

Oncogenes: Aspectos básicos de interés para la clínica nefrológica y urológica

T. Alonso ¹ y M. J. Morales González ²

¹ Laboratorio de Biología del Desarrollo Departamento. de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de La Laguna.

² Oncología Médica, Complejo Hospitalario Nuestra Señora de la Candelaria. Santa Cruz de Tenerife.

INTRODUCCION

Hace casi 20 años, Stehelin, Varmus, Bishop y Vogt ¹ descubrieron que el genoma de los pollos normales contenía secuencias de DNA semejantes a la de un gen del virus causante del sarcoma de Rous. Este hallazgo marcó el comienzo de una nueva era en el conocimiento de un grupo de genes (conocidos más tarde como oncogenes) que participan, mediante mecanismos muy diversos, en el establecimiento y la progresión de los procesos tumorales.

En este artículo vamos a describir en primer lugar qué son y cómo se descubrieron inicialmente los oncogenes, y para ello haremos una breve mención del mecanismo de transducción genética utilizado por los retrovirus; nos referiremos después a los medios de detección de los oncogenes en el laboratorio, y para ello explicaremos en qué consiste la transformación celular, qué son las células transformadas y cuáles son las características que diferencian a las células transformadas de las células normales; a continuación hablaremos de los mecanismos de acción de algunos oncogenes y explicaremos las interrelaciones que existen entre tales mecanismos y los mecanismos fisiológicos de transducción de señales, y finalmente nos referiremos al impacto que este cuerpo de conocimiento representa en la práctica clínica diaria.

DESCUBRIMIENTO DE LOS ONCOGENES

Consideraciones generales a propósito de los virus como agentes implicados en la tumorigénesis

Peyton Rous describió, en la primera década de este siglo, que a partir de extractos de células tumorales de

pollos aquejados de sarcoma podía aislarse un agente filtrable, capaz a su vez de causar tumores a los animales sanos ². El agente filtrable, conocido hoy como virus del sarcoma de Rous, contiene un gen, que ha sido denominado *src*, que es necesario y suficiente para la producción experimental de tumores.

El aislamiento del virus del sarcoma de Rous y de otros virus causantes de tumores en otros animales hizo pensar durante mucho tiempo que los procesos tumorales podrían tener un origen infeccioso, y a los genes de tales virus que, como *src*, son necesarios y suficientes para generar nuevos tumores, se les dio el nombre genérico de oncogenes.

Sin embargo, durante mucho tiempo, a pesar de haberse aislado muchos agentes virales responsables de la aparición de tumores en animales, tanto salvajes como domésticos, no fue posible aislar virus similares a partir de extractos celulares de tumores humanos, por lo que se consideró que la aparición de tumores causada por virus constituía un fenómeno restringido al reino animal, del que el hombre estaba a salvo. Ello, unido a la imposibilidad de detectar, mediante microscopía electrónica, la presencia de virus en las células tumorales, hizo que la investigación sobre la biología de los virus pasase a ocupar un segundo plano dentro de la investigación médica.

Durante muchos años se han estudiado muchos virus capaces de producir tumores en animales. Se ha constatado que tales virus pueden contener DNA o RNA como material genético, pero desde la perspectiva que nos ocupa queremos hacer una matización importante: Aquellos virus que poseen DNA como material genético -como el virus del poliovirus o el virus de los monos llamado SV40- solamente producen tumores cuando se inyectan experimentalmente en animales recién nacidos o inmunológicamente deprimidos, y se comportan, sin excepción, como agentes infecciosos benignos en animales adultos. Por tanto, vamos a centrar por el momento nuestra discusión en la familia vírica denominada Retrovirus.

Correspondencia: Dra. D.^ª Teresa Alonso Lancho
Laboratorio de Biología del Desarrollo.
Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular.
Universidad de La Laguna.
38206 Tenerife.

Algunos retrovirus son portadores de oncogenes

Todos los virus oncogénicos pertenecen a la familia Retrovirus. Los retrovirus presentan rasgos biológicos muy similares, lo que ha hecho pensar que todos ellos podrían ser descendientes de un único antepasado común. Se caracterizan por contener RNA como material genético, y se diferencian de todos los demás virus debido a que su ciclo de vida lleva consigo la conversión del RNA en DNA gracias a un enzima, la *transcriptasa reversa*, codificada por un gen viral (denominado *pol*). Este DNA resultante de la acción de la transcriptasa reversa tiene como destino el cromosoma de la célula a la que el virus parasita, en donde se integrará mediante un mecanismo muy preciso, y permanecerá de forma estable indefinidamente, siendo «replicado pasivamente» como parte integrante del cromosoma siempre que la célula infectada se divida.

La biología de los retrovirus está extraordinariamente adaptada a la perpetuación del genoma vírico. Sin entrar en demasiados detalles podríamos decir que todos los retrovirus oncogénicos conocidos, a excepción del virus del sarcoma de Rous, son virus defectivos, es decir, no pueden replicarse en el interior celular debido a que han perdido genes esenciales para el proceso de replicación, y por ello, para duplicar su material genético han de insertarse en el DNA celular.

Se piensa actualmente que durante el transcurso de la evolución estos virus han sido parásitos celulares que, en ocasiones, han «arrebatao» fragmentos de DNA a las células parasitadas, manteniéndolos de manera estable como parte de su propio genoma en las sucesivas infecciones y, como contrapartida, han perdido la región de su genoma original que les permitía replicarse de manera independiente. A este mecanismo de captación de material genético se le conoce como *transducción*.

Volviendo al comienzo de este artículo, tras aislar al gen *src* del virus del sarcoma de Rous, marcarle con el isótopo radiactivo ^{32}P y comparar su secuencia, mediante experimentos de hibridación, con la del DNA de células de pollo no infectadas, se observó que ambos DNAs hibridaban, o lo que es lo mismo, una de las hebras del DNA de doble cadena del gen *src* se emparejaba -formando una molécula híbrida- con una hebra del DNA de doble cadena del pollo, lo que indicaba que entre ambos DNAs había regiones con secuencias parecidas o idénticas.

Este resultado constituyó la base experimental para la afirmación de que los oncogenes no eran más que genes celulares, que por un mecanismo de transducción se habían incorporado al genoma vírico, y cuya expresión se encontraba alterada debido al hecho de

estar bajo el control de un promotor muy activo, el promotor vírico. Por otra parte, la participación de los oncogenes en la tumorigénesis se basaría en el hecho de que la activación, por cualquier mecanismo (mutágeno, radiación, infección vírica, etc.), de los protooncogenes celulares podría afectar a la iniciación, mantenimiento y progresión de los tumores.

Conforme han ido aislándose más genes de diferentes retrovirus oncogénicos, siempre ha sido posible encontrar su homólogo celular, y para diferenciar a unos de otros comenzó a utilizarse la nomenclatura *v-onc* para referirse al gen aislado del virus, con capacidad oncogénica, y *c-onc*, o proto-oncogén, para referirse a su homólogo celular.

En este punto podríamos plantear varias preguntas: ¿Se han mantenido estables los genes celulares durante el proceso de transducción o, por el contrario, han sufrido modificaciones que pudieran ser responsables de su actividad oncogénica? ¿Existen rasgos comunes entre los genes que se han encontrado en diferentes retrovirus? ¿Por qué han sido tales genes, y no otros, los que los virus han arrebatado a los genomas de las células?

Con respecto a la primera pregunta, podríamos decir que actualmente, gracias a las técnicas de biología molecular, ha sido posible el clonaje y secuenciado de numerosos oncogenes virales y de sus correspondientes celulares, y además en algunos casos se han podido estudiar las características funcionales de las proteínas codificadas por ambos. Si bien los datos de que se dispone no constituyen una prueba definitiva de la identidad de ambos tipos, todos los resultados apuntan al hecho de que, salvo ocasionales diferencias que no afectan a la naturaleza de la función que desempeñan (aunque sí puede hallarse afectada su magnitud), los oncogenes aislados a partir de los virus son prácticamente idénticos a sus equivalentes celulares.

Por lo que se refiere a la existencia de rasgos comunes entre los oncogenes virales, cabe decir que no existen homologías llamativas entre las secuencias de la mayoría de ellos; pero, sin embargo, si nos fijamos en la naturaleza de las proteínas que estos genes codifican, observamos semejanzas dignas de mención. La más notable, sin duda, es la capacidad que tienen muchas de estas proteínas oncogénicas para fosforilar a otras, por lo que pueden clasificarse dentro del grupo de las *proteín-kinasas*, y más específicamente muchas de ellas fosforilan a sus sustratos en el aminoácido tirosina. Aunque la fosforilación en tirosina era un fenómeno conocido con anterioridad al descubrimiento de las proteínas oncogénicas, el porcentaje de fosforilación de tirosina con relación a la fosforilación de serina o treonina era absolutamente insignificante. Mientras que en las proteínas oncogé-

nicas prácticamente la norma es la fosforilación en tirosina. Esta aparente especificidad de fosforilación es un fenómeno cuyo significado biológico desconocemos.

El otro rasgo común a los oncogenes es el haberse conservado extraordinariamente a lo largo de la evolución. Para prácticamente la totalidad de los oncogenes aislados a partir de retrovirus ha sido posible encontrar el correspondiente c-onc en todas las especies de vertebrados investigadas y en algunos invertebrados. Esta extraordinaria conservación habla en pro de que las proteínas codificadas por los oncogenes han de llevar a cabo funciones esenciales para las células.

Con relación a la tercera pregunta que nos planteábamos, es difícil decidir el porqué de los procesos evolutivos. Podríamos aventurar que quizá los genes celulares que han permanecido estables en el genoma vírico son una subpoblación de todos los genes que han podido ser transducidos a través de la evolución. El hecho de haber permanecido podría deberse a que su presencia confiere ventajas selectivas para las células infectadas, pero podríamos pensar en otras explicaciones igualmente plausibles.

COMO PUEDE DETECTARSE LA PRESENCIA DE ONCOGENES

El ensayo clásico para detectar la presencia de oncogenes en el DNA aislado de células tumorales se basa en la aparición del fenotipo transformado en células transfectadas con el DNA problema. Dicho de otra forma, cuando se introduce el DNA sospechoso de contener un oncogén en células en cultivo, si hubiera en dicho DNA un gen con capacidad oncogénica, dichas células experimentarían ciertos cambios morfológicos y bioquímicos, fácilmente observables, que en conjunto conocemos como fenotipo transformado.

Para la realización de este tipo de ensayo se ha empleado habitualmente un tipo celular determinado, las llamadas células *NIH3T3*, que son células clonales de ratón, de estirpe conjuntiva, capaces de dividirse en cultivo durante un número ilimitado de generaciones, pero que por otra parte presentan las mismas características que las células normales, es decir, en cultivo forman monocapas de células planas, presentan inhibición por contacto (esto es, cuando las células han ocupado toda la superficie de la placa de cultivo su crecimiento se detiene y permanecen viables, pero sin dividirse, en un estado «quiescente») y son absolutamente dependientes de los factores de crecimiento presentes en el suero.

Estas características morfológicas diferencian a las células normales de las llamadas células transforma-

das, quienes, además de dividirse indefinidamente, crecen en cultivo desordenadamente, formando capas superpuestas, han perdido los mecanismos responsables de la inhibición por contacto y su crecimiento es independiente de la presencia de factores de crecimiento. Este crecimiento acelerado se caracteriza también por un consumo muy rápido de glucosa, lo que se traduce en aparición de ácido láctico y la consiguiente acidificación del medio de cultivo, que es fácilmente observable, ya que el indicador de pH habitualmente presente en los medios de cultivo vira a amarillo con los descensos de pH.

Pues bien, cuando *transfectamos* (se denomina así al procedimiento que se utiliza para introducir DNA exógeno en células eucarióticas superiores) las células NIH3T3 con DNA procedente de tejido tumoral, si en ese DNA está presente un oncogén, las células que hayan captado el fragmento de DNA que contiene al oncogén formarán un «foco de transformación», fácilmente diferenciable del resto de las células, que permanecerán en forma de monocapa. A las células que componen tal foco se las conoce como «*transfectados primarios*».

Es posible aislar el DNA de los transfectados primarios y repetir el proceso de transfección con una nueva monocapa de NIH3T3. Y de nuevo, al cabo de un cierto tiempo, aparecerá un nuevo foco de transformación, cuyas células integrantes reciben el nombre de «*transfectados secundarios*». El proceso puede repetirse varias veces para comprobar que la aparición del foco de transformación está asociada, mediante relación causa-efecto, a la presencia del DNA exógeno.

Si quisiéramos aislar el oncogén a partir de esas células transformadas, no tendríamos más que aislar su DNA y construir una *genoteca genómica*, es decir, deberíamos fragmentar el DNA en pedazos de un tamaño manejable, lo que se lleva a cabo con la ayuda de los enzimas de restricción, y ligar cada fragmento a un vector de clonaje adecuado. A continuación deberíamos generar una gran cantidad de cada uno de esos vectores, que contienen a los fragmentos del DNA, lo que se conoce como «clonaje». Finalmente, deberíamos ensayar la capacidad transformante de cada uno de esos vectores mediante el ensayo de transformación de las células NIH3T3, que describíamos al principio de esta sección. Aquel o aquellos vectores capaces de transformar las células NIH3T3 serán los que contengan al oncogén.

Podemos seguir acortando aún más el tamaño de los fragmentos con capacidad transformante, mediante el mismo procedimiento de fragmentación y clonaje, hasta conseguir disponer de fragmentos de 1 a 3 kb, con los que se puede iniciar el proceso de secuenciación. El proceso que acabamos de describir,

que aparece representado en la figura 1, se utilizó con éxito en el aislamiento, en 1982, del primer oncogén procedente de un tumor humano³.

Aunque de forma convencional se sigue utilizando la transfección de las células NIH3T3 para detectar la capacidad transformante de una determinada secuencia de DNA, es indispensable señalar que las células NIH3T3 no constituyen un ejemplo fidedigno de lo que pudiéramos llamar células normales. Por una parte, son inmortales (es decir, permanecen en cultivo indefinidamente, siempre que se mantengan las condiciones adecuadas de nutrientes y suero, y además poseen una dotación cromosómica mayor que los fibroblastos de ratón, de quien derivan. (La dotación cromosómica del ratón es de 40 cromosomas, y estas células poseen 65). Ambos rasgos las hacen semejantes a las células transformadas.

Con estos datos queremos llamar la atención sobre el hecho de que las conclusiones que se deriven de la utilización del modelo de las células NIH3T3 no podrán nunca ser tomadas como el fiel reflejo de lo que suceda *in vivo* cuando un protooncogén se active y desarrolle capacidad transformante.

Como complemento del ensayo de la capacidad para transformar las células NIH3T3 se utiliza con frecuencia otro experimento basado en la capacidad de la presunta secuencia ontogénica para desarrollar tumores en animales. Para ello se inyecta un número elevado (generalmente más de 10⁶) de células NIH3T3, transfectados primarios o secundarios del fragmento de DNA sospechoso de portar un oncogén en ratones inmunológicamente deprimidos genéticamente («nude mice»), y se observa la aparición de tumores en un plazo de tiempo de una a dos semanas. La aparición de tumores es un dato adicional a favor de la capacidad oncogénica de la citada secuencia. Obviamente este modelo experimental tampoco carece de limitaciones, pero nos indica la implicación, directa o indirecta, de una secuencia génica en la proliferación celular.

Quisiéramos añadir un dato final aclaratorio: las bases moleculares íntimas de la transformación celular, tal y como acabamos de explicar, son, por el momento, desconocidas. Sabemos que la introducción de determinadas secuencias de DNA, ya sea procedentes de células tumorales o de virus oncogénicos, es responsable de la aparición de tumores en animales, y de la aparición de lo que hemos llamado fenotipo transformado en células en cultivo. Sin embargo, no es posible adoptar estas afirmaciones con carácter general. Es un hecho comprobado que la inmortalización celular, primer escalón del proceso de transformación maligna, depende específicamente del tipo celular, y hay numerosos ejemplos de oncogenes virales capaces de transformar tipos celulares concretos, y no otros, aun en la misma especie. Así, por ejemplo, los oncogenes *v-rel* y *v-abl* son capaces de transformar los linfocitos de pollo y rata, respectivamente, pero ninguno es capaz de transformar fibroblastos de rata ni humanos.

Hemos visto hasta el momento que algunos genes presentes en determinados retrovirus son capaces de producir tumores en especies animales determinadas y que, de la misma manera, cuando estos genes se introducen en el interior de las células NIH3T3 inducen la aparición de focos de transformación. Hemos dicho, por otra parte, que no se han aislado retrovirus portadores de oncogenes a partir de células tumorales humanas y, por tanto, podríamos preguntarnos cuáles son los mecanismos patogénicos capaces de explicar las modificaciones que han de sufrir los protooncogenes para convertirse en activos, o sea, capaces de producir focos de transformación en las células NIH3T3. También podríamos preguntarnos si la presencia de estos protooncogenes activos es la causa de la aparición del tumor o, por el contrario, es una consecuencia del proceso de malignización.

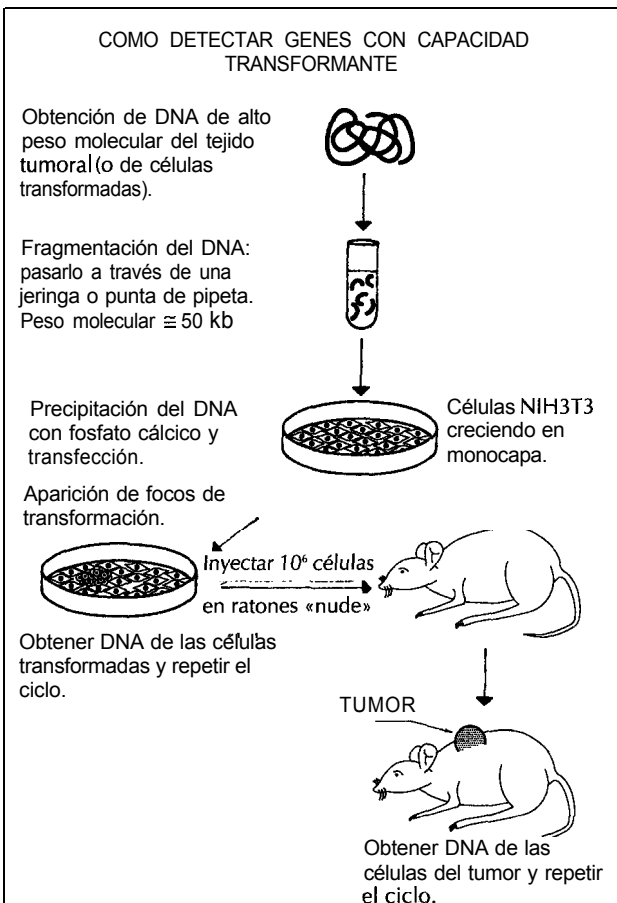


Fig. 1.

Algunos oncogenes que aparecen en tumores humanos

Nombre	Procedencia	Mecanismo bioquímico	Función en la célula
abl	Retrovirus causante de leucemia en ratones (Abelson).	Proteín tirosín-kinasa.	Desconocida.
erbA	Retrovirus causante de eritroblastosis en pollos.	Factor de transcripción de los genes sensibles a hormonas tiroideas.	Mutante homólogo al receptor de hormonas tiroideas-
erbB	Retrovirus causante de eritroblastosis en pollos.	Proteínas transmembrana con actividad tirosín-kinasa.	Mutante homólogo al receptor del factor de crecimiento epitelial (EGF-R).
fos	Retrovirus Finkel-Biskis-Jinkis, causante de osteosarcomas en el ratón.	Factor de transcripción.	Desconocida.
myc	Retrovirus M29, causante de mielocitomatosis en pollos.	Factor de transcripción.	Desconocida
ras	Retrovirus Harvey y Kirsten ras, causantes de sarcoma en ratas.	Proteína fijadora de nucleótidos de guanina. Participa en la transducción de señales	Desconocida
sis	Retrovirus Parodi-Irgens FeSV.	Factor de crecimiento.	Homólogo a la cadena B del factor de derivado de plaquetas (PDGF).
src	Retrovirus causante de sarcomas en pollos (Peyton Rous).	Proteína asociada a la membrana. Posee actividad tirosín-kinasa.	Desconocida.

MECANISMO DE ACCION DE LOS ONCOGENES

Aunque en muchos casos desconocemos la función biológica de los productos de los protooncogenes, es decir, el papel que desempeñan en la fisiología celular, parece cada día más claro que estas proteínas participan directa o indirectamente en los circuitos bioquímicos que gobiernan la proliferación celular de los vertebrados. Podemos considerar la proliferación celular como el conjunto de reacciones que tienen lugar desde que la membrana de una célula es estimulada por una señal (mitógeno, factor de crecimiento, etc.) hasta que esta señal se transmite al núcleo e insta a la célula a dividirse.

A pesar de que el número de oncogenes virales y sus correspondientes protooncogenes descritos hasta la fecha es casi un centenar, parece ser, por el momento, que todos ellos actúan mediante tres mecanismos básicos que vamos a describir a continuación.

1, El primero de ellos es la *fosforilación de proteínas*, que acontece, como hemos dicho anteriormente, en los aminoácidos serina, treonina y especialmente tirosina. Los productos protooncogénicos que utilizan este mecanismo se agrupan convencionalmente en tres familias, dependiendo de su localiza-

ción en la célula. Distinguimos así a las *proteín tirosín kinasas asociadas a receptor*, familia de receptores transmembrana a la que pertenecen, entre otros, el proto-oncogén *erbB-1*, que codifica el receptor del factor de crecimiento epitelial (EGF); el protooncogén *fms*, que codifica el receptor del factor de crecimiento de colonias de macrófagos (M-CSF), y el protooncogén *kit*, que codifica el receptor del factor de crecimiento de las células primordiales (Stem Cell Factor, o SCF). También suele incluirse en esta familia el protooncogén *sis*, que codifica la cadena B del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF).

Todos ellos son capaces de fosforilar en tirosina a determinadas proteínas citoplásmicas, a las que atraen a la membrana, poniéndolas en contacto con sus sustratos o modificando su actividad. Cabe citar entre ellas a la enzima fosfatidil inositol 3-kinasa (Ptdl-3 kinasa), que genera un fosfolípido poco común, el fosfatidil inositol 3-fosfato (Ptdl-3-P), cuya función se desconoce por entero. Además, esta proteína parece ser responsable de la reorganización de los filamentos de actina, rasgo fenotípico que presentan las células estimuladas por factores de crecimiento y las células transformadas, y que puede ser, al menos en parte, responsable del redondeamiento que acompaña a la división celular y a la transformación ⁴.

La segunda familia de las proteínas con actividad tirosín-kinasas está constituida por *proteínas que no se asocian a ningún receptor*. Físicamente se encuentran en la cara interna de la membrana plasmática, a la que en muchos casos se encuentran ancladas mediante lípidos o mediante otras proteínas. El prototipo de esta familia es la proteína del proto-oncogén *src*, que posee actividad tirosín-kinasa, aunque desconocemos por entero la naturaleza de sus sustratos.

Otros miembros de esta familia son los productos los genes *atk*⁵, *blk*⁶, *c-fgr*⁷, *c-fyn*⁸, *hck*⁹, *lck*¹⁰, *lyn*¹¹ y *c-yes*¹². Mientras algunos de ellos se expresan en una gran variedad de tipos celulares, otros se expresan exclusivamente en células de estirpe hematopoyética y podrían estar implicados en la transducción de señales responsables de la diferenciación de una línea determinada.

La tercera familia de proteín-kinasas la constituyen proteínas capaces de fosforilar a otras en los aminoácidos serina y treonina (*serín-treonín-kinasas*). Estas proteín-kinasas se encuentran en el citoplasma, sin asociarse con la membrana. Los miembros más estudiados son los productos de los protooncogenes *c-mos* y *c-raf*. La proteína codificada por *mos* parece ser necesaria en el proceso de maduración de los oocitos que conduce a la meiosis¹³, y la proteína codificada por *c-raf* parece capaz de fosforilar factores de transcripción¹⁴.

Actualmente se especula con la posibilidad de que cuando estas proteínas experimentan mutaciones, o se expresan de forma aberrante, adquieren capacidad transformante, ocasionando la fosforilación desordenada de sus sustratos y alterando el equilibrio de los circuitos bioquímicos de regulación celular.

2. El segundo mecanismo utilizado por algunos productos protooncogénicos es la *transducción de señales mediada por proteínas G*. Estas proteínas reciben su nombre debido a que fijan nucleótidos de guanina, y existen en dos estados funcionales interconvertibles: la forma activa, cuando el nucleótido de guanina fijado a la molécula es el GTP, y la forma inactiva, cuando lo es el GDP. El mecanismo de fijación de nucleótidos de guanina se presenta esquemáticamente en la [figura 2](#).

El representante más conocido de este grupo es, sin duda, la familia de proteínas codificadas por los proto-oncogenes *c-ras*. Estas proteínas, conocidas como p21^{ras} debido a que su peso molecular es de 21.000 daltons, se encuentran ancladas a la cara interna de la membrana plasmática mediante un residuo farnesilo, y aunque su función biológica sigue siendo un misterio, recientemente se han identificado algunas proteínas que podrían participar en su regulación. Una de ellas es la proteína GAP (GTPase Activating Protein), que parece ser un regulador ne-

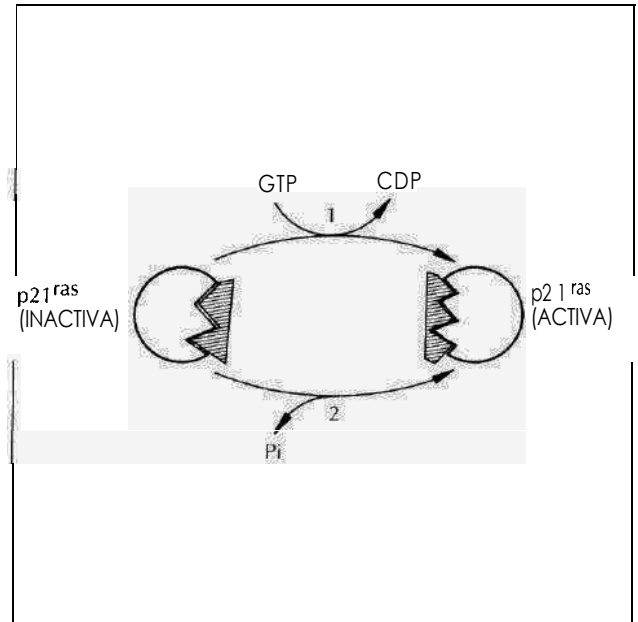


Fig. 2.-Ciclo de hidrólisis de GTP de la proteína p21^{ras}: la hidrólisis del GTP fijado a la proteína inactiva a ésta. La proteína GAP (que no aparece en la figura) promueve dicha hidrólisis, y por ello se dice que GAP es un regulador negativo de la actividad de p21^{ras}. El intercambio de GDP por GTP activa a p21^{ras}. La entrada de GTP está promovida por una proteína intercambiadora de nucleótidos de guanina (que tampoco aparece en la figura). Se han identificado proteínas homólogas a GAP ya la proteína intercambiadora de nucleótidos de guanina en diversos organismos (*levaduras*, *Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans*), lo que indica que el mecanismo de activación-inactivación se ha conservado a lo largo de la evolución.

gativo de la actividad de p21^{ras} facilitando la hidrólisis GTP → GDP.

Recientemente se ha observado la existencia de homología significativa entre la secuencia del gen que codifica GAP y el gen responsable de la neurofibromatosis de von Recklinghausen (NF-1)¹⁵, lo que quizás ayude a aclarar el papel que desempeñan los genes *ras* en la biología celular de los vertebrados.

Se han descrito casos de mutaciones activadoras de proteínas fijadoras de nucleótidos de guanina responsables de la transformación celular: la presencia de mutaciones en la subunidad alfa de la proteína G activadora (Gs) de la adenil ciclasa se encuentra asociada a tumores hipofisarios humanos^{16,17}. Las mutaciones de la proteína ocurren en la región responsable de la fijación de GTP. De este modo el nucleótido permanece unido más tiempo a la proteína y la tasa de AMP cíclico es mayor. Contrariamente a lo que ocurre en la mayoría de los tejidos, el AMP cíclico se comporta como estimulante del crecimiento en el tejido hipofisario secretor de hormonas.

3. El tercer mecanismo utilizado por los protooncogenes es el *control de la tasa de transcripción*. Los genes que constituyen esta familia codifican proteínas que se fijan específicamente a ciertas secuencias del DNA, afectando a la velocidad con que se transcriben otros genes.

Aunque las formas activadas de estos protooncogenes no se detectan con frecuencia en tumores humanos, este grupo posee un interés especial, ya que los genes cuya transcripción regulan podrían ser los responsables últimos del proceso de tumorigénesis, o quizás los responsables de la aparición de los procesos epigenéticos acompañantes de la malignidad.

Los miembros más interesantes, por el momento, son el protooncogén *erbA*, los protooncogenes *fos* y *jun* y los protooncogenes de la familia *myc*.

El protooncogén *erbA* codifica el receptor de las hormonas tiroideas. La proteína del oncogén *v-erbA* ha perdido la capacidad de fijar hormonas, pero conserva la capacidad de fijación al DNA. La proteína activada se comporta como dominante negativo con relación a su progenitor *c-erbA*. El mecanismo de tumorigénesis podría explicarse si pensamos que el protooncogén *erbA* estimula la transcripción de genes que suprimen la transformación. *v-erbA* se fijaría al DNA compitiendo con *c-erbA*, pero no activaría la transcripción. Por ello, los genes supresores de transformación que están habitualmente estimulados por *c-erbA* estarían silentes y, consecuentemente, la transformación se desinhibe.

Los productos de los protooncogenes *c-fos* y *c-jun* se asocian in vivo para formar un heterodímero, que forma parte del factor de transcripción AP-1 (complejo constituido por diversas proteínas). Este factor se fija a una secuencia específica, que se encuentra en los promotores de muchos genes eucarióticos antes del sitio de iniciación de la transcripción, y que se conoce también como sitio AP-1. La proteína *c-fos* no forma homodímeros estables, pero *c-jun* puede formar homodímeros y heterodímeros con *fos* y con otros miembros de la familia *jun*, como *junB* o *Fra1*. Aunque desconocemos el mecanismo de acción, es probable que la actividad biológica esté basada en el equilibrio entre los distintos miembros y que el predominio de cualquiera de ellos sea suficiente para alterar la actividad reguladora.

El oncogén *v-myc* se aisló del virus MC29, responsable de la aparición de mielocitomatosis en pollos¹⁸, y posteriormente se identificó el protooncogén homólogo celular. Además se han identificado otros genes pertenecientes a esta familia en tumores humanos: por ejemplo, *N-myc* se encuentra sobreexpresado en neuroblastomas, y *L-myc* se asocia al carcinoma pulmonar. Sin embargo, el mecanismo de acción de las proteínas codificadas por estos genes no se conoce en el momento actual.

GENES SUPRESORES DE TUMORES

El análisis de los mecanismos de acción de los oncogenes nos ha conducido a las siguientes conclusiones:

1. Existen casos en los que la alteración de un oncogén supone la ganancia de una función para la célula. Tal es el caso de la sobreexpresión, situación en la cual el aumento en la expresión de una proteína es capaz de alterar los procesos de multiplicación celular.

2. En otras ocasiones, sin embargo, no se requiere sobreexpresión, sino que una mutación puntual o una deleción pueden significar la pérdida de una función inhibitoria, lo que puede conducir a la activación constitutiva de una proteína que induzca a las células a proliferar. Tal es, por ejemplo, el caso de los oncogenes *ras*.

3. Una tercera situación es la pérdida o mutación de genes que codifican proteínas que constituyen señales negativas para la proliferación celular. A tales genes, que pueden impedir la proliferación celular mediante la inhibición de la expresión de un protooncogén, se les suele denominar «*anti-oncogenes*», «*oncogenes recesivos*» o «*genes supresores de tumores*». Trataremos a continuación de los más relevantes.

El gen del retinoblastoma

Los rasgos esenciales de la patogenia del retinoblastoma familiar podrían resumirse en que el paciente ha heredado un alelo mutado, con pérdida de función, y posteriormente ha tenido lugar algún proceso autosómico que ha inactivado también al alelo normal. Por el contrario, la forma no heredada (espontánea) del tumor implica la existencia de dos mutaciones autosómicas sucesivas, habiendo tenido que ocurrir la segunda de ellas a los descendientes de la célula en que tuvo lugar la primera.

La lesión genética del caso del retinoblastoma consiste en una pérdida de una región del brazo corto del cromosoma 13 (13p14.1), y en los casos del retinoblastoma espontáneo se ha podido detectar la pérdida de la heterocigosidad para diversos marcadores del cromosoma 13, posiblemente debida a no-disyunción cromosómica, recombinación mitótica o conversión génica.

En la actualidad se conoce el gen que se delecciona (RB-1) y se sabe que codifica una proteína de 928 aminoácidos, que no sólo se expresa en los retinoblastos, sino en la mayoría de los tejidos¹⁹. Esta proteína, de 105 kda de peso molecular, que se representa como p105, se encuentra ausente en cultivos

primarios de células del tumor y en líneas celulares derivadas de retinoblastomas

El caso del tumor de Wilms

El caso del tumor de Wilms se discute ampliamente en la sección siguiente.

El gen de la neurofibromatosis

Mencionamos este gen debido a su posible asociación con los genes ras, aunque por el momento desconocemos el significado o las implicaciones biológicas de tal asociación.

La neurofibromatosis de Von Recklinghausen se caracteriza por la aparición de múltiples melanocitos anormales («manchas de café con leche») y neurofibromas, que constituyen lesiones benignas. En unos pocos casos los pacientes desarrollan neurofibrosarcomas, que se originan probablemente en células de Schwann transformadas.

Mediante análisis de ligamento genético en pacientes afectados por la neurofibromatosis de Von Recklinghausen se ha asignado el locus NF1 a una región del brazo largo del cromosoma 17 (17q1 1.2).

El locus NF1 codifica una proteína de casi 2.500 aminoácidos, que posee una región con un alto grado de homología con la proteína GAP (la actividad GTPasa asociada con p21^{ras}). La proteína NF1 podría actuar como la actividad GTPasa que hidroliza el GTP de la proteína p21^{ras} y de este modo podría ser considerada como un regulador de la acción de ras. Si esto fuera así, sería completamente consistente con la naturaleza antioncogénica de NF1, ya que cualquier pérdida de función de NF1 elevaría la actividad de p21^{ras} al aumentar la tasa de GTP fijado, lo que conduciría a un estímulo del crecimiento celular.

Pero podría ser también un regulador negativo de p21^{ras} cuya ausencia facilitaría la unión de p21^{ras} con su verdadero efector, estimulándose así los efectos de p21^{ras}.

Por ahora no es posible ser más precisos en cuanto a cuál sea la verdadera función de la proteína NF1 in vivo, y la causa de las diferencias entre los neurofibromas (benignos) y los neurofibrosarcomas (malignos) se desconoce por entero.

El caso del cáncer colorrectal

Hasta el momento se han descrito tres alteraciones cromosómicas en el cáncer colorrectal que parecen estar asociadas a la presencia de antioncogenes.

La primera de ellas implica al locus que se ha denominado *FAP* (Poliposis Adenomatosa familiar); la segunda al gen que codifica la proteína conocida como p53; y la tercera al gen denominado *DCC* (Deleciónado en Carcinomas de Colon).

Estos tres genes parecen tener en común el hecho de que la deleción de cada uno de ellos es un hecho asociado a un estadio determinado del desarrollo del cáncer colorrectal.

En el caso del *FAP*, locus que parece estar situado en el brazo largo del cromosoma 5 (5q15-22), se han observado pérdidas alélicas frecuentes en esta región, tanto en el carcinoma hereditario como en el espontáneo. La diferencia radica en que en los casos de adenoma espontáneo aislado parece haber pérdida de ambos alelos, mientras que en la poliposis adenomatosa familiar parece tratarse de pérdida alélica, permaneciendo conservado uno de ambos alelos²⁰. Los adenomas se desarrollarían como consecuencia de haber perdido un único alelo.

La implicación de la proteína p53 en el caso del cáncer colorrectal se detectó mediante análisis de la heterocigosidad del brazo corto del cromosoma 17 con diversos marcadores. Se observó una región que habitualmente se perdía en casos de carcinoma de colon. Esta región es el sitio donde se localiza el gen que codifica la proteína p53. Esta proteína, que se asocia in vitro con el antígeno T grande (Large T antigen) del virus SV40, experimenta diversas mutaciones que la incapacitan para suprimir la transformación.

Parece que existen diversos tipos de mutaciones en la p53: algunas de ellas parecen alterar o bien la estabilidad o bien la conformación de la proteína. En otros tumores se observa pérdida de uno de los alelos del gen p53 y mutaciones en el alelo restante; finalmente, existen otros casos en los que ambos alelos p53 se han perdido, lo que hablaría a favor de que se trata de un verdadero antioncogén.

Los datos de que disponemos hasta el momento actual indican que la p53 es la proteína que aparece implicada con más frecuencia en la carcinogénesis humana.

Finalmente se han observado pérdidas alélicas frecuentes en el brazo largo del cromosoma 18, desde la región 21 hasta el extremo del cromosoma (18q21-18qter), en carcinomas colorrectales, pero no en adenomas²⁰.

Esta región, cuya expresión está disminuida o ausente en un gran número de carcinomas colorrectales, parece contener un gen (denominado *DCC*). La secuenciación de parte del mismo parece indicar que codifica una proteína de la superficie celular relacionada con las moléculas de adhesión²¹.

Quisiéramos añadir una nota final sobre las posibles relaciones existentes entre oncogenes dominan-

tes y genes supresores de tumores: Del mismo modo que se ha descrito que el cáncer es un proceso multiescalonado y que existe cooperación entre diversos oncogenes hasta llegar a la pérdida de control del crecimiento normal, también se habla de la existencia de cooperación entre oncogenes y genes supresores de tumores ²².

El modelo más simple sería, por ejemplo, la inactivación de un locus supresor, que normalmente inhibiría la proliferación, y la activación de un oncogén que actuase como señal positiva para la proliferación. Un ejemplo podría ser el del antígeno T grande del virus SV40, a quien no le basta con fijarse a las proteínas p53 y p105.RB para transformar células, sino que precisa además de otra función cuya naturaleza se desconoce por el momento.

Otros genes supresores podrían actuar inhibiendo el efecto de oncogenes dominantes. Tal podría ser el caso de un gen K-rev-1, que parece inhibir la función de *ras* compitiendo con p21^{ras} por la molécula efectora ²³.

Ya actúen de forma global, como puntos de control en diversos tipos celulares, o restringidos a determinados tipos celulares o estadios del desarrollo, parece posible pensar que la ayuda obtenida del estudio de los genes supresores podrá eventualmente desvelarnos el mecanismo de acción de oncogenes y antioncogenes.

BIOLOGIA MOLECULAR DE LOS TUMORES UROLOGICOS

En esta sección vamos a hacer una revisión de algunos aspectos importantes de la biología molecular de los tumores malignos de riñón, vejiga urinaria y próstata.

Tumores malignos del riñón

El tipo de tumor varía dependiendo de la edad del paciente. En la edad adulta el más frecuente es el carcinoma de células renales, que constituye aproximadamente el 85 % de los tumores malignos del riñón. El carcinoma de células transicionales se desarrolla en la pelvis renal y es poco frecuente.

En la infancia, el *nefroblastoma o tumor de Wilms es el* más frecuente. Afecta fundamentalmente a niños de uno a dos años, y solamente el 2 % de los casos sobrepasan los 12 años ²⁴.

Expondremos a continuación las características más sobresalientes de cada uno de ellos.

Carcinoma de células renales

La mayor parte de los carcinomas de células renales presenta deleciones o translocaciones del brazo

corto del cromosoma 3 (3p). La translocación más frecuente se produce entre el brazo corto del cromosoma 3 y el brazo largo del cromosoma 8. (Se sospecha que el brazo corto del cromosoma 3 pueda contener un gen supresor, ya que también se han encontrado anomalías del cromosoma 3 en otros tumores, como, por ejemplo, adenocarcinoma y carcinoma microcítico de pulmón, carcinoma de ovario y el síndrome de Von Hippel-Lindau, asociado a múltiples tumores ^{25,26}).

En general, el carcinoma de células renales es un tumor esporádico, pero se han descrito algunos casos de afectación familiar. En 1979, Cohen y cols. ²⁷ describieron una familia en la que el carcinoma de células renales se transmitía con herencia autosómica dominante. Todos los pacientes afectados presentaban la translocación 3p-8q en diferentes tejidos, y probablemente también en el tumor. Ningún miembro de la familia sin la translocación 3p-8q desarrolló el tumor.

Por otra parte, Meloni y cols. ²⁸ estudiaron una familia con varios miembros afectados de carcinoma de células renales, en los que la anomalía genética era la translocación entre el cromosoma 3 y el cromosoma 11, pero esta alteración cromosómica solamente aparecía en las células del tumor.

El protooncogén *c-myc*, que aparece sobreexpresado en varias neoplasias malignas, se localiza en el cromosoma 8. Por ello se ha especulado con la posibilidad de que la translocación entre los cromosomas 3 y 8 pudiera implicar la activación de *c-myc* en el desarrollo del carcinoma de células renales. Sin embargo, estudios más recientes parecen descartar la activación de *c-myc* en la génesis de este tumor.

En muchos casos de carcinoma de células renales se han descrito también la monosomía del cromosoma 14 y la pérdida del cromosoma Y ²⁹. En pacientes en los que el carcinoma de células renales se asocia al síndrome de Von Hippel-Lindau, la anomalía detectada con más frecuencia en las células tumorales es la deleción de la región 14 del brazo corto del cromosoma 3 (3p14) ²⁶.

En diversos carcinomas humanos (adenocarcinomas de pulmón y páncreas, carcinoma vesical, carcinoma de próstata) se han descrito mutaciones en los protooncogenes que constituyen la familia *ras* (c-Ha-ras, c-Ki-ras y *N-ras*). Nanus y cols. ³⁰ han estudiado, mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la incidencia de las mutaciones de los codones 12, 13 y 61 de estos protooncogenes en 51 carcinomas renales primarios y metastásicos. Solamente detectaron mutaciones de c-Ha-ras en el 2 % de los casos. Por ello, parece que las mutaciones puntuales que activan los proto-oncogenes *ras* no juegan un papel importante en la iniciación, mantenimiento o metastatización de los carcinomas renales.

La realización de Northern-blots, utilizando RNA extraído de tumores frescos, ha puesto de manifiesto que la mayor parte de los carcinomas de células renales expresan oncogenes de la familia *jun*. La sobreexpresión de *c-jun* en el carcinoma renal, en comparación con tejido renal sano, sugiere la participación de este protooncogén en la carcinogénesis renal. Se ha observado que el factor de crecimiento transformante beta-1 (TGF-beta-1) estimula la expresión del protooncogén *jun B* en células de carcinoma renal en cultivo. El TGF-beta-1 ejerce un efecto antiproliferativo sobre el carcinoma renal. Dado que *jun B* es un regulador negativo de *c-jun*, es posible que *jun B* pueda ser el mediador de la actividad del TGF-beta-1 sobre el carcinoma renal ³¹.

Tumor de Wilms

El nefroblastoma, o tumor de Wilms, es un tumor poco frecuente de la infancia que parece provenir de tejido renal embrionario persistente. El tumor de Wilms puede producirse de forma espontánea y asociarse a otras anomalías congénitas, como son aniridia, anomalías genitourinarias y retraso mental.

La primera alteración citogenética observada en el tumor de Wilms fue la delección de una región del brazo corto del cromosoma 11 (11 p13). Esta delección aparece asociada frecuentemente con aniridia. El 30 % de los casos de tumor de Wilms, ya sean espontáneos o asociados a otras malformaciones congénitas, presentan lesiones del brazo corto del cromosoma 11 (11 p). Además, se han descrito anomalías de los cromosomas 1, 7, 16 y 17. Se piensa que las lesiones del cromosoma 17 son secundarias a la delección del brazo corto del cromosoma 11.

Se ha encontrado pérdida de la heterocigocidad en dos regiones del brazo corto del cromosoma 11 (11 p13 y 11 p15) ^{28,32}, por lo que parece probable que haya más de un locus implicado en el desarrollo del tumor de Wilms.

Hasta el momento se ha clonado un gen, denominado *WT1* (Wilms Tumor), presente en la región 11 p13, cuya función se desconoce, pero se sospecha que podría estar implicado en la regulación de la expresión de genes importantes en la diferenciación normal del riñón ³³. El producto del gen *WT1* parece regular la acción del IGF-2 (factor de crecimiento semejante a la insulina), que se expresa ampliamente en el tejido renal en desarrollo. La delección del gen *WT1* conllevaría un aumento del efecto o de la producción de IGF-2, lo que favorecería el desarrollo neoplásico ³⁴.

El gen *WT1* se expresa en unos cuantos tejidos embrionarios (vesícula renal, epitelio glomerular, testículo, ovario, ciertas células hematopoyéticas), pero

no se expresa en el tejido renal del adulto. Por ello, la proteína codificada por este gen podría ser un factor de transcripción específico de algunos tejidos, que se expresa durante un determinado período del desarrollo.

Carcinoma vesical

La incidencia del carcinoma vesical es de aproximadamente 150 casos por cada 100.000 habitantes de 70 años. La relación varón/mujer es de 3 a 1, siendo el sexto tumor más frecuente en el varón. En el 90 % de los casos se trata de carcinomas de células transicionales. Los casos restantes se distribuyen entre carcinoma epidermoide (6-8%), adenocarcinoma (2%), carcinoma de células claras y un grupo misceláneo (carcinosarcoma, carcinoma de células pequeñas, carcinoide y sarcomas) ³⁵.

El análisis genético, mediante técnicas de bandeado cromosómico, de los carcinomas vesicales ha puesto de manifiesto la existencia de alteraciones en los cromosomas 1, 3, 5, 7, 9, 11 y 13. La duplicación cromosómica podría dar lugar a la sobreexpresión de ciertos protooncogenes, y la delección cromosómica podría resultar en la inactivación de genes supresores de tumores o antioncogenes ³⁶.

El grupo de Vogelstein ha estudiado, mediante Southern blot, 12 casos de carcinoma de células transicionales y ha encontrado delecciones del brazo corto del cromosoma 11 (11p) en el 42 % de los casos; también se observan delecciones del brazo corto del cromosoma 11 en el tumor de Wilms. Esta observación podría estar en relación con la pérdida de algún gen supresor de tumores existente en esa región, con la consiguiente activación de genes que habitualmente están reprimidos en las células portadoras de esa mutación ³⁷.

Los primeros oncogenes que se detectaron en el carcinoma vesical fueron los de la familia *ras*. Se observaron mutaciones activadoras de los genes *ras* en el 10 % de los casos. Las mutaciones son más frecuentes en líneas celulares derivadas de carcinomas vesicales que en las células del tumor. Ello puede deberse a la progresión de la malignización y/o a la inestabilidad genética *in vivo* ³⁸. Se han encontrado delecciones de *c-Ha-ras* en el 38 % de los carcinomas de células transicionales procedentes de individuos heterocigóticos ³⁹.

Como hemos dicho anteriormente, la pérdida del brazo corto del cromosoma 11 es un hallazgo frecuente en el carcinoma vesical, y ésta es la zona en que se encuentra el gen *Ha-ras*.

El protooncogén *c-erbB-2* aparece expresado en un tercio de 54 pacientes afectados de carcinoma vesical.

cal. El estudio se realizó mediante inmunohistoquímica, utilizando dos anticuerpos monoclonales distintos contra el producto de este oncogén. La proteína codificada por *erbB-2* es similar al receptor del factor de crecimiento epitelial (EGF), y es un receptor transmembrana para el que no se ha identificado el factor de crecimiento que lo estimula. El oncogén *c-erbB-2* se expresa fundamentalmente en tumores de alto grado histológico, tumores avanzados y tumores con metástasis ganglionares ⁴⁰.

Utilizando técnicas de Southern y Northern blot se ha observado que la amplificación de *c-erbB-2* es un fenómeno infrecuente en el carcinoma vesical de células transicionales, y solamente se ha detectado sobreexpresión del RNA mensajero (mRNA) de *c-erbB-2* en el 36 % de los casos ⁴¹.

Carcinoma de próstata

El adenocarcinoma de próstata ha desplazado al de pulmón y ha pasado a ser la principal causa de muerte por cáncer en varones en los Estados Unidos, representando el 21 % del total de los cánceres masculinos ⁴².

Mediante técnicas inmunohistoquímicas se ha detectado un aumento en la expresión de p21^{ras} en carcinomas prostáticos de alto grado histológico, es decir, en tumores agresivos, no encontrándose en epitelio prostático normal o hiperplásico ⁴³.

También se ha estudiado el papel del oncogén viral (v-Ha-ras) en el cáncer de próstata, utilizando como modelo experimental el ratón: se transfeció el oncogén a la línea celular AT 2.1, que posee gran capacidad proliferativa y escasa capacidad metastásica, y posteriormente tales células se inyectaron subcutáneamente en ratas Dunning. En el 80 % de los casos se observaron metástasis ⁴⁴.

Finalmente, utilizando técnicas inmunohistoquímicas, se ha detectado positividad del producto del protooncogén *c-erbB-2* en el 21 % de los casos de carcinoma de próstata, y del producto del protooncogén *c-erbB-1* en el 17 % de los casos ⁴⁵.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. Julio Avila Marrero su generosa ayuda en la realización de las figuras; al Dr. Pablo Martín Vasallo por sugerir la idea; a los Dres. Pablo Martín Vasallo y Armando Torres Ramírez por la lectura del manuscrito y por su ayuda en el proceso de edición. T. A. recibe financiación del Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS) del Ministerio de Sanidad y Consumo, proyecto 93/0831,

y de la Consejería de Educación, Cultura y Deportes del Gobierno de Canarias, proyecto 92/08.03.90.

Bibliografía

La bibliografía sobre el mecanismo de acción de los protooncogenes y oncogenes supera con creces la perspectiva de este artículo. La organización de la sección «Mecanismo de acción de los oncogenes» está basada fundamentalmente en la revisión de L. C. Cantley, K. R. Auger, C. Carpenter, B. Duckworth, A. Graziani, R. Kapeller y S. Soltoff (1991). *Oncogenes and Signal Transduction. Cell* 64:281-302.

Otras referencias esoeíficas son:

1. Stehelin D, Varmus EH, Bishop JM y Vogt PK: DNA related to the transforming gene(s) of avian sarcoma viruses is present in normal avian DNA. *Nature* 260:170-173, 1976.
2. Rous P: A sarcoma of the fowl transmissible by an agent separable from the tumor cells. *J Exp Med* 13:397-411, 1911.
3. Shih C y Weinberg RA: Isolation of a transforming sequence from a human bladder carcinoma cell line. *Cell* 29:161-169, 1982.
4. Severinsson L, Ek B, Mellström K, Claesson-Welsh L y Heldin CH: Deletion of the kinase insert sequence of the platelet derived growth factor beta-receptor affects receptor kinase activity and signal transduction. *Mol Cell Biol* 10:801-809, 1990.
5. Vetrie D, Vorechovsky I, Sideras P, Holland J, Davies A, Flinter F, Hammarström L, Kinnon C, Levinsky R, Bobrow M, Smith CIE y Bentley DR: The gene involved in X-linked agammaglobulinaemia is a member of the src family of protein-tyrosine kinases. *Nature* 361:226-233, 1993.
6. Dymecki SM, Niederhuber JE, Desiderio SV: Specific expression of a tyrosine kinase gene, *blk*, in B lymphoid cells. *Science* 247:332-336, 1990.
7. Gutkind JS y Robbins CK: Translocation of the *fgr* protein-tyrosine kinase as a consequence of neutrophil activation. *Proc Natl Acad Sci* 86:8783-8787, 1989.
8. Kypta RM, Hemming A y Courtneidge SA: Identification and characterization of *p59^{lck}* (a src-like protein tyrosine kinase in normal and polyoma virus transformed cells. *EMBO J* 7:3837-3844, 1988.
9. Dunn AR: Comunicación personal.
10. Eiseman E y Bolen JB: src-related tyrosine protein kinases as signalling components in hematopoietic cells. *Cancer Cells* 2:303-306, 1990.
11. Yamanashi Y, Mori S, Tshida T, Kishimoto K, Inoue K, Yamamoto T y Toyoshima K: Selective expression of a protein tyrosine kinase, *p56^{lck}*, in hematopoietic cells and association with production of human T-cell lymphotropic virus type I. *Proc Natl Acad Sci* 86:6538-6542, 1989.
12. Sudol M y Hanafusa H: Cellular Proteins Homologous to the Viral *yes* Gene Product. *Mol Cell Biol* 6:2839-2846, 1986.
13. Sagata N, Oskarsson M, Copeland T, Brumbaugh J y Vande Woude GF: Function of *c-mos* proto oncogene product in meiotic maturation in *Xenopus* oocytes. *Nature* 335:519-525, 1988.
14. Morrison DK, Kaplan DR, Rapp U y Roberts TM: Signal transduction from membrane to cytoplasm: Growth factors and membrane-bound oncogene products increase *Raf-1* phosphorylation and associated protein kinase activity. *Proc Natl Acad Sci* 85:8855-8859, 1988.
15. Xu G, Lin B, Tanaka K, Dunn K, Wood D, Gesteland R, White R, Weiss R y Tamanoi F: The catalytic domain of the neurofibromatosis type-1 gene product stimulates *ras* GTPase and complements *ira* mutants of *S. cerevisiae*. *Cell* 63:835-841, 1990a.

T. ALONSO y cols.

16. Landis CA, Masters SB, Spada A, Pace AM, Bourne HR, Vallar L: GTPase inhibiting mutations activate the alpha-chain of Gs and stimulate adenyl cyclase in human pituitary tumors. *Nature* 340:692-696, 1989.
17. Lyons J, Landis CA, Harsh G, Vallar L, Grunewald K, Feichtinger H, Duh QY, Clark OH, Kawasaki E, Bourne HR y McCormick F: Two G protein oncogenes in human endocrine tumors. *Science* 249:655-659, 1990.
18. Alitalo K, Bishop JM, Smith DH, Chen EY, Colby WW y Levinson AD: Nucleotide sequence of the *v-myc* oncogene of avian retrovirus MC29. *Proc Natl Acad Sci* 80:100-104, 1983.
19. Lee WH, Bookstein R, Hong F, Young LJ, Shew JY y Lee EY-HP: Human retinoblastoma susceptibility gene: cloning, identification, and sequence. *Science* 235:1394-1399, 1987.
20. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, Preisinger AC, Leppert M, Nakamura V, White R, Smits AM v Bos IL: Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med* 319:525-532, 1988.
21. Fearon ER, Cho KR, Nigro JM, Kern SE, Simons JW; Rupert JM, Hamilton SR, Preisinger AC, Thomas G, Kinzler KW y Vogelstein B: Identification of a chromosome 18q gene that is altered in colorectal cancers. *Science* 247: 49-56, 1990.
22. Hunter T: Cooperation between Oncogenes. *Cell* 64:249-270, 1991.
23. Frech M, John J, Pizon V, Chardin P, Tavitian A, Clark R, McCormick F y Wittinghofer A: Inhibition of GTPase activating protein stimulation of Ras-p21 GTPase by Krev-1 gene product. *Science* 249:169-171, 1990.
24. Dayal H y Kinman J: Epidemiology of Kidney Cancer. *Semin Oncol* 10: 366-371, 1983.
25. Cohen HT y Sukhatme VP: Molecular Biology in Nephrology: An Overview with Emphasis on the Study of Renal Cancer. *Semin. Nephrol.* 12:495-505, 1992.
26. Linehan WM, Shipley WU y Longo DL: Cancer of the Kidney and Ureter. En: *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. (V. T. DeVita, S. Hellman, and S. A. Rosenberg. eds.). J.B. Lippincott, Philadelphia, 979-1007, 1989.
27. Cohen AJ, Li FP, Berg S y cols.: Hereditary renal-cell carcinoma associated with a chromosomal translocation. *New Engl J Med* 301:592-595, 1979.
28. Meloni AM, Bridge J, Sandberg AA: Reviews on Chromosome Studies on Urological Tumors: I. Renal Tumors. *J Urol* 148: 253-265, 1992.
29. Russell PA, Brown JL, Grimmond SM y Baghavan D: Molecular Biology of Urological Tumors. *Brit J Urol* 65:121-130, 1990.
30. Nanus DM, Mentle JR, Motzer RJ, Bander NH y Albino AP: Infrequent *ras* Oncogene Point Mutations in Renal Cell Carcinoma. *J Urol* 143:175-178, 1990.
31. Koo AS, Chin R, Soong J, Debernion JB y Beldegrun A: The expression of *c-jun* and *junB* mRNA in Renal Cell Cancer and *in vitro* Regulation by Transforming Growth Factor Beta-1 and Tumor Necrosis Factor Alpha-1. *J Urol* 148:1314-1318, 1992.
32. Wang-Wun S, Soukup S, Bove K, Gotwals B y Lampkin B: Chromosome analysis of 31 Wilms tumors. *Cancer Res* 50:2786-2791, 1990.
33. Cowell JK: Tumour suppressor genes. *Ann Oncol* 3:693-698, 1992.
34. Drummond JA, Madden SL y Rohwer-Nutter P: Repression of the Insulin-like Growth Factor II Gene by the Wilms Tumor Suppressor WT1 *Science* 257:674-677, 1992.
35. Richie JP, Shipley WU y Yagoda A: Cancer of the Bladder. En: *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. (V. T. DeVita, S. Hellman, S. A. Rosenberg eds.). J. B. Lippincott, Philadelphia, 1008-1022, 1989.
36. Fradet Y: Biological Markers of Prognosis in Invasive Bladder Cancer. *Semin Oncol* 17:533-543, 1990.
37. Fearon ER, Feinberg AP, Hamilton SH y Vogelstein B: Loss of genes on the short arm of chromosome 11 in bladder cancer. *Nature* 318:377-380, 1985.
38. Barbacid M: Oncogenes humanos. *Revista Clínica Española* 179:412-427, D1986.
39. Ishikawa J, Maeda S y Karmidono S: Lack of correlation between rare *ras* alleles and urothelial cancer in Japan. *Cancer Res.* 47:5733-5738, 1977.
40. Moriyama M, Akiyama T, Yamamoto T: Expression of *c-erbB-2* Product in Urinary Bladder Cancer. *J Urol* 145:423-427, 1991.
41. Wood DP, Wartinger DD, Reuter V, Cerdón-Cardo C, Fair W y Chaganti RSK: DNA, RNA, and Immunohistochemical Characterization of the HER-2/*neu* Oncogene in Transitional Cell Carcinoma of the Bladder. *J Urol* 146:1398-1414, 1991.
42. Pérez CA, Fair WR y Juhde DC: Cancer of the Prostate. En: *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. (V. T. DeVita, S. Hellman, S. A. Rosenberg, eds.). J. B. Lippincott, Philadelphia, 1023-1028, 1989.
43. Viola M, Frounowitz F y Oravez S: Expression of *ras* Oncogene p21 in Prostate Cancer. *N Engl J Med* 314:133-137, 1986.
44. Treiger B e Isaacs J: Expression of a Transfected v-Ha-ras Oncogene in a Dunning Rat Prostate Adenocarcinoma and the Development of High Metastatic Ability. *J Urol* 140:1580-1586, 1988.
45. Mellon K, Thompson S y Charlton RG: p53, *c-erbB-2* and the Epidermal Growth Factor Receptor in the Benign and Malignant Prostate. *J Urol* 147: 496-499, 1992.