

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA

**ANÁLISIS DE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE
VITAMINA D COMO FACTOR DE RIESGO DE
CÁNCER DE PRÓSTATA Y AGRESIVIDAD TUMORAL**

Director: Juan Morote Robles

Tesis Doctoral presentada por Esther Gómez Lanza para

optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

Barcelona, Septiembre de 2010.

El Doctor Juan Morote Robles, catedrático de la Universidad Autónoma de Barcelona y jefe de Servicio de Urología del Hospital Vall d'Hebrón de Barcelona,

CERTIFICA:

que el trabajo “ Análisis de la concentración sérica de vitamina D como factor de riesgo de cáncer de próstata y agresividad tumoral”, presentado por la licenciada Esther Gómez Lanza para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía, ha sido realizado bajo su dirección y se encuentra en condiciones de ser defendido ante el tribunal correspondiente.

Barcelona, 6 de Septiembre de 2010.

Prof. Juan Morote Robles

“Felices los que pueden dar sin recordar y recibir sin olvidar”.

A mi familia

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi profundo agradecimiento a todas las personas que me han ayudado durante la realización de este trabajo, especialmente:

Al Dr. Morote. Por su gran apoyo, dedicación y entrega en que este proyecto haya llegado hasta al final, sin su ayuda, paciencia y consejos no habría sido posible.

Al Dr. Catalán. Por su ayuda para comprender la metodología de la determinación de las hormonas estudiadas.

A todos los miembros del Servicio de Urología del Hospital Vall d'Hebrón que han estado a mi lado enseñándome lo mejor de cada uno y contribuyendo a que me formara en esta especialidad.

A todos los residentes que hemos compartido los cinco años de residencia, a todos los que habéis hecho que el día a día haya sido mucho más agradable y las guardias más amenas, os tengo un profundo cariño especialmente a vosotros.

A todos los miembros del Servicio de Urología del Hospital General de l'Hospitalet, por darme la oportunidad de seguir formándome con vosotros, por confiar tanto en mí y por mantenerme diariamente la ilusión de ir a trabajar. Por los buenos momentos dentro y fuera del hospital.

A mis amigos de siempre, porque os quiero muchísimo y sois maravillosos, por estar ahí en todos los momentos.

A mis abuelos Vicente Gómez, Florentino Lanza, Nemesia Sierra y especialmente a María Iglesias, gracias por tu generosidad y por haberme

permitido disfrutar de ti en tus últimos meses. Gracias a vosotros por quererme tanto y hacerme sentir tan especial.

A mis padres, José Antonio Gómez y María Jesús Lanza. Sois un ejemplo de vida para mí, me habéis transmitido la importancia de lo que es realmente relevante en la vida, os habéis dedicado completamente a mí y me habéis educado con los valores que yo desearía transmitir a mis hijos. Mi profundo agradecimiento y cariño.

Al hombre de mi vida, Cristóbal Ramírez. Eres el motor de mi vida, haces que cada día me ilusione, sin ti no sería tan inmensamente feliz. Doy gracias a Dios por haberte conocido porque sin duda eres maravilloso. Gracias por tu interminable apoyo, comprensión, pasión, amor y cariño. Muchas gracias por todo.

A nuestro futuro bebé, porque te hemos deseado mucho y te queremos aún más, ya estamos deseando verte muy pronto y disfrutar juntos contigo.

A nuestra Pitufa, por la gran alegría que nos transmites al llegar a casa, por darnos tanto a cambio de nada y por esperar pacientemente a que acabara de escribir para ir a pasear.

A los pacientes, porque sin ellos este trabajo no hubiera sido posible.

**ANÁLISIS DE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE VITAMINA D COMO
FACTOR DE RIESGO DE CÁNCER DE PRÓSTATA Y AGRESIVIDAD
TUMORAL**

Esther Gómez Lanza

ÍNDICE

Abreviaturas.....	12
1. INTRODUCCIÓN	14
1.1. EPIDEMIOLOGÍA	15
1.2. ETIOLOGÍA	22
1.2.1. Factores de riesgo.....	23
1.2.2. Genes de alta penetrancia.....	25
1.2.2.1. Cáncer de próstata hereditario.....	25
1.2.3. Defectos genéticos somáticos.....	26
1.3. DIAGNÓSTICO.....	27
1.3.1. Antígeno prostático específico.....	28
1.3.2. Tacto rectal	29
1.3.3. Biopsia prostática.....	30

1.4. ESTADIFICACIÓN.....	31
1.4.1. Aspectos clínicos.....	32
1.4.1.1. Clasificación del TNM.....	32
1.4.2. Aspectos histológicos.....	34
1.4.2.1. Tipos histológicos.....	34
1.4.2.2. Sistemas de clasificación del cáncer de próstata.....	35
1.4.2.2.1. Suma de Gleason.....	36
1.4.3. Criterios de riesgo de d'Amico.....	39
1.5. HOMEOSTASIS DEL METABOLISMO	
CALCIO/FÓSFORO.....	42
1.5.1. Parathormona	42
1.5.2. Vitamina D	45
1.5.2.1. Síntesis de la vitamina D	46
1.5.2.2. Precursores de la vitamina D	48
1.5.2.3. Receptor de la vitamina D	58

1.5.2.4. Líneas celulares prostáticas	59
1.5.2.5. Relación entre la concentración plasmática de la vitamina D y el riesgo de padecer cáncer de próstata.....	61
2. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS	67
2.1. HIPÓTESIS.....	68
2.2. OBJETIVOS.....	69
3. MATERIAL Y MÉTODOS	70
3.1. DISEÑO DEL ESTUDIO.....	71
3.2. PARTICIPANTES DEL ESTUDIO.....	71
3.3. PROCEDIMIENTOS.....	73
3.3.1. Realización de la biopsia prostática.....	73
3.3.2. Determinaciones analíticas.....	75

3.2.2.1. Cuantificación de la PTH.....	75
3.2.2.1.1. Principio del procedimiento.....	76
3.2.2.1.2. Obtención y preparación de las muestras.....	77
3.2.2.1.3. Características del ensayo.....	77
3.2.2.2. Cuantificación de la 25-hidroxivitamina D ₃ total.....	78
3.2.2.2.1. Principio del procedimiento.....	78
3.2.2.2.2. Obtención y preparación de las muestras.....	78
3.2.2.2.3. Características del ensayo.....	79
 3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	 81
 4. RESULTADOS.....	 83
 4.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN.....	 84
 4.2. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES INDICADORAS DEL RIESGO DE DESARROLLAR CÁNCER DE PRÓSTATA.....	 87
 4.3. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES INDICADORAS DE LA AGRESIVIDAD TUMORAL DEL CÁNCER DE PRÓSTATA.....	 94

5. DISCUSIÓN.....	104
5.1. VITAMINA D Y RIESGO DE CÁNCER DE PRÓSTATA.....	107
5.1.1. Estudios que observan relación entre la vitamina D y el riesgo de padecer cáncer de próstata	109
5.1.2. Estudios que no observan relación entre la vitamina D y el riesgo de padecer cáncer de próstata	113
5.2. PARATHORMONA Y RIESGO DE PADECER CÁNCER DE PRÓSTATA.....	121
5.3. VITAMINA D Y AGRESIVIDAD TUMORAL DEL CÁNCER DE PRÓSTATA.....	122
5.4. PARATHORMONA Y AGRESIVIDAD TUMORAL DEL CÁNCER DE PRÓSTATA.....	129
5.5. LIMITACIONES DE NUESTRO ESTUDIO.....	129
6. CONCLUSIONES	132
7. BIBLIOGRAFÍA	134

ABREVIATURAS

AC-PKA: sistema adenilciclasa

AMP cíclico: sistema adenosín monofosfato cíclico

AR: receptor de andrógenos

Ca²⁺: calcio

CAG: poliglutamina

CV: coeficiente de variación

DE: desviación estándar

HPC1: hereditary prostate cancer 1 gene

IC: intervalo de confianza

ICMA: immunochemiluminometric assay

IRMA: immunoradiometric assay

ISUP: International Society of Urological Pathology

PIN: neoplasia intraepitelial prostática

PLC-PCK: sistema fosfolipasa C

PSA: antígeno prostático específico

PTH: parathormona

RLU: unidades relativas de luz

RR: razón de riesgos

TNM: tumor ganglio metástasis

TR: tacto rectal

UI: unidades internacionales

UICC: International Union Against Cancer

UVB: radiación ultravioleta

VACURG: Grupo de investigación urológica de la Administración

Cooperativa de Veteranos

VDR: receptor de la vitamina D

1,25-OH₂-D₃: 1,25-dihidroxitamina D₃

25-OH-D₃: 25-hidroxivitamina D₃

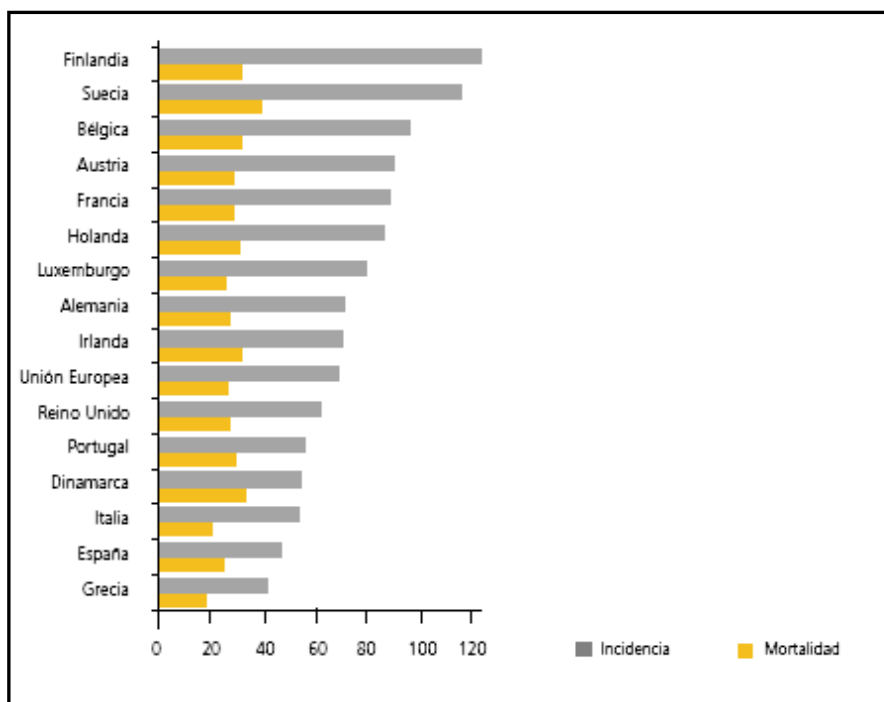
1. INTRODUCCIÓN

1.1. EPIDEMIOLOGÍA

En España, la causa más frecuente de muerte es el cáncer. En particular, la tasa ajustada de incidencia del cáncer de próstata fue en el año 1998 de 45,33 casos por 100.000 habitantes. Dicha tasa presenta una variabilidad notable entre los países de la Unión Europea: se ha observado que en Finlandia, Suecia, Bélgica y Francia las tasas son más elevadas, mientras que en Grecia e Italia se registraban las tasas ajustadas de incidencia más bajas, tal como se muestra en la figura 1.

Figura 1. Incidencia y mortalidad en diferentes países de la Unión Europea

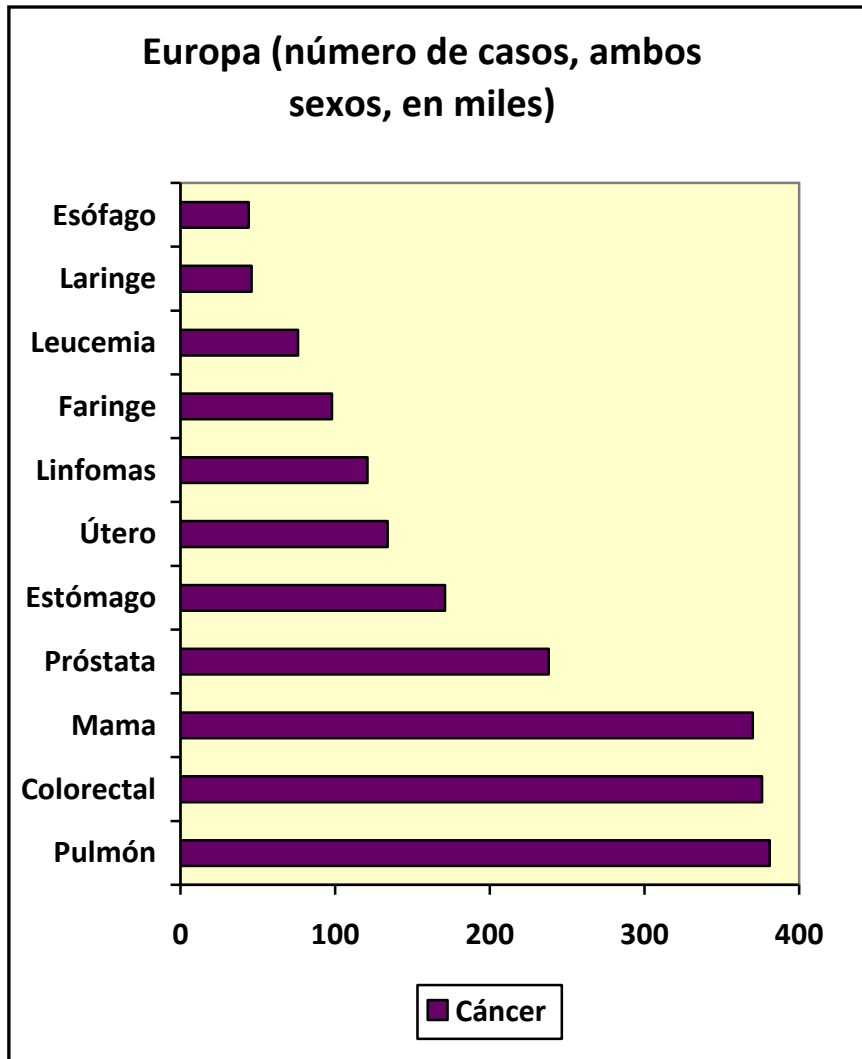
en 1998. Tomado de López-Abente y cols, 1999.



Otro dato significativo es que en España en el año 2002 se detectaron, aproximadamente, 162.000 casos nuevos de cáncer, de los cuales 13.253 (13,5%) fueron cánceres de próstata (López-Abente y cols., 1999). Por su parte, en el continente europeo, de los 2.886.800 casos nuevos de cáncer diagnosticados en 2004, el 13,2% fue cáncer de pulmón, el 13%, cáncer colorrectal y el 12,8%, cáncer de mama (fig. 2).

Por lo que respecta a la diferenciación por sexos, cabe destacar que en los hombres españoles, el orden de frecuencia de localización tumoral es el pulmón, seguido de la próstata, el colon y el recto, y la vejiga. Entre los varones europeos la próstata también es la segunda localización más frecuente. En 2004, se diagnosticaron 237.800 casos nuevos, que constituyen el 15,5% de la incidencia total del cáncer (Boyle y cols., 2005). Por su parte, en Estados Unidos el cáncer de próstata es la neoplasia no cutánea más frecuente diagnosticada entre varones y la tercera causa tumoral de mortalidad (Jemal y cols., 2009) y en el año 2007 se diagnosticaron 218.890 casos nuevos (Jemal y cols., 2007).

Figura 2. Incidencia estimada de las localizaciones de los casos de cáncer diagnosticados en Europa en 2004. Adaptado de Boyle y Ferlay, 2005.



Los registros poblacionales de los casos nuevos de cáncer son necesarios para poder evaluar la incidencia, la prevalencia y la supervivencia. Sin embargo, en España no existe un registro sistemático, como ocurre con la mortalidad, sino que hay varios registros en diferentes provincias españolas, a partir de los cuales se analiza la incidencia estimada, que en España va en aumento (Parkin y cols., 2002).

En particular, en Cataluña ha habido un aumento absoluto del número de habitantes, al tiempo que se ha incrementado la longevidad de la población. Ambos hechos conllevan el aumento absoluto de los casos diagnosticados cada año de cáncer de próstata (fig. 3). Así, ha aumentado la incidencia, mayoritariamente por factores ambientales y de los estilos de vida (Borràs y cols., 2008). Estos parámetros no son homogéneos en las diferentes comunidades autónomas, sin que se detecte un claro patrón geográfico (fig. 4). Cabe destacar que la mortalidad, único indicador de carácter universal en nuestro país, se mantiene estable en toda España gracias al diagnóstico precoz y la mejoría de los tratamientos (López-Abente y cols., 1999).

Figura 3. Evolución de la incidencia del cáncer de próstata en Cataluña, España y Europa en el período 1985-2002. Tomado de Borràs y cols., 2008.

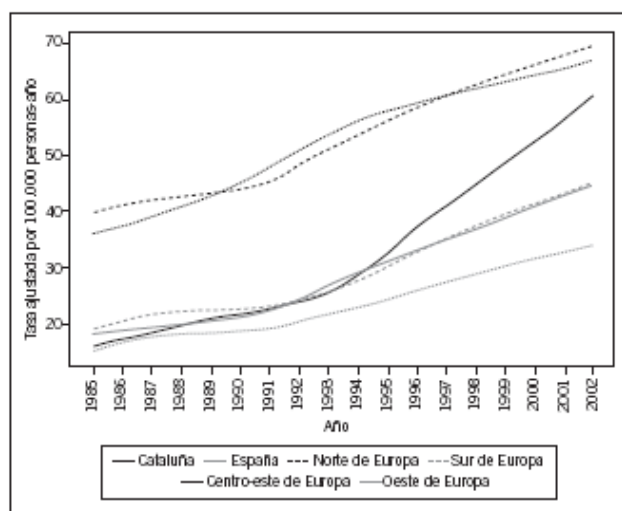
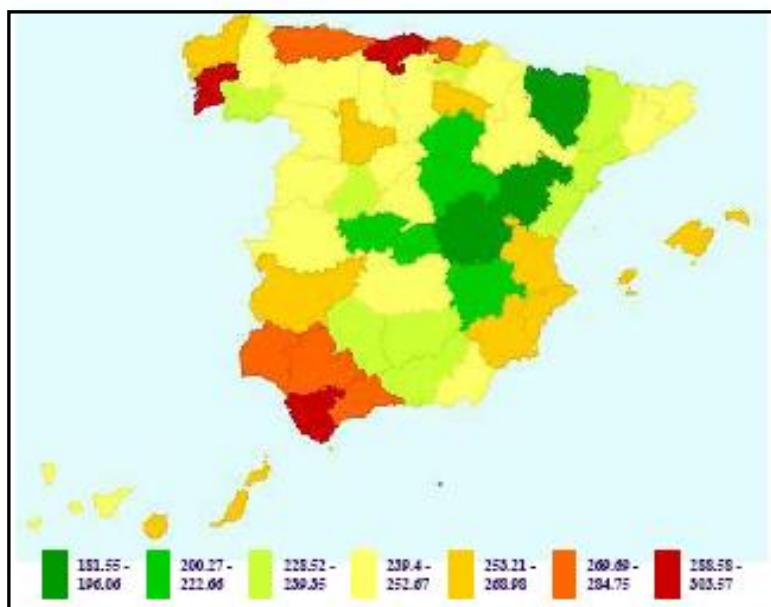
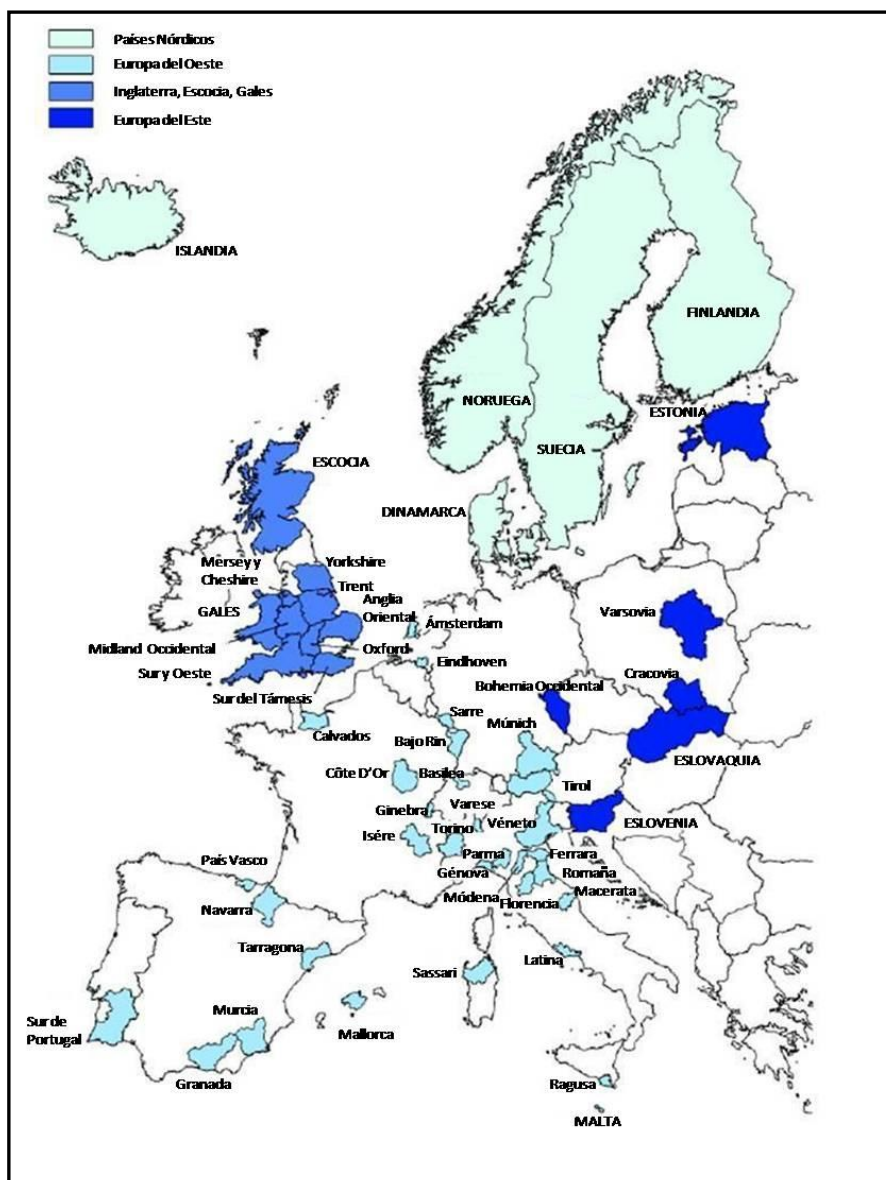


Figura 4. Tasas ajustadas de mortalidad por cáncer en España en varones en 2002. Tomado de Borràs y cols., 2008.



La supervivencia es un indicador importante, ya que refleja cómo funciona el Sistema Nacional de Salud. El estudio EUROCARE-3 es la única fuente fiable y sistematizada para establecer comparaciones entre países europeos (Coleman y cols., 2003). Dicho estudio analizó la supervivencia relativa, que es el cociente entre la supervivencia observada y la supervivencia esperada (Micheli y cols., 2003). Se calcula a partir de la mortalidad de una población de referencia y se considera un estimador de la supervivencia neta (Esteve y cols., 1990). En ese proyecto se estudiaron, transcurridos 5 años del diagnóstico (en 1999), 1,8 millones de adultos y 24.000 niños a los que se les diagnosticó cáncer en el periodo entre 1990 y 1994. Los registros españoles se realizaron en el País Vasco, Navarra, Tarragona, Mallorca, Murcia y Granada (fig. 5).

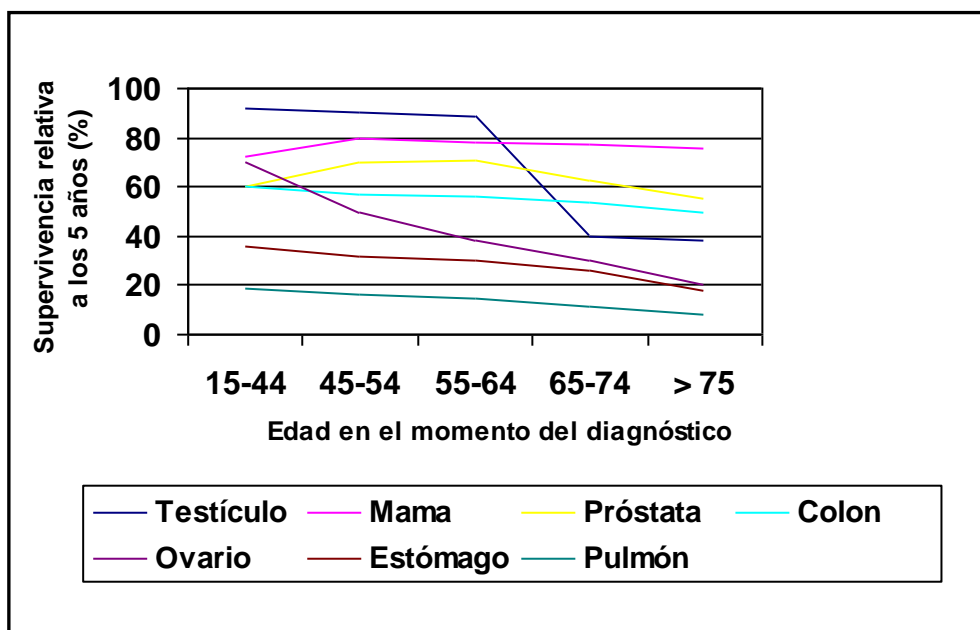
Figura 5. Regiones participantes en el proyecto EUROCARE-3 de pacientes adultos. Adaptado de Coleman y cols., 2003.



En el estudio se halló que la supervivencia relativa a los 5 años de los pacientes que padecen cáncer de próstata es más elevada si se le ha diagnosticado entre los 55 y los 64 años de edad; así se refleja en la figura 6.

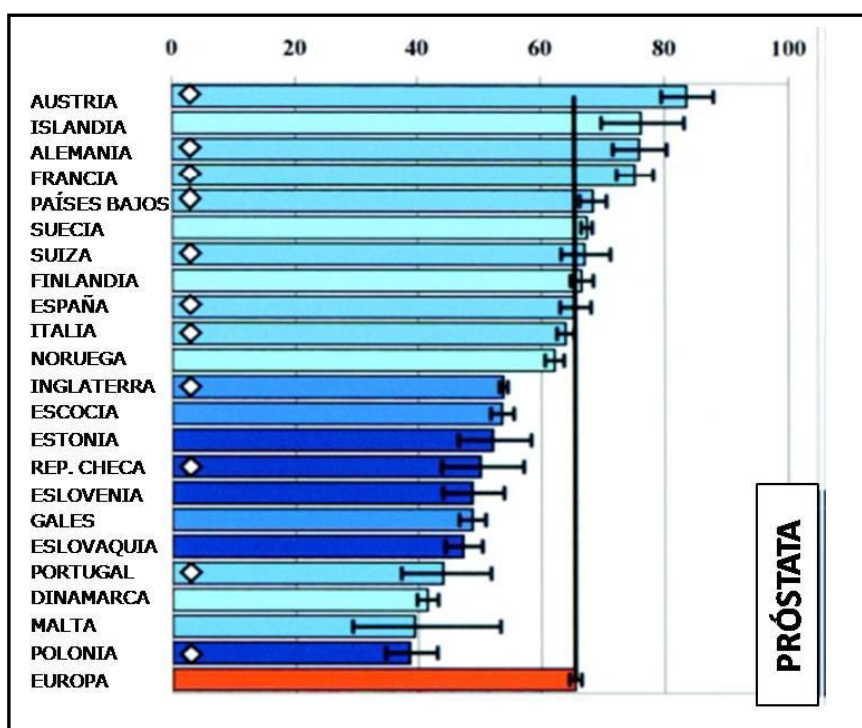
Figura 6. Tasas de supervivencia relativa a los 5 años en adultos diagnosticados de cáncer durante 1990-1994 y con seguimiento hasta 1999.

Adaptado de Coleman y cols., 2003.



Una de las conclusiones del estudio fue que la supervivencia del cáncer de próstata en España es comparable a la de otros países europeos (Coleman y cols., 2007). El país con más supervivencia a los 5 años es Austria, donde la tasa es superior al 80%, gracias a que se instauró un programa de diagnóstico precoz (fig. 7).

Figura 7. Datos en porcentaje de la tasa de supervivencia del cáncer de próstata a los 5 años del diagnóstico en diferentes países europeos y tasa estandarizada por edad (15-99 años) de Europa para casos diagnosticados en el periodo 1990-1994. Adaptado de Coleman y cols., 2003.



1.2. ETIOLOGÍA

Los factores causantes del cáncer de próstata aún son desconocidos, aunque hay factores, genéticos y ambientales, que determinan que sea mayor el riesgo de padecer cáncer de próstata. Los estudios epidemiológicos han permitido identificar factores predisponentes a sufrir neoplasia.

El material genético de las células neoplásicas prostáticas presenta diferentes alteraciones, como mutaciones somáticas, reordenamientos cromosómicos, deleciones, amplificaciones genéticas y cambios en la metilación del DNA (Angulo y cols., 1998).

Existen genes de susceptibilidad que favorecen el desarrollo del cáncer de próstata y de defectos genéticos somáticos. En la próstata bajo condiciones normales existe un equilibrio controlado por los andrógenos entre los factores reguladores del crecimiento prostático y los efectos inhibidores; cuando ese equilibrio se altera, se desarrollan los genes de susceptibilidad, que favorecen que se manifieste el cáncer de próstata. En concreto, se han observado determinados polimorfismos de genes que aumentan el riesgo del cáncer de próstata.

1.2.1. Factores de riesgo

Se conocen tres factores de riesgo de carcinogénesis, que, a su vez, se relacionan con la hipótesis del déficit de vitamina D, la edad, la etnia y la latitud. (Pienta y cols., 1996).

El riesgo de desarrollar un cáncer de próstata aumenta con la edad, de manera que el 80% de los pacientes afectados son mayores de 65 años. Además en edades avanzadas, la concentración plasmática de vitamina D es menor (Russell, 2000).

Los hombres de piel oscura tienen un riesgo más elevado de desarrollar cáncer de próstata (Matsuoka y cols., 1987 así lo determina en hombres negros que viven en Estados Unidos). El mayor contenido de melanina en la piel dificulta la síntesis de vitamina D a partir de las radiaciones ultravioletas (menor concentración de 25-hidroxivitamina D₃), que es una de las fuentes más importantes (Bell, 1998). En el continente asiático, concretamente en Japón, se detectan valores de 25-hidroxivitamina D₃ más elevados, debido a que la alimentación en esa zona se basa fundamentalmente en pescados grasos, que además de ser ricos en ácidos grasos omega 3, lo son en vitamina D (Nakamura y cols., 2002). En cambio, en los japoneses que fueron a vivir a Estados Unidos y, con ello, cambiaron la dieta aumentó el riesgo de padecer cáncer de próstata (Haenszel y Kurihara, 1968).

En algunos estudios epidemiológicos se observó que las personas que viven en regiones de mayor latitud del norte de Estados Unidos donde la radiación ultravioleta es menor, presentan un riesgo más elevado de desarrollar cáncer de próstata. La hipótesis es que ese hecho está estrechamente relacionado con la síntesis de vitamina D (Hanchette y Schwartz, 1992). Son numerosos los estudios que han relacionado la radiación ultravioleta solar y los valores de vitamina D (Schwartz y Skinner, 2007). Cabe destacar un estudio epidemiológico de 450 casos de enfermos de cáncer de próstata avanzado y 455 controles en el que se midió la radiación ultravioleta recibida; se observó que se reducía el riesgo de padecer un cáncer de próstata avanzado en aquellos varones con mayor tasa de exposición solar medida (RR 0,5, IC 95% 0,3-0,8) (John y cols., 2005).

1.2.2. Genes de alta penetrancia

Existen varios genes de alta penetrancia implicados en la etiopatogenia del cáncer prostático; el primero que se identificó fue el *HPC1* (*hereditary prostate cancer 1 gene*) en el cromosoma 1q24-25. Posteriormente se han estudiado otros loci implicados en el cáncer de próstata hereditario: *RNASEL* que codifica una ribonucleasa que produce apoptosis celular ante una infección viral localizado en el cromosoma 1q24-25 y que se asocia a *HPC1*; también el gen *MSR1* en el cromosoma 8p22; el gen *CYP17* en el cromosoma 10q24.3; el gen *SRD5A2*, que codifica la 5 α -reductasa tipo 2 y se encuentra en el cromosoma 2p23; el gen *AR* localizado en el cromosoma Xq11.12; y, por último, el gen *ELAC2* que se halla en el cromosoma 17p11.

1.2.2.1. Cáncer de próstata hereditario

El 90% de los casos diagnosticados de cáncer de próstata son esporádicos, por tanto la predisposición genética familiar con la implicación de numerosos genes interviene en casi el 10% de los tumores malignos prostáticos.

Se ha observado que el riesgo de que un varón padezca un cáncer de próstata si tiene un familiar de primer grado con cáncer de próstata es de 2,5 (2,1-2,8) veces mayor. Si tiene un hermano con cáncer de próstata, el riesgo se eleva a 3,4 (2,9-4,1) veces y si el varón tiene más de un familiar de primer grado diagnosticado de neoplasia prostática, se considera que el riesgo es 4,6 (2,7-8) veces mayor (Alcaraz y cols., 2005).

Los andrógenos contribuyen activamente en el inicio y desarrollo del cáncer de próstata. Hay 3 genes relacionados con esas hormonas; el más importante es el receptor de andrógenos, o *AR*, que codifica el polimorfismo que afecta a la poliglutamina (CAG). Influye en las diferencias étnicas, así, la piel negra se relaciona con repeticiones CAG más cortas, hecho que conlleva mayor riesgo de padecer cáncer de próstata al aumentar la transcripción del receptor androgénico, mientras que en los hombres asiáticos las repeticiones CAG son más largas (Beilin y cols., 2000).

Otro gen es el *CYP17*, que codifica el citocromo P459C17 α . Tiene dos alelos, A1 y A2; es su alelo A1 el que se asocia con un riesgo más elevado de padecer cáncer de próstata. En individuos afroamericanos se han detectado repeticiones TA más largas del gen *SRD5A2*.

1.2.3. Defectos genéticos somáticos

Los genes que controlan el número y la estructura de los cromosomas pueden sufrir mutaciones implicadas en el proceso de la carcinogénesis prostática. Se detectan dos tipos de alteraciones, los genes supresores tumorales y las ganancias cromosómicas.

La localización más común de supresión tumoral es el cromosoma 8p. Suele observarse en la etapa inicial de la carcinogénesis prostática, y, con frecuencia,

las pérdidas en 8p se asocian a ganancias de 8q. La heterocigosidad de un gen supresor de tumores comporta que dicho gen tenga un alelo normal y un alelo mutado. La pérdida de heterocigosidad del brazo corto del cromosoma 8 se localiza habitualmente en las regiones 8p23, 8p21 y 8p12-22 (Bookstein, 1994). Pero la pérdida en 8q se pueden observar frecuentemente en las neoplasias intraepiteliales prostáticas (PIN) de alto grado consideradas como lesiones precursoras y en las etapas precoces de la carcinogénesis prostática.

El gen *Nkx3.1* se localiza en el cromosoma 8p21 y en ratones heterocigotos en los que se producía la pérdida de un alelo de ese gen, se detectaba hiperplasia epitelial y cambios displásicos (Bhatia-Gaur y cols., 1999). Actualmente se sigue investigando la participación del *Nkx3.1* en el desarrollo del cáncer de próstata en humanos.

1.3. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico del cáncer de próstata se debe realizar mediante tacto rectal, determinación plasmática del antígeno prostático específico y una ecografía transrectal con biopsia prostática para demostrar histológicamente la presencia de células malignas.

1.3.1. Antígeno prostático específico

El antígeno prostático específico (conocido habitualmente como PSA por las siglas de su nombre en inglés: *prostate specific antigen*) es una glicoproteína de 34 KDa que pertenece a la familia de las calicreínas humanas (hK) con actividad enzimática quimiotripsina serinproteasa (Wang y cols., 1979) (Tremblay y cols., 1998). Se sintetiza mayoritariamente en las células epiteliales prostáticas, por lo que es un marcador tumoral que de forma aislada presenta escasa sensibilidad y poca especificidad (Harris y Ruckle, 1996). Se analiza su contenido en la sangre y se considera normal la concentración inferior a 4 ng/dl (Sengupta y cols., 2008). Otras formas de PSA útiles para el diagnóstico y la evaluación son la velocidad de PSA, la densidad de PSA y las formas moleculares de PSA (Becker y Lilja, 1997). El tiempo de doblaje del PSA es un marcador útil para pronosticar los resultados que se obtendrán mediante el tratamiento del cáncer de próstata; se determina mediante análisis de regresión (Arlen y cols., 2002). Cuanto más altos son los valores séricos de PSA, mayor es el riesgo de padecer cáncer de próstata (fig. 8).

Figura 8. Relación entre la concentración del PSA y el riesgo de padecer cáncer prostático. Tomado de Heidenreich y cols., 2008.

PSA (ng/dl)	Valor pronóstico positivo de cáncer de próstata (%)
0-1	2,8-5
1-2,5	10,5-14
2,5-4	22-30
4-10	41
> 10	69

1.3.2. Tacto rectal

Para un buen diagnóstico es imprescindible realizar un tacto rectal. Si en el tacto se palpa algún nódulo debe realizarse una biopsia prostática, independientemente del valor del PSA. Se ha observado que la determinación del PSA junto con la realización del tacto rectal aumenta la tasa de diagnóstico temprano del cáncer de próstata. El grupo de investigación de Catalona estudió 6.630 varones mayores de 50 años, a los que se les realizó una biopsia prostática si el PSA era superior a 4 ng/dl o si se detectaba alguna patología en el tacto rectal. Eso ocurrió en 1.167 pacientes, de los que 264 dieron una biopsia positiva para cáncer. El análisis del PSA aislado detectaba más

carcinomas prostáticos que únicamente el tacto rectal, y se observaba un aumento de la tasa de detección de cáncer al combinar ambos métodos (Catalona y cols., 1994).

1.3.3. Biopsia prostática

La biopsia prostática transrectal ecodirigida es la exploración complementaria fundamental para diagnosticar un cáncer de próstata, ya que permite realizar el análisis histopatológico del tejido prostático. Al realizar una ecografía transrectal se pueden observar áreas hipoecoicas en la zona periférica prostática, que sugieren neoplasia en algunos casos, si bien mayoritariamente no se observan alteraciones en la glándula prostática. Hodge y colaboradores (1989) analizaron 251 pacientes, a los que se les practicó una biopsia prostática transrectal ecoguiada por sextantes. En el 90% de ellos se identificó un área hipoecoica en la ecografía, y de estos, en el 66% se encontró cáncer prostático mediante la biopsia.

Posteriormente se ha debatido sobre el hecho de ampliar el número de cilindros prostáticos en la biopsia para aumentar la tasa de detección de cáncer. El grupo de Ravery evaluó 162 pacientes de los que se sospechaba que padecían cáncer de próstata. Se les realizó una biopsia prostática ampliada a 10 cilindros (5 del lóbulo derecho y 5 del lóbulo izquierdo). La tasa de detección de cáncer fue del 40,1%. Comparando estos datos con otras series en los que se tomaban cuatro cilindros adicionales laterales en el mismo

plano y con un ángulo de 45°, aumentaba la tasa un 3,1% (Ravery y cols., 1999).

Davis y colaboradores (2002) encuestaron a 88 urólogos del área de Florida sobre su metodología en la realización de las biopsias prostáticas; sólo el 17% realizaban biopsias por sextantes, mientras que el resto obtenía, como mínimo, 8 cilindros. Posteriormente Djavan y sus colaboradores de la Universidad de Viena introdujeron el ajuste del número óptimo de cilindros prostáticos en función de la edad del paciente y del volumen total de la glándula. Remzi y colaboradores (2005) analizaron 502 pacientes, a los que se les practicó una biopsia prostática utilizando este nomograma; los resultados se compararon con un grupo control de 1.051 pacientes a los que se les practicó una biopsia por octantes y a los que transcurridas de seis a ocho semanas se les repetía la exploración. Se observó que la aplicación del nomograma de Vienna aumentaba significativamente la tasa de detección de cáncer de próstata respecto a la biopsia por cuadrantes. Además, demostraron que sólo el PSA total y el número de cilindros prostáticos eran factores independientes indicadores de cáncer prostático.

1.4. ESTADIFICACIÓN

El estadiaje del cáncer de próstata se puede realizar desde un punto de vista clínico, histológico y la combinación de diversos factores permiten establecer

tablas o nomogramas que evalúan el riesgo tumoral y con ello el pronóstico del cáncer.

1.4.1. Aspecto clínicos

Desde el punto de vista clínico existen varios sistemas de clasificación del cáncer de próstata, el más utilizado es el denominado tumor ganglio metástasis (TNM).

1.4.1.1. Clasificación del TNM

Para la estadificación del cáncer de próstata se recomienda la clasificación TNM, establecida por la International Union Against Cancer (UICC) en 2009, que permite determinar la extensión tumoral local, regional y a distancia del cáncer de próstata (Sobin y cols., 2008).

❖ Tumor primario (T)

- TX: No puede ser evaluado.
- T0: No hay prueba de tumor primario.
- T1: Tumor clínicamente no aparente, no palpable ni visible mediante imágenes.
 - T1a: Hallazgo histológico incidental del tumor en menos del 5% del tejido resecado.
 - T1b: Hallazgo histológico incidental del tumor en más del 5% del tejido resecado.
 - T1c: Tumor identificado por biopsia.

- T2: Tumor confinado dentro de la próstata.
 - T2a: El tumor afecta el 50% de un lóbulo o menos.
 - T2b: El tumor afecta más del 50% de un lóbulo pero no ambos lóbulos.
 - T2c: El tumor afecta ambos lóbulos.
- T3: El tumor se extiende a través de la cápsula prostática.
 - T3a: Extensión extracapsular (unilateral o bilateral).
 - T3b: El tumor invade vesículas seminales.
- T4: El tumor está fijo o invade estructuras adyacentes distintas a las vesículas seminales: el cuello de la vejiga, el esfínter externo, el recto, los músculos elevadores o la pared de la pelvis.

❖ Ganglios linfáticos regionales (N)

- NX: Los ganglios linfáticos regionales no fueron evaluados.
- N0: No existe metástasis ganglionar linfática regional.
- N1: Metástasis en ganglios linfáticos regionales.

❖ Metástasis a distancia (M)

- MX: Metástasis a distancia que no puede ser evaluada.
- M0: No hay metástasis a distancia.
- M1: Metástasis a distancia.
 - M1a: Ganglios linfáticos no regionales.
 - M1b: Hueso.
 - M1c: Otras localizaciones con enfermedad ósea o sin ella.

1.4.2. Aspecto histológicos

Desde el punto de vista histológico existen diversos criterios para diagnosticar cáncer de próstata, así como diversas formas de clasificarlo.

1.4.2.1. Tipos histológicos

Desde el punto de vista anatomopatológico existen unos criterios morfológicos para realizar el diagnóstico de cáncer de próstata. El tipo de tumor más frecuente es el adenocarcinoma acinar (más del 90%), otros tipos histológicos hallados son adenocarcinoma ductal, adenocarcinoma con diferenciación mucinosa, adenocarcinoma con áreas de células en anillo de sello, carcinoma adenoescamoso, carcinoma sarcomatoide, carcinoma urotelial, carcinoma adenoide quístico y carcinoma de células pequeñas que está pobremente diferenciado; en este último no se puede analizar la gradación de Gleason. En la biopsia prostática no se han hallado actualmente factores indicadores indiscutibles, únicamente pronósticos que han de constar en la descripción anatomopatológica, como son el tipo y el grado histológico, el número de cilindros invadidos y el volumen tumoral (de Torres, 2006).

Epstein analizó 434 cilindros prostáticos por aguja fina de biopsia; en el 69% de ellos se diagnosticó cáncer. De los hallagos morfológicos mínimos que permiten diagnosticar un adenocarcinoma, se hallaron microglándulas (80%), aumento del núcleo (77%), nucleolo prominente (76%), secreción acidófila

(53%), mucina ácida (34%), cristaloides (25%), invasión perineural (3%) y pérdida total de las células basales (100%). Se visualizan tres o más de estas características entre las glándulas malignas (Epstein, 1995). Por su parte, Vélez y colaboradores (2005) revisaron 200 muestras de biopsias prostáticas con diagnóstico de adenocarcinoma y las características histológicas que observaron con mayor frecuencia son nucleolo prominente (96%), nucleolo marginal (82%), material eosinofílico amorfo intraluminal (79%), nucleolo múltiple (56%) y cristaloides intraluminales (40%).

Se debe hacer el diagnóstico diferencial con la hiperplasia adenomatosa atípica (HAA). Para ello hay que tener en cuenta que en los focos de adenocarcinoma no hay células basales; esa es la razón de que en la inmunohistoquímica de la HAA se detecta 34-beta-E12 (Bostwick y cols., 1993). Algunos autores consideran la HAA como lesión precursora del adenocarcinoma de la zona transicional (de Torres, 2007).

Cabe señalar que recientemente se ha introducido un marcador de adenocarcinoma de próstata que se expresa en las glándulas atípicas sin células basales, el P504S (Helpap y Egevad, 2009).

1.4.2.2. Sistemas de clasificación del cáncer de próstata

Existen diversas formas de clasificación del cáncer de próstata, entre los que destacan cuatro: Gaeta (1981); Mostofi (1976), que establece tres grados según la anaplasia nuclear y el grado de diferenciación nuclear; Utz y Farrow

(1969), que establece la clasificación en cuatro grados; y el de Gleason (1966), que actualmente es el de mayor aceptación y el más utilizado, y ha presentado varias modificaciones (Gleason y Mellinger, 1974). Está basado en el estudio del Grupo de Investigación Urológica de la Administración Cooperativa de Veteranos (VACURG). Este sistema estándar de graduación del carcinoma prostático está basado en el grado de diferenciación glandular (Gleason, 1966).

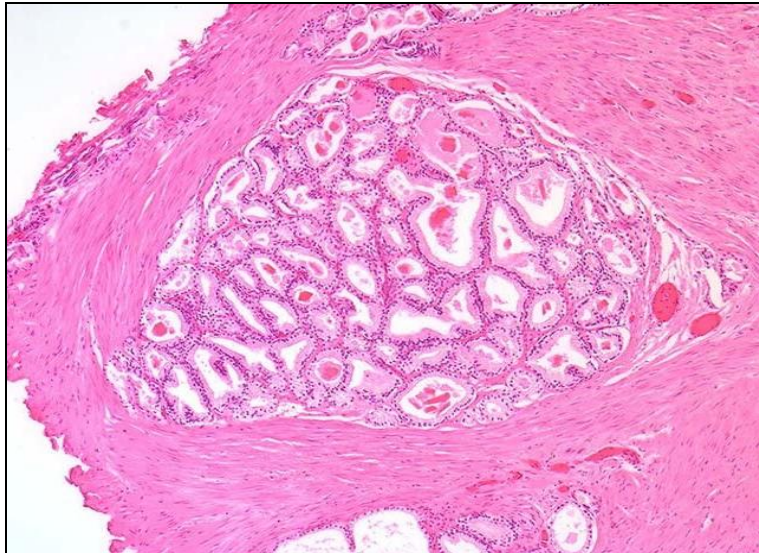
1.4.2.2.1. Suma de Gleason

En el sistema de gradación de Gleason se determina un patrón primario y uno secundario, a los que se les asigna desde grado 1 (mejor diferenciado) hasta grado 5 (peor diferenciado), y se obtiene una puntuación de Gleason que es la suma de ambos patrones, y que va de 2 a 10. Para poder definir el grado de diferenciación se requiere un patrón en la biopsia que sea como mínimo del 5%, por tanto si el tejido biopsiado es inferior, no se puede establecer una suma de Gleason.

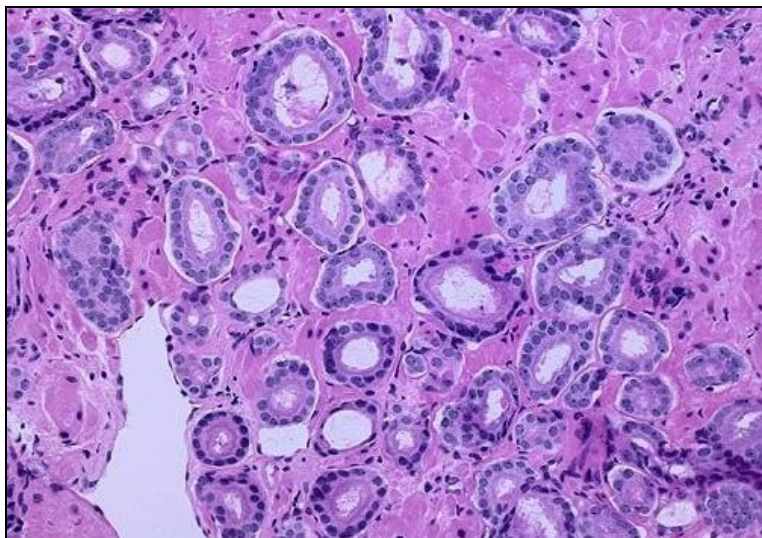
Cuando la suma de Gleason es 1 se observan glándulas pequeñas bien delimitadas sin estroma intermedio; cuando es 2, las glándulas son más irregulares y separadas por poco estroma; Gleason 3 muestra glándulas irregulares con escaso e invadido estroma; en el Gleason 4 se observa anaplasia nuclear sin glándulas, tras el consenso de la International Society of Urological Pathology (ISUP) en el año 2005; y en el Gleason 5 se detectan células anaplásicas pequeñas (fig. 9).

Figura 9. Aspecto de los diferentes valores de la suma de Gleason

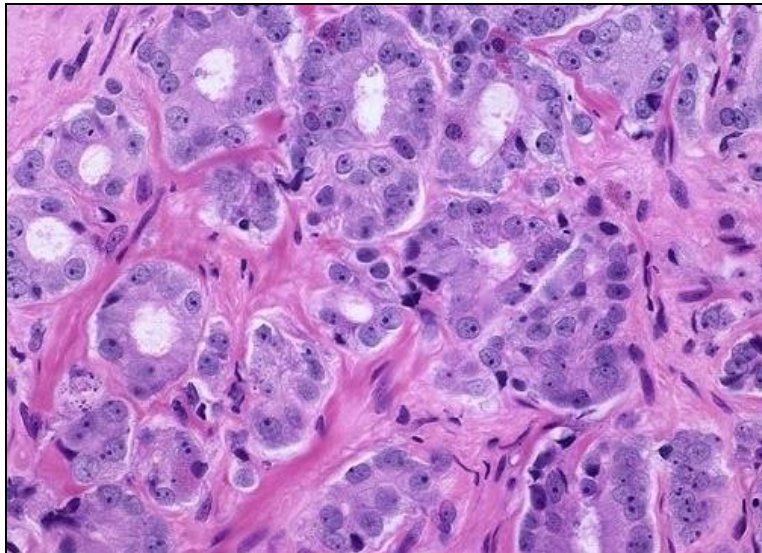
FUENTE: cedido por Dra. De Torres (Servicio de Anatomía Patológica Hospital Vall d'Hebrón).



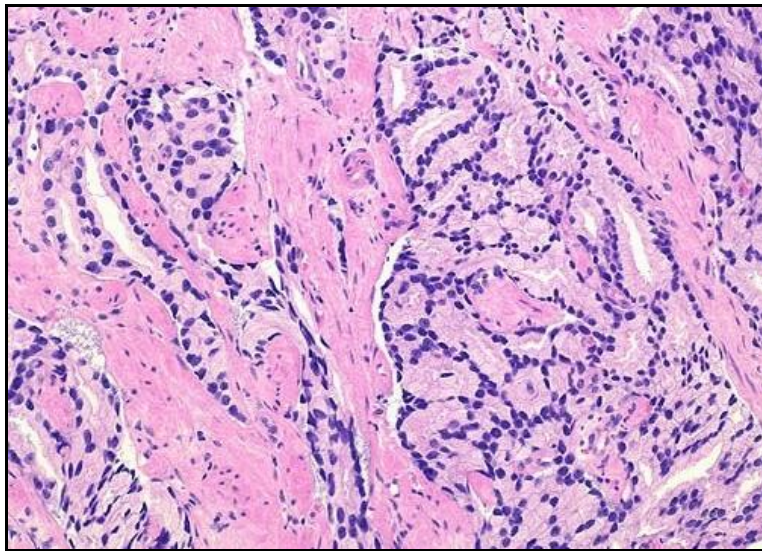
9.1. Gleason 1



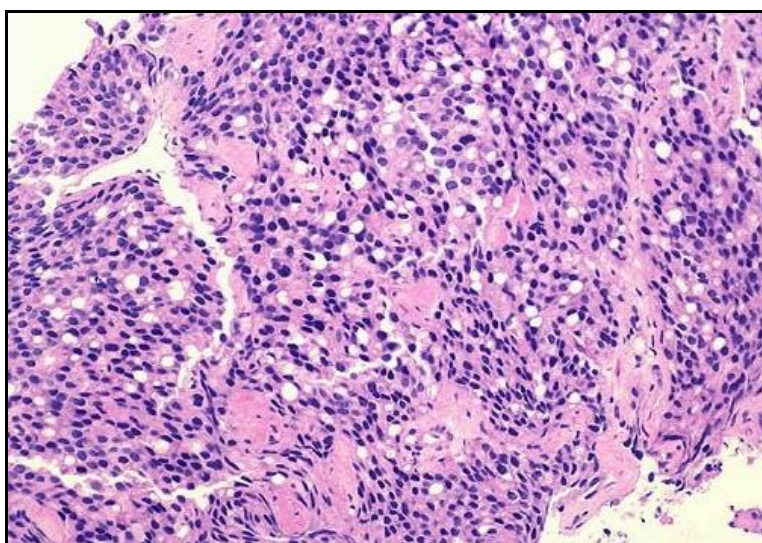
9.2. Gleason 2



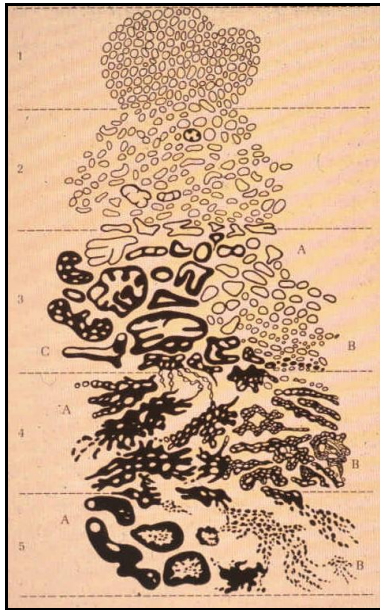
9.3. Gleason 3



9.4. Gleason 4



9.5. Gleason 5



9.6. Esquema de los 5 grados de Gleason

(Tomado de Epstein y cols., 2005)

El sistema de gradación de Gleason es importante para determinar la agresividad del tumor y pronosticar los resultados tras la realización de una prostatectomía radical. Se ha observado discordancia entre la suma de Gleason de la biopsia prostática y el de la pieza de prostatectomía radical (Vira y cols., 2008). Por otra parte, hay que señalar que este parámetro ha presentado variaciones y adaptaciones a lo largo del tiempo, hasta alcanzar un consenso internacional de 80 patólogos de 20 países especializados en urología (Epstein y cols., 2006).

1.4.3. Criterios de riesgo de d'Amico

Se han publicado varios modelos para determinar la posibilidad de recurrencia tras el tratamiento realizado (prostatectomía radical, radioterapia) en el cáncer

de próstata organo-confinado; tales modelos utilizan los nomogramas de Kattan, las tablas de Partin y un modelo predictivo de estratificación d'Amico (Hernández y cols., 2007).

En 1998, d'Amico y colaboradores desarrollaron una clasificación ampliamente utilizada, que estratificaba los pacientes en tres grupos (riesgo bajo, intermedio y alto) basándose en el estadio clínico según la clasificación TNM, el valor de PSA total y la puntuación de Gleason de la biopsia prostática. Las tres categorías se definen como sigue (d'Amico y cols., 1998) (Vira y cols., 2008):

- Bajo riesgo: pacientes con estadio clínico T1c o T2a, PSA menor o igual a 10 ng/ml y puntuación de Gleason menor o igual a 6. Es imprescindible que cumpla los tres criterios para poder considerarse de riesgo bajo.
- Riesgo intermedio: pacientes con estadio clínico T2b o concentración de PSA total entre 10 y 20 ng/ml o Gleason de 7.
- Riesgo alto: pacientes con estadio clínico T2c o concentración plasmática de PSA superior a 20 ng/ml o puntuación de Gleason de 8 o superior.

Tanto en el riesgo intermedio como en el alto, cumplir uno de los tres criterios es suficiente para poder clasificar a un paciente en una categoría de riesgo concreta.

La supervivencia libre de recidiva bioquímica a los cinco años en los pacientes de riesgo bajo era del 80%, en los de riesgo intermedio del 60%, y en los de riesgo alto, del 30% (d'Amico y cols., 1998). Progresivamente, el porcentaje de pacientes con tumores organo-confinados ha aumentado (Ung y cols., 2002).

Existe un metaanálisis que comprende 15 estudios. Entre todos abarcan 14.839 pacientes sometidos a prostatectomía radical en los que se evaluó el grado de concordancia entre la suma de Gleason de la biopsia prostática y el de la pieza de prostatectomía radical. El 69% de los casos fueron carcinoma de riesgo bajo; el 25%, de grado intermedio; y el 6%, de riesgo alto detectado en la biopsia prostática. Los resultados fueron distintos cuando se analizó la pieza quirúrgica. En este caso el 47% de los pacientes eran de riesgo bajo; el 44%, de riesgo intermedio; y el 9%, de riesgo alto. Así, al aumentar el grado tumoral, la sensibilidad disminuye, por lo que es más difícil identificar el carcinoma de riesgo alto, ya que no existe una correlación entre la suma de Gleason de la biopsia y la que se encuentra después en la pieza de prostatectomía radical (Cohen y cols., 2008).

Hernández y colaboradores analizaron 6.652 varones con cáncer de próstata localizado a los que se les realizó una prostatectomía radical; solamente el 4,9% de ellos pertenecían al grupo de riesgo alto. La supervivencia libre de recidiva bioquímica según el riesgo fuera bajo, intermedio y alto era del 94,5, el 76,6 y el 54,6%, respectivamente (Hernández y cols., 2007).

Se han descrito modificaciones del modelo de d'Amico, que incluyen el porcentaje de cilindros prostáticos positivos en la biopsia (Lieberfarb, 2002). También la Clínica Mayo realizó la validación de la clasificación de d'Amico y concluyen que es útil para determinar la progresión y la estimación de la supervivencia (Boorjian y cols., 2008).

1.5. HOMEOSTASIS DEL METABOLISMO CALCIO/FÓSFORO

La parathormona (PTH) y el metabolito activo de la vitamina D, la 1,25-dihidroxitamina D₃, constituyen un sistema regulador de la homeostasis del calcio (Ca²⁺). El calcio es un mineral abundante en el organismo; el 99% está en forma de fosfatos (cristales de hidroxapatita) y un 1% restante constituye el calcio ionizado, presente en el líquido intravascular, intersticial e intracelular. El punto de fijación del calcio ionizado sérico es de 5 mg/dl, aproximadamente, y la concentración plasmática de calcio total es de 9,5-10,5 mg/dl, ya que en cada decilitro de suero hay 5 mg de calcio ligado a proteínas (predominantemente a albúmina y, en menor proporción, a globulinas).

La concentración de calcio ionizado en el líquido que rodea a la célula paratiroidea es el principal factor regulador de la secreción de PTH. Si disminuye la concentración de calcio, aumenta la secreción de PTH. Este sistema homeostático de bioretroalimentación negativa es el mecanismo de regulación del calcio y de la PTH en el organismo.

1.5.1. Parathormona

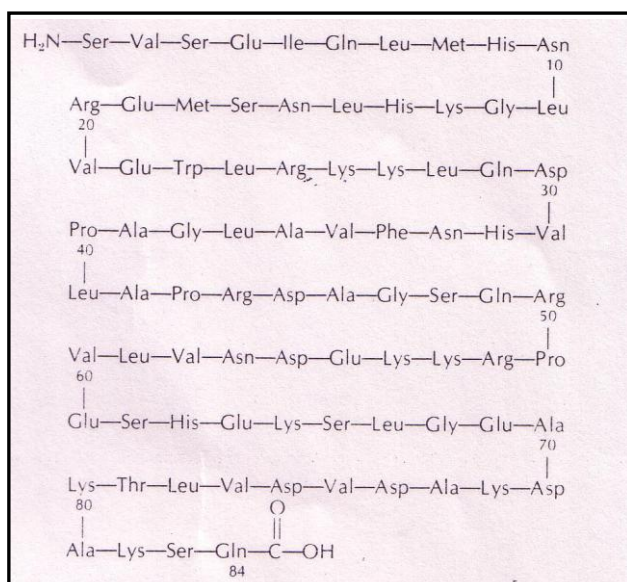
Las glándulas paratiroideas provienen, desde el punto de vista embriológico de la tercera bolsa faríngea (las inferiores) y de la cuarta (las superiores). Son de

tejido conectivo y están vascularizadas por sinusoides. Están formadas por células oxifílicas y células principales, que son las que sintetizan la PTH.

La PTH intacta es un polipéptido de 84 aminoácidos con una vida media corta, que se sintetiza inicialmente como pre-prohormona, compuesta por 110 aminoácidos (fig. 10). La medición de la hormona circulante consta de fragmentos C-terminales (70-95%), hormona intacta (5-30%) y fragmentos N-terminales. Los residuos N-terminales están implicados en la estimulación del sistema adenilciclasa (AC-PKA), mientras que los carboxiterminales participan en la estimulación del sistema fosfolipasa C (PLC-PCK). La cadena 1-34 de la secuencia de esta hormona es la que mejor afinidad presenta con el receptor transmembrana e induce un potente efecto anabólico, fundamentalmente por ser de administración intermitente con recuperación de la masa ósea perdida con matriz de buena calidad y mayor resistencia.

Los ensayos de medición son altamente específicos. Se puede determinar la PTH intacta (es el método preferible y se realiza mediante IRMA [*immunoradiometric assay*] o ICMA [*immunochemiluminometric assay*] o bien la porción media, que incluye cadena inactiva.

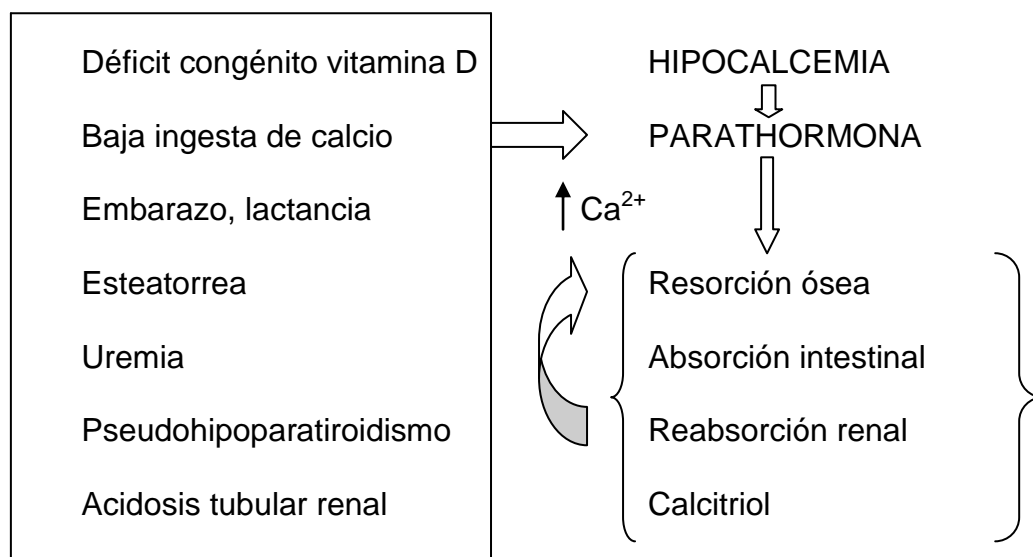
Figura 10. Estructura de la parathormona. Tomado de Holick, 2010



La concentración de PTH sérica media normal es de 0,3 ng/ml y para su medición se requieren métodos de radioinmunoensayo. Está estrechamente regulada por los valores plasmáticos de Ca^{2+} ; Así, la hipocalcemia produce aumento de la secreción de PTH. Las funciones de esta hormona son fundamentalmente la estimulación de la resorción ósea (se favorece la hipofosfatemia), la reabsorción tubular renal de Ca^{2+} , el aumento de la concentración de fósforo plasmático en el hueso y el intestino, lo que conlleva que se incremente la fosfaturia en el riñón; en este proceso contribuye el sistema adenosínmonofosfato (AMC) cíclico, el aumento de la absorción intestinal de calcio y la síntesis de calcitriol en el túbulo renal (Bikle, 1997). Todos esos efectos producen un aumento de la calcemia; por lo tanto, se

puede considerar la PTH una hormona con acción hipercalcemiante e hipofosfatemiante, que, además, compensa la acidosis metabólica del equilibrio ácido-base (fig. 11).

Figura 11. Factores que influyen en la secreción de la parathormona



1.5.2. Vitamina D

La vitamina D es una hormona esteroidea liposoluble que participa junto con la PTH y la calcitonina en la homeostasis del metabolismo del calcio, de manera que influye en la resorción y el remodelado óseo.

1.5.2.1. Síntesis de la vitamina D

La irradiación ultravioleta UVB ($\lambda = 290-315$ nm) de los rayos solares contribuye a la conversión de los diferentes precursores de la vitamina D hasta su síntesis final (Tokar y Webber, 2005).

La principal provitamina animal sintetizada en la piel es el 7-dehidrocolesterol, que mediante la acción de la luz solar se convierte en colecalciferol o vitamina D₃ (Holick y cols.,1990) (tabla 2). La provitamina de origen vegetal es el ergosterol, que difiere del 7-dehidrocolesterol en que tiene un doble enlace entre C₂₂ y C₂₃; este es el precursor de la vitamina D₂ o calciferol (fig. 12).

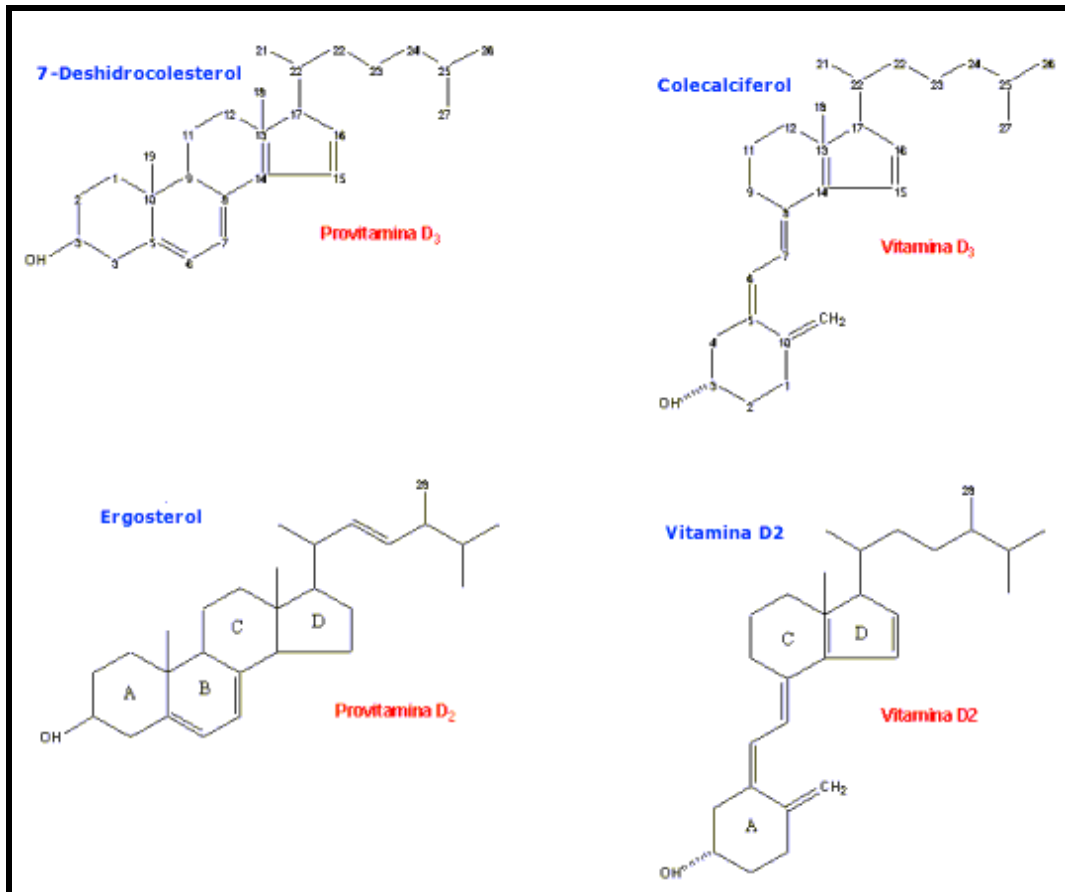
Tabla 2. Dosis diarias de vitamina D recomendadas por la Organización

Mundial de la Salud. FUENTE: Departamento de Nutrición del IOM (Institute of Medicine) y la USDA (United States Department of Agriculture).

Edad (años)	Dosis:	
	$\mu\text{g}/\text{día}$	Unidades internacionales
0-13	5	200
14-18	5	200
19-50	5	200
51-70	10	400
> 70	15	600

Figura 12. Estructura bioquímica de precursores de la vitamina D.

Tomado de Hardman J.G.y Limbird L.E., 2006.



La síntesis renal es la mayor fuente de producción de 1,25-dihidroxitamina D3, que se produce de forma autocrina o paracrina (Zehnder y cols., 2001). También existe producción extrarrenal a través de los queratinocitos de la piel, en el colon y en las células prostáticas (Schwartz y cols., 1998); por ello, los valores plasmáticos de esta hormona se mantienen estables en los pacientes anéfricos (Barbour y cols., 1981).

1.5.2.2. Precursores de la vitamina D

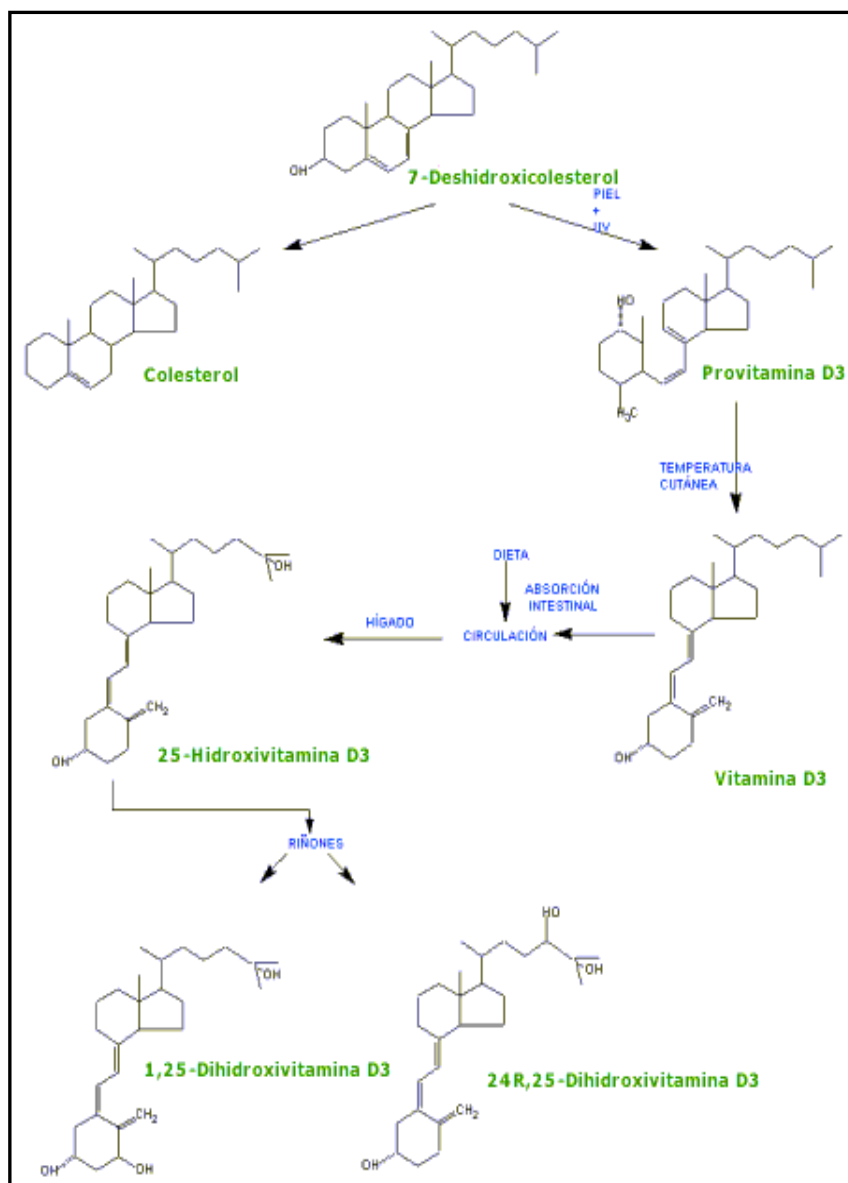
El colecalciferol es el metabolito inactivo de la vitamina D, por ello se convierte en 25-hidroxivitamina D₃ (25-OH-D₃) —o 25-hidroxicolecalciferol—, mediante la enzima 27-hidroxilasa de las enzimas hepáticas, que va a la circulación sanguínea. Posteriormente en el riñón, concretamente en la membrana interna de las mitocondrias de los túbulos proximales (Zehnder y cols., 1999) se produce la segunda hidroxilación de la 25-hidroxivitamina D₃, mediante la actividad de la enzima 1 α -hidroxilasa, y se transforma en 1,25-dihidroxivitamina D₃ —o dihidroxicolecalciferol o calcitriol o 1,25-OH₂-D₃—. Las dos hidroxilaciones sucesivas están mediadas por enzimas de la superfamilia del citocromo p450 (Okuda y cols., 1995). La primera ocurre en el hígado mediante la 27-hidroxilasa mitocondrial en posición C-25; a continuación tiene lugar la segunda, mediada por la 1 α -hidroxilasa en posición C-1. El gen de la 1 α -hidroxilasa está localizado en el cromosoma 12q13.1-q13.3. La enzima 24-hidroxilasa que se expresa sobre todo en las mitocondrias de los túbulos renales (Iwata y cols., 1995) —aunque también está presente en otras células diana— inactiva la 25-hidroxivitamina D₃ y la 1,25-dihidroxivitamina D₃ (Armbrecht y cols., 1991). Además, permite la síntesis local de 24,25-dihidroxivitamina D₃ (St-Arnaud y Glorieux, 1998) (fig. 13).

Como se ha mencionado anteriormente, los rayos ultravioletas permiten la conversión de los diferentes compuestos hasta la síntesis de la vitamina D en

dosis suficiente sin que sean necesarios aportes dietéticos adicionales (pescados grasos, aceite de hígado de pescado, etc.) (Tokar y Webber, 2005).

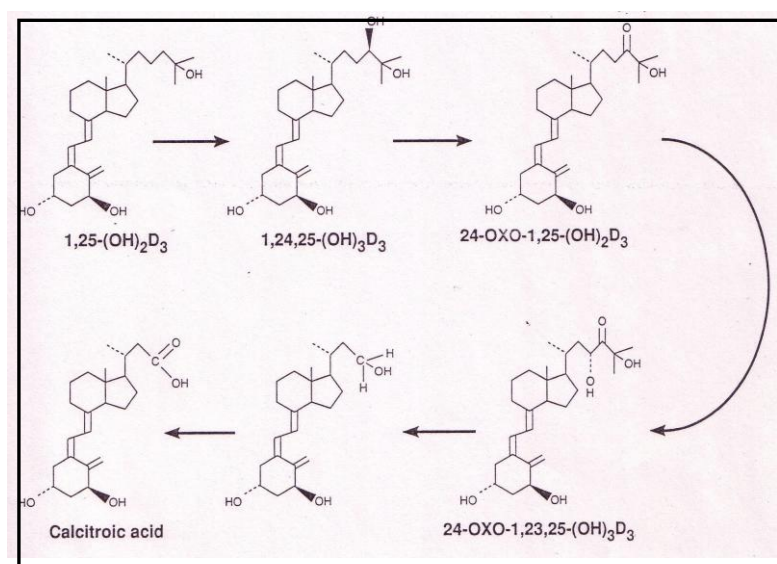
Figura 13. Mecanismo de activación de la vitamina D.

Tomado de Hardman J.G.y Limbird L.E., 2006.



Las enzimas implicadas están constituidas por la ferredoxina y el citocromo P450. También contribuye a esta vía de oxidación C24 la enzima 24-hidroxilasa (fig. 14).

Figura 14. Vía de oxidación C-24. Tomado de Jones y cols., 1998.



Se considera que la concentración sérica del precursor 25-hidroxivitamina D_3 es la variable que mejor refleja el metabolismo de la vitamina D por su mayor tiempo de semivida media plasmática (3-4 semanas); además es el más abundante en formas circulantes, ya que la 1,25-dihidroxivitamina D_3 , a pesar de ser más activa, es más lábil, y, por lo tanto, su semivida media es más corta

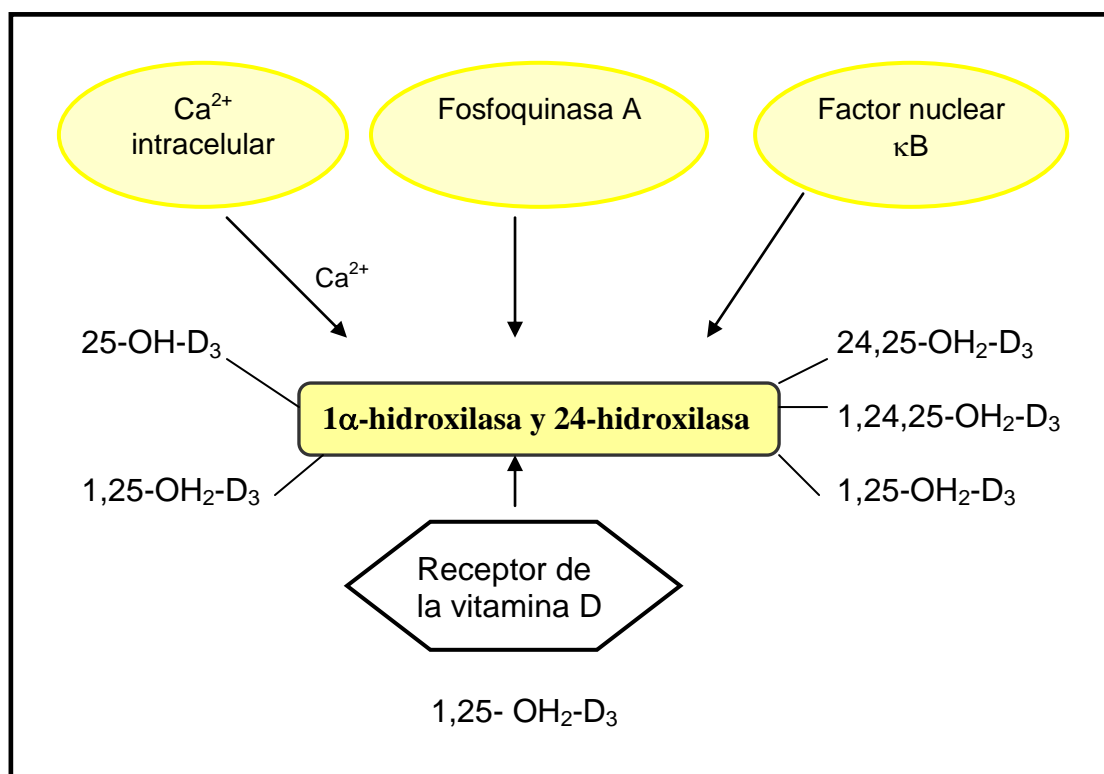
(4-6 horas). La 1,25-dihidroxitamina D₃ es sintetizada en mayor proporción en el riñón mediante la enzima 1 α -hidroxilasa (Zehnder y cols., 1999), si bien no es la única fuente, ya que hay otras células que tienen actividad 1 α -hidroxilasa, como las células prostáticas (Schwartz y cols., 1998), los macrófagos (Dusso y cols., 1994) y los queratinocitos (Bikle, 1997) entre otros (fig. 15).

Por lo que respecta a la expresión extrarenal de la enzima 1 α -hidroxilasa, inicialmente se detectó en los macrófagos pulmonares y en los nódulos linfáticos de la sarcoidosis un aumento de la actividad de la 1 α -hidroxilasa con una regulación independiente de la localización renal (Adams y cols., 1985).

Zehnder y cols. (2001) analizaron mediante inmunohistoquímica y análisis Western Blot la localización tisular de la enzima 1 α -hidroxilasa. Se detectó en los queratinocitos (placas de psoriasis), los centros germinales de nódulos linfáticos, los macrófagos (sarcoidosis), el colon, la región medular de la glándula adrenal, el páncreas, la glándula paratiroides, el cerebelo y el tejido placentario (células estromales, citotrofoblásticas y sincitiotrofoblásticas).

Figura 15. Mecanismos implicados en la regulación de la actividad

de la 1α -hidroxilasa. Adaptado de Hewison y cols., 2000.



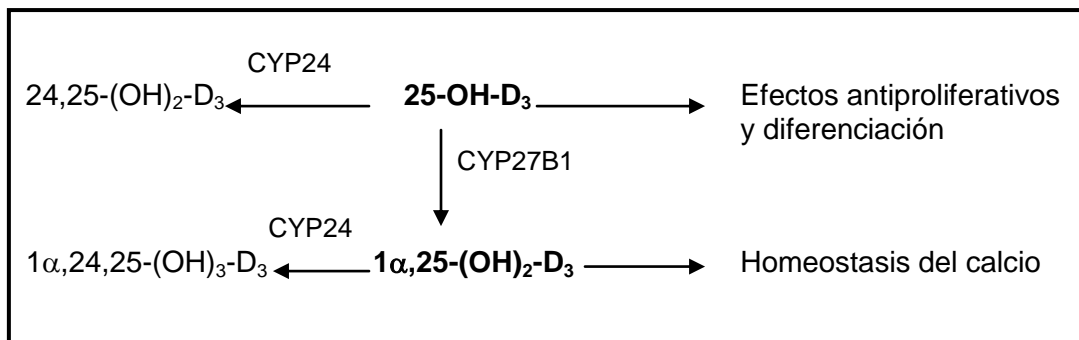
Mediante la 1α -hidroxilasa, la 1,25-dihidroxitamina D_3 se hidroxila a $1\alpha,24,25$ -dihidroxitamina D_3 , y la 25-hidroxitamina D_3 se hidroxila mediante la misma enzima a 24,25-dihidroxitamina D_3 . Al realizar análisis inmunohistoquímicos se ha observado que en ratas la enzima 24-hidroxilasa se halla en las células epiteliales tipo 1 y 2 de la zona periférica de la glándula prostática en mayor abundancia que en la zona ventral (Tuohimaa y cols., 2001).

Tanto la 1,24,25-dihidroxitamina D₃ como la 24,25-dihidroxitamina D₃ presentan menor actividad que la 1,25-dihidroxitamina D₃. En las células prostáticas, el metabolito 1 α ,25-dihidroxitamina D₃ en concentraciones fisiológicas se inactiva, y se activa la 25-hidroxitamina D₃ (Lou y cols., 2004) (fig. 16).

Figura 16. Sistemas endocrinos de la vitamina D, mediados

por 1 α ,25-dihidroxitamina D₃ y por 25-hidroxitamina D₃, respectivamente.

Adaptado de Lou y cols., 2004.



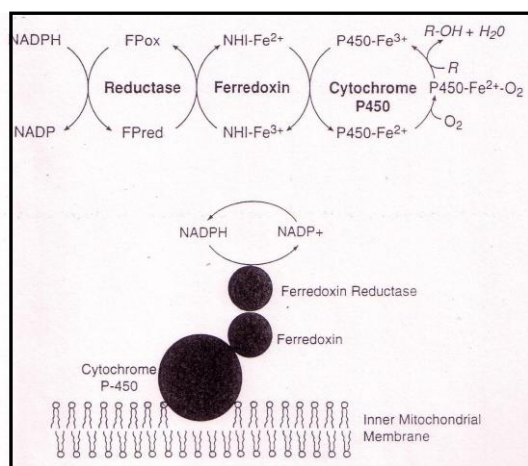
CYP24: 24-hidroxisasa; CYP27B1: 1 α -hidroxisasa.

El metabolito biológicamente activo de la vitamina D resultante de dos hidroxilaciones consecutivas mediante enzimas mitocondriales y citocromo P-450 es la 1,25-dihidroxitamina D₃. La 25-hidroxitamina D₃ presenta una actividad biológica entre 500 y 1.000 veces menor que la 1,25-dihidroxitamina D₃ aunque es más abundante (Reichel y Norman, 1989). La actividad enzimática de la 1 α -hidroxisasa está estimulada por la PTH a través del AMP

cíclico intracelular (aumenta la actividad del RNA mensajero), que actúa como cofactor en la fosforilación de proteínas intracelulares (fig. 17).

Figura 17. Componentes y mecanismo de acción de la hidroxilasa.

Tomado de Jones y cols., 1998.



Se realizó un estudio empleando líneas celulares epiteliales prostáticas (PZ-HPV-7) y renales (HKC-8) que se trataban con PTH y calcio; no se observó influencia de ninguno de los dos en la actividad de la 1 α -hidroxilasa, por lo que la 1 α -hidroxilasa renal es diferente de la enzima prostática (Young y cols., 2004).

La parathormona también suprime la acción de la 24-hidroxilasa, por ello ambas funciones permiten el aumento de las concentraciones plasmáticas de 1,25-dihidroxitamina D₃.

La vía de excreción principal de la vitamina D es la bilis, ya que tanto ella como sus derivados presentan circulación enterohepática. El déficit de esta hormona puede deberse a la falta de exposición de la piel a la radiación ultravioleta, al déficit en la ingesta, a la malabsorción intestinal (esteatorrea), a interacciones farmacológicas o a la ausencia de síntesis renal de 1,25-dihidroxitamina D₃.

La 1,25-dihidroxitamina-D₃ interviene en la regulación de más de 60 genes (Li y cols., 2002). Se considera un potente inhibidor de la proliferación celular, aunque dependiendo del grado de diferenciación celular y la concentración de dicha hormona puede favorecer o inhibir la proliferación (Zhao y Feldman, 2001). Su función principal es regular y mantener la concentración plasmática de calcio dentro de la normalidad. Para ello favorece la absorción intestinal de calcio y de fosfatos y aumenta la reabsorción tubular renal de calcio, la acción de los osteoblastos y la actividad osteoclástica que conducirá a la resorción ósea. También regula la expresión del receptor androgénico y del PSA en las líneas celulares prostáticas junto con otros genes y reduce la Cu-Zn superóxido dismutasa (Peehl y cols., 2004).

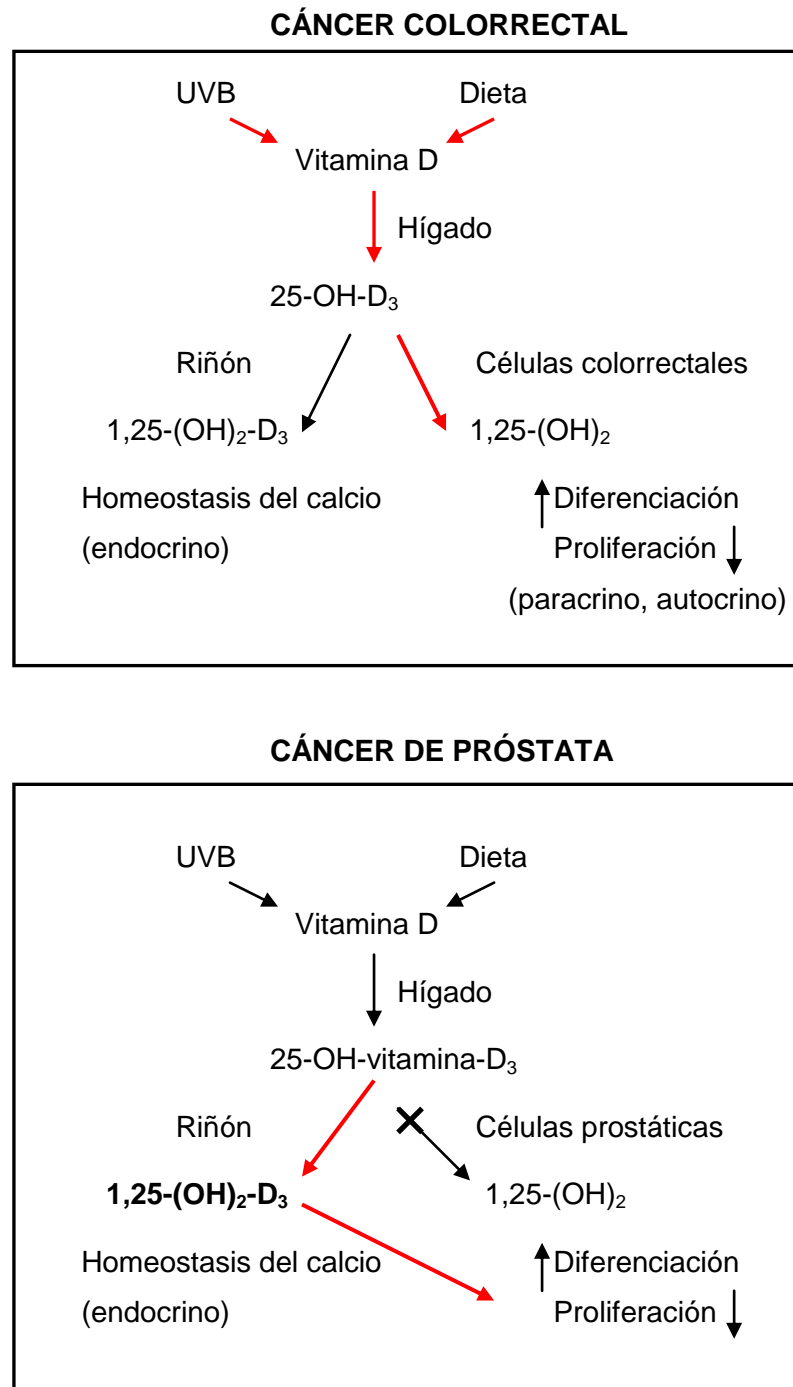
Por su parte, los queratinocitos tienen receptores de calcio que mediante la fosfolipasa aumentan la concentración intracelular de calcio. Este proceso está favorecido por la 1,25-dihidroxitamina D₃ (Bikle, 1997). La PTH favorece la síntesis de la forma activa de la vitamina D, cuyos receptores se encuentran distribuidos por diferentes células del organismo (intestino, osteoblastos, paratiroides, riñón, epidermis, músculo, páncreas, órganos reproductores y sistema hematopoyético). Los efectos antiproliferativos de la 1,25-dihidroxi-

vitamina D₃ no requieren la señal de los andrógenos (Yang y cols., 2002; Bao y cols., 2004).

Leman y colaboradores (2003) estudiaron el efecto de la administración de 1,25-dihidroxitamina D₃ en la próstata de ratas adultas intactas ($n = 16$) y castradas ($n = 14$), mediante el análisis de los lóbulos prostáticos ventral y dorso-lateral. Observaron la disminución del 48% del volumen del lóbulo ventral y del 30% del lóbulo dorso-lateral en el grupo no castrado; en ese mismo grupo se comprobó en el estudio anatomopatológico la pérdida de citoplasma con pérdida de epitelio y ausencia de estroma. También se detectó el aumento de los valores plasmáticos de calcio, de la expresión de receptor de la vitamina D y del receptor androgénico (Leman y cols., 2003).

Ha sido extensamente estudiada la relación beneficiosa entre la vitamina D y diversos cánceres: de colon (Garland y Garland, 1980), de mama, de próstata (Robsahm y cols., 2004) y linfoma de Hodgkin (fig. 18). También se ha asociado a enfermedades autoinmunes como la esclerosis múltiple (Hayes y cols., 1997), la diabetes mellitus tipo 1 (Hypponen y cols., 2001; Calvo y Whiting, 2005) y tipo 2 (Chiu y cols., 2004), la osteoartritis y la artritis reumatoide (Lane y cols., 1999). Por su parte, la concentración plasmática de vitamina D se relaciona con la radiación solar ultravioleta (UVB) como fuente primordial de síntesis, con la alimentación y con la ingesta de suplementos dietéticos (Grant, 2006; Cross y Kállay, 2005).

Figura 18. Diferencias entre el cáncer colorrectal y el cáncer de próstata respecto a la influencia de la vitamina D. Adaptado de Giovannucci, 2005.



1.5.2.3. Receptor de la vitamina D

El receptor de la vitamina D forma parte de la superfamilia de los receptores esteroideos. Es el producto de un gen localizado en el cromosoma 12q13-14. Se halla habitualmente en el núcleo y está presente en las células epiteliales prostáticas normales en mayores concentraciones, también se puede detectar en el estroma (Peehl y cols., 1994), y en las células epiteliales cutáneas (Colston y cols., 1982).

Skowronski y sus colaboradores (1993) en su trabajo investigaron la función del receptor de la vitamina D en tres líneas celulares cancerígenas prostáticas (LNCaP, DU-145, PC-3). Las conclusiones que extraen de su investigación son que la línea andrógeno-independiente PC-3 presenta mayor abundancia del receptor de la vitamina D y se observó que la 1,25-hidroxivitamina D₃ induce el RNA mensajero de la 24-hidroxilasa en DU-145 y PC-3 solamente.

El receptor de la vitamina D activa las acciones fisiológicas de la 1,25-dihidroxivitamina D₃ (Baker y cols., 1998; Hedlund y cols., 1996). Hay descritos diferentes polimorfismos de la región no codificadora del receptor de la vitamina D que modifican la funcionalidad. Una vez se une a la 1,25-dihidroxivitamina D₃, se trasloca al núcleo y regula la tasa de transcripción además de inhibir la expresión del RNA mensajero de la PTH. En diversos estudios epidemiológicos se han detectado diferentes polimorfismos genéticos implicados en el cáncer de próstata con variabilidad entre ellos.

1.5.2.4. Líneas celulares prostáticas

El equipo de Schwartz investigó con las líneas celulares de cáncer de próstata LNCaP, DU145 y PC-3, y con cultivos de células prostáticas humanas no neoplásicas y cultivos de queratinocitos. Observaron que las células prostáticas normales y las cancerígenas DU145 y PC-3 tienen actividad 1α -hidroxilasa que permite la síntesis de 1,25-dihidroxitamina D_3 y de su precursor, 25-hidroxitamina D_3 en los cultivos celulares (Schwartz y cols., 1998). Esta producción de 25-hidroxitamina D_3 tiene efectos sobre las células prostáticas, pues modula positivamente la diferenciación celular e inhibe la proliferación (Bell, 1998) y la capacidad de invasión y de metástasis de las células tumorales prostáticas; por ello se considera una hormona autocrina (Schwartz y cols., 1998). De las líneas celulares de cáncer de próstata, sólo la LNCaP sintetiza PSA (Skowronski y cols., 1993).

Miller investigó con líneas celulares LNCaP que expresaban receptores específicos de 1,25-dihidroxitamina D_3 . Observó que, en ausencia de andrógenos, la 1,25-dihidroxitamina D_3 estimulaba la síntesis de PSA en células prostáticas de forma dependiente de la dosis. Así, concentraciones fisiológicas (10^{-9} mol) eran mitógenas mientras que concentraciones más elevadas (10^{-8} mol) promovían la diferenciación (Miller y cols., 1992).

En las células LNCaP se ha observado que la expresión del gen *IGFBP-3* es importante para la síntesis de 1,25-dihidroxitamina D_3 (Peehl y cols., 2004). El crecimiento de las células LNCaP es inhibido de forma sinérgica por 1,25-

dihidroxitamina D₃ y el ácido retinoico 9-cis (Polek y Weigel, 2002), cuyos efectos son inhibidos, a su vez, por la bicalutamida (Zhao y cols., 1997). Sin embargo, la 1,25-dihidroxitamina D₃ no induce la apoptosis en las células PC-3 aunque puede reducir el crecimiento de las células prostáticas neoplásicas de manera independiente de la apoptosis (Polek y Weigel, 2002). La 1,25-dihidroxitamina D₃ inhibe el crecimiento de las células prostáticas neoplásicas a través de mecanismos como cambios en la progresión del ciclo celular, aumento de la apoptosis y alteraciones en los factores de crecimiento IGF (Polek y Weigel, 2002). Los efectos antiproliferativos de 1,25-dihidroxitamina D₃ no requieren la señal de los andrógenos (Yang y cols., 2002).

En el trabajo publicado por Tokar y Webber utilizaron vitamina D₃ para evaluar los efectos y los mecanismos de acción en las células prostáticas, en vez de utilizar 1,25-dihidroxitamina D₃, porque aunque es el metabolito más activo de la vitamina D como contrapartida presenta efectos calcémicos que pueden ser graves, lo cual limita su uso como agente quimioterápicos. En dicho estudio se utilizó la línea celular propia del cáncer de próstata RWPE2-W99, que expresa el oncogen *Ki-ras*. Observaron que la vitamina D₃ inhibe el crecimiento de las células cancerígenas de forma dependiente de dosis, con disminución de la eficiencia de las colonias formadoras. Además, la 1,25-dihidroxitamina D₃ inhibe irreversiblemente la expansión clonal de las células prostáticas cancerígenas transcurridas dos horas de tratamiento. También se evaluó la línea celular de células epiteliales prostáticas RWPE-1 no cancerígenas, y se observó que el colecalciferol inhibía el crecimiento de dichas células (Tokar y Webber, 2005).

1.5.2.5. Relación entre la concentración plasmática de la vitamina D y el riesgo de padecer cáncer de próstata

La primera publicación que exponía la hipótesis de que el déficit de vitamina D era un factor de riesgo para el cáncer de próstata fue de Schwartz y Hulka en 1990 argumentado en base a la epidemiología de los factores de riesgo ya establecidos (edad avanzada, raza afroamericana y latitudes elevadas) que éstos están relacionados con menor concentración plasmática de vitamina D. Esta hormona inhibe el crecimiento tumoral de las células prostáticas cancerígenas en ratas, en relación a la inhibición de la expresión del oncogen *c-myc* (Fleming y cols., 1986).

Varios estudios epidemiológicos han apoyado la hipótesis de que el riesgo de cáncer de próstata es más elevado en varones con valores bajos de vitamina D (Corder y cols., 1993; Polek y Weigel, 2002). En San Francisco (California) se realizó un estudio de casos y controles con 90 pacientes negros y 91 de blancos con cáncer de próstata y con biopsia de próstata negativa; para todos ellos se determinó la concentración 25-hidroxivitamina D₃ (ng/ml) y de 1,25-dihidroxivitamina D₃ (pg/ml). Se realizó un modelo logístico de datos apareados de los resultados analíticos, que se distribuyen en cuartiles para determinar si existe mayor riesgo de cáncer de próstata en función de la edad (dos clases: menores de 57 años y de 57 años o mayores). Observaron que tanto los pacientes sin cáncer como los que tenían cáncer presentaban valores similares de 25-hidroxivitamina D₃, pero en los enfermos se detectó un grado mayor de indiferenciación tumoral (suma de Gleason igual o mayor de 7). Asimismo, los

pacientes afectados por cáncer de próstata presentaban valores plasmáticos de 1,25-dihidroxitamina D₃ menores ($p = 0,002$). Además se registraron diferencias por edad, ya que en los pacientes de 57 años o mayores se observaron valores séricos de 1,25-dihidroxitamina D₃ inferiores y mayor riesgo de tumores de próstata palpables. Por lo tanto, el efecto protector de la 1,25-dihidroxitamina D₃ es más intenso en varones mayores de 57 años (Corder y cols., 1993).

Dos años después, se publicó un estudio epidemiológico realizado en Maryland con 183 personas (61 enfermos y 122 controles), que intentaba aportar más datos a la hipótesis de que hay una relación de causalidad entre los metabolitos de la vitamina D y el riesgo mayor de padecer cáncer de próstata. Previamente se distribuyeron los pacientes en grupos de edad y según el mes de la determinación sérica (agosto-noviembre). No se obtuvieron diferencias significativas en las cifras plasmáticas de 25-hidroxitamina D₃ ni de 1,25-dihidroxitamina D₃, y son los propios autores los que hablan del efecto del pequeño tamaño muestra como factor limitante del estudio (Braun y cols., 1995).

Por otra parte, se realizó un estudio epidemiológico con 232 enfermos y 414 controles a los que se siguió durante 10 años, con los valores séricos de los dos metabolitos de la vitamina D estratificados en cuartiles. No se observó una diferencia estadísticamente significativa entre valores elevados y bajos de 25-hidroxitamina D₃ y la 1,25-dihidroxitamina D₃ en relación con el riesgo de cáncer de próstata (Gann y cols., 1996).

Otro estudio de observación de enfermos (136) y controles (136) se realizó en Hawaii, y tampoco en este se observó asociación alguna entre los valores plasmáticos de 25-hidroxivitamina D₃ o la 1,25-dihidroxivitamina D₃ y el cáncer de próstata. Los valores absolutos eran menores en los enfermos, pero al realizar el análisis estadístico no se observan diferencias. Se estratificaron los valores hormonales en cuartiles y por edad, sin que se observara variación. Tampoco se detectaron cambios significativos al realizar la determinación de 25-hidroxivitamina D₃ y la 1,25-dihidroxivitamina D₃ mes a mes en 128 pacientes (Nomura y cols., 1998).

Un innovador estudio de casos y controles realizado en la capital de Finlandia analiza únicamente el metabolito 25-hidroxivitamina D₃ subdividido en cuartiles en relación con la edad (punto de corte en 52 años) y la estación de la determinación hormonal. En pacientes menores de 52 años, la asociación entre valores bajos de 25-hidroxivitamina D₃ y cáncer de próstata presenta una razón de riesgos (RR) de 3,07, que es estadísticamente significativa. Además, aumenta el riesgo (RR = 6,3) de desarrollar un cáncer de próstata no localizado. Los valores de este metabolito son estables, sin cambios según el mes de la determinación. Este es el primer estudio publicado que muestra un aumento del riesgo de cáncer de próstata en pacientes con concentraciones bajas de 25-hidroxivitamina D₃ (Ahonen y cols., 2000).

Tuohimaa y colaboradores analizan el efecto de la exposición durante cuatro semanas a lámparas de radiación ultravioleta espectroscópica de 27 personas, mientras que otras 17, que se tomaban como controles, únicamente recibían

irradiación de lámparas fluorescentes comunes. Se determinaron las concentraciones de 25-hidroxitamina D₃ mediante radioinmunoensayo; los controles presentaron un descenso de 3 nmol/l transcurridas las cuatro semanas, mientras que en las personas expuestas a radiación ultravioleta se vio un aumento medio en la concentración de 25-hidroxitamina D₃ de 1 nmol/l, sin que las diferencias fueran estadísticamente significativas (Tuohimaa y cols., 2001).

Tres años después, el mismo autor realizó un amplio estudio analítico epidemiológico con 522 casos y 1.451 controles noruegos, finlandeses y suecos, y no halló asociación entre los valores de 25-hidroxitamina D₃ y el riesgo de padecer cáncer de próstata. En Finlandia se detectó que la concentración de 25-hidroxitamina D₃ (quintil I y II) se relacionaba con el aumento del riesgo de cáncer prostático (RR = 2,4 si 25-hidroxitamina D₃ ≤ 19 nmol/l; RR = 1,9 si la concentración de 25-hidroxitamina D₃ está entre 20 y 39 nmol/l ambos valores incluidos). En Suecia no se observaron diferencias estadísticamente significativas. En Noruega se detectó un aumento del riesgo de cáncer de próstata cuando los valores de 25-hidroxitamina D₃ superiores a 80 nmol/l (RR = 1,8) (Tuohimaa y cols., 2004).

En Noruega se realizó un estudio para analizar la influencia de la radiación ultravioleta en el pronóstico de los casos de cáncer de próstata diagnosticados en relación con la medición de la exposición solar no voluntaria (obligada por su actividad laboral) latitud de la población donde residía el paciente y la estación del año en la que se le diagnosticó el cáncer. A pesar de las

limitaciones clínicas del estudio, concluían que los valores séricos de vitamina D en el momento del diagnóstico del cáncer de próstata alteran su pronóstico; así, en verano y otoño cuando la concentración de 25-hidroxivitamina D₃ es más elevada disminuye la tasa de fatalidad del cáncer (Robsahm y cols., 2004).

En un estudio de casos y controles apareados de 249 pacientes realizado en Arizona se les analizaron los valores plasmáticos de los metabolitos de la vitamina D. Se compararon ambos grupos, que eran homogéneos en relación con todas las variables estudiadas: índice de masa corporal, concentración plasmática de selenio, cantidad de cigarrillos fumados en un año, volumen de alcohol ingerido, grado de escolarización, residencia en granja y uso de protector solar (factores ambientales). No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los valores del 25-hidroxivitamina D₃ y de 1,25-dihidroxivitamina D₃, por lo que no relacionan esos metabolitos con el riesgo de padecer cáncer de próstata (Jacobs y cols., 2004).

Otro estudio publicado el año 2004 evaluó la relación entre los metabolitos de la vitamina D y el riesgo de cáncer de próstata mediante el análisis de 460 casos y 460 controles, homogéneos en cuanto a edad, raza, antecedentes familiares de cáncer de próstata, peso, índice de masa corporal, grado de actividad física, consumo de cigarrillos, diabetes mellitus, vasectomía, ingesta de vitamina E, selenio o calcio, ingesta media diaria de calcio, vitamina D, fructosa, licopeno y ácido linoleico, ingesta diaria (kcal/día), estación del año en la que se extrajo la muestra sanguínea y latitud del lugar de residencia. Todos estos factores pueden influir en los valores de los metabolitos de la vitamina D.

Se realizaron análisis estadísticos estratificando los pacientes en cuartiles y se clasificaron los casos según el estadio clínico y la suma total de Gleason en menos agresivos (T1b, T1c, T2a, T2b, T3a y N0M0 y Gleason < 7) o más agresivos (T3bN0M0, T4N0M0, N1, M1 o Gleason \geq 7). No se observaron diferencias entre los valores plasmáticos de 25-hidroxivitamina D₃ y 1,25-dihidroxivitamina D₃ entre los afectados y los controles. Una limitación de ese estudio fue que las muestras sanguíneas no fueron tomadas en el momento del diagnóstico del cáncer de próstata, con un tiempo medio previo de las determinaciones de los metabolitos de dos años (Platz y cols., 2004).

Está claro, pues, que desde que en 1990 se postulara que el déficit de vitamina D podía ser un factor de riesgo de cáncer de próstata se han publicado numerosos estudios epidemiológicos, sobre todo basados en la observación, que han aportado diferentes conclusiones sobre el riesgo de cáncer de próstata (Schwartz, 2005).

2. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

2.1. HIPÓTESIS

El cáncer de próstata es la tercera causa de muerte por causa oncológica en el varón, y su incidencia aumenta con la edad (Granado de la Orden y cols., 2006). En Estados Unidos se considera la neoplasia no cutánea más frecuente en varones (Jemal y cols., 2009). Por su parte, en España, su incidencia no es uniforme en las distintas comunidades autónomas; se observa una disminución de la mortalidad desde el año 1998 en las comunidades de Baleares, Valencia, Cataluña y Madrid (López-Abente y cols., 1999). Asimismo, se ha visto que los países que están a mayor latitud, en los que, por lo tanto, la radiación ultravioleta es menor, aumenta el riesgo de padecer cáncer de próstata (Hanchette y Schwartz, 1992).

Diversos estudios epidemiológicos han analizado la relación entre la concentración plasmática de vitamina D y el riesgo de cáncer de próstata. Se ha observado que el déficit de vitamina D aumenta con la edad; una teoría para explicar esa constatación es que los pacientes de mayor edad tienen la epidermis más fina y eso hace disminuir los valores de 7-dehidrocolesterol. La otra es que los varones mayores reciben menos radiación ultravioleta (Schwartz, 1990). La prevalencia del déficit de vitamina D es superior en los varones negros que en caucásicos (Nesby-O'Dell y cols., 2002).

Nuestra hipótesis de trabajo es que la disminución de la concentración sérica de 25-hidroxivitamina D₃ y por ello su hormona reguladora PTH aumentada, se relacionan con el riesgo de padecer cáncer de próstata y con su agresividad.

2.2. OBJETIVOS

Los objetivos planteados en este trabajo son:

1. Analizar la relación entre los valores plasmáticos de 25-hidroxivitamina D₃ y el riesgo de padecer cáncer de próstata.
2. Analizar la relación entre la concentración sérica de parathormona y el riesgo de padecer cáncer de próstata.
3. Analizar la relación entre los valores plasmáticos de 25-hidroxivitamina D₃ y la agresividad tumoral.
4. Analizar la relación entre la concentración sérica de parathormona y la agresividad tumoral.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

El trabajo que hemos realizado es un estudio epidemiológico analítico no experimental. Por lo tanto, es un diseño de casos y controles, formado por 479 individuos divididos en dos grupos de sujetos de características comparables. La selección de los controles se realizó mediante la técnica de muestreo por densidad; es decir, escogiendo los controles y los individuos enfermos simultáneamente, desde junio de 2005 a junio de 2007. Se ha aplicado este tipo de estudio porque es muy útil en el estadio preliminar de la investigación para la comprobación de hipótesis etiológicas de una enfermedad.

3.2. PARTICIPANTES DEL ESTUDIO

Los pacientes considerados en el estudio fueron aquellos que llegaban remitidos por su centro de asistencia primaria bien a causa del aumento del PSA total o bien porque se les detectó alguna anomalía en el tacto rectal, y presentaban criterios para realizar una biopsia prostática transrectal por sospecharse que podían padecer cáncer de próstata.

Los pacientes se distribuyeron en los siguientes grupos de estudio:

Grupo control: Constituido por 262 pacientes a los que se les realizaron las determinaciones analíticas y cuyo resultado de la biopsia prostática es negativa para células malignas.

Grupo de casos: Formado por 217 pacientes a los que se les realizaron todas las determinaciones analíticas y a los que en el examen histopatológico de la biopsia prostática se les diagnosticó cáncer de próstata. La tasa de cáncer fue del 45,3%.

Se ha establecido el riesgo de diseminación según los criterios de d'Amico (d'Amico y cols., 1998) (tabla 3).

Tabla 3. Clasificación de los pacientes con diagnóstico de cáncer de próstata

Agresividad	Estadio clínico	y vs ó	PSA total (ng/ml)	y vs ó	Suma de Gleason	Número de pacientes
Baja	T1c o T2a	y	≤ 10	y	≤ 6	59
Intermedia	T2b	ó	10-20	ó	7	97
Alta	T2c	ó	> 20	ó	≥ 8	61

El estadio clínico T1c se detectaba en 152 pacientes (70%); el T2a, en 53 pacientes (24,4%); el T2b, en 4 pacientes (18%); 5 pacientes (2,3%) con estadio T3; y 3 pacientes (1,4%) con estadio T4.

El tratamiento realizado a los 217 pacientes a los que se les diagnosticó cáncer de próstata fue: cirugía a 122 (56,2%), radioterapia a 58 (26,7%), hormonoterapia a 35 (16,1%), y observación en 2 pacientes (0,9%).

3.3. PROCEDIMIENTOS

Los procedimientos realizados a todos los pacientes fueron una evaluación ecográfica transrectal de la glándula prostática, una biopsia prostática aleatorizada y un análisis para llevar a cabo las determinaciones séricas hormonales de 25-hidroxivitamina D₃, PTH, PSA total, PSA libre y la densidad de PSA.

3.3.1. Realización de la biopsia prostática

La biopsia prostática se realiza mediante un ecógrafo BK con una sonda transrectal biplanar. Los pacientes reciben una profilaxis antibiótica con ciprofloxacino 500 mg cada 12 horas por vía oral y se practica la preparación intestinal mediante un enema la noche anterior y otro la misma mañana de la prueba. Asimismo, se lleva a cabo una infiltración local previa con 5 ml de

lidocaína diluida con 5 ml de suero fisiológico a fin de bloquear las terminaciones nerviosas periprostáticas.

Se utiliza el nomograma de d'Amico en el que el número de cilindros prostáticos dependía del volumen prostático, medido a través de la ecografía transrectal, y de la edad del paciente. Se considera que está modificado porque se tomaban como mínimo 10 cilindros (5 del lóbulo derecho y 5 del lóbulo izquierdo). Se representa en la tabla 4 (Remzi y cols., 2005).

Tabla 4. Protocolo del número de cilindros prostáticos de las biopsias prostáticas del nomograma de Vienna modificado. Tomado de Remzi y cols., 2005.

AÑOS	< 50	50-60	60-70	> 70
VOLUMEN (ml)				
20-29	10	10	10	10
30-39	12	10	10	10
40-49	14	12	10	10
50-59	16	14	12	10
60-69	-	16	14	12
> 70	-	18	16	14

3.3.2. Determinaciones analíticas

A los sujetos del estudio se les realizaron análisis de sangre para determinar el PSA total, el PSA libre, la 25-hidroxivitamina-D₃ y la PTH. El rango de valores que se consideran normales para cada una de las variables analizadas son los valores de referencia del laboratorio del Hospital de la Vall d'Hebrón (tabla 5).

Tabla 5. Rango de valores considerados normales de las variables analizadas

Variables analizadas	Valores normales
25-hidroxivitamina D ₃	6,6 – 46,4 ng/ml
PTH	7 – 82 pg/ml
PSA total	< 4 ng/ml
PSA libre	< 25 %

3.3.2.1. Cuantificación de la PTH

La PTH y la Vitamina D₃ se cuantifican mediante un autoanalizador Liaison (DiaSorin), que utiliza como tecnología la quimioinmunoluminiscencia directa; como marcadores usa derivados del isoluminol, y como sistema de separación, las partículas magnéticas. Se basa en la emisión de luz por moléculas orgánicas derivadas del isoluminol mediado por una reacción de oxidación. En las reacciones de quimioluminiscencia, la energía química generada como

resultado de la descomposición de un enlace débil produce estados intermedios excitados inestables que vuelven a su estado basal emitiendo luz. La quimioluminiscencia en nuestro caso implica la oxidación de un compuesto orgánico como el isoluminol por acción de un oxidante como el peróxido de hidrógeno, de forma que emite una radiación luminosa desde el producto excitado en la reacción de oxidación. La reacción luminosa emitida se cuantifica en un luminómetro en forma de unidades de luz (RLU).

3.3.2.1.1. Principio del procedimiento

El método para la determinación cuantitativa de la PTH es un inmunoensayo quimioluminiscente directo no competitivo tipo IRMA con dos lugares de unión con los anticuerpos. La fase sólida está recubierta por un anticuerpo purificado por afinidad, que se dirige hacia la región 39-84 de la molécula de PTH. El segundo anticuerpo purificado por afinidad se dirige hacia la región 1-34 y se conjuga con un derivado de isoluminol. Al utilizar dos anticuerpos dirigidos hacia dos epítomos localizados en diferentes regiones de la molécula, solo los péptidos relativamente grandes contienen ambos epítomos y son detectados en este sistema de análisis. Durante la incubación, la PTH se une al anticuerpo ligado a la fase sólida y, posteriormente, al anticuerpo conjugado con el isoluminol. Tras la incubación, el material no unido se elimina mediante un ciclo de lavado. A continuación se añaden los reactivos que inducen una reacción de quimioluminiscencia instantánea. La señal luminosa se mide con un fotomultiplicador que mide en unidades relativas de luz (RLU) y es proporcional a la concentración de PTH presente en los calibradores, los controles y las muestras.

3.3.2.1.2. Obtención y preparación de las muestras

En el ensayo se utiliza suero sin aditivos obtenido en ayunas a primera hora de la mañana y se deja que coagule y se separa lo más rápido posible el suero del coágulo. Las muestras se guardan a una temperatura entre 2 y 8 °C si se van a utilizar en las seis horas siguientes a la extracción; de lo contrario se congelarán a -20 °C.

3.3.2.1.3. Características del ensayo

La sensibilidad analítica se define como la dosis mínima detectable distinta de cero con dos desviaciones estándar; en el ensayo su valor fue 1 pg/ml. La sensibilidad funcional se define como la concentración media a la que el coeficiente de variación supera el 20%; su valor fue 2,1 pg/ml. En cuanto a la especificidad, la reacción cruzada con la molécula intacta de PTH es del 100%. Los valores de la precisión difieren si es intra o inter-ensayo (tabla 6).

Tabla 6. Descripción de la precisión intra-ensayo e inter-ensayo de la PTH

	Media	DE	CV (%)
Intra-ensayo	68,1	1,2	1,7
	307	4,3	1,4
	1277	47,5	3,7
Inter-ensayo	67,9	3,8	5,6
	303,2	14,3	4,7
	1289	52,9	4,1

DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación.

Por lo que respecta a los valores esperados son, en adultos sanos ($n = 162$) 32,3 pg/ml de media, con un rango de normalidad de 7-82 pg/ml.

3.3.2.2. Cuantificación de la 25-hidroxivitamina D₃ total

La 25-hidroxivitamina D₃ se cuantifica mediante quimioinmunoluminiscencia directa.

3.3.2.2.1. Principio del procedimiento

El método para la determinación cuantitativa de la 25-hidroxivitamina D₃ total y otros metabolitos hidroxilados de vitamina D en el suero humano es un inmunoensayo competitivo directo. Un anticuerpo específico para la vitamina D recubre las partículas magnéticas (fase sólida), y la vitamina D se conjuga con un derivado del isoluminol. Durante la fase de incubación, la 25- hidroxivitamina D₃ se disocia de su proteína de unión y compite por los sitios de unión del anticuerpo con la vitamina D marcada. Tras la fase de incubación, el material no unido se elimina mediante ciclos de lavado. A continuación, se añaden reactivos que inducen la reacción de luminiscencia instantánea. La señal luminosa se mide con un fotomultiplicador que mide en unidades de luz (RLU); éstas son inversamente proporcionales a la concentración de la vitamina D presente en los calibradores, los controles y las muestras.

3.3.2.2.2. Obtención y preparación de las muestras

En el ensayo se utiliza suero sin aditivos obtenido en ayunas a primera hora de la mañana; se deja que coagule y se separa lo más rápido posible el suero del

coágulo. Las muestras se guardan a una temperatura entre 2 y 8 °C si se van a utilizar en las 24 horas siguientes a la extracción; si no fuera así se congelarán a -20 °C.

3.3.2.2.3. Características del ensayo

La sensibilidad funcional es de 7 ng/ml.

Por lo que respecta a la especificidad, los datos obtenidos de la reacción cruzada con el anticuerpo que se emplea en el ensayo añadiendo 100 ng/ml de la posible sustancia que provoca las reacciones cruzadas realizando el ensayo, han resultado ser las siguientes (tabla 7).

Tabla 7. Resultados de la especificidad en relación a la reacción cruzada

Hormona	Porcentaje
Esteroides	1,4
25 hidroxivitamina D ₃	100
25 hidroxivitamina D ₂	104
1,25-dihidroxivitamina D ₂	40
1,25-hidroxivitamina D ₃	17
Vitamina D ₂	< 1
Vitamina D ₃	< 1

La precisión se analiza mediante la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación, tanto la inter-ensayo como la intra-ensayo (tabla 8).

Tabla 8. Descripción de la precisión intra-ensayo e inter-ensayo de la 25-hidroxivitamina D₃

	Media	DE	CV (%)
Intra-ensayo	5,8	0,7	12,7
	14,4	1,5	10,8
	35	4,0	11,3
Inter-ensayo	5,8	1,5	25
	12,4	1,7	13,9
	35	4,0	11,6

DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación.

En este ensayo, la media esperada de la concentración en los adultos sanos ($n = 49$) es 21,3 ng/ml, con un rango de normalidad de 6,3-46,4 ng/ml.

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se ha realizado mediante el programa SPSS versión 12.0.

Para describir la tendencia central de las variables cuantitativas se han utilizado la media y la mediana, y como medidas de dispersión se han utilizado la desviación estándar (DE) y el rango (Ra). Para describir las variables cualitativas se han utilizado los porcentajes.

Se realiza una distribución de frecuencias de las variables registradas para clasificar los individuos según la medida de la variable analizada; posteriormente, se representan de manera gráfica a fin de que sea más clara su tendencia. La representación gráfica de las variables categóricas, como son el diagnóstico según el resultado de la biopsia prostática y la agresividad tumoral según los criterios d'Amico, se ha realizado mediante diagramas de barras, en los que se representan las frecuencias relativas (porcentajes) para poder comparar los resultados. La representación gráfica para las variables cuantitativas continuas, que son la PTH, la 25-hidroxivitamina D₃, el PSA total, el PSA libre y el porcentaje de PSA libre, se realiza mediante diagramas de caja que representa en el centro el valor de la mediana, y en los extremos el percentil 25 y el percentil 75.

Para analizar la relación entre variables cualitativas se ha utilizado la prueba Chi-cuadrado con la modificación de Fisher cuando fue preciso.

Para analizar la relación entre una variable cualitativa y una variable cuantitativa se aplicó la comparación de medias, mediante la prueba de U de Mann-Whitney. En los casos de más de dos variables se utilizó el análisis de la varianza (ANOVA), mediante la prueba de Kruskal-Wallis.

Para analizar la capacidad predictora de las variables estudiadas se utilizó el análisis de regresión logística binaria de Cox, cuyo resultado expresa la razón de riesgos de cada una de las variables, su capacidad predictora independiente así como su significación estadística.

4. RESULTADOS

4.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN

La población de estudio consta de 479 pacientes. La edad media de la muestra de población analizada era 67,4 años; el rango iba de 48 a 89 años y la mediana era 68 años.

Por lo que respecta a los indicadores prostáticos analizados los valores son los siguientes. La concentración media del PSA total fue 15,5 ng/ml, con un rango comprendido entre 1,6 y 1.724 ng/ml y mediana de 7,4 ng/ml. La media del porcentaje de PSA libre es 16,2%, con un rango entre 0,2 y 51% y una mediana de 16%. La media del volumen prostático fue 48,3 cm³, con un rango entre 7 y 159 cm³; su mediana fue 43,3 cm³. El valor medio de la densidad de PSA fue 0,4 ng/cm³, con un rango comprendido entre 0,04 y 46,6 ng/cm³ y mediana de 0,2 ng/cm³ (tabla 9).

Tabla 9. Características globales de los pacientes estudiados

Variable	Media \pm DE (rango)
Edad (años)	67,4 \pm 7,2 (48-89)
PSA total (ng/ml)	15,5 \pm 88,8 (1,6-1.724)
Porcentaje PSA libre (%)	16,2 \pm 6,9 (0,2-51)
Volumen prostático (cm ³)	48,3 \pm 23,9 (7-159)
Densidad PSA (ng/ cm ³)	0,4 \pm 2,2 (0,04-46,6)

DE: desviación estándar; PSA: antígeno prostático específico.

De los 479 pacientes, 282 (58,8%) presentaron un resultado negativo del tacto rectal y un valor de PSA total entre 4,1 y 10 ng/ml; otros 90 pacientes (18,8%) tuvieron también resultados negativos del tacto rectal, pero en estos el valor de PSA total fue superior a 10 ng/ml; en 6 pacientes (1,3%) el valor de PSA total fue inferior o igual a 4 ng/ml y el resultado del tacto rectal positivo; en otros 56 pacientes (11,7%) el tacto rectal fue positivo y el valor de PSA total estaba comprendido entre 4,1 y 10 ng/ml; y 45 (9,4%) pacientes presentaron un valor de PSA total superior a 10 ng/ml y tacto rectal positivo (tabla 10).

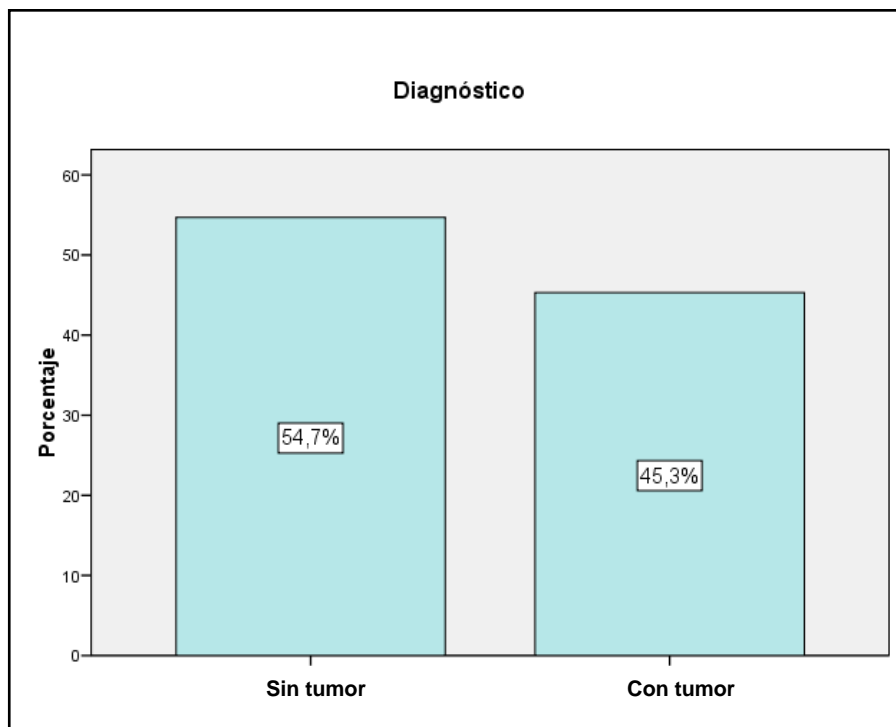
Tabla 10. Criterios de realización de la biopsia prostática

Variable	Número (%)
TR negativo y PSA 4,1-10 ng/ml	282 (58,8)
TR negativo y PSA > 10 ng/ml	90 (18,8)
TR positivo y PSA ≤ 4 ng/ml	6 (1,3)
TR positivo y PSA 4,1-10 ng/ml	56 (11,7)
TR positivo y PSA > 10 ng/ml	45 (9,4)

TR: tacto rectal; PSA: antígeno prostático específico.

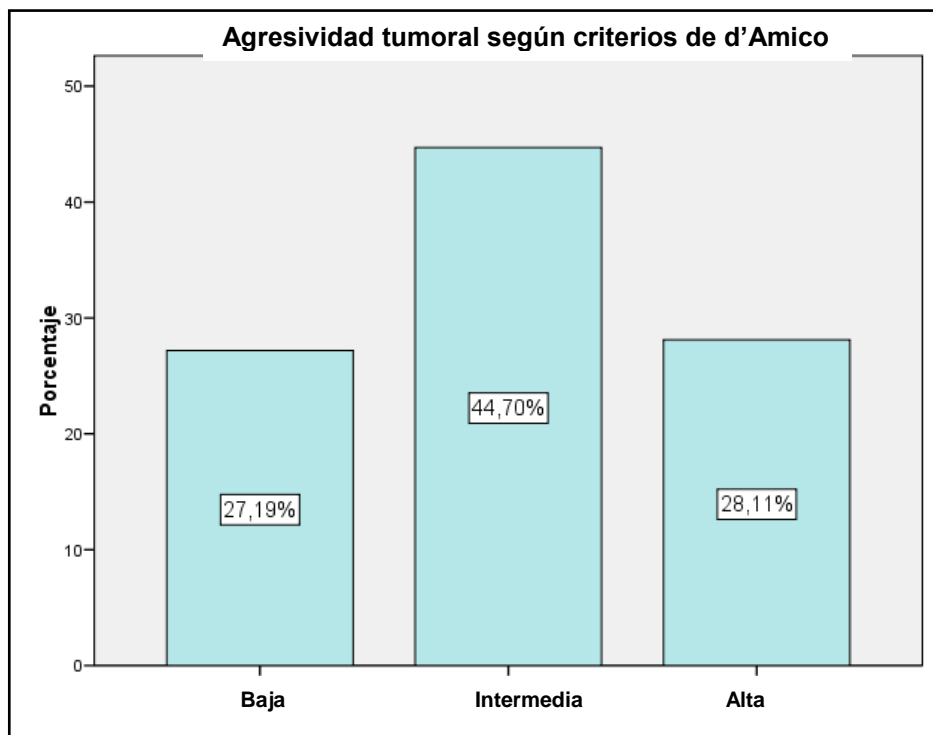
En función del resultado anatomopatológico de la biopsia prostática se obtienen un grupo sin cáncer formado por 262 pacientes (54,7%) y otro grupo formado por 217 pacientes (45,3%) afectados de cáncer de próstata (fig. 19).

Figura 19. Distribución de los pacientes según el resultado de la biopsia



De los 217 pacientes con cáncer de próstata, 59 (27,19%) son del grupo de baja agresividad, 97 (44,7%) de agresividad intermedia y 61 (28,11%) del grupo de alta agresividad (fig. 20); estos grupos se establecen según los criterios de d'Amico.

Figura 20. Distribución de los pacientes con cáncer de próstata según la agresividad tumoral en función de los criterios de d'Amico.



4.2. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES INDICADORAS DEL RIESGO DE SER DIAGNOSTICADO DE CÁNCER DE PRÓSTATA

Las variables analizadas globalmente en la población de estudio se estudiaron en relación con el riesgo de cáncer de próstata establecido en función del resultado de la biopsia prostática.

En los pacientes diagnosticados de cáncer de próstata, la edad media era 67,7 años, con un rango que iba de 48 a 89 años y mediana de 68 años. La edad media en los pacientes sin cáncer es inferior: 67,1 años, con un rango de 48 a 85 años y mediana de 67,5 años sin que la diferencia sea estadísticamente significativa ($p = 0,546$).

El valor medio de PSA total en los pacientes con cáncer de próstata era 23,9 ng/ml, su rango estaba comprendido entre 1,6 y 1.724 ng/ml y la mediana era de 7,7 ng/ml. En los pacientes sin cáncer el valor medio de PSA total resultó inferior: 8,5 ng/ml, con un rango de 3,2 a 48,6 ng/ml y mediana de 7,7 ng/ml. Para este parámetro, la diferencia entre el grupo con cáncer y el grupo sin cáncer sí fue estadísticamente significativa ($p = 0,024$).

En los pacientes con cáncer de próstata el porcentaje de PSA libre medio fue 14,3%, con un rango entre 0,2 y 37% y 13% de mediana. En los pacientes sin cáncer de próstata, el porcentaje de PSA libre es superior, 17,6%; la diferencia es estadísticamente significativa ($p < 0,005$). El rango está entre 0,2 y 51% y la mediana es del 17%.

El volumen prostático medio en los pacientes con cáncer de próstata fue 41,8 cm³, con un rango comprendido entre 10 y 136 cm³, y mediana de 37,7 cm³. En los pacientes sin cáncer prostático el volumen prostático era superior y se encontraron diferencias significativas ($p < 0,005$); la media fue 53,6 cm³, con un rango entre 7 y 159 cm³ y mediana de 48,7 cm³.

La densidad de PSA en los pacientes con cáncer de próstata era 0,6 ng/cm³, con rango entre 0,04 y 46,6 ng/cm³ y mediana de 0,2 ng/cm³. Los pacientes sin cáncer de próstata presentaron una densidad de PSA de 0,2 ng/cm³, con rango comprendido entre 0,04 y 3,2 ng/cm³, y mediana de 0,1 ng/cm³. Las diferencias halladas son significativas estadísticamente ($p < 0,005$) (tabla 11).

Tabla 11. Características de la muestra estudiada en función del resultado de la biopsia prostática

Variable	Sin cáncer Media ± DE (rango)	Con cáncer Media ± DE (rango)	<i>p</i>
Edad (años)	67,1 ± 7,3 (48-85)	67,7 ± 7 (48-89)	0,546
PSA total (ng/ml)	8,5 ± 4,9 (3,2-48,6)	23,9 ± 131,4 (1,6-1.724)	0,024
Porcentaje PSA libre (%)	17,6 ± 6,9 (0,2-51)	14,3 ± 6,2 (0,2-37)	< 0,005
Volumen prostático (cm ³)	53,6 ± 25 (7-159)	41,8 ± 20,7 (10-136)	< 0,005
Densidad PSA (ng/cm ³)	0,2 ± 0,2 (0,04-3,2)	0,6 ± 0,3 (0,04-46,6)	< 0,005

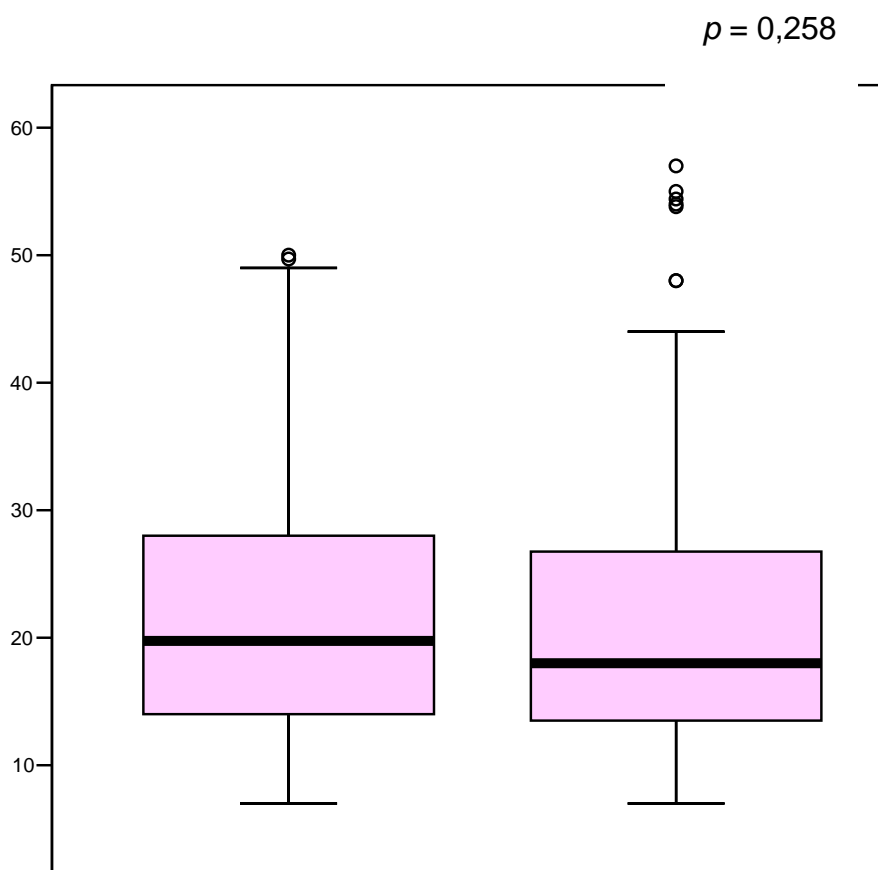
La media de la concentración de 25-hidroxivitamina D₃ en los pacientes diagnosticados de cáncer de próstata era 20,7 ng/ml, con un rango comprendido entre 7 y 57 ng/ml y una mediana de 18 ng/ml. Por su parte, en los pacientes sin cáncer de próstata, el valor medio de la concentración de 25-hidroxivitamina D₃ fue 21,6 ng/ml, con un rango entre 7 y 50 ng/ml y mediana de 19,8 ng/ml (tabla 12).

Tabla 12. Riesgo de desarrollar cáncer de próstata en relación con la concentración plasmática de 25-hidroxivitamina D₃

Diagnóstico	Media ± DE (rango) (ng/ml)	<i>p</i>
Sin cáncer	21,6 ± 10,5 (7-50)	0,258
Con cáncer	20,7 ± 10,5 (7-57)	

Los pacientes con cáncer de próstata tenían una concentración plasmática media de 25-hidroxivitamina D₃ menor que la de los pacientes sin cáncer de próstata, sin que se hayan encontrado diferencias significativas entre ambos grupos (*p* = 0,258) (fig. 21).

Figura 21. Representación del riesgo de padecer cáncer de próstata en relación con la concentración media de 25-hidroxivitamina D₃



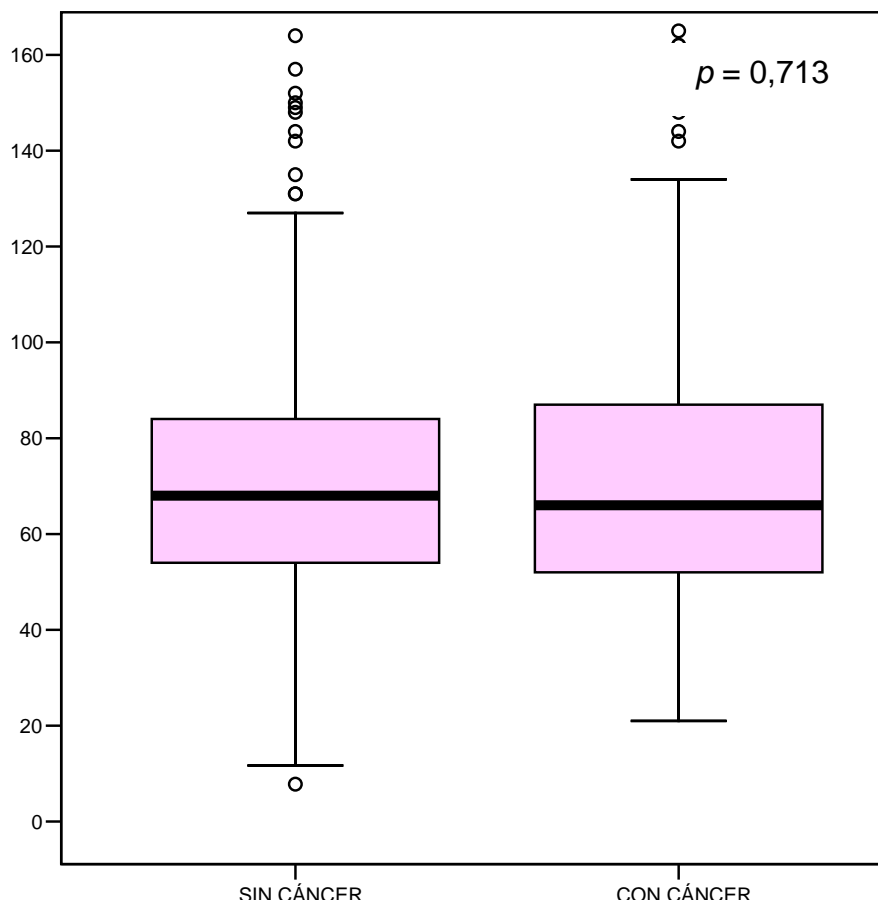
El valor medio de la concentración de PTH en los pacientes sin cáncer de próstata fue 74,8 pg/ml con un rango comprendido entre 7,8 y 477 pg/ml y la mediana es de 68 pg/ml. La concentración plasmática media de PTH en los pacientes afectados de cáncer de próstata fue de 76,9 pg/ml; el rango estaba entre 21 y 501 pg/ml, y la mediana era 66 pg/ml (tabla 13).

La media de concentración plasmática de PTH era superior en los pacientes con cáncer de próstata, sin que estas diferencias entre ambos grupos sean significativas ($p = 0,713$) (fig. 22).

Tabla 13. Riesgo de desarrollar cáncer de próstata en relación con la concentración plasmática de parathormona

Diagnóstico	Media \pm DE (rango) (pg/ml)	p
Sin cáncer	74,8 \pm 39,5 (7,8-477)	0,713
Con cáncer	76,9 \pm 48 (21-501)	

Figura 22. Representación del riesgo de padecer cáncer de próstata en relación con la concentración plasmática de parathormona



Para analizar los datos obtenidos, se realizó el análisis multivariante de las variables indicadoras de la presencia de cáncer de próstata, es decir, el PSA total, el porcentaje de PSA libre y la densidad de PSA ($p < 0,05$). No se consideran variables indicadoras de que haya cáncer de próstata la edad, el volumen prostático ni las concentraciones plasmáticas de 25-hidroxivitamina D₃ y de la PTH (tabla 14).

Tabla 14. Análisis multivariante de las variables indicadoras de la presencia de cáncer de próstata en la biopsia

Variable	Razón de riesgos (IC 95 %)	<i>p</i>
Edad (años)	1,013 (0,982-1,046)	0,415
PSA total (ng/ml)	0,861 (0,746-0,993)	0,040
Porcentaje PSA libre (%)	0,944 (0,910-0,981)	0,003
Volumen prostático (cm ³)	1,001 (0,982-1,021)	0,895
Densidad PSA (ng/cm ³)	5,683 (4,863-12,156)	0,010
25-hidroxivitamina D ₃ (ng/ml)	0,991 (0,970-1,012)	0,398
Parathormona (pg/ml)	1,001 (0,996-1,006)	0,705

4.3. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES INDICADORAS DE LA AGRESIVIDAD TUMORAL DEL CÁNCER DE PRÓSTATA

La edad media en el grupo de agresividad baja era 66,2 años, con un rango comprendido entre 53 y 79 años; en el grupo de agresividad intermedia era 66,4 años, con rango entre 48 y 83 años; la media aumenta en los pacientes con alta agresividad y alcanza los 71 años, con un rango entre 56 y 89 años. La mediana es 65 años en los pacientes de agresividad baja, 68 años en los de intermedia y 72 años en los de agresividad alta. Se observan diferencias significativas entre los pacientes de los tres grupos ($p < 0,005$).

El valor medio de la concentración sérica de PSA total resultó inferior en los pacientes de baja agresividad: 6,3 ng/ml con un rango entre 1,6 y 9,8 ng/ml; en los de agresividad intermedia era 8,4 ng/ml con rango comprendido entre 1,8 y 18 ng/ml; en los de alta agresividad fue superior: 65,5 ng/ml con rango que va de 2,7 a 1.724. Las medianas fueron 6,1 ng/ml en el grupo de agresividad baja, 7,4 ng/ml en el de intermedia y 17,3 en los pacientes de agresividad alta. Las diferencias entre los datos hallados en los tres grupos de agresividad son significativas estadísticamente ($p < 0,005$).

El porcentaje de PSA libre es superior en los pacientes de baja agresividad: 16% (rango 0,2-37%); en el grupo de agresividad intermedia es del 14% (rango 4-34%); y en los de alta agresividad es del 11,6% (4-19%). La mediana del porcentaje de PSA libre es 16, 13 y 12%, en los pacientes con agresividad baja, intermedia, y alta respectivamente. Existen diferencias significativas entre alguno de los tres grupos de agresividad ($p = 0,008$).

El volumen prostático en los pacientes de agresividad baja fue 46,1 cm³ de media, con un rango de variación entre 15 y 130 cm³; en los de agresividad intermedia fue 40,8 cm³ (rango 11-136 cm³); y en los de agresividad alta, 39,2 cm³ (rango 10-78 cm³). La mediana del volumen fue 41 cm³, 37,7 cm³ y 35 cm³ en los grupos de agresividad baja, alta e intermedia, respectivamente. Hay diferencias significativas entre el volumen prostático de los pacientes de los tres grupos de agresividad ($p = 0,079$).

La densidad media de PSA en los pacientes de baja agresividad es 0,2 ng/cm³ (rango 0,05-0,41 ng/cm³); en los de agresividad intermedia es 0,3 ng/cm³ (rango 0,04-1,5 ng/cm³); y en los de alta agresividad es 1,7 ng/cm³ (rango 0,09-46,6 ng/cm³). La mediana en los tres grupos de agresividad, baja, intermedia y alta, es 0,2 ng/cm³, 0,2 ng/cm³ y 0,4 ng/cm³ respectivamente. Se detectan diferencias significativas entre los tres grupos ($p < 0,005$) (tabla 15).

Tabla 15. Características de las variables analizadas en cada grupo de agresividad tumoral

Variables ^a	Agresividad tumoral			
	Baja	Intermedia	Alta	<i>p</i>
Edad (años)	66,2 ± 6 (53-79)	66,4 ± 7,1 (48-83)	71 ± 6,7 (56-89)	< 0,005
PSA total (ng/ml)	6,3 ± 1,6 (1,6-9,8)	8,4 ± 3,3 (1,8-18)	65,5 ± 244,4 (2,7-1724)	< 0,005
PSA libre (%)	16 ± 6,8 (0,2-37)	14 ± 6,1 (4-34)	11,6 ± 4,2 (4-19)	0,008
Volumen prostático (cm³)	46,1 ± 21,7 (15-130)	40,8 ± 22,2 (11-136)	39,2 ± 16,4 (10-78)	0,079
Densidad PSA (ng/cm³)	0,2 ± 0,08 (0,05-0,41)	0,3 ± 0,2 (0,04-1,5)	1,7 ± 6,1 (0,09-46,6)	< 0,005

^a Valores expresados como media ± desviación estándar (rango).

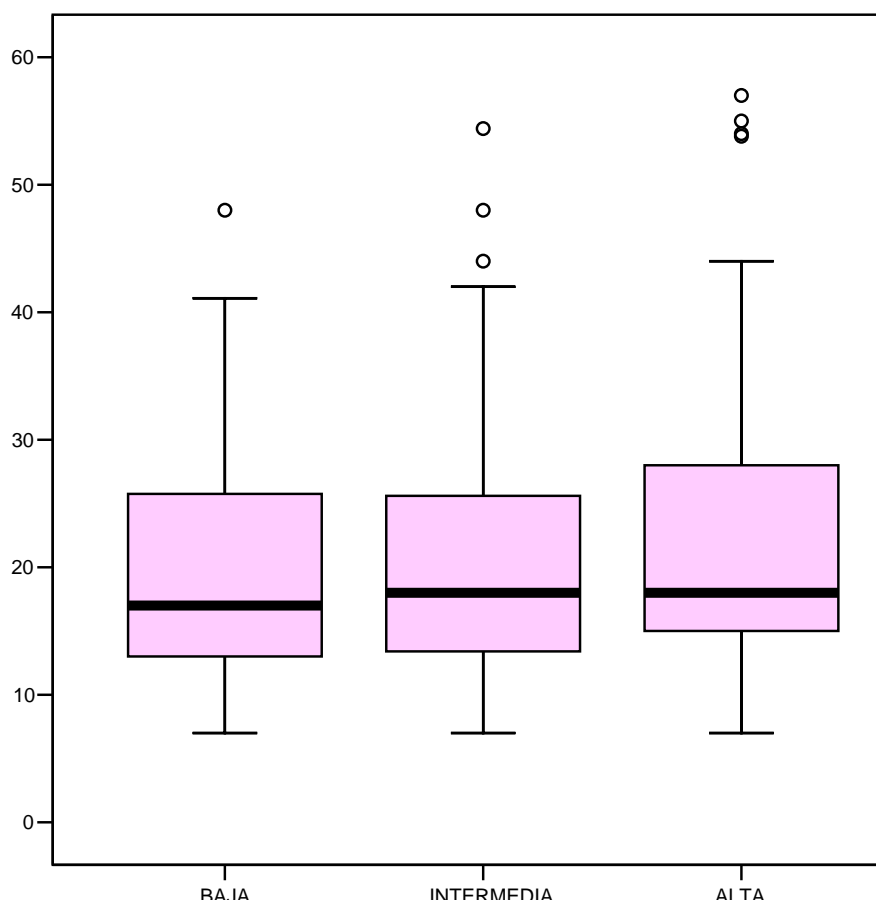
La concentración sérica media de 25-hidroxivitamina D₃ en los pacientes de baja agresividad fue 19,5 ng/ml, con un rango comprendido entre 7 y 48 ng/ml y una mediana de 17 ng/ml. El valor medio en los pacientes de agresividad intermedia es de 20,2 ng/ml, con un rango entre 7 y 54,4 ng/ml y mediana de 18 ng/ml.

En los pacientes de alta agresividad, la media fue 22,4 ng/ml, con un rango comprendido entre 7 y 57 ng/ml y mediana de 18 ng/ml (tabla 16). El valor medio de la concentración de 25-hidroxivitamina D₃ resultó ser superior en el grupo de pacientes de alta agresividad en comparación con los pacientes de baja agresividad, sin que la diferencia sea significativa ($p = 0,538$) (fig. 23).

Tabla 16. Concentración plasmática media de 25-hidroxivitamina D₃ en los tres grupos establecidos de agresividad tumoral

Agresividad	Media ± DE (rango) (ng/ml)	<i>p</i>
Baja	19,5 ± 9,1 (7-48)	0,538
Intermedia	20,2 ± 9,9 (7-54,4)	
Alta	22,4 ± 12,4 (7-57)	

Figura 23. Representación gráfica de la agresividad del cáncer de próstata en relación con la concentración plasmática de 25-hidroxivitamina D₃



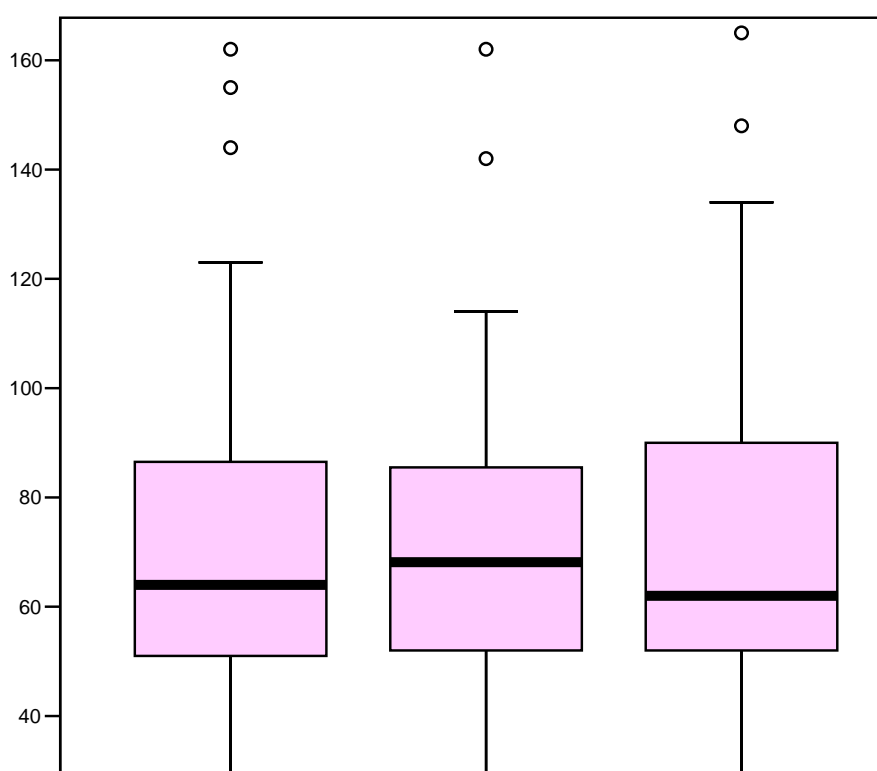
Al analizar la variación de la concentración plasmática de PTH entre los tres grupos de agresividad tumoral se constata que en los pacientes de baja agresividad el valor medio fue de 73,7 pg/ml, con un rango de variación comprendido entre 29 y 220 pg/ml y mediana de 64 de pg/ml. Los pacientes de agresividad intermedia presentaron una concentración media de PTH de 75,8 pg/ml, con un rango entre 21 y 501 pg/ml y mediana es 68,1 pg/ml. La

media de la concentración de PTH en los pacientes de alta agresividad es de 81,7 pg/ml, con un rango comprendido entre 24 y 280 pg/ml y mediana es 62 pg/ml (tabla 17). Los valores plasmáticos de PTH en los pacientes de agresividad baja son inferiores a los hallados en pacientes de alta agresividad, sin que estas diferencias sean significativas ($p = 0,981$) (fig. 24).

Tabla 17. Concentración plasmática de PTH (pg/ml) en los tres grupos de agresividad tumoral

Agresividad	Media \pm DE (rango)	p
Baja	73,7 \pm 35,3 (29-220)	0,981
Intermedia	75,8 \pm 51,7 (21-501)	
Alta	81,7 \pm 52,9 (24-280)	

Figura 24. Representación gráfica de la agresividad del cáncer de próstata en relación con la concentración plasmática de PTH



Se realizó el análisis multivariante de las variables indicadoras de la agresividad tumoral comparando dos grupos de pacientes, los de agresividad alta y los de baja.

La edad tiene una razón de riesgos (RR de 0,927, con intervalo de confianza (IC) del 95% comprendido entre 0,832 y 1,032 ($p = 0,165$)). La RR del PSA total

es de 0,761 con IC entre 0,535 y 1,083 ($p = 0,130$) La RR del porcentaje de PSA libre es de 1,086 con IC comprendido entre 0,960 y 1,228 ($p = 0,189$).

Al analizar el volumen prostático se obtiene una RR de 1,013 con IC del 95% y entre 0,960 y 1,069 ($p = 0,631$). La RR de la densidad de PSA es de 0,164 y el IC del 95% entre 0 y 1,055 ($p=0,686$). Por parte, la RR de la concentración plasmática de 25-hidroxivitamina D₃ es de 0,983 con IC entre 0,930 y 1,038 ($p = 0,528$). Para la concentración plasmática de PTH se obtiene una RR de 0,999 con un IC del 95%, entre 0,985 y 1,014 ($p = 0,928$).

Por lo tanto, ninguna de las variables analizadas son indicadoras de que en un paciente afectado por cáncer de próstata la agresividad tumoral vaya a ser alta o no (tabla 18).

Tabla 18. Análisis multivariante del valor indicador de las variables consideradas para la agresividad tumoral (agresividad alta-no alta).

Variable	Razón de riesgos (IC 95 %)	<i>p</i>
Edad (años)	0,927 (0,832-1,032)	0,165
PSA total (ng/ml)	0,761 (0,535-1,083)	0,130
Porcentaje PSA libre (%)	1,086 (0,960-1,228)	0,189
Volumen prostático (cm ³)	1,013 (0,960-1,069)	0,631
Densidad de PSA (ng/cm ³)	0,164 (0-1,055)	0,686
25-hidroxivitamina D ₃ (ng/ml)	0,983 (0,930-1,038)	0,528
Parathormona (pg/ml)	0,999 (0,985-1,014)	0,928

PSA: antígeno prostático específico.

Se realizó otro análisis multivariante en relación con la agresividad tumoral comparando el grupo de pacientes de alta agresividad y el de los de baja. El resultado fue que la edad tiene una RR de 0,917, con un IC del 95%, comprendido entre 0,828 y 1,016 ($p = 0,099$).

Por lo que respecta a las variables directamente relacionadas con la próstata, la RR del PSA total es de 0,727 con un IC entre 0,561 y 0,944 ($p = 0,017$) La RR del porcentaje de PSA libre es de 1,119 con un IC comprendido entre 1,001 y 1,251 ($p = 0,048$). Al analizar la densidad de PSA se obtiene una RR de 0,029 con un IC del 95%, entre 0 y 13,153 ($p = 0,258$). Para el volumen

prostático, la RR es 1,024 con un IC del 95%, comprendido entre 0,976 y 1,016 ($p = 0,542$).

La RR de la concentración plasmática media de 25-hidroxivitamina D₃ es de 0,985 con un IC entre 0,933 y 1,039 ($p = 0,576$). Para la concentración plasmática de PTH se obtiene una RR de 0,999 con un IC del 95%, entre 0,985 y 1,013 ($p = 0,898$).

Las únicas variables indicadoras de agresividad tumoral son el PSA total y el porcentaje de PSA libre ($p < 0,05$) (tabla 19).

Tabla 19. Análisis multivariante de las variables indicadoras de la agresividad tumoral del cáncer de próstata (agresividad baja-no baja)

Variable	Razón de riesgos (IC 95 %)	p
Edad (años)	0,917 (0,828-1,016)	0,099
PSA total (ng/ml)	0,727 (0,561-0,944)	0,017
Porcentaje PSA libre (%)	1,119 (1,001-1,251)	0,048
Volumen prostático (cm ³)	1,024 (0,976-1,016)	0,542
Densidad de PSA (ng/cm ³)	0,029 (0-13,153)	0,258
25-hidroxivitamina D ₃ (ng/ml)	0,985 (0,933-1,039)	0,576
Parathormona (pg/ml)	0,999 (0,985-1,013)	0,898

PSA: antígeno prostático específico.

5. DISCUSIÓN

El cáncer de próstata es una neoplasia de origen multifactorial que tiene tres factores de riesgo que están estrechamente ligados a la vitamina D: tener una edad avanzada, ser negro y vivir en lugares de latitud elevada. Así, Schwartz y Hulka por primera vez plantearon en 1990 la hipótesis de que tener valores bajos de vitamina D era un factor de riesgo de padecer cáncer de próstata (Schwartz y Hulka, 1990).

Desde entonces, se han realizado numerosos estudios epidemiológicos del tipo casos y controles a fin de evaluar la relación entre las concentraciones hormonales de los metabolitos de la vitamina D y el riesgo de padecer cáncer de próstata. Los resultados de dichos estudios lejos de ser homogéneos, han llegado a ser divergentes; por ese motivo se ha realizado este trabajo.

En nuestro estudio analizamos cuantitativamente las concentraciones séricas de 25-hidroxivitamina D₃ porque se considera el mejor indicador del metabolismo de la vitamina D. La 1,25-dihidroxivitamina D₃ es el metabolito más activo de la vitamina D pero su vida media es muy corta y por ello su cuantificación resulta difícil. También hemos determinado los valores séricos de parathormona (PTH), ya que esta hormona está íntimamente relacionada con la homeostasis del metabolismo fosfocálcico y la vitamina D.

Analizamos la relación entre la concentración plasmática de 25-hidroxivitamina D₃ y el riesgo de padecer cáncer de próstata y hemos observado que los pacientes con cáncer de próstata tenían valores séricos del metabolito de la vitamina D inferiores a los controles. Al estratificar los valores de la

concentración de 25-hidroxivitamina D₃ en percentiles, tampoco hemos detectado ningún cuartil relacionado con un riesgo mayor de padecer cáncer de próstata. En el caso de los valores séricos de PTH tampoco observamos diferencias significativas entre casos y controles.

El siguiente objetivo de nuestro estudio fue determinar si la concentración plasmática de la 25-hidroxivitamina D₃ y la de la PTH tenían alguna relación con la agresividad tumoral. Tampoco se observaron diferencias significativas entre los valores de ambos metabolitos y la agresividad de los tumores estudiados.

Paralelamente se determinaron las concentraciones séricas de PSA total y PSA libre, así como el porcentaje de PSA libre en todos los pacientes. Los resultados son consistentes con los de la bibliografía que trata el mismo asunto. Se observó que los pacientes con cáncer de próstata tenían valores de PSA total superiores a los pacientes del grupo control. Por su parte, los valores de PSA libre y el porcentaje de PSA libre fueron superiores en el grupo de pacientes sin cáncer de próstata.

También analizamos la concentración de PSA total y el porcentaje de PSA libre en función de la agresividad tumoral. Para ello establecimos tres grupos de riesgo: alto, intermedio y bajo. Como era de esperar, observamos que los valores séricos de PSA total eran más elevados en el grupo de alto riesgo, mientras que en el grupo de riesgo bajo, el porcentaje de PSA libre era superior al valor hallado en los otros grupos.

Compararemos, analizando las semejanzas y las diferencias, los resultados de las valoraciones de las concentraciones plasmáticas de vitamina D y de parathormona con los hallados en estudios similares.

5.1. VITAMINA D Y RIESGO DE CÁNCER DE PRÓSTATA

La asociación entre la vitamina D y los diversos cánceres (colon, mama, próstata, etc.) ha sido extensamente analizada mediante estudios epidemiológicos. En este sentido, en 1980 Garland propuso la hipótesis del papel protector de la vitamina D en el cáncer de colon, que demostraría posteriormente basándose en que las tasas de mortalidad por cáncer de colon se relacionaba de manera inversamente proporcional con la irradiación solar (Garland y Garland, 1980).

La síntesis de la vitamina D en la piel se ve afectada por el grado de pigmentación cutánea (Holick y cols., 1989). El Instituto de Medicina de la Academia Nacional de las Ciencias recomienda una ingesta diaria de vitamina D que varía según la edad: 200 UI en menores de 51 años, 400 UI entre 51 y 71 años y 600 UI en mayores de 71 años (Parfitt y cols., 1982). Esas dosis permiten mantener valores plasmáticos de 25-hidroxivitamina D₃ de 30-35 ng/ml.

La actividad de la 1,25-dihidroxivitamina D₃ se produce a través de su receptor nuclear (VDR), del cual existen polimorfismos que se asocian a mayor

agresividad del cáncer de próstata. Hamasaki describió un riesgo cinco veces superior de cáncer de próstata de alto grado en aquellos pacientes que presentaban el genotipo VDR TaqI TT (Hamasaki y cols., 2002).

El metabolismo de la vitamina D se puede analizar mediante los metabolitos de la vitamina D, la 1,25-hidroxivitamina D₃ y la 25-hidroxivitamina D₃. En nuestro trabajo hemos estudiado los valores plasmáticos de la 25-hidroxivitamina D₃ porque son más abundantes y estables debido a su vida media larga; por ello, reflejan mejor el metabolismo de la vitamina D. En el año 1989 se publicó un estudio prospectivo que valoró por primera vez la relación entre los valores séricos de la 25-hidroxivitamina D₃ y la incidencia del cáncer de colon durante un período de ocho años. En ese estudio se analizaron 34 personas afectadas y 67 individuos de control, distribuidos en clases en función de las variables edad, sexo y mes en el que se realizaba la extracción de la muestra sanguínea. El riesgo de cáncer de colon disminuía un 80% cuando la concentración sérica de 25-hidroxivitamina D₃ estaba entre 27 y 41 ng/ml. Asimismo, se observó un efecto protector de la 25-hidroxivitamina D₃ frente al cáncer de colon, especialmente si la concentración media de este metabolito era superior a 20 ng/ml (Garland y cols., 1989).

En 1990 se publicó un trabajo que analizaba la relación entre la mortalidad por cáncer de mama en Estados Unidos en relación con la exposición solar. Para ello, recogieron las tasas de mortalidad ajustadas en función de la edad del periodo 1950-1969 en 87 países. A partir de los datos, concluyeron que había una relación inversa entre la tasa de mortalidad por cáncer de mama y la

radiación solar, de manera que era mayor mayor la tasa en los estados del norte del país, es decir, de mayor latitud y, por lo tanto, donde se recibe menos radiación solar (Garland y cols., 1990). Este mismo año, Schwartz propuso por primera vez que el déficit de la vitamina D podría ser un factor de riesgo de padecer cáncer de próstata (Schwartz y Hulka, 1990).

5.1.1. Estudios que observan relación entre la vitamina D y el riesgo de padecer cáncer de próstata

Entre los resultados de los trabajos publicados que estudian la relación de la vitamina D con el riesgo de cáncer de próstata hay evidentes discrepancias. A continuación analizaremos los estudios que mostraron relación entre los valores plasmáticos de la vitamina D y el riesgo de cáncer prostático.

El primer trabajo que se publicó fue un estudio de 181 individuos, de los que 90 eran controles y 91 eran casos de cáncer. Se determinaron los valores plasmáticos de 25-hidroxivitamina D₃ y de 1,25-hidroxivitamina D₃ para analizar la relación entre la vitamina D y el riesgo de cáncer de próstata en función de la pigmentación de la piel (negros y blancos) y de la edad (inferior a 57 años y superior o igual a 57 años); cada caso se emparejó con un control de las mismas características, tanto de edad como de raza. Se observó que la concentración de 25-hidroxivitamina D₃ variaba estacionalmente, de manera que los valores hallados en enero eran menores que los encontrados en julio. En cambio, no se observó tal variabilidad en la 1,25-hidroxivitamina D₃. Por otra parte, la media de la 25-hidroxivitamina D₃ en los casos y en los controles fue

similar, mientras que al analizar la 1,25-hidroxitamina D₃ sí que se observaron diferencias significativas; para este metabolito la media en los casos fue 1,81 pg/ml, menor que la de los controles. En ese trabajo, el riesgo de cáncer de próstata se analizó estratificando en cuartiles ambos metabolitos de la vitamina D; así se observó que la RR era de 0,15 cuando los valores de la 25-hidroxitamina D₃ correspondían al primer cuartil (3-18 ng/ml) y los valores de la 1,25-dihidroxitamina D₃ al cuarto cuartil (40-81 pg/ml). Por lo tanto, el riesgo de cáncer disminuía al aumentar los valores séricos de la 1,25-hidroxitamina D₃ y al disminuir los valores de la 25-hidroxitamina D₃, concretamente en los varones mayores de 56 años (Corder y cols, 1993).

En nuestro estudio observamos que la media de 25-hidroxitamina D₃ es ligeramente inferior en el grupo con cáncer prostático que en el grupo sin cáncer: 20,7 ng/ml frente a 21,6 ng/ml, si bien esta diferencia no es significativa. A diferencia del estudio de Corder y colaboradores, al realizar el análisis estratificado de la vitamina D, no observamos ningún cuartil con riesgo mayor de cáncer de próstata. En nuestro trabajo no cabía buscar el papel de la pigmentación de la piel como factor de riesgo ya que todos los individuos eran caucásicos. Por otra parte, no subdividimos los pacientes en función de la edad para trabajar con muestras de tamaño pequeño, que hubieran disminuido la potencia estadística del estudio. Un aspecto del trabajo de Corder y colaboradores que sí nos sirvió de inspiración para nuestro estudio fue que en dicho trabajo se hablaba, por primera vez, de la importancia de determinar la PTH para evaluar el riesgo de padecer cáncer de próstata, ya que era un factor

implicado en la regulación de la hidroxilación de la 25-hidroxitamina D₃ a 1,25-hidroxitamina D₃.

Los estudios analíticos publicados anteriormente, estudiaban el riesgo de sufrir cáncer de próstata mediante la evaluación de ambos metabolitos de la vitamina D. En el año 2000 se publicó el primer estudio (Ahonen y cols., 2000) de casos y controles que apoya la hipótesis de Schwartz de 1990: que el déficit de 25-hidroxitamina D₃ se relaciona con el aumento del riesgo de padecer cáncer prostático. En ese estudio, que se realizó en Finlandia, únicamente se analizó la concentración de 25-hidroxitamina D₃ porque la consideraron el mejor indicador del metabolismo de la vitamina D; eso se debe a que la 1,25-hidroxitamina D₃ tiene una vida media más corta, lo cual hace que la correlación entre la concentración sérica y la intraprostática sea débil, a causa de que el metabolismo prostático es más lento. La concentración de vitamina D de los 149 casos y 566 controles participantes en el estudio se clasificaron en función de la edad (inferior o superior a 52 años) y del período estacional en el que se había realizado la extracción (enero-febrero, marzo-mayo, septiembre). Por lo que respecta a los valores medios de la vitamina D, no se detectaron diferencias significativas entre la primavera y el invierno. La media de la 25-hidroxitamina D₃ en los casos fue 41,4 nmol/l, y en los controles, 44 nmol/l. En los pacientes menores de 52 años diagnosticados de cáncer de próstata se detectó una concentración media de 25-hidroxitamina D₃ de 37,1 nmol/l (con RR de 3,07), frente a 43,3 nmol/l en los pacientes sin cáncer. El hecho de que los varones de menos de 52 años diagnosticados de cáncer de próstata tuvieran menos de 40 nmol/l de 25-hidroxitamina D₃ constituía la primera

constatación publicada de que en varones jóvenes con valores séricos bajos de dicho metabolito había un aumento significativo del riesgo de padecer cáncer de próstata (Ahonen y cols., 2000).

En nuestro trabajo no dividimos la muestra en función de la edad de los pacientes, ya que determinar la influencia de la edad no era uno de los objetivos del diseño del estudio, a diferencia del de Ahonen y colaboradores. Tampoco determinamos el período en el que se había realizado la extracción sanguínea, variable para la que el grupo de Ahonen no observó diferencias que permitieran concluir que es indicativa de riesgo de padecer cáncer de próstata. En lo que sí coincidimos con el estudio de esos investigadores fue en la elección del metabolito. En nuestro caso, la media de los valores plasmáticos de la 25-hidroxivitamina D₃ es inferior globalmente.

En el grupo con cáncer la media fue 20,7 ng/ml (frente a 41,4 nmol/l encontrado por Ahonen y cols.), mientras que en el grupo sin cáncer la media fue de 21,6 ng/ml (frente a 44 nmol/l de Ahonen y cols). Por lo tanto, no constatamos que aumentara el riesgo de padecer cáncer de próstata cuando la concentración de 25-hidroxivitamina D₃ es baja.

5.1.2. Estudios que no observan relación entre la vitamina D y el riesgos de padecer cáncer de próstata

Analizamos seguidamente los estudios en los que no se constató relación alguna entre los valores plasmáticos de la vitamina D y el riesgo de padecer cáncer de próstata.

Braun y colaboradores (1995) publicaron un estudio de casos y controles en el que se analizaban los dos metabolitos de la vitamina D en 183 pacientes distribuidos en 61 casos diagnosticados de cáncer de próstata y 122 controles. Todos eran blancos, a diferencia de los individuos del estudio de Corder y colaboradores, que analizaron la posible influencia de este factor. Braun y colaboradores hallaron una media de las concentraciones de 25-hidroxivitamina D₃ y 1,25-hidroxivitamina D₃ en los individuos con cáncer de 34,3 pg/ml y 41 ng/ml, respectivamente. En los controles la media de la concentración de 25-hidroxivitamina D₃ fue 33,2 ng/ml, y la de 1,25-hidroxivitamina D₃ fue 40,1 pg/ml; no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. Por otra parte, los investigadores realizaron el análisis estadístico de riesgo estratificando el valor de la concentración de los metabolitos de la vitamina D en quintiles; los valores de la concentración sérica de 25-hidroxivitamina D₃ se dividieron en los siguientes intervalos: inferior a 24,1 ng/ml, 24,1-29,5 ng/ml, 29,6-35,4 ng/ml, 35,5-41,3 ng/ml y superior a 41,3 ng/ml.

En nuestro estudio la concentración media de 25-hidroxitamina D₃ en los pacientes sin cáncer de próstata es 21,6 ng/ml, y en el grupo con cáncer de próstata es 20,7 ng/ml; en estos pacientes diagnosticados de cáncer el resultado es inferior al del estudio de Braun y colaboradores, pero, como ellos, tampoco observamos diferencias significativas. En este grupo de afectados, estratificamos los valores de 25-hidroxitamina D₃ en cuartiles, con los siguientes intervalos: 7-13,7 ng/ml, 13,8-19 ng/ml, 19,1-27,4 ng/ml y 27,5-57 ng/ml. No se encontraron diferencias entre los cuartiles.

Gann y sus colaboradores publicaron en 1996 los resultados hallados en un estudio formado por 232 casos y 414 controles para evaluar la relación entre los valores séricos de 25-hidroxitamina D₃ y 1,25-hidroxitamina D₃ y el riesgo de cáncer de próstata. La determinación analítica de ambos metabolitos se realizó mediante radioinmunoensayo directo. La 25-hidroxitamina D₃ presenta una sensibilidad funcional de 4 ng/ml y un coeficiente de variación medio intra-ensayo de 8,1%; por su parte, la 1,25-hidroxitamina D₃ presenta una sensibilidad funcional de 5 pg/ml y un coeficiente de variación medio intra-ensayo de 7,9%. La media de la 25-hidroxitamina D₃ en los pacientes con cáncer era de 29,3 ng/ml frente a 28,5 ng/ml en los controles. La media de la 1,25-hidroxitamina D₃ en los individuos con cáncer era de 33,6 pg/ml frente a un valor de 34 pg/ml en los controles, sin que hubiera diferencias significativas. También se analizó el cociente entre la concentración de 25-hidroxitamina D₃ y la de 1,25-hidroxitamina D₃; tampoco para esta variable hubo diferencias significativas entre ambos grupos. El criterio clínico que utilizaron para establecer que un individuo padecía déficit de vitamina D fue que la

concentración de 25-hidroxivitamina D₃ fuera inferior a 15 ng/ml, y vieron que tal deficiencia se daba con la misma prevalencia (6,5%) en los casos de cáncer y en los individuos de control. En este trabajo, la estratificación de ambos metabolitos en cuartiles se realizó en función de tres criterios: edad superior o inferior a 61 años, tiempo (en años) hasta el diagnóstico y agresividad tumoral. No se observaron diferencias estadísticas en las razones de probabilidades.

En nuestro trabajo, el ensayo que se utiliza para la determinación cuantitativa de la 25-hidroxivitamina D₃ es el inmunoensayo competitivo, igual que en el estudio de Gann y colaboradores. La sensibilidad funcional de nuestros análisis es superior (7 ng/ml) a la del laboratorio utilizado por Corder y colaboradores; nuestro coeficiente de variación medio intra-ensayo es del 11,3%. En este trabajo, tampoco hemos encontrado diferencias significativas en los valores séricos de 25-hidroxivitamina D₃ respecto al riesgo de padecer cáncer de próstata. Cabe reseñar, asimismo, que no hemos analizado los datos en función de la edad de los individuos, sino que únicamente hemos considerado los criterios de agresividad de d'Amico.

El estudio de Nomura, cuyos resultados se publicaron en 1998, también se realizó con casos y controles, esta vez en Hawaii, en una población de japoneses-americanos (personas con nacionalidad estadounidense pero cuyas familias procedían de Japón). Se analizaron los valores séricos de los dos metabolitos de la vitamina D en 272 individuos, distribuidos en 136 casos y 136 controles. La media de la 25-hidroxivitamina D₃ en los controles fue 41,6 ng/ml; y en los casos, 41 ng/ml. Por su parte, la media de la 1,25-hidroxivitamina D₃

en los controles fue 39,5 pg/ml, y 39 pg/ml en los casos. Este estudio es el que presenta los valores séricos de 25-hidroxitamina D₃ más elevados en los individuos de control, al menos en comparación con las publicaciones anteriores (Gann y cols., 1996; Braun y cols., 1995). Los autores conjeturaron que la causa estaría relacionada con las características climáticas de Hawai, entre ellas, su mayor insolación. De hecho, no se observó en los controles ningún valor de 25-hidroxitamina D₃ inferior a 21 ng/ml. Al analizar la relación entre el riesgo de padecer cáncer de próstata y las concentraciones medias de 25-hidroxitamina D₃ y de 1,25-hidroxitamina D₃ no se observaron diferencias significativas. Se clasificaron los pacientes en terciles y en cuartiles, pero no se encontró relación entre la variación de los valores de 25-hidroxitamina D₃ y 1,25-hidroxitamina D₃ y el aumento o la disminución del riesgo de sufrir cáncer prostático. Tampoco se hallaron diferencias entre la concentración media de 25-hidroxitamina D₃ y el mes en el que se había tomado la muestra de sangre. Asimismo, realizaron un subanálisis en función de la edad: 58 casos con 75 años o más y 78 casos menores de 75 años; tampoco en este aspecto se estableció relación alguna con un riesgo mayor de desarrollar cáncer de próstata. Se considera que este estudio fue el primero en analizar la concentración de PTH para establecer una posible relación con el riesgo de cáncer de próstata. La concentración media de PTH en los casos fue 26 pg/ml y en los controles fue 25,5 pg/ml, una diferencia sin significación estadística.

En los individuos de control de nuestro estudio la concentración media de 25-hidroxitamina D₃ fue 21,6 ng/ml, sensiblemente inferior al dato del trabajo de Nomura y colaboradores. Al comparar estas cifras con las de los individuos

afectados por cáncer no encontramos asociación de ningún tipo entre la vitamina D y el riesgo de cáncer de próstata.

Hay otro estudio publicado en el año 2004 en el que tampoco se encontró relación entre los valores plasmáticos de vitamina D y el riesgo de padecer cáncer de próstata. En dicho estudio, se analizaron 249 individuos, entre casos, 83, y controles, 166; las características de ambos grupos permitían su comparación en el estudio. Se estratificaron los valores de la concentración de 25-hidroxivitamina D₃ en terciles: 8,1-25,3 ng/ml, 25,4-32,7 ng/ml y 32,8-59,7 ng/ml. Los valores de la concentración de 1,25-hidroxivitamina D₃ también se dividió en terciles: 13,7-27,5 pg/ml, 27,6-32,9 pg/ml y 33-64,4 pg/ml. Se evaluó la RR en los casos y en los controles, sin que fuera posible establecer una relación entre la vitamina D y el riesgo de padecer cáncer de próstata. En la publicación no se especifica la concentración media de 25-hidroxivitamina D₃ y de 1,25-hidroxivitamina D₃ en ninguno de los dos grupos (Jacobs y cols., 2004).

En nuestro trabajo al estratificar en cuartiles los valores de 25-hidroxivitamina D₃ tampoco hemos encontrado diferencias entre dichos cuartiles por lo que respecta al riesgo de cáncer de próstata. En los individuos que padecen cáncer, el segundo cuartil es el predominante (50,4%), seguido del primer cuartil (46,3%); mientras que en los individuos de control, los cuartiles más frecuentes son el tercero (57,3%) y el cuarto (58.8%). En el estudio de Jacobs y colaboradores el segundo cuartil era el más frecuente (40,2%) en los casos, mientras que en los controles era más frecuente el tercer cuartil (71,1%). Así pues, en este aspecto, los resultados de Jacobs y colaboradores coinciden con

los de nuestro estudio. Tampoco a partir de los resultados de nuestro trabajo es posible concluir que cuanto menor es la concentración de 25-hidroxivitamina D₃ más aumenta el riesgo de desarrollar un cáncer de próstata.

También en el año 2004 se publicó otro estudio de casos y controles apareados para evaluar la hipótesis de que la concentración plasmática de vitamina D se asocia con una incidencia mayor de cáncer de próstata. El estudio tenía un tamaño muestral superior, 920 pacientes, en comparación con los otros trabajos de los que hemos hablado. Los investigadores encontraron que la concentración plasmática media de 25-hidroxivitamina D₃ era superior en los casos (24,6 ng/ml) que en los controles (23,9 ng/ml). Por su parte, la media de la concentración de 1,25-hidroxivitamina D₃ en los 460 individuos con cáncer era de 34,3 pg/ml, frente a una media de 33,5 pg/ml en los 460 individuos de control. También analizaron el cociente entre la concentración de 1,25-hidroxivitamina D₃ y la de 25-hidroxivitamina D₃, y concluyeron que esa variable no influía en el riesgo de padecer cáncer de próstata. Asimismo se estratificaron ambos metabolitos de la vitamina D en cuartiles y se evaluó la RR, sin que se observara asociación entre los valores séricos de 1,25-hidroxivitamina D₃ ni los de 25-hidroxivitamina D₃ con el riesgo de desarrollar cáncer de próstata (Platz y cols., 2004).

En nuestro trabajo, la concentración media de 25-hidroxivitamina D₃ es superior en el grupo de pacientes sin cáncer (21,6 ng/ml) que en el grupo con cáncer de próstata (20,7 ng/ml). Tampoco encontramos asociación entre el riesgo de cáncer de próstata y la concentración de 25-hidroxivitamina D₃. También

estratificamos en cuartiles los valores plasmáticos del metabolito de la vitamina D sin que hayamos podido identificar con significación estadística que un cierto rango de valores se asocia con mayor riesgo de padecer cáncer de próstata, igual que ocurrió en el trabajo del grupo de Platz. En nuestro estudio no calculamos la razón entre 1,25-hidroxivitamina D₃ y 25-hidroxivitamina D₃ porque sólo usamos como medida de la vitamina D la 25-hidroxivitamina D₃.

El estudio de casos y controles de Tuohimaa y colaboradores se publicó en 2004 y la población que analizaron procedía de los países nórdicos. Evaluaron el riesgo de padecer cáncer de próstata en función de los valores plasmáticos de la vitamina D, representados por la 25-hidroxivitamina D₃, en una muestra de 622 individuos entre casos y controles; de ellos, 404 residían en Noruega, 132 en Finlandia y 86 en Suecia. La concentración media de 25-hidroxivitamina D₃ en los tres grupos de pacientes diagnosticados de cáncer eran 55 nmol/l en la población analizada en Noruega, 53 nmol/l en la de Suecia y de 42 nmol/l en Finlandia, que es inferior a las otras dos. Se observó variabilidad en función de la estación del año en la que se realizaba la extracción de sangre: los valores absolutos de vitamina D eran superiores en verano e inferiores en primavera. Se estratificaron los valores plasmáticos de 25-hidroxivitamina D₃ en quintiles: inferior o igual a 19 nmol/l, de 20 a 39 nmol/l, de 40 a 59 nmol/l (referencia), de 60 a 79 nmol/l e iguales o superiores a 80 nmol/l. En Finlandia se observó un aumento del riesgo de padecer cáncer cuando la concentración de la vitamina D era igual o inferior a 19 nmol/l (primer quintil), con una RR de 2,4, frente a 1,2 en el quintil superior. Por el contrario, en Suecia y Noruega se observó un aumento del riesgo de desarrollar cáncer de próstata cuando aumentaban los

valores plasmáticos de vitamina D. Se constató que había diferencias significativas en el quinto quintil en el grupo analizado en Noruega (con una RR de 1,8) y en Finlandia (RR = 2,4 en el primer quintil, y RR = 1,9 en el segundo quintil); pero no se detectaron diferencias entre quintiles de la concentración de vitamina D en el grupo de los 86 individuos de Suecia. Por lo tanto, Tuohimaa y colaboradores concluyeron que en su muestra tanto cuando la media de la concentración de 25-hidroxivitamina D₃ era alta como cuando era baja aumentaba el riesgo de padecer cáncer de próstata, posiblemente a causa de otros factores de riesgo de cáncer de próstata conocidos. Los tres grupos de pacientes presentan valores similares de radiación solar recibida. Globalmente no se encontraron diferencias.

En nuestro estudio también analizamos la 25-hidroxivitamina D₃ como el metabolito que mejor refleja la vitamina D. Estratificamos sus valores plasmáticos en cuartiles, no en quintiles, y no establecemos como valor comparativo de referencia el segmento 40-59 nmol/l, como hace el grupo de Tuohimaa. En nuestro caso, no observamos cambio en el riesgo de padecer cáncer de próstata en relación con la concentración de 25-hidroxivitamina D₃.

Recientemente se han publicado los resultados de un estudio de casos y controles (Ahn y cols., 2008) en el que la muestra era bastante grande: 1.530 pacientes, de los cuales 749 eran casos y 781 controles. Ambos grupos eran homogéneos respecto a dos variables analizadas en publicaciones previas, la edad y la época del año en la que se realizó la extracción de sangre. La concentración media de la 25-hidroxivitamina D₃ en los casos era 59 nmol/l, y

en los controles, 57,6 nmol/l. No se encontró relación entre los valores séricos de 25-hidroxivitamina D₃ y el riesgo de desarrollar cáncer de próstata.

En nuestro estudio, la concentración media de 25-hidroxivitamina D₃ es superior en el grupo sin cáncer de próstata (21,6 ng/ml) que la encontrada en el grupo de afectados de cáncer de próstata (20,7 ng/ml). Nosotros tampoco encontramos relación entre los valores séricos de vitamina D y el aumento del riesgo de padecer cáncer de próstata.

5.2. Parathormona y riesgo de padecer cáncer de próstata

La PTH promueve el crecimiento de las células prostáticas neoplásicas (Ritchie y cols., 1997) además de regular la concentración sérica de 1,25-hidroxivitamina D₃ (Skinner y Schwartz, 2009). Así, esta hormona actúa como un promotor del cáncer de forma directa e indirecta (McCarty, 2000).

Relacionado con ello, se ha observado que la prevalencia variable del hiperparatiroidismo secundario en casos de cáncer de próstata avanzado es variable, con un rango entre el 21 y el 57% (Murray y cols., 2001). Una hipótesis es que las metástasis de origen prostático provocan el aumento de la concentración de PTH. A partir de esos datos e hipótesis, consideramos que sería útil estudiar la posible relación entre la concentración de PTH y el riesgo de desarrollar cáncer de próstata. A pesar de que nos hubiera gustado, no podemos discutir los resultados por comparación con los de otros ensayos,

como se ha hecho para los metabolitos de la vitamina D, ya que no hemos encontrado estudios cuyo objetivo principal sea analizar la asociación entre la PTH y el riesgo de padecer cáncer de próstata. No obstante, Nomura y colaboradores en un estudio de casos y controles ya descrito —que analizaba los valores de los metabolitos de la vitamina D en relación con el riesgo de cáncer de próstata—, incluyó la comparación con la concentración plasmática de PTH.

También lo hicimos en nuestro estudio y a pesar de que hallamos cierta diferencia en la concentración media de la PTH —76,9 pg/ml en el grupo de pacientes diagnosticados de cáncer de próstata frente a 74,8 pg/ml en el grupo de los controles—, no pudimos establecer que los valores plasmáticos de PTH fueran indicativos de mayor o menor riesgo de padecer cáncer de próstata.

5.3. Vitamina D y agresividad tumoral del cáncer de próstata

El primer trabajo publicado en el que se analizó la relación entre agresividad tumoral y los valores de vitamina D fue el de Corder y colaboradores (1993). Consideraron dos criterios para valorar la agresividad tumoral, uno era que la suma de Gleason fuera superior a 7 y el otro es que el cáncer fuera palpable (estadio clínico T2). Observaron que en los pacientes de 57 años o más que cumplían ambos criterios, es decir que se les diagnosticaba un cáncer de

próstata que era palpable y además presentaban un valor de la suma de Gleason superior a 7 —o dicho de otra manera, eran pacientes con tumores malignos agresivos—, los valores de 25-hidroxivitamina D₃ eran inferiores a los de los controles y los valores de 1,25-hidroxivitamina D₃ eran superiores a los de los individuos de control (Corder y cols., 1993).

En nuestro estudio, la media de la concentración de 25-hidroxivitamina D₃ en el grupo de pacientes con suma de Gleason superior a 7 fue 22,4 ng/ml, que resultó superior a la media de dicha concentración en los casos de tumores bien diferenciados en valores absolutos.

Dos años más tarde que el trabajo del grupo de Corder, se publicó el del grupo de Braun. En el estudio se analizaban 61 casos y 122 controles, y en él no se definía la agresividad explícitamente. Consideraron la edad y el método diagnóstico del cáncer de próstata como una medida indirecta de la gravedad del cáncer de próstata; por ello analizaron los valores de la vitamina D en función de si el diagnóstico se había producido de manera fortuita durante la resección transuretral de próstata. Se subdividieron los casos en dos grupos en función de la edad, 33 pacientes de edad superior a 57 años y 28 casos de edad igual o inferior a 57 años. No se observaron diferencias en la gravedad del cáncer de próstata en relación con los criterios utilizados en dicho estudio (Braun y cols., 1995).

En nuestro trabajo todos los casos son diagnosticados mediante biopsia prostática; por lo tanto no hemos podido establecer la diferenciación que hace

el ensayo citado entre métodos diagnósticos. Respecto a la edad, en los criterios que utilizamos para definir la agresividad del cáncer de próstata no se incluye este parámetro y por ello no hemos estratificado nuestra muestra como sí hizo el grupo de Braun.

Posteriormente el grupo de Gann publicó otro estudio realizado con 646 individuos entre casos y controles que evaluaba el riesgo de cáncer de próstata en relación con los valores de ambos metabolitos de la vitamina D. Se definía explícitamente la agresividad tumoral como estadio A o B si la suma de Gleason era superior a 6 o si había afectación extraprostática. Se observó que de los 232 casos, el 50% cumplía criterios de agresividad. No había diferencias significativas respecto a los valores plasmáticos de 25-hidroxivitamina D₃ y de 1,25-hidroxivitamina D₃ en relación con la agresividad tumoral de los pacientes que padecían cáncer de próstata. También estratificaron los pacientes en función de la edad, variable para la que se estableció el límite en 61 años; clasificaron como cáncer de próstata agresivo 49 pacientes mayores de 61 años. En este subgrupo tampoco se observó que se redujera el riesgo de padecer cáncer al aumentar los valores de 1,25-hidroxivitamina D₃ (Gann y cols., 1996).

Como en este trabajo, tampoco en nuestra serie observamos que variaran significativamente los valores de la concentración de 25-hidroxivitamina D₃ en aquellos pacientes con un cáncer de próstata de riesgo alto de diseminación tumoral.

En el estudio de casos y controles de Ahonen y colaboradores no se definió específicamente la agresividad, pero sí que se analizaron los valores plasmáticos de vitamina D según el estadio clínico del cáncer de próstata. La media de la 25-hidroxivitamina D₃ en el cáncer localizado era 38,3 nmol/l, y en el cáncer no localizado era 32,7 nmol/l en los varones de edades comprendidas entre 40 y 51 años. El problema de este trabajo a la hora de llegar a conclusiones era que había 38 pacientes de cuyo cáncer se desconocía el estadio clínico. En nuestro estudio —que como el finlandés solo analizó la concentración de la 25-hidroxivitamina D₃ de entre los diversos metabolitos de la vitamina D— la serie de individuos estudiados estaba formada por 479 varones y para todos ellos tenemos registrado el estadio clínico; esa es la diferencia con el trabajo de Ahonen y colaboradores. No obstante, no constatamos que fuera estadísticamente significativa la relación entre la concentración de 25-hidroxivitamina D₃ y el grado de agresividad tumoral.

El primer estudio que analizó los valores plasmáticos de 1,25-hidroxivitamina D₃ y 25-hidroxivitamina D₃ estratificados en cuartiles en relación con la agresividad tumoral lo publicó el grupo de Platz en el año 2004. Se clasificó el cáncer de próstata en más agresivo y en menos agresivo en función del estadio clínico y de la suma de Gleason. El tumor menos agresivo correspondía al estadio clínico T_{1-3a}N₀M₀ y suma de Gleason inferior a 7. El cáncer prostático se clasificaba como más agresivo cuando el estadio clínico era T_{3b-4}N₀₋₁M₀₋₁ o bien cuando la suma de Gleason era igual o superior a 7. Había sólo 40 casos de cáncer de próstata considerados como más agresivos según los criterios utilizados. En ellos se observó que las concentraciones plasmáticas de los

metabolitos de la vitamina D eran más elevados pero sin ser estas diferencias significativas (Platz y cols, 2004).

En nuestro estudio utilizamos los criterios de d'Amico para clasificar la agresividad tumoral en tres grupos. Como en el trabajo del grupo de Platz, no pudimos establecer tampoco una relación entre la agresividad y el riesgo de desarrollar un cáncer de próstata.

Otro interesante estudio es el realizado por Li y colaboradores, que analizaron los dos metabolitos de la vitamina D en relación con la agresividad tumoral definida en función del estadio clínico (C o D) y del grado tumoral (suma de Gleason total de 7 a 10). Consideraron que un cáncer era no agresivo cuando el estadio era A o B y la suma de Gleason era 6 o inferior. También estratificaron los pacientes con cáncer en dos clases según a qué edad se les había diagnosticado el cáncer: mayores, si había ocurrido después de los 65 años, y jóvenes, si había sucedido cuando el paciente tenía 65 años o menos. Los valores de 1,25-hidroxivitamina D₃ no presentaban variación estacional, mientras que los de 25-hidroxivitamina D₃ eran superiores en verano y otoño, con una concentración media de 31,7 ng/ml, frente a 24,8 ng/ml en invierno y primavera. En el estudio se estableció el déficit de vitamina D en un valor de la concentración de 25-hidroxivitamina D₃ inferior a 20 ng/ml; por otra parte, se consideró que un paciente presentaba insuficiencia de vitamina D cuando la concentración de 25-hidroxivitamina D₃ era inferior a 32 ng/ml. La disminución de la concentración plasmática de 1,25-hidroxivitamina D₃ se asoció con el aumento de la agresividad tumoral, especialmente si la edad era superior a 65

años. Estos hallazgos fueron consistentes con los resultados del estudio de Corder y colaboradores. Al analizar conjuntamente ambos metabolitos se observó que los varones con valores bajos tanto de la 1,25-hidroxivitamina D₃ como de la 25-hidroxivitamina D₃ tenían cánceres de próstata de mayor agresividad tumoral (RR = 2,06). Esta asociación era mayor en los pacientes mayores de 65 años (RR = 2,47). No se constató una asociación significativa entre los valores individuales de 25-hidroxivitamina D₃ y la agresividad tumoral del cáncer de próstata (Li y cols., 2007).

En nuestro trabajo no analizamos la concentración de 1,25-dihidroxivitamina D₃, por lo que no se puede determinar su relación con la agresividad tumoral. Al analizar la 25-hidroxivitamina D₃ no encontramos una variabilidad destacable en la media de este metabolito entre los diferentes grupos de riesgo, a semejanza de lo que se refiere en el estudio de Li y colaboradores. Este grupo, al analizar individualmente la media de la concentración de cada metabolito de la vitamina D tampoco constató una relación significativa con la agresividad tumoral.

El año 2008 se publicó un amplio estudio de 749 casos y 781 controles, en el que se analizó la asociación de la vitamina D, representada por la 25-hidroxivitamina D₃, con el riesgo de desarrollar un cáncer de próstata así como con la agresividad tumoral. De los 749 pacientes diagnosticados de cáncer, 466 casos se definieron como agresivos (suma de Gleason igual o superior a 7 o estadio clínico III o IV), y de ellos 196 se consideraron estrictamente agresivos (suma de Gleason igual o superior a 8 o estadio III o IV). El resto eran tumores

de próstata no agresivos, a los que les correspondían valores de la suma de Gleason inferior a 7 o estadio clínico I o II. Analizaron las características de los casos y de los controles, que eran heterogéneos respecto al valor medio de PSA total y a la historia familiar de cáncer de próstata; esta última circunstancia era más común entre los casos que en el grupo control. Al analizar la agresividad tumoral se observó una tendencia a que el aumento de la concentración plasmática de 25-hidroxivitamina D₃ se asociara a un aumento del riesgo de enfermedad agresiva, tanto el grado (suma de Gleason igual o superior a 7) como el estadio clínico (III o IV) (Ahn y cols., 2008).

Por lo que respecta a la relación entre la vitamina D y la agresividad tumoral, nuestros datos no permiten concluir que haya una asociación significativa entre la concentración plasmática de 25-hidroxivitamina D₃ y el cáncer de próstata en ninguno de los tres grupos establecidos de agresividad (bajo, intermedio y alto). No estratificamos los valores en quintiles ni en función de la estación del año en la que se registraron.

5.4. Parathormona y agresividad tumoral del cáncer de próstata

No se han encontrado estudios que analicen la relación entre la concentración plasmática de PTH y la agresividad tumoral del cáncer de próstata.

En nuestro trabajo, la agresividad tumoral se estratificó en riesgo bajo, grupo en el que la concentración media de PTH fue de 73,7 pg/ml; riesgo moderado, con un valor medio de PTH de 75,8 pg/ml; y riesgo alto, con una media de PTH de 81,7 pg/ml. No se constataron diferencias significativas entre los tres grupos por lo que respecta al papel que pudiera desempeñar la concentración media de PTH en la agresividad tumoral del cáncer de próstata.

5.5. Limitaciones de nuestro estudio

En nuestro trabajo existen unas limitaciones propias al diseño del estudio realizado y otras propias metodológicas de la determinación de los metabolitos analizados.

El tipo de estudio realizado es de casos y controles, por ello la probabilidad de cometer sesgos es mayor que en los estudios de cohortes. El sesgo se produce especialmente en la selección de los controles, ya que es mayor la probabilidad de incluir individuos con cáncer de próstata enmascarado. Eso se debe a que el método diagnóstico utilizado en todos los pacientes es la

realización de una biopsia de próstata, en función de cuyo resultado se clasifican los pacientes; según en el análisis histológico se vean células tumorales malignas o no, los individuos se adjudican al grupo de pacientes afectados por cáncer de próstata grupo o al grupo sin cáncer, es decir, de control. Pero hay que tener en cuenta que cuando el resultado de la biopsia es negativo, no se descarta que el paciente pueda tener un cáncer de próstata, a pesar de ser un procedimiento diagnóstico aleatorizado y normatizado incluso adaptando el número de cilindros al volumen prostático mediante el nomograma modificado de Vienna.

Otra limitación debida al tipo de estudio, es el hecho de que la muestra, al no haber sido aleatorizada, no es representativa de la población; por lo tanto la validez externa del diseño es inferior a un estudio tipo ensayo clínico.

La variabilidad circadiana de las hormonas analizadas en nuestro estudio supone una cierta limitación metodológica. No obstante, las determinaciones se realizaron mediante un único análisis de sangre, que siempre se extrajo por la mañana, de 7 a 9 horas.

La PTH no presenta variabilidad estacional. En cambio, los valores plasmáticos de 25-hidroxivitamina D₃ sí que presentan variabilidad estacional; la concentración de este metabolito es superior en verano y otoño que en primavera y verano (Ahn y cols., 2008). Existe un trabajo en el que se analizó la variación estacional de la concentración de 25-hidroxivitamina D₃ en jóvenes y ancianos en Buenos Aires. Se constató que en invierno descendía la concentración de ese metabolito de la vitamina D₃ en la mitad de la población

estudiada, sin que la diferencia estuviera influida de manera significativa por la edad.

Finalmente, la última limitación que debemos mencionar es que la agresividad tumoral se ha evaluado mediante criterios que predicen la capacidad de diseminación tumoral después del tratamiento primario. No hemos evaluado la supervivencia específica de los pacientes estudiados, que en definitiva es lo único que define la verdadera agresividad tumoral.

6. CONCLUSIONES

1. No hemos evidenciado en la población estudiada una relación significativa entre la concentración plasmática de 25-hidroxivitamina D₃ y el riesgo de ser diagnosticado de cáncer de próstata.
2. Tampoco hemos evidenciado en la población estudiada una relación significativa entre la concentración sérica de parathormona y el riesgo de ser diagnosticado de cáncer de próstata.
3. No hemos evidenciado en la población estudiada una relación significativa entre la concentración sérica de 25-hidroxivitamina D₃ y la agresividad tumoral de los cánceres detectados.
4. Tampoco hemos evidenciado en la población estudiada una relación significativa entre la concentración sérica de parathormona y la agresividad tumoral de los cánceres detectados.
5. En definitiva, en la población incluida en nuestro estudio no se ha podido establecer una relación entre las concentraciones séricas de 25-hidroxivitamina D₃ y de parathormona con el riesgo de ser diagnosticado de cáncer de próstata ni con su agresividad tumoral.

7. BIBLIOGRAFÍA

A

- Adams J.S., Singer F.R., Gacad M.A., Sharma O.P., Hayes M.J., Vouros P. et al. Isolation and structural identification of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ produced by cultured alveolar macrophages in sarcoidosis. *J Clin Endocrinol Metab* 60(5):960-6, 1985.
- Ahn J., Peters U., Albanes D., Purdue M.P., Abnet C.C., Chatterjee N. et al. Serum vitamin D concentration and prostate cancer risk: a nested case-control study. *J Natl Cancer Inst* 100(11):796-804, 2008.
- Ahn J., Albanes D., Berndt S.I., Peters U., Chatterjee N., Freedman N.D. et al. Vitamin D-related genes, serum vitamin D concentrations and prostate cancer risk. *Carcinogenesis* 30(5):769-76, 2009.
- Ahn J., Albanes D., Peters U., Schatzkin A., Lim U., Freedman M. et al. Dairy products, calcium intake, and risk of prostate cancer in the prostate, lung, colorectal, and ovarian cancer screening trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 16(12):2623-30, 2007.
- Ahonen M.H., Tenkanen L., Teppo L., Hakama M., Tuohimaa P. Prostate cancer risk and prediagnostic serum 25-hydroxyvitamin D levels (Finland). *Cancer Causes and Control* 11(9):847-52, 2000.
- Alcaraz A., Ribal M.J., Villavicencio H. Cáncer de próstata: aplicación de la biología molecular. En: *Aplicabilidad de la biología molecular en la Urología*. 1 ed; p.245-274.
- Angulo J.C., Akdas A., Eberle J.M., Häggman M., Malmstroöm P.U., Pontes E.J. et al. Comparison among patients considered candidates for radical

prostatectomy in academic institutes in different countries. *Arch Esp Urol* 51(10):957-64, 1998.

Applewhite J.C., Matlaga B.R., McCullough D.L. Results of the 5 region prostate biopsy method: the repeat biopsy population. *J Urol* 168(2):500-3, 2002.

Arlen P.M., Figg W.D., Gulley J., Cox M.C., Linehan W.M., Dahut W. National Cancer Institute intramural approach to advanced prostate cancer. *Clin Prostate Cancer* 1(3):153-62, 2002.

Armbrecht H.J., Boltz M.A. Expression of 25-hydroxyvitamin D 24-hydroxylase cytochrome P450 in kidney and intestine. Effect of 1,25-dihydroxyvitamin D and age. *FEBS Lett* 292(1-2):17-20, 1991.

B

Baker D.H., Biehl R.R., Emmert J.L. Vitamin D3 requirement of young chicks receiving diets varying in calcium and available phosphorus. *Br Poult Sci* 39(3):413-7, 1998.

Bao B.Y., Hu Y.C., Ting H.J., Lee Y.F. Androgen signaling is required for the vitamin D-mediated growth inhibition in human prostate cancer cells. *Oncogene* 23(19):3350-60, 2004.

Barbour G.L., Coburn J.W., Slatopolsky E., Norman A.W., Horst R.L. Hypercalcemia in an anephric patient with sarcoidosis: evidence for extrarenal generation of 1,25-dihydroxyvitamin D. *N Engl J Med* 305(8):440-3, 1981.

- Bauer J.A., Thompson T.A., Church D.R., Ariazi E.A., Wilding G. Growth inhibition and differentiation in human prostate carcinoma cells induced by the vitamin D analog $1\alpha,24$ -dihydroxyvitamin D₂. *Prostate* 55(3):159-67, 2003.
- Becker C., Lilja H. Individual prostate-specific antigen (PSA) forms as prostate tumor markers. *Clin Chim Acta* 257(1):117-32, 1997.
- Beilin J., Ball E.M., Favaloro J.M., Zajac J.D. Effect of the androgen receptor CAG repeat polymorphism on transcriptional activity: specificity in prostate and non-prostate cell lines. *J Mol Endocrinol* 25(1):85-96, 2000.
- Bell N.H. Renal and nonrenal 25-hydroxyvitamin D- 1α -hydroxylases and their clinical significance. *J Bone Miner Res* 13(3):350-53, 1998.
- Bhatia-Gaur R., Donjacour A.A., Sciavolino P.J., Kim M., Desai N., Young P. et al. Roles for Nkx3.1 in prostate development and cancer. *Gene Dev* 13(8):966-77, 1999.
- Bikle D.D. Vitamin D: a calciotropic hormone regulating calcium-induced keratinocyte differentiation. *J Am Acad Dermatol* 37(3):42-52, 1997.
- Bikle D.D. Nonclassic actions of vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab* 94(1):26-34, 2009.
- Black R.J., Bray F., Ferlay J., Parkin D.M. Cancer incidence and mortality in the European Union: cancer registry data and estimates of national incidence for 1990. *Eur J Cancer* 33(7):1075-107, 1997.
- Bookstein R. Tumor suppressor genes in prostatic oncogenesis. *J Cell Biochem Suppl* 19(1):217-23, 1994.

- Boorjian S.A., Karnes R.J., Rangel L.J., Bergstralh E.J., Blute M.L. Mayo Clinic validation of the D'amico risk group classification for predicting survival following radical prostatectomy. *J Urol* 179(4):1354-60, 2008.
- Borràs J., Marcos-Gragera R., Torres A., Espinàs J.A. Análisis de la incidencia, la supervivencia y la mortalidad según las principales localizaciones tumorales, 1985-2019: cáncer de próstata. *Med Clin* 131(1S):63-6, 2008.
- Borràs J., Ameijide A., Vilardell L., Valls J., Marcos-Gragera R., Izquierdo A. Evolución de la incidencia del càncer en Catalunya, 1985-2002. *Med Clin* 131(1S):11-8, 2008.
- Bostwick D.G., Srigley J., Grignon D., Maksem J., Humphrey P., van der Kwast T.H. et al. Atypical adenomatous hyperplasia of the prostate: morphologic criteria for its distinction from well-differentiated carcinoma. *Hum Pathol* 24(8):819-32, 1993.
- Boyle M.P., Noschese M.L., Watts S.L., Davis M.E., Stenner S.E., Lechtzin N. Failure of high-dose ergocalciferol to correct vitamin D deficiency in adults with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 172(2):212-7, 2005.
- Boyle P., Ferlay J. Cancer incidence and mortality in Europe, 2004. *Ann Oncol* 16(3):481-488, 2005.
- Braun M.M., Helzlsouer K.J., Hollis B.W., Comstock G.W. Prostate cancer and prediagnostic levels of serum vitamin D metabolites (Maryland, United States). *Cancer Causes Control* 6(3):235-9, 1995.
- Bryden A.A., Islam S., Freemont A.J., Shanks J.H., George N.J., Clarke N.W. Parathyroid hormone-related peptide: expression in prostate cancer bone metastases. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 5(1):59-62, 2002.

Buchs N., Bonjour J.P., Rizzoli R. Renal tubular reabsorption of phosphate is positively related to the extent of bone metastatic load in patients with prostate cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 83(5):1535-41, 1998.

C

Calvo M.S., Whiting S.J. Overview of the proceedings from experimental biology 2004 symposium: Vitamin D insufficiency: a significant risk factor in chronic diseases and potential disease-specific biomarkers of vitamin D sufficiency. *J Nutr* 135(2):301-3, 2005.

Catalona W.J., Smith D.S., Ratliff T.L., Dodds K.M., Coplen D.E., Yuan J.J. et al. Measurement of prostate-specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer. *N Engl J Med* 324(17):1156-61, 1991.

Catalona W.J., Richie J.P., Ahmann F.R., Hudson M.A., Scardino P.T., Flanigan R.C. et al. Comparison of digital rectal examination and serum prostate specific antigen in the early detection of prostate cancer: results of a multicenter clinical trial of 6,630 men. *J Urol* 151(5):1283-90, 1994.

Chapuy M.C., Chapuy P., Meunier P.J. Calcium and vitamin D supplements: effects on calcium metabolism in elderly people. *Am J Clin Nutr* 46(2):324-8, 1987.

Chen T.C., Holick M.F. Vitamin D and prostate cancer prevention and treatment. *Trends Endocrin Met* 14(9):423-30, 2003.

- Chiu K.C., Chuang L.M., Yoon C. The vitamin D receptor polymorphism in the translation initiation codon is a risk factor for insulin resistance in glucose tolerant Caucasians. *BMC Med Genet* 2(2):1-8, 2001.
- Chodak G.W., Thisted R.A., Gerber G.S., Johansson J., Adolfsson J., Jones G. et al. Results of conservative management of clinically localized prostate cancer. *N Engl J Med* 330(4):242-8, 1994.
- Chu L.W., Reichardt J.K., Hsing A.W. Androgens and the molecular epidemiology of prostate cancer. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 15(3):261-70, 2008.
- Cohen M.S., Hanley R.S., Kurteva T., Ruthazer R., Silverman M.L., Sorcini A. et al. Comparing the Gleason prostate biopsy and Gleason prostatectomy grading system: the Lahey Clinic Medical Center experience and an international meta-analysis. *Eur Urol* 54(2):371-81, 2008.
- Coleman M.P., Gatta G., Verdecchia A., Estève J., Sant M., Storm H. et al. EUROCARE-3 summary: cancer survival in Europe at the end of the 20th century. *Ann Oncol* 14(5S):128-49, 2003.
- Colston K., Colston M.J., Fieldsteel A.H., Feldman D. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptors in human epithelial cancer cell lines. *Cancer Res* 42(3):856-9, 1982.
- Corder E.H., Guess H.A., Hulka B.S., Friedman G.D., Sadler M., Vollmer R.T. et al. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2(5):467-72, 1993.
- Cross H.S., Kállay E. Nutritional regulation of extrarenal vitamin D hydroxylase expression-potential application in tumor prevention and therapy. *Future Oncol* 1(3):415-24, 2005.

D

- Damber J.E., Aus G. Prostate cancer. *Lancet* 371(9625):1710-21, 2008.
- D'Amico A.V., Desjardin A., Chen M.H., Paik S., Schultz D., Renshaw A.A. et al. Analyzing outcome-based staging for clinically localized adenocarcinoma of the prostate. *Cancer* 83(10):2172-80, 1998.
- D'Amico A.V., Whittington R., Malkowicz S.B., Fondurulia J., Chen M.H., Tomaszewski J.E. et al. The combination of preoperative prostate specific antigen and postoperative pathological findings to predict prostate specific antigen outcome in clinically localized prostate cancer. *J Urol* 160(6):2096-101, 1998.
- Davis J.N., Kucuk O., Sarkar F.H. Expression of prostate-specific antigen is transcriptionally regulated by genistein in prostate cancer cells. *Mol Carcinogenesis* 34(2):91-101, 2002.
- Dawson-Hughes B., Harris S.S., Dallal G.E. Plasma calcidiol, season, and serum parathyroid hormone concentrations in healthy elderly men and women. *Am J Clin Nutr* 65(1):67-71, 1997.
- Dennis L.K., Resnick M.I. Analysis of recent trends in prostate cancer incidence and mortality. *Prostate* 42(4):247-52, 2000.
- De Torres, I. Últimos avances anatomopatológicos en el diagnóstico y pronóstico del cáncer de próstata. *Arch Esp Urol* 59(10): 1089-1110, 2006.
- Dusso A., Brown A., Slatopolsky E. Extrarenal production of calcitriol. *Semin Nephrol* 14(2):144-55, 1994.

Datos de las dosis diarias de la vitamina D basados en la página web del Departamento de Nutrición del IOM: <http://www.iom.edu>.

E

Epstein J.I. Diagnostic criteria of limited adenocarcinoma of the prostate on needle biopsy. *Hum Pathol* 26(2):223-9, 1995.

Epstein J.I. The diagnosis and reporting of adenocarcinoma of the prostate in core needle biopsy specimens. *Cancer* 78(2):350-6, 1996.

Epstein J.I., Allsbrook W.C., Amin M.B., Egevad L.L. and the ISUP Grading Committee. The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus conference on Gleason grading of prostate carcinoma. *Am J Surg Pathol* 29(9):1228-42, 2005.

Epstein J.I., Allsbrook W.C., Amin M.B., Egevad L.L. Update on the Gleason grading system for prostate cancer: results of an international consensus conference of urologic pathologists. *Adv Anat Pathol* 13(1):57-9, 2006.

Eskew L.A., Bare R.L., McCullough D.L. Systematic 5 region prostate biopsy is superior to sextant method for diagnosing carcinoma of the prostate. *J Urol* 157(1):199-202, 1997.

Estève J., Benhamou E., Croasdale M., Raymond L. Relative survival and the estimation of net survival: elements for further discussion. *Stat Med* 9(5):529-38, 1990.

F

Feldman D., Zhao X.Y., Krishnan A.V. Vitamin D and prostate cancer. *Endocrinology* 141(1):5-9, 2000.

Fleming W.H., Hamel A., MacDonald R., Ramsey E., Pettigrew N.M., Johnston B. et al. Expression of the c-myc protooncogene in human prostatic carcinoma and benign prostatic hyperplasia. *Cancer Res* 46(3):1535-8, 1986.

Freedman L.P. Transcriptional targets of the vitamin D₃ receptor-mediating cell cycle arrest and differentiation. *J Nutr* 129(2S):581-6, 1999.

Fukagawa M., Kurokawa K. Pathogenesis and medical treatment of secondary hyperparathyroidism. *Semin Surg Oncol* 13(2):73-7, 1997.

G

Gaeta J.F. Glandular profiles and cellular patterns in prostatic cancer grading. National Prostatic Cancer Project System. *Urology* 17(3S):33-7, 1981.

Gann P.H., Ma J., Hennekens C.H., Hollis B.W., Haddad J.G., Stampfer M.J. Circulating vitamin D metabolites in relation to subsequent development of prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 5(2):121-6, 1996.

Garland C.F., Garland F.C. Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer? *Int J Epidemiol* 9(3):227-31, 1980.

- Garland C.F., Comstock G.W., Garland F.C., Helsing K.J., Shaw E.K., Gorham E.D. Serum 25-hydroxyvitamin D and colon cancer: eight-year prospective study. *Lancet* 2(8673):1176-8, 1989.
- Garland F.C., Garland C.F., Gorham E.D., Young J.F. Geographic variation in breast cancer mortality in the United States: a hypothesis involving exposure to solar radiation. *Prev Med* 19(6):614-22, 1990.
- Garland C.F., Garland F.C., Gorham E.D., Lipkin M., Newmark H., Mohr S.B. et al. The role of vitamin D in cancer prevention. *Am J Public Health* 96(2):252-61, 2006.
- Garland C.F., Gorham E.D., Mohr S.B., Garland F.C. Vitamin D for cancer prevention: global perspective. *Ann Epidemiol* 19(7):468-83, 2009.
- Gleason D.F. Classification of prostatic carcinomas. *Cancer Chemother Rep* 50(3):125-8, 1966.
- Gleason D.F., Mellinger G.T. Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging. *J Urol* 111(1):58-64, 1974.
- Giovannucci E. The epidemiology of vitamin D and cancer incidence and mortality: A review (United States). *Cancer Causes Control* 16(2):83-95, 2005.
- Giovannucci E. Strengths and limitations of current epidemiologic studies: vitamin D as a modifier of colon and prostate cancer risk. *Nutr Rev* 65(8S):77-9, 2007.
- Granado de la Orden S., Saá Requejo C., Quintás Viqueira A. Situación epidemiológica del cáncer de próstata en España. *Actas Urol Esp* 30(6): 574-82, 2006 .

- Grant W.B. Epidemiology of disease risks in relation to vitamin D insufficiency. *Prog Biophys Mol Biol* 92(1):65-79, 2006.
- Grant W.B., Garland C.F. Evidence supporting the role of vitamin D in reducing the risk of cancer. *J Intern Med* 252(2):178-80, 2002.
- Grant W.B. An estimate of premature cancer mortality in the US because of inadequate doses of solar ultraviolet-B radiation. *Cancer* 94(6):1867-75, 2002.

H

- Haenszel W., Kurihara M. Studies of Japanese migrants. Mortality from cancer and other diseases among Japanese in the United States. *J Natl Cancer Inst* 40(1):43-68, 1968.
- Hamasaki T., Inatomi H., Kato T., Ikuyama T., Matsumoto T. Significance of vitamin D receptor gene polymorphism for risk and disease severity of prostate cancer and benign prostatic hyperplasia in Japanese. *Urol Int* 68(4):226-31, 2002.
- Hanchette C.L., Schwartz G.G. Geographic patterns of prostate cancer mortality. Evidence for a protective effect of ultraviolet radiation. *Cancer* 70(12):2861-9, 1992.
- Hardman J.G., Limbird L.E. Goodman & Gilman's. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 10 ed. McGraw-Hill, 2006.
- Harris D., Ruckle H.C. Serologic markers in prostate cancer. *West J Med* 164(4):344-5, 1996.

- Hayes C.E., Cantorna M.T., DeLuca H.F. Vitamin D and multiple sclerosis. *Proc Soc Exp Biol Med* 216(1):21-7, 1997.
- Hedlund T.E., Moffatt K.A., Miller G.J. Vitamin D receptor expression is required for growth modulation by 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D₃ in the human prostatic carcinoma cell line ALVA-31. *J Steroid Biochem Mol Biol* 58(3):277-88, 1996.
- Heidenreich A., Aus G., Bolla M., Joniau S., Matveev V.B., Schmid H.P. et al. EAU guidelines on prostate cancer. *Eur Urol* 53(1):68-80, 2008.
- Helpap B., Egevad L. Modified Gleason grading. *Histol Histopathol* 24(5):661-6, 2009.
- Hernández D.J., Nielsen M.E., Han M., Partin A.W. Contemporary evaluation of the D'Amico risk classification of prostate cancer. *Urology* 70(5):931-5, 2007.
- Hewison M., Zehnder D., Bland R., Stewart P.M. 1 α -Hydroxylase and the action of vitamin D. *J Mol Endocrinol* 25(2):141-8, 2000.
- Hodge K.K., McNeal J.E., Stamey T.A. Ultrasound guided transrectal core biopsies of the palpably abnormal prostate. *J Urol* 142(1):66-70, 1989.
- Hodge K.K., McNeal J.E., Terris M.K., Stamey T.A. Random systematic versus directed ultrasound guided transrectal core biopsies of the prostate. *J Urol* 142(1):71-4, 1989.
- Holt S.K., Kwon E.M., Peters U., Ostrander E.A., Stanford J.L. Vitamin D pathway gene variants and prostate cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 18(6):1929-33, 2009.

- Holick S.A. The photoproduction of 1-alpha,25-dihydroxyvitamin D3 in the skin: an approach to the therapy of vitamin-D-resistant syndromes. *N Engl J Med* 303(7):349-54, 1980.
- Holick M.F., Matsuoka L.Y., Wortsman J. Age, vitamin D, and solar ultraviolet. *Lancet* 2(8671):1104-5, 1989.
- Holick M.F. The use and interpretation of assays for vitamin D and its metabolites. *J Nutr* 120(11):1464-9, 1990.
- Holick C.N., Stanford J.L., Kwon E.M., Ostrander E.A., Nejentsev S., Peters U. Comprehensive association analysis of the vitamin D pathway genes, VDR, CYP27B1, and CYP24A1, in prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 16(10):1990-9, 2007.
- Holick M.F. Vitamin D and health: evolution, biologic functions, and recommended dietary intakes for vitamin D. En: Holick M.F. *Vitamin : physiology, molecular biology, and clinical applications*. 2 ed. Totowa: Humana Press; 2010 p.3-34.
- Hyppönen E., Läärä E., Reunanen A., Järvelin M.R., Virtanen S.M. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet* 358(9292):1500-3, 2001.



-
- Iwata K., Yamamoto A., Satoh S., Ohyama Y., Tashiro Y., Setoguchi T. Quantitative immunoelectron microscopic analysis of the localization and

induction of 25-hydroxyvitamin D3 24-hydroxylase in rat kidney. *J Histochem Cytochem* 43(3):255-62, 1995.

J

Jacobs E.T., Giuliano A.R., Martínez M.E., Hollis B.W., Reid M.E., Marshall J.R.

Plasma levels of 25-hydroxyvitamin D, 1,25-dihydroxyvitamin D and the risk of prostate cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 89-90(1-5):533-7, 2004.

Jemal A., Siegel R., Ward E., Murray T., Xu J., Thun M.J. Cancer statistics, 2007. *CA Cancer J Clin* 57(1):43-66, 2007.

Jemal A., Siegel R., Ward E., Hao Y., Xu J., Thun M.J. Cancer statistics 2009. *CA Cancer J Clin* 59(4):225-49, 2009.

John E.M., Schwartz G.G., Koo J., Van Den Berg D., Ingles S.A. Sun exposure, vitamin D receptor gene polymorphisms and risk of advanced prostate cancer. *Cancer Res* 65(12):5470-9, 2005.

Jones G., Strugnell S.A., DeLuca H.F. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiol Rev* 78(4):1193-231, 1998.

L

Lane N.E., Gore L.R., Cummings S.R., Hochberg M.C., Scott J.C., Williams E.N. et al. Serum vitamin D levels and incident changes of radiographic

- hip osteoarthritis: a longitudinal study. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Arthritis Rheum* 42(5):854-60, 1999.
- Leman E.S., Arlotti J.A., Dhir R., Getzenberg R.H. Vitamin D and androgen regulation of prostatic growth. *J Cell Biochem* 90(1):138-47, 2003.
- Li Y.C., Kong J., Wei M., Chen Z.F., Liu S.Q., Cao L.P. 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *J Clin Invest* 110(2):229-38, 2002.
- Li H., Stampfer M.J., Hollis J.B., Mucci L.A., Gaziano J.M., Hunter D. et al. A prospective study of plasma vitamin D metabolites, vitamin D receptor polymorphisms, and prostate cancer. *PLoS Med* 4(3):562-71, 2007.
- Lieberfarb M.E., Schultz D., Whittington R., Malkowicz B., Tomaszewski J.E., Weinstein M. et al. Using PSA, biopsy Gleason score, clinical stage, and the percentage of positive biopsies to identify optimal candidates for prostate-only radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 53(4):898-903, 2002.
- Lips P., van Ginkel F.C., Jongen M.J., Rubertus F., van der Vijgh W.J., Netelenbos J.C. Determinants of vitamin D status in patients with hip fracture and in elderly control subjects. *Am J Clin Nutr* 46(6):1005-10, 1987.
- Lips P., Wiersinga A., van Ginkel F.C., Jongen M.J., Netelenbos J.C., Hackeng W.H. et al. The effect of vitamin D supplementation on vitamin D status and parathyroid function in elderly subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 67(4):644-50, 1988.
- López-Abente G., Aragonés N., Pollán M., Ruiz M., Gandarillas A. Leukemia, lymphomas, and myeloma mortality in the vicinity of nuclear power plants

and nuclear fuel facilities in Spain. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 8(10):925-34, 1999.

López-Abente G., Pollán M., Aragonés N., Pérez B., Hernández V., Suárez B. et al. *Plan Integral del Cáncer: Situación del cáncer en España*. Ministerio de Sanidad y Consumo, 2004.

Lou Y.R., Qiao S., Talonpoika R., Syväälä H., Tuohimaa P. The role of vitamin D₃ metabolism in prostate cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 92(4):317-25, 2004.

M

Ma J., Stampfer M.J., Gann P.H., Hough H.L., Giovannucci E., Kelsey K.T. Vitamin D receptor polymorphisms, circulating vitamin D metabolites and risk of prostate cancer in United States physicians. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 7(5):385-90, 1998.

Matsuoka L.Y., Ide L., Wortsman J., MacLaughlin J.A., Holick M.F. Sunscreens suppress cutaneous vitamin D₃ synthesis. *J Clin Endocrinol Metab* 64(6):1165-8, 1987.

Matsuoka Y., Arai G., Ishimaru H., Takagi K., Ito Y. Primary signet-ring cell carcinoma of the prostate. *Can J Urol* 14(6):3764-6, 2007.

McCarty M.F. Parathyroid hormone may be a cancer promoter-an explanation for the decrease in cancer risk associated with ultraviolet light, calcium, and vitamin D. *Med Hypotheses* 54(3):475-82, 2000.

- Micheli A., Capocaccia R., Martinez C., Mugno E., Coebergh J.W., Baili P. et al. Cancer control in Europe: a proposed set of European cancer health indicators. *Eur J Public Health* 13(3):116-8, 2003.
- Miller G.J., Stapleton G.E., Ferrara J.A., Lucia M.S., Pfister S., Hedlund T.E. et al. The human prostatic carcinoma cell line LNCaP expresses biologically active, specific receptors for $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D₃. *Cancer Research* 52(3):515-20, 1992.
- Miller G.J. Vitamin D and prostate cancer: biologic interactions and clinical potentials. *Cancer Metastasis Rev* 17(4):353-60, 1998.
- Mostofi F.K. Problems of grading carcinoma of prostate. *Semin Oncol* 3(2):161-9, 1976.
- Murray R.M., Grill V., Crinis N., Ho P.W., Davison J., Pitt P. Hypocalcemic and normocalcemic hyperparathyroidism in patients with advanced prostatic cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 86(9):4133-8, 2001.

N

- Nakamura K., Nashimoto M., Okuda Y., Ota T., Yamamoto M. Fish as a major source of vitamin D in the Japanese diet. *Nutrition* 18(5):415-6, 2002.
- Nakamura K., Yasunaga Y., Segawa T., Ko D., Moul J.W., Srivastava S. et al. Curcumin down-regulates AR gene expression and activation in prostate cancer cell lines. *Int J Oncol* 21(4):825-30, 2002.

Nesby-O'Dell S., Scanlon K.S., Cogswell M.E., Gillespie C., Hollis B.W., Looker A.C. et al. Hypovitaminosis D prevalence and determinants among African Americans and white women of reproductive age: third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Am J Clin Nutr* 76(1):187-92, 2002.

Nomura A.M., Stemmermann G.N., Lee J. Serum vitamin D metabolite levels and the subsequent development of prostate cancer (Hawaii, United States). *Cancer Causes Control* 9(4):425-32, 1998.

O

Okuda K., Usui E., Ohyama Y. Recent progress in enzymology and molecular biology of enzymes involved in vitamin D metabolism. *J Lipid Res* 36(8):1641-52, 1995.

P

Panteleakou Z., Lembessis P., Sourla A., Pissimissis N., Polyzos A., Deliveliotis C. et al. Detection of circulating tumor cells in prostate cancer patients: Methodological pitfalls and clinical relevance. *Mol Med* 15(3-4):101-14, 2009.

- Parfitt A.M., Gallagher J.C., Heaney R.P., Johnston C.C., Neer R., Whedon G.D. Vitamin D and bone health in the elderly. *Am J Clin Nutr* 36(5):1014-31, 1982.
- Parkin J., Keeley F.X., Timoney A.G. Laparoscopic lymph node sampling in locally advanced prostate cancer. *BJU Int* 89(1):14-7, 2002.
- Peehl D.M., Skowronski R.J., Leung G.K., Wong S.T., Stamey T.A., Feldman D. Antiproliferative effects of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on primary cultures of human prostatic cells. *Cancer Res* 54(3):805-10, 1994.
- Peehl D.M., Krishnan A.V., Feldman D. Pathways mediating the growth-inhibitory actions of vitamin D in prostate cancer. *J Nutr* 133(7S):2461-9, 2003.
- Peehl D.M., Shinghal R., Nonn L., Seto E., Krishnan A.V., Brooks J.D. Molecular activity of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in primary cultures of human prostatic epithelial cells revealed by cDNA microarray analysis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 92(3):131-41, 2004.
- Pérez-Martínez F.C., Alonso V., Sarasa J.L., Manzarbeitia F., Vela-Navarrete R., Calahorra F.J. et al. Receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) as a novel prognostic marker in prostate carcinoma. *Histol Histopathol* 23(6):709-15, 2008.
- Pienta K.J., Goodson J.A., Esper P.S. Epidemiology of prostate cancer: molecular and environmental clues. *Urology* 48(5):676-83, 1996.
- Platz E.A., Leitzmann M.F., Hollis B.W., Willett W.C., Giovannucci E. Plasma 1,25-dihydroxy- and 25-hydroxyvitamin D and subsequent risk of prostate cancer. *Cancer Causes Control* 15(3):255-65, 2004.

Polek T.C., Weigel N.L. Vitamin D and prostate cancer. *J Androl* 23(1):9-17, 2002.

Pols H.A., Birkenhäger J.C., Foekens J.A., van Leeuwen J.P. Vitamin D: a modulator of cell proliferation and differentiation. *J Steroid Biochem Mol Biol* 37(6):873-6, 1990.

R

Ravery V., Billebaud T., Toublanc M., Boccon-Gibod L., Hermieu J.F., Moulinier F. et al. Diagnostic value of ten systematic TRUS-guided prostate biopsies. *Eur Urol* 35(4):298-303, 1999.

Reichel H., Norman A.W. Systemic effects of vitamin D. *Annu Rev Med* 40(1):71-8, 1989.

Remzi M., Fong Y.K., Dobrovits M., Anagnostou T., Seitz C., Waldert M. et al. The Vienna nomogram: validation of a novel biopsy strategy defining the optimal number of cores based on patient age and total prostate volume. *J Urol* 174(4):1256-60, 2005.

Ritchie C.K., Thomas K.G., Andrews L.R., Tindall D.J., Fitzpatrick L.A. Effects of the calciotropic peptides calcitonin and parathyroid hormone on prostate cancer growth and chemotaxis. *Prostate* 30(3):183-7, 1997.

Robsahm T.E., Tretli S., Dahlback A., Moan J. Vitamin D3 from sunlight may improve the prognosis of breast, colon and prostate cancer (Norway). *Cancer Causes Control* 15(2):149-58, 2004.

Russell R.M. The aging process as a modifier of metabolism. *Am J Clin Nutr* 72(2S):529-32, 2000.

Russell R.M. The vitamin A spectrum: from deficiency to toxicity. *Am J Clin Nutr* 71(4):878-84, 2000.

S

Saquib N., von Mühlen D., Garland C.F., Barrett-Connor E. Serum 25-hydroxyvitamin D, parathyroid hormone, and bone mineral density in men: the rancho Bernardo study. *Osteoporosis Int* 17(12):1734-41, 2006.

Schwartz G.G., Hulka B. Is vitamin D deficiency a risk factor for prostate cancer? *Anticancer Res* 10(5):1307-11, 1990.

Schwartz G.G., Wang M.H., Zhang M., Singh R.K., Siegal G.P. $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D (calcitriol) inhibits the invasiveness of human prostate cancer cells. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 6(9):727-32, 1997

Schwartz G.G., Whitlatch L.W., Chen T.C., Lokeshwar B.L., Holick M.F. Human prostate cells synthesize $1,25$ -dihydroxyvitamin D_3 from 25-dihydroxyvitamin D_3 . *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 7(5):391-5, 1998.

Schwartz G.G. Vitamin D and the epidemiology of prostate cancer. *Semin Dial* 18(4):276-89, 2005.

Schwartz G.G., Skinner H.G. Vitamin D status and cancer: new insights. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 10(1):6-11, 2007.

- Schwartz G.G. Prostate cancer, serum parathyroid hormone, and the progression of skeletal metastases. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 17(3):478-83, 2008.
- Sengupta S., Blute M.L., Bagniewski S.M., Inman B., Leibovich B.C., Slezak J.M. et al. After radical retropubic prostatectomy 'insignificant' prostate cancer has a risk of progression similar to low-risk 'significant' cancer. *BJU Int* 101(2):170-4, 2008.
- Skinner H.G., Schwartz G.G. The relation of serum parathyroid hormone and serum calcium to serum levels of prostate-specific antigen. A population-based study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 18(11):2869-73, 2009.
- Skowronski R.J., Peehl D.M., Feldman D. Vitamin D and prostate cancer: 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptors and actions in human prostate cancer cell lines. *Endocrinology* 132(5):1952-60, 1993.
- Slatopolsky E., Dusso A., Brown A.J. The role of phosphorus in the development of secondary hyperparathyroidism and parathyroid cell proliferation in chronic renal failure. *Am J Med Sci* 317(6):370-6, 1999.
- Sobin L., Gospodarowick M., Wittekind C. TNM classification of malignant tumours. 7 ed. Wiley-Blackwell; 2009.
- Souberbielle J.C., Cormier C., Kindermans C., Gao P., Cantor T., Forette F. et al. Vitamin D status and redefining serum parathyroid hormone reference range in the elderly. *J Clin Endocrinol Metab* 86:3086-90, 2001.
- St-Arnaud R., Glorieux F.H. 24,25-Dihydroxyvitamin D-active metabolite or inactive catabolite? *Endocrinology* 139(8):3371-4, 1998.
- Stewart L.V., Weigel N.L. Vitamin D and prostate cancer. *Esp Biol Med* 229(4):277-84, 2004.

T

- Tamini R.M., Laggiou P., Adami H.O., Trichopoulos D. Prospects for chemoprevention of cancer. *J Intern Med* 251(4):286-300, 2002.
- Tokar E.J., Webber M.M. Chemoprevention of prostate cancer by cholecalciferol (vitamin D₃): 25-hydroxyase (CYP27A1) in human prostate epithelial cells. *Clin Exp Metastasis* 22(3):265-73, 2005.
- Tokar E.J., Webber M.M. Cholecalciferol (vitamin D₃) inhibits growth and invasion by up-regulating nuclear receptors and 25-hydroxylase (CYP27A1) in human prostate cancer cells. *Clin Exp Metastasis* 22(3):275-84, 2005.
- Tremblay R.R., Deperthes D., Têtu B., Dubé J.Y. Immunohistochemical study suggesting a complementary role of kallikreins hK2 and hK3 (prostate-specific antigen) in the functional analysis of human prostate tumors. *Am J Pathol* 150(2):455-9, 1997.
- Tuohimaa P., Lyakhovich A., Aksenov N., Pennanen P., Syväälä H., Lou Y.R. et al. Vitamin D and prostate cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 76(1-5):125-34, 2001.
- Tuohimaa P., Tenkanen L., Ahonen M., Lumme S., Jellum E., Hallmans G. et al. Both high and low levels of blood vitamin D are associated with a higher prostate cancer risk: a longitudinal, nested case-control study in the nordic countries. *Int J Cancer* 108(1):104-8, 2004.

U

Ung J.O., Richie J.P., Chen M.H., Renshaw A.A., D'Amico A.V. Evolution of the presentation and pathologic and biochemical outcomes after radical prostatectomy for patients with clinically localized prostate cancer diagnosed during the PSA era. *Urology* 60(3):458-63, 2002.

Utz D.C., Farrow G.M. Pathologic differentiation and prognosis of prostatic carcinoma. *JAMA* 209(11):1701-3, 1969.

V

Vélez A., de los Ríos J.G., Castaño J.C., Pérez J.C., Ferez F., Aristizábal J.M. et al. Criterios morfológicos en 200 biopsias para el diagnóstico de adenocarcinoma de próstata en especímenes de biopsia con aguja. *Urol Colom* 14(1):55-61, 2005.

Vieth R. Enzyme kinetics hypothesis to explain the U-shaped risk curve for prostate cancer vs 25-hydroxyvitamin D in Nordic countries. *Int J Cancer* 111(3):468, 2004.

Vira M.A., Guzzo T., Heitjan D.F., Tomaszewski J.E., D'Amico A., Wein A.J. et al. Is the biopsy Gleason score important in predicting outcomes for patients after radical prostatectomy once the pathological Gleason score is known? *BJU Int* 101(10):1232-6, 2008.

W

Wang M.C., Valenzuela L.A., Murphy G.P., Chu T.M. Purification of a human prostate specific antigen. *Invest Urol* 17(2):159-63, 1979.

Y

Yang E.S., Maiorino C.A., Roos B.A., Knight S.R., Burnstein K.L. Vitamin D-mediated growth inhibition of an androgen-ablated LNCaP cell line model of human prostate cancer. *Mol Cell Endocrinol* 186(1):69-79, 2002.

Young M.V., Schwartz G.G., Wang L., Jamieson D.P., Whitlatch L.W., Flanagan J.N. et al. The prostate 25-hydroxyvitamin D-1 α -hydroxylase is not influenced by parathyroid hormone and calcium: implications for prostate cancer chemoprevention by vitamin D. *Carcinogenesis* 25(6):967-71, 2004.

Z

- Zehnder D., Bland R., Walker E.A., Bradwell A.R., Howie A.J., Hewison M. et al. Expression of 25-hydroxyvitamin D₃-1 α -hydroxylase in the human kidney. *J Am Soc Nephrol* 10(12):2465-73, 1999.
- Zehnder D., Bland R., Williams M.C., McNinch R.W., Howie A.J., Sterwart P.M. et al. Extrarenal expression of 25-hydroxyvitamin D₃-1 α -hydroxylase. *J Clin Endocrinol Metab* 86(2):888-94, 2001.
- Zhao X.Y., Ly L.H., Peehl D.M., Feldman D. 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ actions in LNCaP human prostate cancer cells are androgen-dependent. *Endocrinology* 138(8):3290-8, 1997.
- Zhao X., Feldman D. The role of vitamin D in prostate cancer. *Steroids* 66(3-5):293-300, 2001.
- Zhao X., Day M.L. RB activation and repression of C-MYC transcription precede apoptosis of human prostate epithelial cells. *Urology* 57(5):860-5, 2001.