

# *La biología molecular y la citogenética en el diagnóstico de los cánceres urológicos*

Ysidro VALLADARES

Profesor de Investigación del CSIC,  
ex director del Departamento de Bioquímica Oncológica, Madrid

## 1. INTRODUCCION

Los tumores malignos del complejo génito-urinario se pueden localizar en riñón, uréteres, vejiga urinaria, uretra, próstata, testículos, pene, epidídimo y vesículas seminales.

El epitelio urotelial se extiende desde las papilas renales hasta el meato uretral externo. Existen factores de campo comunes para todo el urotelio y factores diferenciales de acción para cada zona del mismo.

Aunque las aplicaciones de la biología molecular al diagnóstico de los cánceres están, en términos generales, en fase experimental, las perspectivas de su utilización futura en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento en clínica se prevén muy importantes. Aunque la mayor parte de las citas serán indicadas en el transcurso del texto, mencionaremos aquí algunos trabajos de *revisión*, que conviene tener en cuenta.

Se sabe que en los distintos tipos de cáncer existen alteraciones a nivel de oncogenes, genes supresores, otros genes y proteínas, asunto que hemos revisado recientemente para el cáncer de mama (Valladares, 1992) y para los cánceres uroteliales (Valladares, 1994).

Russell *et al.* (1990), Trapman (1992) y Leung (1994) hicieron también revisiones de la biología molecular de los tumores urológicos.

Cohen y Sukhatme (1992) revisaron los estudios de biología molecular de los cánceres urológicos, con especial atención de los carcinomas renales.

Koss y Czerniak (1992) trataron de la citometría de flujo en los cánceres de próstata y vejiga y de la biología molecular de los tumores uroteliales.

Mydlo y Macchia (1992) estudiaron los factores de crecimiento y su pa-

pel en los tumores de la próstata, riñón y vejiga, así como su uso como marcadores tumorales en la clínica.

Fichtner y Shortliffe (1993) revisaron la biología molecular y la genética de los tumores génito-urinarios pediátricos. Cowan y Shortliffe (1992) indican que los tumores génito-urinarios constituyen el 10 % de los cánceres infantiles. El más frecuente es el tumor de Wilms. Señalan que se han hecho muchos avances en la biología molecular y tratamiento de los cánceres urogenitales infantiles.

Se han hecho revisiones sobre tumores concretos, como los que se indican a continuación.

En relación con el cáncer de células renales, Reese (1992) trató de la citogenética tumoral y repasó la inmunoterapia con interferones, interleuquina-2 y subpoblaciones linfocitarias, así como la cirugía. Burger (1991) repasó la citogenética y la biología molecular, indicando que deben tenerse en cuenta para un pronóstico más certero, completando los datos morfológicos.

El tumor de Wilms ha sido tratado por Koo y Hensle (1993) y Beckwith (1993) revisó las lesiones precursoras de dicho neoplasma.

El carcinoma de células transitoriales de vejiga ha recibido mucha atención. Shirai (1993) revisó su etiología, Klein y Chaganti (1992) la genética tumoral, Bellmunt y Cordón-Cardo (1991) los factores pronósticos, que incluyen alteraciones cromosómicas, factor de crecimiento epidérmico, urogastrona y glicoproteínas de membrana. Sheinfeld *et al.* (1990) escribieron sobre los métodos de diagnóstico, que incluyen citogenética, biología molecular, anticuerpos monoclonales, glicoproteína P y factores de crecimiento. Sobre la biología molecular hicieron revisiones Borland *et al.* (1992) y Perucca *et al.* (1990), entre otros. Steinberg *et al.* (1992) recogieron los trabajos sobre cáncer metastásico de vejiga, señalando que la biología molecular y la citogenética ayudan a determinar la progresión, pronóstico y capacidad metastásica de los carcinomas vesicales. Neal y Mellon (1992) revisaron en particular el papel del receptor del factor de crecimiento epidérmico en el carcinoma de vejiga.

Schalken (1991) recogió los datos sobre la biología molecular en la predicción de las metástasis del cáncer de próstata.

Chaganti *et al.* (1993) revisaron la citogenética de los tumores de células germinales.

## Genes supresores

Es muy importante el conocimiento de los *genes supresores* en el cáncer.

En la actualidad, los genes supresores con más frecuencia implicados en los cánceres génito-urinarios son el *gen p53* (Hollstein *et al.*, 1991; Levine *et al.*, 1991; Donehower y Bradley, 1993), así llamado por codificar una proteína de 53 kDa, el *gen Rb* (Haber y Housman, 1992), que se ha clonado y definido su estructura nucleotídica (Lee *et al.*, 1987), que se denominó por ha-

berse descubierto como gen de susceptibilidad al retinoblastoma, el gen *WT1*, que participa en la producción del tumor de Wilms, y el gen *nm23*. Levine y Momand (1990) revisaron conjuntamente los genes *p53* y *Rb* y sus productos.

Los genes supresores actúan produciendo una proteína supresora que tiene como diana algún oncogén (Green, 1989).

En condiciones normales, los genes supresores inhiben el ciclo celular, regulando la citorreproducción en equilibrio con los genes de iniciación y progresión del ciclo celular, y con los proto-oncogenes.

Los genes supresores son genes recesivos, por lo cual se necesita que ambos estén alterados para que dejen de ejercer su función y faciliten la transformación celular cancerosa.

### Gen supresor *p53*

El gen supresor *p53*, con locus génico en 17q (brazo largo del cromosoma 17) (Miller *et al.*, 1986), es el que con más frecuencia se encuentra alterado en muchos tipos de cáncer. Puede sufrir deleciones y mutaciones. Es un gen que tiene mutaciones, muy frecuentes y de localización variable. La mayor parte de las mutaciones de *p53* se llevan a cabo en las células somáticas a lo largo de la vida; solamente en un 2 por 100 de los casos existe una mutación germinal de uno de los alelos *p53*, que es seguida de mutaciones somáticas del mismo alelo o del otro en el curso de la vida.

Muchos sujetos susceptibles al cáncer pierden el carácter de heterocigóticos respecto a los alelos *p53* por deleción. La *pérdida de heterocigosidad* de los genes supresores, en general por deleción cromosómica, se considera importante para la producción neoplásica.

Aunque por ser un gen recesivo, cuando existe una deleción es necesaria la supresión de los dos alelos *p53* para que se manifieste su efecto, hay circunstancias especiales que *convierten al gen supresor recesivo en oncogén dominante* (Levine y Momand, 1990; Donehower y Bradley, 1993), por ejemplo, cuando hay deleción de un alelo y actividad de otro alelo mutado y cuando un alelo *p53* es asiento de mutaciones sucesivas que acaban eliminando al alelo normal, o uniéndose a las proteínas *p53* normales y anulando su acción.

La proteína *p53* es una fosfoproteína nuclear de 393 aminoácidos. Se une a la subunidad  $\alpha$  de la polimerasa del DNA (Gannon y Lane, 1987).

La proteína *p53* se activa por fosforilación. Interviene en la regulación de la reproducción celular (Jenkins y Sturzbecher, 1988). No interviene en la inducción del ciclo celular, sino que se produce poco antes de comenzar la fase S del ciclo celular, regulando de esta manera la proliferación (Ullrich *et al.*, 1992), actuando como *factor de transcripción*. Cuando se altera el DNA, la proteína *p53* detiene a las células en la fase G1 del ciclo celular para que se puedan verificar los mecanismos de reparación del DNA. Las proteínas *p53* del gen con mutaciones carecen de capacidad transcritiva, lo que favorece

pla acción mutagénica de los cancerígenos y la actividad de diversos oncogenes (Kastan *et al.*, 1991; Lane, 1992; Vogelstein y Kinzler, 1992).

La falta de expresión de uno o los dos alelos del gen p53 o la presencia de sobreexpresión de un gen p53 mutado, asociada a la presencia de estímulos mitogénicos de los cancerígenos hace que el ciclo celular se desarrolle sin control.

La proteína p53 de gen mutado aumenta notablemente su vida media de los 25 minutos de la p53 nativa a varias horas (Reich *et al.*, 1983). La fosfoproteína mutada se une a la p53 normal, a las proteínas de choque térmico y a otras, con lo que se pierde la regulación del ciclo celular.

Cuando hay un alelo mutado y otro normal, la p53 mutada puede fragmentar a la p53 nativa e inactivarla.

Es frecuente que haya delección de una proteína de 17.000 Da de un alelo p53 (Yokota *et al.*, 1987; Tsai *et al.*, 1990). Con frecuencia la delección se asocia a una mutación que existe en p53 (Baker *et al.*, 1989; Takahashi *et al.*, 1989; Thompson *et al.*, 1990).

### Gen supresor Rb

La expresión del *gen supresor Rb*, nacido como gen de susceptibilidad al retinoblastoma, se ha encontrado también asociado a otros tumores, entre ellos los génito-urinarios.

El locus génico del gen Rb se encuentra en la región cromosómica 13q14. El DNA del gen Rb codifica la producción de una proteína de 105 kDa de peso molecular. Al igual que el gen p53, se activa por fosforilación (Buchkovich *et al.*, 1989).

La p105-Rb defosforilada, inactiva, se encuentra en las células en G<sub>0</sub> y G<sub>1</sub>. Las proteínas de iniciación y las proteínas de progresión del ciclo celular son mantenidas inactivas por su unión a una región específica de la molécula de *p105-Rb*; lo mismo sucede con la proteína del oncogén *c-myc*. Bajo el efecto de ciertas proteínas mitogénicas, en combinación con varias etapas de fosforilización bajo la actividad de unas ciclinas y unas serina-treonina-quinanas, las proteínas estimulantes del ciclo celular y la proteína *myc* se separan de la p105-Rb, se fijan a regiones específicas del DNA y ponen en funcionamiento el ciclo celular a partir de la fase G<sub>1</sub> (DeCaprio *et al.*, 1989; Goodrich *et al.*, 1991).

El gen Rb se puede alterar por delección o mutación. Las delecciones pueden producirse en las células somáticas en los dos alelos o ser determinada una de ellas por vía germinal. Las mutaciones del gen Rb originan proteínas sin capacidad de unión a las proteínas de iniciación, de progresión y *myc*, permitiendo que se realice sin control el efecto estimulante del ciclo celular que tienen tales proteínas.

## Gen supresor WT1

Por lo que respecta al *gen supresor WT1* será explicado al tratar del tumor de Wilms. Adelantemos que la proteína WT1 se une al DNA y actúa como factor represor de la transcripción. Su efecto se manifiesta desde el comienzo del desarrollo tumoral.

## Resistencia a la quimioterapia antineoplásica

Un aspecto importante de la bioquímica y la biología molecular es el de las consideraciones terapéuticas, y es de gran importancia investigar métodos predictivos sobre la acción de los citostáticos y procedimientos de reconocimiento de la existencia de mecanismos de resistencia y su tipo. Cowan (1992) ha resumido los principales mecanismos de resistencia a la quimioterapia antitumoral como se indica en los siguientes párrafos.

Se puede encontrar una resistencia primaria «de novo», o sea desde el primer uso de un producto; o una resistencia secundaria, adquirida frente a productos inicialmente muy activos.

El estudio de líneas celulares resistentes ha permitido hacer algunas deducciones. Se ha encontrado: 1) disminución de incorporación del fármaco, 2) aumento de la expulsión, 3) aumento de la combinación del fármaco o secuestro, 4) disminución de la activación, 5) aumento del catabolismo, 6) aumento de los procesos de reparación celular tras las lesiones por el fármaco, 7) aumento de los niveles de proteínas diana intracelulares, 8) modificación de las proteínas diana que llevan a una menor afinidad por el fármaco, 9) modificaciones de la cantidad de cofactores necesarios para el enlace del fármaco a las dianas o para el metabolismo del mismo.

En general, los mecanismos de resistencia son propios de cada tipo tumoral respecto a cada fármaco, lo que no impide la acción de otros. No obstante, existen también mecanismos de resistencia a varios fármacos.

La resistencia a los alcaloides de la Vinca, antraciclinas y epipodofilotoxinas se asocia a sobre-expresión de la *glicoproteína membránica Pgp* (*glicoproteína P*), que actúa como bomba de expulsión.

Hay tejidos que producen Pgp, en los cuales se producen tumores que fácilmente sobre-expresan Pgp y desarrollan *resistencia «de novo» a uno o varios fármacos*.

En algunos sarcomas de tejidos blandos pediátricos la sobre-expresión del gen Pgp se asocia a *peor pronóstico y menor supervivencia*.

El verapamilo se une a la Pgp y consigue a veces inhibir la resistencia. Se han hecho estudios «in vitro», en animales y en humanos con tumores con sobre-expresión de Pgp administrando simultáneamente verapamilo y los fármacos antineoplásicos.

En otros casos se ha asociado la resistencia múltiple a fármacos antineo-

plásticos a la cantidad y tipo de *topoisomerasa II*, así como a la concentración de *glutación* y *enzimas glutación-dependientes*.

Muchos carcinógenos químicos son activados por enzimas del citocromo P450 y otras. El producto activo se une al DNA. La *susceptibilidad individual* depende en parte de las diferencias genéticas de las *enzimas activadoras de cancerígenos* que puede ser inducidas por éstos (Pelkonen, 1992).

\* \* \*

Hablaremos aquí de los cánceres génito-urinarios más importantes por su incidencia, en los cuales se han hecho la mayor parte de los estudios.

Después de clasificar los diferentes tipos de cáncer de riñón trataremos con detalle el carcinoma de células renales y el tumor de Wilms.

A continuación se hará una clasificación del cáncer de los uréteres, la vejiga y la uretra, para extendernos en el carcinoma de células transicionales de vejiga urinaria.

Trataremos a continuación del cáncer de próstata.

Para terminar hablaremos del cáncer de los órganos genitales, poniendo nuestra atención en los tumores de células germinales masculinas.

## 2. CANCER DE RIÑON

### A) CLASIFICACIÓN

Se pueden distinguir los siguientes tipos de cáncer de riñón.

A.1) *Tumores del parénquima renal*. Los *carcinomas de células renales* han recibido diferentes nombres, hoy poco usados: carcinoma de células claras, hipernefoma, tumor de Grawitz y adenocarcinoma. En su etiología intervienen los productos del tabaco que se eliminan por riñón y orina, y fármacos como la fenacetina. La litiasis renal aumenta el riesgo de padecer carcinoma de células renales. El carcinoma de células renales constituye el 85 % de los cánceres de riñón y el 1,5 % de todos los cánceres. Afecta a dos varones por cada mujer.

El carcinoma de células renales nace histogenéticamente en las células del epitelio de los túbulos contorneados y puede derivar a uno de dos tipos principales: *carcinoma de células claras* y *carcinoma de células granulosa*s. Se distingue también el cáncer sarcomatoide, que es una variante rara. En realidad, en casi todos los casos de carcinoma de células renales bien analizados se pueden distinguir dos tipos celulares: unas células grandes y claras, de citoplasma espumoso y unas célula pequeñas, granulares, eosinófilas. No pocas veces en el mismo tumor coexistan claramente ambos tipos celulares, pero en ocasiones el predominio de uno u otro hace necesario examinar muchas zonas del tumor para encontrarlos.

La nefrectomía produce la regresión de las metástasis pulmonares en un

2,5 % de los casos en el varón, pero nunca en la mujer (Miller *et al.*, 1962), posiblemente por diferencias de las hormonas sexuales.

Recordemos que el carcinoma de células renales es estimulado por los estrógenos e inhibido por la progesterona y la testosterona.

El carcinoma de células renales tiene un interés particular. Es uno de los tipos de cáncer que con más frecuencia presenta regresiones, seguido del melanoma maligno. Son pocos los cánceres que presentan regresión espontánea (Everson y Cole, 1966), calculada en 1 por cada 1000 ó 2000 casos. La regresión del carcinoma de células renales varía según las estadísticas. En 166 casos estudiados por Riese *et al.* (1991) fue del 2,4 %. Es evidente el interés que tendría descubrir el mecanismo del fenómeno. Hasta 1991 se han registrado unos 114 casos comprobados clínicamente, aunque sólo 50 de 114 (44 %) fueron confirmados histológicamente (Riese *et al.*, 1991). En realidad *el tumor primitivo prácticamente nunca regresa*, ni tampoco las metástasis óseas, cerebrales e intestinales. En cambio, *se observa la regresión de las metástasis pulmonares*. Esta regresión de las metástasis no significa curación; no obstante, disminuye la agresividad tumoral. El alargamiento de la supervivencia se debe a que mejora el sistema inmunitario antineoplásico y a que prácticamente todos los casos se han observado después de cirugía del tumor primario. Sin embargo, generalmente el tumor se reproduce hasta 10 y 15 años más tarde (Flanigan, 1987).

A.2) *Tumores de la pelvis renal*. Son neoplasias de los tubos colectores de la pelvis renal. Se pueden distinguir cuatro grupos: a) Carcinoma de células transicionales, que forma el 7 % de los cánceres de riñón y el 80 % de los cánceres de la pelvis renal; pueden ser papilares o infiltrantes. b) Carcinoma de células escamosas, que produce el 20 % de los cánceres de la pelvis renal; también puede ser de tipo papilar o infiltrante. c) Adenocarcinomas, que son tumores muy raros. Pueden ser mucinosos o no mucinosos. d) Neoplasias del estroma, sumamente raros; en general son de tipo fibrosarcoma o liposarcoma.

A.3) *Carcinoma embrionario*.

A.4) *Nefroblastoma o tumor de Wilms*. Es un tumor mixto que se origina en células embrionarias pluripotenciales de la corteza renal. En su etiopatogenia participan factores genéticos y tiene una incidencia familiar. La irradiación con rayos X durante el embarazo aumenta su incidencia. Constituye el 7 % de los cánceres infantiles. Con una curabilidad del 20 % antes de la quimioterapia, ha alcanzado una curabilidad del 80 % combinando cirugía, radioterapia y quimioterapia.

A.5) *Neoplasias del estroma*. Son sarcomas de diversos tipos que se producen excepcionalmente.

A.6) En el *SIDA* hay un aumento de la incidencia de *linfomas primarios*; son linfomas inmunoblásticos de células pequeñas de fenotipo B. Se han encontrado en médula ósea, estómago, intestino e hígado y Tsang *et al.* (1993) publicaron el primer caso descrito en riñón. Se atribuyen a la vigilancia inmunológica deficiente.

## B) CARCINOMA DE CÉLULAS RENALES

Existen formas esporádicas y familiares. Es fundamental diagnosticarlo lo más pronto posible, porque la diferencia de supervivencia entre un tratamiento temprano y uno tardío es muy significativa. A los cinco años de operado un carcinoma de células renales sin metástasis viven 93 % de los individuos, frente a sólo el 5 % de los que presentaban metástasis.

En los Estados Unidos se dan 11,5 casos anuales de carcinoma de células renales por 100.000 de habitantes, de los cuales fallece un 40 %. En España la incidencia parece ser bastante más baja, alrededor de 5 por 100.000 habitantes; esto representa unos 2000 casos nuevos anuales y unas 800 muertes. Su incidencia va aumentando. La frecuencia es lo doble en el varón que en la mujer.

Linehan *et al.* (1989) revisaron las perspectivas clínicas de la biología celular y molecular en el diagnóstico y terapéutica del carcinoma de células renales. Se considera que la valoración de factores de crecimiento en sangre y orina será muy útil para el diagnóstico en el futuro.

Se conoce muy poco sobre la actividad de oncogenes y genes supresores en el carcinoma de células renales. Datos indirectos hacen sospechar que existen genes supresores alterados en 3p (brazo corto del cromosoma 3) y en el cromosoma Y.

En cambio, se han hecho numerosos estudios de citogenética, factores de crecimiento, receptores de los factores de crecimiento y factores de crecimiento tumoral (TGF), y algunos estudios sobre otras sustancias, como la proteína parathormona-símil.

### **Factores de crecimiento transformadores $\alpha$ y $\beta$**

Mediante análisis con las técnicas Northern y Southern «blotting» se ha encontrado sobreexpresión sin amplificación génica de TGF $\alpha$  y TGF $\beta$ 1 en el carcinoma de células renales de pacientes y en células de líneas «in vitro» procedentes de carcinomas de células renales (Gomella *et al.*, 1989b).

El TGF $\alpha$  tiene una acción autocrina, paracrina y endocrina.

El TGF $\alpha$  se fija al receptor del EGF (R-EGF) y estimula de manera autocrina el crecimiento celular. El TGF $\alpha$  ejerce también un efecto paracrino de estímulo de crecimiento sobre la población neoplásica. Por otra parte, el TGF $\alpha$  tiene un efecto endocrino, entre cuyas acciones están provocar reabsorción ósea e hipercalcemia.

El TGF $\alpha$  estimula la producción de TGF $\beta$  por parte de las células cancerosas y de las células óseas. Además, la reabsorción ósea producida por el TGF $\alpha$  provoca la liberación de TGF $\beta$ , que las células óseas sintetizan en gran cantidad. El TGF $\beta$  inhibe a las células del sistema inmunológico, disminuyendo de esta manera las defensas inmunológicas antineoplásicas. Disminuye la reproducción de los linfocitos T circulantes y de las células LAK («lympho-



kine activated killer», activadas por la interleuquina-2) (Mule *et al.*, 1988) y con ello facilita la proliferación tumoral. No sólo esto, sino que en el tumor hay una sobreexpresión de TGF de molécula inactiva, lo que impide que actúe como inhibidor autocrino y paracrino de la reproducción.

En líneas de carcinomas de células renales «in vitro» se ha observado la producción de una pequeña cantidad de TGF $\beta$  activo junto con la sobreexpresión de TGF $\beta$  inactivo (Sargent *et al.*, 1989b). Las células, que con un exceso de TGF $\beta$  activo limitarían su proliferación, se encuentran con un crecimiento normal. La adición de TGF $\alpha$  al medio de cultivo inhibe la proliferación (Gomella *et al.*, 1989a).

### **Seudouridina**

Como marcador tumoral, laseudouridina eliminada por la orina por catabolismo del tRNA (RNA de transferencia) *se correlaciona con tamaño y grado tumoral* y con el pronóstico. El aumento deseudouridina es de *mal pronóstico*, sea cual sea el tamaño y grado del tumor (Rasmuson *et al.*, 1991).

### **Proteína parathormona-símil (PTHrP)**

La *PTHrP* (proteína parathormona-símil o «parathyroid hormone-related protein») es producida por tumores asociados al síndrome de *hipercalcemia* cancerosa, que provoca síntomas similares a los de la hormona paratiroidea (PTH) (Martin *et al.*, 1991). En su origen evolutivo los genes PTHrP y PTH estaban relacionados. Posiblemente las proteínas de ambos actúan en el desarrollo fetal y neonatal.

### **Receptor del factor de crecimiento epidérmico (R-EGF)**

En el carcinoma de células renales se encuentra también sobreexpresión del receptor del EGF (R-EGF) (Sargent *et al.*, 1989a). El R-EGF fija tanto al EGF como al TGF $\alpha$ . De esta manera, la sobreexpresión de R-EGF, EGF y TGF $\alpha$  constituye un *complejo autocrino de estímulo de crecimiento* en el carcinoma de células renales.

### **Genes de resistencia a los quimioterápicos**

El carcinoma de células renales y otros tumores son resistentes a muchos quimioterápicos antineoplásicos por disminución de la transcripción y tra-

ducción del gen *mdr-1*/P-glicoproteína y la sobreexpresión del gen de la resistencia múltiple a fármacos humano (Fojo *et al.*, 1987).

### **Ploidía celular**

Los carcinomas de células renales están compuestos por una población celular heterogénea. Las células varían en capacidad invasiva, capacidad metastásica y organotropismo de las metástasis (Fidler *et al.*, 1990). Cada clon celular con propiedades biológicas propias parece tener un cariotipo particular.

Los carcinomas de células renales suelen comenzar siendo diploides y se conservan así cuando menos hasta los 3 cm de diámetro (Banner *et al.*, 1991). También pierden la diploidía los tumores multicéntricos.

Los pacientes con tumores de estadio I que se mantienen diploides tienen más supervivencia que los no diploides (Ljungberg *et al.*, 1991). Tumores pequeños con heteroploidía tienen peor pronóstico. Los tumores diploides producen metástasis tardías, que empiezan cuando superan los 3 cm de diámetro. La ploidía es mejor indicador pronóstico que el tipo celular.

### **La región del brazo corto del cromosoma 3 (3p)**

Reese (1992) ha examinado algunos de los estudios sobre cromosomas en el cáncer renal. En 88 % de los casos se pierde la heterozigosidad del cromosoma 3p (Anglard *et al.*, 1991). La alteración se produce en la región 3p21-26.

Cuando se observan tipos diferentes de tumores renales, se ve que la alteración de 3p21-26 existe en el 98 % de los carcinomas de células claras de riñón, pero que la región 3p es normal en los carcinomas papilares.

En otras series se encontraron alteraciones de 3p en el 66 % de los carcinomas de células claras en la región 3p14-21 (Presti *et al.*, 1991). En su análisis, los carcinomas papilares y granulares tenían 3p normal.

Los carcinomas papilares se inician generalmente con trisomías o tetrasomías 7 y 17, a las que siguen otras alteraciones.

Otros encontraron pérdida de heterozigosidad de 3p en 78 % de los carcinomas de células claras de riñón (Morita *et al.*, 1991) y elisiones frecuentes de 5q, 6q, 10q, 11q, 17q y 19p.

En la serie de Ogawa *et al.* (1991) se encontró pérdida de heterozigosidad de 3p en 75 % de los carcinomas de células claras y en 14 % de los carcinomas de células glandulares, en tanto que 3p fue normal en todos los tumores papilares.

En el carcinoma de células renales se produce una rotura del cromosoma 3 que facilita la producción de translocaciones; la más frecuente se hace de 3 y 13 al cromosoma 5 o al 1 (Kovacs y Kung, 1991).

Según Zbar *et al.* (1987), en el carcinoma renal familiar existe una translocación entre el brazo corto del cromosoma 3 (3p) y el brazo largo de cromosoma 8 (8q) y una translocación entre los cromosomas 3 y 11. En el carcinoma de células renales esporádico se ha descrito pérdida de material en la región 3p (Kovacs y Frisch, 1989; Kovacs y Kung, 1991). Puede tratarse de una translocación entre 3p y 5q, que parece ser una alteración temprana. Se han encontrado deleciones en la región 3p14-21 en todos los pacientes (Zbar *et al.*, 1987).

En el *síndrome de von Hippel Lindau*, en el que hay un riesgo aumentado de carcinoma renal y otros tumores, existe una alteración del brazo corto del cromosoma 3 en la región 3p14-21 (Seizinger *et al.*, 1988).

De hecho, el carcinoma de células renales se asocia en el 26 % de los casos al síndrome de von Hippel-Lindau.

En la enfermedad de von Hippel-Lindau con carcinoma de células renales hay pérdida de heterocigosidad de 3p (Kovacs *et al.*, 1991b). En todos los casos se pierde un segmento de 3p13-pter. La región 3p13-26 posiblemente contiene un gen supresor, cuya alteración influye en la iniciación y la progresión neoplásica.

### Otros cromosomas implicados

Kovacs *et al.* (1991) encontraron también que 3p era normal en el carcinoma papilar; en cambio, había anomalías de los cromosomas 7, 16, 17 e Y. La trisomía o tetrasomía 17 era característica de los tumores benignos, en tanto que otros tipos de cambios se veían en la malignidad. La pérdida del cromosoma Y se veía en tumores papilares, tanto benignos como malignos. Parece ser una alteración inicial.

En los carcinomas de bajo grado no hay alteraciones de los cromosomas 11, 13 y 17, pero pierden la heterocigosidad en los carcinomas de grado avanzado. Es posible que contengan genes implicados en la progresión neoplásica.

Los cromosomas 7, 16 y 17 contienen genes activadores de la proliferación, en tanto que los cromosomas 3p e Y poseen genes supresores.

En los adenomas homotípicos de células renales papilares se ha encontrado trisomía o tetrasomía 7, y trisomía 17.

### Gen supresor p53

El gen p53, con tanta frecuencia delecionado o mutado en muchos tumores, no mostró alteraciones en 25 casos de carcinoma de células renales estudiados por Gannot *et al.* (1990) y mutado solamente en 2 de 11 (13 %) carcinomas de uréter y pelvis renal.

En la **tabla I** se resumen las características biomoleculares y citogenéticas del carcinoma de células renales.

TABLA I  
Carcinoma de células renales

CARACTERISTICAS BIOMOLECULARES Y CITOGENETICAS

A. *Biomoleculares*

TGF $\alpha$ : Sobre-expresión, en general sin amplificación.

- Estimulo autocrino y paracrino del crecimiento tumoral.
- Reabsorción osea e hipercalcemia.

TGF $\beta$ : Sobre-expresión, en general sin amplificación.

- Inhibición sistema inmunológico, facilita proliferación tumoral.

R-EGF: Sobre-expresión con o sin amplificación. ....

- Estimulo del crecimiento tras activación por EGF y TGF $\alpha$ .

Gen *mdr-1*/P-glicoproteína: Subexpresión.

- Aumento de resistencia multiple a citostáticos.

Gen de «Resistencia múltiple a fármacos antitumorales»: Expresión.

- Aumento de resistencia múltiple a citostáticos.

PTHrP (proteína parathormona-símil en sangre): Aparición.

- Hipercalcemia tumoral

Seudouridina en orina (catabolismo del tRNA): Aparición.

- Correlación con desdiferenciación (grado tumoral).
- Mal pronóstico.

B. *Citogenéticas*

Ploidía celular: complementa y es mejor indicador pronóstico que el grado celular:

- a) Aneuploidía y heteroploidía:
  - Correlación con mal pronóstico.
- b) Diploidía:
  - Mejor pronóstico. Metástasis tardías.

Brazo corto del cromosoma p (3p):

- a) Normal en carcinomas superficiales (éstos presentan alteraciones en cromosomas 11, 13, 17 y delección de Y).
- b) Normal generalmente en carcinomas granulares.
- c) Alterado en carcinoma de células claras:
  - 1) Pérdida de heterozigosidad.
  - 2) Delección de 3p14-21.
  - 3) Alteraciones 3p21-26.
  - 4) Translocación 3p  $\rightarrow$  5p.

Translocaciones 3p  $\rightarrow$  8q y 3p  $\rightarrow$  11 en carcinoma renal familiar.

Anomalías en síndrome de von Hippel Lindau (riesgo elevado de carcinoma renal):

- a) Pérdida de heterocigosidad.
- b) Pérdidas de 3p13-26 (contiene gen supresor), que *influye en iniciación y progresión*.
- c) Alteración de 3p14-21.

Otras modificaciones:

- a) En genes activadores de cromosomas 7, 16 y 17.
  - b) En genes de progresión de cromosomas 11, 13 y 17.
  - c) Trisomía 7, tetrasomía 7 y trisomía 17 en adenomas de células papilares.
- 

## C) TUMOR DE WILMS

### Histogénesis

Se trata de un tumor embrionario, hereditario en 1 % de los casos y esporádico en el 99 %. Constituye el 6 % de los cánceres infantiles, 1:10.000 nacimientos. Puede ser unilateral, bilateral o multifocal.

El hereditario lo es con un carácter autosómico dominante de penetración variable, con frecuencia bilateral. El esporádico, es unilateral en 97 % de los casos. Como veremos, es distinta la biología molecular de los casos hereditarios y esporádicos.

Maitland *et al.* (1989) publicaron una revisión sobre la biología celular y molecular del tumor de Wilms, Van Heyninger *et al.* (1992) discutieron la biología y genética del tumor y Koo y Hensle (1993) revisaron su biología molecular, citogenética y papel de los genes supresores.

El tumor de Wilms surge como fallo de la diferenciación durante la histogénesis embrionaria, por alteración de los genes que controlan la diferenciación renal.

Al evolucionar, quedan células blastémicas, epiteliales y de estroma, y células que se diferencian a partir de las células mesenquimatosas, sobre todo fibras musculares estriadas y algunas veces células cartilaginosas u óseas.

Se reconocen porque las células blastémicas expresan vimentina y a veces queratina en pequeña cantidad. Las células epiteliales expresan únicamente queratina. Las células de estroma producen vimentina. Las células musculares producen vimentina y desmina. Las células blastémicas poseen una cantidad escasa (subexpresan) de antígenos del MHC (complejo principal de histocompatibilidad) de clase I, lo que es típico de las células indiferenciadas.

Muchos cultivos «in vitro» de tumor de Wilms manifiestan una vida limitada y una expresión antigénica que corresponde al de las células tumorales diferenciadas. Sin embargo, conservan la pérdida de heterocigosidad del cromosoma 11p. Esto significa que en el tumor de Wilms pueden existir *tres tipos celulares* con alteración de 11p, *uno de células blastémicas metanéfricas inmortalizadas* y los *otros dos de células diferenciadas no inmortalizadas*, deriva-

das de las células blastémicas, que son las células epiteliales y las células del estroma, a menudo con células musculares estriadas.

### **Restos embrionarios nefrogénicos**

Beckwith (1993) ha escrito sobre la importancia de los *restos embrionarios nefrogénicos* en la producción del tumor de Wilms.

En el riñón es frecuente encontrar restos embrionarios nefrogénicos, que pueden estar en forma de grupo único o distribuidos de manera difusa, constituyendo en este caso la *nefroblastomatosis*.

Los restos embrionarios nefrogénicos pueden permanecer latentes, hiperplasiarse o evolucionar hacia una neoplasia.

La hiperplasia y la neoplasia se confunden con demasiada frecuencia en la clínica y los datos histopatológicos no siempre aclaran en forma evidente el diagnóstico.

Todo apunta a que los restos embrionarios nefrogénicos son los *precursores de los nefroblastomas o tumores de Wilms*.

Según Knudson y Strong (1972), *el tumor de Wilms se produce por dos mutaciones*. En el tipo familiar la primera mutación es heredada y la segunda adquirida. En el tipo esporádico las dos mutaciones son adquiridas. En la *nefroblastomatosis* existe también una mutación heredada que produce un tumor de Wilms cuando se produce una segunda mutación eficaz.

### **Moléculas de adhesión de célula neurales (NCAM)**

Las células blastémicas producen también algunas NCAM.

Las NCAM (moléculas de adhesión de células neurales; «neural cell adhesion molecules») constituyen una familia de glicoproteínas, que proceden de la diversificación de las proteínas de un sólo gen. A su vez pertenecen a la superfamilia de los genes de las inmunoglobulinas.

Unas NCAM son glicoproteínas transmembránicas, como NCAM-180 y NCAM-140. Otras NCAM son glicoproteínas secretadas, como NCAM-120.

La diversificación se produce en los dominios intracelular, intramembránico y extramembránico.

La combinación de tipos de NCAM que existen en el cerebro fetal y adulto normales y las que existen en los diversos tipos de tumores neuroectodérmicos son diferentes. Además, las NCAM se encuentran en tejidos normales extraneurales y en tumores no nerviosos, como en algunos sarcomas de Ewing y rhabdomyosarcomas. La expresión de NCAM es también típica de los cánceres microcíticos de pulmón y se considera un buen marcador tumoral para distinguirlos de los tumores pulmonares macrocíticos. A efectos del tema que tratamos, *existen varias NCAM en el tumor de Wilms*, cuyo interés diagnóstico está por determinar.

Wilimas *et al.* (1991) valoraron las *glucosa-6-fosfato-deshidrogenasas* (G6PD) en tejidos normales y tumorales de once niñas negras con tumor de Wilms. Sus resultados abogan por la *clonalidad* de este tipo de tumor. Todas las niñas eran heterocigóticas respecto a las enzimas G6PD (ligadas al cromosoma X), por lo que los tejidos normales contenían los alelos Gd<sup>B</sup>/Gd<sup>A</sup> y G6PD de tipo A y de tipo B. En cambio, los tejidos de tumor de Wilms poseían únicamente un tipo de G6PD, que en este estudio fueron 7 de tipo G6PD-A y 4 de tipo G6PD-B. También encontraron G6PD de tipo B solamente en un caso de nefroblastomatosis que analizaron, proceso que se considera precursor del tumor de Wilms.

### Gen supresor WT1

En la actualidad están cambiando las ideas que se tenían sobre la etiopatogenia molecular del tumor de Wilms.

Tradicionalmente se acepta que el tumor de Wilms se debe a una mutación germinal hereditaria de un alelo del gen supresor WT1, a la que se añade una segunda mutación somática ulterior del otro alelo.

También es posible un proceso somático con un primer ataque al locus de WT1 que conduce a la producción de un clon de células «preparadas» y un segundo ataque que afecta al alelo normal y lleva a la transformación neoplásica.

Se ha dicho que WT1 presenta mutaciones en la línea germinal con una gran frecuencia (Pelletier *et al.*, 1991; Baird *et al.*, 1992b).

Se han supuesto mutaciones somáticas de WT1 y se ha descrito la pérdida de heterocigosidad alélica de dicho gen (Reik y Surani, 1989). Diversos estudios indicaron que el fenómeno se debía a impresión genómica de un patrón de pérdida no fortuita del alelo materno (Schroeder *et al.*, 1987; Williams *et al.*, 1989; Pal *et al.*, 1990).

Conforme la expresión del gen supresor WT1 disminuye, la diferenciación de las células blastémicas del tumor de Wilms aumenta, lo que hace sospechar una desviación del proceso de diferenciación en la patogenia del tumor (Pritchard-Jones y Fleming, 1991; Miwa *et al.*, 1992).

El gen WT1 transcribe un mRNA que presenta cuatro tipos de empalme, que son traducidos en la estación ribosómica en sendos polipéptidos con «dedos de zinc», que actúan como represores de la transcripción (Madden *et al.*, 1991). Normalmente, parte del efecto supresor lo realizan las proteínas de WT1 a través de los genes de IGF-II y de PDGF-A.

En efecto, Drummond *et al.* (1992) describieron la represión de la transcripción del gen del factor de crecimiento insulino-símil (IGF-II) y Wang *et al.* (1992) la represión de la cadena A del factor de crecimiento dependiente de las plaquetas (PDGF). El gen IGF-II tiene su locus en la región 11p15, muy próximo al locus de WT1, que se encuentra en la región 11p13. Cuando

la expresión de WT1 disminuye o se anula, la expresión de IGF-II aumenta (Reeve *et al.*, 1985; Scott *et al.*, 1985).

Recientemente, Brown *et al.* (1993) estudiaron las posibles alteraciones del gen supresor WT1 en una muestra aleatoria de 20 casos de tumor de Wilms, utilizando la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa de RNA (RNA-PCR) seguida del método del polimorfismo conformacional monocatenario (SSCP, por «single-strand conformational polymorfism»), capaz de reconocer mutaciones puntiformes.

... Sus resultados indican que las alteraciones (mutaciones y deleciones) de WT1 son raras en el tumor de Wilms esporádico. Encontraron solamente un caso de mutación en 20 tumores (5 %) consistente en una deleción del par de bases 226, correspondiente a la deleción de los exones 2 y 3.

Los autores comentan que las alteraciones de WT1 en el tumor de Wilms se han señalado generalmente en series pequeñas de casos seleccionados, e indican que las series aleatorias grandes, por el contrario, han revelado siempre muy pocas modificaciones de dicho gen: Cowell *et al.* (1991) en 4 en 55 casos (7 %), Tadokoro *et al.* (1992) en 1 de 42 (2 %), Little *et al.* (1992) en 2 de 32 (6 %) y Kikuchi *et al.* (1992), el que más, en 3 de 17 casos (18 %).

En suma, Brown *et al.* (1993) consideran que *los casos de tumor de Wilms esporádicos con deleción, pérdida de heterocigidad o mutación del gen supresor WT1 constituyen simplemente un subgrupo no muy numeroso.*

Las anomalías de WT1 *tendrían importancia en el tumor de Wilms hereditario*, con una mutación germinal y más tarde una segunda mutación somática.

Cuando existe una alteración del WT1, sin ser la causa del tumor, predispone al mismo, como sucede en el síndrome de WAGR (Wilms-aniridia-anomalías genitourinarias-retraso mental) y en el síndrome de Denys-Drash, que casi siempre se asocian a deleciones constitucionales de 11p13, con daño de varios genes, entre los cuales se encuentra el WT1.

Por eso decíamos antes que posiblemente tengamos que modificar nuestro esquema del papel del gen WT1 en el tumor de Wilms (Haber *et al.* 1991; Haber y Buckler, 1992; Van Heymingern y Hastie, 1992).

### **Complejo genético que interviene en la producción del tumor de Wilms**

Actualmente sabemos que en la producción del tumor de Wilms intervienen:

a) La alteración del gen supresor WT1, localizado en la región cromosómica 11p13, en los casos hereditarios, en un grupo pequeño de tumor de Wilms esporádico y en la predisposición al tumor de Wilms, como en las deleciones de 11p13 asociadas a diversas enfermedades, como el síndrome WAGR debido a alteraciones de varios loci de la banda 11p13 (Call *et al.*,



1990; Gessler *et al.*, 1990), algunos de los cuales se han conseguido diferenciar. En el síndrome WAGR el alelo del gen WT1 materno tiende a eliminarse, en tanto que el paterno se transmite, creando una pérdida de heterocigosis (Williams *et al.*, 1989). El mecanismo parece deberse a metilación diferencial de los genes maternos y paternos, que hace que los cromosomas metilados inactivos se eliminen en el curso del desarrollo embrionario.

También en el *síndrome de Denys-Drash* existe un riesgo aumentado de padecer tumor de Wilms. En este síndrome se encuentran con frecuencia mutaciones de WT1 (Pelletier *et al.*, 1991; Baird *et al.*, 1992b).

b) Algunos genes mal caracterizados que se encuentran en el brazo pequeño del cromosoma 11 (11p). Al menos dos genes supresores en el locus 11p15 (Dowdy *et al.*, 1991); recordemos que el síndrome de Beckwith-Wiedemann, que se debe a alteraciones de 11p15, predispone a la aparición de tumor de Wilms (Engstrom *et al.*, 1988). En la región 11p5.5 se ha encontrado con frecuencia una pérdida alélica o de heterocigosis (Wilkins, 1988; Reeve *et al.*, 1989; Koufos *et al.*, 1989).

Aprovechando unos casos hereditarios del síndrome, Koufos *et al.* (1989) y Ping *et al.* (1989) demostraron simultáneamente que existe un gen que determina el síndrome (*gen BWS*), que se localiza en la región cromosómica 11p15.5.

La mayor parte de los casos de *síndrome de Beckwith-Wiedemann* son esporádicos. En algunos de ellos existe una duplicación de 11p15, que produce una trisomía (Brown *et al.*, 1992). Coincidentemente, como se mencionó, es frecuente que en el tumor de Wilms exista heterocigosis alélica en 11p15 (Koufos *et al.*, 1989; Reeve *et al.*, 1989).

Unos cuantos casos presentan duplicación de 11p13-ter y de 11p15 (Waziri *et al.*, 1983). Se produciría una alteración de la diferenciación celular en el riñón embrionario. La supresión de uno de los alelos WT1 se presenta en el síndrome de Beckwith-Wiedemann. Si sufren delección los dos alelos se produce el tumor de Wilms.

Es curioso que se produzca una diferente impresión genómica en los casos de síndrome de Beckwith-Wiedemann hereditarios y esporádicos. En los hereditarios existe un gen anormal materno y en los esporádicos una translocación o reordenamiento cromosómico con duplicación (trisomía) de origen paterno.

Al encontrar que el gen materno determinaba el síndrome en los casos hereditarios, Koufos *et al.* (1989) supusieron que el alelo paterno del gen BWS era inactivado por impresión genómica. Para poner de acuerdo el origen materno del síndrome hereditario con el origen paterno del síndrome esporádico, Brown *et al.* (1990, 1992) piensan que el alelo paterno del gen BWS es más activo que el materno durante el desarrollo embrionario, debido a impresión genómica. Cuando se alteran los alelos BWS, que influyen en la patogenia pero no en la etiología, el esquema normal es convertido en inactivación del alelo materno por mutación o en duplicación del alelo paterno, con lo que la acción final se debe en ambos casos al predominio del

palelo paterno. Por lo tanto, no puede considerarse al gen BWS como un gen supresor.

c) Un oncogén de la región cromosómica 11p15 (Wilkins, 1988). Williams *et al.* (1992) han sugerido que no es el gen supresor WT1 el que sufre la impresión genómica, sino el oncogén del locus 11p15. Se llama *impresión genómica* al funcionamiento diferencial de los genes alelos materno y paterno (Hall, 1990). Posiblemente se debe al distinto grado de metilación del DNA, particularmente de la citosina, que a su vez resulta en diversos grados de expresión génica. La hipometilación de algunos genes lleva a su sobre-expresión.

d) Un gen supresor de la región 16q (Kaneko *et al.*, 1991; Maw *et al.*, 1992).

e) En el tumor de Wilms se sobre-expresan varios oncogenes, principalmente *N-myc* (Nisen *et al.*, 1986; Shaw *et al.*, 1988). Según Shaw *et al.* (1988), la sobre-expresión de *N-myc* se produce en las células de tipo blastémico del tumor, muy ligadas a las células tronco («stem cells»). La expresión de *c-myc* existe en el riñón embriofetal en relación con la gran actividad mitótica.

## TABLA II

### Tumor de Wilms (nefroblastoma)

---

#### CARACTERÍSTICAS BIOMOLECULARES Y CITOGENÉTICAS

Mutación o delección del gen supresor WT1 (Locus 11p13) en:

- a) Tumor de Wilms hereditario.
- b) Pequeño subgrupo de tumor de Wilms esporádico.
- c) Enfermedades que predisponen al tumor de Wilms:
  - 1) Síndrome WAGR (tumor de Wilms, aniridia, alteraciones genitourinarias y retraso mental).
  - 2) Síndrome de Denys-Drash (pseudohermafroditismo, hipertensión arterial, degeneración renal y tumor de Wilms).

Alteraciones de la región cromosómica 11p5:

- a) De dos genes supresores del locus 11p5.
- b) De un oncogén de un locus de 11p5.
- c) Pérdidas alélicas o alteraciones de genes con loci en 11p5 en enfermedades que predisponen al tumor de Wilms:
  - Síndrome de Beckwith-Wiedemann (macrosomía, macroglosia, onfalocelia e hipoglicemia al nacer, crecimiento acelerado, maduración esquelética precoz y predisposición al tumor de Wilms y otros tumores).

Pérdida de heterocigosidad o mutación de un gen supresor de la región cromosómica 16q.

---

*c-myc* no es transformador aisladamente, pero la sobre-expresión de *c-myc* en las células transformadas por otros oncogenes facilita su proliferación, desdiferenciación, inmortalización y metastasización.

La acción de *c-myc* necesita de la presencia de factores de crecimiento. En ausencia de estos la alteración de los oncogenes *myc* conduce a la apoptosis en lugar de a la proliferación.

En la **tabla II** se indican las características genéticas que se han descrito en el tumor de Wilms.

### 3. CANCER DE LOS URETERES, LA VEJIGA Y LA URETRA

#### A) CLASIFICACIÓN

A.1) *Cáncer de los uréteres*. El 80 % se produce en el tercio inferior. Se pueden distinguir cuatro tipos: a) *carcinoma de células transicionales*, que forma la mayor parte; b) *carcinoma de células escamosas*; c) *adenocarcinomas*, más bien raros, debidos a la existencia de restos embrionarios o a procesos de metaplasia; d) tumores del estroma o *sarcomas*, de presentación excepcional.

A.2) *Cáncer de la vejiga urinaria*. Hay tres grandes grupos etiopatogénicos: industrial, esporádico y parasitario. Ocasiona el 3 % de las muertes por cáncer. Es la séptima causa de muerte por cáncer en el varón. La relación de incidencia por sexos es de 4 a 6 varones por una mujer, excepto para el causado por *Schistosoma haematobium*, que es casi igual. En su etiología, recientemente revisada por Shirai (1993), intervienen los productos del tabaco eliminados con la orina, que aumentan tres veces el riesgo de cáncer de vejiga respecto de los no fumadores; fármacos, como la ciclofosfamida (antiblastico que actúa por su actividad inmunosupresora), y la clorfenacina; colorantes como el 4-aminobifenilo, bencidina y N-N-bis(2-cloroetil)-2-naftilamina, que actúan desde la orina; algunas pinturas; materiales de cuero y goma; hulla; hidrocarburos policíclicos; el metabolismo de la acetilación, ya que el exceso de actividad acetiladora favorece la actividad de las aminas cancerígenas. En las personas expuestas a *aminas aromáticas cancerígenas* existen biomarcadores de exposición (penetración del producto), biomarcadores de efectos tempranos (para diagnóstico temprano de alteraciones bioquímicas) y biomarcadores de susceptibilidad (detectan la predisposición genética) (Indulski y Lutz, 1992). Participan como agentes promotores la proliferación celular debida a infecciones, infestaciones (esquistosomiasis), irritación por piedras y algunos productos que llegan por vía sistémica; las alteraciones del metabolismo del triptofano. En algunos casos la transformación celular se debe a la irradiación pélvica de la mujer. Se ha observado que los cánceres de vejiga aumentan el número de cánceres de pulmón, pero no al revés.

Se observan los siguientes tipos tumorales: a) *carcinoma de células transicionales*, que se ve en el 90 % de los casos; b) *carcinoma de células escamosas*,

que forma el 7 %; c) *adenocarcinoma*, que constituye el 2 %. Puede ser mucoso o no mucoso; d) *carcinoma de células indiferenciadas*, que se produce en el 1 % de los casos, procedente de restos del uraco o de metaplasia; e) *rabdomiosarcoma*; f) neoplasias del estroma (*sarcomas*), sumamente raros, que pueden ser leiomioma, rabdomiosarcoma, mixosarcoma, osteocondrosarcoma, linfosarcoma, plasmacitoma o sarcoma de Kaposi.

Se conocen varias lesiones precancerosas: a) papilomas; b) hiperplasia papilar; c) leucoplasia (queratinizada o no queratinizada); d) cistitis proliferativa (quistes, nódulos epiteliales y redes epiteliales de Brunn); e) metaplasia escamosa; f) metaplasia glandular.

A.3) *Cáncer de la uretra*. El cáncer de la uretra femenina es 2,5 veces más frecuente que el de la uretra masculina.

En el varón se puede considerar un tumor más bien raro. Asienta en la uretra anterior en el 33 % de los casos, en la uretra prostática en el 7 % y en la uretra bulbomembranosa en el 40 %. Se distinguen tres tipos: a) *carcinoma de células escamosas de la uretra bulbomembranosa*, que produce el 57 % de los casos; b) *carcinoma de células transicionales*; c) *adenocarcinoma*; d) *sarcomas*, de presentación excepcional.

En la mujer se observa el carcinoma vulvo-uretral en la uretra anterior en el 33 % de los casos y en la uretra proximal en el 66 %. Histológicamente puede tratarse de: a) *carcinoma de células escamosas*, que constituye el 65 % de los casos; b) *carcinoma de células transicionales*; c) *adenocarcinoma*; d) *melanoma*; e) *sarcomas*, que son excepcionales.

Entre los adenocarcinomas masculinos y femeninos se distinguen: a) los de las glándulas de Littre, masculinas, de la mucosa de la fosa navicular, b) los de las glándulas de Morgagni, c) los de las glándulas bulbouretrales mucossecretoras de Cowper (masculinas), d) los de las glándulas de Skene, del meato urinario femenino, homólogas de la próstata, asiento del adenocarcinoma uretral más frecuente en la mujer, e) los de las glándulas de Bartolino, femeninas, homólogas de las glándulas de Cowper masculinas.

## B) CARCINOMA DE CÉLULAS TRANSICIONALES DE VEJIGA URINARIA

De una manera muy general se pueden distinguir dos tipos de tumores de vejiga urinaria: tumores papilares superficiales, que constituyen un 70 %, y tumores invasivos, que forman el 30 %. En principio, los tumores superficiales se pueden eliminar por cirugía transuretral. Sin embargo, existen *factores de campo* que producen recurrencias en el 55 % de los casos y progresión a carácter invasivo en el 15 %, con lo que infiltran la capa muscular y un 5 % desarrolla metástasis ganglionares o sistémicas. Se calcula que en cada recurrencia progresa a invasivo el 20 %. A la tercera recurrencia, cuando menos menos al 25 % se ha hecho invasivo y metastasizante.

Según las estadísticas, el carcinoma de células transicionales de vejiga produce en los Estados Unidos unos 50.200 casos al año, de los cuales 70 %

son tumores superficiales (TIS, Ta y T1), 25 % presentan invasión muscular (T2, T3a y T3b) y 5 % tienen metástasis (T4N o T4N-M1). En los casos con invasión de la capa muscular hay una mortalidad de 52 % a los dos años, porque se desarrollan las micrometástasis no reconocidas clínicamente que ya existían (Smith y Whitmore, 1981). En los casos con metástasis declaradas, el pronóstico de vida es malo (Steinberg *et al.*, 1992), siendo la supervivencia media de 13 meses (Babian *et al.*, 1980). Solamente el 5 % de los pacientes alcanza los 4 años de vida.

Los carcinomas con invasión muscular (tipos P2 y P3a) de grado IV (anaplásicos) tienen con mucha frecuencia metástasis ganglionares, aunque no se descubran clínicamente. Los carcinomas con invasión reconocida de ganglios linfáticos (N1-3) se asocian frecuentemente a metástasis a distancia (NM1). Pero se conocen casos de metástasis sistémicas (M1) sin metástasis ganglionares reconocidas (Nx).

Las metástasis se llevan a cabo por los capilares sanguíneos y espacios linfáticos de la capa muscular de la vejiga. Las metástasis sistémicas más frecuentes se manifiestan en el hígado, pulmón y huesos.

De acuerdo con la tendencia en ascenso de los últimos 40 años, se puede calcular para España una mortalidad por cáncer de vejiga de unos 12 varones y 2 mujeres por cada 100.000 habitantes, o sea, una relación de 6:1, que corresponde a unos 5,9 casos por 100.000 habitantes de ambos sexos considerados en conjunto. La proporción de casos superficiales e invasivos es similar a la indicada.

En los casos de cistectomía radical por cáncer de vejiga con metástasis ganglionares hay una supervivencia de 10 a 20 % a los 5 años, con una mortalidad en aumento de los estadios T(cualquiera)N1 a los T(cualquiera)N4 (Smith y Whitmore, 1981). Para los estadios N1 y N2 se han registrado casos de curación cuando se hace una esmerada extirpación de todos los ganglios linfáticos invadidos (Skinner, 1982). No obstante, algunos piensan que se trata de *tipos biológicos de evolución favorable*, que en el futuro podrán predecirse.

La evolución clínica de los cánceres de vejiga es variable e imprevisible. Se calcula que el 50 % de los carcinomas «in situ» (TIS) permanece local indefinidamente. Por otra parte, parece ser que el 75 % de los carcinomas de células transicionales de vejiga invasivos los son «ab initio» o desde las primeras etapas de su evolución. Existe un gran número de carcinomas superficiales de tipo T1 y grados I ó II que recurren fácilmente, pero pocas veces progresan a invasivos y metastasizantes. Todo lo anterior plantea el problema de en qué casos convendría realizar una extirpación radical preventiva; para ello se necesita encontrar marcadores biológicos moleculares, citogenéticos o inmunológicos de diagnóstico temprano, pronóstico, recurrencia y predicción de progresión de tumor superficial a invasivo que permitan en el futuro hacer una terapéutica más eficaz.

La mayor parte de los cánceres de vejiga son monoclonales, como muestran los estudios de polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restric-

pción (RFLP, por «restriction fragment-length polymorphism»). Steinberg *et al.* (1992) dicen que el mecanismo molecular de la transformación neoplásica del urotelio de la vejiga habla en favor del *origen clonal de los tumores*. No obstante, factores de campo, que incluyen la predisposición genética y la acción de agentes cancerígenos desde la orina, hacen posibles los *tumores policlonales* y la *conversión en invasivos*.

En la **Figura 1** puede verse un esquema de la clasificación de los tumores de la vejiga. En la **tabla III** se indican las características de los estadios.

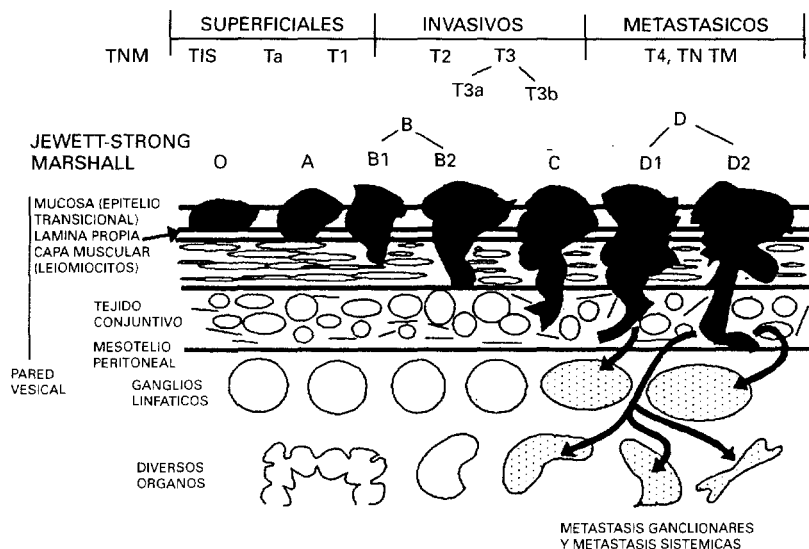


Fig. 1.— Clasificación de los estadios del carcinoma de vejiga.

Las investigaciones revelan que la patogenia celular y molecular del cáncer es muy variable, por lo que todavía no existen recomendaciones sistemáticas. Se ha estudiado oncogenes, genes supresores, otros genes, factores de crecimiento y otras sustancias que influyen en la carcinogénesis y en la progresión (Perucca *et al.*, 1990). Steinberg *et al.* (1992), en su trabajo de revisión del cáncer de vejiga metastásico, dicen que hay marcadores cromosómicos útiles para reconocer el carácter invasivo y la potencialidad metastásica, así como para establecer un pronóstico. La progresión tumoral se verifica en etapas durante la carcinogénesis, carcinoma «in situ», carcinoma invasivo y metastasis; en cada etapa intervienen determinados juegos de genes.

Algunos productos de posible utilidad diagnóstica se tienen que analizar en el tejido tumoral, pero para otros bastan las células neoplásicas exfoliadas que se eliminan con la orina en forma natural o se obtienen por lavados.

TABLA III  
**Clasificación de los estadios de los carcinomas de vejiga**

<i>TNM clínico/patológico</i>	<i>Jewett- Strong- Marshall</i>	<i>Características</i>
TIS, Ta/PIS, Pa	0	Sólo mucosa. Carcinoma «in situ»
T1/P1	A	Infiltraciones submucosa (lámina propia)
T2/P2	B1	Invasión de la zona muscular interna (invasión muscular superficial)
T3a/P3a	B2	Invasión de la zona muscular externa (invasión muscular profunda)
T3b/P3b	C	Invasión que alcanza la serosa perivesical
T4a/P4a y T4b/P4b	D1	Invasión de órganos adyacentes (próstata, 4a; útero y vagina, 4b)
T/P(cualquiera)N1-3	D1	Extensión a ganglios linfáticos regionales (pélvicos)
T/P(cualquiera)N4M1	D2	Metástasis a distancia (ganglios, N4 en órganos, metástasis, M1 o M+)

N1: Uno solo, homolateral (pélvico).

N2: Bilateral contralateral o regional múltiple (pélvicos).

N3: Fijos a pared pélvica y separados del tumor.

N4: Yuxtarrregionales (por encima de la bifurcación aórtica).

M1 o M+: Metástasis distantes.

La determinación de progresión a fenotipo invasivo o de potencial metastásico mediante pruebas predictivas, una vez que alcancen un elevado índice de certeza y reproducibilidad, podrán orientar hacia la selección de los casos en los que convenga hacer una cirugía radical aunque se trate de un tumor superficial de tipo TIS o T1.

### **Antígenos asociados al tumor (TAA)**

Como casi todos los tumores, los cánceres uroteliales contienen TAA («tumor-associated antigens»). Los estudios con anticuerpos monoclonales que reaccionan con epitopos (determinantes antigénicos) de la superficie de las células neoplásicas ha descubierto varios antígenos de interés.

En los carcinomas de células transicionales de vejiga de tipo superficial (PIS y P1) se ha descrito el *antígeno M344*, una proteína mucinosa de elevado peso molecular (Fradet *et al.*, 1987). El antígeno M344 no existe en el te-

jido sano vecino, en tanto que se halla en el 60 % de los tumores PIS y P1 y en el 15 % de los tumores que invaden la capa muscular (P2 y P3a). Por lo tanto, *el antígeno M344 es inversamente proporcional al grado tumoral.*

El TAA 19A-211, una sialoglicoproteína de 200 kDa, se ha revelado en el 70 % de los carcinomas superficiales de vejiga (PIS y P1), en las «células en paraguas» de la vejiga en el 25 % de los casos y en muchos condilomas cervicales (Fradet *et al.*, 1990). *La expresión aumentada del antígeno 19A-211 se asocia a riesgo de recurrencia y progresión,* según los autores.

Considerados en conjunto, la presencia de uno o los dos antígenos tumor-asociados M344 y 19A-211 se halla en el 90 % de los carcinomas superficiales de la vejiga. *El antígeno M344 indica gran riesgo de recurrencia pero menor riesgo de progresión.*

Fradet y sus colaboradores han estudiado también los antígenos T43 y T138. Se encuentran en el 15 % de los tumores superficiales de vejiga, en el 60 % de los carcinomas invasivos y en casi todas las metástasis. En las células normales se reconoce únicamente en las células endoteliales de los vasos sanguíneos y linfáticos. T43 y T138 son glicoproteínas; T138 tiene un peso molecular de 25 kDa. *La expresión de T43 y T138 se correlaciona con mayor riesgo de progresión y producción de metástasis.*

En un seguimiento de dos años hicieron las siguientes observaciones. No se observaron muertes en los cánceres diploides con T138 negativo; en cambio, las muertes se registraron en el 3 % de los tumores diploides con T138 positivo, en el 20 % de los tumores aneuploides con T138 negativo y en 63 % de los tumores aneuploides con T138 positivo.

El análisis de las *proteínas de los grupos sanguíneos* en los tejidos ha mostrado que disminuye la expresión de los antígenos ABH y baja el antígeno de Thomsen-Friedenreich. Estudiando los grupos de Lewis, Cordon-Cardo *et al.* (1988) describieron el aumento de la expresión del precursor Le<sup>x</sup> y de los determinantes de Le<sup>y</sup> en los carcinomas uroteliales, entre ellos los de vejiga.

## **Biología tumoral**

Raghavan *et al.* (1990) han revisado la biología y biología molecular de los cánceres de vejiga. Fradet (1990) repasó los marcadores biológicos en el pronóstico del carcinoma invasivo de vejiga y los aspectos inmunológicos y moleculares de interés en el tratamiento (Fradet, 1991). Knowles *et al.* (1990) describieron las alteraciones de varios genes; piensan que es posible hacer una clasificación de lesiones genéticas de los carcinomas de vejiga y su relación con el fenotipo de cada tumor individual, y con su diagnóstico, pronóstico y progresión. Steinberg *et al.* (1992) escribieron sobre la historia natural y consideraciones terapéuticas referidas al cáncer invasivo y metastásico.

Se considera que tiene valor pronóstico el hallazgo de una población neoplásica con una *fracción de crecimiento grande*, indicio de que hay muchas células tronco. La fracción de crecimiento se puede conocer midiendo la



cantidad de DNA, calculando el número de células en fase S por determinación de la incorporación de bromodesoxiuridina, utilizando anticuerpos monoclonales que reaccionen con el PCNA, la P105 y diversas proteínas de expresión proliferativa, como el antígeno Ki-67 de la matriz nuclear (Gerdes *et al.*, 1983).

En su revisión sobre la *citometría de flujo en el diagnóstico* de los carcinomas de vejiga, Coon *et al.* (1987) comentan que se puede hacer en células exfoliadas o pequeños fragmentos de tumor. Se puede determinar la ploidía celular a partir de la cantidad de DNA y el tamaño de la fracción de crecimiento calculando la proporción de células en fase S o en fase G<sub>2</sub> M. *La demostración de aneuploidía por citometría de flujo corresponde a mal pronóstico y en los carcinomas superficiales es indicio de mayor riesgo de progresión a invasivos.* Por su parte, los tumores invasivos tienen siempre mal pronóstico y la presencia de aneuploidía no contribuye a conocer su evolución.

En la patología del carcinoma de vejiga intervienen muchos productos que tienen relación con su iniciación y progresión.

Los factores de crecimiento, como EGF, PDGF, IGF-I, TGF $\alpha$  y proteínas de *c-sis*, *c-neu* y *c-erbB-1*, así como sus receptores, en particular el R-EGF, tienen un importante papel durante la carcinogénesis, la transformación neoplásica y la progresión. Se sabe que algunas formas de progresión tumoral dependen de la expresión de algunos receptores que fijan factores de crecimiento y hormonas.

Se asocia a mayor riesgo de recurrencia y progresión al fenotipo invasivo la expresión aumentada de receptor de factor de crecimiento epidérmico (R-EGF), de antígeno T43 y de colagenasa IV. El patrón de la expresión de citoqueratina difiere según el grado del tumor. Las células sintetizan glicoproteína P, que no se expresa en el urotelio normal. También tiene un papel importante el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), los factores de crecimiento transformadores (TGF), los factores angiogénicos, factor de motilidad, integrinas y proteínas de diversos oncogenes.

Las células cancerosas liberan *factores angiogénicos*, que estimulan la producción de una red capilar para nutrir a la población neoplásica creciente.

Se produce también un *factor de motilidad* (MT), que estimula de forma autocrina los movimientos celulares y favorece la liberación de células, apocitos y potenciales metástasis. *La cantidad de factor de motilidad se correlaciona con la capacidad invasiva del carcinoma vesical* (Guirguis *et al.*, 1988). *El MT puede ser detectado en la orina.*

Las células cancerosas tienen *integrinas*, que se sitúan en la superficie celular y funcionan como receptoras de componentes de la matriz extracelular, como fibronectina y laminina.

Las células cancerosas producen sustancias que *degradan la membrana basal y la estructura del tejido conjuntivo*, facilitando los movimientos celulares. Así sucede con la colagenasa tipo IV, que se puede determinar con anticuerpos. *La cantidad de colagenasa tipo IV se correlaciona con la capacidad metastásica* (Liotta, 1986).

## Factor de crecimiento epidérmico (EGF) y receptor del factor de crecimiento epidérmico (R-EGF)

El R-EGF es una proteína transmembránica de 175 kDa que fija el EGF y al TGF $\alpha$  por la parte de la superficie celular y posee una región intracitoplásmica con actividad enzimática de tirosina-quinasa. La porción citoplásmica del R-EGF es homóloga de las proteínas del *c-erbB-1* y del *v-erbB* del AEV (virus de la eritroblastosis aviar) (Downward *et al.*, 1984), lo que indica su importancia filogenética.

El EGF es un factor mitogénico. El EGF puede ser detectado en la orina, pero no se ha determinado si su valoración puede utilizarse clínicamente. Cuando el EGF se une al R-EGF se produce un complejo activado que tiene como consecuencia su interiorización (Cohen, 1983) y la activación de la región con acción de tirosina-quinasa del R-EGF, que autofosforila los residuos de tirosina. El proceso es pequeño en las células normales e intenso en las células cancerosas.

Las proteína-quinatas son de gran importancia metabólica. Se conocen las serina-quinatas (SK), las serina/treonina-quinatas (STK) y las tirosina-quinatas (TK). Las TK son las menos abundantes, pero son las más importantes en el proceso de la proliferación celular.

Codifican la síntesis de enzimas que son TK los genes de los factores de crecimiento PDGF e IGF-I, y las proteínas de los oncogenes *c-abl*, *c-fes*, *c-fgr*, *c-fps*, *c-neu*, *c-ros*, *c-yes* y *c-src*.

El EGF se une al R-EGF y actúa como factor promotor durante la carcinogénesis de la vejiga. Es necesaria su presencia para la transformación neoplásica. En el tejido canceroso establecido EGF y TGF $\alpha$  unidos al R-EGF estimulan la reproducción celular de manera autocrina y paracrina. El R-EGF suele sobre-expresarse en el carcinoma de células transicionales de vejiga. Los carcinomas vesicales que producen abundante EGF y sobre-expresan el R-EGF *crecen más rápidamente y tienen mayor riesgo de progresar a invasivos* (Neal *et al.*, 1985, 1990). *La correlación de la expresión aumentada del R-EGF con invasión, progresión y menor supervivencia, así como con el número de mitosis, lo hace útil para el pronóstico* (Smith *et al.*, 1989; Neal *et al.*, 1990; Neal y Melon, 1992). La amplificación del gen R-EGF se encuentra solamente en el 3,2 % de los casos, por lo que el aumento de expresión tiene lugar a nivel de la transcripción y la traducción la mayor parte de las veces.

Mediante procesos inmunoquímicos, Wrigh *et al.* (1991) encontraron una sobre-expresión de R-EGF en el 30 % de 82 casos de carcinoma de células transicionales de vejiga. Existía *correlación entre aumento de R-EGF e invasión de la capa muscular*.

Los carcinomas de vejiga que invaden la capa muscular tienen mayor cantidad de R-EGF (21 de 24; 87,5 %) que los carcinomas de vejiga superficiales (7 de 24; 29 %). Los carcinomas mal diferenciados tienen más R-EGF (18 de 21; 86 %) que los moderadamente diferenciados (10 de 27; 37 %). *La sobre-expresión de R-EGF tiene por lo tanto correlación con la capacidad invasi-*

va y tendencia a la indiferenciación y corresponden a un pronóstico malo (Neal *et al.*, 1985).

La sobre-expresión de R-EGF asociada a *suficiente cantidad de EGF y TGF $\alpha$*  es proporcional a la desdiferenciación y malignidad (Neal *et al.*, 1985; Berger, 1987). Neal *et al.* (1990) encontraron en 101 casos estudiados por tinción histoquímica que el R-EGF estaba sobre-expresado en el 48 % de los casos avanzados.

La observación de carcinomas superficiales no invasivos de vejiga (TIS y T1) con sobre-expresión de R-EGF, hace sospechar la existencia de *tumores multicéntricos y mayor número de recurrencias y de presentación más rápida*.

El hecho de que en el carcinoma invasivo de células transicionales de vejiga se encuentre una sobre-expresión de R-EGF asociada a disminución de antígenos del grupo sanguíneo ABH (Limas *et al.*, 1991), ha hecho pensar que exista una alteración de la vía metabólica de la glicosilación.

Los experimentos «in vitro» han demostrado que las líneas establecidas de células cancerosas de vejiga crecen con relativa facilidad en medios químicamente definidos, en ausencia de suero sanguíneo. Este contiene sustancias fundamentales para el crecimiento celular, entre las cuales están factores de crecimiento. Pero las células cancerosas derreprimen genes que expresan factores de crecimiento y receptores de factores de crecimiento, cuya amplificación o sobre-expresión (con o sin amplificación) establece un estímulo autocrino y paracrino del crecimiento y la reproducción (Heldin y Westermark, 1984; Sporn y Roberts, 1985).

Se ha intentado destruir a las células cancerosas portadoras de sobreexpresión de R-EGF mediante tratamiento tópico de varias maneras: a) con anticuerpos conjugados a productos tóxicos, como ricina y saporina; b) con un complejo de TGF $\alpha$  y endotoxina de *Pseudomona*, aprovechando la afinidad del TGF $\alpha$  por el R-EGF; y c) acidificando la orina con el objeto de disminuir la unión entre EGF y R-EGF (Messing *et al.*, 1990).

### **Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF)**

El PDGF es mitogénico y estimula el crecimiento de las células mesenquimatosas. Está compuesto por dos cadenas polipeptídicas (A y B) que se originan en dos genes diferentes. La cadena B del PDGF es homóloga de la p28 de *v-sis* del SSV (virus del sarcoma de los simios) y de la p26 codificada por el oncogén *c-sis* (Waterfield *et al.*, 1983).

A nivel postranscriptivo la p26<sup>*c-sis*</sup> forma un homodímero p56<sup>*c-sis*</sup> mediante un enlace disulfuro, que a su vez se convierte en el dímero p35<sup>*c-sis*</sup>, que induce la mitosis.

La proteína p26<sup>*c-sis*</sup> o PDGF-2 es precursora de la cadena B del PDGF. El TGF $\beta$  estimula a los genes *c-sis* y PDGF e induce la transcripción de los protooncogenes *c-fos* y *c-myc*. En su momento, la PDGF regula la actividad de *c-fos* y *c-myc* (Kelly *et al.*, 1983). El PDGF y *c-myc* intervienen en el paso de

$G_0$  a  $G_1$ , preparando la acción del EGF y la IGF-I (somatomedina C), que participan en el paso de la fase  $G_1$  a la fase S, en la que se sintetiza el DNA celular.

El PDGF se une a un receptor membránico específico (R-PDGF), con lo cual la región intramembránica, que posee actividad enzimática de tirosina-quinasa (TK) autofosforila al residuo de tirosina. El complejo activado estimula al síntesis de DNA.

Aunque el papel exacto del PDGF y *c-sis*/PDGF-2 no se conoce, parecen ser necesarios para el crecimiento del cáncer de vejiga.

### **Factores de crecimiento transformadores (TGF)**

Se conocen dos factores de crecimiento transformadores,  $TGF\alpha$  y  $TGF\beta$ . Estimulan la reproducción celular de forma autocrina y regulan a la actividad proteolítica sobre la matriz extracelular.

Las células del carcinoma de vejiga producen una *cantidad aumentada de  $TGF\alpha$* , que aparece en la orina (Kimball *et al.*, 1984).

El  $TGF\alpha$  actúa uniéndose al R-EGF. Por lo tanto, el R-EGF es el receptor común del EGF y el  $TGF\alpha$ . El  $TGF\alpha$  codifica una p7 que es homóloga de una parte del EGF. Como en el caso del EGF, el R-EGF es activado cuando el  $TGF\alpha$  se une a él, estimulando la actividad de la región TK. El conjunto EGF,  $TGF\alpha$  y R-EGF constituye un complejo de estímulo del crecimiento celular en el cáncer de vejiga al igual que en otros tumores.

### **Oncogenes c-ras**

La familia de oncogenes *c-ras* humanos comprende los genes *Ha-ras*, *Ki-ras* y *N-ras*. Los dos primeros son homólogos de los oncogenes Ha-MSV (virus del sarcoma murino de Harvey) y Ki-MSV (virus del sarcoma murino de Kirsten), respectivamente, y el tercero se aisló de una línea celular humana de neuroblastoma (Shih y Weeks, 1984). Los proto-oncogenes *c-ras* tienen una gran importancia fisiológica, pues su origen filogenético, juzgado por el grado de homología, llega hasta las células de levadura.

Los oncogenes *c-ras* codifican proteínas de 21.000 dalton de peso molecular, o *p21<sup>c-ras</sup>*. Tienen actividad enzimática de GTPasa; se unen al GTP (trifosfato de guanósina) y GDP (difosfato de guanósina). Forman parte del sistema de transducción de señales a partir de la parte interior de la membrana plasmática.

Cuando las proteínas de los *c-ras* se unen al GTP, activan a la fosfoinositidasa C, capaz de producir señales de inositol-fosfatos que regulan la actividad celular.

Las proteínas *ras* pertenecen a la familia de las más de veinte proteínas G (proteínas que fijan el GTP y lo escinden en GDP), transductores de las señales de crecimiento y reproducción celular.

Los oncogenes *c-ras* están implicados en gran variedad de tumores. La capacidad oncogénica de los genes *c-ras* se debe a la mutación puntiforme de algunos codones, 12 y 61 con mayor frecuencia, y a veces 13 o 59.

Mediante la técnica de la *reacción en cadena de la polimerasa* (PCR) se ha encontrado una mutación puntiforme en el codón 12 de *c-Ha-ras* en 2 de 13 tumores diploides y en 10 de 20 tumores aneuploides (Czerniak *et al.*, 1990). Se puede realizar *partiendo de una pequeña cantidad de células exfoliadas*, lo que la puede hacer útil.

Las proteínas mutadas de *c-ras* tienen menor actividad enzimática que las correspondiente de los proto-oncogenes, lo que puede permitir que las señales actúen sin control (Gibbs *et al.*, 1985).

En algunos casos, la actividad oncogénica se produce por sobreexpresión de  $p21^{c-ras}$ , asociada o no a amplificación génica y a reordenamiento cromosómico.

Es posible que la expresión de  $p21^{c-ras}$  en las células tumorales no tenga relación directa con proliferación celular y transformación neoplásica, sino con reacciones químicas relacionadas con la diferenciación celular.

Mediante inmunohistología de muestras de 68 carcinomas transicionales de vejiga obtenidas por resección transuretral con un anticuerpo monoclonal anti- $p21^{c-ras}$ , Dunn *et al.* (1988) demostraron que se detecta tinción de  $p21^{c-ras}$  tanto en el urotelio normal como en el tejido tumoral y que no es útil para establecer diagnósticos ni para pronósticos.

### Oncogén *c-neu*

El oncogén *c-neu* es también conocido como *c-erbB-2* y HER-2. El nombre de *c-neu* se debe a haberse descubierto en células del neuroblastoma de rata. Se encuentra en el locus cromosómico 17q21 (Yamamoto *et al.*, 1986). En el mismo cromosoma 17q se encuentran genes de resistencia a los fármacos anticancerosos, que podrían estar afectados. *C-neu* codifica la síntesis de una glicoproteína de 185 kDa que actúa como factor de crecimiento. La glicoproteína de *c-neu* es homóloga del R-EGF (Bargmann *et al.*, 1986; Yamamoto *et al.*, 1986) y de la proteína de *c-erbB-1* (Bargmann *et al.*, 1986). Tiene un dominio intracelular que es una tirosina-quinasa. La proteína *c-neu* es activada por unión a una molécula parecida al TGF $\alpha$  a nivel de la superficie celular (Lee *et al.*, 1989). La acción de tirosina-quinasa del R-EGF (activado por el EGF o el TGF $\alpha$ ) y de *c-neu* (activado por el TGF $\alpha$ -símil) son muy importantes en la iniciación de la cascada de señalización mitogénica (Di Fiore *et al.*, 1990).

El proto-oncogén *c-neu* se convierte en oncogén por dos mecanismos. Uno de ellos consiste en una mutación puntiforme que cambia un residuo de ácido glutámico por uno de valina (Bargmann *et al.*, 1986). El otro, más frecuente, se produce por sobre-expresión asociada o no a amplificación del oncogén (Wright *et al.*, 1990).

La proteína de *c-neu* se demuestra histoquímicamente en las células superficiales del urotelio normal y en las células cancerosas.

La tinción es variable para cada tumor, en un tumor para las distintas zonas y en éstas para las células componentes, lo cual es manifestación de heterogeneidad de la población celular y de policlonalidad según Gardiner *et al.* (1992). La heterogeneidad celular es suficiente para explicar el fenómeno, ya que hay datos suficientes para pensar que la mayor parte de los tumores son monoclonales.

No interviene en la transformación neoplásica, pero estimula el desarrollo del tumor (Neal y Mellon, 1992). Los estudios inmunohistoquímicos realizados en 54 casos por Asamoto *et al.* (1990) y en 82 casos por Wright *et al.* (1991) les llevaron a pensar que no existe relación entre amplificación o sobre-expresión de *c-neu* y el estadio o el grado tumoral del cáncer de vejiga, contrariamente a lo que sucede en los cánceres de mama y de ovario, en los cuales ensombrece el pronóstico.

Sin embargo, otros investigadores encuentran que el oncogén *c-neu* se correlaciona con el grado tumoral, pues está amplificado en 2% de los tumores de grado I, en 16 % de grado II y en 46 % de grado III. Según Messing (1990) y Zahn *et al.* (1990) *c-neu* está sobre-expresado en los carcinomas de vejiga, sobre todo en los invasivos y mal diferenciados.

Posiblemente las discrepancias estén en la interpretación. Los análisis inmunohistoquímicos con anticuerpos monoclonales muestran que la tinción positiva de la proteína *c-neu* a nivel de la membrana celular corresponde a un fenotipo invasivo, con mayor riesgo de recurrencias y pronóstico, no así la tinción citoplásmica. En los carcinomas de células transicionales de la vejiga se ha encontrado positividad de la membrana celular en 19 % (22/116) de los casos. El 59 % (13/22) de ellos correspondía al grado III y el 45 % (19/22) invadía la capa muscular; el 36 % (8/22) era de grado II y la mitad (4/22) invadía la lámina propia (Gardiner *et al.*, 1992).

## Genes supresores

### Gen supresor p53

En el cáncer de vejiga es frecuente la combinación de activación de los oncogenes *c-ras* y *c-neu* y la inactivación de los genes supresores p53 y Rb (Borland *et al.*, 1992).

Experimentalmente se sabe que *c-neu* (*c-erbB-2/HER 2*) no es transformador y que los oncogenes de la familia *c-ras* aisladamente tampoco lo son. El gen p53 nativo es un gen supresor recesivo y participa en el cáncer cuando se pierde la expresión de la proteína p53 de sus dos alelos. Pero el gen p53 que es asiento de algunos tipos de mutaciones puntiformes se convierte en oncogén dominante y actúa por la expresión de la proteína mutada. **La combinación de gen mutado y oncogenes *c-ras* mutados** produce transformación celular

(Parada *et al.*, 1984; Hinds *et al.*, 1989). Por otra parte, la **transgenia** de un gen p53 mutado favorece la aparición de cáncer (Lavigneur *et al.*, 1989). Por **transfección** se ha visto que el p53 nativo inhibe la proliferación y la transformación celular (Finlay *et al.*, 1989; Mercer *et al.*, 1990).

El gen p53 tiene su locus en el brazo corto del cromosoma 17 (17p).

La mutación de p53 y la expresión consecuente de la fosfoproteína nuclear p53 mutada se ha asociado a los *carcinomas invasivos de la vejiga* (Wright *et al.*, 1991).

El gen p53 es asiento de alteraciones con mucha frecuencia en los cánceres más diversos, sea por delección o por mutación. Sidransky *et al.* (1991) encontraron mutaciones de p53 en 11 de 18 tumores (61 %) y delección de uno de los alelos en 10 de 18 (56 %); o sea, que es frecuente la existencia de ambas alteraciones. Por sí solo no interviene en la transformación, pero participa en ciertas fases del desarrollo tumoral y en la progresión del tumor. En el carcinoma de la vejiga se encuentran *mutaciones de p53 en el 50 % de las neoplasias invasivas mal diferenciadas*. Sin embargo, el seguimiento clínico de carcinomas superficiales con ataque de la lámina propia pero no de la capa muscular que con alguna frecuencia progresan a invasivos, mostró que *la determinación inmunohistoquímica de p53 no puede ser utilizada como marcador de progresión y de pronóstico* (Gardiner *et al.*, 1994). En el futuro podrían surgir nuevos métodos. Así, Fujimoto *et al.* (1992) estudiaron los exones 4 a 11 buscando posibles diferencias entre el carcinoma de vejiga superficial e invasivo; estudiaron 23 pacientes, encontrando que sólo en 1 de 13 cánceres de células transicionales de vejiga superficiales (pTis, pTa y pT1) existía mutación de p53. *En todos los cánceres de vejiga invasivos (pT2, pT3 y pT4), carcinomas de células escamosas y carcinomas metastásicos existía mutación de p53.*

Se han conseguido anticuerpos monoclonales que reaccionan específicamente con proteínas p53 mutadas (Gannon *et al.*, 1990). Por este método se ha encontrado que el carcinoma de vejiga tiene con frecuencia mutaciones puntiformes que pueden asentar en diversos codones. La demostración de *genes p53 mutados* en un carcinoma de células transicionales de vejiga es de *mal pronóstico*. Con frecuencia coincide la mutación del gen p53 con pérdida de algunos alelos de la región cromosómica 17p, la misma donde se encuentra el locus p53.

La mutación de p53 se encontró en 2 de 15 (13 %) de los carcinomas superficiales (P1S y P1). El gen p53 estaba mutado en 14/14 (100 %) de los carcinomas invasivos (P2, P3a, P3b y P4). En relación con la gradación tumoral, p53 no presentó mutación en 3 tumores de grado I, en tanto que se observó mutación en 1/9 (11 %) tumores de grado II y en 10/17 (59 %) de grado III. O sea, *en los cánceres invasivos de grado elevado hay más mutaciones p53 que en los cánceres superficiales o de bajo grado.*

La *mutación de p53* podría ser un buen marcador predictivo de *carácter invasivo y tendencia a la desdiferenciación celular.*

Wright *et al.* (1991) estudiaron 56 varones y 26 mujeres con edad media

día de  $69 \pm 10$  años, analizando las proteínas de p53, *c-neu* (*c-erbB-2*) y R-EGF con la técnica de la inmunoperoxidasa indirecta con anticuerpos monoclonales que reconocen proteínas nativas o ciertas mutaciones de p53, la porción C-terminal de *c-neu* o un epítipo del dominio externo del R-EGF.

Para p53 tiñeron significativamente 18 % y débilmente 36 %. Para *c-neu* tiñeron 15 % intensamente y para R-EGF el 31 % lo hizo con intensidad.

Los autores creen que hay correlación entre intensidad de reacción e invasibilidad para p53 y R-EGF. Sólo 15 % de tumores invasivos fueron negativos para p53 y R-EGF.

Los resultados se indican en la **tabla IV**.

TABLA IV  
Análisis de las proteínas de los genes p53, R-EGF y *c-neu* (*c-erbB-2*)  
en el cáncer de vejiga \*

	<i>p53</i> (tinción nuclear)	<i>R-EGF</i>	<i>c-neu</i> (tinción de membrana)
Tinción fuerte o moderada .....	14/79 (18 %)	25/81 (31 %)	12/81 (15 %)
Tinción débil .....	29/79 (36 %)	43/81 (53 %)	19/81 (23 %)
Total positivos .....	43/79 (54 %)	68/81 (84 %)	31/81 (38 %)
Total negativos .....	36/79 (46 %)	13/81 (16 %)	50/81 (62 %)
Invasivos positivos .....	33/77 (43 %)	28/33 (85 %)	8/32 (25 %)
No invasivos positivos .....	44/77 (57 %)	6/44 (14 %)	4/48 (8 %)
<i>Uno o dos de p53 y R-EGF</i>			
Diferenciados .....			28/34 (82 %)
Moderadamente diferenciados .....			6/44 (14 %)

\* Tabla preparada a partir de los datos de Wrigth *et al.* (1991).

Como se puede apreciar:

- 1) *p53* y *R-EGF* se correlacionan con invasión muscular y grado tumoral.
- 2) No existe coexpresión significativa de ninguna combinación de *p53*, *c-neu* (*c-erbB-2*) y *R-EGF*, pero la expresión de malignidad puede presentarse con aumento aislado o conjunto de *p53* y *R-EGF*.
- 3) *c-neu* no se correlaciona con invasión muscular ni grado tumoral.



### Gen supresor Rb1

El *gen supresor Rb1* produce una fosfoproteína nuclear que regula el ciclo celular. En el carcinoma de células transicionales de vejiga se han encontrado *mutaciones de Rb1 o pérdidas de heterocigosidad del gen* (Cairns *et al.*, 1991; Ishikawa *et al.*, 1991), *asociadas a invasión muscular, indiferenciación celular y mal pronóstico.*

El 30 % de los carcinomas de vejiga tienen pérdida o reordenamiento de un alelo del gen Rb1, sobre todo en estadios avanzados y tumores de alto grado.

El estudio de cortes de tejido tumoral con anticuerpos monoclonales contra la proteína Rb1 permite *correlacionar la pérdida de expresión de Rb1 con un mal pronóstico.*

La transfección de gen supresor Rb1 nativo a células de la línea HT B9 «*in vitro*», que carecen de genes Rb1, disminuye la tumorigenicidad de los injertos con dichas células (Takahashi *et al.*, 1991). Esto ha hecho pensar en la posibilidad de terapéuticas genéticas introduciendo a las células cancerosas genes supresores.

### Genes supresores nm23

Es posible que los *genes supresores nm23* influyan en la patogenia del carcinoma de células transicionales de vejiga. La expresión de las proteínas normales de los genes nm23 impiden la producción de metástasis. Se piensa que la falta de expresión de nm23 se asocia a la producción de metástasis.

### Otros genes implicados en el cáncer de vejiga

En 20 % de los tumores está amplificado el DNA del cromosoma 11q13, que contiene los oncogenes *int2* y *hst*, pertenecientes a la *familia de los FGF* (factores de crecimiento fibroblásticos), y el *locus BCL1*, que con frecuencia está implicado en los puntos de rotura de los tumores de células B. Sin embargo, se cree que posiblemente el gen amplificado no es *int2* o *hst*, sino otro desconocido próximo a ellos. Dicha amplificación no tiene relación con grado tumoral ni con la amplificación de *c-neu*.

En la región cromosómica 5q34 se localiza el oncogén *c-fms*, que codifica al CSF-1, el cual es un activador de los macrófagos; en el cáncer de vejiga se podría activar CSF-1 por los cambios que existen en i5p.

La delección de 3p se asocia a pérdida del gen del receptor del *ácido retinoico*, con lo que se perdería el efecto antineoplásico atribuido al ácido retinoico (DeBolla *et al.*, 1985).

### Alteraciones cromosómicas

El planteamiento de tratamiento adecuado del cáncer de vejiga necesita conocer su potencial biológico. Hoy se cuenta con el estudio histopatológico que indica su tipo y gradación, pero la evolución es tan variable e imprecisa que se necesitan buscar marcadores tumorales que se añadan a ellos (Sheinfeld *et al.*, 1990). Algunos de esos marcadores podrán encontrarse en la citogenética.

En el carcinoma de células transicionales de la vejiga urinaria se han observado diversas anomalías citogenéticas no consideradas como aleatorias (Sandberg, 1986; Smeets *et al.*, 1987). Abarcan cuando menos a 16 cromosomas (1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 17, 20, 21 e Y), aunque no se presentan simultáneamente (Gibas *et al.*, 1984, 1986; Sandberg, 1986; Babu *et al.*, 1987).

La ploidía celular no es demasiado útil para pronosticar la progresión de superficiales a invasivos, ya que el 36 % de los carcinomas de células transicionales de vejiga son diploides y lo siguen siendo las propias metástasis en el 27 % (Badalament *et al.*, 1988). Sin embargo, el 90 % de los tumores invasivos de grados III y IV son aneuploides. Cuando existe, el número anormal de cromosomas indica peligro de progresión y peor pronóstico.

Un buen complemento del estudio de la ploidía celular podría ser la *hibridación «in situ» entre sondas fluorescentes de DNA centromérico y DNA de células en interfase* obtenidas de células de tumores frescos o de cortes histológicos. El recuento de los puntos de fluorescencia muestra alteraciones del número de puntos en los cromosomas 1, 7, 9 y 11 en 14 de 24 carcinomas de células transicionales no invasivos y en 7 de 16 carcinomas invasivos que estaban próximos a la diploidía por citometría de flujo.

El reconocimiento de cambios en el número de cromosomas con la técnica de la fluorescencia de hibridación «in situ» de orina y lavados vesicales y utilizando sondas cromosómicas  $\alpha$ -satélites y centroméricas puede ser un *medio adecuado para diagnóstico y detección precoz* (Meloni *et al.*, 1993; Hopman *et al.*, 1991, 1988). Meloni *et al.* (1993) estudiaron 45 controles y 33 pacientes con edad media de 69 años y carcinoma vesical en diferentes estadios. La mayor parte varones, sólo hubo 6 mujeres control y 2 con carcinoma de células transicionales de vejiga. El método se puede hacer con muy pocas células y permite diagnosticar incluso carcinomas «in situ», a veces difíciles de reconocer por otros procedimientos.

La monosomía del cromosoma 9 es propia del carcinoma de células transicionales de vejiga. *La monosomía 9 es una alteración temprana*, que se observa en las lesiones no invasivas y en las invasivas. Se cree que 9q contiene algún gen supresor.

Por otra parte, la región cromosómica 9q34 codifica la producción de *galactosiltransferasas* que intervienen en la síntesis de los grupos sanguíneos ABH. La monosomía 9 puede dar razón de la delección de *antígenos ABH* en pacientes con células transicionales de vejiga.

El *bandeado de los cromosomas* de los tumores de vejiga puede indicar riesgo de progresión de carcinoma superficial a carcinoma invasivo (Babu *et al.*, 1987). Las deleciones del brazo largo del cromosoma 9 (9q) existen en el 50 % de los carcinomas de vejiga. Según Viola *et al.* (1985) hay pérdidas de 9q en 67 % de los carcinomas invasivos de vejiga.

La *pérdida de 17q* se encuentra en el 63 % de los casos invasivos (Gibas *et al.*, 1990). Es típico de las *etapas más avanzadas* (Tsai *et al.* (1990). Así mismo, las pérdidas de material de *los cromosomas 1, 7 y 11 se asocian con frecuencia a estadios avanzados* (Gibas *et al.*, 1984, 1986). La deleción de 11p (Tsai *et al.*, 1990) es importante, porque allí tienen sus loci el oncogén c-Ha-ras (Viola *et al.*, 1985) y los genes supresores de BWS y WAGR.

También se correlacionan con progresión y mal pronóstico la presencia del isocromosoma iso(5p), la deleción de 17p y la trisomía 15.

Se han descrito cambios relativamente frecuentes, como trisomía 1, trisomía 7 y deleciones de 17p (Sindransky *et al.*, 1991; Tsai *et al.*, 1990), deleciones de 3p y diversas alteraciones de los cromosomas 5, 6, 8, 10, 20 y 21 (Gibas *et al.*, 1984; Sandberg, 1986; Babu *et al.*, 1987; Smeets *et al.*, 1987; Wu *et al.*, 1991).

Durante la carcinogénesis se han observado algunas modificaciones tempranas en los cromosomas 1, 5, 7, 9, 11 y 17.

Aparecen deleciones del brazo largo 5q, con frecuencia en 5q13q22 (Atkin *et al.*, 1985), alteraciones estructurales como i(5p), del (9q) (Gibas *et al.*, 1984), pérdida alélica de 11p y 17p, trisomía 7, menos veces tetrasomía o pentasomía 7, trisomía o tetrasomía 8, supresión del cromosoma Y, monosomía 9. Se observa pérdida de heterocigotidad en 2p, 9p, 11p, 14p y 17p (Tsai *et al.*, 1990). Menos frecuentemente, alteraciones de los cromosomas 1, 10 y 11 (Atkin y Baker, 1985).

El estudio del *polimorfismo de la longitud de fragmentos de restricción* (RFLP, mediante Southern «blotting» utilizando sondas de DNA de células tumorales y de células autólogas normales permite distinguir la longitud de alelos génicos específicos de origen paterno y materno. Es corriente que existan pérdidas alélicas en los cromosomas 9q, 11p y 17p (Olumi *et al.*, 1990); la pérdida de genes de 9q existe en el 50 % de los tumores superficiales e invasivos y es el resultado de una alteración precoz; la supresión de genes en 17p se asocia a progresión tumoral, la supresión en el material de 11p se relaciona también a veces con progresión.

La región cromosómica 11p se altera tardíamente y se asocia a invasión y metástasis. El análisis de 11p mediante la técnica de «polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción» muestra la deleción del proto-oncogén c-Ha-ras y del gen de la insulina (Fearon *et al.*, 1985).

En las **tabla V** se indican los hallazgos más importantes de la biología molecular y citogenética del cáncer de vejiga.

En la **Figura 2** y la **Figura 3** que la continúa, se hace un esquema de la historia natural del cáncer de vejiga.

## TABLA V

**Carcinoma de células transicionales de vejiga urinaria**

## CARACTERÍSTICAS BIOMOLECULARES Y CITOGENÉTICAS

A. *Biomoleculares*

- Antígeno M344.—Inversamente proporcional al grado tumoral. Predice menor riesgo de progresión que antígeno 19A-211, pero gran riesgo de recurrencias.
- Antígeno 19A-211.—Aparece en tumores superficiales (P1 y P2). Sobre-expresión correlacionada con riesgo de recurrencias y progresión.
- Antígenos T43 y T138.—Riesgo de progresión y metástasis.
- Disminución antígenos ABH. Aumento precursores de Le<sup>X</sup> y Le<sup>Y</sup>.
- Factor de motilidad (orina).—Indica capacidad invasiva.
- Sobre-expresión R-EGF.—Mayor riesgo de recurrencia, progresión, invasión y menor supervivencia.
- Colagenasa IV.—Capacidad invasiva y metastásica.
- TGF $\alpha$  en orina: Presencia de tumor. TGF $\alpha$  en tumor: proporcional a dediferenciación.
- Sobre-expresión R-EGF/EGF/TGF $\alpha$ .—Complejo de estímulo de crecimiento autocrino y paracrino.
- *c-ras*.—Aumenta en tumores en forma variable. Presencia en urotelio normal dificulta utilizarlo para diagnóstico o pronóstico.
- *c-neu (c-erbB-2)*.— Sobre-expresión en membrana plasmática corresponde a fenotipo invasivo, mal pronóstico, más recurrencias y con menor intervalo.
- p53.—Delección contribuye a evolución. Mutación asociada a carácter invasivo.
- Rb1.—Delección o mutación asociadas a invasión muscular, dediferenciación celular y mal pronóstico.
- nm23.—Pérdida de heterocigosidad asociada a capacidad metastásica.
- *c-fms*.—Codifica expresión de CSF-1. Efecto desconocido.

B. *Citogenéticas*

- Cambios no simultáneos en 16 cromosomas.  
No todos presentes en cada tumor: 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 17, 20, 21 e Y.
- Cambios durante carcinogénesis: 1, 5, 7, 9, 11 y 17.
- Aneuploidía (por citometría de flujo): Riesgo de progresión de superficiales a invasivos. Más frecuente en grados III y IV. Peor pronóstico.
- Alteración temprana: Monosomía cromosoma 9.
- Cambios en progresión e invasión. Mal pronóstico: isocromosoma 5p, delección 9q.
- Modificaciones observadas durante la evolución tumoral: 2p, delección 3p, 5q, 6, trisomía 7, trisomía 8, tetrasomía 8, 9p, isocromosoma 9q, 10 (no frecuente), delección 17p, 14p, 21, delección Y.
- Casos avanzados: Trisomía 1 (no frecuente), tetrasomía 7, pentasomía 7 (no frecuente), 11p 11q.

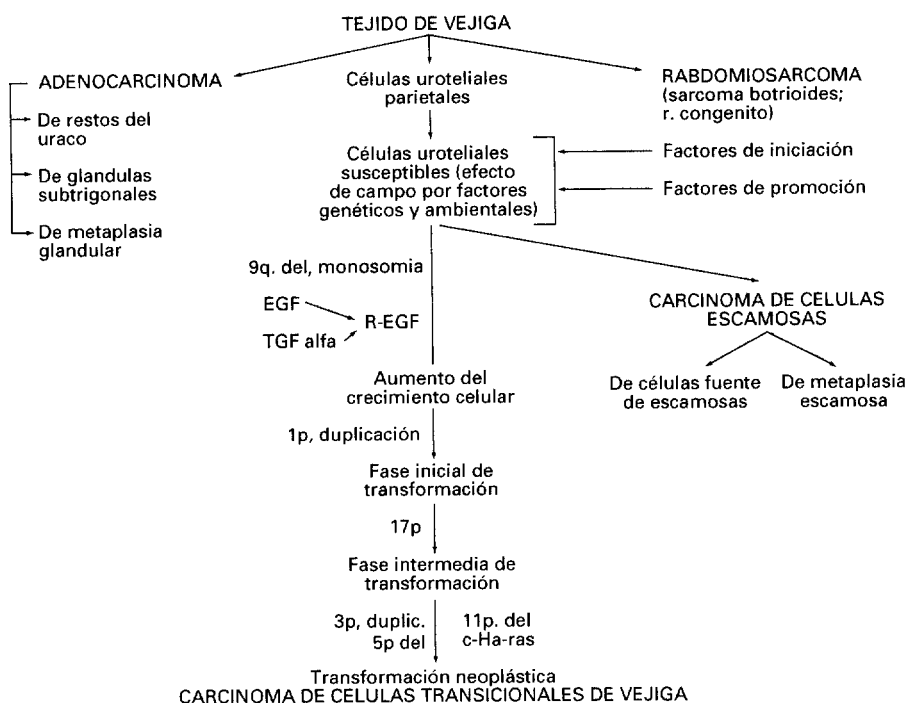


Fig. 2.—Historia natural del cáncer de vejiga urinaria.

#### 4. CANCER DE PRÓSTATA

El cáncer de próstata es la segunda causa de cáncer en el varón y la tercera causa de muerte por cáncer en este sexo. Se trata de *adenocarcinomas*, casi todos los cuales desarrollan en el lóbulo posterior.

En su etiopatogenia intervienen la predisposición genética familiar, que duplica la incidencia; los antecedentes maternos de cáncer de mama; el polvo de óxido de cadmio. El riesgo parece mayor cuando hay una producción abundante de andrógenos y gran actividad sexual. Un primer tumor de vejiga facilita la producción de otro posterior.

Rara vez se ven *neoplasias del estroma*, que pueden ser leiomioma, rhabdomyosarcoma, linfoma, fibrosarcoma o angiosarcoma.

##### A) ADENOCARCINOMA DE PRÓSTATA

##### Dependencia e independencia hormonal

Es fácil tener un falso optimismo cuando se oye decir que el 80 % de los adenocarcinomas de próstata mejoran con la terapéutica hormonal. Gracias

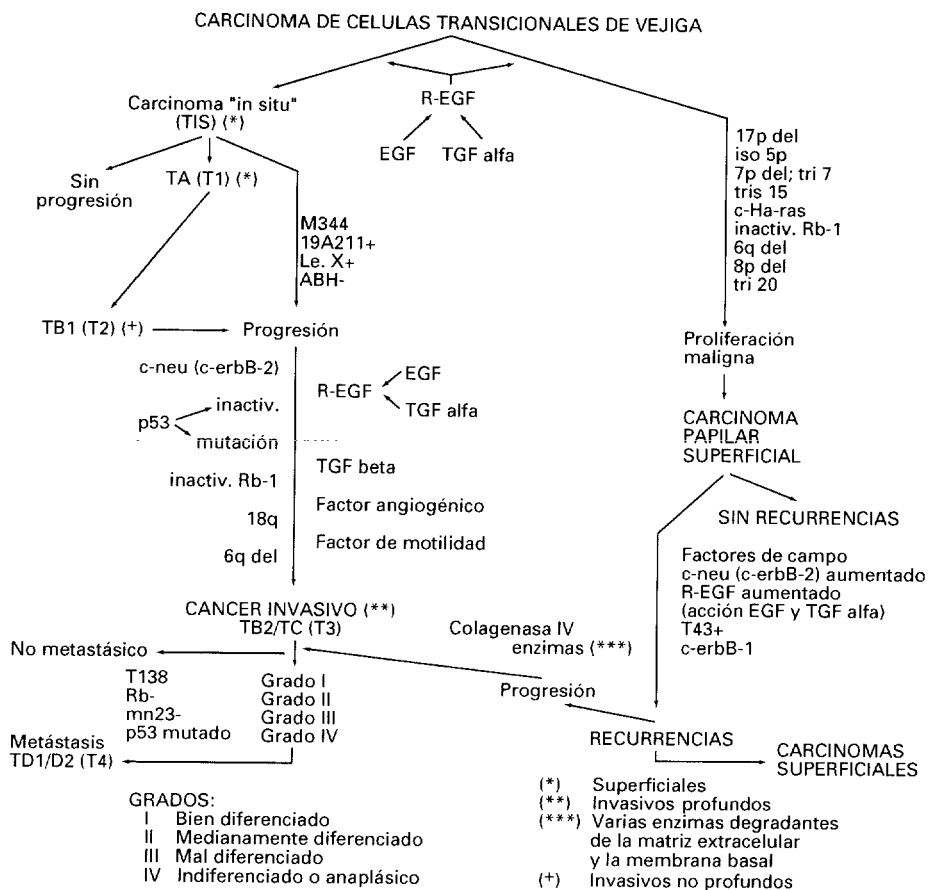


Fig. 3.—Transformación neoplástica.

a su hormono-dependencia inicial de los andrógenos para el estímulo trófico de su crecimiento, pueden ser frenados evitando la acción androgénica.

Ahora bien, la mejoría se produce solamente al principio del tratamiento, pues después de un tiempo variable acaban todos haciéndose hormono-independientes (Scott *et al.*, 1980).

No existe relación entre cantidad de receptores de andrógenos y la progresión tumoral o la capacidad metastásica.

Cuando se altera la región de la molécula del receptor que fija a los andrógenos, se produce la transcripción no sólo de andrógenos, sino de estrógenos y progesterona, como se ha visto en la línea celular LNCaP (Harris *et al.*, 1990). Este fenómeno puede convertir a los antiandrógenos en estimulantes.

## Relaciones entre parénquima y estroma

El epitelio prostático necesita para su crecimiento la actividad de las células mesenquimatosas del estroma (Neubauer *et al.*, 1986; Guthrie *et al.*, 1990), que producen factores de crecimiento y citoquinas de acción autocrina y paracrina (Camps *et al.*, 1990).

Las células del estroma producen factores de crecimiento fibroblásticos (FGF) y factores de crecimiento transformadores (TGF), cuyas acciones se indican más adelante.

Por su parte, las células del estroma reciben la influencia del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y de otras sustancias.

Cuando llegan células neoplásicas, los fibroblastos del tejido óseo favorecen la angiogénesis y metástasis óseas del carcinoma prostático (Berrettoni y Carter, 1986), así como la proliferación del tejido neoplásico (Chackal-Roy *et al.*, 1989).

Las células de carcinoma prostático de la línea PC-3 producen sustancias mitogénicas que estimulan a los osteoblastos y fibroblastos óseos (Perkel *et al.*, 1990).

## Factores de crecimiento fibroblásticos (FGF)

Los factores de crecimiento fibroblásticos FGF-1 (ácido) y FGF-2 (básico) *son producidos por las células mesenquimatosas del tejido prostático*. Ambos estimulan la actividad mitótica de la hiperplasia benigna de próstata y del carcinoma de próstata (Mansson *et al.*, 1989; Gelmann, 1991). En los estudios «in vitro» se ha observado que ambos factores de crecimiento fibroblásticos, ácido y básico, estimulan tanto a las células cancerosas como a los fibroblastos prostáticos (McKeehan *et al.*, 1984, 1987; Story *et al.*, 1989). En los tejidos, tanto las células cancerosas como las células conjuntivas del estroma tumoral poseen los receptores para FGF-1 y FGF-2 (Mansson *et al.*, 1989).

Los tumores de evolución lenta son estimulados por los factores de crecimiento fibroblásticos, que tienen actividad paracrina y se unen a receptores de FGF de gran afinidad de las células tumorales.

En efecto, se han descrito moléculas modificadas de FGF y R-FGF de gran actividad. Así sucede con la proteína del gen *R-FGF fijador de heparina*, procedente del empalme del exón alfa en un lugar diferente de la región 3, que tiene una región intracelular igual que el R-FGF-1-gamma humano (Yan *et al.*, 1992). Esta molécula está sobreexpresada en el carcinoma prostático de la rata y participa en la transformación celular.

Contrariamente a lo que pasa con los tumores de crecimiento lento, los tumores de crecimiento rápido crecen sin necesidad de la acción de los FGF.

Las células de hipertrofia prostática benigna producen un factor mitogénico homólogo del FGF-2 (Lawson, 1989).

Los ratones transgénicos portadores del proto-oncogén *c-int-2*, que codifica la producción de FGF-3, cuando se asocia a la presencia de la secuencia promotora LTR del MMTV (secuencia terminal larga repetida o «long terminal repeat» del virus del tumor mamario del ratón), provoca una hiperplasia prostática benigna (Muller *et al.*, 1990).

En la matriz extracelular del tejido óseo hay células conjuntivas productoras de factores angiogénicos, uno de los cuales es el FGF-2 (básico), que contribuyen al establecimiento de las metástasis tumorales.

### **R-EGF, EGF y TGF $\alpha$**

El receptor del EGF (R-EGF) es necesario para el crecimiento y reproducción del adenocarcinoma de próstata y de la hiperplasia benigna de la próstata (Maddy *et al.*, 1987; Eaton *et al.*, 1988). Como ya mencionamos, el R-EGF fija al EGF y al TGF $\alpha$  y es activado por ellos, formando un sistema de estímulo autocrino. Se ha descrito que en bastantes ocasiones existe una mayor sobreexpresión de R-EGF en la hiperplasia benigna de la próstata que en el adenocarcinoma prostático (Habib, 1990; Shaik *et al.*, 1990). Los resultados anteriores de algunos autores no habían encontrado esta diferencia (Davies *et al.*, 1989).

Tanto en los tumores y secreciones prostáticas (Gregory *et al.*, 1986), como en las líneas LNCaP y DU-145 de carcinoma de próstata (Connolly y Rose, 1990) aumenta la producción de EGF y TGF $\alpha$ , de acción autocrina.

La inoculación de cDNA de TGF $\alpha$  a ratones transgénicos produce hiperplasia y displasia del tejido prostático, muy parecidas histológicamente al carcinoma «in situ» (Sandgren *et al.*, 1990).

### **TGF $\beta$**

El TGF $\beta$  es producido por las células mesenquimatosas del tejido prostático y contribuye a la transformación por el efecto de los oncogenes *c-ras* y *c-myc* (Thompson *et al.*, 1989). En el carcinoma de próstata andrógeno-dependiente, los andrógenos producen una disminución de TGF $\beta$  y del receptor del TGF $\beta$  (Wilding *et al.*, 1989a; Gleave *et al.*, 1991a,b).

En los cultivos «in vitro» el TGF $\beta$  inhibe el crecimiento de las líneas celulares andrógeno-independientes PC-3 y DU-145, pero no de la línea andrógeno-dependiente LNCaP. Este hecho se debe a que las células sensibles a los andrógenos poseen R-TGF $\beta$ , en tanto que las células insensibles a los andrógenos carecen del receptor. Las líneas PC-3 y DU-145 producen y secretan TGF $\beta$ , no así la línea LNCaP.

Se ha observado que en células de carcinoma prostático mal diferenciado



que han sido transformadas por transfección de los oncogenes *c-ras* y *c-myc* se produce TGF $\beta$ -1 (Thompson, 1990).

### **Factores de crecimiento derivados de las plaquetas (PDGF)**

Se ha descubierto que las líneas celulares de carcinoma prostático «in vitro» DU-145 y PC-3 producen PDGF1 y PDGF2, pero carecen de receptores para dichos factores de crecimiento (Sitaras *et al.*, 1988), lo que hace suponer que son factores de las células neoplásicas destinados a estimular las células de la matriz extracelular del tejido.

### **Oncogenes c-ras**

La sobreexpresión de *c-ras* mutado en la línea LNCaP aumenta la capacidad de crecimiento independiente del estímulo androgénico (Voeller *et al.*, 1991). Aunque *c-ras* se encuentre alterado únicamente en el 10 % de los carcinomas de próstata, su expresión parece correlacionarse con *tendencia a la indiferenciación* (Viola *et al.*, 1986).

### **Gen supresor Rb1**

El gen supresor Rb1 presenta deleciones. En las células de la línea DU-145 se produce un RNA mensajero de Rb1 mutado al que le falta el exón 21. Cuando estas células son transfectadas con cDNA de Rb1 normal en un vector retroviral es anulada su capacidad tumorigénica (Bookstein *et al.*, 1990).

### **Alteraciones cromosómicas**

Desde el punto de vista citogenético, es frecuente que los carcinomas de próstata sean diploides. No obstante, se observan pérdidas de material en los cromosomas 1, 2, 5 e Y, y ganancias en los cromosomas 7, 14, 20 y 22 (Brothman *et al.*, 1989, 1990), así como reordenamientos de 2p, 7q y 10q (Atkin y Baker, 1985).

El carácter diploide de los carcinomas de próstata es simplemente una normalidad morfológica, pues existen siempre en ellos mutaciones y otras alteraciones de oncogenes y genes supresores.

Se han hecho numerosos estudios con citometría de flujo y determinación de DNA en cáncer de próstata (Böcking *et al.*, 1988; Fordham *et al.*, 1986; Jones *et al.*, 1990; Nativ *et al.*, 1989; Stephenson *et al.*, 1987).

Tribukait (1991) estudió la aplicación de la *citometría de flujo*, que valora la cantidad de DNA de las células, al diagnóstico y pronóstico de los tumores de la próstata en relación con la ploidía y la proliferación.

Se analizaron muestras obtenidas por *biopsia de aspiración con aguja fina transrectal* a partir de carcinomas de próstata no tratados y de próstatas sospechosas de cáncer.

Considera que los cánceres de próstata comienzan siendo diploides y bien diferenciados como tipo T1, pero progresan de manera continuada haciéndose heterogéneos; aunque coexisten células de diferente ploidía, las tetraploides y aneuploides no tetraploides crecen con mayor rapidez y van aumentando la gradación tumoral a moderadamente diferenciadas de estadios T2 o T3, hasta llegar a tumores T4, casi todos mal diferenciados, aneuploides no tetraploides, y tetraploides. Los quimioterápicos antiblásticos son más eficaces contra las células tetraploides y aneuploides, lo que hace necesario que la terapéutica de las fases diploides iniciales, para ser eficaz, tenga que ser más agresiva con los medios actuales, lo que a la vez produce mayores efectos tóxicos.

Tribukait (1993) considera útil la valoración de DNA por citometría de flujo en muestras tomadas por aspiración con aguja fina. Con este método fueron seguidos durante diez años o más 287 pacientes no tratados y 309 tratados hormonalmente. Sirvieron de control 506 sujetos con lesiones prostáticas benignas.

Aunque todos los tumores muestran un desperdigamiento variable del número de cromosomas, estadísticamente pueden distinguirse tumores diploides, tetraploides y aneuploides.

En los pacientes no tratados, gracias a biopsias repetidas, se vio que había una progresión a lo largo del tiempo, evidenciable por *aumento progresivo del grado de desdiferenciación y desviación a la aneuploidía y heterogeneidad celular* a razón de 16 % de los casos al año.

*La ploidía se correlaciona con el grado de diferenciación.*

Comparando casos de igual estadio, grado y ploidía, la supervivencia fue significativamente *mayor en los no tratados que en los tratados con hormonas*, debido a que se eliminaba o quedaba latente la población diploide hormono-dependiente y prevalecía la tetraploide y aneuploide hormono-independiente. Además, la eliminación del efecto androgénico retrasaba la progresión de diploides a tetraploides y aneuploides.

No es que no se deban tratar los pacientes hormonalmente, sino de no aplicarla desde el primer momento y en todos los casos. En el carcinoma de próstata la desdiferenciación y metastatización se correlacionan con el volumen tumoral y con las anomalías en la cantidad de DNA. Tumores con menos de 2 cm<sup>3</sup> presentan tetraploidía en el 22 % y aneuploidía en el 1 %; la tetraploidía y aneuploidía van aumentando hasta superar más de la mitad en los tumores de 4 cm<sup>3</sup>. Sugiere Tribukait que posiblemente convenga una vigilancia clínica y estudiar el DNA, *comenzando la terapia hormonal cuando los tumores lleguen a los 3,5 cm<sup>3</sup>.*

La **tabla VI** resume las características biomoleculares y citogenéticas del adenocarcinoma de la próstata y algunos de los encontrados en la hipertrofia prostática benigna.

TABLA VI

Adenocarcinoma de la próstata

---

CARACTERÍSTICAS BIOMOLECULARES Y CITOGENÉTICAS

A. *Biomoleculares*

FGF-1 (ácido) y FGF-2 (básico):

- Estímulo del crecimiento de la hipertrofia prostática benigna (*HPB*) y del adenocarcinoma de próstata (*ACP*). En el *ACP* es también factor angiogénico.

Factor mitogénico FGF-2-símil de la *HPB*.

FGF-3 sumado a promotores tipo LTR de MMTV:

- Estímulo del crecimiento de la *HPB*.

R-EGF + EGF + TGF $\alpha$

- Complejo de crecimiento autocrino y paracrino. Indispensable en los tumores de crecimiento lento, pero no indispensable en los de crecimiento rápido.

R-EGF fijador de heparina (receptor muy activo de EGF y TGF $\alpha$ ):

- Interviene en la transformación celular.

TGAB de las células mesenquimatosas del estroma tumoral:

- Facilita la acción de *c-ras* y *c-myc*.
- Existe en el *ACP* dependiente de los andrógenos.
- Desaparece al progresar el *ACP* a hormono-independiente.

PDGF-1 y PDGF-2: producidos por las células cancerosas, las cuales carecen de receptor de PDGF:

- Estimulan las células de la matriz extracelular.

*C-ras*: existe en el 10 % de los *ACP*:

- Relacionado con la tendencia a la indiferenciación.

Gen supresor Rb1: delección o mutación.

B. *Citogenéticas*

Ploidía celular:

- Relación con el grado de diferenciación.
- EL *ACP* progresa de diploide a tetraploide y aneuploide, con crecimiento más rápido y mayor resistencia a los fármacos anticancerosos.

Alteraciones cromosómicas:

- pérdidas en 1, 2, 5 e Y;
  - ganancias en 7, 14, 20 y 22; reordenamientos en 2q, 7q y 10q.
-

## 5. CANCER DE LOS ORGANOS GENITALES

### A) CLASIFICACIÓN

A.1) *Cáncer de los testículos*. En los testículos se pueden distinguir los siguientes tipos de tumores: a) *Tumores de células germinales*, que son el 90 % de las neoplasias testiculares. Comprenden los siguientes tipos: a.1) seminoma, que es el más frecuente; es diferenciado en el 90 % de los casos, con las variedades simple y espermatocítico, e indiferenciado o anaplásico, en 10 % de los casos. En su etiopatogenia interviene la predisposición genética; la criptorquidia aumenta 30 veces la incidencia; a.2) teratocarcinoma, segundo en frecuencia; a.3) carcinoma embrionario, tercero en frecuencia; a.4) coriocarcinoma, de tejidos extraembrionarios, muy poco frecuente. b) *Tumores de células no germinales*, que forman el 7 %. c) *Tumores ductales*, que son el 1 %. d) *Tumores del estroma fibrovascular*, 1 %. e) *Tumores de la cápsula*, 1 %; f) *Tumores de células intersticiales endocrinas*, muy raros, que pueden ser carcinomas de las células de Leydig o carcinomas de las células de Sertoli. g) *Tumores del estroma o sarcomas*, que son excepcionales.

A.2) *Cáncer de pene*. No es un cáncer frecuente. Representa el 2,5 % de los cánceres génito-uritarios.

a) Casi siempre se trata de carcinoma de células escamosas. En su etiopatogenia influye la mala higiene del órgano, que alberga microorganismos y virus. Predispone la fimosis y la presencia de lesiones precancerosas. En cuanto a su incidencia, es excepcional en los judíos, raro en los árabes, se observa en el 2 % de los norteamericanos, 1,3 % de los británicos, 5 % de los europeos, 10 % entre los hindúes no musulmanes, raro entre los hindúes mahometanos, y 18 % de los chinos. La incidencia tiene relación con la higiene, la edad y el número de varones sometidos a la circuncisión, porque ésta disminuye el acúmulo de esmegma y microbios.

b) Se ven algunos casos, raros, de melanoma maligno.

c) Tumores del estroma, muy raros, pueden ser leiomioma, fibrosarcoma, sarcoma de Kaposi o endoteliosarcoma.

Se consideran lesiones precancerosas del pene la eritroplasia de Queyrat, la leucoplasia y la balanitis xerótica obliterante.

A.3) *Cáncer del epidídimo*. Son neoplasias muy raras. a) En general se trata de algún tipo de *sarcoma*, que puede ser leiomioma, fibrosarcoma, rhabdomioma o sarcomas indiferenciados. b) *Carcinomas*, tumores epiteliales mucho menos frecuentes que los conjuntivos.

A.4) *Cáncer de las vesículas seminales*. Muy raro. Se trata de adenocarcinomas, que pueden ser de tipo papilar o anaplásico.

A.5) *Cáncer del escroto*. Prácticamente sólo se ven carcinomas de células escamosas. Etiopatogénicamente intervienen aceite mineral, alquitranes y hollín. Casi siempre se asocia a estado socioeconómico bajo y falta de higiene.

ne. En los que trabajan con aceite mineral se pueden producir neoplasias primarias en escroto, aparato digestivo y aparato respiratorio.

## B) TUMORES DE CÉLULAS GERMINALES MASCULINAS

Chaganti *et al.* (1993) han revisado el tema de los tumores de células germinales masculinos.

Los tumores de células germinales masculinos se producen en las células germinales premeióticas. Los hay gonadales y extragonadales, sobre todo mediastínicos y retroperitoneales. Pueden ser seminomas o tumores no seminomatosos.

Entre los tumores no seminomatosos están los carcinomas embrionarios.

Los seminomas y tumores no seminomatosos de testículo se forman a partir de carcinomas «in situ». Los tumores de células germinales extragonadales se originan en células germinales primordiales desplazadas durante el desarrollo embrionario. Los tumores no seminomatosos son frecuentemente de tipo XXY, y se supone que hay una poliploidización temprana en la carcinogénesis, apreciable desde la fase «in situ» (Vos *et al.*, 1990). De Jong *et al.* (1990) piensa que existe desde la fase precancerosa y que, posteriormente, la transformación es inducida por la aparición de i(12p); además influye en la progresión al sumarse la aparición de nuevas alteraciones cromosómicas.

Atkin y Baker (1982) describieron por primera vez la existencia un isocromosoma del brazo corto del cromosoma 12, i(12p) en los tumores testiculares. En los tumores de células germinales se ha encontrado un i(12p) hasta en el 80 % de los casos (Mukherjee *et al.*, 1991; de Jong *et al.*, 1990). Existe en tumores gonadales y extragonadales de cualquier tipo histológico.

En los tumores de células germinales los isocromosomas se producen por la división anormal del centrómero de una célula diploide que degüella y separa los dos brazos del cromosoma mitótico en lugar de separar las cromátidas longitudinalmente. Entonces se producen dos nuevos cromosomas metacéntricos que tienen dos brazos idénticos. En otros tipos de tumores, el isocromosoma 12p se forma por intercambio de cromátidas.

En caso de la formación de isocromosomas se conserva la heterocigotidad, pero el número de copias de cada gen alelo es distinto, así como su procedencia, paterna o materna, como se puede ver en la **figura 4**.

Rodríguez *et al.* (1992) describieron anomalías citogenéticas en su estudio de 24 tumores germinales.

Además de técnicas citogenéticas, las alteraciones de 12p y 12q se pueden también determinar mediante «*Southern blotting*», hibridando el DNA tumoral con sondas de zonas génicas determinadas. El aumento de la cantidad de DNA de 12p es muchas veces debido a la presencia de un i(12p) (Dmitrovsky *et al.*, 1990; Samaniego *et al.*, 1990).

Mediante «*Southern blotting*» se ha visto que el i12p de tumores no seminomatosos tiene una amplificación de c-Ki-ras-2 sin mutación (Dmitrovsky

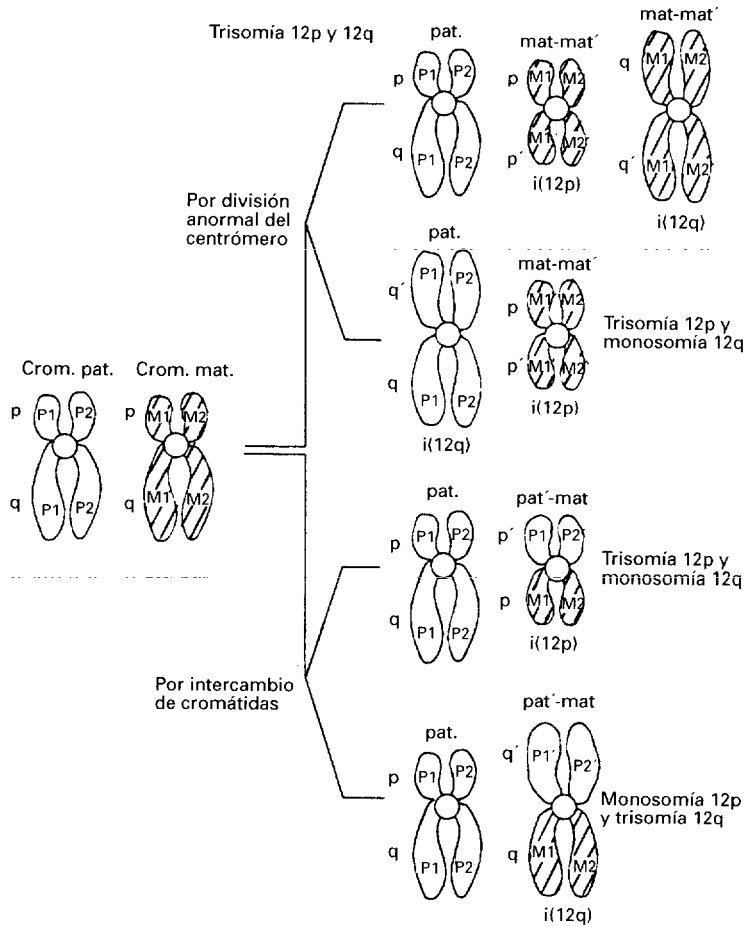


Fig. 4.—Formación del isocromosoma 12p (*i(12p)*).

*et al.*, 1990). Samaniego *et al.* (1990) describieron anomalías del cromosoma 12 y amplificación génica del mismo.

La detección de *i(12p)* es útil cuando hay diagnósticos dudosos, como en los tumores indiferenciados de células germinales extragonadales. El diagnóstico permite el tratamiento adecuado.

Un método más es la fluorescencia de hibridación «*in situ*», en el que una sonda biotinilada se hibrida con cromosomas metafásicos o núcleos celulares, se incuba en un medio que contenga avidina-fluoresceína y anticuerpo antiavidina de cabra biotinilado, se tiñe con un fluorocromo adecuado y se observa la fluorescencia al microscopio. Utilizando sondas de DNA de centrómero de cromosoma 12 se pueden observar las variaciones cuantitativas

por los cambios de tamaño de los centrómeros de i(12p) en cromosomas metafásicos e interfásicos (Mukherjee *et al.*, 1991; Rodríguez *et al.*, 1992a).

Se ha descrito aneuploidía del cromosoma 12 en células interfásicas mediante fluorescencia de hibridación «in situ» (Rodríguez *et al.*, 1992).

La aplicación de la fluorescencia de hibridación «in situ» puede utilizar DNA de un brazo cromosómico, p. ej. 12p, o de un cromosoma entero. Esto permite observar la fluorescencia de todas las zonas donde hay material 12p. Se ha visto que en ausencia de i(12p) puede haber DNA de 12p en cromosomas diferentes que el 12. El método ha sido desarrollado por Rodríguez *et al.* (1993).

*El aumento de material del cromosoma 12p contribuye al diagnóstico y se correlaciona con menor supervivencia* (Bosl *et al.*, 1989).

Hay deleciones de 12q en 15 % de los tumores de células germinales, que pueden coincidir o no con i(12p) (Rodríguez *et al.*, 1992b; Samaniego *et al.*, 1990). Estas deleciones eliminan genes supresores. Se ha demostrado pérdida de heterozigosidad en 12q13 y 12q22, asociada a falta de actividad supresora (Murty *et al.*, 1992).

Se han registrado con frecuencia roturas de los cromosomas 1, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 16, 17 y 21, que algunos asocian a tipo histológico y características clínicas (Rodríguez *et al.*, 1992b). Así, hay roturas de 1p36, 6q21, 7q11.2, 11, 12q11-13, 16, 17 y 21.

La presencia de *regiones de tinción homogénea, regiones con bandas aberrantes y cromosomas dobles diminutos (dmin)* son generalmente manifestaciones de amplificación. En general se trata de *tumores resistentes a los quimioterápicos anticancerosos* (Samaniego *et al.*, 1990). Contienen genes nuevos no caracterizados implicados en la patogenia molecular y progresión de los cánceres de células germinales.

Otros tumores, entre ellos los mediastínicos, son diploides, aunque existen translocaciones y deleciones génicas, pero la transformación es decidida por i(12p).

## BIBLIOGRAFIA

- Anglard, P.; Tory, K.; Brauch, H.; Weiss, G. H.; Latif, F.; Merino, M. J.; Lerman, M. I.; Zbar, B.; Linehan, W. M.: «Molecular analysis of genetic changes in the origin and development of renal cell carcinoma», *Cancer Res.*, 1991; 51:1071-1077.
- Asamoto, M.; Hasegawa, R.; Masujo, T. *et al.*: «Immunohistochemical analysis of c-erb-B-2 oncogene product and epidermal growth factor receptor expression in human urinary bladder carcinomas». *Acta Pathol Jpn*, 1990; 40:322-326.
- Atkin, N. B.; Baker, M. C.: «Specific chromosome change, i(12p), in testicular tumours». *Lancet*, 1982; 2:1349.
- Atkin, N. B.; Baker, M. C.: «Chromosome study of five cancers of the prostate». *Hum Genet*, 1985; 70:359-364.
- Atkin, N. B.; Baker, M. C.: «Cytogenetic study of ten carcinomas of the bladder: involvement of chromosomes 1 and 11». *Cancer Genet Cytogenet*, 1985; 15:253-268.

- Babian, R. J.; Johnson, D. E.; Llamas, L. *et al.*: «Metastases from transitional cell carcinoma of the urinary bladder». *Urology*, 1980; 166:142-144.
- Babu, V. R.; Lutz, M. D.; Miles, B. J. *et al.*: «Tumor behavior in transitional cell carcinoma of the bladder in relation to chromosomal markers and histopathology». *Cancer Res.*, 1987; 47:6800-6805.
- Badalament, R. A.; Fair, W. R.; Whitmore, W. F. Jr. *et al.*: «The relative value of cytometry and cytology in the management of bladder cancer: the Memorial Sloan Kettering Cancer Center experience». *Semin Urol*, 1988; 6:22-30.
- Baird, P. N.; Groves, N.; Haber, D. A.; Housman, D. E.; Cowell, J. K.: «Identification of mutations in the WT1 gene in tumors from patients with the WAGR syndrome». *Oncogene*, 1992a; 7:2141-2149.
- Baird, P. N.; Santos, A.; Groves, N.; Jaresic, Z.; Cowell, J. K.: «Constitutional mutations in the WT1 gene in patients with Denys-Drash syndrome». *Hum Mol Genet*, 1992b; 1:301-305.
- Banner, B. F.; Ernstoff, M. S.; Bahnson, P. R.; Titus-Ernstoff, L.; Taylor, S. R.: «Quantitative DNA analysis of small renal cortical neoplasms». *Hum Pathol*, 1991; 22:247-253.
- Bargmann, C. I.; Hung, M.-C.; Weinberg, R. A.: «The *neu* oncogene encodes an epidermal growth factor receptor-related protein». *Nature*, 1986; 319:226-230.
- Beckwith, J. B.: «Precursor lesions of Wilms tumor: clinical and biological implications». *Medical and Pediatric Oncology*, 1993; 21:158-168.
- Belmunt Molins, J.; Cerdón-Cardo, C.: «Actualización de los factores pronósticos en el carcinoma vesical». *Medicina Clínica*, 1991; 97:749-754.
- Berger, M. S.: «Evaluation of epidermal growth factor receptors in bladder tumours». *Br. J. Cancer*, 1987; 56:533-537.
- Berger, M. S.; Greenfield, C.; Gullick, W. J.; Haley, J.; Downward, J.; Neal, D. E.; Harris, A. L.; Waterfield, M. D.: «Evaluation of epidermal growth factor receptors in bladder tumours». *Br. J. Cancer*, 1987; 56:533-537.
- Berrettoni, B. A.; Carter, J. R.: «Mechanisms of cancer metastasis to bone». *J Bone Joint Surg*, 1986; 68A:308-312.
- Böcking, A.; Chatelain, R.; Orthen, U.; Gien, G.; von Kalckreuth, G.; Jocham, D.; Wohltmann, D.: «DNA-grading of prostatic carcinoma: prognostic validity and reproducibility». *Anticancer Res.*, 1988; 8:129-136.
- Bookstein, R.; Shew, H.; Chen, P. *et al.*: «Suppression of tumorigenicity of human prostate carcinoma cells by replacing a mutated RB gene». *Science*, 1990; 247:712-715.
- Borland, R. N.; Brendler, C. B.; Isaacs, W. B.: «Molecular biology of bladder cancer». *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 1992; 6:31-39.
- Bosl, G. J.; Dmitrovsky, E.; Reuter, V. E.; *et al.*: «Isochromosome of chromosome 12p: a clinically useful chromosomal marker for male germ cell tumors». *J Natl Cancer Inst*, 1989; 18:1874-1878.
- Brothman, A. R.; Lesho, L. J.; Somers, K. D. *et al.*: «Cytogenetic analysis of four primary prostatic cultures». *Cancer Genet Cytogenet*, 1989; 37:241-248.
- Brothman, A. R.; Peehl, D. M.; Patel, A. M. *et al.*: «Frequency and pattern of karyotypic abnormalities in human prostate cancer». *Cancer Res.*, 1990; 50:3795-3803.
- Brown, K. W.; Gardner, A.; Williams, J. C.; Mott, M. G.; McDermott, A.; Maitland, N. J.: «Paternal origin of 11p15 duplications in the Beckwith-Wiedemann syndrome. A new case and review of the literature». *Cancer Genet Cytogenet*, 1992; 58:66-70.



- Brown, K. W.; Shaw, A. P. W.; Poirier, V.; Tyler, S. J.; Berry, P. J.; Mott, M. G.; Maitland, N. J.: «Loss of chromosome 11p alleles in cultured cells derived from Wilms' tumours». *Br J Cancer*, 1989; 60:25-29.
- Brown, K. W.; Watson, J. E.; Poirier, V.; Mott, M. G.; Berry, P. J.; Maitland, N. J.: «Inactivation of the remaining allele of the WT1 gene in a Wilms tumor from a WAGR patient». *Oncogene*, 1992; 7:763-768.
- Brown, K. W.; Williams, J. C.; Maitland, N. J.; Mott, M. G.: «Genomic imprinting and the Beckwith-Wiedemann syndrome». *Am J Hum Genet*, 1990; 46:1000-1001.
- Brown, K. W.; Wilmore, H. P.; Watson, J. E.; Mott, M. G.; Berry, P. J.; Maitland, N. J.: «Low frequency of mutations in the WT1 coding region in Wilms' tumor». *Genes, Chromosomes and Cancer*, 1993; 8:74-79.
- Buchkovich, K.; Duffy, L. A.; Harlow, E.: «The retinoblastoma protein is phosphorylated during specific phases of the cell cycle». *Cell*, 1989; 58:1097-1105.
- Burger, H. R.: «Morphological and cytogenetic aspects of renal cell carcinoma». *Urologia Internationalis*, 1991; 47:186-193.
- Cairns, P.; Proctor, A. J.; Knowles, M. A.: «Loss of heterozygosity at the RB locus is frequent and correlates with muscle invasion in bladder carcinoma». *Oncogene*, 1991; 6:2305-2309.
- Call, K. M.; Glaser, T.; Ito, C. Y.; Buckler, A. J.; Pelletier, J.; Haber, D. A.; Rose, E. A.; Krae, A.; Yeager, H.; Lewis, W. H.: «Isolation and characterization of a zinc finger polypeptide gene at the human chromosome 11 Wilms' tumor locus». *Cell*, 1990; 60:509-520.
- Camps, J. L.; Chang, S. M.; Hsu, T. C. *et al.*: «Fibroblast mediated acceleration of human epithelial tumour growth *in vivo*». *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990; 87:75-79.
- Chackal-Roy, M.; Niemeyer, C.; Moore, M. *et al.*: «Stimulation of human prostatic carcinoma cell growth factors present in human bone marrow». *J Clin Invest*, 1989; 84:43-50.
- Chaganti, R. S.; Rodriguez, E.; Bosl, G. J.: «Cytogenetics of male germ-cell tumors». *Urol Clin North Amer*, 1993; 20:55-66.
- Cohen, H. T.; Sukhatme, V. P.: «Molecular biology in nephrology: an overview with emphasis on the study of renal cancer». *Seminars in Nephrology*, 1992; 12:495-505.
- Cohen, S.: «The epidermal growth factor». *Cancer*, 1983; 51:1787-1791.
- Connolly, J. M.; Rose, D. P.: «Secretion of epidermal growth factor and related polypeptides by the DU 145 human prostate cancer cell line». *Prostate*, 1989; 15:177-186.
- Coon, J. S.; Landay, A.; Weinstein, R. S.: «Advances in flow cytometry for diagnostic pathology». *Lab Invest*, 1987; 57:453-479.
- Cordon-Cardo, C.; Reuter, V. E.; Lloyd, K. O.; *et al.*: «Blood group-related antigens in human urothelium: enhanced expression of precursor, Le<sup>x</sup>, and Le<sup>y</sup>determinants in urothelial carcinoma». *Cancer Res*, 1988; 48:4113-41120.
- Cowan, B. E.; Shortliffe, L. M.: «Pediatric genitourinary tumors». *Current Opinion in Oncology*, 1992; 4:455-462.
- Cowan, K. H.: «Molecular biology of drug resistance». (Meeting abstract.) *Proc Ann Meeting Amer Assoc for Cancer Research*, 1992; 33:A607.
- Cowell, J. K.; Wadey, R. B.; Haber, D. A.; Call, K. M.; Housman, D. E.; Pritchard, J.: «Structural rearrangements of the WT1 gene in Wilms' tumour cells». *Oncogene*, 1991; 6:595-599.
- Czerniak, B.; Deitch, D.; Simmons, H. *et al.*: «Ha-ras gene codon 12 mutation and DNA ploidy in urinary bladder carcinoma». *Br J Cancer*, 1990; 62:762-763.

- Davies, P.; Eaton, C. L.: «Binding of epidermal growth factor by human normal, hyper-trophic and carcinomatous prostate». *Prostate*, 1989; 14:123-132.
- De Jong, B.; Oosterhuis, J. W.; Castedo, S. M. J. *et al.*: «Pathogenesis of adult testicular germ cell tumors: a cytogenetic model». *Cancer Genet Cytogenet*, 1990; 48:143-167.
- De Riese, W.; Allhoff, E.; Kirchner, H.; Stief, C. G.; Atzpodien, J.; Maschek, H.; Jonas, U.: «Complete spontaneous regression in metastatic renal cell carcinoma an update and review». *World J Urol*, 1991; 9:184-191.
- De Bolla, A. R.; Shave, R. M.; Fagg, S. L. *et al.*: «The influence of retinoic acid receptor (RAR) status of bladder tumours on the course of the disease». *Br J Urol*, 1985; 57:676-679.
- De Caprio, J. A.; Ludlow, J. W.; Lynch, D.; Jurukaw, Y.; Griffin, J.; Piwnia-Worms, H.; Huang, C.; Livingston, D. M.: «The product of the retinoblastoma susceptibility gene has properties of a cell cycle regulatory element». *Cell*, 1989; 58:1085-1095.
- Di Fiore, P. P.; Segatto, O.; Taylor, W. G.; Aaronson, S. A.; Pierce, J. H.: «EGF receptor and *erbB*-2 tyrosine kinase domains confer cell specificity for mitogenic signalling». *Science*, 1990; 248:79.
- Dmitrovsky, E.; Murty, V. V. S.; Moy, D. *et al.*: «Isochromosome 12p in non-semi-noma cell lines; kariologic amplification of c-Ki-ras 2 without point-mutational activation». *Oncogene*, 1990; 5:543-548.
- Donehower, L. A.; Bradley, A.: «The tumor supressor p53». *Biochim Biophys Acta*, 1993; 1155:181-205.
- Dowdy, S. F.; Fasching, C. L.; Araujo, D.; Lai, K. M.; Livanos, E.; Weissman, B. E.; Stanbridge, E. J.: «Suppression of tumorigenicity in Wilms tumor by the p15.5-p14 region of chromosome 11». *Science*, 1991; 254:293-295.
- Downward, J.; Yarden, Y.; Mayes, E.; Scrace, G.; Totty, N.; Stockwell, P.; Ullrich, A.; Schlessinger, J.; Waterfield, M. D.: «Close similarity of epidermal growth factor receptor and v-*erbB* oncogene protein sequences». *Nature*, 1984; 307:521-527.
- Drummond, I. A.; Madden, S. L.; Rohwer-Nutter, P.; Bell, G. I.; Sukhatme, V. P.; Rauscher, F. J.: «Repression of the insulin-like growth factor II gene by the Wilms tumor suppressor WT1». *Science*, 1992; 257:674-678.
- Dunn, T. L.; Seymour, G. J.; Gardiner, R. A.; Strutton, G. M.; Lavin, M. F.: «Immunocytochemical demonstration of p21<sup>ras</sup> in normal and transitional cell carcinoma urothelium». *J Pathol*, 1988; 156:59-65.
- Eaton, C. L.; Davies, P.; Phillip, M. E. A.: «Growth factor involvement and oncogene expression in prostatic tumour». *J Steroid Biochem*, 1988; 30:341-345.
- Engstrom, W.; Lindstrom, S.; Schonfield, P.: «Wiedemann-Beckwith syndrome». *Europ J Paediatrics*, 1988; 147:450-457.
- Everson, T. C.; Cole, W. H.: «Spontaneous regression of cancer». *Saunders, Philadelphia*, 1966.
- Fearon, E. R.; Feinberg, A. P.; Hamilton, S. H. *et al.*: «Loss of genes on the short arm of chromosome 11 in bladder cancer». *Nature*, 1985; 318:377-380.
- Fichtner, J.; Shortliffe, L. M. D.: «Pediatric genitourinary tumors». *Current Opinions in Oncology*, 1993; 5:530-537.
- Fidler, I. J.; Naito, S.; Pathak, S.: «Orthotopic implantation is essential for the selection, growth and metastasis of human renal cell cancer in nude mice». *Cancer Metastasis Rev*, 1990; 9:149-165.
- Flanigan, R. C.: «Influence of nephrectomy in stage IV renal cell carcinoma on survival and metastatic regression». *Urol Clin North Amer*, 1987; 14:757-762.

- Fojo, A. T.; Shen, D. W.; Mickley, L. A.; Pastan, J.; Goltesman, M. M.: «Intrinsic drug resistance in human kidney cancer is associated with expression of human multi-drug-resistance gene». *J Clin Oncol*, 1987; 5:1922.
- Fordham, M.; Burdget, A.; Matthews, J.; Williams, G.; Cooke, T.: «Prostatic carcinoma cell DNA content measured by flow cytometry and its relation to clinical outcome». *Br J Surg*, 1986; 73:400-403.
- Fradet, Y.: «Biological markers of prognosis in invasive bladder cancer». *Semin Oncol*, 1990; 17:533-543.
- Fradet, Y.: «Molecular and immunologic approaches in the management of bladder cancer». *Urologic Clinics of North America*, 1991; 18:515-524.
- Fradet, Y.; Islam, N.; Boucher, L. *et al.*: «Polymorphic expression of a human superficial bladder tumor antigen defined by mouse monoclonal antibodies». *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987; 84:7227-7231.
- Fradet, Y.; La Rue, H.; Parent-Vaugeois, C. *et al.*: «Monoclonal antibody against a tumor-associated sialoglycoprotein of superficial papillary bladder tumors and cervical carcinoma». *Int J Cancer*, 1990; 46:990-997.
- Fujimoto, K.; Kakizoe, T.; Terada, M.; Okajima, E.: «p53 gene mutation in urinary tract tumors». (Meeting abstract.) *Annals of Oncology*, 1992; 3(Suppl. 5):10.
- Fujimoto, K.; Yamada, Y.; Okajima, E.; Kakizoe, T.; Sasaki, H.; Sugimura, T.; Terada, M.: «Frequent association of p53 gene mutation in invasive bladder cancer». *Cancer Res.*, 199; 52:1393-1398.
- Gannon, J. V.; Greaves, R.; Lane, D. P.: «Activating mutations in p53 produce a common conformational effect: a monoclonal antibody specific for the mutant form». *EMBO J*, 1990; 9:1595-1602.
- Gardiner, R. A.; Walsh, M. D.; Rahman, S.; Samaratunga, M. L. T. H.; Seymour, G. J.; Lavin, M. F.: «Immunohistological expression of p53 in primary pT1 transitional cell bladder cancer in relation to tumour progression». *Brit J Urol*, 1994; 73:526-532.
- Gardiner, R. A.; Samaratunga, M. L. T. H.; Walsh, M. D.; Seymour, G. J.; Lavin, M. F.: «An immunohistological demonstration of c-erbB-2 oncoprotein expression in primary urothelial bladder cancer». *Urol Res. (1992)*; 20:117-120.
- Gelmann, E. P.: «Oncogenes and growth factors in prostate cancer». *J Natl Inst Health Res.*, 1991; 3:62-64.
- Gerdes, J.; Schwab, U.; Lemke, H. *et al.*: «Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation». *Int J Cancer*, 1983; 31:13-20.
- Gessler, M.; Poustka, A.; Cavenee, W.; Neve, R. L.; Orkin, S. H.; Bruns, G. A.: «Homozygous deletion in Wilms tumours of a zinc-finger gene identified by chromosome jumping». *Nature*, 1990; 343:774-778.
- Gibas, Z.; Prout, G. R. Jr.; Connolly, J. G.; Pontes, J. E.; Sandberg, A. A.: «Non-random chromosomal changes in transitional cell carcinoma of the bladder». *Cancer Res.*, 1984; 44:1257-1264.
- Gibas, Z.; Prout, G. R.; Pontes, J. E. *et al.*: «A possible specific chromosome change in transitional cell carcinoma of the bladder». *Cancer Genet Cytogenet*, 1986; 19:229-238.
- Gibbs, J. B.; Sigal, I. S.; Scolnick, E. M.: «Biochemical properties of normal and oncogenic ras p21». *Trends Biochem*, 1985; 10:350-353.
- Gleave, M.; Hsieh, J. T.; Gao, C. *et al.*: «Acceleration of human prostate cancer growth *in vivo* by factors produced by prostate and bone fibroblasts». *Cancer Res.*, 1991a; 51:3573-3761.

- Gleave, M.; Hsieh, J. T.; Gao, C. *et al.*: «Prostate and bone fibroblast induce human prostate cancer growth *in vivo*: implication for bidirectional stromal-epithelial interaction in prostate carcinoma growth and metastasis». *J Urol*, 1991b; 145:213A.
- Gomella, L. G.; Sargent, E. R.; Linehan, W. M. *et al.*: «Transforming growth factor beta inhibits the growth of renal cell carcinoma *in vitro*». *J Urol*, 1989a; 141:1240-1244.
- Gomella, L. G.; Sargent, E. R.; Wade, T. P. *et al.*: «Expression of transforming growth factor alpha in normal human adult kidney and enhanced expression of transforming growth factors alpha and beta 1 in renal cell carcinoma». *Cancer Res.*, 1989b; 49:6972-6975.
- Goodrich, D. W.; Wang, N. P.; Qian, Y. M.; Lee, E.; Lee, W. H.: «The retinoblastoma gene product regulates progression through the G1 phase of the cell cycle». *Cell*, 1991; 67:293-302.
- Green, M. R.: «When the products of oncogenes and anti-oncogenes meet». *Cell*, 1989; 56:1-3.
- Gregory, H.; Willshire, I. R.; Kavanagh, J. P. *et al.*: «Urogastrone-epidermal growth factor concentrations in prostatic fluids of normal individuals and patients with benign prostatic hypertrophy». *Clin Sci*, 1986; 70:359-363.
- Guirguis, R.; Schiffmann, E.; Liu, B. *et al.*: «Detection of autocrine motility factor in urine as a marker of bladder cancer». *J Natl Cancer Inst.*, 1988; 80:1203-1211.
- Guthrie, P. D.; Freeman, M. R.; Liao, S. *et al.*: «Regulation of gene expression in rat prostate by androgen and beta-adrenergic receptor pathways». *Mol Endocrinol*, 1990; 4:1343-1353.
- Haber, D. A.; Buckler, A. J.: «WT1: a novel tumor suppressor gene inactivated in Wilms tumor». *New Biol*, 1992; 4:97-106.
- Haber, D. A.; Housman DE. «Role of the WT1 gene in Wilms' tumour». *Cancer Surveys*, 1992; 12:105-117.
- Haber, D. A.; Sohn, R. Z.; Buckler, A. J.; Pelletier, J.; Call, K. M.; Housman, D. E.: «Alternative splicing and genomic structure of the Wilms tumor gene WT1». *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991; 88:9618-9622.
- Habib, F. K.: «Peptide growth factors: a new frontier in prostate cancer». *Proc Clin Biol Res.*, 1990; 357:107-115.
- Hall, J. G.: «Genomic imprinting: review and relevance to human disease». *Am J Hum Genet*, 1990; 46:857-873.
- Harris, S. E.; Rong, Z.; Harris, M. A. *et al.*: «Androgen receptor in human prostate carcinoma LNCAP/ADEP cells contains a mutation which alters the specificity of the steroid-dependent transcriptional activation region». (Abstract) *The Endocrine Society 72nd Annual Meeting Program and Abstracts*, 1990, p. 275.
- Heldin, C.-H.; Westermark, B.: «Growth factors: mechanism of action and relation to oncogenes». *Cell*, 1984; 37:9-20.
- Hollstein, M.; Sidransky, D.; Vogelstein, B.; Harris, C. C.: «p53 mutations in human cancer». *Science*, 1991; 253:49-53.
- Hopman, A. H. N.; Moesker, O.; Smeets, A. W. G. B.; Pauwels, R. P. E.; Vooijs, G. P.; Ramaekers, F. C. C.: «Numerical chromosome 1, 7, 9 and 11 aberrations in bladder cancer detected by *in situ* hybridization». *Cancer Res.*, 1991; 51:644-651.
- Hopmann, A. H. N.; Ramaeckers, F. C. S.; Raap, A. K.; Beck, J. L. M.; Devilee, P.; van der Ploeg, M.; Vooijs, G. P.: «*In situ* hybridization as a tool of study numerical

- chromosome aberrations in solid bladder tumors». *Histochemistry*, 1988; 89: 307-316.
- Indulski, J. A.; Lutz, W.: «Biological monitoring of risk of bladder cancer in persons occupationally exposed to aromatic amines». *Polish J Occupational Medicine and Environmental Health*, 1992; 5:143-151.
- Ishikawa, J.; Masda, S.; Sugiyama, T. *et al.*: «EGF stimulates anchorage-independent growth of a human bladder carcinoma cell line (KU1) with an amplified and over-expressed EGF receptor gene». *Int J Cancer*, 1989; 44:1000-1004.
- Jones, E.; McNeal, J.; Bruchovsky, N.; de Jong, G.: «DNA content in prostatic adenocarcinoma. A flow cytometry study of the predictive value of aneuploidy for tumor volume, percentage Gleason grade 4 and 5, and lymph node metastases». *Cancer*, 1990; 66:752-757.
- Kaneko, Y.; Homma, C.; Maseki, N.; Sakurai, M.; Hata, J.: «Correlation of chromosome abnormalities with histological and clinical features in Wilms and other childhood renal tumors». *Cancer Res.*, 1991; 51:5937-5942.
- Kastan, M. B.; Onyekwere, O.; Sidransky, D.; Vogelstein, B.; Craig, R. W.: «Participation of p53 protein in the cellular response to DNA damage». *Cancer Res.*, 1991; 51:6304-6311.
- Kelly, K.; Cochran, B. H.; Stiles, C. D.; Leder, P.: «Cell specific regulation of the c-myc gene by lymphocyte mitogens and platelet derived growth factor». *Cell*, 1983; 35:603-610.
- Kikuchi, H.; Akasaka, Y.; Nagai, T.; Umezawa, A.; Iri, H.; Kato, S.; Hata, J.: «Genomic changes in the WT-gen (WT1) in Wilms' tumors and their correlation with histology». *Am J Pathol*, 1992; 140:781-786.
- Kimball, E. S.; Bohn, W. H.; Cockley, K. D.; Warren, T. C.; Sherwin, S. A.: «Distinct high-performance liquid chromatography pattern of transforming growth factor activity in urine of cancer patients as compared with that of normal individuals». *Cancer Res.*, 1984; 44:3613-3619.
- Klein, E. A.; Chaganti, K. S.: «Genetics of transitional cell carcinoma». *Seminars in Surgical Oncology*, 1992; 8:260-266.
- Knowles, M. A.; Cairns, J. P.; Coombs, L. M.; Proctor, A. J.: «Molecular biology of bladder cancer». (Meeting abstract.) *Joint Winter Meeting of the Brit Assoc Cancer Res., Assoc Cancer Physicians, and Royal Soc Med*, 1990; Nov. 29-30., 1990, London, p 10.
- Knudson, A. G Jr.; Strong, L. C.: «Mutation and Cancer: a model for Wilms' tumor of the kidney». *J Natl Cancer Inst*, 1972; 48:313-324.
- Koo, H. P.; Hensle, T. W.: «Molecular biology of Wilms' tumor». *Urologic Clinics of North America*, 1993; 20:323-331.
- Koss, L. G.; Czerniak, B.: «Image analysis and flow cytometry of tumors of prostate and bladder; with a comment on molecular biology of urothelial tumors». *Monographs in Pathology*, 1992; núm. 34:112-128.
- Koufos, A.; Grundy, P.; Morgan, K.; Aleck, K. A.; Hadro, T.; Lampkin, B. C.; Kalbakji, A. *et al.*: «Familial Wiedemann-Beckwith syndrome as a second Wilms tumor locus both map to 11p15.5». *Am J Hum Genet*, 1989; 44:711-719.
- Kovacs, G.; Emanuel, A.; Neuman, H. P. H.; King, H.-F.: «Cytogenetics of renal cell carcinomas associated with von Hippel-Lindau disease». *Genes, Chromosomes and Cancer*, 1991; 3:256-262.
- Kovacs, G.; Frisch, S.: «Clonal chromosome abnormalities in tumour cells from patients with sporadic renal cell carcinoma». *Cancer Res.*, 1989; 49:651-659.

- Kovacs, G.; Fuzesi, L.; Emanuel, A.; Kung, H.-F.: «Cytogenetics of papillary renal cell tumors». *Genes, Chromosomes and Cancer*, 1991; 3:249-255.
- Kovacs, G.; Kung, H.-F.: «Non-homologous chromatid exchange in hereditary and sporadic renal cell carcinomas». *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991; 88:194-198.
- Lane, D.: «p53, guardian of the genome». *Nature*, 1992; 358:15-16.
- Lawson, R. K.: «Growth factor and benign prostatic hyperplasia». *World J Urol*, 1989; 6:189-193.
- Lee, J.; Dull, T. J.; Lax, I.; Schlessinger, J.; Ullrich, A.: «HER2 cytoplasmic domain generates normal mitogenetic and transforming signals in a chimeric receptor». *EMBO J*, 1989; 8:167-173.
- Lee, W.-H.; Bookstein, R.; Hong, F.; Young, L.-J.; Shew, J.-Y.; Lee, E. Y.-H. P.: «Human retinoblastoma susceptibility gene: cloning, identification, and sequence». *Science*, 1987; 235:1394-1399.
- Leung, H. Y.: «13: Urological malignancies». En Lemoine, N.; Neoptolemos, J.; Cooke, T. (eds.): *Cancer. A molecular approach. Blackwell Scientific Publications*, Oxford, 1944; pp. 222-234.
- Levine, A. J.; Momand, J.: «Tumor suppressor genes: the p53 and retinoblastoma sensitivity genes and gene products». *Biochim Biophys Acta*, 1990; 1032:119-136.
- Levine, A. J.; Momand, J.; Finlay, C. A.: «The p53 tumour suppressor gene». *Nature*, 1991; 351:453-456.
- Limas, C.: «Relationship of epidermal growth factor receptor detectability with the A, B, H blood group antigens. Emphasis on normal and neoplastic urothelium». *Am J Pathol*, 1991; 139:131-137.
- Liotta, I. A.: «Tumor invasion: role of the extracellular matrix. Sixth Annual Rhoads Memorial Award Lecture». *Cancer Res.*, 1986; 46:1-7.
- Little, M. H.; Prosser, J.; Condie, A.; Smith, P. J.; van Heyningen, V.; Hastie, N. D.: «Zinc finger point mutations within the WT1 gene in Wilms' tumor patients». *Proc. Natl Acad Sci USA*, 1992; 89:4791-4795.
- Ljungberg, B.; Larsson, P.; Stenling, R.; Roos, G.: «Flow cytometric deoxyribonucleic acid analysis in stage I renal cell carcinoma». *J Urol*, 1991; 146:697-699.
- Madden, S. L.; Cook, D. M.; Morris, J. F.; Gashler, A.; Sukhatme, V. P.; Rauscher, F. J.: «Transcriptional repression mediated by the WT1 Wilms tumor gene product». *Science*, 1991; 253:1550-1553.
- Maddy, S. Q.; Chisholm, G. D.; Hawkins, R. A. *et al.*: «Localization of epidermal growth factor receptors in the human prostate by biochemical and immunocytochemical methods». *J. Endocrinol*, 1987; 113:147-153.
- Maitland, N. J.; Brown, K. W.; Poirier, V.; Shaw, A. P. W.; Williams, J.: «Molecular and cellular biology of Wilms' tumour». *Anticancer Research*, 1989; 9:1417-1426.
- Mansson, P. E.; Adams, P.; Kan, M. *et al.*: «Heparin-binding growth factor gene expression and receptor characteristics in normal rat prostate and two transplantable rat prostate tumours». *Cancer Res.*, 1989; 49:2485-2494.
- Martin, T. J.; Moseley, J. M.; Gillespie, M. T.: «Parathyroid hormone-related protein: biochemistry and molecular biology». *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 1991; 26:377-395.
- Maw, M. A.; Grundy, P. E.; Millow, L. J.; Eccles, M. R.; Dunn, R. S.; Smith, P. J.; Feinberg, A. P.; Law, D. J.; Paterson, C.; Telzerow, P. E.; Callen, D. F.; Thompson, A. D.; Richards, R. I.; Reeve, A. E.: «A 3rd Wilms' tumor locus on chromosome-16q». *Cancer Res.*, 1992; 52:3094-3098.
- McKeehan, W. L.; Adams, P. S.; Fast, D.: «Different hormonal requirements for an-

- drogen-independent growth of normal and tumour epithelial cells from rat prostate». *In Vitro Cell Dev Biol*, 1987; 23:147-152.
- McKeehan, W. L.; Adams, P. S.; Rosser, M. P.: «Direct mitogenic effects of insulin, epidermal growth factor, glucocorticoid, cholera toxin, unknown pituitary factors and possibly prolactin, but not androgen, on normal rat prostate epithelial cells in serum-free, primary cell culture». *Cancer Res.*, 1984; 44:1998-2010.
- Meloni, A. M.; Peier, A. M.; Hadad, F. S.; Powell, I. J.; Block, A. M. W.; Huben, R. P.; Todd, I.; Potter, W.; Sandberg, A. A.: «A new approach in the diagnosis and follow up of bladder cancer. FISH analysis of urine, bladder washings, and tumors». *Cancer Genet Cytogenet*, 1993; 71:105-116.
- Messing, E. M.: «Clinical implications of the expression of epidermal growth factor receptors in human transitional cell carcinoma». *Cancer Res.*, 1990; 50:2530-2537.
- Miller, A. H.; Woodruff, M. W.; Gambacorta, J. P.: «Spontaneous regression of pulmonary metastasis from hypernephroma». *Ann Surg*, 1962; 156:852.
- Miwa, H.; Tomlinson, G. E.; Timmons, C. F.; Huff, V.; Cohn, S. L.; Strong, L. C.; Saunders, G. F.: «RNA expression of the WT1 gene in Wilms' tumors in relation to histology». *J. Natl. Cancer Inst.*, 1992; 84:181-187.
- Morita, R.; Ishikawa, J.; Tsutsumi, M.; Hikiji, K.; Tsukada, Y.; Karmidono, S.; Maeda, S.; Nakamura, Y.: «Allelotype of renal cell carcinoma». *Cancer Res.*, 1991; 51:820-823.
- Mukherjee, A. B.; Murty, W. V. S.; Rodríguez, E., *et al.*: «Detection and analysis of origin of i(12p), a diagnostic marker of human male germ cell tumors, by fluorescence *in situ* hybridization». *Genes chromosomes Cancer*, 1991; 3:300-307.
- Mule, J. J.; Schwarz, S. L.; Roberts, A. B.; Sporn, M. B.; Rosenberg, S. A.: «Transforming growth factor-beta inhibits the *in vitro* generation of lymphokine-activated killer cells and cytotoxic T cells». *Cancer Immunol. Immunother*, 1988; 26:95.
- Muller, W. J.; Lee, F. S.; Dickson, C., *et al.*: «The int-2 gene product acts as an epithelial growth factor in transgenic mice». *EMBO J.*, 1990; 9:907-913.
- Murty, V. V. V.S.; Houldsworth, J.; Baldwin, S., *et al.*: «Allelic deletions in the long arm of chromosome 12 identify sites of candidate tumor suppressor genes in male germ cells tumors». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992; 89:11006-11011.
- Mydlo, J. H.; Macchia, R. J.: «Growth factors in urologic tissues: detection, characterization, and clinical applications». *Urology*, 1992; 40:491-498.
- Nativ, O.; Winkler, H.; Raz, Y.; Therneau, T.; Farrow, G.; Myers, R.; Zincke, H.; Lieber, M.: «Stage C prostatic adenocarcinoma: flow cytometric nuclear DNA ploidy analysis». *Mayo Clinic Proc.*, 1989; 64:911-919.
- Neal, D. E.; Marsh, C.; Bennett, M. K.; Abel, P. D.; Hall, R. R.; Sainsburg, J. R. C.; Harris, A. L.: «Epidermal growth factor receptor in human bladder cancer: comparison of invasive and superficial tumours». *Lancet*, 1985; i:366-368.
- Neal, D. E.; Mellon, K.: «Epidermal growth factor receptor and bladder cancer: a review». *Urologia Internationalis*, 1992; 48:365-371.
- Neal, D. E.; Sharples, L.; Smith, K.; Fennelly, J.; Hall, R. J.; Harris, A. L.: «The epidermal growth factor receptor and the prognosis of bladder cancer». *Cancer*, 1990; 65:1619-1625.
- Neubauer, B. L.; Best, K. L.; Hoover, D. M., *et al.*: «Mesenchymal-epithelial interactions as factors influencing male accessory sex organ growth in the rat. Fed Proc, 1986; 45:2618-2626.
- Nisen, P. D.; Zimmermann, K. A.; Cotler, S. V.; Gilbert, F.; Alt, F. W.: «Enhanced ex-

- pression of the N-myc gene in Wilms' tumors». *Cancer Res.*, 1986; 46:6217-6222.
- Ogawa, O.; Kakehi, Y.; Ogawa, K.; Koshihara, M.; Sugiyama, T.; Yoshida, O.: «Allelic loss of chromosome 3p characterizes clear cell phenotype of renal cell carcinoma». *Cancer Res.*, 1991; 51:949-953.
- Olumi, A. F.; Tsai, Y. C.; Nichols, P. N., *et al.*: «Allelic loss of chromosome 17p distinguishes high grade from low grade transitional cell carcinomas of the bladder». *Cancer Res.*, 1990; 50:7081-7083.
- Pal, N.; Wadey, R. B.; Buckle, B.; Yeomans, E.; Pritchard, J.; Cowell, J. K.: «Preferential loss of material alleles in sporadic Wilms'tumor». *Oncogene*, 1990; 5:1665-1668.
- Pelkonen, O.: «Carcinogen metabolism and individual susceptibility». *Scand J. of Work, Environment and Health*, 1992; 1:17-21.
- Pelletier, J.; Bruening, W.; Kashtan, C. E.; Mauer, S. M.; Manivel, J. C.; Striegel, J. E.; Houghton, D. C.; Junien, C.; Habib, R.; Fouser, L.: «Germline mutations in the Wilms' tumor suppressor gene are associated with abnormal urogenital development in Denys-Drash syndrome». *Cell*, 1991; 67:437-447.
- Perkel, V. S.; Mohan, S.; Herring, S. J., *et al.*: «Human prostatic cancer cells. PC-3, elaborate mitogenic activity which selectively stimulates human bone cells». *Cancer Res.*, 1990; 50:6902-6907.
- Perucca, D.; Szepetowski, P.; Simon, M. P.; Gaudray, P.: «Molecular genetics of human bladder carcinomas». *Cancer Genet Cytogenet*, 1990; 49:143-156.
- Ping, A. J.; Reeve, A. E.; Law, D. J.; Young, M. R.; Boehnke, M.; Feinberg, A. P.: «Genetic linkage of Beckwith-Wiedemann syndrome to 11p15». *Am J. Hum. Genet.*, 1989; 44:720-733.
- Presti, J. C., Jr.; Rao, P. H.; Chen, Q.; Reuter, V. E.; Li, F. P.; Fair, W. R.; Jhanwar, S. C.: «Histopathological, cytogenetic, and molecular characterization of renal cortical tumors». *Cancer Res.*, 1991; 51:1544-1552.
- Pritchard-Jones, K.; Fleming, S.: «Cell types expressing the Wilms tumor gene (WT1) in Wilms' tumors: implications for tumor histogenesis». *Oncogene*, 1991; 6:2211-2220.
- Raghavan, D.; Shipley, W. V.; Garnick, M. B., *et al.*: «Biology and management of bladder cancer». *N. Engl. J. Med.*, 1990; 322:1129-1138.
- Rasmuson, T.; Bjork, G. R.; Hietala, S.-O.; Stenling, R.; Ljungberg, B.: «Excretion of pseudouridine as an independent prognostic factor in renal cell carcinoma». *Acta Oncologica*, 1991; 30:11-15.
- Reeve, A. E.; Eccles, M. R.; Wilkins, R. J.; Bell, G. I.; Millow, L. J.: «Expression of insulin-like growth factor-II transcripts in Wilms' tumour». *Nature*, 1985; 317:258-260.
- Reeve, A. E.; Sih, S. A.; Raigis, A. M.; Feinberg, A. P.: «Loss of allelic heterozygosity at a second locus on chromosome 11 in sporadic Wilms' tumor cells». *Mol. Cell. Biol.*; 1989; 9:1799-1803.
- Reich, N. C.; Oren, M.; Levine, A. J.: «Two distinct mechanisms regulate the levels of a cellular tumor antigen p53». *Mol. Cell. Biol.*, 1983; 3:2143-2150.
- Reik, W.; Surani, M. A.: «Genomic imprinting and embryonal tumours». *Nature*, 1989; 338:112-113.
- Reese, J. H.: «Renal cell carcinoma». *Current Opinion in Oncology*, 1992; 4:427-434.
- Rodriguez, E.; Mathew, S.; Mukherjee, A. B., *et al.*: «Analysis of chromosome 12 aneuploidy in interphase cells from human male germ cell tumors by fluorescence *in situ* hybridization». *Genes Chromosomes Cancer*, 1992a; 5:21-29.



- Rodríguez E.; Mathew, S.; Reuter, V., *et al.*: «Cytogenetic analysis of 124 prospectively ascertained male germ cell tumors». *Cancer Res.*, 1992b; 52:2285-2291.
- Russell, P. J.; Brown, J. L.; Grimmond, S. M.; Raghavan, D.: «Molecular biology of urological tumours». *Brit. J. Urology*, 1990; 65:121-130.
- Samaniego, F.; Rodríguez, E.; Houldsworth, J., *et al.*: «Cytogenetic and molecular analysis of human male germ cell tumors: chromosome 12 abnormalities and gene amplification». *Genes Chromosomes Cancer*, 1990; 1:289-300.
- Sandberg, A. A.: «Chromosome changes in bladder cancer: clinical and other correlations». *Cancer Genet Cytogenet.*, 1986; 19:163-175.
- Sandgren, E. P.; Luetteke, N. C.; Palmiter, R.D., *et al.*: «Over expression of TGF- $\alpha$  in transgenic mice: induction of epithelial hyperplasia, pancreatic metaplasia and carcinoma of the breast». *Cell*, 1990; 61:1121-1135.
- Sargent, E. R.; Gomella, L. G.; Belldegrun, A., *et al.*: «Epidermal growth factor receptor gene expression in normal human kidney and renal cell carcinoma». *J. Urol.*, 1989a; 142:1364-1368.
- Sargent, E. R.; Gomella, L. G.; Wade, T. P., *et al.*: «Expression of mRNA for transforming growth factor- $\alpha$  and - $\beta$  and secretion of transforming growth factor- $\beta$  by renal cell carcinoma cell lines». *Cancer Commun.*, 1989b; 1:317-322.
- Schalken, J. A.: «Molecular methods for predicting the metastatic potential of prostate cancer». *Cancer Surveys*, 1991; 11:43-54.
- Schroeder, W. T.; Chao, L.-Y.; Dao, D. D.; Strong, L. C.; Pathak, S.; Riccardi, V.; Lewis, W. H.; Saunders, G. F.: «Nonrandom loss of maternal alleles in Wilms' tumors». *Am J. Genet.*, 1987; 40:413-420.
- Scott, J.; Cowell, J.; Robertson, M. E.; Priestley, L. M.; Wadey, R.; Hopkins, B.; Pritchard, J.; Bell, G. I.; Rall, L. B.; Graham, C. F.; Knott, T. J.: «Insulin-like growth factor II gene expression in Wilms' tumour and embryonic tissues». *Nature*, 1985; 317:260-262.
- Scott, W. W.; Menon, M.; Walsh, P. C.: «Hormonal therapy of prostate cancer». *Cancer*, 1980; 45:1929-1936.
- Seizinger, B. R.; Rouleau, G. A.; Ozelsin, L. J.; Lane, A. H.; Farmer, G. E.; Lamiell, J. N.; Haines, J.; Yuen, J. W.; Collins, D.; Majoor-Krakauer, D.: «Von Hippel-Lindau disease maps to the region of chromosome 3 associated with renal cell carcinoma». *Nature*, 1988; 332:268.
- Shaikh, N.; Lai, L.; McLoughlin, J., *et al.*: «Quantitative analysis of epidermal growth factor in human benign prostatic hyperplasia and prostatic carcinoma and its prognostic significance». *Anticancer Res.*, 1990; 10:873-874.
- Shaw, A. P. W.; Poirier, V.; Tyler, S.; Mott, M.; Berry, J.; Maitland, N. J.: «Expression of the N-myc oncogene in Wilms' tumor and related tissues». *Oncogene*, 1988; 3:143-149.
- Sheinfeld, J.; Cordon-Cardo, C.; Bander, N. H.: «Recent diagnostic modalities for bladder cancer». *Immunology Series*, 1990; 53:485-497.
- Shih, T. Y.; Weeks, M. O.: «Oncogenes and cancer: the p21 ras genes». *Cancer Invest.*, 1984; 2:109-123.
- Shirai, T.: «Etiology of bladder cancer». *Seminars in Urology*, 1993; 11:113-26.
- Sidransky, D.; von Eschenbach, A. C.; Tsai, T. C., *et al.*: «Identification of p53 gene mutations in bladder cancers and urine samples». *Science*, 1991; 252:706-709.
- Sitaras, N. M.; Sariban, E.; Bravo, M., *et al.*: «Constitutive production of platelet-derived growth factor-like proteins by human prostate carcinoma cell lines». *Cancer Res.*, 1988; 48:1930-1935.

- Skinner, D. G.: «Management of invasive bladder cancer: a meticulous pelvic node dissection can make a difference». *J Urol*, 1982; 128:34-36.
- Smeets, W.; Pauwels, R.; Laarakkers, L.; Debruyne, F.; Geraeds, J.: «Chromosomal analysis of bladder cancer: III. Non-random alterations». *Cancer Genet Cytogenet*, 1987; 29:29-41.
- Smith, J. A., Jr.; Whitmore, W. F., Jr.: «Regional lymph node metastases from bladder cancer». *J. Urol*, 1981; 126:591-593.
- Smith, K.; Fennelly, J. A.; Neal, D. E.; Hall, R. R.; Harris, A. L.: «Characterization and quantitation of the epidermal growth factor receptor in invasive and superficial bladder tumors». *Cancer Res.*, 1989; 49:5810-5815.
- Sporn, M. B.; Roberts, A. B.: «Autocrine growth factors and cancer». *Nature*, 1985; 313:745-747.
- Steinberg, G. D.; Trump, D. L.; Cummings, K. B.: «Metastatic bladder cancer. Natural history, clinical course, and consideration for treatment». *Urologic Clinics of North America*, 1992; 19:735-746.
- Stephenson, R.; James, B.; Gay, H.; Fair, W.; Whitmore, W.; Melamed, M.: «Flow cytometry of prostate cancer: relationship of DNA content to survival». *Cancer Res.*, 1987; 47:2504-2509.
- Story, M. T.; Livingstone, B.; Baeten, L., *et al.*: «Cultured human prostate-derived fibroblasts produce a factor that stimulates their growth with properties indistinguishable from basic fibroblast growth factor». *Prostate*, 1989; 15:355-365.
- Tadokoro, K.; Fujii, H.; Ohshima, A.; Kazizawa, Y.; Shimizu, K.; Sakai, A.; Sumiyoshi, K.; Inoue, T.; Hayashi, Y.; Yamada, M.: «Intragenic homozygous deletion of the WT1-gene in Wilms' tumor». *Oncogene*, 1992; 7:1215-1221.
- Takahashi, R.; Hashimoto, T.; Xu, H. J., *et al.*: «The retinoblastoma gene functions as a growth and tumour suppressor in human bladder carcinoma cells». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991; 88:5257-5261.
- Thompson, T. C.: «Growth factors and oncogenes in prostate cancer». *Cancer Cells*, 1990; 2:345-354.
- Thompson, T. C.; Southgate, J.; Kitchner, G., *et al.*: «Multi-stage carcinogenesis induced by *ras* and *myc* oncogenes in a reconstituted organ». *Cell*, 1989; 56:917-930.
- Trapman, J.: «The molecular biology of urological tumors». *Prostate*, 1992; 4:159-169.
- Tribukait, B.: «DNA flow cytometry in carcinoma of the prostate for diagnosis, prognosis and study of tumor biology». *Acta Oncologica*, 1991; 30:187-192.
- Tsai, Y. C.; Nicols, P. W.; Hiti, A. L., *et al.*: «Alleles losses of chromosomes 9, 11 and 17 in human bladder cancer». *Cancer Res.*, 1990; 50:44-47.
- Tsang, K.; Kneafsey, P.; Gill, M. J.: «Primary lymphoma of the kidney in the acquired immunodeficiency syndrome». *Arch Pathol and Laboratory Medicine*, 1993; 117:541-543.
- Ullrich, S.; Anderson, C. W.; Mercer, W. E.; Appella, E.: «The p53 tumor suppressor protein, a modulator of cell proliferation». *J. Biol. Chem.*, 1992; 267:15259-15262.
- Valladares, Y.: «Implicaciones de los oncogenes en el cáncer de mama». *Revisiones en Cáncer*, 1992; 6:168-179.
- Valladares, Y.: «Biología molecular de los cánceres urológicos». Cap. 20. En Resel Estévez L.; Moreno Sierra, J, eds.: «Fundamentos fisiopatológicos y clínicos de los marcadores tumorales en uro-oncología». Pulso Ediciones, S. A., Barcelona., 1994; pp. 311-330.

- Van Heymingen, V.; Hastie, N. D.; Wilms' tumour: reconciling the genetics and biology». *Trends Genet*, 1992; 8:16-21.
- Viola, M. V.; Fromowitz, F.; Oravez, S., *et al.*: «Expression of *ras* oncogene p21 in prostate cancer». *N. Engl. J. Med.*, 1986; 314:133-137.
- Viola, M. V.; Fromowitz, F.; Oravez, S., *et al.*: «*Ras* oncogene p21 expression is increased in premalignant lesions and high grade bladder carcinoma». *J. Exp. Med.*, 1985; 1612:1218-1278.
- Voeller, H. J.; Wilding, G.; Gelman, E. P.: «v-H-*ras* expression confers hormone independent *in vitro* growth to LNCaP prostate carcinoma cells». *Mol. Endocrinol.*, 1991; 5:209-216.
- Vogelstein, B.; Kinzler, K. W.: «p53 function and dysfunction». *Cell*, 1992; 70:207-211.
- Vos, A. M.; Osterhuis, J. W.; De Jong, B., *et al.*: «Cytogenetics of carcinoma *in situ* of testis». *Cancer Genet. Cytogenet.*, 1990; 46:75-81.
- Wang, Z. Y.; Madden, S. L.; Deuel, T. F.; Rauscher, F. J.: «The Wilms' tumor gene product, WT1, represses transcription of the platelet-derived growth factor A-chain gene». *J. Biol. Chem.*, 1992; 267:21999-22002.
- Waterfield, M. D.; Scrace, G. T.; Whittle, N.; Stroobant, P.; Johnsson, A.; Wastewson, A.; Westermarck, B.; Heldin, C.-H.; Huang, J. S.; Deuel J. F.: «Platelet derived growth factor is structurally related to putative transforming protein p28<sub>sis</sub> of simian sarcoma virus». *Nature*, 1983; 304:35-39.
- Waziri, M.; Patil, S. R.; Hanson, J. W.; Burtley, J. A.: «Abnormality of chromosome 11 in patients with features of Beckwith-Wiedemann syndrome». *J. Paediatr.*, 1983; 102:873-876.
- Wilding, G.; Knabbe, C.; Zugmaier, G., *et al.*: «Differential effects of TGF-beta on human prostate cancer cells *in vitro*». *Mol. Cell. Endocrinol.*, 1989a; 62:79-87.
- Wilimas, J. A.; Dow, L. W.; Douglas, E. C.; Jenkins, J. J.; Jacobson, R. J.; Moohr, J.; Fialkow, P. J.: «Evidence for clonal development of Wilms' tumor». *Amer. J. Ped. Hematol./Oncol.*, 1991; 13:26-28.
- Wilkins, R. J.: «Genomic imprinting and carcinogenesis». *Lancet*, 1988; I:329-331.
- Williams, J. C.; Brown, K. W.; Mott, M. G.; Maitland, N. J.: «Maternal allele loss in Wilms' tumour». *Lancet*, 1989; I:283-284.
- Williams, J. C.; Maitland, N. J.; Mott, M. G.; Brown, K. W.: «Methylation of chromosome 11p genes in Wilms' tumour and kidney tissue». *Internat. J. Oncol.*, 1992; 1:743-746.
- Wright, C.; Mellon, K.; Neal, D. E.; Johnston, P.; Corbett, I.; Horne, C. H. W.: «Expression of c-*erbB*-2 protein product in bladder cancer». *Br. J. Cancer*, 1990; 62:764-765.
- Wright, D. P.; Mellon, K.; Johnston, P.; Lane, D. P.; Harris, A. L.; Horne, C. H. W.; Neal, D. E.: «Expression of mutant p53, c-*erb*-B2 and the epidermal growth factor receptor in transitional cell carcinoma of the human urinary bladder». *Br. J. Cancer*, 1991; 63:967-970.
- Wu, S.; Garnick, M. B., *et al.*: «Biology and management of bladder cancer». *N. Engl. J. Med.*, 1990; 322:1129-1138.
- Wu, S.; Storer, B. E.; Bookland, E. A., *et al.*: «Nonrandom chromosome losses in stepwise neoplastic transformation *in vitro* of human uroepithelial cells». *Cancer Res.*, 1991; 51:3323-3326.
- Yan, G.; Wang, F.; Fukabori, Y., *et al.*: «Expression and transforming activity of a variant of the heparin-binding fibroblast growth factor receptor gene resulting from

- splicing of the alpha exon at an alternate 3'-acceptor site». *Biochem Biophys Res Commun*, 1992; 183:423-430.
- Yamamoto, T.; Ikawa, S.; Akiyama, T.; Semba, K.; Nomura, N.; Miyajima, N.; Saito, T.; Toyoshima, K.: «Similarity of protein encoded by the human *c-erbB-2* gene to epidermal growth factor receptor». *Nature*, 1986; 319:230.
- Zbar, B.; Brauch, H.; Talmadge, C.; Linehan, W. M.: «Loss of alleles of loci on the short arm of chromosome 3 in renal cell carcinoma». *Nature*, 1987; 327:721.
- Zhan, H. E.; Zhang, X.; von Eschenbach, A. C., *et al.*: «Amplification and expression of the *c-erbB-2/neu* proto-oncogen in human bladder cancer». *Mol Carcinogen*, 1990; 3:254-257.