

TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES Y CÁNCER

Isabel Soto Cruz

La explosión en los últimos 10 años en investigación sobre transducción de señales ha dado una visión única de la complejidad de esas intrincadas vías. Aunque se han identificado los intermediarios de múltiples vías, ha sido muy difícil entender su función y, en particular, las interacciones entre esas moléculas. Cada vez existen más evidencias de que muchas de esas vías tienen comunicación cruzada, lo cual inevitablemente conlleva a la pregunta de cómo las células determinan la especificidad en la señalización. A pesar de la complejidad de estas vías, se ha avanzado en el desarrollo de inhibidores de los transductores de señales muy potentes y altamente específicos. Estos inhibidores han dado resultados muy prometedores en los estudios pre-clínicos y se encuentran en la actualidad en prueba en varios ensayos clínicos. Sin embargo, muy poco se entiende aún cuales son sus mecanismos de acción. Con la gran cantidad de información obtenida sobre las vías de señalización, sus componentes y sus inhibidores, los esfuerzos deberán estar encaminados al desarrollo de nuevas estrategias para el tratamiento del cáncer.

Palabras Clave: *Transducción de señales, cáncer, cinasas, fosfatasas, oncogenes.*

Signal transduction and cancer

ABSTRACT

The explosion of signal transduction research over the last 10 years has provided a unique insight into the complexity of these intricate pathways. Whereas intermediates of multiple signaling pathways have been identified, understanding their function and, in particular, the interactions between them has become a daunting task. The increasing evidence that many of these pathways can cross-talk with each other via signal transactivation inevitably raises the question of how cells determine specificity in signaling. Despite the mind-numbing complexity of these pathways, progress has been made in developing highly specific and potent signal transduction inhibitors. These inhibitors show promise in the treatment of cancer in preclinical studies and are currently in a number of clinical trials. Whereas many of these agents were "rationally designed," we barely understand their mechanisms of action. All the information about signal transduction components and the effect of inhibitors have elucidated novel mechanisms of inhibitors action that may be used in the development of new therapeutic strategies for the treatment of cancer.

Key Words: *Signal transduction, cancer, kinases, phosphatases, oncogenes.*

ARTÍCULO RECIBIDO EN ABRIL DEL 2003 Y ACEPTADO EN MAYO DEL 2003.

Las células cancerosas reciben señales de su ambiente que las estimulan a crecer y a proliferar. Estas señales son mediadas por factores de crecimiento autocrinos, paracrinos y endocrinos que activan receptores de superficie celular. Para traducir la activación de un receptor unido a membrana en una respuesta biológica, las señales generadas por la activación del receptor necesitan ser llevadas al núcleo para activar la síntesis de proteínas. Esto se lleva a cabo mediante la activación de una cascada intracelular de reacciones bioquímicas, las llamadas vías de transducción de señales. En las células cancerosas, los elementos de las vías de transducción de señales a menudo están mutadas o son sobre-expresadas en comparación con las células normales. Las

mutaciones oncogénicas generalmente dan como resultado la activación constitutiva de elementos de transducción de señales, tales como receptores para factores de crecimiento con actividad de tirosina cinasa que producen una activación continua del receptor, aún en ausencia del ligando del receptor (factor de crecimiento). Además, elementos de transducción de señales que se encuentran más abajo en la cascada de señalización, pueden estar mutados o sobre-expresados, contribuyendo con esto al fenotipo maligno.

ALTERACIONES EN LOS MECANISMOS DE TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES

Un gran número de factores de crecimiento, citocinas, hormonas, y agentes químicos exógenos pueden inducir respuestas celulares vía eventos mediados por receptores que conllevan a la proliferación y/o diferenciación celular. Algunas veces estos

factores inducen ambos. Las vías de señalización intracelulares que acompañan estos procesos son variados y complejos. Frecuentemente, estas vías son activadas de manera inapropiada en las células cancerosas ya sea por la expresión inadecuada de un oncogen que especifica un factor de crecimiento, un receptor para factor de crecimiento, o parte de las vías de señalización intracelular. Un aspecto importante es que existe una interacción significativa entre estas vías de señalización tal como la regulación vía arriba o vía abajo en la cascada de uno de sus componentes, que puede iniciar respuestas coordinadas entre ellos. Por tanto, la inhibición de una de las moléculas componentes de una vía de transducción de señales debe ser compensada en la célula por la regulación de otra vía. Esto tiene implicaciones terapéuticas importantes por que una droga que bloquea un componente temprano o arriba en la cascada de señales en una vía determinada puede ser substituida por la activación de otra vía paralela. Esto se ha visto, por ejemplo, en el desarrollo de resistencia a determinados agentes quimioterapéuticos. Por tanto, uno de los objetivos de investigación en esta área es encontrar un blanco molecular más abajo en la cascada de señales en donde convergen las vías de transducción de señales para estimular los eventos de activación de los genes.

Un ejemplo de la comunicación cruzada entre los eventos iniciados por la unión de un ligando a su receptor, es la unión del factor de crecimiento derivado de plaquetas (β PDGF) a su receptor β PDGFR¹. Esta unión induce la dimerización del receptor, la cual a su vez inicia las vías de transducción de señales. El receptor se autofosforila en varias tirosinas por la activación de su dominio catalítico de tirosina cinasa. Esta fosforilación múltiple permite la unión de proteínas específicas que contienen dominios SH2 (Src homology domain) que son parte de la vía GRB-2, Sos, Ras, Raf, Mek, Erk. Además, existe comunicación cruzada con la vía de cinasa de fosfatidil inositol (PI3K). PI3K también puede estimular a la GTPasa Rac que es capaz de activar los eventos de señalización de la vía JAK/STAT. La activación de la enzima PLC- γ 1 puede estimular la vía de señalización en la que participa la proteína cinasa C (PKC). Es evidente que las proteínas citoplasmáticas forman redes de interacciones mas que vías lineales simples². Estas vías de señalización diversas, a su vez, inducen grupos de genes traslapados en un amplio rango³.

Los eventos de señalización mediados por proteínas que unen GTP (proteínas G) son otro tipo de vías ubicuas para la activación de los genes, algunas de las cuales son mediadas por el AMP cíclico que tiene efectos sobre proteínas en los procesos celulares⁴. Se ha observado que existen mutaciones en los componentes de las vías acopladas a proteínas-G, algunas de las cuales parecen estar involucradas en varias enfermedades, incluyendo la formación de tumores^{4,5}.

Alteraciones de otras vías de transducción de señales también correlaciona con la transformación maligna. Por ejemplo, los eventos de transformación celular inducidos por el oncogen viral *v-fps* correlaciona con la activación de la vía de transducción de señal endógena a través de STAT3⁶. La

señalización de TGF- β está mediado por la familia SMAD de proteínas transductoras, y mutaciones somáticas de una de ellas, SMAD4 se observan frecuentemente en cáncer de páncreas y con menos frecuencia en cáncer de colón, mama y pulmón⁷. Mutaciones que alteran la funcionalidad de SMAD2 se han observado en tumores colorectales y de pulmón.

Estas observaciones incrementan la ya larga lista de componentes de vías de transducción de señales que se sabe están alterados en cáncer, como *Ras*, *Myc*, *Src* y *Erb B*⁴. Por tanto, es claro que la alteración de las vías de transducción de señales es un evento que se observa de manera común en el desarrollo del cáncer en humanos y por tanto son un blanco para desarrollar un tratamiento terapéutico.

Es importante señalar que el uso de la tecnología de microarreglos representa una manera de seguir lo que sucede en múltiples vías cuando las células son alteradas por un estímulo externo o por eventos de transformación maligna. Esto ha llevado a un nuevo campo de "biología de las vías" en el cual estamos aprendiendo que la estimulación de una célula (*e.g.*, por un factor de crecimiento) o daño celular (*e.g.* por estrés oxidativo) regula la expresión de una amplia variedad de genes que codifican para proteínas participantes en múltiples vías que, de otra manera, no tendríamos evidencia de que estuvieran comunicadas.

EVENTOS DE FOSFORILACIÓN/DESFOSFORILACIÓN

Como ya se menciona, muchos eventos de transducción de señales involucran etapas de fosforilación. Estas incluyen (1) receptores con actividad de tirosina cinasa, (2) receptores acoplados a proteínas que unen nucleótidos de guanina, los cuales a su vez pueden activar o inhibir a la adenilato ciclasa, activar hidrolisis de fosfoinositoles llevando a la activación de la proteína cinasa c (PKC) y la liberación de Ca⁺⁺ intracelular, o modular canales membranales de iones; y (3) receptores intracelulares, *v.g.* para hormonas esteroides, hormonas tiroideas, y para ácido retinoico, los cuales tienen dominios de unión a DNA así como dominios de unión al ligando y pueden interactuar directamente con el DNA para modular la transcripción de los genes. Todos estos mecanismos de transducción de señales mediados por receptores son sitios potenciales para la activación o regulación negativa en células cancerosas, por ejemplo, por activación o sobre-expresión de oncogenes o por inactivación de genes supresores tumorales⁸.

TIROSINA CINASAS

Los receptores con actividad de tirosina cinasa arriba mencionados son un blanco potencial para alteración carcinogénica. La activación de estos receptores puede llevar a la fosforilación de varios substratos clave. Muchos receptores para factores de crecimiento median sus efectos celulares por actividad intrínseca de tirosina cinasa, la cual, a su vez, puede fosforilar otros substratos involucrados en mitogenesis. Varios productos de oncogenes transformantes tienen actividad de receptores para factores de crecimiento o semejante a receptores

para factores de crecimiento que funcionan vía la activación de una tirosina cinasa. Por ejemplo, el producto del gen *v-src* es una proteína con actividad de tirosina cinasa asociada a la membrana celular. El producto del oncogen *v-sis* es prácticamente homólogo a la cadena β del PDGF. El producto de *v-erb* es una forma truncada del receptor para el factor de crecimiento epidermal. El producto del gen *fms* es análogo al receptor para CSF-1. Los productos de los oncogenes *met* y *trk* son receptores para el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) y para el factor de crecimiento nervioso (NGF), respectivamente⁹.

Algunos de los sustratos clave para los receptores acoplados con actividad de cinasa de tirosina incluyen (1) fosfolipasa C gamma (PLC γ), la cual a su vez, activa la hidrólisis de fosfatidilinositol, liberando a los segundos mensajeros diacilglicerol (DAG) e inositol trifosfato (INSP₃) que activan a la PKC y movilizan liberación de calcio intracelular; (2) la proteína activadora de GTPasa (GAP) que modula la función de las proteínas del proto-oncogen *ras*; (3) tirosina cinasas de la familia *src*; (4) PI-3 cinasa que se asocia con y puede modular la actividad transformante del antígeno T de poliovirus y de los productos de los genes *v-src* y *v-abl*; (5) el producto del proto-oncogen *raf* que es una proteína con actividad de cinasa de serina/treonina.

Por tanto, la activación de las cinasas es un mecanismo clave en la regulación de señales para proliferación celular. Los sustratos de estas cinasas incluyen factores reguladores de la transcripción, como los que están relacionados con vías de señalización mitogénica, por ejemplo, proteínas codificadas por los proto-oncogenes *jun*, *fos*, *myc*, *myb*, *rel* y *ets*.

PROTEÍNAS CON ACTIVIDAD DE FOSFATASAS

Aunque se sabía tiempo atrás que las fosfatasa juegan un papel regulador en ciertas funciones metabólicas celulares, por ejemplo, en las etapas de activación-inactivación para la glucógeno sintasa y fosforilasa, sólo recientemente se ha demostrado que las fosfatasa regulan la actividad de varios receptores y en la función de ciertos genes que regulan el ciclo celular¹. Por ejemplo, la expresión de una fosfatasa de tirosina truncada o anormal en células BHK produce células multinucleadas, probablemente por la desfosforilación de la cinasa p34cdc2 dependiente de ciclinas. La activación de p34cdc2 requiere desfosforilación de un residuo de tirosina, y esta activación lleva a la célula de la fase G2 a la fase-M. La fosfatasa truncada aparentemente interfiere con la sincronía normal entre la formación nuclear y la división celular.

Ahora se sabe que las proteínas fosfatasa de tirosina (PTPasas), son una familia diversa de enzimas que se encuentran en las membranas celulares. Algunas de ellas están asociadas con receptores que tienen actividad de tirosina cinasa. Las fosfatasa también se encuentran en otros sitios intracelulares. El estado de fosforilación en tirosina aberrante en ciertas proteínas clave, tal como *c-Src* o *c-Raf*, que pueden llevar a la transformación celular, podrían en teoría presentarse debido a la desregulación

de una cinasa o a la pobre expresión de una proteína fosfatasa. Por ejemplo, las células tratadas con vanadato, un inhibidor de las PTPasas, presentan niveles de proteínas fosforiladas en tirosina incrementados y un fenotipo transformado¹⁰. Otras evidencias de que las PTPasas están involucradas en cáncer es la observación que una fosfatasa Y asociada a un receptor (una de las isozimas PTPasa) está localizada en el cromosoma 3, el cual tienen una delección en carcinomas de células renales y de pulmón, sugiriendo esto que el gene PTPasa Y puede actuar como un gen supresor tumoral. Por tanto, se podría predecir que un nivel alto de expresión de una fosfatasa específica podría ser capaz de revertir el fenotipo maligno, y se podría pensar en estrategias como la transfección de esos genes en células tumorales o llevar inductores de las enzimas a esas células tumorales.

Una proteína fosfatasa de tirosina conocida como PTEN se ha encontrado mutada en cánceres de cerebro, mama y próstata¹¹. Esto se descubrió mapeando delecciones homocigotas en carcinoma humano 10q23 que ocurría con alta frecuencia en cánceres humanos. Las mutaciones del gen *Pten* fueron detectadas en 17% de glioblastomas primarios así como en líneas celulares derivadas de cánceres humanos y xenoinjertos de glioblastoma (31%), cáncer de próstata (100%), y cáncer de mama (6%). PTEN es una fosfatasa de tirosina que desfosforila PIP₃ en la vía de fosfatidil inositol. La pérdida de actividad de PTEN incrementa la fosforilación de PIP₃ y lleva a la transformación celular. Por tanto, PTEN se considera un supresor tumoral, y esta proteína y sus sustratos son blancos potenciales para nuevos agentes terapéuticos.

VÍAS DE TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES QUE CONTRIBUYEN AL DESARROLLO DE UN FENOTIPO CELULAR TRANSFORMADO

Vía de señalización de *ras*. Los oncogenes *ras* fueron identificados hace casi 20 años¹². Desde entonces se ha obtenido información importante sobre su estructura y función. Estos oncogenes son miembros de una familia de GTPasas pequeñas que unen GTP y lo hidrolizan a GDP. Este GDP es intercambiado por GTP y el ciclo se repite nuevamente. El cambio entre estos dos estados regula una gran variedad de procesos celulares¹².

Gran parte del interés en los oncogenes *ras* radica en el hecho de que este gene está involucrado en una gran fracción de cánceres humanos. Se ha demostrado que *ras* se activa oncogénicamente por mutación en más de 15% de todos los tumores humanos, y en algunos tumores como carcinoma de páncreas la frecuencia es mayor a 90%¹³.

Los principales sitios de mutaciones activantes de *ras* se localizan en los aminoácidos involucrados en la unión a los grupos fosfato de los nucleótidos¹⁴. Las mutaciones que ocurren comúnmente en tumores humanos se encuentran en los residuos 12, 13, 59 y 61, con las mutaciones en posiciones 12 y 61 siendo las más comunes¹³. La mayoría de estas mutaciones disminuye la capacidad de hidrólisis del GTP de *ras* y hace que la molécula sea

VERTIENTES

menos sensible a la estimulación de la actividad hidrolítica conferida por la proteína GAP¹⁵. La consecuencia es una molécula que está unida a GTP y por tanto está constitutivamente activa. Tal molécula es independiente de la estimulación por factores de crecimiento y continua activando las vías de proliferación en ausencia de cualquier estímulo.

Ras media gran variedad de efectos biológicos a través de diferentes efectores en la cascada de señales por debajo de *ras*. Se ha demostrado que varias proteínas se unen a *ras* tanto *in vivo* como *in vitro*, tal como *c-raf*, *ral*, GDS, PI3-K, MEK1, AF6 y PKC entre otras¹⁶. Sin embargo, el efector de *ras* mejor estudiado es la cinasa de serina/treonina *Raf*, la cual se expresa en casi todos los tejidos (Figura 1).

Aunque *ras* parece mediar la activación de *Raf*, se necesitan otros factores que son necesarios para la activación máxima de su actividad de cinasa¹⁷. La interacción de *ras* con su sitio de unión específico para *Raf* permite la translocación de *Raf* a la membrana, en donde otras etapas la llevan a su activación completa^{16,17}. Se requiere la unión del dominio rico en cisteína de *Raf* a fosfatidilserina, lo cual sirve para promover la interacción de *ras* con el segundo sitio de interacción de *Raf*. Posteriormente, varios eventos de fosforilación tanto en residuos de serina/treonina como de tirosina tienen un papel importante en la activación total de *Raf*¹⁶. La complejidad de tales fosforilaciones es enorme y se han descrito sitios estimuladores y sitios inhibidores¹⁸.

Una vez que *Raf* se ha activado puede fosforilar a MEK (cinasa de la cinasa regulada por señales mitogénicas extracelulares),

también denominada MAP cinasa cinasa (MKK), una cinasa con especificidad dual en Ser218 y Ser 222 que la lleva a su activación¹⁹. Una vez que MEK se ha activado puede, a su vez, activar a MAP cinasa o cinasa regulada por señales extracelulares (ERK)¹⁹. La activación se da por fosforilaciones en tandem tanto en residuos de treonina como de tirosina (Thr183-Glu-Tyr185) con la fosforilación en tirosina ocurriendo primero. Existen dos isoformas de ERK (1 y 2), que se expresan de manera ubicua y con secuencia muy similar (90%). Estas proteínas, de 44 y 42 kDa respectivamente, se translocan al núcleo en donde pueden activar una gran variedad de proteínas mediante fosforilación en serina o treonina. ERK puede fosforilar a varios miembros de la familia de factores de transcripción ETS, lo cual puede explicar su aparente habilidad para activar la transcripción de ciertos genes¹⁹. ERK también puede activar proteínas cinasas mediante fosforilación. Por ejemplo, p90 RSK es una cinasa de serina/treonina que participa en la traducción de proteínas y se ha demostrado que es sustrato de ERKs²⁰.

Además de la regulación positiva de la vía de MAP cinasa por fosforilación, existen mecanismos reguladores negativos que sirven para atenuar la activación de esta cascada. La regulación negativa está mediada por diversas fosfatasas, muchas de las cuales tienen especificidad dual, lo cual significa que pueden desfosforilar tanto residuos de serina/treonina como tirosina¹⁹. Hasta la fecha se sabe que existen varias fosfatasas de MAP cinasa que difieren en términos de especificidad de sustrato.

La activación de ERK puede llevar a una síntesis incrementada de DNA y proliferación celular²¹. De hecho, la expresión de la ciclina D1 es inducida por formas activadas de Ras, Raf y MEK²². De

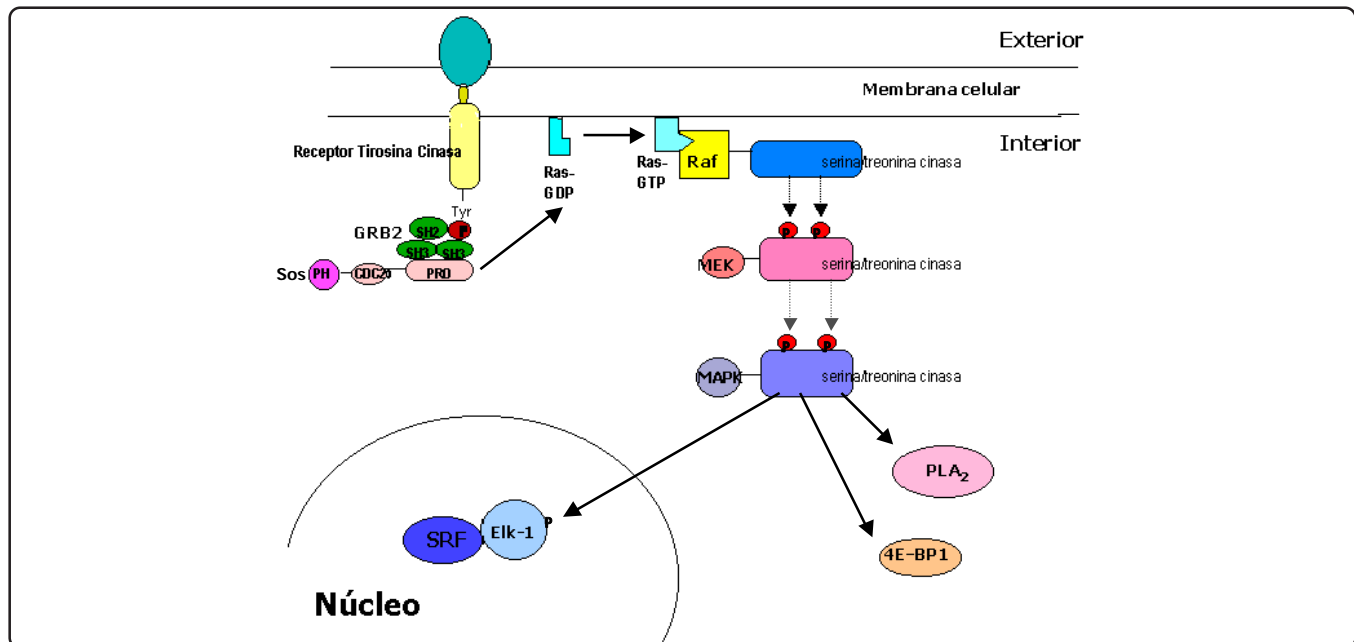


Figura 1. Vía de señalización a través de p21ras al núcleo para inducir proliferación. Un receptor con actividad de tirosina cinasa (PTK) activado induce la activación de ras, iniciando una cascada de proteínas cinasas que finalmente activa a MAP cinasa. La cinasa MAP fosforila y regula diversas proteínas, incluyendo factores de transcripción (e.g. Elk-1), reguladores de síntesis de proteínas (e.g. 4E-BP1) y enzimas (e.g. fosfolipasa A2 PLA₂) que controlan el metabolismo de lípidos.

particular interés es el hecho que la ciclina D1 se encuentre amplificada o rearrreglada en tumores humanos y en líneas celulares tumorales, lo cual implica a esta ciclina de G1 en cánceres humanos²³.

IMPlicACIONES PARA TERAPIA DEL CÁNCER

El estudio de la transducción de señales es crucial para entender los procesos normales que gobiernan el funcionamiento celular. Aunque nuestro conocimiento sobre estos intrincados eventos se ha incrementado de manera exponencial, pareciera ser que la complejidad crece aún más rápido. Lo que una vez se consideraron como vías lineales y simples se han convertido en vías multidimensionales. Las vías de señalización convergen, divergen y se entrecruzan tan frecuentemente que se está haciendo difícil discutir las como vías individuales. Aspectos como especificidad de tipo celular, en donde las vías de señalización difieren tanto en como son activadas y en cual es el resultado final, están llevando a este interesante campo a ser más complicado. La señalización celular no solo es importante para el estudio de las funciones celulares normales, sino también es crucial para el entendimiento de las neoplasias. Muchos oncogenes son piezas clave en las vías de señalización. Es claro que la activación constitutiva de estas moléculas, que van desde receptores hasta factores de transcripción, pueden causar transformación celular.

Ya que muchas de las vías de señalización involucradas en la transformación celular por oncogenes han sido dilucidadas, ahora los esfuerzos se están dirigiendo al desarrollo de estrategias de tratamientos que tengan como blancos esas moléculas de señalización específicas o a sus efectores inmediatos. Este tipo de terapia tiene un gran potencial ya que se basa en el bloqueo específico de moléculas a diferencia de las terapias tradicionales de quimioterapia o radiación. Un punto en el cual se puede intervenir es la interacción entre el factor de crecimiento y su receptor en la superficie de las células tumorales cuyo crecimiento es dependiente de mecanismos autocrinos o paracrinos. Se pueden desarrollar antagonistas específicos basados en el conocimiento sobre las interacciones ligando-receptor. En algunos casos, tales moléculas se producen en la naturaleza y probablemente tengan un papel fisiológico en la modulación de las señales de factores de crecimiento^{24,25}. El Suramin es un derivado del ácido sulfónico naftaleno altamente aniónico²⁶ que interfiere con ciertas interacciones ligando-receptor²⁷. Este se ha utilizado en ensayos clínicos en el tratamiento de carcinoma renal y de próstata^{28,29}.

Otra aproximación diferente se basa en la producción de anticuerpos monoclonales que puedan neutralizar específicamente la actividad de factores de crecimiento o que interfieran con las interacciones ligando-receptor. También se han producido anticuerpos monoclonales dirigidos contra receptores, que como resultado de la sobre-expresión de estos lleva a la proliferación descontrolada. De hecho, el anticuerpo monoclonal humanizado contra ERB-2 es la primera droga clínicamente aprobada en contra del producto de un oncogen³⁰ y en la actualidad se encuentran en estudios en fase clínica anticuerpos monoclonales contra EGFR.

Otro tipo de estrategia con tumores que sobre-expresan receptores de superficie celular incluye el uso de oligodesoxinucleótidos antisentido específicos o de vectores de expresión antisentido genéticamente diseñados para bloquear la transcripción o la traducción de sus productos. Tales métodos han sido muy exitosos en modelos *in vitro*, pero aún no en modelos *in vivo*³¹⁻³³. La terapia génica representa otra aproximación con respecto a tumores que sobre-expresan receptores para factores de crecimiento. Esta estrategia utiliza la alta actividad en ciertos tumores para utilizar el promotor para el gen del receptor. Por tanto, la sobre expresión de un gene terapéutico introducido, tal como la citocina IL-2, bajo el control del promotor en cuestión podría tener como blanco específico a la célula tumoral³⁴.

La inhibición de la actividad RTK constitutiva o la unión y activación de blancos en la cascada río abajo de señalización representa otra posible técnica de intervención tumoral. Por ejemplo, inhibidores de proteínas tirosina cinasas con amplia especificidad se han aislado de extractos de hongos. La quercetina^{35,36}, genisteína³⁷, lavendustina A³⁸, erbastatina³⁹ y herbimicina A⁴⁰ han sido probadas de manera exitosa en modelos *in vitro* y en la actualidad se utilizan como modelos para el diseño de inhibidores sintéticos⁴¹.

Una clase de compuestos diferentes, las tirfostinas (inhibidores de fosforilación en tirosina), son análogos de tirosina que actúan para inhibir competitivamente las interacciones del receptor con sus sustratos⁴². Evidencias recientes sugieren que tales análogos muestran especificidad entre diferentes receptores y aún entre sustratos del mismo receptor en condiciones experimentales *in vitro*. Otra posibilidad para bloquear las interacciones de los receptores activados con sus blancos involucra la generación de moléculas que puedan antagonizar la unión de dominios SH2 de proteínas que se unen al receptor activado⁴¹.

Muchas de estas técnicas están en desarrollo. Las pruebas clínicas iniciales combinan las estrategias experimentales con las modalidades terapéuticas convencionales. Por ejemplo, se ha demostrado que el tratamiento combinado de animales con tumores humanos tratados con anticuerpos monoclonales y doxorubicina o cisplatino incrementan de manera significativa la actividad antitumoral de esas drogas^{43,44}. Por tanto, conforme se tiene más evidencia de que las alteraciones genéticas en las vías de señalización de factores de crecimiento forman parte importante del proceso de transformación maligna, este conocimiento está siendo aplicado para el desarrollo de nuevas terapias diseñadas de manera racional contra cánceres específicos.

REFERENCIAS

1. Davis CG. The many faces of epidermal growth factor repeats. *New Biol* 1990; 2:410-419.
2. Shelly M, Pinkas-Kramarski R, Guarino BC. Epregrulin is a potent pan-erbB ligand that preferentially activates heterodimeric receptor complexes. *J Biol Chem* 1998; 273:10496-10505.
3. De Larco JE, Todaro GJ. Growth factors from murine sarcoma virus-

- transformed cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1978; 75: 4001-4005.
4. Todaro GJ, Fryling C, De Larco JE. Transforming growth factors produced by certain human tumor cells: polypeptides that interact with epidermal growth factor receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1980; 77: 5258-5262.
 5. Schreiber AB, Winkler ME, Derynck R. Transforming growth factor- α : a more potent angiogenic mediator than epidermal growth factor. *Science* 1986; 232: 1250-1253.
 6. Barrandon Y, Green H. Cell migration is essential for sustained growth of keratinocyte colonies: the roles of transforming growth factor- α and epidermal growth factor. *Cell* 1987; 50: 1131-1137.
 7. Roberts AB, Sporn MB. Principle of molecular cell biology of cancer: growth factors related to transformation. In *Cancer Principles and Practice of Oncology*. Edited by de Vita VTJ, Hellman S, Rosenberg SA. Philadelphia, PA: JB Lippincott; 2001: 67-80.
 8. Graves JD, Krebs EG. Protein phosphorylation and signal transduction. *Pharmacol Ther* 1999; 82:111-121.
 9. Grander D. How do mutated oncogenes and tumor suppressor genes cause cancer? *Med Oncol* 1998; 15:20-26.
 10. Wright NA, Pike C, Elia G. Induction of a novel epidermal growth factor-secreting cell lineage by mucosal ulceration in human gastrointestinal stem cells. *Nature* 1990; 343: 82-85.
 11. Derynck R. Transforming growth factor- α . *Cell* 1988; 54: 593-595.
 12. Marshall CJ. How does p21ras transform cells. *Trends Genet* 1991; 7:91-95.
 13. Bos JL. Ras oncogenes in human cancer: a review. *Cancer Res* 1989;49:4682-4689.
 14. Santos E, Nebreda AR. Structural and functional properties of ras proteins. *Faseb J* 1989; 3: 2151-2163.
 15. McCormick F. Ras signaling and NF1. *Curr Opin Genet Dev* 1995; 5: 51-55.
 16. Campbell SL, Khosravi-Far R, Rossman KL, Clark GJ, Der CJ. Increasing complexity of Ras signaling. *Oncogene* 1998; 17: 1395-1413.
 17. Traverse S, Cohen P, Paterson H. Specific association of activated MAP kinase kinase kinase (Raf) with the plasma membranes of ras-transformed retinal cells. *Oncogene* 1993; 8: 3175-3181.
 18. Mason CS, Springer CJ, Cooper RG. Serine and tyrosine phosphorylations cooperate in Raf-1 but not B-Raf activation. *EMBO J* 1999; 18: 2137-2148.
 19. Lewis TS, Shapiro PS, Ahn NG. Signal transduction through MAP kinase cascades. *Adv Cancer Res* 1998; 74: 49-139.
 20. Dalby KN, Morrice N, Caudwell FB, Avruch J, Cohen P. Identification of regulatory phosphorylation sites in mitogen-activated protein kinase (MAPK)-activated protein kinase-1 α /p90rsk that are inducible by MAPK. *J Biol Chem* 1998; 273: 1496-1505.
 21. Brunet A, Pages G, Pouyssegur J. Constitutively active mutants of MAP kinase kinase (MEK1) induce growth factor-relaxation and oncogenicity when expressed in fibroblasts. *Oncogene* 1994; 9: 3379-3387.
 22. Kerkhoff E, Rapp UR. Cell cycle targets of Ras/Raf signaling. *Oncogene* 1998; 17: 1457-1462.
 23. Donnellan R, Chetty R. Cyclin D1 and human neoplasia. *Mol Pathol* 1998; 51: 1-7.
 24. Chan AM, Rubin JS, Bottaro DP. Identification of a competitive HGF antagonist encoded by an alternative transcript. *Science* 1991; 254: 1382-1385.
 25. Duan DS, Werner S, Williams LT. A naturally occurring secreted form of fibroblast growth factor (FGF) receptor 1 binds basic FGF in preference over acidic FGF. *J Biol Chem* 1992; 267: 16076-16080.
 26. Hawking F. Suramin: with special reference to onchocerciasis. *Adv Pharmacol Chemother* 1978, 15: 289-322.
 27. Betsholtz C, Johnsson A, Heldin CH, Westermark B. Efficient reversion of simian sarcoma virus-transformation and inhibition of growth factor-induced mitogenesis by suramin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83: 6440-6444.
 28. Myers C, Cooper M, Stein C. Suramin: a novel growth factor antagonist with activity in hormone- refractory metastatic prostate cancer *J Clin Oncol* 1992; 10: 881-889.
 29. Rapoport BL, Falkson G, Raats JJ. Suramin in combination with mitomycin C in hormone-resistant prostate cancer. A phase II clinical study. *Ann Oncol* 1993; 4: 567-573.
 30. Gregory H. Isolation and structure of urogastrone and its relationship to epidermal growth factor. *Nature* 1975; 257: 325-327.
 31. Ciardiello F, Bianco C, Normanno N. Infection with a transforming growth factor α anti-sense retroviral expression vector reduces the in vitro growth and transformation of a human colon cancer cell line. *Int J Cancer* 1993; 54: 952-958.
 32. Ciardiello F, Tortora G, Bianco C. Inhibition of CRIPTO expression and tumorigenicity in human colon cancer cells by antisense RNA and oligodeoxynucleotides. *Oncogene* 1994; 9: 291-298.
 33. Stahel RA, Zangemeister-Wittke U. Antisense oligonucleotides for cancer therapy -an overview. *Lung Cancer* 2003; 41: 581-588.
 34. Rosenberg SA. Karnofsky Memorial Lecture. The immunotherapy and gene therapy of cancer. *J Clin Oncol* 1992; 10: 180-199.
 35. Graziani Y, Chayoth R, Karny N, Feldman B, Levy J. Regulation of protein kinases activity by quercetin in Ehrlich ascites tumor cells. *Biochim Biophys Acta* 1982; 714: 415-421.
 36. Graziani Y, Erikson E, Erikson RL. The effect of quercetin on the phosphorylation activity of the Rous sarcoma virus transforming gene product in vitro and in vivo. *Eur J Biochem* 1983; 135: 583-589.
 37. Akiyama T, Ishida J, Nakagawa S. Genistein a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. *J Biol Chem* 1987; 262: 5592-5595.
 38. Onoda T, Iinuma H, Sasaki Y. Isolation of a novel tyrosine kinase inhibitor lavendustin A from *Streptomyces griseolavendus*. *J Nat Prod* 1989; 52: 1252-1257.
 39. Umezawa H, Imoto M, Sawa T. Studies on a new epidermal growth factor-receptor kinase inhibitor erbstatin produced by MH435-hF3. *J Antibiot (Tokyo)* 1986; 39: 170-173.
 40. Uehara Y, Murakami Y, Suzukake-Tsuchiya K. Effects of herbimycin derivatives on src oncogene function in relation to antitumor activity. *J Antibiot (Tokyo)* 1988; 41: 831-834.
 41. Levitzki A, Gazit A. Tyrosine kinase inhibition: an approach to drug development. *Science* 1995; 267: 1782-1788.
 42. Levitzki A. Tyrosine kinase blockers as novel antiproliferative agents and dissectors of signal transduction. *FASEB J* 1992; 6: 3275-3282.
 43. Fan Z, Baselga J, Masui H, Mendelsohn J. Antitumor effect of anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies plus cis-diamminedichloroplatinum on well established A431 cell xenografts. *Cancer Res* 1993; 53: 4637-4642.
 44. Baselga J, Norton L, Masui H. Antitumor effects of doxorubicin in combination with anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 1327-1333.