospechosas según el TR/ETR. Con esta técnica, las tasas de complicaciones son bajas, entre las que destacan hematuria, hematospermia y en aproximadamente 1% de los casos presencia de infecciones graves después del procedimiento. Las biopsias con trocar de la próstata obtenidas de diferentes focos se envían habitualmente al laboratorio de anatomía patológica en viales independientes que deben procesarse en cartuchos independientes. Antes del procesamiento, ha de anotarse el número de cilindros por vial y la longitud de cada cilindro. El diagnóstico de CaP se basa en el examen histológico, con el cual se examina cada foco de biopsia, indicando la proporción de biopsias positivas en cuanto a carcinoma y la puntuación de Gleason.

La puntuación de Gleason es el sistema más utilizado para graduar el adenocarcinoma de próstata, éste sólo puede evaluarse en material de biopsia (biopsia con trocar o piezas quirúrgicas) y no deben utilizarse preparaciones citológicas.

Según la convención internacional actual, la puntuación de Gleason (modificada) de los tipos de cáncer detectados en una biopsia de próstata, corresponde al grado de

Gleason del componente de carcinoma predominante (más extenso), además del mayor grado (independientemente de la extensión), presencia de carcinoma intracanalicular y extensión extraprostática. Aunado a lo anterior se debe reportar las características de carcinoma en cada foco de biopsia, por lo que debe proporcionarse una puntuación de Gleason global en función de los hallazgos en las biopsias individuales. La presencia de invasión perineural se describe con frecuencia, aunque existen datos contradictorios acerca de su utilidad como indicador pronóstico. La proporción (%) o longitud (mm) de la afectación tumoral por foco de biopsia se correlaciona con el volumen tumoral, la extensión extraprostática y el pronóstico tras la prostatectomía. La longitud del carcinoma (mm) y el porcentaje de la biopsia con afectación por carcinoma tienen el mismo efecto pronóstico (Heidenreich et al., 2010).

La puntuación de Gleason es la suma de los dos patrones más frecuentes (grado 1-5) de crecimiento tumoral observados y oscila entre 2 y 10, siendo 2 el menos agresivo y 10 el más agresivo. En la biopsia por punción se recomienda incluir siempre el peor grado, aunque se encuentre en < 5 % del material de biopsia (Heidenreich et al., 2010).

De acuerdo a la escala de Gleason se establece el lado de diferenciación con fines pronósticos: Grado 1= bien diferenciado (Gleason 2-4), Grado 2= moderadamente diferenciado (Gleason 5-6) y Grado 3= pobremente diferenciado (Gleason 7 -10) (GPC IMSS 140 - 08), es decir esta puntuación se relaciona con la agresividad: Agresividad baja=(Gleason 2-4), Agresividad media = (Gleason 5-6) y Agresividad alta (Gleason 7 -10).

Con respecto a la extensión extraprostática. Se recomienda el sistema de estadificación TNM de la Unión Internacional contra el cáncer (UICC) para la



estadificación anatomopatológica del carcinoma de próstata (Heidenreich et al., 2010). La clasificación TNM (Tumor-Ganglios-Metástasis) de 2009 del CaP se presenta en la tabla A.

**Tabla A: Clasificación TNM (Tumor-Ganglios-Metástasis) del CaP.**

T - Tumor primario
TX No se puede evaluar el tumor primario
T0 Ausencia de datos de tumor primario
T1 Tumor clínicamente no aparente, no palpable ni visible en las pruebas de imagen
T1a El tumor es un hallazgo histológico fortuito en el 5 % o menos del tejidoresecado
T1b El tumor es un hallazgo histológico fortuito en más del 5 % del tejidoresecado
T1c Tumor identificado en una biopsia por punción (p. ej., debido a una concentración elevada de antígeno prostático específico [PSA])
T2 Tumor limitado a la próstata <sup>1</sup>
T2a El tumor afecta a la mitad de un lóbulo o menos
T2b El tumor afecta a más de la mitad de un lóbulo, pero no a los dos lóbulos
T2c El tumor afecta a los dos lóbulos
T3 El tumor se extiende a través de la cápsula prostática <sup>2</sup>
T3a Extensión extracapsular (uni o bilateral), incluida la afectación microscópica de la vejiga (cuello)
T3b El tumor invade una o ambas vesículas seminales
T4 El tumor está fijo o invade estructuras adyacentes distintas de las vesículas seminales: esfínter externo, recto, músculos elevadores o pared de la pelvis
N - Ganglios linfáticos regionales <sup>3</sup>
NX No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales
N0 Ausencia de metástasis ganglionares regionales
N1 Metástasis ganglionares regionales
M - Metástasis a distancia <sup>4</sup>
MX No se pueden evaluar las metástasis a distancia
M0 Ausencia de metástasis a distancia
M1 Metástasis a distancia
M1a Ganglios linfáticos no regionales
M1b Huesos
M1c Otros focos

<sup>1</sup>Un tumor hallado en uno o ambos lóbulos mediante una biopsia por punción, pero que no es palpable ni visible en las pruebas de imagen, se clasifica como T1c.

<sup>2</sup> La invasión del vértice de la próstata, o de la cápsula prostática (pero sin sobrepasarla), no se clasifica como pT3, sino como pT2. <sup>3</sup> Las metástasis no mayores de

0,2 cm pueden designarse pN1. <sup>4</sup> Cuando exista más de un foco de metástasis, debe utilizarse la categoría más avanzada.

En relación a la estratificación del riesgo se han desarrollado con base en el nivel de APE, escala de Gleason y clasificación TNM de la AJCC divididos en tres grupos: Bajo riesgo APE <10 ng/mL, Gleason  $\leq$ 6 y estadio clínico T1 a T2a. Riesgo Intermedio: APE de 10 a 20 ng/mL, Gleason de 7 ó estadio clínico T2b a T2c. Alto Riesgo: APE>20 ng/mL, Gleason de 8 a 10 ó estadio clínico T3 a T4. (GPC IMSS 140 08).

Así mismo, debido al aumento en la incidencia del CaP se enfatizó la importancia de realizar la estratificación, para optimizar la predicción de la progresión de la enfermedad, de tal forma, que en 1998, D'Amico desarrolló un modelo de estratificación combinado en grupos con riesgo bajo, medio y alto en relación a la recurrencia bioquímica posterior a la prostatectomía radical o la radioterapia. (Hernández et al., 2007). Este modelo de predicción se basa en el estadio TNM, concentración de APE preoperatorio y la escala de Gleason.

## **Epidemiología**

En 2003 se obtuvieron 6,536 registros histopatológicos de CaP en México, que representó el 5.94% de todos los tumores malignos, lo que ubica este cáncer junto con el cáncer de piel, como los tumores más frecuentes en la población masculina. El CaP se presentó con mayor frecuencia en aquellos sujetos de más de 60 años, en donde resalta el grupo de los de 75 y más años quienes concentraron casi la mitad de los casos (47%). Si bien es cierto que a menor edad, los casos de este tipo de cáncer son menos frecuentes, se tiene registro de casos alrededor de los 40 años e incluso a menor edad. Las entidades federativas con mayor frecuencia de registros de este cáncer fueron el Distrito Federal (28.3%) y Jalisco (11.0%). Para este mismo año, el total de muertes debido a CaP fue de 4,602, lo que representó el 15.62% del total de las muertes debido a tumores malignos, con una tasa del 18.6 (<http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/default.asp?c=269&e=>).

De acuerdo con datos obtenidos del INEGI ([www.inegi.org.mx](http://www.inegi.org.mx)), en el 2007, el cáncer representó la cuarta causa de muerte entre los hombres con 33,509 muertes (11.8%), siendo el CaP, la principal causa de defunciones (15.7%) (<http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/default.asp?c=269&e=>).

Para el 2008, la cifra de defunciones debido a este cáncer fue de 5,153, lo que representó nuevamente el 15.7% del total de defunciones por cáncer en hombres (<http://www.inegi.org.mx/Sistemas/temasV2/Default.aspx?s=est&c=17484>); de tal forma que el CaP es considerado en la actualidad un problema de salud pública en nuestro país.

## **Etiología y fisiopatología**

En la actualidad se desconoce la etiología de la enfermedad, sin embargo se considera que es un padecimiento multifactorial, en el cual la predisposición genética y la exposición a factores de riesgo podrían tener un rol crucial en el desencadenamiento de la enfermedad (Schaid 2004; Langeberg et al., 2007; Ferris-Tortajada et al., 2011).

Un meta-análisis, el cual comprendió 33 estudios epidemiológicos que evaluaron el riesgo familiar de CaP, mostró que el riesgo relativo de presentar este cáncer en un hombre con un hermano o padre con CaP, es de 3.4 y 2.2, respectivamente. El riesgo es más alto si hay más hombres afectados en la primera línea que en la segunda línea (Bruner et al., 2003; Zeegers et al., 2004).

Por otra parte, el Fondo de Investigación Mundial del Cáncer ha estimado, desde hace muchos años, que alrededor del 30-40% de todos los tipos de cáncer se pueden atribuir a una alimentación inadecuada, a la inactividad física y a la presencia de incremento ponderal (World Cancer Research Fund, American Institute for Cancer Research 1997). La obesidad ocupa el segundo lugar, inmediatamente por debajo del tabaquismo, como la causa evitable más importante asociada con la aparición de neoplasias en el ser humano.

En relación con aquellos tipos de cáncer en los cuales se ha postulado que la obesidad influye en su aparición o en su agresividad, el CaP ocupa un lugar preponderante (Su et al., 2011).

## **Factores de riesgo**

No se conocen con exactitud los factores que determinan el riesgo de padecer un CaP, sin embargo se han descrito tres factores fuertemente relacionados con el desarrollo de este cáncer: edad avanzada, origen étnico y herencia. Alrededor del 9% de los individuos presentan un CaP hereditario, determinado por la presencia de éste en tres o más familiares afectados o al menos dos familiares con enfermedad de comienzo precoz, es decir, antes de los 55 años. Los pacientes con CaP hereditario suelen tener un comienzo 6-7 años antes que los casos espontáneos, pero no difieren en otros sentidos (Bratt, 2002).

En forma interesante, se ha descrito que la frecuencia de los casos detectados en la necropsia es aproximadamente la misma en diferentes partes del mundo, dato que contrasta claramente con la incidencia de CaP clínico, ya que este último difiere mucho entre distintas zonas geográficas, siendo elevada en Estados Unidos y Europa y baja en el sureste asiático (Quinn, et al., 2002). Sin embargo, cuando los varones japoneses emigran de Japón a California, su riesgo aumenta, de modo que se aproxima al de los valores estadounidenses.

Estos datos indican que hay factores ambientales que influyen en el riesgo de progresión desde el denominado CaP latente al CaP clínico. Se han descrito diversos factores ambientales como el consumo de determinados alimentos, el consumo de alcohol, la exposición a radiación ultravioleta y la exposición laboral, tienen importancia etiológica.

## Obesidad y CaP

La obesidad se define como la presencia en un individuo de un índice de masa corporal (IMC) mayor a  $30\text{kg/m}^2$ . El exceso en el número de adipocitos constituye uno de los mayores retos para la salud pública mundial. El término de epidemia de obesidad se ha utilizado para describir el aumento en la prevalencia de esta enfermedad, el cual se ha observado en todo el mundo desde la década de los ochenta del siglo pasado, habiéndose incrementado en forma significativa durante los últimos años. En los últimos cuarenta años dicho aumento en los Estados Unidos de Norteamérica ha sido de aproximadamente un 50% por cada década, habiéndose doblado en las últimas tres décadas (Centers for Disease Control and Prevention 2009). En México el incremento ha sido similar de acuerdo con los datos estadísticos más recientes. En 1993, los resultados de la Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas demostraron que la prevalencia de obesidad en los adultos era de 21.5%. Los datos de la Encuesta Nacional de Salud del año 2000, muestran cifras de 24% y posteriormente a 30% de acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición del año 2006. De acuerdo a los datos de la misma encuesta en el 2012, se demostró que el sobrepeso aumenta en hombres a un valor máximo en la década de 60-69 años lo que representa 49.8% de los casos, mientras que en la obesidad, la prevalencia más alta se presenta en el grupo de edad de 40 a 49 años lo que representa el 34.3% de los casos. Los cambios en la composición y en la disponibilidad de ciertos tipos de alimentos, así como la disminución en la actividad física observados en las últimas décadas, han condicionado el aumento en la prevalencia de la obesidad infantil y de los adultos durante un intervalo de tiempo relativamente corto (Cohen 2008; Wieting 2008). Sin embargo, es importante reconocer la determinante contribución genética y la influencia que la misma posee

sobre el peso, es especialmente en un momento en que estamos empezando a identificar y comprender a aquellas moléculas que participan en el control tanto del apetito como de la saciedad, así como a las que intervienen en la homeostasis energética, además de conocer la forma en la que la diversidad genética de las mismas puede influir en la obesidad humana (O'Rahilly & Farooqi, 2008).

Los estudios epidemiológicos han demostrado que la obesidad se asocia con un mayor riesgo de morbilidad, de discapacidad y de mortalidad (Schelbert 2009); Asimismo, se ha establecido que el impacto de la obesidad sobre la mortalidad es casi tan importante como el del tabaquismo (Peeters et al., 2003). La obesidad se ha asociado con una larga lista de entidades patológicas, i.e. diabetes mellitus, enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de neoplasias (Marchesini et al., 2008; Guh et al., 2009; Reisin & Jack, 2009). La obesidad en sí y todas las comorbilidades que genera aumentan la mortalidad de manera significativa, estimándose que la reducción de la esperanza de vida en estos sujetos es de por lo menos cinco años (Wyatt et al., 2006). Por otro lado, se ha considerado que el resultado de los costos anuales de atención a la salud, derivados de la obesidad y de las complicaciones de la misma representa y sobre todo representará costos prohibitivos que crearán crisis financieras en los sistemas de salud en los años por venir (Ryan, 2009).

En un estudio prospectivo se demostró que cuando el IMC llega a niveles superiores a  $35\text{kg/m}^2$ , la obesidad puede favorecer el desarrollo de diversos tipos de neoplasias (Calle et al., 2003).



Como ya señalamos, desde hace muchos años se conoce que la edad avanzada y los factores familiares y éticos constituyen factores predisponentes para la aparición de este tipo de tumores (Crawford 2003); sin embargo, el conocimiento sobre aquellos factores modificables que pueden ayudar a prevenir la enfermedad se han empezado a describir recientemente. A partir de la posible relación entre la obesidad y el CaP, se han realizado diversos estudios los cuales han producido resultados contradictorios. En el año 2006 se publicó un meta-análisis de 22 trabajos prospectivos encontrándose que la obesidad se asociaba con un discreto incremento en el riesgo de CaP, limitándose éste, a los estadios avanzados de la enfermedad (Macinnis & English, 2006). A partir de dicho trabajo, se han publicado varios más que han confirmado que la obesidad más que incrementar el riesgo de CaP, lo que realmente incrementa es el riesgo de desarrollar formas más agresivas de la enfermedad independientemente de otros factores (Gong et al., 2006; Rodríguez et al., 2007; Wright et al., 2007; Jayachandran et al., 2009; de Nunzio et al., 2011a). Así mismo, recientemente se ha descrito que el IMC se asocia en forma independiente con el volumen del tumor prostático (Capitanio et al., 2011).

Con base en lo anterior, es claro que los sujetos obesos presentan formas más agresivas de CaP que los sujetos delgados, sin embargo las razones no han sido esclarecidas. Se han propuesto diversas hipótesis como el que a estos pacientes se les hace el diagnóstico tardíamente por la dificultad de realizar el tacto rectal, además de que este tipo de individuos presentan concentraciones disminuidas de antígeno prostático por la propia obesidad (Bañez et al., 2007; Werny et al., 2007). La obesidad se asoció positivamente con la progresión clínica de la enfermedad, independientemente del grado, estadio y tipo de tratamiento (Gong et al., 2006; Gong et al., 2007).

Se ha propuesto que los cambios endocrinológicos secundarios a la obesidad aumentan el potencial proliferativo de la neoplasia ya que estudios epidemiológicos al igual que estudios *in vitro*, han demostrado que tanto las hormonas esteroides, como la leptina, el factor de crecimiento insulínico tipo I (que es un potencial mitógeno proostático), se incrementan con la obesidad y pudiesen favorecer la proliferación de este cáncer (van Roermund & Witjes, 2007; Hsing et al., 2008). Así mismo, se ha descrito que los hombres que tienen un exceso de adiposidad central, presentan concentraciones disminuidas de testosterona (Algarte-Genin et al., 2004). Por otro lado, se ha observado que las concentraciones de adiponectina se encuentran disminuidas en sujetos obesos y que lo anterior pudiese en parte ser la explicación del mayor grado de agresividad en el CaP (Barb et al., 2007).

Sin embargo, en la actualidad ninguno de los trabajos publicados ha podido determinar con precisión aquellos factores específicos que determinan la mayor agresividad presente en el CaP en los sujetos obesos, ni se han podido determinar las diferencias celulares específicas entre el CaP de un sujeto obeso con uno de peso normal. En conclusión, la inflamación crónica en los obesos pudiese desempeñar un rol importante en el crecimiento y progresión del tumor y las interrelaciones entre la obesidad, las hormonas esteroides, las citocinas y las adipocinas son complejas y aún no han podido ser dilucidadas (Gong et al., 2007).

## **Sobrepeso y CaP**

El sobrepeso de acuerdo con la OMS está definido como un IMC de 25-29.9, en años recientes ha aumentado la prevalencia del sobrepeso, principalmente en los sujetos mayores de 60 años de edad, de acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud, presentan una prevalencia del 50 % aproximadamente en individuos masculinos entre 60 y 69 años (ENSANUT 2012). En el sobrepeso al igual que en la obesidad, existe un aumento del tejido adiposo, como consecuencia de la hipertrofia y la hiperplasia de los adipocitos. El tejido adiposo además de llevar a cabo el almacenamiento y liberación de triglicéridos, tiene funciones endócrinas, en las que destacan la producción de citocinas polipeptídicas (adiponectina, leptina, grelina, entre otras) y moléculas relacionadas con hormonas (IGF1). Además de los adipocitos, el tejido adiposo está formado por vasos sanguíneos, la neovascularización de este tejido está regulada por IGF-1 y monobutirina (1-butirilglicerol). Las alteraciones en la secreción endócrina y la neovascularización han sido consideradas como factores de riesgo en diferentes tipos de cáncer.

Tanto el cáncer como la presencia de sobrepeso u obesidad se han relacionado con alteraciones en la función mitocondrial. Se ha postulado que el desarrollo y progresión del cáncer pueden estar determinados por el estrés oxidante, una sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ERO's) por la mitocondria. Debido a que la mitocondria requiere de la función de proteínas codificadas en el genoma nuclear para llevar a cabo funciones de fosforilación oxidante, apoptosis y replicación, transcripción y traducción del ADN mitocondrial (ADNmt), es factible que cambios en la secuencia de los genes que codifican para estas proteínas se relacionen con mayor riesgo de cáncer, por lo que es probable que la presencia de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP's) tanto en genes nucleares como

mitocondriales, generen sutiles cambios en la función y/o regulación mitocondrial aumentado dicho riesgo como consecuencia de la mayor producción de ERO's. En este contexto existen estudios que han examinado la relación entre SNP's y/o haplotipos ( vinculados con la función mitocondrial) con el riesgo de cáncer (Permeth-Wey et al., 2011), por ejemplo, cáncer de próstata (Booker et al., 2006. Wang et al., 2008), cáncer de mama (Bai et al., 2007. Canter et al., 2005), cáncer de endometrio (Liu et al., 2003. Xu et al., 2006), cáncer renal (Booker et al., 2006) y cáncer de páncreas (Wang et al., 2007).

## **El genoma mitocondrial.**

El genoma mitocondrial está formado por 16.5 kb, distribuidas en dos cadenas circulares de ADN, el 93.7% de este genoma codifica para 37 genes: 13 polipéptidos que se distribuyen en alguno de los 5 subcomplejos de la fosforilación oxidante (OXPHOS), 22 tRNA y 2rRNA (Uchiumi et al., 2012). El número de copias de ADNmt así como la masa mitocondrial es variante de acuerdo a cada tipo celular, es tá directamente relacionado con las demandas de ATP, hipoxia (Hoppeler et al., 2003) y/o estimulación hormonal (Mattingly et al., 2008).

Para realizar las diversas funciones mitocondriales, es necesario la importación de ≈1073 proteínas codificadas en el genoma nuclear, dichos genes se distribuyen desde un punto de vista funcional en tres grupos: ≈966 genes mitocondriales, ≈91 genes OXPHOS y ≈16 genes reguladores de la expresión del genoma mitocondrial (Leigh et al., 2010; Calvo et al., 2006), entre los que destacan: *TFAM*, *POLG*, *NRF1* y *PGC1a*.

### **TFAM (Transcription Factor A, Mitochondrial)**

Localizado en 10q21 entre los nucleótidos 58,385,022-58,399,221, formado por 14,200pb ( UCSC genome browser), codifica para un factor de transcripción, miembro de la familia HMG (*High Mobility Group*) que reconoce secuencias en la región no codificante (promotora) del genoma mitocondrial y de esta forma, participa en la regulación del proceso de transcripción del mismo (Parisi & Clayton, 1991). Se considera que existen 1000 moléculas de TFAM por cada genoma mitocondrial (Takamatsu et al 2002). Además, se le han atribuido funciones en relación al proceso de compactación del ADNmt en nucleoides, en la biogénesis mitocondrial (Matsushima et al 2010), replicación (Pohjoismaki et al., 2006), transcripción y traducción, así como en mantenimiento y regulación del número de copias del genoma mitocondrial (Uchiumi & Kang 2012).

Se han descrito alteraciones en la función de TFAM relacionadas con procesos metabólicos, como es el envejecimiento, así como en procesos patológicos, como es la enfermedad de Parkinson (Gatt et al., 2013), diabetes mellitus (Reiling et al 2009), síndrome metabólico (Patti & Corvera 2010), la obesidad (Vernochet et al., 2012) y el cáncer (Gogvadze et al., 2008). En cuanto al cáncer, se ha descrito que existe una relación directa por la presencia de mutaciones e indirecta mediante la modificación en el número de copias. Así mismo, un aumento en el número de copias del ADNmt se relaciona con la presencia tanto de un adenocarcinoma endometrial (Wang et al., 2005) como con la presencia de tumores de tiroides (Mambo et al., 2005); en contraparte, cuando se presenta una disminución en el número de copias de ADNmt así como una disminución de las proteínas de fosforilación oxidante se ha vinculado con carcinoma hepatocelular, (Yin et al.,

2004), carcinoma de ovario (Wang et al., 2006) y carcinomas de mama (Yu et al., 2007).

### **POLG (ADN polymerase gamma)**

El gen *POLG* está localizado en el cromosoma 15q25, codifica para la ADN pol y una proteína de 195 kDa. Está relacionada con procesos de duplicación y transcripción del genoma mitocondrial. En relación a la duplicación, son necesarias tres proteínas para llevar a cabo este proceso *in vitro*: POLG, helicasa mitocondrial y proteínas de unión a cadena sencilla (mtSSBP) (Korhonen et al., 2004). Se han propuesto dos modelos para la replicación del ADNmt: un modelo de desplazamiento de cadenas sincrónico y un modelo de replicación bidireccional acoplado a la cadena (Brown et al., 2005).

En relación a la transcripción del ADNmt, en humanos, POLG conforma un heterotrímero con P OLG2 y P OLMRT (*mitochondrial DNA directed RNA polymerase*) (Hudson & Chinnery 2006). POLMRT forma un complejo con TFB1M y TFB2M para unirse a la región promotora del genoma mitocondrial (Falkenberg et al., 2007). La actividad de estos parálogos B, está regulada directamente por TFAM para unirse al ADNmt (Correia et al., 2011).

En 2001 se reportó la primera relación entre mutaciones en POLG y diversas enfermedades, entre las que destacan: oftalmoplejía progresiva externa (PEO), síndrome de Alpers, otros síndromes hepatocerebrales infantiles, síndromes de neuropatía y ataxia, enfermedad de Charcot Marie Tooth, Parkinsonismo idiopático, entre otras (Hudson et al., 2006). Asimismo, mutaciones en *POLG* se han relacionado con diferentes tipos de cáncer, Correia et al. reportan un porcentaje de 63% en tumores de glándula mamaria (Correia et al., 2011). Estas enfermedades se caracterizan por deleciones en ADNmt, actualmente existen aproximadamente 150 mutaciones relacionadas con enfermedades (<http://tools.niehs.nih.gov/polg/>).



## **PGC1 $\alpha$** (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha)

También conocido como *PPARGC1A*, es un gen localizado en 4p15. La proteína PGC1 $\alpha$  es uno de los principales reguladores de la biogénesis mitocondrial. Funciona como un coactivador transcripcional que regula genes involucrados en el metabolismo energético. Esta proteína se une con el receptor nuclear PPAR- $\gamma$ , lo que permite la interacción de PGC1 $\alpha$  con múltiples factores de transcripción y de esta forma regula la actividad de proteínas CREB (cAMP response element-binding) y factores de respiración nuclear (NRF1, NRF2 y NRF3). Por tal motivo provee un vínculo directo entre estímulos fisiológicos externos y la regulación de la biogénesis mitocondrial. Debido a esto, se le ha relacionado con el control de la presión sanguínea, regulación de la homeostasis del colesterol, con el desarrollo de obesidad, regulación de termogénesis adaptativa y la enfermedad de Parkinson (Van B Che et al., 2011).

Por tales motivos, la disfunción mitocondrial puede dar lugar a una disrupción aguda tanto a nivel celular como sistémica, conduciendo al desarrollo de diferentes patologías. Está bien establecido que el genoma mitocondrial muestra una alta tasa de mutaciones (de 10 a 20 veces más alta que el genoma nuclear) debido a la proximidad con los sitios de las especies reactivas del oxígeno, a la compactación del ADNmt en nucleoides libres de histonas y a que la reparación del ADNmt es menos activa y menos diversa (Kujoth et al., 2007). En los últimos años se ha demostrado, tanto en roedores como en humanos, que uno de los eventos tempranos presentados por las complicaciones asociadas a la obesidad, son tanto la disminución en la densidad de las mitocondrias como la reducción del

metabolismo oxidante (Mootha et al., 2003; Semple et al., 2004; Crunkhorn et al., 2007; Heilbronn et al., 2007).

Además, se ha demostrado la presencia de mutaciones somáticas del ADNmt en diversos tipos de cáncer, incluido el CaP (Horton et al., 1996; Habano et al., 1998; Polyak et al., 1998; Chen et al., 2002; Singh et al., 2004; Petros et al., cols., 2005; Mims et al., 2006, Navaglia et al., 2006). Se ha sugerido que esas mutaciones en el ADNmt pueden jugar un rol en la génesis del cáncer, ya que al aumentar la producción de ERO's durante la fosforilación oxidante mitocondrial, puede dar lugar a la proliferación y crecimiento de las células cancerosas e incluso, a metástasis (Ishikawa et al., 2008).

Existen varios estudios en los que se ha asociado la disfunción mitocondrial con una amplia variedad de enfermedades degenerativas y metabólicas, incluido el cáncer. Estas alteraciones pueden ser el resultado de mutaciones y a sea en el ADN mitocondrial, el ADN nuclear o debido a una interacción disfuncional de los dos genomas, por ejemplo, alteraciones en los factores de transcripción nucleares que regulan la expresión de genes mitocondriales (Leigh-Brown et al., 2010), dichos factores de transcripción pueden actuar de dos formas, como "reguladores indirectos" mediante la regulación de la transcripción de genes nucleares relevantes para la función mitocondrial y la biogénesis, como son: *NRF1* y *NRF2*, que regulan la expresión de los componentes nucleares de la cadena respiratoria mitocondrial y la maquinaria de transcripción basal. Por otra parte, pueden ser importados en las mitocondrias y alterar la transcripción del genoma mitocondrial como "reguladores directos" de la expresión de genes mitocondriales, por ejemplo *POLG* y *TFAM* (Leigh-Brown et al., 2010).

### **NRF1 (Nuclear Respiratory Factor 1)**

Es un gen localizado en 15q25. Codifica para un factor de transcripción de la familia *Cap'n'Collar* (CNC) formada además por *Nrf2*, *Nrf3* y *p45 NF-E2*, se caracterizan por presentar un dominio "basic leucine zipper". Estos integrantes forman heterodímeros con proteínas Maf, de esta forma pueden reconocer la secuencia consenso 5'TGTGA(G/C)TCAGCA 3'. NRF1 y NRF2 son capaces de regular enzimas metabolizadoras de antioxidantes y xenobióticos a través de elementos de respuesta a antioxidantes (Ohtsuji et al., 2008). La alteración en la función de estos elementos se ha vinculado con Diabetes mellitus (Qu et al 2011).

## Justificación

La tercera parte del total de los diferentes tipos de cáncer en hombres corresponde a neoplasias urológicas, siendo el adenocarcinoma de próstata el más común de ellos (World Cancer Report 2008). Diversos estudios han demostrado que la obesidad se asocia al desarrollo de CaP más agresivo, además de asociarse positivamente con la progresión clínica de la enfermedad, independientemente del grado, estadio y tipo de tratamiento (Gong et al., 2006; 2007).

En la actualidad, no se han podido determinar las causas de dichos hallazgos y en estudios recientes se ha señalado la necesidad de continuar desarrollando proyectos de investigación para poder demostrar la(s) causa(s) de la mayor agresividad tumoral en sujetos con obesidad (de Nunzio et al., 2011b; Discacciati, 2011). La disfunción mitocondrial ha sido relacionada tanto con obesidad (Dalgaard et al., 2001) como con cáncer (Gogvadze et al., 2008). Actualmente existen numerosos estudios en modelos animales que parecen confirmar la idea de que es la disfunción mitocondrial la causa primaria de las alteraciones que ocurren en todos los tejidos neoplásicos, y que la inestabilidad genética es secundaria a los cambios metabólicos primarios de la disfunción mitocondrial (Bravo et al 2004). El 90% de las proteínas mitocondriales es codificado por el ADN nuclear traducidas en los ribosomas citoplásmicos como preproteínas, con un péptido señal que las dirige a los diferentes compartimentos mitocondriales. Utilizando sistemas específicos de transporte codificados por el ADN nuclear (Tuena & Jose-Nuñez, 2011). Dentro de estos elementos proteicos codificados en el núcleo se encuentran reguladores de la duplicación y transcripción del genoma mitocondrial como son: *NRF1*, *NRF2*, *T3R $\alpha$*  y *T3R $\beta$* , *POLG*, *TFAM*, *PGC1 $\alpha$*  entre otros (Leigh-Brown et al., 2010).

Con base en todo lo anterior, consideramos de relevancia el analizar polimorfismos en genes nucleares relacionados con el metabolismo mitocondrial en sujetos con CaP con sobrepeso u obesidad, con el fin de tratar de establecer si alguno de esos polimorfismos están asociados con CaP y la agresividad del mismo en estos sujetos. La búsqueda de variaciones genéticas y su posible relación con la agresividad tumoral en este tipo de neoplasias, podrán demostrar la presencia de marcadores de riesgo en relación a la agresividad tumoral en sujetos con obesidad o sobrepeso.

### **Planteamiento del problema.**

En México, la prevalencia de obesidad y la incidencia de CaP se incrementan año con año. Estudios recientes han reconocido el incremento en la agresividad del CaP en sujetos obesos, sin que hasta la fecha se haya podido determinar la causa del aumento en la agresividad tumoral en este tipo de pacientes. En este sentido, el enfoque del presente estudio se centra en analizar las posibles asociaciones de las variantes génicas de genes nucleares (*POLG*, *TFAM*, *NRF-1* y *PGC-1 alfa*) en sujetos con CaP con sobrepeso u obesidad.

**Objetivo General:**

Analizar variantes alélicas en genes de biogénesis mitocondrial y evaluar su asociación con la agresividad de cáncer en sujetos con obesidad o sobrepeso.

**Objetivos Específicos:**

1. Analizar el rs758130 de *POLG* en sujetos con CaP con sobrepeso u obesidad.
2. Analizar el rs1049432, rs1937 y 11006132 de *TFAM* en sujetos con CaP con sobrepeso u obesidad.
3. Analizar el rs7665116 y rs2970870 de *PGC1a* en sujetos con CaP con sobrepeso u obesidad.
4. Analizar el rs6949152 de *NRF1* en sujetos con CaP con sobrepeso u obesidad.
5. Analizar la posible asociación de los haplotipos formados por los tres SNPs de *TFAM* con la presencia de un CaP agresivo en sujetos con sobrepeso u obesidad.
6. Analizar la posible asociación de los haplotipos formados por los dos SNPs de *PGC1a* con la presencia de un CaP agresivo en sujetos con sobrepeso u obesidad.

**Objetivo Secundario:**

Analizar variantes alélicas en genes de biogénesis mitocondrial y evaluar su asociación con la agresividad de cáncer en sujetos con índice de masa corporal normal.

## **Hipótesis**

Los sujetos con cáncer de próstata y obesidad o sobrepeso y que tengan el alelo de riesgo estarán asociados con cáncer agresivo.



## **Metodología**

### **Sujetos**

Este estudio fue aprobado por el Comité de Investigación y Ética de la Facultad de Medicina UNAM con el número 146-2011. El proyecto se llevó a cabo con el ADN obtenido de leucocitos de sangre periférica de sujetos con diagnóstico comprobado de CaP captados en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” en el periodo comprendido entre marzo del 2012 y noviembre de 2015.

A los pacientes participantes se les proporcionó la información del estudio y se procedió a la lectura de la carta de consentimiento informado. Una vez que aceptaron participar, firmaron la carta de consentimiento informado, se tomó la muestra de sangre periférica y se llevó a cabo la determinación de peso y talla.

Consignación de peso y estatura:

Se tomó del expediente clínico el peso y la estatura consignado en el Ultrasonido previo a la biopsia, lo que a su vez permitió determinar el IMC al momento del diagnóstico.

Los pacientes fueron divididos en tres grupos:

- Pacientes de peso normal (IMC <25 kg/m<sup>2</sup>).
- Pacientes con sobrepeso (IMC 25-29.9 kg/m<sup>2</sup>).
- Pacientes con obesidad (IMC ≥30 kg/m<sup>2</sup>).

## **Agresividad del tumor**

Se determinó mediante el examen del patrón microscópico de las células cancerosas. La clasificación más frecuentemente utilizada es el sistema de clasificación de Gleason ( Gleason 1977; National Cancer Institute 2006). Este sistema asigna una calificación para cada CaP a partir del 1 (menos agresivo) al 5 (el más agresivo) en función del grado de diferenciación arquitectónica del tumor. Dado que los valores individuales de Gleason pueden variar desde 1 a 5, los valores añadidos (puntuaciones de Gleason o "sumas") pueden oscilar entre 2 a 10. En general, las puntuaciones de Gleason de 2 a 4 son poco comunes, la mayoría de los tumores detectados van desde 5 a 10 (Thompson et al., 2007). El CaP de alto grado generalmente se refiere a un tumor más agresivo; la puntuación de Gleason de 8 a 10 se refiere al grupo más agresivo, (American Joint Committee on Cancer 2006).

Riesgo del tumor.

Se determinó de acuerdo con la clasificación D'Amico en bajo, intermedio y alto, de acuerdo a los valores del APE, Gleason y clasificación TNM (tabla A).

### **Criterios de inclusión**

1. Pacientes masculinos con diagnóstico histopatológico de CaP.
2. Que sean nacidos en México. (así como padres y abuelos)
3. Que acepten participar en el estudio y firmen una carta de consentimiento informado.

### **Criterios de exclusión**

1. Pacientes con CaP que hayan recibido previamente tratamiento con quimioterapia y/o hormonoterapia.
2. Antecedentes familiares con CaP
3. Antecedentes de neoplasias previas.
4. Enfermedades mitocondriales.
4. Procesos patológicos que condicionasen la obesidad como una enfermedad secundaria: i .e. Síndrome de Prader Willi, Síndrome de Lawrence Moon, Síndrome de Cushing, etc.

### **Criterios de eliminación**

1. Deseen retirar su muestra del estudio.

### **Tipo de estudio:**

El presente es un estudio descriptivo y retrospectivo.

### **Extracción de ADN de sangre periférica**

Se realizó toma de muestra de 5 mL de sangre de una vena periférica, para la posterior extracción del ADN de los leucocitos de sangre periférica. La sangre se depositó en tubos de 5 mL con etilen diamino tetra acetato disódico (EDTA) 0.5M, pH 8, como anticoagulante. Las muestras fueron colocadas en hielo agregándose sacarosa-tritón 2X (Sacarosa 0.64M, Trizma-base 0.02M, MgCl<sub>2</sub> 0.01M y Tritón 100X al 2%) y agua desionizada (ddH<sub>2</sub>O). Los leucocitos se separaron por centrifugación y se decantó el sobrenadante, obteniéndose un botón nuclear. Para llevar a cabo la lisis de los leucocitos se añadió amortiguador de lisis nuclear, pH 8.2, (Trizma-base 10 mM, NaCl 400 mM y Na<sub>2</sub>EDTA 2 mM), sulfato dodecílico sódico (SDS) al 20% y Proteinasa K [20 mg/mL]. Se incubó por 14 h a 37° C y se adicionó NaCl saturado y se centrifugó. El sobrenadante se transfirió a tubos de 15 mL y el ADN se precipitó con dos volúmenes de etanol absoluto y agitando por inversión. Posteriormente, al ADN se agregó etanol frío al 70%, permitiendo secar a temperatura ambiente y resuspendiendo en ddH<sub>2</sub>O, almacenándose a -20° C para su análisis posterior.

Se determinó la concentración de ADN por espectrofotometría y se determinó a calidad de las muestras mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.2%.

## Genotipificación por PCR en tiempo Real

El análisis de los polimorfismos rs1937, rs1049432, rs1006132 de *TFAM*; rs758130 de *POLG*; rs6949152 de *NRF1* y rs7665116 y rs 2970870 de *PGC1a*, se llevó a cabo mediante discriminación alélica por PCR en tiempo real con sondas de hidrólisis (sondas TaqMan) de acuerdo con el sistema *PCR allelic discrimination* TaqMan assays (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) y sondas de hibridación (sondas Hyb) TIB Molbiol LLC (Adelphia, NJ). Todas las reacciones se realizaron con 10-20 ng de ADN, 5 microlitros de TaqMan Universal Master Mix 2X (AB), 0.25 microlitros de los oligonucleótidos iniciadores, la sonda (40X) y agua a un volumen final de 10 microlitros. En los ensayos se usaron sondas y primer específicos diseñados por Applied Biosystems (para el rs1937, ID: C 8975662\_10; para el rs1049432, ID: C 8815067\_10 y para el rs1006132, ID: C 31915742\_10, los tres SNPs localizados en *TFAM*; para el rs758130, ID: C 2582802\_1, localizado en *POLG*; para el rs7665116, ID: C 31279675\_10 y para el rs2970870, ID: C 1643241\_10, ambos localizados en *PGC1a* y para el rs6949152, ID: C 29144830\_10 localizado en *NRF1*). En todos los casos se agregaron los controles negativos correspondientes (agua). El PCR en tiempo real se realizó en el equipo LightCycler 480 (Roche Diagnostics Ltd., Switzerland) con las siguientes condiciones: 95°C por 10 min, y 40 ciclos de amplificación (95°C por 15s y 60°C por 1.5 minutos). Durante cada ciclo, el software determinó la señal de fluorescencia a partir del marcaje con VIC o FMA. Las pruebas de discriminación alélica se llevaron a cabo utilizando oligonucleótidos específicos para cada alelo. El 5% de las muestras en cada genotipo fueron analizadas por duplicado.

### **Análisis estadístico.**

La información de la población se analizó con medidas de tendencia central para las variables cuantitativas de las características generales y se obtuvieron las frecuencias relativas y absolutas para las variables cualitativas. Las diferencias entre las frecuencias alélicas fueron determinadas mediante la prueba de  $X^2$ , lo cual, permitió evaluar diferencias entre genotipos y haplotipos de acuerdo con la agresividad del CaP.

El análisis estadístico se llevó a cabo usando el Software GraphPad Prism 6. El análisis de equilibrio de Hardy Weinberg se realizó mediante prueba de  $X^2$ . Considerando un valor estadísticamente significativo  $p < 0.05$ .

El desequilibrio de ligamiento ( $D'$  y 95% de I.C.) así como las estimaciones entre los SNP's y haplotipos se realizaron usando el software Haploview, versión 4.1. Los haplotipos con una frecuencia  $< 0.05$  fueron descartados.

El análisis multivariado, se desarrolló mediante el software MDR (Multifactor Dimensionality Reduction 3.0.2),

## Resultados

Se analizaron 379 pacientes provenientes del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán" con un rango de edad desde 47 hasta 86 años de edad y con un promedio de 65.7 años. En la Tabla 1 se muestran las características generales de todos los pacientes; se puede observar que el IMC que predominó fue el correspondiente al sobrepeso (50%). A partir de la clasificación de Gleason se determinó la agresividad tumoral tomando como punto de corte el valor de 7, siendo una puntuación < 7 considerada como CaP no agresivo y una puntuación ≥7 equivalente a CaP agresivo; de acuerdo con esto, el 57% de los pacientes presentaron un CaP agresivo. El 79% de los pacientes presentaron valores de antígeno prostático específico mayores a 6mg/dL y el 35% de los pacientes presentó un estadio tumoral T1 correspondiente a un hallazgo incidental, mientras que el 49% de los pacientes presentaba un crecimiento tumoral confinado a la glándula prostática, 14% con un crecimiento tumoral fuera de la cápsula glandular y 2% con presencia de metástasis.

**Tabla 1. Características generales de los pacientes con cáncer de próstata**

EDAD (años)	GLEASON	IMC (m2/peso)	APE** (mg/dL)	ESTADIO TUMORAL
65.7 (±7.5)	7 (3-10)*	26.85 (±3.6)	12.05 (±9.7)	
<b>&lt;60 = 79</b> <b>≥60 = 300</b>	<b>&lt;7 = 163</b> <b>≥7 = 216</b>	<b>Normal = 121</b> <b>Sobrepeso = 188</b> <b>Obesidad = 70</b>	<b>&lt;6 = 75</b> <b>≥6 = 281</b>	<b>T1 = 135</b> <b>T2 = 183</b> <b>T3 = 53</b> <b>T4 = 8</b>

Índice de masa corporal Normal: 18-24.9, sobrepeso 25-29.9, obesidad ≥30. Escala de Gleason Agresivo: ≥ 7, No agresivo < 7. \*Valores expresados en mediana y rango; \*\* N=379; IMC: índice de masa corporal. APE: antígeno prostático específico.



Una vez determinados los grupos por agresividad y estadio tumoral se procedió a analizar la presencia del alelo menor en cada uno de los SNP's. Las frecuencias alélicas son las siguientes (Tablas 2 y 3):

**Tabla 2: Frecuencias alélicas de acuerdo con la agresividad del CaP**

SNP/GEN	FAM General N=379	FAM Agresivo N=216	FAM No Agresivo N=163
rs758130 POLG	0.38	0.37	0.38
rs1049432 TFAM	0.15	0.13	0.18
rs1937 TFAM	0.08	0.07	0.10
rs11006132 TFAM	0.17	0.15	0.20
rs7665116 PGC1a	0.14	0.13	0.16
rs2970870 PGC1a	0.23	0.25	0.20
rs6949152 NRF1	0.37	0.37	0.37

FAM= Frecuencia del alelo menor

**Tabla 3: Frecuencias alélicas de acuerdo con el estadio tumoral.**

SNP/GEN	FAM General N=379	FAM Estadio T1 N=216	FAM Estadio T2, T3 y T4 N=163
rs758130 POLG	0.38	0.36	0.39
rs1049432 TFAM	0.15	0.19	0.14
rs1937 TFAM	0.08	0.10	0.08
rs11006132 TFAM	0.17	0.21	0.16
rs7665116 PGC1a	0.14	0.16	0.14
rs2970870 PGC1a	0.23	0.18	0.26
rs6949152 NRF1	0.37	0.15	0.17

FAM= Frecuencia del alelo menor

Posteriormente, se realizó el análisis de genotipos en relación con la agresividad y estadio tumoral como se muestra en las Tablas 4 y 5, respectivamente.

**Tabla 4. Frecuencias genotípicas de acuerdo con la agresividad en los pacientes con CaP.**

SNP/GEN	Genotipo	Agresivo N =216(%)	No agresivo N=163 (%)	Valor p
	AA (N=136)	82 (38)	54 (33)	
rs758130 POLG	AG (N=198)	105 (49)	93 (57)	0.2749
	GG (N=45)	29 (13)	16 (10)	
	GG (N=272)	163 (75)	109 (67)	
rs1049432 TFAM	GT (N= 98)	49 (23)	49 (30)	0.1748
	TT (N=9)	4 (2)	5 (3)	
	GG (N=315)	185 (86)	130 (80)	
rs1937 TFAM	GC (N=62)	30 (13.5)	32 (19.5)	0.3165
	CC (N=2)	1 (0.5)	1 (0.5)	
	AA (N=250)	153(71)	97 (60)	
rs11006132 TFAM	AG (N=123)	58 (27)	65 (39)	0.0624
	GG (N=6)	4 (2)	2 (1)	
	TT (N=275)	163 (75)	112 (69)	
rs7665116 PGC1a	TC (N=96)	49 (23)	48 (29)	0.3737
	CC (N=7)	4 (2)	3 (2)	
	CC (N=222)	122 (56)	100 (62)	
rs2970870 PGC1a	CT (N=136)	80 (37)	56 (34)	0.3789
	TT (N=20)	14 (7)	6 (4)	
	AA (N=264)	151 (70)	113 (70)	
rs6949152 NRF1	AG (N=103)	61 (28)	43 (26)	0.3462
	GG (N=11)	4 (2)	7 (4)	

SNP: Single nucleotide polymorphism. Agresivo= Gleason igual o mayor a 7

**Tabla 5. Frecuencias genotípicas de acuerdo con el estadio tumoral en los pacientes con CaP.**

SNP/GEN	Genotipo	Estadio T1 N =135(%)	Estadio T2-T4 N=244 (%)	Valor p
	AA (N=136)	50(37)	86(35)	
rs758130 POLG	AG (N=198)	73(54)	125(51)	0.4017
	GG (N=45)	12 (9)	33(14)	
	GG (N=272)	92 (67)	180 (74)	
rs1049432 TFAM	GT (N= 98)	39 (30)	59 (24)	0.3776
	TT (N=9)	4 (3)	5 (2)	
	GG (N=315)	109 (81)	206 (84)	
rs1937 TFAM	GC (N=62)	26 (19)	36 (15)	0.3177
	CC (N=2)	0 (0)	2 (1)	
	AA (N=250)	81 (60)	169 (69)	
rs11006132 TFAM	AG (N=123)	52 (37)	71 (29)	0.1741
	GG (N=6)	3 (3)	3 (2)	
	TT (N=275)	95(70)	180(74)	
rs7665116 PGC1a	TC (N=96)	38 (28)	58 (24)	0.6234
	CC (N=7)	2 (2)	5(2)	
	CC (N=222)	86(63)	136(56)	
rs2970870 PGC1a	CT (N=137)	47 (35)	90 (37)	<b>0.0347</b>
	TT (N=20)	2(2)	18 (7)	
	AA (N=264)	97 (72)	167 (69)	
rs6949152 NRF1	AG (N=103)	35 (25)	68 (28)	0.7416
	GG (N=11)	3 (3)	8(3)	

SNP: Single nucleotide polymorphism.

A continuación, los resultados se analizaron de acuerdo con el IMC correspondiente a obesidad y se agruparon de acuerdo a la frecuencia alélica y posteriormente, respecto a la agresividad tumoral, se realizó el mismo procedimiento para los pacientes con sobrepeso y con IMC normal. Se utilizó el modelo dominante. Los resultados para el grupo de obesidad, sobrepeso e IMC normal se presentan en las Tablas 6,7,8 y 9 respectivamente.

**Tabla 6. Frecuencias alélicas en pacientes con obesidad (N=70) agrupados de acuerdo con la agresividad del cáncer de próstata**

SNP/GEN	Alelos	Agresivo o N (%)	No agresivo N (%)	OR (IC 95%)	Valor p
rs758130 POLG	A (N=28)	17(60)	11(40)	0.5882 (0.2228 - 1.553)	0.337
	G (N=42)	20 (47.6)	22(52.3)		
rs 1049432 TFAM	G (N=52)	29 (55.8)	23 (44.2)	0.6345 (0.2157 - 1.867)	0.4272
	T (N=18)	8 (44.4)	10 (56.6)		
rs 1937 TFAM	G (N=57)	32 (56)	25 (44)	1.250 (0.3639 - 4.294)	0.7668
	C (N=13)	8 (61.5)	5(38.5)		
rs11006132 TFAM	A (N=47)	28 (60)	19 (40)	0.4024 (0.1377 - 1.176)	0.1144
	G (N=23)	9 (38)	14 (62)		
rs 7665116 PGC1a	T (N=51)	28 (55)	23 (45)	0.7393 (0.2571 - 2.126)	0.6014
	C (N=19)	9 (47.3)	10 (52.7)		
rs 2970870 PGC1a	C (N=44)	20 (45.5)	24 (54.5)	2.267 (0.8316 - 6.178)	0.1393
	T (N=26)	17 (65.3)	9 (34.7)		
rs 6949152 NRF1	A (N=49)	27 (55.1)	22 (44.9)	0.5014 (0.1763 - 1.426)	0.2968
	G (N=21)	8 (38)	13 (62)		

SNP: Single nucleotide polymorphism. Agresivo= Gleason igual o mayor a 7

**Tabla 7. Frecuencias alélicas en pacientes con sobrepeso (N=188) agrupados de acuerdo con la agresividad del cáncer de próstata.**

SNP/GEN	Alelos	Agresivo N (%)	No agresivo N (%)	OR (IC 95%)	Valor p
rs758130 POLG	Alelo A (N=68)	39(57.4)	29(42.6)	1.041	1
	Alelo G (N=120)	70 (58.3)	50(41.7)	(0.5700 - 1.901)	
rs 1049432 TFAM	Alelo G (N=134)	83 (62)	51 (38)	<b>0.5297</b>	<b>0.0528</b>
	Alelo T (N=54)	25 (46.2)	29 (53.8)	<b>(0.2797-1.003)</b>	
rs 1937 TFAM	Alelo G (N=158)	96 (60.8)	62 (39.2)	0.5651	0.1624
	Alelo C (N=30)	14 (46.7)	16(53.3)	(0.2577 - 1.239)	
rs11006132 TFAM	Alelo A (N=126)	78 (61.9)	48 (38.1)	1.037	1
	Alelo G (N=62)	33 (53.4)	29 (46.6)	(0.5437 1.977)	
rs 7665116 PGC1a	Alelo T (N=137)	81 (59.1)	56 (40.9)	0.8417	0.6214
	Alelo C (N=51)	28 (55)	23 (45)	(0.4401 -1.610)	
rs 2970870 PGC1a	Alelo C (N=102)	58 (56.8)	44 (43.2)	1.160	0.6575
	Alelo T (N=86)	52 (60.4)	34 (39.6)	(0.6473 - 2.080)	
rs 6949152 NRF1	Alelo A (N=137)	81 (59.1)	56 (40.9)	0.9113	0.8680
	Alelo G (N=51)	29 (56.9)	22 (43.1)	(0.4755 -1.747)	

SNP: Single nucleotide polymorphism. Agresivo= Gleason igual o mayor a 7

**Tabla 8. Frecuencias alélicas en pacientes con un IMC= 25 a  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> (N=258) analizados de acuerdo con la agresividad del cáncer de próstata.**

SNP/GEN	Alelos	Agresivo N (%)	No agresivo N (%)	OR (IC 95%)	Valor p
rs758130 POLG	Alelo A (N=96)	56 (58.3)	40 (41.7)	0.8929 (0.5358 - 1.488)	0.6979
	Alelo G (N=162)	90 (55.5)	72 (44.5)		
rs 1049432 TFAM	Alelo G (N=186)	112 (55.8)	74 (54.2)	<b>0.5591</b> <b>(0.3229 -</b> <b>0.9679)</b>	<b>0.0498</b>
	Alelo T (N=72)	33 (45.8)	39 (56.6)		
rs 1937 TFAM	Alelo G (N=215)	128 (59.5)	87 (40.5)	0.7121 (0.3691 - 1.374)	0.3156
	Alelo C (N=43)	22 (51.1)	21(48.9)		
rs11006132 TFAM	Alelo A (N=161)	99 (61.5)	62 (38.5)	0.8052 (0.4673 - 1.387)	0.8052
	Alelo G (N=80)	45(56.2)	35(43.8)		
rs 7665116 PGC1a	Alelo T (N=188)	109 (58)	79 (42)	0.8126 (0.4681 - 1.411)	0.4825
	Alelo C (N=70)	37 (52.8)	33 (47.2)		
rs 2970870 PGC1a	Alelo C (N=146)	78 (53.4)	68 (46.6)	1.399 (0.8478 - 2.308)	0.2060
	Alelo T (N=112)	69 (61.6)	43 (38.4)		
rs 6949152 NRF1	Alelo A (N=186)	108 (58)	78 (42)	0.7635 (0.4421 - 1.319)	0.4014
	Alelo G (N=72)	37 (51.4)	35 (48.6)		

SNP: Single nucleotide polymorphism. Agresivo= Gleason igual o mayor a 7

**Tabla 9. Frecuencias alélicas en pacientes con IMC Normal (N=121) agrupados de acuerdo con la agresividad del cáncer de próstata**

SNP/GEN	Alelos	Agresivo o N (%)	No agresivo N (%)	OR (IC 95%)	Valor p
rs758130					
POLG	Alelo A (N=41)	25 (60.9)	16 (39.1)	0.7822 (0.3633 - 1.684)	0.5655
	Alelo G (N=80)	44 (55)	36 (45)		
rs 1049432					
TFAM	Alelo G (N=85)	51 (60)	34 (40)	0.6667 (0.3042 - 1.461)	0.3232
	Alelo T (N=36)	18 (50)	18 (50)		
rs 1937					
TFAM	Alelo G (N=100)	57 (57)	43 (43)	1.006 (0.3887 - 2.603)	1
	Alelo C (N=21)	12 (57.1)	9 (42.9)		
rs11006132					
TFAM	Alelo A (N=73)	45(61.7)	28(38.3)	0.8784 (0.4026 - 1.917)	0.8422
	Alelo G (N=41)	24 (58.5)	17 (41.5)		
rs 7665116					
PGC1a	Alelo T (N=88)	53 (60.2)	35 (39.8)	0.6215 (0.2778 - 1.391)	0.3036
	Alelo C (N=33)	16 (48.5)	17 (51.5)		
rs 2970870					
PGC1a	Alelo C (N=77)	44 (57.1)	33 (42.9)	0.9868 (0.4670 - 2.085)	1
	Alelo T (N=44)	25 (56.8)	19 (43.2)		
rs 6949152					
NRF1	Alelo A (N=52)	35 (67.3)	17 (32.7)	0.8033 (0.3768 - 1.713)	0.7015
	Alelo G (N=69)	43 (62.3)	26 (37.7)		

SNP: Single nucleotide polymorphism. Agresivo= Gleason igual o mayor a 7



Así mismo, se realizó el análisis de acuerdo con el estadio tumoral de acuerdo con las frecuencias genotípicas y alélicas como se muestra en la Tabla 10a, 10b y 11 respectivamente.

**Tabla 1 0a. Análisis en pacientes con CAPO con sobrepeso u obesidad agrupados de acuerdo con el estadio tumoral y genotipo de rs758130 *POLG* (N=379)**

	<b>AA</b>	<b>AG</b>	<b>GG</b>	<b>Valor p</b>
<b>T1 (N=135)</b>	50 (37%)	73 (55%)	12 (8%)	
<b>T2 (N=183)</b>	69 (37%)	91 (50%)	23 (13%)	
<b>T3 (N=53)</b>	15 (28%)	32 (61%)	6 (11%)	
<b>T4 (N=8)</b>	2 (25%)	2 (25%)	4 (50%)	<b>0.025</b>

**Tabla 10b. Frecuencias genotípicas (homocigotos) en pacientes con CaP con sobrepeso u obesidad a grupos de acuerdo con el estadiotumoral T1 (N=135) vs T2,T3,T4 (N=244)**

SNP/GEN	Genotipos	Estadio T1 N (%)	Estadio T2 T3 T4 N (%)	OR (IC 95%)	Valor p
rs758130 POLG	AA (N=136)	50(96)	86(72)	1.599	0.2773
	GG (N=45)	12 (4)	33(28)	(0.7574 - 3.375))	
rs 1049432 TFAM	GG (N=271)	91 (96)	180 (97)	0.6319	0.4938
	TT (N=9)	4 (4)	5 (3)	(0.1656 - 2.411)	
rs 1937 TFAM	GG(N=314)	109 (100)	205 (99)	2.664	0.5467
	CC (N=2)	0 (0)	2 (1)	(0.1267 - 56)	
rs11006132 TFAM	AA (N=234)	73 (96)	161 (98)	0.4534	0.3843
	GG (N=6)	3(4)	3 (2)	(0.0893 - 2.301)	
rs 7665116 PGC1a	TT (N=275)	95(97)	180(97)	1.319	1
	CC (N=7)	2 (3)	5(3)	(0.2511 - 6.932)	
rs 2970870 PGC1a	CC (N=222)	86(97)	136(88)	5.691	<b>0.0133</b>
	TT (N=20)	2(3)	18 (12)	(1.288 - 25.15)	
rs 6949152 NRF1	AA (N=174)	97 (97)	167 (95)	1.549	0.7511
	GG (N=11)	3 (3)	8(5)	0.4013 - 5.978	

**Tabla 11. Frecuencias alélicas en pacientes con CaP con sobrepeso u obesidad agrupados de acuerdo con el estadio tumoral (N=379)**

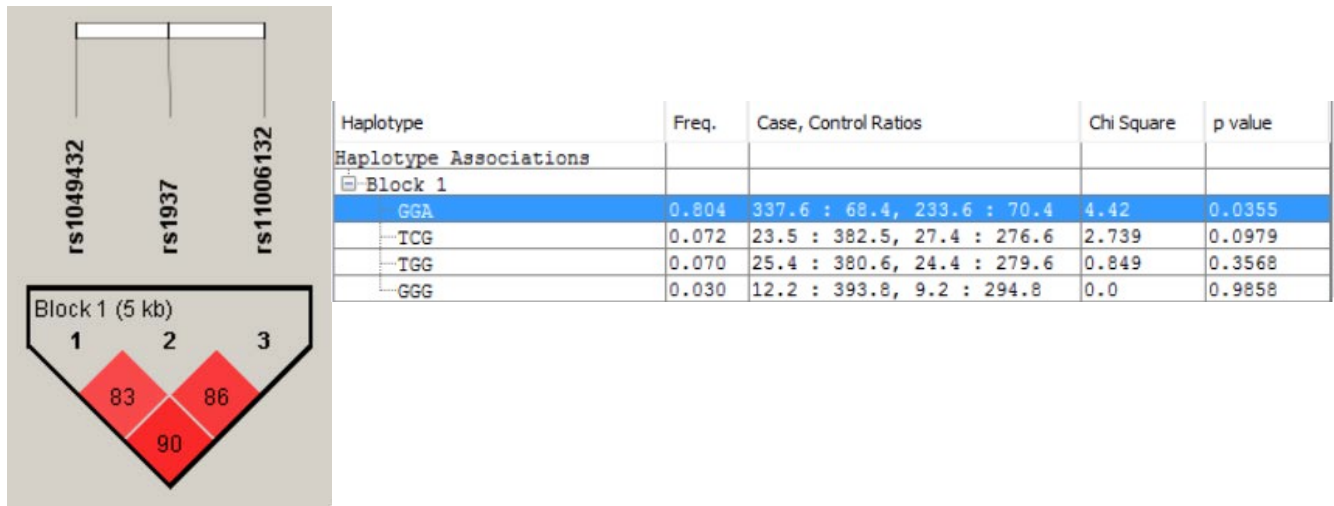
SNP/GEN	Alelos	Estadio T1 N (%)	Estadio T2 T3 T4 N (%)	OR (IC 95%)	Valor p
rs758130 POLG	Alelo A (N=82)	25(36)	57(39)	0.8971	0.7650
	Alelo G (N=134)	44 (64)	90(61)	(0.4960 -1.623)	
rs 1049432 TFAM	Alelo G (N=163)	51 (73)	112 (76)	0.8854	0.7364
	Alelo T (N=53)	18 (27)	35 (24)	(0.4585 1.710)	
rs 1937 TFAM	Alelo G (N=185)	57 (83)	128 (87)	0.7051	0.4087
	Alelo C (N=31)	12(17)	19(13)	(0.3208 -1.550)	
rs11006132 TFAM	Alelo A (N=144)	45 (69)	99 (72)	0.8864	0.7420
	Alelo G (N=59)	20(31)	39 (28)	(0.4654 - 1.688)	
rs 7665116 PGC1a	Alelo T (N=163)	53 (77)	110(75)	1.114	0.8657
	Alelo C (N=53)	16 (23)	37(25)	(0.5690 - 2.182)	
rs 2970870 PGC1a	Alelo C (N=122)	44 (64)	78 (53)	1.557	0.1448
	Alelo T (N=94)	25 (36)	69 (47)	(0.8645 - 2.804)	
rs 6949152 NRF1	Alelo A (N=151)	43 (62)	108 (73)	0.5972	0.1122
	Alelo G (N=65)	26 (38)	39 (27)	(0.3247 - 1.098)	

Finalmente, en lo referente al riesgo, se realizó análisis para determinar la asociación entre el CaP y recurrencia mediante el modelo dominante y recesivo para los SNP's de TFAM y PGC1a como se muestra en la Tabla 12.

**Tabla 12. Frecuencias genotípicas y alélicas de los SNP's de PGC1a y TFAM en pacientes con CaP con sobrepeso u obesidad (N=257)**

SNP/GEN	Genotipo	Riesgo	Riesgo	Riesgo	Valor de P
	Alelo	bajo (N=73)	intermedio (N=128)	alto (N=56)	
rs1937 TFAM	G/G	56 (76.7%)	110 (85.9%)	48(85.7%)	0.207
	G/C	17 (23.3%)	18 (14.1%)	8 (14.3%)	
	C/C	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	
	G	88.3%	93%	92.9%	
	C	11.7%	7%	7.1%	
rs1049432 TFAM	G/G	46 (63%)	93 (72.7%)	47 (83.9%)	0.063
	G/T	24 (32.9%)	34 (26.5%)	8 (14.3%)	
	T/T	3 (4.1%)	1 (0.8%)	1 (1.8%)	
	G	79.4%	86.0%	99.1%	
	T	20.6%	14.0%	8.9%	
rs11006132 TFAM	A/A	41 (56.2%)	88 (68.8%)	41 (73.2%)	0.126
	A/G	29 (39.7%)	37 (28.9%)	13 (23.2%)	
	G/G	3 (4.1%)	3 (2.3%)	2 (3.6%)	
	A	76%	83.2%	84.8%	
	G	24%	16.8%	15.2%	
rs2970870 PGC1a	C/C	42 (57.5%)	79 (61.7%)	24 (42.9%)	<b>0.035</b>
	C/T	30 (41.1%)	39 (30.5%)	26 (46.4%)	
	T/T	1 (1.4%)	10 (7.8%)	6 (10.7%)	
	C	78.1%	77.0%	66.1%	
	T	21.9%	23.0%	33.9%	
rs7665116 PGC1a	T/T	49 (67.1%)	102 (79.7%)	36 (64.3%)	0.175
	C/T	23 (31.5%)	25 (19.5%)	19 (33.9%)	
	C/C	1 (1.4%)	1 (0.8%)	1 (1.8%)	
	T	82.9%	89.5%	81.2%	
	C	17.1%	10.5%	18.8%	

Una vez completado el análisis de las frecuencias genotípicas y alélicas se llevó a cabo el análisis de haplotipos para los polimorfismos de *TFAM* y *PGC1a* como se muestra en la figura 1. En el caso de *TFAM* se presenta el haplotipo GGA.



**Figura 1.** Haplotipos de *TFAM* en todos los pacientes con CaP.

## Discusión

El CaP es la segunda causa de muerte por cáncer en el sexo masculino. De acuerdo con GLOBOCAN (internacional Agency for Research on Cancer), en nuestro país se reportaron 14,892 casos en el 2015. Dentro de los factores de riesgo relacionados con este cáncer, se encuentra el grupo étnico (Morote et al., 2014), la edad, (Johnsen et al., 2009), el sedentarismo (Johnsen et al., 2009. Morote et al., 2014), así como el sobrepeso y la obesidad (Haque et al., 2014). Diversos estudios sugieren que la obesidad es un factor de riesgo para desarrollar formas agresivas de este cáncer (Discacciati A, 2011; Allot EH, 2013). Lo anterior es de suma importancia, y a que en México aumentó la incidencia de obesidad en aproximadamente 10.9% durante el periodo comprendido entre 1993 y 2012 (ENSANUT 2012).

Otro factor de riesgo para el CaP es el sobrepeso; en México la prevalencia del sobrepeso ha aumentado, reportándose una prevalencia del 44.13% en los individuos masculinos mayores de 60 años de edad (ENSANUT 2012), siendo el máximo valor el que está relacionado con el grupo de 60-69 años de edad (49.8%), considerado ese rango de edad el más relacionado con el diagnóstico de CaP.

La prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad pasó del 71.2% en 2012 al 72.5% en 2016. Aunque las prevalencias combinadas de sobrepeso y obesidad no son muy diferentes en zonas urbanas (72.9%) que en rurales (71.6%), la prevalencia de sobrepeso fue 4.5 puntos porcentuales más alta en las zonas rurales, mientras que la prevalencia de obesidad fue 5.8 puntos porcentuales más alta en las zonas urbanas (ENSANUT MC 2016). Nuestro país se caracteriza por tener el mayor número de individuos con obesidad, sin embargo en la población mayor de 50 años

esta proporción cambia, siendo el grupo de sobrepeso el más frecuente, representa el 50% (ENSANUT, 2012).

En relación a nuestros resultados, observamos que la distribución de grupos por IMC en la población de pacientes con CaP analizada, las proporciones son similares a las descritas en población general masculina: con un IMC normal el 30%; con sobrepeso el 50% y con obesidad el 20%.(ENSANUT, 2012; ENSANUT MC 2016).

La relación entre el aumento en el IMC y la agresividad del CaP no se conoce por completo, sin embargo, el incremento en la prevalencia de ambos ha sugerido una relación entre dichas patologías. Se asume que con el aumento del IMC aumenta el número de adipocitos, lo cual conlleva a un desbalance en las concentraciones de múltiples adipocinas y citosinas inflamatorias. De igual forma, se han considerado otros posibles factores locales involucrados en la agresividad de CaP, como es la grasa periprostática, Tan et al., (2016) describen la asociación positiva entre volumen de grasa periprostática y escala de Gleason ( $p < 0.001$ ), así como la proporción de grasa periprostática y escala de Gleason ( $p < 0.001$ ) en una muestra de 295 individuos con CaP. De manera interesante, la proporción de grasa periprostática no presentó relación con el IMC ( $p = 0.310$ ) ni tampoco la relación entre IMC y escala de Gleason ( $p = 0.787$ ). Lo anterior puede explicarse al considerar que la grasa visceral es, desde un punto de vista metabólico, más activa que la grasa periférica o subcutánea, y ha sido asociada con fluctuaciones de varias hormonas como son: testosterona, estrógenos, proteína de unión a hormonas sexuales, leptina e insulina, todas ellas vinculadas con el desarrollo de CaP, (von Haffe et al., 2004). Así mismo se ha demostrado que en los individuos con mayor volumen de grasa periprostática existe un incremento en la actividad de las metaloproteinasas 2 y 9, lo que aumenta la proliferación y migración de células tumorales (Ribeiro et

al., 2012). Continuando con la participación de los factores locales en la progresión del CaP, Zhang et al., (2016) demuestran la modificación en la expresión de adipocinas en la grasa periprostática, considerado como el microambiente en la agresividad del CaP, por una parte se consideran como factores de riesgo a IL-6 y leptina, mientras que la adiponectina se considera como un factor protector.

Sin embargo, los factores genéticos podrían tener un papel importante en la asociación de CaP más agresivo en los individuos con sobrepeso u obesidad; de tal forma que el objetivo de este estudio fue el de analizar variantes alélicas en genes de biogénesis mitocondrial en este tipo de individuos.

En lo que respecta al análisis de las variantes genéticas, es importante evaluar la asociación de diversos polimorfismos en población mexicana, debido a que nuestra población es el resultado del mestizaje entre poblaciones europeas (principalmente españoles) y africanas con las poblaciones nativas (Lisker et al., 1990). Como se mencionó previamente, para el correcto funcionamiento mitocondrial es necesaria la importación de proteínas codificadas en el genoma nuclear, de dichos genes se distinguen desde un punto de vista funcional tres grupos: ≈966 genes mitocondriales, ≈91 genes OXPHOS y ≈16 genes reguladores de la expresión del genoma mitocondrial (Leigh et al., 2010; Calvo et al., 2006); en este último grupo destacan los siguientes genes: *TFAM*, *POLG*, *NRF1* y *PGC1a*.

En el presente estudio se incluyen los siguientes SNP's: de *TFAM* el rs1937 (región exónica), el rs1049432 y el rs11006132 (ambos en la región 3'UTR); el rs7665116 y el rs2970870 (ambos en regiones intrónica) de *PGC1a*; el rs758130 (región intrónica) de *POLG* y el rs6949152 (región intrónica) de *NRF1*.

El gen *TFAM* es considerado uno de los principales reguladores de la biogénesis mitocondrial así como de la estructura del ADNmt, se une a la región no codificante



para regular el inicio de la transcripción mitocondrial y mantener el número de copias del genoma mitocondrial, entre otras funciones. Diversos SNPs de *TFAM*, (considerados también los del presente trabajo), han sido analizados en el contexto de diversas patologías, incluido el cáncer en cavidad oral (Datta et al., 2016), sin embargo hasta el momento no existen reportes que relacionen estos SNPs con la agresividad del CaP en individuos con un IMC de sobrepeso u obesidad. Debido a que el SNP rs1937 de *TFAM* tiene localización exónica, (y modifica el aminoácido Serina por Treonina en la posición 12 de la proteína), lo cual podría relacionarse con un cambio funcional. Nosotros observamos que el genotipo GG (83.3%) y el alelo G (91.7%) son los más frecuentes en nuestra población de estudio, estos datos coinciden con lo reportado en población caucásica (Palacin et al., 2011) y en población china (Zhang et al., 2011); sin embargo, no se observó asociación entre este polimorfismo y la agresividad del Ca. En contraparte, encontramos que al agrupar el CaP en agresivo y no agresivo en nuestra población de estudio, no se presentó el genotipo CC (0%), lo cual difiere con los reportado en población de origen étnico caucásico y de origen chino, en la que se ha descrito una frecuencia de dicho genotipo, del 0.4 y 0.8% respectivamente. Lo anterior permite inferir que el genotipo CC puede considerarse como un factor protector (Zhang et al., 2011) en contraste con el genotipo GG que se considera de riesgo en otros procesos patológicos (Günther et al., 2004). Respecto a las frecuencias alélicas (Tabla 2), el alelo C presentó una frecuencia de 0.07 en los pacientes con CaP agresivo y de 0.10 en los pacientes con CaP no agresivo, mientras que en población mexicana sin CaP presenta una frecuencia de hasta 0.22 (<http://exac.broadinstitute.org/variant/10-60145342-G-C>). En conjunto, estos resultados confirman que las diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas

descritas en nuestra población en relación con otras poblaciones, pueden deberse a nuestro acervo genético, el cual es predominantemente de origen amerindio (Lisker et al., 1990).

De acuerdo con la relación entre los SNP's de *TFAM* con la agresividad y el IMC, como se observa en las Tablas 6, 7, 8 y 9, en donde se muestran los análisis de asociación entre agresividad del CaP de acuerdo a los diferentes grupos de IMC; encontramos que el rs1049432 muestra una tendencia de asociarse con la agresividad del CaP en pacientes con sobrepeso (IMC = 25 a 29.9 kg/m<sup>2</sup>), con un valor de p=0.0528 y con una asociación estadísticamente significativa (p=0.0498) cuando analizamos como un solo grupo a los pacientes con CaP y con sobrepeso u obesidad (IMC = 25 a ≥30 kg/m<sup>2</sup>). De manera interesante, en el grupo de los pacientes con IMC normal no se observó esta asociación (p=0.3232); lo cual sugiere que la asociación entre formas agresivas de CaP y este SNP pudiera estar determinado por el aumento del IMC.

En nuestra población de estudio el IMC tiene valores desde 18.3kg/ m<sup>2</sup> hasta 41.45kg/ m<sup>2</sup>. En el percentil 75 se presenta un valor de 28.7kg/ m<sup>2</sup>, al realizar un análisis considerando solo a los pacientes que tienen un IMC ≥28.7kg/ m<sup>2</sup> (N=115) se relacionan los SNP's de *TFAM* (rs1937 y rs11006132) con la agresividad del CaP (p=0.0053 y p=0.0044) respectivamente. Por tal motivo se podría considerar este valor del IMC como un umbral para relacionarlo con formas agresivas de CaP en nuestra población.

Otro elemento a destacar sobre la agresividad del CaP es la posible relación entre los SNP's y los micro RNA's (miRNA's) Walter et al (2013). Refieren la sobreexpresión de miR-122, miR-335, miR-184, miR-193, miR-34, miR-138, miR-373, miR-9, miR-198, miR-144 y miR-215 así como la disminución de miR-96, miR-

222, miR-148, miR-92, miR-27, miR-125, miR-126, miR-27 en los casos de CaP con Gleason >8. Mediante el software mrSNP (<http://mrsnp.osu.edu;>) se realizó un análisis *in silico* en el que se identificó la posible relación entre rs1049432 de TFAM con miR-548aj, miR-548x, miR-568, miR-548ae, miR-548am y miR-4760 (Deveci et al. 2014).

En relación con el gen *POLG*, éste codifica a la subunidad catalítica de la ADN polimerasa mitocondrial que está implicada en la replicación del ADN mitocondrial y de manera indirecta con la cantidad de ADN en la célula. Se ha descrito que este gen está implicado con enfermedades tumorales, ya que alteraciones en este gen, en particular las implicadas con aumento en el ADN mitocondrial se han relacionado con cáncer de cabeza y cuello (Kim et al., 2004), ovario (Wang et al., 2006) así como en esófago (Lin et al., 2010); en contraparte, la disminución de ADN mitocondrial se ha relacionado con cáncer renal (Xing et al., 2008), mama (Wu et al., 2007) y gástrico (Wu et al. 2005).

Dado que los SNP's desempeñan un papel importante en la regulación de la expresión génica, la degradación del ARNm y la traducción, todos los cuales pueden afectar a las funciones biológicas de las proteínas (Xing et al., 2008), es razonable suponer que SNP's en *POLG* puede afectar la proliferación, invasión y el pronóstico de los pacientes con cáncer. Diversos estudios han demostrado que las variantes genéticas en *POLG* están involucrados en la patogénesis de los tumores malignos (Blomberg et al. 2008). Así mismo, Popanda et al. (2013), sugieren que el genotipo GG de rs2856268 en *POLG* tiene un efecto protector sobre el desarrollo del cáncer de mama. Además, Swett et al. (2013) han demostrado que los haplotipos de *POLG* se pueden asociar con un aumento de la incidencia de 9.6 veces en el CaP. Estudios recientes han demostrado que los SNP's en este gen están asociados

con el fenotipo agresivo del cáncer hepatocelular (Mosley et al., 2013; Long et al., 2017).

En el presente trabajo encontramos una asociación entre el estadio tumoral y el genotipo de rs758130 de *POLG* ( $p=0.025$ ; Tabla 10a). Recientemente Long et al (2017), analizaron en 416 pacientes de origen chino (de los cuales el 87.5% fueron masculinos) la posible asociación de este SNP con cáncer hepatocelular. Los autores encontraron que el genotipo GG y el alelo G de dicho SNP se asoció con el pronóstico de cáncer hepatocelular; observando una frecuencia del genotipo GG del 38%, del genotipo GA del 47% y del genotipo AA del 15%, con una frecuencia del alelo menor del 39%. La distribución genotípica y alélica descrita por Long et al., (2017) es similar a la que encontramos en nuestra población con CaP: frecuencia del genotipo GG del 36%, del genotipo GA del 52% y del genotipo AA del 12%, con una frecuencia del alelo menor del 38%. La falta de asociación significativa podría deberse a que la muestra de nuestro estudio no cuente con suficiente poder para detectar diferencias y evitar el error tipo II.

Por otra parte, *PGC1a* es un gen relacionado con la diferenciación de tejido adiposo (Chinetti et al., 2000) que se expresa en varias líneas celulares así como en epitelio prostático tanto de tejido normal como en el tejido tumoral. Diferentes polimorfismos de *PGC1a* (como, rs7665116 y rs2970870), se han estudiado en las enfermedades neurodegenerativas y en la función ventricular izquierda diastólica. Juang et al. (2010) llevaron a cabo un estudio de asociación de rs7665116 y rs2970870 con función diastólica ventricular izquierda en individuos caucásicos, observando una asociación marginal de rs2970870 con latente de función ventricular izquierda diastólica. Sin embargo, hasta el momento no hay estudios genéticos que analicen

estos polimorfismos en el contexto de enfermedades tumorales. Como se muestra en la tabla 7, se encontró que el rs2970870 en nuestra población se asoció con el estadio tumoral ( $p=0.0347$ ). En este caso el genotipo CC se presentó asociado al estadio T1 en 63% y con los estadios T2, T3 y T4 en el 56% de los casos, el estadio T1 es cuando el diagnóstico de CaP es incidental, es decir, son formas tempranas. Lo anterior concuerda con lo descrito por Che et al. (2011), quienes observaron que el genotipo CC, se asoció con un inicio temprano de síntomas en la enfermedad de Huntington al comparar estos pacientes con aquéllos que presentaban el genotipo TT. De manera similar se ha evaluado la relación entre SNP's de *PGC1a* con la edad de inicio de la enfermedad de Huntington (EH), en particular el rs7665116 se ha vinculado con una edad temprana de inicio principalmente en aquellos pacientes con ancestría italiana (Van B Che et al., 2011). En el caso de rs2970870 se relacionó con edad temprana de inicio cuando en EH el número de repetidos de CAG es  $\leq 55$  ( $p= 0.0435$ ) (Van B Che et al., 2011), en nuestro estudio no existe asociación entre la edad de diagnóstico con ninguno de los SNP's estudiados de *PGC1a*.

Por otra parte, en relación con el riesgo de CaP determinado por la escala D'Amico, es decir de la recurrencia del CaP posterior a tratamiento, encontramos en nuestra población que el rs2970870 de *PGC1a* presenta una asociación entre el genotipo TT y un riesgo alto (Canto, et al., 2017); la población con riesgo alto presenta una frecuencia genotípica del 10.7% en contraste con el 1.4% en la población con bajo riesgo, así mismo, las frecuencias del alelo de riesgo son del 33.9% y del 21.9% entre los grupos de riesgo alto y bajo, respectivamente. La distribución del alelo C en este SNP varía considerablemente entre las diversas poblaciones: siendo del 46.7% en europeos, del 51.3% en japoneses y del 67.4% en chinos del grupo Han (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=rs2970870>); nosotros observamos que

nuestros pacientes presentan las frecuencias más altas, con 74.9% de manera general y destacando los pacientes con CaP no agresivo con el 80%.

En relación con los resultados obtenidos del rs6949152 de *NRF1*, no encontramos asociación entre la agresividad del CaP y la frecuencia alélica y genotípica de este polimorfismo, probablemente debido al tamaño de la muestra.

Se han llevado a cabo estudios de asociación de diversos SNPs de *NRF1* incluyendo el rs6949152 en el contexto de la actividad física, en individuos masculinos de la población china (He et al., 2008); encontrando que la respuesta del consumo máximo de oxígeno ( $VO_2$ ), el umbral ventilatorio y el costo metabólico al practicar una rutina de ejercicio durante 18 semanas, este polimorfismo se asociaba en forma significativa ( $p=0.047$ ) con el umbral ventilatorio lo que sugiere una participación de los SNP's de *NRF1* y la capacidad aeróbica humana, la cual se ha vinculado también con vías tumorales.

Por otra parte, Yvert et al., (2015) evalúan la asociación entre la capacidad física ( $VO_2$ , FEV<sub>1</sub>, FVC, P<sub>I<sub>max</sub></sub> y fuerza muscular) en pacientes pediátricos con fibrosis quística con polimorfismos de vías energéticas entre los que destacan: el rs6949152 de *NRF1* y el rs1937 de *TFAM* entre otros; sin embargo no encontraron correlación entre estos SNP's y el fenotipo. Recientemente, se han atribuido funciones de homeostasis proteica para *NRF1* al regular la actividad transcripcional de subunidades del proteosoma a través de los Elementos de Respuesta Antioxidante (ERA) por heterodimerización con proteínas Maf en respuesta a inhibición del proteosoma. La delección de *Nrf1* en células madre de sistema nervioso provoca neurodegeneración por acumulación de proteínas ubiquitinizadas en células de Purkinje y motoneuronas en modelo murino (Taniguchi et al., 2017). Así mismo, Weyburne et al., (2017) demuestran la participación de *Nrf1* a través de la

estimulación de la subunidad proteosómica  $\beta 2$  en líneas celulares de cáncer de mama triple negativo tratadas con carfilzomib o bortezomib (inhibidos proteosómicos). Con base en lo anterior, al participar en vías de estrés oxidante, es probable que la aportación de NRF1 sea en el desarrollo tumoral y/o en la respuesta del individuo a ciertas terapias y no como elemento de asociación alélica.

## Conclusiones

Este es el primer estudio que establece una relación entre polimorfismos de genes relacionados con biogénesis mitocondrial (*TFAM*, *POLG* y *PGC1a*) con CaP en individuos con sobrepeso u obesidad.

De igual forma, es la primera ocasión que se considera el sobrepeso como una variable principal, debido a la prevalencia con la que se presenta en nuestra población.

Se demostró que existe relación entre el rs1049432 de *TFAM* y la agresividad de CaP en pacientes con IMC > 25 kg/m<sup>2</sup>. Así mismo el haplotipo más frecuente fue GGA con una frecuencia de 80% lo cual constituye un marcador genético confiable, sin embargo, no fue posible comparar estos datos con otros trabajos debido a que no fueron estudiados dichos haplotipos, por tal motivo, es muy importante replicar estudios de cohortes en otras poblaciones para determinar la variación entre las mismas.

El rs2970870 de *PGC1a* se asocia con estadios tempranos del CaP de acuerdo con la clasificación TNM y con alto riesgo de acuerdo con la clasificación de D'Amicco.

El rs758130 de *POLG* se asocia con estadio tumoral del CaP de acuerdo con la clasificación TNM.

La distribución del IMC en los pacientes con CaP en nuestra población de estudio es similar a la de la población general, (IMC normal 30%, sobrepeso 50% y obesidad 20%) lo cual es llamativo si consideramos que nuestro país es el que presenta obesidad con mayor frecuencia.

En el presente trabajo no se presenta una correlación entre el IMC y la agresividad del CaP desde el punto de vista clínico.



## Literatura citada

Algarte-Genin M, Cussenot O, Costa P. Prevention of prostate cancer by androgens: experimental paradox or clinical reality. *Eur Urol* 2004; 46:285-294.

Amamoto R, Yagi M, Song Y, et al. Mitochondrial p32/C1QBP is highly expressed in prostate cancer and is associated with shorter prostate-specific antigen relapse time after radical prostatectomy. *Cancer Sci* 2011;102:639-47.

American Joint Committee on Cancer (AJCC). Available at: <http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/prostate/HealthProfessional/page3>. Accessed October 2, 2006.

Androutsopoulos V P, Tsatsakis A M, Spandidos D A. Cytochrome P 450 CYP1A1: wider roles in cancer progression and prevention. *BMC Cancer* 2009;9:187.

Arbiser JL. Molecular regulation of angiogenesis and tumorigenesis by signal transduction pathways: evidence of predictable and reproducible patterns of synergy in diverse neoplasms. *Semin Cancer Biol* 2004;14:81-91.

Arisan ED, Arisan S, Atis G, et al. Serum adipocytokine levels in prostate cancer patients. *Urol Int* 2009;82:203-208.

Badawi AF, Cavalieri EL, Rogan EG. 2001. Role of human cytochrome P450 1A1, 1A2, 1B1, and 3A4 in the 2-, 4-, and 16 $\alpha$ -Hydroxylation of 17 $\beta$ -Estradiol. *Metabolism* 50:1001-1003.

Bai RK, Leal SM, Covarrubias D, Liu A, Wong LJ. Mitochondrial genetic background modifies breast cancer risk. *Cancer Res* 2007;67: 4687-94.

Bañez LL, Hamilton RJ, Partin AW, Vollmer RT, Sun L, Rodriguez C, Wang Y, Terris MK, Aronson WJ, Presti JC Jr, Kane CJ, AmLing CL, Moul JW, Freedland SJ. Obesity-related plasma hemodilution and APE concentration among men with prostate cancer. *JAMA* 2007;298:2275-2280.

Barb D, Williams CJ, Neuwirth AK, Mantzoros CS. Adiponectin in relation to malignancies: a review of existing basic research and clinical evidence. *Am J Clin Nutr* 2007;86:s858-866.

Bieche I, Narjoz C, Asselah T, Vacher S, Marcellin P, Lidereau R, Beaune P, de Waziers I. Reverse transcriptase-PCR quantification of mRNA levels from cytochrome CYP1, CYP2 and CYP3 families in 22 different human tissues. *Pharmacogenet Genomics* 2007;17:731-742.

Blomberg Jensen M, Leffers H, Petersen JH, Daugaard G, Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E. Association of the polymorphism of the CAG repeat in the mitochondrial ADN polymerase gamma gene (POLG) with testicular germ-cell cancer. *Ann Oncol* 2008;19:1910-1914.

Bolden A, Noy GP, Weissbach A. ADN polymerase of mitochondria is a gamma-polymerase. *J Biol Chem* 1977;25:3351-3356.

Bonkhoff H, Berges R. The evolving role of oestrogens and their receptors in the development and progression of prostate cancer. *Eur Urol* 2009;55:533-542.

Booker LM, Habermacher GM, Jessie BC, Sun QC, Baumann AK, Amin M, et al. North American white mitochondrial haplogroups in prostate and renal cancer. *J Urol* 2006;175:468-72; discussion 472-3.

Bravo, C., Minauro-Sanmiguel, F., Morales-Ríos, E., Rodríguez-Zavala, JS., García, JJ. *J. Bioenerg. Biomembr.* 2004 36(3):257-264.

- Bratt O. Hereditary prostate cancer: clinical aspects. *J Urol* 2002 Sep;168(3):906-13.
- Brown T, Cecconi C, Tkachuk A, Bustamante C & D. Clayton, Replication of mitochondrial ADN occurs by strand displacement with alternative light-strand origins, not via a strand-coupled mechanism, *Genes Dev.* 19 (2005) 2466–2476.
- Bruner DW, Moore D, Parlanti A, Dorgan J, Engstrom P. Relative risk of prostate cancer for men with affected relatives: systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer* 2003;107:797-803.
- Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *NEJM* 2003;348:1625–1638.
- Calvo S, Jain M, Xie X, Sheth S, Chang B, Goldberger O, Spinazzola A, Zeviani M, Carr S & V Mootha. Systematic identification of human mitochondrial disease genes through integrative genomics, *Nat. Genet.* 38 (2006) 576–582.
- Cancel-Tassin G, Latil A, Rousseau F, Mangin P, Bottius E, Escary JL, Berthon P, Cussenot O. Association study of polymorphisms in the human estrogen receptor alpha gene and prostate cancer risk. *Eur Urol* 2003;44:487-490.
- Canter JA, Kallianpur AR, Parl FF, Millikan RC. Mitochondrial ADN G10398A polymorphism and invasive breast cancer in African-American women. *Cancer Res* 2005;65:8028–33.
- Canto P, Benítez J, Feria-Bernal G, Coral-Vázquez R, García-García E, Tejeda ME, Tapia A, Rojano-Mejía D, Juan Pablo Méndez. PPARGC1A and ADIPOQ Polymorphisms Are Associated With Aggressive Prostate Cancer in Mexican-Mestizo Men With Overweight or Obesity. *Cancer Biomark.* 2017 Apr 19
- Capitanio U, Suardi N, Briganti A, Gallina A, Abdollah F, Lughezzani G, Salonia A, Freschi M, Montorsi F. Influence of obesity on tumour volume in patients with prostate cancer. *BJU Int.* 2011;109:678-84.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Differences in prevalence of obesity among black, white, and Hispanic adults-United States, 2006-2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2009;58:740-744.
- Chamary JV, ParmLey JL, Hurst LD. Hearing silence: non-neutral evolution at synonymous sites in mammals. *Nat Rev Genet* 2006;7:98–108.
- Che HV, Metzger S, Portal E, Deyle S, Riess O and H.P. Nguyen, Localization of sequence variations in PGC-1 $\alpha$  influence their modifying effect in Huntington Disease, *Molecular Neurodegeneration* 6 (2011), 1.
- Chen JZ, Gokden N, Greene GF, Mukunyadzi P, Kadlubar FF. Extensive somatic mitochondrial mutations in primary prostate cancer using laser capture microdissection. *Cancer Res* 2002; 62:6470-6474.
- Chinetti G, Fruchart JC and B. Staels, Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): Nuclear receptors at the crossroads between lipid metabolism and inflammation, *Inflammation Research* 49 (2000), 497-505.
- Cohen D A. Obesity and the built environment: changes in environmental cues cause energy imbalances. *Int J Obes* 2008;Suppl 7:S137-142.
- Correia R, Oba Shinjo S, Uno M, Huang N, & S. MArrie Mitochondrial ADN depletion and its correlation with TFAM, TFB1M, TFB2M and POLG in human diffusely infiltrating astrocytomas. *Mitochondrion* 11 (2011) 48–53
- Crawford ED. Epidemiology of prostate cancer. *Urology* 2003; Suppl 1:3–12.

Crunkhorn S, Dearie F, Mantzoros C, Gami H, da Silva WS, Espinoza D, Faucette R, Barry K, Bianco AC, Patti ME. Peroxisome proliferator activator receptor  $\gamma$  coactivator-1 expression is reduced in obesity: potential pathogenic role of saturated fatty acids and p38 mitogenactivated protein kinase activation. *J Biol Chem* 2007;282:15439–15450.

Datta S, Ray A, Roy R, Roy B. Association of ADN sequence variation in mitochondrial ADN polymerase with mitochondrial ADN synthesis and risk of oral cancer. *Gene* 2016;575:650–4.

Dalgaard LT, Pedersen O. Uncoupling proteins: Functional characteristics and role in the pathogenesis of obesity and Type II diabetes. *Diabetologia* 2001, 44:946-965.

De Nunzio C, Freedland SJ, Miano L, Finazzi Agrò E, Bañez L, Tubaro A. The uncertain relationship between obesity and prostate cancer: An Italian biopsy cohort analysis. *Eur J Surg Oncol*. 2011a;37:1025-1029.

De Nunzio C, Albisinni S, Freedland SJ, Miano L, Cindolo L, Finazzi Agrò E, Autorino R, de Sio M, Schips L, Tubaro A. Abdominal obesity as risk factor for prostate cancer diagnosis and high grade disease: A prospective multicenter Italian cohort study. *Urol Oncol* 2011b; Sep 16 [Epub ahead of print].

Deveci M, Catalyürek Ü & A Ewart Toland. mrSNP: Software to detect SNP effects on microRNA binding. *BMC Bioinformatics* 2014; 15:73-83.

Discacciati A, Orsini N, Andersson SO, Andrén O, Johansson JE, Wolk A. Body mass index in early and middle-late adulthood and risk of localised, advanced and fatal prostate cancer: a population-based prospective study. *Br J Cancer* 2011; 105:1061-1068.

Ellem SJ, Risbridger GP. The dual, opposing roles of estrogen in the prostate. *Ann N Y Acad Sci* 2009;1155:174-186.

Elliot, S., Johnson, D., Jarosek, S., Konety, B., Adejoro, O., Virnig, B. 2012. Bias Due to Missing SEER Data in D'Amico Risk Stratification of Prostate Cancer. *The Journal of Urology* 187, 2026-2031

Epstein JI, Allsbrook WC Jr, Amin MB, et al. The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2005;29:1228–42.

Enlund A, Pedersen K, Bøeryd B, Varenhorst E. Transrectal ultrasonography compared to histopathological assessment for local staging of prostatic carcinoma. *Acta Radiol* 1990 Nov;31(6): 597-600.

Evans AR, Limp-Foster M, Kelley MR. Going APE over ref-1. *Mutat Res* 2000;461:83-108.

Falkenberg M, Larsson N & C Gustafsson. ADN replication and transcription in mammalian mitochondria. 2007 *Annu. Rev. Biochem.* 76, 679–699.

Fan HJ, Wen ZF, Xu BL, Wu JJ, Jia YX, Gao M, Li MJ, Qin YR. Tumour Biol. Three adiponectin rs1501299G/T, rs822395A/C, and rs822396A/G polymorphisms and risk of cancer development: a meta-analysis. *Tumour Biol* 2013;34:769-78.

Ferrís-i-Tortajada J, García-i-Castell J, Berbel-Tornero O, Ortega-García JA. Factores de riesgo constitucionales en el cáncer de próstata. *Actas Urol Esp* 2011;35:282-288.

Fontana C, Maselli M, Rodríguez C, Di Milla N, Perez R & J Lopez. Avances sobre la influencia del tejido adiposo en el adenocarcinoma de próstata. *Actas Urol Esp* 2009; 33(3): 242-248.

Fuku N, Oshida Y, Takeyasu T, Guo LJ, Kurata M, Yamada Y, Sato Y, Tanaka M. Mitochondrial ATPase subunit 6 and cytochrome B gene polymorphisms in young obese adults. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002;290:1199-1205.

Gatt A, Jones E, Francis P, Ballard C, J Bateman. Association of a polymorphism in mitochondrial transcription factor A (TFAM) with Parkinson's disease dementia but not dementia with Lewy bodies. *Neuroscience Letters* 557 (2013) 177–180

Giovannucci E, Liu Y, Platz EA, Stampfer MJ, Willett WC. Risk factors for prostate cancer incidence and progression in the health professionals followup study. *Int J Cancer* 2007;121:1571–1578.

Gleason, DF. Histologic grading and clinical staging of prostatic carcinoma. In: *Urology Pathology; the Prostate*. Edited by M. Tannenbaum. Philadelphia: Lea & Febiger, chapt 9, 1977.

Gogvadze V, Orrenius S, Zhivotovsky B: Mitochondria in cancer cells: what is so special about them? *Trends Cell Biol* 2008, 18:165-173.

Gong Z, Neuhauser ML, Goodman PJ, Albanes D, Chi C, Hsing AW, Lippman SM, Platz EA, Pollak MN, Thompson IM, Kristal AR. Obesity, diabetes, and risk of prostate cancer: results from the prostate cancer prevention trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15:1977-1983.

Gong Z, Agalliu I, Lin DW, Stanford JL, Kristal AR. Obesity is associated with increased risks of prostate cancer metastasis and death after initial cancer diagnosis in middle-aged men. *Cancer* 2007;109:1192-1202.

Guh DP, Zhang W, Bansback N, Amarsi Z, Birmingham CL, Anis AH. The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health* 2009;9:88.

Guía de Práctica Clínica. Diagnóstico y Tratamiento del Cáncer de Próstata en el Segundo y Tercer Nivel de Atención. Evidencias y Recomendaciones. Consejo de Salubridad General. Número de Registro IMSS-140-08 (<http://www.cenetec.salud.gob.mx>)

Gogvadze V, Orrenius S, Zhivotovsky B: Mitochondria in cáncer cells: what is so special about them? *Trends Cell Biol*. 2008, 18:165-173.

Günther C, von Hadeln K, Müller-Thomsen T, Alberici A, Binetti G, Hock C, et al. Possible association of mitochondrial transcription factor A (TFAM) genotype with sporadic Alzheimer disease. *Neurosci Lett* 2004;369:219–23.

Habano W, Nakamura S, Sugai T. Microsatellite instability in the mitochondrial ADN of colorectal carcinomas: evidence for mismatch repair systems in mitochondrial genome. *Oncogene* 1998;17:1931-1937.

Haddad J J. Recombinant human interleukin (IL)-1 beta-mediated regulation of hypoxia-inducible factor-1 alpha (HIF-1 alpha) stabilization, nuclear translocation and activation requires an antioxidant/reactive oxygen species (ROS)-sensitive mechanism. *Eur Cytokine Netw* 2002; 13:250–260.

Han G, Ma Y, Liu P, Wei X, Zhang X, Zhu F. Quantitative synthesis of the association between the cytochrome P450 1A1 Ile462Val polymorphism and prostate cancer risk. *Tumour Biol*. 2013 Feb 6.

Haque R, Van DE n Eeden S, Wallnr L, Richert K, Kallakury B, Wang R S Weinmann. Association of body mass index and prostate cancer mortality. *Obes Res Clin Pract*. 2014 Jul-Aug; 8(4): e374–e381.

He Z, Hu Y, Feng L, Li Y, Liu G, Xi Y, Wen L y A Lucia . NRF-1 genotypes and endurance exercise capacity in young Chinese men. *Br J Sports Med*. 2008 May;42(5):361-6.

- Hebert JR, Hurley TG, Olendzki BC, Teas J, Ma Y, Hampl JS. Nutritional and socioeconomic factors in relation to prostate cancer mortality: a cross-national study. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:1637–1647.
- Heilbronn LK, Gan SK, Turner N, Campbell LV, Chisholm DJ. Markers of mitochondrial biogenesis and metabolism are lower in overweight and obese insulin-resistant subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:1467-1473.
- Heidenreich A, Bolla M, Joniau S, Mason M, Matveev V, Mottet N, Schmid H, van der Kwast T, Wiegel T & F. Zattoni. Guía clínica sobre el cáncer de próstata. European Association of Urology 2010. ISBN 978-90-79754-70-0. (<http://www.uroweb.org/guidelines/online-guidelines/>)
- Hernandez D, Matthew E. Nielsen, Misop Han, and Alan W. Partin. 2007. Contemporary Evaluation of the D'Amico Risk Classification of Prostate Cancer. *Urology* 70: 931–935
- Holt SK, Kwon EM, Fu R, Kolb S, Feng Z, Ostrander EA, Stanford JL. Association of variants in estrogen-related pathway genes with prostate cancer risk. *Prostate* 2013;73:1-10.
- Hoppeler H, Vogt M, Weibel ER, Flück M. Response of skeletal muscle mitochondria to hypoxia. 2003. *Exp Physiol*. 88(1):109-19.
- Horton TM, Petros JA, Heddi A, Shoffner J, Kaufman AE, Graham SD Jr, Gramlich T, Wallace DC. Novel mitochondrial ADN deletion found in a renal cell carcinoma. *Genes Chromosomes Cancer* 1996;15:95-101.
- Hsu CY, Joniau S, Oyen R, Roskams T, Van Poppel H. Detection of clinical unilateral T3a prostate cancer by digital rectal examination or transrectal ultrasonography? *BJU Int* 2006 Nov;98(5):982-5
- Hudson, G. & P Chinnery. Mitochondrial ADN polymerase-gamma and human disease. 2006. *Hum. Mol. Genet*. 15, 244–252.
- Hsing A, Gao Y, Wu G, Wang X, Deng J, Chen Y, Sesterhenn I, Mostofi F, Benichou J, Chang C. Polymorphic CAG and GGN repeat lengths in the androgen receptor gene and prostate cancer risk: A population-based case-control study in China. *Cancer Res* 2000;60:5111-5116.
- Hsing AW, Chu LW, Stanczyk FZ. Androgen and prostate cancer: is the hypothesis dead? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17:2525-2530.
- Irigaray P, Newby J, Lacomme S, D Belpomme. Overweight/Obesity and cancer genesis: More than a biological link. 2007. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 61; 665-678.
- Ishii N, Fujii M, Hartman PS, Tsuda M, Yasuda K, Senoo-Matsuda N, Yanase S, Ayusawa D, Suzuki K. A mutation in succinate dehydrogenase cytochrome b causes oxidative stress and ageing in nematodes. *Nature* 1998; 394:694-697.
- Ishikawa K, Takenaga K, Akimoto M, Koshikawa N, Yamaguchi A, Imanishi H, Nakada K, Honma Y, Hayashi J. ROS-generating mitochondrial ADN mutations can regulate tumor cell metastasis. *Science* 2008;320:661-664.
- Jayachandran J, Bañez LL, Aronson WJ, Terris MK, Presti JC Jr, AmLing CL, Kane CJ, Freedland SJ; SEARCH Database Study Group. Obesity as a predictor of adverse outcome across black and white race: results from the Shared Equal Access Regional Cancer Hospital (SEARCH) Database. *Cancer* 2009; 115:5263-5271.
- Johnsen NF et al. Physical activity and risk of prostate cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (PIC) cohort. *Int J Cancer*. 2009; 125:902-908.

Juang JM, de Las Fuentes L, Waggoner AD, Gu CC and V.G. Dávila-Román, Association and interaction of PPAR-complex gene variants with latent traits of left ventricular diastolic function, *BMC Medical Genetics* 11 (2010) 65.

Kaklamani VG, Sadim M, Hsi A, et al. Variants of the adiponectin and adiponectin receptor 1 genes and breast cancer risk. *Cancer Res* 2008a;68:3178-3184.

Kaklamani VG, Wisinski KB, Sadim M, et al. Variants of the adiponectin (ADIPOQ) and adiponectin receptor 1 (ADIPOR1) genes and colorectal cancer risk. *JAMA* 2008b;300:1523-1531.

Kawajiri K, Nakachi K, Imai K, Watanabe J, Hayashi S. The CYP1A1 gene and cancer susceptibility. *Crit Rev Oncol Hematol* 1993;14:77-87.

Kelly DP, Scarpulla RC. Transcriptional regulatory circuits controlling mitochondrial biogenesis and function. *Genes Dev* 2004;18:357-368.

King BL, Peng HQ, Goss P, Huan S, Bronson D, Kacinski BM, Hogg D. Repeat expansion detection analysis of (CAG)<sub>n</sub> tracts in tumor cell lines, testicular tumors, and testicular cancer families. *Cancer Res* 1997;57:209-214.

Kim MM, Clinger JD, Masayeva BG, Ha PK, Zahurak ML, Westra WH, et al. Mitochondrial DNA quantity increases with histopathologic grade in premalignant and malignant head and neck lesions. *Clin Cancer Res* 2004;10: 8512-5.

Kisselev P, Schunck W-H, Roots I, Schwarz D. 2005. Association of CYP1A1 Polymorphisms with differential metabolic activation of 17β-Estradiol and Estrone. *Cancer Res* 65:2972-2978.

Korhonen J, PhamJ, Pellegrini M, Falkenberg M, Reconstitution of a minimal mtADN replisome in vitro, *EMBO J.* 23 (2004) 2423-2429.

Kujoth GC, Bradshaw PC, Haroon S, Prolla TA. The role of mitochondrial ADN mutations in mammalian aging. *PLoS Genet* 2007;3:e24.

Lange PH, Ercole CJ, Lightner DJ, Fraley EE, Vessella R. The value of serum prostate specific antigen determinations before and after radical prostatectomy. *J Urol* 1989 Apr;141(4):873-9

Langeberg WJ, Isaacs WB, Stanford JL. Genetic etiology of hereditary prostate cancer. *Front Biosci* 2007;12:4101-4110.

Lee SR, Kwon KS, Kim SR, Rhee SG. Reversible inactivation of protein-tyrosine phosphatase 1B in A431 cells stimulated with epidermal growth factor. *J Biol Chem* 1998;273:15366-15372.

Leigh-Brown S, Enriquez JA and Duncan T Odom Nuclear transcription factors in mammalian mitochondria. *Genome Biology* 2010, 11:215.

Li A, E Imore R, Pavelka C, Karlan B. Hyperandrogenism, mediated by obesity and receptor polymorphisms, promotes aggressive epithelial ovarian cancer biology. *Gynecol Oncol* 2007;107:420-423.

Lin CS, Chang SC, Wang LS, Chou TY, Hsu WH, Wu YC, et al. The role of mitochondrial DNA alterations in esophageal squamous cell carcinomas. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2010;139: 189-97 [e184].

Lisker R, Ramirez E, Perez-Briceño R, Granados J, Babinsky V. Gene frequencies and admixture estimates in four Mexican urban centers. *Hum Biol* 1990;62:791-801.

Liu VW, Wang Y, Yang HJ, Tsang PC, Ng TY, Wong LC, et al. Mitochondrial ADN variant 16189T>C is associated with susceptibility to endometrial cancer. *Hum Mutat* 2003;22:173-4.

Lopez C, Maselli M, Vanrell M, Di Milta N, Perez R, j Lopez. Avances sobre la influencia del tejido adiposo en el adenocarcinoma de prostata. *Act Urol Esp* 2009; 33(3): 242-248.

Long X, Wang X, Chen Y, Guo X, Zhou F, Fan Y, Ge N, Guo M, Zhang Z & G Dong Polymorphisms in P OLG were associated with the prognosis and mtDNA content in hepatocellular carcinoma patients. *Bull Cancer* (2017).

Lourenco G J, Silva EF, Rinck-Junior J A, Chone C T, Lima C S. CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 polymorphisms, tobacco and alcohol status and risk of head and neck squamous cell carcinoma. *Tumour Biol* 2011;32:1209-1215.

Macinnis RJ, English DR. Body size and composition and prostate cancer risk: systematic review and meta-regression analysis. *Can Caus Cont* 2006;17:989–1003.

Makiko O, Katsuoka F, Obayashi A, Aburatani H, Hayes J, Yamamoto M. Nrf1 and Nrf2 Play Distinct Roles in activation of antioxidant response element-dependent genes. 2008. *Journal of biological chemistry*. Vol 283: 48 33554-33562

Mambo, E., Chatterjee, A., Xing, M., Tallini, G., Haugen, B.R., Yeung, S.C., Sukumar, S., Sidransky, D., Tumor-specific changes in mtADN content in human cancer. 2005. *Int. J. Cancer* 116, 920–924.

Marchesini G, Moscatiello S, Di Domizio S, Forlani G. Obesity-associated liver disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(11 Suppl 1):S74-80.

Markushin Y, Gaikwad N, Zhang H, Kapke P, Rogan EG, Cavalieri EL, Trock BJ, Pavlovich C, Jankowiak R. Potential biomarker for early risk assessment of prostate cancer. *Prostate* 2006;66:1565-1571.

Matsushima Y, Goto Y, Kaguni LS. Mitochondrial Lon protease regulates mitochondrial DNA copy number and transcription by selective degradation of mitochondrial transcription factor A (TFAM). 2010. *Proc Natl Acad Sci*;107(43):18410-5

Mattingly KA, Ivanova M M, Riggs K A, Wickramasinghe N S, Barch MJ, Klinge C M. Estradiol stimulates transcription of nuclear respiratory factor-1 and increases mitochondrial biogenesis. 2008 *Mol Endocrinol*. 22(3):609-22.

McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med* 2000;108:652-657.

Michalakis K, Williams CJ, Mitsiades N, et al. Serum adiponectin concentrations and tissue expression of adiponectin receptors are reduced in patients with prostate cancer: a case control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16:308-13.

Michiels C, Minet E, Mottet D, Raes M. Regulation of gene expression by oxygen: NF-kappaB and HIF-1, two extremes. *Free Radic Biol Med* 2002;33:1231-1242.

Mims MP, Hayes TG, Zheng S, Leal SM, Frolov A, Ittmann MM, Wheeler TM, Prchal JT. Mitochondrial ADN G10398A polymorphism and invasive breast cancer in African-American women. *Cancer Res* 2006;66:1880.

Mittal R, Mishra D, Thangaraj K, Singh R, Mandhani A. Is there an inter-relationship between prostate specific antigen, kallikrein-2 and androgen receptor gene polymorphisms with risk of prostate cancer in north Indian population? *Steroids* 2007;72:335-341.

Mootha VK, Lindgren CM, Eriksson KF, Subramanian A, Sihag S, Lehar J, Puigserver P, Carlsson E, Ridderstråle M, Laurila E, Houstis N, Daly MJ, Patterson N, Mesirov JP, Golub TR, Tamayo P, Spiegelman B, Lander ES, Hirschhorn JN, Altshuler D, Groop LC. PGC-1responsive genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately down-regulated in human diabetes. *Nat Genet* 2003;34:267-273.

Morote J, Celma A, Planas J, Placer J, Konstantinidis C, Izueta I, De torres I, Oliván M, Reventos J, A Doll. Sedentarism and overweight as risk factors for the detection of prostate cancer and its aggressiveness. *Actas Urol Esp* 2014;38:232-7.

Morote J, Encabo G, de Torres IM. Use of percent free prostate-specific antigen as a predictor of the pathological features of clinically localized prostate cancer. *Eur Urol* 2000 Aug;38(2):225-9

Mosley JD, Van Driest SL, Larkin EK, Weeke PE, Witte JS, Wells QS, et al. Mechanistic phenotypes: an aggregative phenotyping strategy to identify disease mechanisms using GWAS data. *PLoS One* 2013;8:e81503.

Nam R, Elhaji Y, Krahn M, Hakimi J, Ho M, Chu W, Sweet J, Trachtenberg J, Jewett M, Narod S. Significance of the CAG repeat polymorphism of the androgen receptor gene in prostate cancer progression. *J Urol* 2000;164:567-572.

National Cancer Institute website: Available at: <http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/prostate/HealthProfessional/page2>. Accessed October 1, 2006.

Navaglia F, Basso D, Fogar P, Sperti C, Greco E, Zambon CF, Stranges A, Falda A, Pizzi S, Parenti A, Pedrazzoli S, Plebani M. Mitochondrial ADN D-loop in pancreatic cancer: somatic mutations are epiphenomena while the germLine 16519 T variant worsens metabolism and outcome. *Am J Clin Pathol* 2006;126:593-601.

Nebert DW, Jones JE. Regulation of the mammalian cytochrome P1-450 (CYP1A1) gene. *Int J Biochem* 1989;21:243-252.

Nebert DW, Petersen DD, Puga A. Human ah locus polymorphism and cancer: inducibility of CYP1A1 and other genes by combustion products and dioxin. *Pharmacogenetics* 1991;1:68-78.

Nicolaiew N, Cancel-Tassin G, Azzouzi AR, Grand BL, Mangin P, Cormier L, Fournier G, Giordanella JP, Pouchard M, Escary JL, Valeri A, Cussenot O. Association between estrogen and androgen receptor genes and prostate cancer risk. *Eur J Endocrinol* 2009;160:101-6.

Olaiz-Fernández G, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Rojas R, Villalpando-Hernández S, Hernández-Avila M, Sepúlveda-Amor J. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública, 2006.

Ono Y, de Meyts ER, Guellaen G, Bulle F. Sporadic testicular germ cell cancers do not exhibit specific alteration in CAG/CTG repeats containing genes expressed in human testis. *Oncogene* 2001;20:5548–5553.

O'Rahilly S, Farooqi IS. Human obesity as a heritable disorder of the central control of energy balance. *Int J Obes* 2008; 32 Suppl 7:S55-61.

Parisi M & D.A. Clayton. Similarity of human mitochondrial transcription factor 1 to high mobility group proteins, *Science* 252 (1991) 965–969.

Palacín M, Alvarez V, Martín M, Díaz M, Corao AI, Alonso B, et al. Mitochondrial ADN and TFAM gene variation in early-onset myocardial infarction: evidence for an association to haplogroup H. *Mitochondrion* 2011;11:176–81.

Partin AW, Carter HB, Chan DW, Epstein JI, Oesterling JE, Rock RC, Weber JP, Walsh PC. Prostate specific antigen in the staging of localized prostate cancer: influence of tumour differentiation, tumour volume and benign hyperplasia. *J Urol* 1990 Apr;143(4):747-52.

Partin AW, Mangold LA, Lamm DM, Walsh PC, Epstein JI, Pearson JD. Contemporary update of the prostate cancer staging nomograms (Partin tables) for the new millennium. *Urology* 2001 Dec;58(6):843-8.



- Patti, M.E., and Corvera, S. (2010). The role of mitochondria in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Endocr. Rev.* 31, 364–395.
- Peeters A, Barendregt JJ, Willekens F, Mackenbach JP, Al Mamun A, Bonneux L. NEDCOM, the Netherlands Epidemiology and Demography Compression of Morbidity Research Group. Obesity in adulthood and its consequences for life expectancy: a life-table analysis. *Ann Intern Med* 2003;138:24-32.
- Petros JA, Baumann AK, Ruiz-Pesini E, Amin MB, Sun CQ, Hall J, Lim S, Issa MM, Flanders WD, Hosseini SH, Marshall FF, Wallace DC. mtADN mutations increase tumorigenicity in prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci* 2005;102:719-724.
- Permeth-Wey J, Ann Y, Tsai Y, Chen Z, Qu X, et al. Inherited variants in mitochondrial biogenesis genes may influence epithelial ovarian cancer risk. *Epidemiol Biomarkers Prev.* 2011; 20(6):1131-45.
- Phin W, Lin C, Chen M & L. Deane. 2016 Periprostatic fat: A risk factor for Prostate Cancer. 2016 *Urology* 98, 107-112.
- Pietiläinen KH, Naukkarinen J, Rissanen A, Saharinen J, Ellonen P, Keränen H, Suomalainen A, Götz A, Suortti T, Yki-Järvinen H, Oresic M, Kaprio J, Peltonen L. Global transcript profiles of fat in monozygotic twins discordant for BMI: pathways behind acquired obesity. *PLoS Med* 2008;5:e51.
- Pohjoismäki JL, Wanrooij S, Hyvärinen AK, Goffart S, Holt IJ, Spelbrink JN, Jacobs HT. Alterations to the expression level of mitochondrial transcription factor A, TFAM, modify the mode of mitochondrial DNA replication in cultured human cells. 2006. *Nucleic Acids Res.*;34(20):5815-28.
- Popanda O, Seibold P, Nikolov I, Oakes CC, Burwinkel B, Hausmann S, et al. GermLine variants of base excision repair genes and breast cancer: a polymorphism in DNA polymerase-gamma modifies gene expression and breast cancer risk. *Int J Cancer* 2013;132:55–62.
- Polyak K, Li Y, Zhu H, Lengauer C, Willson JK, Markowitz SD, Trush MA, Kinzler KW, Vogelstein B. Somatic mutations of the mitochondrial genome in human colorectal tumours. *Nat Genet* 1998; 20:291-293.
- Prins GS, Korach KS. The role of estrogens and estrogen receptors in normal prostate growth and disease. *Steroids* 2008;73:233-244.
- Qu L, He B, Pan Y, Xu Y, Zhu C, Tang Z, Bao Q, Tian F & S Wang. Association between polymorphisms in RAPGEF1, TP53, NRF1 and type 2 diabetes in Chinese Han population. *diabetes research and clinical practice.* 2011; 91:171–176
- Quinn M, Babb P. Patterns and trends in prostate cancer incidence, survival, prevalence and mortality. Part I: international comparisons. *BJU Int* 2002 Jul;90(2):162-73.
- Reisin E, Jack AV. Obesity and hypertension: mechanisms, cardio-renal consequences, and therapeutic approaches. *Med Clin North Am* 2009;93:733-751.
- Ribeiro, R., Monteiro, C., Cunha, V. et al., Human periprostatic adipose tissue promotes prostate cancer aggressiveness in vitro. *J Exp Clin Cancer Res.* 2012;31:32
- Riemer J, Bulleid N, Herrmann JM. Disulfide formation in the ER and mitochondria: two solutions to a common process. *Science* 2009; 324:1284–1287.
- Rodriguez C, Freedland SJ, Deka A, Jacobs EJ, McCullough ML, Patel AV, Thun MJ, Calle EE. Body Mass Index, Weight Change, and Risk of Prostate Cancer in the Cancer Prevention Study II Nutrition Cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16:63–69.

Ropp PA, Copeland WC. Cloning and characterization of the human mitochondrial ADN polymerase, ADN polymerase gamma. *Genomics* 1996; 36:449-458.

Rovio AT, Marchington DR, Donat S, Schuppe HC, Abel J, Fritsche E, Elliott DJ, Laippala P, Ahola AL, McNay D, Harrison RF, Hughes B, Barrett T, Bailey DM, Mehmet D, Jequier AM, Hargreave TB, Kao SH, Cummins JM, Barton DE, Cooke HJ, Wei YH, Wichmann L, Poulton J, Jacobs HT. Mutations at the mitochondrial ADN polymerase (POLG) locus associated with male infertility. *Nat Genet* 2001; 29:261-262.

Rovio AT, Abel J, Ahola AL, Andres AM, Bertranpetit J, Blancher A, Bontrop RE, Chemnick LG, Cooke HJ, Cummins JM, Davis HA, Elliott DJ, Fritsche E, Hargreave TB, Hoffman SM, Jequier AM, Kao SH, Kim HS, Marchington DR, Mehmet D, Otting N, Poulton J, Ryder OA, Schuppe HC, Takenaka O, Wei YH, Wichmann L, Jacobs HT. A prevalent POLG CAG microsatellite length allele in humans and African great apes. *Mamm Genome* 2004;15:492-502.

Ryan JG. Cost and policy implications from the increasing prevalence of obesity and diabetes mellitus. *Gend Med* 2009;6 Suppl 1:86-108.

Scarpulla RC. Nuclear activators and coactivators in mammalian mitochondrial biogenesis. *Biochim Biophys Acta* 2002;1576:1-14.

Scarpulla RC. Metabolic control of mitochondrial biogenesis through the PGC-1 family regulatory network. *Biochim Biophys Acta* 2011;1813:1269-1278.

Schaid DJ. The complex genetic epidemiology of prostate cancer. *Hum Mol Genet* 2004;13 Special:R103-121.

Schwarz D, Kisselev P, Schunck W-H, Chernogolov A, Boidol W, Cascorbi I, Roots I. 2000. Allelic variants of human cytochrome P450 1A1 (CYP1A1): effect of T461N and I462V substitutions on steroid hydroxylase specificity. *Pharmacogenetics* 10:519-530.

Schelbert KB. Comorbidities of obesity. *Prim Care* 2009;36:271-285.

Schmid H-P, Engeler DS, Pummer K, Schmitz-Dräger B J. Prevention of prostate cancer: more questions than data. *Cancer Prevention. Recent Results Cancer Res* 2007;174:101-7.

Semple RK, Crowley VC, Sewter CP, Laudes M, Christodoulides C, Considine RV, Vidal-Puig A, O'Rahilly S. Expression of the thermogenic nuclear hormone receptor coactivator PGC-1<sub>α</sub> is reduced in the adipose tissue of morbidly obese subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004;28:176-179.

Senoo-Matsuda N, Yasuda K, Tsuda M, Ohkubo T, Yoshimura S, Nakazawa H, Hartman PS, Ishii N. A defect in the cytochrome b large subunit in complex I causes both superoxide anion overproduction and abnormal energy metabolism in *C. elegans*. *J Biol Chem* 2001;276:41553-41558.

Sher DJ, Oh WK, Jacobus S, et al. Relationship between serum adiponectin and prostate cancer grade. *Prostate* 2008;68:1592-1598.

Shutt TE, Shadel GS. A compendium of human mitochondrial gene expression machinery with links to disease. *Environ Mol Mutagen* 2010;51:360-379.

Sikka S, Chen L, Sethi G and A.P. Kumar, Targeting PPAR<sub>γ</sub> signaling cascade for the prevention and treatment of prostate cancer, *PPAR Research* 2012 (2012), 968040.

Singh KK. Mitochondrial dysfunction is a common phenotype in aging and cancer. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1019:260-264.

Slager SL, Schaid DJ. Case-control studies of genetic markers: power and sample size approximations for Armitage's test for trend. *Hum Hered* 2001;52:149-53.

Song Y, Oda Y, Hori M, Kuroiwa K, Ono M, Hosoi F, Basaki Y, Tokunaga S, Kuwano M, Naito S, Tsuneyoshi M. N-myc downstream regulated gene-1/CaP43 may play an important role in malignant progression of prostate cancer, in its close association with E-cadherin. *Hum Pathol* 2010;41:214-222.

Spelbrink JN, Toivonen JM, Hakkaart GA, Kurkela JM, Cooper HM, Lehtinen SK, Lecrenier N, Back JW, Speijer D, Foury F, Jacobs HT. In vivo functional analysis of the human mitochondrial ADN polymerase POLG expressed in cultured human cells. *J Biol Chem* 2000;275: 24818-24828.

Spigelman SS, McNeal JE, Freiha FS, Stamey TA. Rectal examination in volume determination of carcinoma of the prostate: clinical and anatomical correlations. *J Urol* 1986 Dec;136(6):1228-30.

Su LJ, Arab L, Steck SE, Fontham ET, Schroeder JC, Bensen JT, Mohler JL. Obesity and Prostate Cancer Aggressiveness among African and Caucasian Americans in a Population-Based Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011;20:844-853.

Taylor RW, Turnbull DM. Mitochondrial ADN mutations in human disease. *Nat Rev Genet* 2005;6:389-402.

Swett RJ, Elias A, Miller JA, Dyson GE, Andres Cisneros G. Hypothesis driven single nucleotide polymorphism search (HyDn-SNP-S). *DNA Repair (Amst)* 2013;12:733-40.

Takamatsu C, Umeda S, Ohsato T, Ohno T, Abe Y, Fukuoh A, Shinagawa H, Hamasaki N, DKang, Regulation of mitochondrial D-loops by transcription factor A and single-stranded ADN-binding protein, *EMBO Rep.* 3 (2002) 451-456.

Taherzadeh-Fard E, Saft C, Akkad DA, Wiczorek S, Haghikia A, Chan A, et al. PGC-1alpha downstream transcription factors NRF-1 and TFAM are genetic modifiers of Huntington disease. *Mol Neurodegener* 2011;6:32.

Tan WP, Lin C, Chen M, Deane LA. Periprostatic Fat: A Risk Factor for Prostate Cancer? 2016. *Urology*;98:107-112

Taniguchi H, Okamuro S, Koji M, Waku T, Kubo K, Hatanaka A, Sun Y, Masudul Azad Chowdhury AM, Fukamizu A y A Kobayashi. Possible roles of the transcription factor Nrf1 (NFE2L1) in neural homeostasis by regulating the gene expression of deubiquitinating enzymes. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 484 (2017) 176e183

Thompson I, Thrasher JB, Aus G, Burnett AL, Canby-Hagino ED, Cookson MS, D'Amico AV, Dmochowski RR, Eton DT, Forman JD, Goldenberg SL, Hernandez J, Higano CS, Kraus SR, Moul JW, Tangen CM. AUA Prostate Cancer Clinical Guideline Update Panel. Guideline for the management of clinically localized prostate cancer: 2007 update. *J Urol* 2007;177:2106-2131.

Tuena de Gómez-Poyou M, Concepción José-Nuñez. The mitochondria in the cellular universe center. *Mensaje Bioquímico*, 2011; Vol. XXXVI, 65 – 81

Uchiumi T & D. Kang. The role of TFAM associated proteins in mitochondrial RNA metabolism. *Biochemical et Biophysica Acta* 2012; 1820: 565-570.

Van Roermund JG, Witjes JA. The impact of obesity on prostate cancer. *World J Urol* 2007; 25: 491-497.

Van B Che H, Metzger S, Portal E, Deyle C, Riess O & H Nguyen. Localization of sequence variations in PGC 1a influence their modifying effect in Huntington disease. *Molecular Neurodegeneration* 2011; 6:1.

Vernochet C, Mourier A, Bezy O, Macotela Y, Boucher J, Rardin M, An D, Lee K, Ilkayeva O, Zingaretti C, Emanuelli B, Smyth G, Cinti S, Newgard C, Gibson B, Karsson N & R Kahn. Adipose-Specific Deletion of TFAM Increases Mitochondrial Oxidation and Protects Mice against Obesity and Insulin Resistance. *Cell Metabolism* 2012 16, 765–776

Von Hafe, P., Pina, F., Pérez, A., Tavares, M., Barros, H. Visceral fat accumulation as a risk factor for prostate cancer. *Obes Res.* 2004;12:1930–1935.

Wallace DC, Lott MT. In: Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics. Eds. Rimoin DL, Connor JM, Pyeritz RE et al. Churchill Livingstone, London. 2002:299-409.

Walter B, Valera V, Pinto P, M Merino. Comprehensive microRNA Profiling of Prostate Cancer. *Journal of Cancer* 2013, Vol. 4: 350

Wang L, BamLet WR, de Andrade M, Boardman LA, Cunningham JM, Thibodeau SN, et al. Mitochondrial genetic polymorphisms and pancreatic cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16:1455–9.

Wang L, McDonnell SK, Hebring SJ, Cunningham JM, St Sauver J, Cerhan JR, et al. Polymorphisms in mitochondrial genes and prostate cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008;17:3558–66.

Wang, Y., Liu, V.W.S., Xue, W.C., Tsang, P.C.K., Cheung, A.N.Y., Ngan, H.Y.S. The increase of mitochondrial ADN content in endometrial adenocarcinoma cells: a quantitative study using laser-CaPtured microdissected tissues. 2005. *Gynecol. Oncol.* 98, 104–110.

Wang, Y., Liu, V.W.S., Xue, W.C., Cheung, A.N.Y., Ngan, H.Y.S. Association of decreased mitochondrial ADN content with ovarian cancer progression. 2006. *Br. J. Cancer* 95, 1087–1091.

Weyburne E, Wilkins O, Sha Z, Williams DA, Pletnev AA, de Bruin G Overkleeft HS, Goldberg AL, Cole MC, y AF. Kisselev. Inhibition of the Proteasome b2 Site Sensitizes Triple-Negative Breast Cancer Cells to b5 Inhibitors and Suppresses Nrf1 Activation, *Cell Chemical Biology* (2017),24 218-230

Werny DM, Thompson T, Saraiya M, Freedman D, Kottiri BJ, German RR, Wener M. Obesity is negatively associated with prostate-specific antigen in U.S. men, 2001-2004. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16:70-76.

Wieting JM. Cause and effect in childhood obesity: solutions for a national epidemic. *J Am Osteopath Assoc* 2008;108:545-52.

World Cancer Report 2008. World Health Organization. En: Boyle P, Levin B, editors. Lyon: WHO-IARC Publ; 2008.

World Cancer Research Fund, American Institute for Cancer Research. Food, nutrition and the prevention of cancer: a global perspective. Washington, DC, American Institute for Cancer Research, 1997.

Wright ME, Chang SC, Schatzkin A, Albanes D, Kipnis V, Mouw T, Hurwitz P, Hollenbeck A, Leitzmann MF. Prospective study of adiposity and weight change in relation to prostate cancer incidence and mortality. *Cancer* 2007;109:675–684.

Wu F, von Eckardstein A. Androgens and coronary artery disease. *Endocr Rev* 2003;24:183-217.

Wu CW, Yin PH, Hung WY, Li AF, Li SH, Chi CW, et al. Mitochondrial DNA mutations and mitochondrial DNA depletion in gastric cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 2005;44:19–28.

[www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/)

[www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/default.asp?c=269&e=](http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/default.asp?c=269&e=)

[www.inegi.org.mx/Sistemas/temasV2/Default.aspx?s=est&c=17484](http://www.inegi.org.mx/Sistemas/temasV2/Default.aspx?s=est&c=17484)

Wyatt SB, Winters KP, Dubbert PM. Overweight and obesity: prevalence, consequences, and causes of a growing public health problem. *Am J Med Sci.* 2006;331:166-174.

Xu L, Hu Y, Chen B, Tang W, Han X, Yu H, et al. Mitochondrial polymorphisms as risk factors for endometrial cancer in southwest China. *Int J Gynecol Cancer* 2006;16:1661-7.

Xing J, Chen M, Wood CG, Lin J, Spitz MR, Ma J, et al. Mitochondrial DNA content: its genetic heritability and association with renal cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2008;100: 1104-12.

Yager JD. Endogenous estrogens as carcinogens through metabolic activation. *J Natl Cancer Inst* 2000; Monographs: 67-73.

Zeegers MP, Jellema A, Ostrer H. Empiric risk of prostate carcinoma for relatives of patients with prostate carcinoma: a metaanalysis. *Cancer* 2003; 97:1894-1903.

Yin, P.H., Lee, H.C., Chau, G.Y., Wu, Y.T., Li, S.H., Lui, W.Y., Wei, Y.H., Liu, T.Y., Chi, C.W. Alteration of the copy number and deletion of mitochondrial ADN in human hepatocellular carcinoma. 2004. *Br. J. Cancer* 90, 2390-2396.

Yu, M., Zhou, Y., Shi, Y., Ning, L., Yang, Y., Wei, X., Zhang, N., Hao, X., Niu, R. Reduced mitochondrial ADN copy number is correlated with tumor progression and prognosis in chinese breast cancer patients. 2007. *IUBMB Life* 59, 450-457.

YuM, ZhouY, ShiY, NingL, YangY, WeiX, et al. Reduced mitochondrial DNA copy number is correlated with tumor progression and prognosis in Chinese breast cancer patients. *IUBMB Life* 2007;59:450-7.

Yvert T, Santiago C, Santana-Sosa E, Verde Z, Gómez-Gallego F, López-Mojares LM, Pérez M, Garatachea N, Lucia A. Physical-capacity-related genetic polymorphisms in children with cystic fibrosis. *Pediatr Exerc Sci.* 2015 Feb;27(1):102-12

Zeegers M, Kiemeny L, Nieder A, Ostrer H. How strong is the association between CAG and GGN repeat length polymorphisms in the androgen receptor gene and prostate cancer risk? *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2004;13:1765-1771.

Zeigler-Johnson C, Weber A, Spangler E, Panossian S, Rebbeck TR, Malkowicz SB. Relationship of obesity, androgen receptor genotypes and biochemical failure after radical prostatectomy. *Prostate* 2012;72:984-990.

Zahng Q, Sun L, Yang Z, Zhang G & R. Huo. Influence of adipocytokines in periprostatic adipose tissue on prostate cancer aggressiveness. *Cytokine* 2016. 85. 148-156.

Zhang Q, Yu JT, Wang P, Chen W, Wu ZC, Jiang H, et al. Mitochondrial transcription factor A (TFAM) polymorphisms and risk of late-onset Alzheimer's disease in Han Chinese. *Brain Res* 2011;1368:355-60.

*"... Nadie dice completamente en serio lo que dice. Incluso cuando la gente cree que está diciendo la verdad, siempre esconde algo tras sus palabras..."*

Mazer Rackham

## Anexos

**Anexo 1 Artículo requisito**

Association of a TFAM haplotype with aggressive prostate cancer in overweight or obese Mexican Mestizo men



Original article

# Association of a TFAM haplotype with aggressive prostate cancer in overweight or obese Mexican Mestizo men

Jesús Benítez Granados, M.D., M.Sc.<sup>a</sup>, Juan Pablo Méndez, M.D., M.Sc.<sup>a,b</sup>,  
Guillermo Feria-Bernal, M.D.<sup>c</sup>, Eduardo García-García, M.D.<sup>b</sup>, María Elena Tejada, M.D.<sup>a</sup>,  
David Rojano-Mejía, M.D., Ph.D.<sup>d</sup>, André Tapia, M.D.<sup>a</sup>, Patricia Canto, M.D., Ph.D.<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup> Unidad de Investigación en Obesidad, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., Mexico

<sup>b</sup> Clínica de Obesidad, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán,” México D.F., Mexico

<sup>c</sup> Departamento de Urología, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán,” México D.F., Mexico

<sup>d</sup> Unidad de Medicina Física y Rehabilitación Centro, UMAE, Hospital de Traumatología y Ortopedia “Lomas Verdes,” Instituto Mexicano del Seguro Social, México D.F., Mexico

Received 20 April 2016; received in revised form 10 October 2016; accepted 11 October 2016

## Abstract

**Background:** Mitochondrial dysfunction has been associated with the development of cancer and obesity, being prostate cancer more aggressive in obese men. It has been suggested that the mitochondrial transcription factor A (TFAM) plays a central role in these events.

**Objective:** The aim of this study was to analyze the possible association of 3 *TFAM* polymorphisms, as well as their haplotypes, with the development of aggressive prostate cancer in overweight or obese Mexican Mestizo men.

**Subjects and methods:** A total of 257 unrelated men with histologically confirmed prostate cancer, of Mexican Mestizo ethnic origin, were included. Body mass index was determined and the degree of prostate cancer aggressiveness was demarcated by the D’Amico classification. DNA was obtained from blood leukocytes. The rs1937, rs1049432, and rs11006132, as well as their haplotypes, were studied by real-time polymerase chain reaction allelic discrimination. Deviations from Hardy-Weinberg equilibrium were tested. Pairwise linkage disequilibrium between single nucleotide polymorphisms was calculated; haplotype analysis was performed.

**Results:** A higher risk (D’Amico classification) was documented in 56 patients (21.8%). We did not find a significant association among those polymorphisms analyzed; however, one haplotype was significantly associated with cancer aggressiveness.

**Conclusions:** To our knowledge, this constitutes the first study regarding the relationship of 3 *TFAM* polymorphisms, as well as their haplotypes, and the aggressiveness of prostate cancer in overweight or obese men; the most frequent haplotype was associated with cancer aggressiveness. © 2017 Elsevier Inc. All rights reserved.

**Keywords:** Prostate cancer; Aggressiveness; Overweight; Obesity; Polymorphisms; *TFAM*

This work was supported by fund supplied by the División de Investigación, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico, and by the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Apoyo al Fortalecimiento y Desarrollo de la Infraestructura Científica y Tecnológica), Mexico; Grant no. 250786. Jesús Benítez Granados was supported by a Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), Mexico, fellowship award. This work was submitted in partial fulfillment of the requirements for the Ph.D. degree of Jesús Benítez Granados at the Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico. María Elena Tejada and André Tapia were supported by a Sistema Nacional de Investigadores (CONACyT), Mexico, fellowship award.

\* Corresponding author. Tel.: þ52-55-5487-0900, ext: 5068.

E-mail address: ipcanto@yahoo.com.mx (P. Canto).

## 1. Introduction

To date, prostate cancer constitutes a global public health problem. It is the most frequently diagnosed malignancy and the third leading cause of cancer-related death among men worldwide [1]. In Mexico, it is the second cause of cancer deaths, with a mortality rate during 2013 of 10.3 deaths per 100,000 men [2].

At present, the etiology of prostate cancer has not been determined and except for age and family history, few risk factors have been identified [3]. This entity is considered a

multifactorial disease, where genetic and environmental factors might contribute to its development [4,5].

Several studies have suggested that a higher body mass index (BMI), could be associated with an increased risk of developing an aggressive form of prostate cancer, consequently increasing its mortality rate [6–9]. Besides, it has been proposed that obesity increases the risk of biochemical recurrence after primary treatment [10]. These are relevant findings, as obesity has reached epidemic proportions worldwide, being Mexico the second nation with the biggest obesity prevalence (just behind the United States of America); the last National Survey demonstrated that obesity prevalence has increased from 21.5% in 1993 to 32.4% in 2012, whereas overweight prevalence was 49.8% in men aged 60 to 69 years [11].

Mitochondrial dysfunction has been associated with the development of obesity and cancer [12,13]. It is well known that mitochondrial biogenesis constitutes an intricate process, where the expression and assembly of various proteins are encoded by nuclear (i.e., mitochondrial transcription factor A [TFAM]) and mitochondrial genomes [14,15]. A histone-like role in mitochondria is played by the TFAM, because of the fact it is closely associated with mitochondrial DNA (mtDNA), as a main component of the nucleoid [16]. The mtDNA transcription and replication depend on TFAM, which is essential for the maintenance and biogenesis of mitochondrial DNA in mammals [17]. Furthermore, TFAM participates in lipogenesis through its role in mitochondrial biogenesis [18]. In addition, TFAM plays an important role in carcinogenesis because of its involvement in cell proliferation and differentiation, interfering with apoptosis and angiogenesis [19,20]. In addition, *TFAM* polymorphisms or mutations or both have been reported in different cancers and in neurodegenerative disorders [21–23].

Owing to the fact that TFAM is important for mitochondrial biogenesis and it plays a role in obesity and that prostate cancer has been reported to be more aggressive in obese men, we investigated if *TFAM* polymorphisms were associated with aggressive prostate cancer in overweight or obese Mexican Mestizo men.

## 2. Subjects and methods

### 2.1. Subjects

The study was approved by the Human Research Committees of the participating institutions; informed written consent was obtained from all men before participation. A total of 257 unrelated overweight or obese men, with histologically confirmed prostate cancer, of Mexican Mestizo ethnic origin who visited our outpatient clinic between March 2012 and November 2015 were included. Only men born in Mexico, who have a Spanish-derived last name and Mexican ancestors back to the third generation, were considered Mexican Mestizo. Exclusion criteria

included men with a family history of prostate cancer as well as if they had presented other previous neoplasias.

Body height and weight were measured at baseline examination, with the subject in a standing position, wearing a hospital gown and without shoes. Height and weight were used to calculate BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ). Individuals were categorized as being overweight if BMI was in the range of 25.0 to 29.9  $\text{kg}/\text{m}^2$ , and being obese if BMI was  $\geq 30.0 \text{ kg}/\text{m}^2$ .

Patients were classified according to the classification proposed by D'Amico into low, intermediate, and high risk, based on prostate-specific antigen, Gleason grade, and clinical stage [24].

### 2.2. Methods

Peripheral blood samples were obtained from all individuals and genomic DNA was purified using the salting out procedure described by Miller et al. [25]. *TFAM* polymorphisms studied were rs1937, rs1049432, and rs11006132.

Real-time polymerase chain reaction (PCR) allelic discrimination TaqMan assay (AB) was used for genotyping analysis. All PCR reactions contained 10 ng of DNA, 5.0 ml TaqMan Universal Master Mix (AB) (2X), 0.25 ml primers and probes (10X), as well as water, for a final volume of 10 ml, including the appropriate negative controls in all assays. For all polymorphisms, the assay used probes and primers designed by assay-on-demand services from Applied Biosystem: for rs1937, assay ID: C\_8975662\_10; for rs1049432, assay ID: C\_8815067\_10; for rs11006132, assay ID: C\_31915742\_10, all single nucleotide polymorphisms (SNPs) of *TFAM*.

Real-time PCR was performed on a LightCycler 480 Instrument (Roche Diagnostics Ltd., Switzerland). Conditions for all polymorphisms were 95°C for 10 minutes and 40 cycles of amplification (95°C for 15 s and 60°C for 1.30 min). For each cycle, the software determined the fluorescent signal from the VIC- or FAM-labeled probe. Allelic discrimination was performed using specific primers and probes for each allele. A 5% random sample from each genotype was independently verified twice for quality control.

### 2.3. Statistical analysis

This is a cross-sectional and retrospective study. Data from the overall patient population were summarized as absolute and relative frequencies for qualitative variables. Allele frequency differences between groups were assessed by  $\chi^2$  tests.  $\chi^2$  was used to test for associations between genotypes, haplotypes, and aggressive prostate cancer (according to D'Amico classification). Statistical analyses were performed using SPSS v.16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL); a  $P < 0.05$  was accepted as statistically significant.

Table 1  
General characteristics of 257 Mexican Mestizo men with prostate cancer

Variable	N (%)
Age, y	
o60	101 (39.3)
Z60	156 (60.7)
PSA	
o6	65 (25.3)
Z6	192 (74.7)
Gleason	
o7	110 (42.8)
Z7	147 (57.2)
Tumor stage	
T1	139 (54.1)
T2	102 (39.7)
T3	9 (3.5)
T4	7 (2.7)
D'Amico classification	
Low risk	73 (28.4%)
Intermediate risk	128 (49.8%)
High risk	56 (21.8%)

PSA ¼ prostate-specific antigen.

Deviations from Hardy-Weinberg equilibrium were tested using the  $\chi^2$  test. Pairwise linkage disequilibrium ( $D^0$  and their 95% CIs) estimations between polymorphisms and haplotype reconstruction were performed with HaploView version 4:1, and haplotypes with a frequency  $\leq 0.05$  were excluded (Broad Institute, Massachusetts Institute of Technology and Harvard University, Cambridge, MA).

### 3. Results

A total of 257 overweight or obese men with prostate adenocarcinoma were included. General characteristics of all men with prostate cancer are shown in Table 1. Ages ranged from 55 to 78 years. According to the World

Health Organization criteria, among the 257 men, 187 (72.8%) were overweight and 70 (27.2%) were obese. In all, 192 (74.7%) patients had prostate-specific antigen concentrations  $\geq 6$  ng/ml at the moment of the diagnosis. Regarding cancer aggressiveness, 73 (28.4%) had a lower risk, 128 (49.8%) had an intermediate risk, and 56 (21.8%) had a higher risk (Table 1).

A Hardy-Weinberg equilibrium test was performed for the polymorphisms, showing that distribution of the observed genotypes did not differ from what was expected in men with prostate cancer and who were overweight or obese ( $P = 0.05$ ). Genotype and allele frequencies of rs1937, rs1049432, and rs11006132 of TFAM, according to the D'Amico classification, are shown in Table 2. Genotypes and alleles from all polymorphisms, of the analyzed genes, showed no significant differences under any model tested (recessive and dominant models).

When we analyzed linkage disequilibrium (LD) among the 3 SNPs of TFAM, we observed that rs1937 with rs1049432 presented  $D^0 = 0.899$  and 95% CI: 0.76 to 0.96. For rs1937 and rs11006132, we found  $D^0 = 0.965$  and 95% CI: 0.89 to 1.0; and for rs1049432 with rs11006132, we found  $D^0 = 0.79$  and 95% CI: 0.64 to 0.89.

All the 3 polymorphisms of the TFAM gene were used to construct the haplotypes (Table 3), being the most frequent the one formed by the 3 ancestral alleles: A-G-G (81.4%). Besides, we observed a significant association between the A-G-G haplotype and the aggressiveness of prostate cancer, when comparing patients who had a lower risk vs. those patients who had intermediate- or higher risk (Table 3).

### 4. Discussion

Obesity constitutes an important risk factor for the development of aggressive prostate cancer and cancer-related

Table 2  
Genotype distribution of 3 polymorphisms of the TFAM gene in overweight or obese Mexican Mestizo men with prostate cancer according to the D'Amico classification

dbSNP Reference number	Genotype	Low risk (N ¼ 73)	Intermediate risk (N ¼ 128)	High risk (N ¼ 56)	P value
rs1937 of TFAM	G/G	56 (76.7%)	110 (85.9%)	48 (85.7%)	0.207
	G/C	17 (23.3%)	18 (14.1%)	8 (14.3%)	
	C/C	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
Allele frequencies	G	88.3%	93.0%	92.9%	0.063
	C	11.7%	7.0%	7.1%	
	G/G	46 (63.0%)	93 (72.7%)	47 (83.9%)	
rs1049432 of TFAM	G/T	24 (32.9%)	34 (26.5%)	8 (14.3%)	0.126
	T/T	3 (4.1%)	1 (0.8%)	1 (1.8%)	
	G	79.4%	86.0%	91.1%	
Allele frequencies	T	20.6%	14.0%	8.9%	0.126
	A/A	41 (56.2%)	88 (68.8%)	41 (73.2%)	
	A/G	29 (39.7%)	37 (28.9%)	13 (23.2%)	
rs11006132 of TFAM	G/G	3 (4.1%)	3 (2.3%)	2 (3.6%)	0.126
	A	76.0%	83.2%	84.8%	
	G	24.0%	16.8%	15.2%	

Table 3

Frequencies of the different haplotypes of the *TFAM* gene in overweight or obese Mexican Mestizo men with prostate cancer grouped by the D'Amico classification

Haplotypes of <i>TFAM</i>	Low risk, %	Intermediate/higher risk, %	<i>P</i> value
<i>A-G-G</i>	75.6	83.5	0.04
<i>G-C-T</i>	10.3	6.3	0.11
<i>G-G-T</i>	9.5	5.9	0.15
<i>G-G-G</i>	1.7	2.9	0.43

The first allele of the haplotype corresponds to rs11006132; the second to rs1937, and the third to rs1049432.

mortality [6,8,10]. Taking into consideration that prostate cancer presents a high genetic predisposition and obesity has been linked to the development of aggressive forms of this cancer, we considered it was important to establish the association of genetic variants, in a specific population, because genomic variation is greater when compared across ethnicities. Mexican Mestizo population is constituted by an admixture of Europeans and Africans with native Indian individuals [26]; a proportion of 56% Amerindian genes, 40% white genes, and 4% African genes [27]. Therefore, in the present study, we analyzed the association among 3 *TFAM* polymorphisms (rs1937, rs1049432, and rs11006132), as well as their haplotypes, with the aggressiveness of prostate cancer in overweight or obese Mexican Mestizo men.

*TFAM* is a member of a high-mobility-group protein family that functions as a master regulator, maintaining the mass and structure of mtDNA [28] and it binds mtDNA to regulate both mitochondrial transcription initiation and mtDNA copy number. The abundance of mtDNA generally reflects *TFAM* protein levels [29]. It is essential for regulating mitochondria-encoded gene transcription, mtDNA stability, and mtDNA replication [30].

Likewise, *TFAM* knockdown prevents adipogenic differentiation of human mesenchymal stem cells [31] and it also regulates the differentiation of human subcutaneous adipocytes in cell lines [32]. In addition, the expression of this nuclear factor could affect the overall survival of some types of cancer [20,33].

Several *TFAM* polymorphisms (i.e., rs1937, rs1049432, and rs11006132) have been studied in several neurodegenerative diseases, extreme longevity, endurance capacity in response to training, and in oral cancer [21,23,34–36]. However, to our knowledge, there are no reports of genetic studies that analyze these polymorphisms or their haplotypes in the context of men with prostate cancer, its aggressiveness, and overweight or obesity. It has been proposed that haplotypes, consisting of polymorphisms that may or may not be functional, could provide a better tool than a single marker variation because of the ancestral-established haplotype structure, which may define functional units of genes. Besides, the haplotype could modify the structure or interaction of the protein as well as its function [39]. For that reason, we analyzed the relation of haplotypes with aggressive prostate cancer in overweight or obese men. According

to our analysis, we found that the *A-G-G* haplotype was significantly associated with an intermediate or higher risk of prostate cancer; this is interesting because this haplotypes is the most frequent in our population. Likewise, when we analyzed the LD among these 3 SNPs, we observed that they are inherited as a block, because all the 3 polymorphisms presented a strong LD.

On the contrary, Günther et al. [21] analyzed several genetic variants including rs1937 of *TFAM* in white individuals with Alzheimer disease and in controls without dementia finding that this SNP was associated with Alzheimer in women but not in men. Besides, Zhang et al. [37], in a study in Han Chinese individuals with Alzheimer disease, found an association between this polymorphism and the late-onset Alzheimer disease. On the contrary, Palacín et al. [38] conducted an association study in white individuals with early-onset myocardial infarction, which included rs1937; these authors did not observe any association. Santiago et al. [35] conducted a case-control study in which they analyzed rs1937 and extreme longevity finding a marginal association related to centenarians.

Owing to the fact that rs1937 of *TFAM* is located in exon 1 and that it changes the existing amino acid (S12T) in the mitochondrial signal peptide sequence, determining a possible relevant functional significance, we analyzed this SNP in our population with prostate cancer. We found that the *GG* genotype and *G* allele are the most frequent (83.3% and 91.7%, respectively). These findings are in line with those described in white population [21,35,38] and Han Chinese individuals [37]; nevertheless, we did not observe an association of this polymorphism with aggressive prostate cancer.

Remarkably, we observed that when analyzing men with either aggressive or nonaggressive prostate cancer, our population did not present the *CC* genotype (0%) that differs in European populations (0.4% for German and 0.8% for Spanish) [21,38] and in Han Chinese individuals (2.3%) [37]. It has been suggested that the *CC* genotype might play a protective role [37], contrasting to the *GG* genotype which is considered a risk genotype [21]. Together, these results confirm that those differences in the frequency of alleles and genotypes described in our population, in relation to other ethnic groups, may be because of our genetic background, as it has been documented that the genetic structure of our population has a predominant Amerindian ancestry [26].

Moreover, Taherzadeh-Fard et al. [23] investigated in German individuals, with Huntington disease, if the age of onset of this illness was associated with polymorphisms in several genes. In their study, they included rs1049432 and rs11006132 finding that both were associated with this condition. Similarly, Datta et al. [36] performed an association study between the risk of oral leukoplakia and cancer development and polymorphisms at genes responsible for mtDNA synthesis and transcription. These authors did not find any association between rs11006132 of *TFAM* and oral cancer.

Regarding our results, we did not find any association of rs1049432 or rs11006132 and prostate cancer aggressiveness; however, we observed an association of the GG genotype of rs1049432 ( $P = 0.063$ ), with a higher risk of aggressiveness of this cancer, but the statistical power was not enough to reach statistical significance. In relation of the frequencies of the alleles and genotypes of both polymorphisms were similar to those described in HAPMAP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>) for whites, 2 populations of Asian origin (Han Chinese and Japanese), and another with an American ethnic origin.

This study has some limitations. The first one is that the design does not allow us to determine a causal relationship between *TFAM* polymorphisms and prostate cancer aggressiveness in overweight or obese individuals. Another limitation was that there was not enough statistical power to detect the effect regarding prostate cancer aggressiveness.

## 5. Conclusions

To our knowledge, this is the first study establishing the relationship of 3 *TFAM* polymorphisms (rs1937, rs1049432, and rs11006132) as well as their haplotypes regarding the aggressiveness of prostate cancer in overweight or obese men. In our population, analysis of the *TFAM* haplotypes constitutes a better genetic marker for prostate cancer aggressiveness in overweight or obese subjects. Furthermore, we cannot compare our data with the results of other studies because haplotypes were not investigated; for that reason, it would be important to conduct replication studies in larger cohorts and in different populations worldwide, to determine whether haplotype analysis related to prostate cancer aggressiveness are the same or vary depending on the studied populations.

Separately, these 3 SNPs of *TFAM* presented no association, which could be because of the fact there was not enough power to detect differences and avoid type II error or  $\beta$  error. Other possibility could be that those polymorphisms analyzed do not play a major role in the pathogenesis of the aggressiveness of this cancer or that other polymorphisms may be linked to an unidentified variant in our specific population. Future studies should explore this possibility.

## References

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin* 2015;65:5–29.
- [2] Available at: <http://www.medigraphic.com/pdfs/evidencia/eo-2015/eo151b.pdf>.
- [3] Vance TM, Wang Y, Su LJ, Fonham ET, Bensen JT, Mohler JL, et al. Sociodemographic, clinical, and lifestyle factors associated with prostate cancer aggressiveness in a population-based study. *FASEB J* 2013;27:1061–2.
- [4] Tan DS, Mok TS, Rebbeck TR. Cancer genomics: diversity and disparity across ethnicity and geography. *J Clin Oncol* 2016;34:91–101.
- [5] Labbé DP, Zadra G, Ebot EM, Mucci LA, Kantoff PW, Loda M, et al. Role of diet in prostate cancer: the epigenetic link. *Oncogene* 2015;34:4683–91.
- [6] Discacciati A, Orsini N, Wolk A. Body mass index and incidence of localized and advanced prostate cancer—a dose–response meta-analysis of prospective studies. *Ann Oncol* 2012;23:1665–71.
- [7] Allott EH, Masko EM, Freedland SJ. Obesity and prostate cancer: weighing the evidence. *Eur Urol* 2013;63:800–9.
- [8] Cantarutti A, Bonn SE, Adami HO, Grönberg H, Bellocco R, Bälter K. Body mass index and mortality in men with prostate cancer. *Prostate* 2015;75:1129–36.
- [9] Møller H, Roswall N, Van Hemelrijck M, Larsen SB, Cuzick J, Holmberg L, et al. Prostate cancer incidence, clinical stage and survival in relation to obesity: a prospective cohort study in Denmark. *Int J Cancer* 2015;136:1940–7.
- [10] Cao Y, Ma J. Body mass index, prostate cancer-specific mortality, and biochemical recurrence: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Prev Res (Phila)* 2011;4:486–501.
- [11] Encuesta Nacional de Salud y Nutrición Cuernavaca (ENSANUT). México: Instituto Nacional de Salud Pública, 2012.
- [12] Srinivasan S, Guha M, Avadhani NG. Mitochondrial respiratory defects promote the Warburg effect and cancer progression. *Mol Cell Oncol* 2015;3:e1085120.
- [13] Rong JX, Qiu Y, Hansen MK, Zhu L, Zhang V, Xie M, et al. Adipose mitochondrial biogenesis is suppressed in db/db and high-fat diet-fed mice and improved by rosiglitazone. *Diabetes* 2007;56:1751–1760.
- [14] Calvo S, Jain M, Xie X, Sheth SA, Chang B, Goldberger OA, et al. Systematic identification of human mitochondrial disease genes through integrative genomics. *Nat Genet* 2006;38:576–82.
- [15] Scarpulla RC. Transcriptional paradigms in mammalian mitochondrial biogenesis and function. *Physiol Rev* 2008;88:611–38.
- [16] Kanki T, Nakayama H, Sasaki N, Takio K, Alam TI, Hamasaki N, et al. Mitochondrial nucleoid and transcription factor A. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1011:61–8.
- [17] Larsson NG, Wang J, Wilhelmsson H, Oldfors A, Rustin P, Lewandoski M, et al. Mitochondrial transcription factor a is necessary for mtDNA maintenance and embryogenesis in mice. *Nat Genet* 1998;18:231–6.
- [18] Jiang Z, Kunej T, Michal JJ, Gaskins CT, Reeves JJ, Busboom JR, et al. Significant associations of the mitochondrial transcription factor A promoter polymorphisms with marbling and subcutaneous fat depth in Wagyu  $\times$  Limousin  $F_2$  crosses. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;334:516–23.
- [19] Yamauchi M, Nakayama Y, Minagawa N, Torigoe T, Shibao K, Yamaguchi K. Mitochondrial transcription factor A worsens the clinical course of patients with pancreatic cancer through inhibition of apoptosis of cancer cells. *Pancreas* 2014;43:405–10.
- [20] Xie D, Wu X, Lan L, Shanguan F, Lin X, Chen F, et al. Down-regulation of TFAM inhibits the tumorigenesis of non-small cell lung cancer by activating ROS-mediated JNK/p38MAPK signaling and reducing cellular bioenergetics. *Oncotarget* 2016;7:11609–24.
- [21] Günther C, von Hadeln K, Müller-Thomsen T, Alberici A, Binetti G, Hock C, et al. Possible association of mitochondrial transcription factor A (TFAM) genotype with sporadic Alzheimer disease. *Neurosci Lett* 2004;369:219–23.
- [22] Guo J, Zheng L, Liu W, Wang X, Wang Z, French AJ, et al. Frequent truncating mutation of TFAM induces mitochondrial DNA depletion and apoptotic resistance in microsatellite-unstable colorectal cancer. *Cancer Res* 2011;71:2978–87.
- [23] Taherzadeh-Fard E, Saft C, Akkad DA, Wiczorek S, Haghikia A, Chan A, et al. PGC-1alpha downstream transcription factors NRF-1 and TFAM are genetic modifiers of Huntington disease. *Mol Neurodegener* 2011;6:32.
- [24] D'Amico AV, Whittington R, Malkowicz SB, Schultz D, Blank K, Broderick GA, et al. Biochemical outcome after radical

- prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer. *J Am Med Assoc* 1998;280:969–74.
- [25] Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16:1215.
- [26] Lisker R, Ramirez E, Perez-Briceño R, Granados J, Babinsky V. Gene frequencies and admixture estimates in four Mexican urban centers. *Hum Biol* 1990;62:791–801.
- [27] Bekker-Mendez C, Yamamoto-Furusho JK, Vargas-Alarcón G, Ize-Ludlow D, Alcocer-Varela J, Granados J. Haplotype distribution of class II MHC genes in Mexican patients with systemic lupus erythematosus. *Scand J Rheumatol* 1998;27:373–6.
- [28] Ngo HB, Kaiser JT, Chan DC. The mitochondrial transcription and packaging factor Tfam imposes a U-turn on mitochondrial DNA. *Nat Struct Mol Biol* 2011;18:1290–6.
- [29] Campbell CT, Kolesar JE, Kaufman BA. Mitochondrial transcription factor A regulates mitochondrial transcription initiation, DNA packaging, and genome copy number. *Biochim Biophys Acta* 2012;1819:921–9.
- [30] Shi Y, Dierckx A, Wanrooij PH, Wanrooij S, Larsson NG, Wilhelmsson LM, et al. Mammalian transcription factor A is a core component of the mitochondrial transcription machinery. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109:16510–5.
- [31] Zhang Y, Marsboom G, Toth PT, Rehman J. Mitochondrial respiration regulates adipogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *PLoS One* 2013;8:e77077.
- [32] Fernández-Galilea M, Pérez-Matute P, Prieto-Hontoria PL, Houssier M, Burrell MA, Langin D, et al.  $\alpha$ -Lipoic acid treatment increases mitochondrial biogenesis and promotes beige adipose features in subcutaneous adipocytes from overweight/obese subjects. *Biochim Biophys Acta* 2015;1851:273–81.
- [33] Yoshida Y, Hasegawa J, Nezu R, Kim YK, Hirota M, Kawano K, et al. Clinical usefulness of mitochondrial transcription factor A expression as a predictive marker in colorectal cancer patients treated with FOLFOX. *Cancer Sci* 2011;102:578–82.
- [34] He Z, Hu Y, Feng L, Bao D, Xi Y, Wen L, et al. Relationship between TFAM gene polymorphisms and endurance capacity in response to training. *Int J Sports Med* 2007;28:1059–64.
- [35] Santiago C, Garatachea N, Yvert T, Rodríguez-Romo G, Santos-Lozano A, Fiuza-Luces C, et al. Mitochondriogenesis genes and extreme longevity. *Rejuvenation Res* 2013;16:67–73.
- [36] Datta S, Ray A, Roy R, Roy B. Association of DNA sequence variation in mitochondrial DNA polymerase with mitochondrial DNA synthesis and risk of oral cancer. *Gene* 2016;575:650–4.
- [37] Zhang Q, Yu JT, Wang P, Chen W, Wu ZC, Jiang H, et al. Mitochondrial transcription factor A (TFAM) polymorphisms and risk of late-onset Alzheimer's disease in Han Chinese. *Brain Res* 2011;1368:355–60.
- [38] Palacín M, Alvarez V, Martín M, Díaz M, Corao AI, Alonso B, et al. Mitochondrial DNA and TFAM gene variation in early-onset myocardial infarction: evidence for an association to haplogroup H. *Mitochondrion* 2011;11:176–81.
- [39] Schaid DJ. Evaluating associations of haplotypes with traits. *Genet Epidemiol* 2004;27:348–64.

# *PPARGC1A* and *ADIPOQ* polymorphisms are associated with aggressive prostate cancer in Mexican-Mestizo men with overweight or obesity

Patricia Canto<sup>a,b,\*</sup>, Jesús Benítez Granados<sup>a</sup>, Guillermo Feria-Bernal<sup>c</sup>,  
Ramón Mauricio Coral-Vázquez<sup>d,e</sup>, Eduardo García-García<sup>b</sup>, María Elena Tejeda<sup>a</sup>, André Tapia<sup>a</sup>,  
David Rojano-Mejía<sup>f</sup> and Juan Pablo Méndez<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup>Unidad de Investigación en Obesidad, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México, México

<sup>b</sup>Clínica de Obesidad, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”, México, México

<sup>c</sup>Departamento de Urología, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”, México, México

<sup>d</sup>Sección de Estudios de Posgrado e Investigación, Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional, México, México

<sup>e</sup>Subdirección de Enseñanza e Investigación, Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado, México, México

<sup>f</sup>Unidad de Medicina Física y Rehabilitación Centro, UMAE, Hospital de Traumatología y Ortopedia “Lomas Verdes”, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, México

## Abstract.

**BACKGROUND:** Obesity constitutes a risk factor for the development of aggressive forms of prostate cancer. It has been proposed, that prostate cancer has a genetic predisposition and that *PPARGC1A* and *ADIPOQ* polymorphisms play a role in the development of this condition.

**OBJECTIVE:** To analyse the association of two *PPARGC1A* and *ADIPOQ* polymorphisms as well as their haplotypes, with the development of aggressive prostate cancer in Mexican-Mestizo men with overweight or obesity.

**SUBJECTS AND METHODS:** Two hundred fifty seven men with prostate cancer of Mexican-Mestizo origin were included. Body mass index (BMI) was determined and the degree of prostate cancer aggressiveness by the D’Amico classification. DNA was obtained. Rs7665116 and rs2970870 of *PPARGC1A*, and rs266729 and rs1501299 of *ADIPOQ* were studied by real-time PCR allelic discrimination. Pairwise linkage disequilibrium, between single nucleotide polymorphisms was calculated and haplotype analysis was performed.

**RESULTS:** A higher-risk (D’Amico classification) was observed in 21.8% of patients. An association of cancer aggressiveness with rs2970870 of *PPARGC1A*, and rs501299 of *ADIPOQ*, as well as with one haplotype of *ADIPOQ* was documented.

**CONCLUSIONS:** This is the first study regarding the relationship of *PPARGC1A* and *ADIPOQ* polymorphisms, and the aggressiveness of prostate cancer in men with overweight or obesity.

Keywords: Aggressive prostate cancer, overweight, obesity, polymorphisms, *PPARGC1A*, *ADIPOQ*

\*Corresponding authors: Patricia Canto, Unidad de Investigación en Obesidad, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., México. Tel.: +5255 54870900 extension 5068; E-mail: ipcanto@yahoo.com.mx. Juan Pablo Méndez

Unidad de Investigación en Obesidad, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., México. Tel.: +5255 54870900 extension 5068; E-mail: jpmb@unam.mx.

## 1. Introduction

Prostate cancer is a global public health problem, being the second most common cancer in men [1]. In Mexico, mortality rate during 2013 was 10.3 deaths per 100,000 men [2].

It has been determined that prostate cancer is a multifactorial disease, where genetics and environmental factors play a key role in its development [3,4]. It has been previously suggested that a higher body mass index (BMI), could be associated with the possibility of developing a more aggressive form of prostate cancer, thus increasing its mortality rate [5–8]. Likewise, it has been stated that obesity could increase the risk of biochemical recurrence after primary treatment [9]. The after mentioned data is relevant, due to the fact that obesity has reached epidemic proportions worldwide, being México the second nation with the biggest obesity prevalence worldwide (32.4% in 2012); overweight prevalence in men aged 60–69 years, is at 49.8% in our country [10].

The Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ), is part of the nuclear hormone receptor superfamily of ligand-dependent transcription factors and plays an important role in adipocyte differentiation, cellular proliferation, survival, and inflammatory response [11–13]. Likewise, it has also been implicated in tumorigenesis as a tumor suppressor gene [14], and it also seems to participate in the development of several neoplasias including prostate cancer [15–18]. In addition, it has been described that the gene encoded by PPAR $\gamma$ , which is known as peroxisome proliferators-activated receptor  $\gamma$  coactivator 1  $\alpha$  (*PPARGC1A*), presents some polymorphisms and/or mutations that have been associated with different cancers and neurodegenerative disorders [19–21].

Low serum adiponectin concentrations, have also been described as a risk factor for the development of more aggressive forms of prostate cancer in subjects with obesity [22]. Different lines support the role of adiponectin as an anti-cancer adipokine, due to its anti-inflammatory effect [23,24], to its inhibition of cell proliferation and to the generation of apoptosis [23,25,26]. Besides, polymorphisms of adiponectin (*ADIPOQ*) (rs266729 and rs1501299) associated with obesity [27–29] and with prostate cancer [27,30,31], have been described.

Obesity is considered an independent risk factor for the development of aggressive forms of prostate cancer and both diseases have a high genetic predisposition. Considering that polymorphisms of *PPARGC1A*

and *ADIPOQ* may influence the risk of both entities, the aim of this study was to analyse the possible association of polymorphisms in these genes, as well as their haplotypes, with the presentation of aggressive forms of prostate cancer in Mexican-Mestizo men with overweight or obesity.

## 2. Subjects and methods

### 2.1. Subjects

The study was approved by the Human Research Committees of the participating institutions; informed written consent was obtained from all men before participation, and all procedures were in accordance with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards. Two hundred fifty seven unrelated overweight or obese men, with histologically confirmed prostate cancer, of Mexican-Mestizo ethnic origin who visited our outpatient clinic were included. Only men born in Mexico, who had a Spanish-derived last name and Mexican ancestors back to the third generation, were considered Mexican-Mestizo. Men with a family history of prostate cancer or men, who had presented other previous neoplasias, were excluded from the study.

Body weight and height were measured at the first visit, with the subject in a standing position, wearing a hospital gown and without shoes. Weight and height were used to calculate body mass index (BMI) ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ). Individuals were categorized as being overweight if BMI was in the range of 25.0–29.9  $\text{kg}/\text{m}^2$  and being obese if BMI was  $\geq 30.0$   $\text{kg}/\text{m}^2$ .

Patients were categorized according to the classification proposed by D'Amico into low, intermediate and high risk, based on prostate specific antigen (PSA), Gleason grade and clinical stage [32].

### 2.2. Methods

Peripheral blood samples were obtained from all individuals and genomic DNA was purified using the salting out procedure described by Miller et al. [33]. The rs7665116 and rs2970870 of *PPARGC1A* and the rs266729 and rs1501299 of *ADIPOQ* were studied.

Real-time PCR allelic discrimination TaqMan assay (AB) was used for genotyping analysis. All PCR reactions contained 10 ng of DNA, 5.0  $\mu\text{l}$  TaqMan Universal Master Mix (AB) (2X), 0.25  $\mu\text{l}$  primers and probes (10X), as well as water, for a final vol-



ume of 10  $\mu$ l, including the appropriate negative controls in all assays. For all polymorphisms, the assay used probes and primers designed by assay-on-demand services from Applied Biosystem: for rs7665116, assay ID: C 31279675\_10; for rs2970870, assay ID: C 1643241\_10, both SNPs of *PPARGC1A*; for rs266729, assay ID: C 2416786\_10; for rs1501299, assay ID: C 7497299\_10, both SNPs of *ADIPOQ*.

Real-time PCR was performed on a LightCycler<sup>QR</sup> 480 Instrument (Roche Diagnostics Ltd, Switzerland). Conditions for all polymorphisms were 95°C for 10 min and 40 cycles of amplification (95°C for 15 sec and 60°C for 1.30 min). For each cycle, the software determined the fluorescent signal from the VIC- or FAM-labeled probe. Allelic discrimination was performed using specific primers and probes for each allele. A 5% random sample from each genotype was independently verified twice for quality control.

### 2.3. Statistical analysis

This is a cross sectional and retrospective study. Data from the overall patient population was summarized as absolute and relative frequencies for qualitative variables. Allele frequency differences between groups were assessed by  $\chi^2$  tests.  $\chi^2$  was used to test for associations between genotypes, haplotypes and aggressiveness of prostate cancer (according to D'Amico's classification). Statistical analyses were carried out using SPSS v.16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA); a *P* value < 0.05 was accepted as statistically significant. Deviations from Hardy-Weinberg equilibrium were tested using the  $\chi^2$  test. Pairwise linkage disequilibrium (*D*) estimations between polymorphisms, haplotype reconstruction and a permutation test to obtain a corrected *P*-value, were performed with Haploview version 4:1. Haplotypes with a frequency < 0.05 were excluded (Broad Institute, Massachusetts Institute of Technology and Harvard University, Cambridge, MA, USA). Statistical power to detect an association of all polymorphisms analyzed with prostate cancer aggressiveness, at an alpha of 0.05, was calculated taking into account the frequencies of the polymorphisms.

### 3. Results

Two hundred fifty seven men presenting overweight or obesity and prostate adenocarcinoma were included. General characteristics of all individuals included are

Table 1  
General characteristics of 257 Mexican-Mestizo men with prostate cancer

Variable	<i>N</i> (%)
Age (years)	
< 60	101 (39.3)
≥ 60	156 (60.7)
PSA	
< 6	65 (25.3)
≥ 6	192 (74.7)
Gleason	
< 7	110 (42.8)
≥ 7	147 (57.2)
Tumor stage	
T1	139 (54.1)
T2	102 (39.7)
T3	9 (3.5)
T4	7 (2.7)
D'Amico classification	
Low-risk	73 (28.4%)
Intermediate-risk	128 (49.8%)
High-risk	56 (21.8%)

PSA = prostate-specific antigen.

shown in Table 1. Age ranged from 55–78 years. According to the World Health Organization criteria, among the 257 men, 187 (72.8%) presented overweight and 70 (27.2%) obesity. One hundred and ninety two patients (74.7%) had PSA concentrations ≥ 6 ng/ml at the moment of prostate cancer diagnosis. Regarding cancer aggressiveness, 73 (28.4%) were at a low-risk, 128 (49.8%) at an intermediate-risk and 56 (21.8%) at a high-risk (Table 1).

A Hardy-Weinberg equilibrium test was performed for the polymorphisms, showing that the distribution of the observed genotypes did not differ from what was expected in men with prostate cancer and overweight or obesity (*P* > 0.05). Genotype and allele frequencies of rs7665116 and rs2970870 of *PPARGC1A*, and of rs266729 and rs1501299 of *ADIPOQ*, according to the D'Amico classification, are shown in Table 2. Genotype distribution of rs2970870 of *PPARGC1A* and rs1501299 of *ADIPOQ* differed significantly between groups, whilst genotypes of rs7665116 of *PPARGC1A* and rs266729 of *ADIPOQ* showed no significant differences.

When we analyzed linkage disequilibrium (LD) among the two SNPs of *PPARGC1A* we observed a value of  $D^t = 0.22$ , whilst for the two SNPs of *ADIPOQ* we found a value of  $D^t = 0.72$ . With these results, we proceeded to perform the haplotype analysis only for the *ADIPOQ* polymorphisms, observing that the most frequent haplotype in our population was the one formed by the two ancestral alleles: C-C

Table 2

Allele and Genotype frequencies of *PPARGC1A* and *ADIPOQ* polymorphisms in Mexican-Mestizo men with prostate cancer and overweight or obesity according to the D'Amico classification

dbSNP Reference number	Genotype	Low-risk (N = 73)	Intermediate-risk (N = 128)	High-risk (N = 56)	P-value	
rs7665116 of <i>PPARGC1A</i>	T/T	49 (67.1%)	102 (79.7%)	36 (64.3%)	0.175	
	C/T	23 (31.5%)	25 (19.5%)	19 (33.9%)		
	C/C	1 (1.4%)	1 (0.8%)	1 (1.8%)		
	Allele frequencies	T	82.9%	89.5%		81.2%
	C	17.1%	10.5%	18.8%		
rs2970870 of <i>PPARGC1A</i>	C/C	42 (57.5%)	79 (61.7%)	24 (42.9%)	0.035	
	C/T	30 (41.1%)	39 (30.5%)	26 (46.4%)		
	T/T	1 (1.4%)	10 (7.8%)	6 (10.7%)		
	Allele frequencies	C	78.1%	77.0%		66.1%
	T	21.9%	23.0%	33.9%		
rs266729 of <i>ADIPOQ</i>	C/C	29 (39.7%)	48 (37.5%)	25 (44.6%)	0.671	
	C/G	31 (42.5%)	64 (50.0%)	23 (41.1%)		
	G/G	13 (17.8%)	16 (12.5%)	8 (14.3%)		
	Allele frequencies	C	61.0%	62.5%		65.2%
	G	39.0%	37.5%	34.8%		
rs1501299 of <i>ADIPOQ</i>	C/C	40 (54.8%)	70 (54.7%)	34 (60.7%)	0.031	
	C/A	24 (32.9%)	55 (43.0%)	20 (35.7%)		
	A/A	9 (12.3%)	3 (2.3%)	2 (3.6%)		
	Allele frequencies	C	71.2%	76.2%		78.6%
	A	28.8%	23.8%	21.4%		

Table 3

Frequencies of different haplotypes of the *ADIPOQ* gene in Mexican-Mestizo men with prostate cancer presenting overweight or obesity grouped by the D'Amico classification

Haplotypes of <i>ADIPOQ</i>	Low-risk	Intermediate/Higher risk	P-value
C-C	41.8%	40.5%	0.31
G-C	35.1%	34.8%	0.85
C-A	21.5%	22.2%	0.54
G-A	1.6%	2.5%	0.03

The first allele of the haplotype corresponds to rs266729, and the second to rs1501299.

(41.1%). Besides, we detected a significant association between the *G-A* haplotype (formed by the polymorphic alleles) and the aggressiveness of prostate cancer, when comparing patients that had lower-risk (1.6%) vs those with intermediate/higher-risk (2.5%) ( $P = 0.03$ ) (Table 3).

#### 4. Discussion

Taking into consideration that obesity constitutes a risk factor for the development of aggressive forms of prostate cancer, thus increasing its mortality rate and also knowing that both pathological entities have a genetic predisposition, we considered it was important to study the association of some genetic variants in patients presenting prostate cancer and overweight or obesity. Therefore, in the present study we analyzed

the association among two *PPARGC1A* (rs7665116 and rs2970870), and two of *ADIPOQ* (rs266729 and rs1501299) polymorphisms, as well as their haplotypes, with the aggressiveness of prostate cancer in Mexican-Mestizo men presenting overweight or obesity.

*PPARGC1A* is a master regulator gene of adipose tissue differentiation [11], whilst PPAR $\gamma$  is expressed in several prostate cancer cell lines and also in human prostate epithelium, in normal as well as in tumoral tissue [15]. Different polymorphisms of *PPARGC1A* (like, rs7665116 and rs2970870), have been studied in neurodegenerative diseases and left ventricular diastolic function [20,21,34–36]. Che et al. [21] found that both polymorphisms were associated with age-at-onset of Huntington Disease; meanwhile, Soyal et al. [36] only observed that rs2970870 was associated with this condition. Further, Taherzadeh-Fard et al. [20] and Ramos et al. [35] found that rs7665116 presented a marginal association with the age-at-onset of the disease in both additive and dominant models. Juang et al. [34] carried out an association study of rs7665116 and rs2970870 with left ventricular diastolic function in Caucasian individuals, observing a marginal association of rs2970870 with latent left ventricular diastolic dysfunction. However, to our knowledge, there are no reports of genetic studies that analyze these polymorphisms in the context of men with prostate cancer regarding its aggressiveness. Due to the fact that,

rs2970870 is located in the promoter region, which could influence gene expression, and rs7665116 is located in intron 2 a highly conserved region, which is suggested as a potential recombination hot spot, we analyzed both SNPs in our population with prostate cancer.

We found that only rs2970870 of *PPARGC1A* was associated with the presence of aggressive prostate cancer in men with overweight or obesity. When we compared the genotypes among the different groups, according with the D'Amico's classification, we observed in additive and in recessive models that *CC* genotypes were protective for the development of aggressive prostate cancer (data not shown). In contrast, Che et al. [21] observed, that the *CC* genotype was associated with an earlier onset of symptoms in Huntington disease when comparing these patients with those exhibiting other genotype. The relative distribution of the *C* allele of rs2970870 varies remarkably among populations, as it is evident from the data described in HapMap: the frequency of this allele is 46.7% in Europeans, 51.3% in Japanese and 67.4% in Han-Chinese individuals (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=rs2970870>); our patients exhibit the highest frequency documented for this allele (74.9%).

Moreover, adiponectin a cytokine mainly secreted in adipose tissue could be the link between obesity and prostate cancer [22–26]; furthermore, polymorphisms of *ADIPOQ* (i.e. rs266729 and rs1501299) with a functional impact have been associated with adiponectin levels, obesity or prostate cancer [27–31]. Beebe-Dimmer et al. [27] studied rs266729 and rs1501299 not finding any association with prostate cancer risk. On the other hand, Kaklamani et al. [31] found an association of both polymorphisms with prostate cancer in Caucasians. Dhillon et al. [30] also studying Caucasian men, found an association of rs266729 with an overall risk of prostate cancer, as well as with lower adiponectin levels in plasma.

Regarding our results, of *ADIPOQ* polymorphisms, we found that only rs1501299 was associated with prostate cancer aggressiveness in men with overweight or obesity. Furthermore, according with the D'Amico's classification we observed, in all genetics models tested, that the *CC* genotype was associated with aggressive prostate cancer (data not shown). The latter is important, since the frequency of the *C* allele (75.3%) of this polymorphism in our patients is the highest ever reported, when comparing it to those described in HAPMAP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>) for Cau-

casians (72%), for two populations of Asian origin (Han Chinese and Japanese, 67.4% and 69.2%, respectively), and one with an African ethnic origin (61.9%).

Additionally, due to the fact that haplotypes could provide a better tool than a single marker variation and because of its strong LD, we analyzed the relationship of haplotypes formed by rs266729 and rs1501299 of *ADIPOQ*, with aggressive prostate cancer in men with overweight or obesity, observing that these SNPs are inherited as a block. We found that the *G-A* haplotype, formed by the two minor alleles, was significantly associated with an intermediate/higher-risk of prostate cancer.

This study has some limitations. The first one is that the design does not allow us to determine a causal relationship between the polymorphisms analyzed and prostate cancer aggressiveness in individuals with overweight or obesity. Another limitation was the limited statistical power to detect association of rs7665116 of *PPARGC1A* and rs266729 of *ADIPOQ*, with prostate cancer aggressiveness. Despite these limitations, the strengths of the study are the analysis of this cancer aggressiveness according to D'Amico classification and the statistical power, according to the frequency, of the minor allele of rs2970870 of *PPARGC1A* and rs1501299 of *ADIPOQ*, as well as for the haplotypes ( $> 80\%$ ,  $P < 0.05$ ).

In conclusion, to our knowledge, this is the first study regarding the relationship of rs2970870 of *PPARGC1A* and rs1501299 of *ADIPOQ*, as well as the haplotype formed by both SNPs of *ADIPOQ*, with the aggressiveness of prostate cancer in men presenting overweight or obesity, due to the importance of trying to find an obesity biomarker, which could be related to prostate cancer aggressiveness. Regarding the other two SNPs studied, we did not find a significant association relating to the aggressiveness of prostate cancer. This could be due to the fact that there was not enough power to detect differences; therefore, further studies in a larger number of individuals should explore this possibility. In addition, in our patients, the allelic and genotypic frequencies of the SNPs analyzed were different when compared to other populations. For this reason, it is important to carry out association studies in different populations worldwide, in order to determine whether genetic markers associated with prostate cancer aggressiveness in individuals with overweight or obesity, are the same or vary depending on the populations studied.

## Acknowledgments

This work was supported by the División de Investigación, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México, and by the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Apoyo al Fortalecimiento y Desarrollo de la Infraestructura Científica y Tecnológica), México; Grant: 250786).

Jesús Benítez Granados was supported by a Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), México, fellowship award.

María Elena Tejeda and André Tapia were supported by a Sistema Nacional de Investigadores (CONACyT), México, fellowship award.

## Conflict of interest

All authors declare that there are no conflicts of interest.

## References

- [1] J. Ferlay, I. Soerjomataram, R. Dikshit, S. Eser, C. Mathers, M. Rebelo, D.M. Parkin, D. Forman and F. Bray, Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012, *International Journal of Cancer* **136** (2015), E359–386.
- [2] <http://www.medigraphic.com/pdfs/evidencia/eo-2015/eo151b.pdf>.
- [3] D.P. Labbé, G. Zadra, E.M. Ebot, L.A. Mucci, P.W. Kantoff, M. Loda and M. Brown, Role of diet in prostate cancer: The epigenetic link, *Oncogene* **34** (2015), 4683–4691.
- [4] D.S. Tan, T.S. Mok and T.R. Rebbeck, Cancer genomics: Diversity and disparity across ethnicity and geography, *Journal of Clinical Oncology* **34** (2016), 91–101.
- [5] A. Discacciati, N. Orsini and A. Wolk, Body mass index and incidence of localized and advanced prostate cancer – a dose-response meta-analysis of prospective studies, *Annals of Oncology* **23** (2012), 1665–1671.
- [6] E.H. Allott, E.M. Masko and S.J. Freedland, Obesity and prostate cancer: Weighing the evidence, *European Urology* **63** (2013), 800–809.
- [7] A. Cantarutti, S.E. Bonn, H.O. Adami, H. Grönberg, R. Bellocchio and K. Bälter, Body mass index and mortality in men with prostate cancer, *Prostate* **75** (2015), 1129–1136.
- [8] H. Møller, N. Roswall, M. Van Hemelrijck, S.B. Larsen, J. Cuzick, L. Holmberg, K. Overvad and A. Tjønneland, Prostate cancer incidence, clinical stage and survival in relation to obesity: A prospective cohort study in Denmark, *International Journal of Cancer* **136** (2015), 1940–1947.
- [9] Y. Cao and J. Ma, Body mass index, prostate cancer-specific mortality, and biochemical recurrence: A systematic review and meta-analysis, *Cancer Prevention Research (Phila)* **4** (2011), 486–501.
- [10] Encuesta Nacional de Salud y Nutrición Cuernavaca (ENSANUT). México: Instituto Nacional De Salud Pública, 2012.
- [11] P. Tontonoz, E. Hu and B.M. Spiegelman, Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR $\gamma$ , a lipid-activated transcription factor, *Cell* **79** (1994), 1147–1156.
- [12] G. Chinetti, J.-C. Fruchart and B. Staels, Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): Nuclear receptors at the crossroads between lipid metabolism and inflammation, *Inflammation Research* **49** (2000), 497–505.
- [13] E.D. Rosen and B.M. Spiegelman, PPAR $\gamma$ : A nuclear regulator of metabolism, differentiation, and cell growth, *Journal of Biological Chemistry* **276** (2001), 37731–37734.
- [14] C. Grommes, G.E. Landreth and M.T. Heneka, Antineoplastic effects of peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists, *Lancet Oncology* **5** (2004), 419–429.
- [15] E. Mueller, M. Smith, P. Sarraf, T. Kroll, A. Aiyer, D.S. Kaufman, W. Oh, G. Demetri, W.D. Figg, X.P. Zhou, C. Eng, B.M. Spiegelman and P.W. Kantoff, Effects of ligand activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in human prostate cancer, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **97** (2000), 10990–10995.
- [16] S. Sikka, L. Chen, G. Sethi and A.P. Kumar, Targeting PPAR $\gamma$  signaling cascade for the prevention and treatment of prostate cancer, *PPAR Research* **2012** (2012), 968040.
- [17] F.S. Forootan, S.S. Forootan, M.I. Malki, D. Chen, G. Li, K. Lin, P.S. Rudland, C.S. Foster and Y. Ke, The expression of C-FABP and PPAR $\gamma$  and their prognostic significance in prostate cancer, *International Journal of Oncology* **44** (2014), 265–275.
- [18] F.S. Forootan, S.S. Forootan, X. Gou, J. Yang, B. Liu, D. Chen, M.S. Al Fayi, W. Al-Jameel, P.S. Rudland, S.A. Husain and Y. Ke, Fatty acid activated PPAR $\gamma$  promotes tumorigenicity of prostate cancer cells by up regulating VEGF via PPAR responsive elements of the promoter, *Oncotarget* **7** (2016), 9322–9339.
- [19] P. Sarraf, E. Mueller, W.M. Smith, H.M. Wright, J.B. Kum, L.A. Aaltonen, A. de la Chapelle, B.M. Spiegelman and C. Eng, Loss-of-function mutations in PPAR gamma associated with human colon cancer, *Molecular Cell* **3** (1999), 799–804.
- [20] E. Taherzadeh-Fard, C. Saft, J. Andrich, S. Wiecezorek and L. Arning, PGC-1 $\alpha$  as modifier of onset age in Huntington disease, *Molecular Neurodegeneration* **4** (2009), 10.
- [21] H.V. Che, S. Metzger, E. Portal, C. Deyle, O. Riess and H.P. Nguyen, Localization of sequence variations in PGC-1 $\alpha$  influence their modifying effect in huntington disease, *Molecular Neurodegeneration* **6** (2011), 1.
- [22] H. Li, M.J. Stampfer, L. Mucci, N. Rifai, W. Qiu, T. Kurth and J. Ma, A 25-year prospective study of plasma adiponectin and leptin concentrations and prostate cancer risk and survival, *Clinical Chemistry* **56** (2010), 34–43.
- [23] T. Yokota, K. Oritani, I. Takahashi, J. Ishikawa, A. Matsuyama, N. Ouchi, S. Kihara, T. Funahashi, A.J. Tenner, Y. Tomiyama and Y. Matsuzawa, Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages, *Blood* **96** (2000), 1723–1732.
- [24] N. Yamaguchi, J.G. Argueta, Y. Masuhiro, M. Kagishita, K. Nonaka, T. Saito, S. Hanazawa and Y. Yamashita, Adiponectin inhibits Toll-like receptor family-induced signaling, *FEBS Letters* **579** (2005), 6821–6826.
- [25] E. Bräkenhielm, N. Veitonmäki, R. Cao, S. Kihara, Y. Matsuzawa, B. Zhivotovsky, T. Funahashi and Y. Cao, Adiponectin-induced antiangiogenesis and antitumor activity involve caspase-mediated endothelial cell apoptosis, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **101** (2004), 2476–2481.

- [26] Q. Gao and J. Zheng, Adiponectin-Induced Antitumor Activity on Prostatic Cancers through Inhibiting Proliferation, *Cell Biochemistry and Biophysics* **70** (2014), 461–465.
- [27] J.L. Beebe-Dimmer, K.A. Zuhlke, A.M. Ray, E.M. Lange and K.A. Cooney, Genetic variation in adiponectin (ADIPOQ) and the type 1 receptor (ADIPOR1), obesity and prostate cancer in African Americans, *Prostate Cancer and Prostatic Diseases* **13** (2010), 362–368.
- [28] K. Ramya, K.A. Ayyappa, S. Ghosh, V. Mohan and V. Radha, Genetic association of ADIPOQ gene variants with type 2 diabetes, obesity and serum adiponectin levels in south Indian population, *Gene* **532** (2013), 253–262.
- [29] T.J. Hsiao and E. Lin, A validation study of adiponectin rs266729 gene variant with type 2 diabetes, obesity, and metabolic phenotypes in a taiwanese population, *Biochemical Genetics* **54** (2016), 830–841.
- [30] P.K. Dhillon, K.L. Penney, F. Schumacher, J.R. Rider, H.D. Sesso, M. Pollak, M. Fiorentino, S. Finn, M. Loda, N. Rifai, L.A. Mucci, E. Giovannucci, M.J. Stampfer and J. Ma, Common polymorphisms in the adiponectin and its receptor genes, adiponectin levels and the risk of prostate cancer, *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* **20** (2011), 2618–2627.
- [31] V. Kaklamani, N. Yi, K. Zhang, M. Sadim, K. Offit, C. Oddoux, H. Ostrer, C. Mantzoros and B. Pasche, Polymorphisms of *ADIPOQ* and *ADIPOR1* and prostate cancer risk, *Metabolism* **60** (2011), 1234–1243.
- [32] A.V. D'Amico, R. Whittington, S.B. Malkowicz, D. Schultz, K. Blank, G.A. Broderick, J.E. Tomaszewski, A.A. Renshaw, I. Kaplan, C.J. Beard and A. Wein, Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer, *Journal of the American Medical Association* **280** (1998), 969–74.
- [33] S.A. Miller, D.D. Dykes and H.F. Polesky, A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells, *Nucleic Acids Research* **16** (1988), 1215.
- [34] J.M. Juang, L. de Las Fuentes, A.D. Waggoner, C.C. Gu and V.G. Dávila-Román, Association and interaction of *PPAR*-complex gene variants with latent traits of left ventricular diastolic function, *BMC Medical Genetics* **11** (2010), 65.
- [35] E.M. Ramos, J.C. Latourelle, J.H. Lee, T. Gillis, J.S. Mysore, F. Squitieri, A. Di Pardo, S. Di Donato, M.R. Hayden, P.J. Morrison, M. Nance, C.A. Ross, R.L. Margolis, E. Gomez-Tortosa, C. Ayuso, O. Suchowersky, R.J. Trent, E. McCusker, A. Novelletto, M. Frontali, R. Jones, T. Ashizawa, S. Frank, M.H. Saint-Hilaire, S.M. Hersch, H.D. Rosas, D. Lucente, M.B. Harrison, A. Zanko, K. Marder, J.F. Gusella, J.M. Lee, I. Alonso, J. Sequeiros, R.H. Myers and M.E. Macdonald, Population stratification may bias analysis of *PGC-1 $\alpha$*  as a modifier of age at Huntington disease motor onset, *Human Genetics* **131** (2012), 1833–1840.
- [36] S.M. Soyal, T.K. Felder, S. Auer, P. Hahne, H. Oberkofler, A. Witting, M. Paulmichl, G.B. Landwehrmeyer, P. Weydt and W. Patsch, European huntington disease network, A greatly extended *PPARGC1A* genomic locus encodes several new brain-specific isoforms and influences Huntington disease age of onset, *Human Molecular Genetics* **21** (2012), 3461–3473.