

Bases genéticas y moleculares del cáncer / 2a. parte

Cancer: molecular and genetic basis

L. Ferbeyre Binelfa,* J. C. Salinas García**

*Especialista en Oncología, Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología, La Habana, Cuba, Cirujano de cabeza y cuello, Instituto "Gustave Roussy", París, Francia, ** Especialista Cirujano Oncólogo, Hospital "Juárez" de México

Resumen

Se realizó una revisión bibliográfica sobre las bases genéticas y moleculares del cáncer. Se conoce que es una enfermedad genética compleja que incluye alteraciones en los genes involucrados en la proliferación, apoptosis, reparación del ADN y envejecimiento celular. La identificación de estos genes y sus productos ha permitido conocer mejor la etiología del cáncer y establecer nuevas estrategias para su diagnóstico, tratamiento y prevención.

Palabras clave: cáncer, neoplasia, biología molecular

Summary

A review of updated literature concerning cancer genetics and molecular basis was made.

It is well established that cancer is a complex genetic disease which includes alterations in genes involved in cell proliferation, apoptosis, DNA repair and cellular aging. The identification of all these genes and its products eventually lead to improve knowledge on cancer aetiology and establish new strategies on diagnosis, treatment and prevention.

Key words: cancer, neoplasm, molecular biology

Envejecimiento celular

El envejecimiento celular es un proceso ligado a la apoptosis. Todo lo que envejece de forma continua culmina con la muerte. Cuando una célula es capaz de tener una cantidad infinita de replicaciones sin afectar su esperanza de vida, es decir sin desencadenar la apoptosis, se le llama inmortal. Esto es bastante común en el cáncer.^{63, 64} Las células humanas tienen un reloj, llamado telómero (producido por telomerasas), y se localiza en la punta del cromosoma. Las puntas no se replican y en cada división celular se pierde un segmento, acortándose progresivamente. Este fenómeno es la traducción molecular de la senescencia o envejecimiento celular. Cuando el telómero llega a un tamaño crítico se dispara el mecanismo de la apoptosis al detenerse el ciclo celular.^{65, 66} En las bacterias los cromosomas son circulares y la ausencia de extremos y telómeros les permite ser inmortales. El embrión del mamífero resuelve su problema expresando la telomerasa que regeneran constantemente los telómeros, por lo cual la célula del embrión no envejece. En el adulto esta enzima no se activa en algunos tejidos como las células germinales, células madre de la médula ósea, piel y aparato gastrointestinal; sin embargo, en el cáncer alrededor del 90% de las células logran expresar telomerasa y el resto utilizan otro mecanismo para preservar los telómeros. Esto explica la capacidad de la célula cancerosa de dividirse indiscriminadamente sin envejecer.⁶⁷⁻⁶⁹ Otro trastorno en el mecanismo normal de envejecimiento se produce cuando existen oncoproteínas virales o mutaciones en los genes inductores de la senescencia. En este caso la célula no obedece al tamaño crítico del telómero

y en vez de que se produzca apoptosis, continúa dividiéndose y el telómero se erosiona hasta un nuevo bloqueo de la división celular que se produce con un telómero extremadamente corto, lo que se denomina crisis de cromosomas. Las divisiones que la crisis produce hacen que los cromosomas sean propensos a rotura y fusión de material genético con reordenamiento de genes, lo que genera todo tipo de mutaciones. Algunos autores sugieren que la afectación de la función de los telómeros, una vez que la célula franquea la crisis de cromosomas, es el paso inicial en la carcinogénesis y factor de la cascada de mutaciones que de manera escalonada experimentan las células durante la transformación neoplásica.⁷⁰ Hoy día, se ha logrado immortalizar células humanas mediante la transfección del gen de la telomerasa.⁶⁴

El uso de inhibidores de las telomerasas podría ser un perfil de tratamiento biológico del cáncer, pero hay que tener en cuenta las posibles reacciones secundarias sobre los tejidos normales que en el adulto expresa esta proteína.⁶⁵

Otras mutaciones

Una vez que la célula adquiere la capacidad de dividirse sin obedecer a los mecanismos reguladores, nuevas mutaciones se van añadiendo en cada división, produciendo células hijas capaces de expresar nuevas cualidades. Las nuevas células están dotadas con funciones aberrantes que les permiten incrementar la tasa y velocidad de replicación en una población tumoral cada vez más creciente. Una de estas funciones es la angiogénesis, fenómeno íntimamente relacionado a la progresión y diseminación neoplásica.⁷¹ Para la célula es

difícil sobrevivir a más de 100 micrones de un capilar donde la disponibilidad de oxígeno es muy baja. El rápido crecimiento y el consumo de energía acelerado de la célula tumoral la obliga a inducir angiogénesis y metabolismo anaerobio para sobrevivir. La regulación normal de la angiogénesis está mediada por factores estimulantes como el VEGF (*vascular endothelial growth factor*), FGF (*fibroblast growth factor*) entre otros; y factores inhibidores como la trombospondina, β interferón y angiostatina. Ya se ha comprobado que muchos tumores liberan factores estimulantes y bloquean los inhibidores.⁷²⁻⁷⁴ La proteólisis del colágeno de la matriz extracelular producida por enzimas liberadas por las células tumorales proporciona muchos de los factores estimulantes de la vascularización contenidos en la estructura proteica del colágeno, lo que hace que la invasión y la angiogénesis estén estrechamente ligadas.^{75,76} Muchas drogas antitumorales que se estudian hoy día, como interferones, interleucinas y anticuerpos monoclonales, tienen acción antiangiogénica por diferentes mecanismos. Otros agentes ya conocidos en el tratamiento del cáncer y otras enfermedades como penicilamina, talidomida y captopril, también tienen un efecto colateral antiangiogénico.⁷⁸⁻⁸¹

Una capacidad adquirida por las células cancerosas es la invasión de tejidos vecinos, lo cual causa destrucción incluso del tejido óseo. Este atributo de intensidad variable en cada tumor está presente gracias a la producción de enzimas proteolíticas, como las metaloproteinasas, entre ellas las colagenasas.^{1,5,76,82} Se ensayan muchos inhibidores de las metaloproteinasas en el tratamiento del cáncer y otras enfermedades como el marimastat, Ilomastat y metastat.^{77,83}

La adhesión celular es un proceso clave en la diferenciación y arquitectura tisular. Esta capacidad puede estar ausente en muchas neoplasias y ello les permite continuar su crecimiento fuera de los límites normales y desprenderse con facilidad para producir émbolos tumorales que propician la diseminación regional y a distancia. A este proceso se le denomina "pérdida de la inhibición por contacto".⁷⁶ Una proteína implicada en estas funciones es la E-Cadherina cuya expresión alterada en muchos tumores disminuye significativamente la adhesión celular,⁸⁴ lo cual es otra de las funciones que se intenta restablecer por medios biológicos como alternativa en la prevención y tratamiento del cáncer.

El incremento en la motilidad celular es un rasgo inherente al potencial maligno de una neoplasia. La superproducción de factores de motilidad es característica de muchos tumores humanos y estimula los movimientos de las células por los tejidos, facilitando su capacidad de invasión y metastización.⁸⁵ Este aumento puede producirse por un mecanismo autocrino y paracrino donde intervienen los factores de crecimiento, entre ellos el EGF (*epidermal growth factor*), HGF (*hepatocyte growth factor*), TGF α y el TGF β 1 (*transforming growth factor*).^{86,87}

Otras proteínas implicadas en el proceso de metastización son las integrinas que facilitan la adhesión de células tumorales

en capilares de órganos y tejidos distantes como hueso, hígado y pulmón, entre otros, permitiendo así la diseminación a distancia con la formación de nuevas colonias neoplásicas. La participación de estas proteínas en la progresión del cáncer de páncreas, glándulas salivales u ovario, ha sido estudiada recientemente y se le atribuye un papel fundamental en la implantación de colonias tumorales alejadas del tumor primario.⁸⁸⁻⁹¹

Otro gen muy estudiado, por su participación en el proceso metastásico, es el nm23, también conocido como gen supresor de metástasis o NDP quinasa. Su sobreexpresión se asocia a una disminución de la colonización independiente de anclaje, así como un incremento en la diferenciación celular, resultando además en menor invasión, motilidad celular y metastización. Al parecer el nm23 bloquea la señal de transducción a través de un receptor específico, involucrándose en la regulación negativa de genes asociados a la adhesión celular y motilidad (integrinas alfa 2, 8 y 9, colágeno VIII, fibronectina y catenina).⁹² La expresión del nm23 es un factor pronóstico de supervivencia en pacientes con cáncer de esófago,⁹³ mama,⁹⁴ y mucosa oral.⁹⁵

La inmunosupresión, otro fenómeno inherente a la carcinogénesis, puede ser una causa, consecuencia, o ambos, del cáncer. Muchas diferencias inmunitarias congénitas y adquiridas se asocian a una alta incidencia de cáncer. La infección por virus oncogénicos es el mecanismo más reconocido de producción de cáncer en los pacientes con síndromes de inmunodeficiencia congénitos, en las cuales es frecuente la presencia del virus de Epstein Barr asociado a linfomas.⁹⁶ En el síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) falla tanto la vigilancia inmunológica a células mutadas como a virus oncogénicos oportunistas. No sólo se describen los tumores clásicos asociados a VIH como el sarcoma de Kaposi y los linfomas, sino que también son frecuentes cáncer de pulmón, ano, cuello uterino, cabeza y cuello, entre otros, donde la historia natural de la enfermedad neoplásica suele ser modificada por una evolución desfavorable.⁹⁷

El desarrollo del cáncer representa una falla en la respuesta inmune antitumoral, ya que su función normal es reconocer antígenos asociados a tumores y desarrollar respuestas específicas mediadas por linfocitos T. Una forma de evadir este mecanismo es la no expresión de receptores de membrana a las células T, como se ha observado en el cáncer de páncreas, donde el receptor CD3-zeta está ausente, lo que implica mal pronóstico para el paciente.⁹⁸ Una posible área de investigación clínica consiste en reactivar el sistema inmune en el reconocimiento de antígenos tumorales, así como la creación artificial de anticuerpos contra blancos específicos de las células tumorales como rituximab, 90-Y-ibritumomab y trastuzumab, que no sólo son útiles en la terapéutica sino también en el diagnóstico. Rituximab fue el primer anticuerpo monoclonal aprobado en Estados Unidos para el tratamiento de linfomas refractarios, gracias a su acción inductora de la citotoxicidad y apoptosis en las células tumorales.⁹⁹

El origen, progresión y atributos biológicos de la célula tumoral son resultado de un complejo engranaje de alteraciones a nivel genético y molecular, diferentes en cada tipo de neoplasia y, a su vez, en cada tipo de huésped.^{100,101} Sería interminable disertar al detalle sobre cada uno de estos procesos. La célula normal está diseñada y dotada de mecanismos de control para la proliferación que la estimulan o inhiben según procesos fisiológicos de su entorno, regulados por factores de crecimiento autocrinos, paracrinos y endocrinos. También posee mecanismos que regulan la muerte celular programada, inducida ya sea por un número limitado de replications que propician el envejecimiento o por estímulos fisiológicos o de daño genético. La célula normal es capaz de reparar la mayor parte de las mutaciones causadas por su interacción con los agentes mutágenos del medio. Una o varias fallas en cualquiera de estos sistemas biológicos celulares es el origen de varios fenómenos que de manera irreversible conllevan al origen y diversidad biológica de las neoplasias, donde una población homogénea de células normales se convierte en una población heterogénea; revertir este proceso constituye uno de los objetivos primordiales en la lucha contra el cáncer.

Definición de cáncer

Teniendo en cuenta los aspectos básicos de actualidad podríamos definir el cáncer como un grupo grande y heterogéneo de enfermedades cuyo factor común es un desequilibrio que se produce en la relación proliferación/muerte celular a favor de la acumulación de células, provocado por mecanismos genéticos o epigenéticos. Las alteraciones genéticas pueden ser congénitas, adquiridas o ambas, y son producidas por mutaciones de etiología multifactorial en cualquier célula susceptible del organismo, alterando en un inicio el funcionamiento normal de algunos genes involucrados en la proliferación celular, apoptosis, envejecimiento celular y reparación del ADN y, posteriormente, otros genes relacionados con los procesos de angiogénesis, invasión, motilidad, adhesión y metastización, entre otros, cuya expresión cuantitativa y cualitativa confiere a dicha célula características fenotípicas y biológicas de malignidad que se traducen morfológica y evolutivamente por crecimiento y diseminación en sus diferentes modalidades y en grado variable según particularidades biológicas del tumor, anatómicas de su localización y generales del huésped (cuadro 1). Estas lesiones genéticas producen la enfermedad cancerosa responsable de la aparición de uno o más tumores con evolución y pronóstico variables que, según las estadísticas, resulta incontrolable y mortal en la mayoría de los casos.

Esta definición con aspectos etiológicos, genéticos, histomorfológicos, clínicos, evolutivos, estadísticos y hasta filosóficos nos acerca a una realidad compleja. Su conocimiento así como su definición, se irán perfeccionando en tanto la ciencia lo permita.

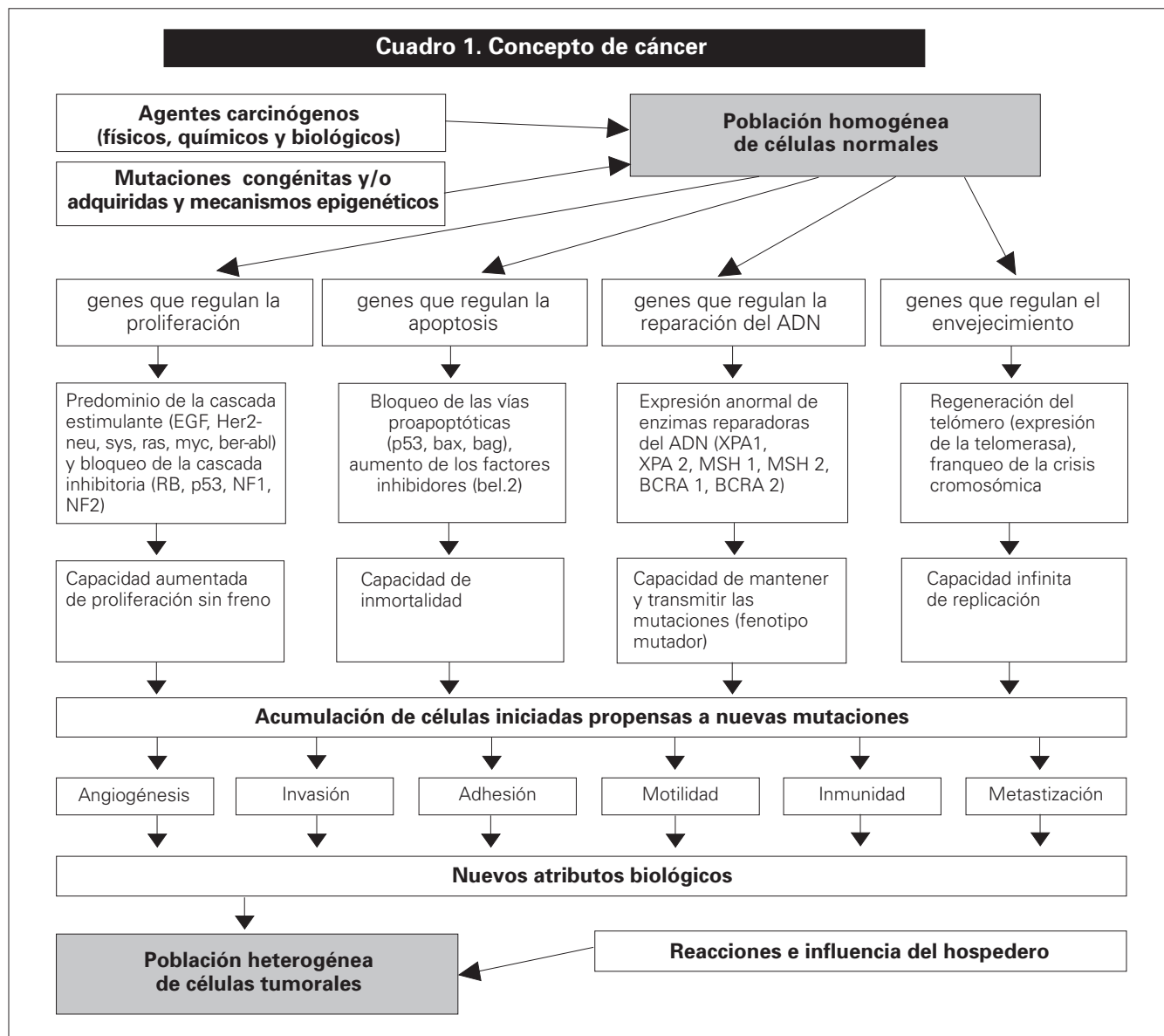
La amplitud del concepto obliga a los médicos a emplear

con preferencia el término neoplasia maligna o sencillamente el término designado por la nomenclatura actual, acompañado de su respectivo apellido que debe reflejar su verdadera estirpe, naturaleza, morfología y pronóstico. Las clasificaciones de tumores, cada vez más discriminativas y basadas en estudios de inmunohistoquímica y biología molecular, son un reflejo evidente del camino hacia la complejidad de lo infinito que pudieran resultar las manifestaciones genotípicas y fenotípicas del fenómeno cáncer, así como sus implicaciones en la práctica clínica.

Conclusiones

Hace exactamente 60 años Oswald Avery describió la naturaleza molecular del material genético. Éste fue el comienzo de lo que se convertiría en una ciencia que, aunque muy joven, ha hecho grandes aportes al estudio del origen del cáncer. Posteriormente, en 1953 Watson y Crick descubrieron la estructura en doble hélice del ADN, recibiendo por ello el premio Nobel por ser considerado un importante aporte a la biología molecular. Otro punto que cabe destacar es el descubrimiento de los oncogenes que marcó un hito en la investigación del cáncer y ha dictado pautas en su tratamiento biológico.^{102,103} Sería interminable la lista de premios Nobel y descubrimientos que en la mitad de siglo nos condujeron al mapa general del genoma humano en el año 2000. La biología molecular ha evolucionado de tal manera que nuevas disciplinas se han ramificado y de los simples experimentos de probeta se ha llegado a grandes proyectos biológicos que se realizan en laboratorios con tecnología de punta e inversiones millonarias. Por lo que ahora se conocen los mecanismos íntimos del cáncer y pueden ser utilizados para la prevención, diagnóstico precoz y curación de esta terrible enfermedad.

Nuevas ciencias en el futuro abrirán paso para enfrentar los nuevos desafíos en la biología molecular del cáncer. El desciframiento del genoma aportará un caudal importante de información. El conocimiento de la función de cada gen y de cada proteína codificada, así como sus interacciones con otros genes y proteínas del entorno molecular de la célula son sustrato para nuevas disciplinas: la genómica funcional, encargada de estudiar la totalidad del genoma, y la proteómica que se encarga de la totalidad de las proteínas expresadas. Es cuestión de dilucidar qué genes y proteínas están alterados en cada tumor y cuáles son sus interacciones. Nuevas técnicas han evolucionado a partir de la necesidad de procesar toda esta información. La creación de los llamados CHIPS de ADN o técnica de microconjuntos (micro *arrays*) permite observar simultáneamente la expresión de miles de genes en un tumor determinado, cosa que antes se hacía gen por gen. En un solo CHIP se pretende tener todos los marcadores de enfermedades conocidas para diagnosticar cualquier enfermedad con certeza y rapidez.¹⁰⁴ Para poder interpretar tanta información ya no es suficiente con el trabajo en equipo, es necesario auxiliarse de las computadoras. De ahí surge otra nueva dis-



ciplina: la bioinformática, la cual permite crear grandes bases de datos y realizar predicciones con la información acumulada. Con estas herramientas se podrá enfrentar la era posgenómica de la biología molecular y dilucidar las bases genéticas no sólo del cáncer sino de muchas otras enfermedades.

¿Se podrían curar todos los tipos de cáncer por medios biológicos conociendo cada una de las mutaciones y oncoproteínas en una población tumoral, manipulando genética y molecularmente a las células para revertir a la normalidad los mecanismos afectados? Es un sueño que algún día se hará realidad. Aunque el verdadero sueño sería la prevención, el diseño de un tratamiento biológico multitarget, está en camino. Ya existen productos que bloquean receptores a factores de crecimiento, otros que disparan la

apoptosis en las células tumorales, antiangiogénicos, bloqueadores de enzimas y proteínas que participan en la invasión y metastización. Moléculas cuya introducción en la práctica clínica cuesta años de trabajo e inversión.¹⁰⁵

En un reciente taller denominado “Validación de una relación causal: criterios para establecer una etiología” realizado en el *National Cancer Institute* donde participaron líderes internacionales en el campo de la epidemiología, química, bioquímica, microbiología, virología, carcinogénesis química y ambiental, inmunología, patología, patología molecular, genética, oncología y cirugía oncológica, se determinó a manera de consenso general que la mejor forma de combatir el cáncer es mediante la identificación y eliminación, siempre que sea posible, de los agentes carcinógenos una vez que

sea dilucidado su papel en el proceso de la carcinogénesis. De esta manera, la información proporcionada por los estudios de epidemiología, en las poblaciones y de patología molecular en cada paciente conjuntamente con la evidencia preclínica en animales de experimentación y cultivos de tejidos, pueden servir para definir pautas de salud en cuanto a prevención, diagnóstico precoz y tratamiento del cáncer.¹⁰⁶ Un ejemplo es la vacunación contra la hepatitis B con el objetivo de reducir la incidencia de hepatocarcinoma o el diagnóstico precoz de cáncer vesical o de colon con la determinación de oncogenes o genes supresores en la orina o en las heces fecales de los pacientes, o la terapia génica con vectores virales para introducir un gen normal del p53 en cáncer de pulmón.

¿Cuánto tiempo transcurrirá para que se elimine la cirugía oncológica? Es una pregunta inquieta para todos los que aman el bisturí y es probable que en pocos años no se observe esta situación; sin embargo, los cirujanos del futuro tendrán la suerte de dedicar más tiempo a enriquecer su vida espiritual.

Bibliografía

- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Patología Humana. Capt 6 pp 195-190. Sexta Edición McGraw-Hill Interamericana, 1997
- Koten JW, Neijt JP, Zonnenberg BA, Den Otter W. The difference between benign and malignant tumours explained with the 4-mutation paradigm for carcinogenesis. *Anticancer Res.* 1993 Jul-Aug;13(4):1179-82.
- Fearon ER. Molecular genetic studies of the adenoma-carcinoma sequence. *Adv Intern Med.* 1994;39:123-47.
- Yokota J, Sugimura T. Multiple steps in carcinogenesis involving alterations of multiple tumor suppressor genes. *FASEB J.* 1993 Jul;7(10):920-5.
- Weinberg RA. How cancer Arises. *Scientific American.* 1996;275:62-6
- Renan MJ: How many mutations are required for Tumorigenesis. Implications for human cancer data. *Mol Carcinog* 1993;7:139-146
- Sarasin A. An overview of the mechanisms of mutagenesis and carcinogenesis. *Mutat Res.* 2003 Nov;544(2-3):99-106.
- Steen HB. The origin of oncogenic mutations: where is the primary damage *Carcinogenesis.* 2000 Oct;21(10):1773-6.
- Sidransky D. Molecular biology of head and neck tumors in cancer: principles and practice of Oncology. Fifth Edition, edited by Vincent T DeVita, Samuel Hellman, Steven A Rosenberg. Lippincott. Publishers Philadelphia 1997, Chapter 29, Section 1.
- Sanz L, García-Marco JA, Casanova B, de La Fuente MT, García-Gila M, García-Pardo A, Silva A. Bcl-2 family gene modulation during spontaneous apoptosis of B-chronic lymphocytic leukemia cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004 Mar 12;315(3):562-7.
- Katsumata K, Sumi T, Tomioka H, Aoki T, Koyanagi Y. Induction of apoptosis by p53, bax, bcl-2, and p21 expressed in colorectal cancer. *Int J Clin Oncol.* 2003 Dec;8(6):352-6.
- Pearson PL, Van der Luijt RB. The genetic analysis of cancer. *J Intern Med.* 1998 Jun;243(6):413-7.
- Devereux TR, Risinger JI, Barrett JC. Mutations and altered expression of the human cancer genes: what they tell us about causes. *IARC Sci Publ.* 1999;(146):19-42.
- Murakami Y, Sekiya T. Accumulation of genetic alterations and their significance in each primary human cancer and cell line. *Mutat Res.* 1998 May 25;400(1-2):421-37.
- Sen S. Aneuploidy and cancer. *Curr Opin Oncol.* 2000 Jan;12(1):82-8.
- Tredaniel J, Zalcman G, Douriez E. Genes and enzymes involved in the metabolism of carcinogens. *Bull Cancer.* 1995;82 Suppl 2:77s-84s.
- Grander D. How do mutated oncogenes and tumor suppressor genes cause cancer? *Med Oncol.* 1998 Apr;15(1):20-6.
- Bos JL. Ras oncogene in human cancer: a review. *Cancer Res* 1989; 49:4682-89.
- Croce CM, Erikson J, Tsujimoto Y, Nowell PC. Molecular basis of human B and T cell neoplasia. *Adv Viral Oncol* 1987;7:35-50.
- Lugo T, Pendergast AM, Muller AJ, Witte ON. Tyrosine kinase activity and transformation potency of bcr-abl oncogene products. *Science* 1990; 247:1079-82.
- Cleary ML, Smith SD, Sklar J. Cloning and structural analysis of c-DNAs for bcl-2 and a hybrid bcl-2/immunoglobulin transcript resulting from the t(14;18) translocation. *Cell* 1986; 47:19-28.
- Schwab M. Oncogene amplification in solid tumors. *Semin Cancer Biol.* 1999 Aug;9(4):319-25.
- Brisson O. Gene amplification and tumor progression BBA 1993; 1155:25-41.
- Rikimaru K, Tadokoro K, Yamamoto T, et al. Gene amplification and over-expression of epidermal growth factor receptor in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Head Neck* 1992;14:8.
- Crook T, Wrede D, Tidy JA et al. Clonal p53 mutation in primary cervical cancer: association with human papilloma virus negative tumours. *Lancet* 1992; 339:1070-73
- Wotherspoon AC, Doglioni C, Diss TC. Regression of primary low-grade B-cell gastric lymphoma of mucose associated lymphoid tissue type after eradication of *Helicobacter Pylori*. *Lancet* 1993;342:575-77.
- Sherr CJ. Principles of tumour suppression. *Cell.* 2004 Jan 23;116(2):235-46.
- Weichselbaum RR, Beckett M, Diamond A. Some retinoblastomas, osteosarcomas and soft tissue sarcomas may share a common aetiology. *PNAS* 1988;85:2106-09.
- Smith KJ, Johnson KA, B, Bryan TM, et al. The APC gene product in normal and tumor cells. *PNAS* 1993;90:2846-2850.
- Fishel R, Lescoe MK, Rao MRS, et al. The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary non polyposis colon cancer. *Cell* 1993;75:1027-38.
- Malkin D, Li PF, Strong LC, Fraumeni JF, et al. Germ like p53 mutation in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas and other neoplasms. *Nature* 1990;250:1233-38.
- Nelkin BD, Baylin SB. *Ret* oncogene responsible for MEN2a. *Current Biology* 1993;3:477-490.
- Miki Y, Swensen J, Shattuck E, et al. Isolation of BRCA-1, the 17q linked breast cancer and ovarian susceptibility gene. *Science* 1994;265:181-86.
- Hastie ND. Wilms tumour gene and function. *Curr Op Genet Dev* 1993; 3:408-13.
- Richard S, Chauveau D, Beigelman C, Gaudric A, Olschwang S, van Effenterre R, Resche F. La maladie de von Hippel Lindau: aspects actuels. *Le Concours Medical* 1994;116:1537-1542.
- Oren M. Decision making by p53: life, death and cancer. *Cell Death Differ.* 2003 Apr;10(4):431-42.
- Chung YC, Mukhopadhyay T, Kim J, et al. Discordant p53 gene mutations in primary head and neck cancers and corresponding second primary cancers of upper aerodigestive tract. *Cancer Res.* 1993;53:1676-83.
- Milner J, Medcalf A. Cotranslation of activated mutant p53 with wild type, drives the wild type p53 protein into the mutant conformation. *Cell* 1991; 65:765-74.
- Momand J, Zambetti GP, Olson DC, et al. The mdm-2 oncogene product forms a complex with the p53 protein and inhibits p53 mediated transactivation. *Cell* 1992;69:1237-45.
- Crawford L, Tommasino M. Oncogenes and antioncogenes in the development of HPV associated tumours. *Clin Dermatol.* 1997 Mar-Apr;15(2):207-15.
- Rothenberg ME, Jan YN. *Salvador*: the persistence of proliferation. *Cancer Cell.* 2002 Sep;2(3):171-3.
- Wyllie AH, Kerr JFR, Currie AR. Cell death the significance of apoptosis. *Int Rev Cytol* 1980;68:251
- Arango Prado MC, et al. La apoptosis: sus características y su papel en la transformación maligna de la célula. *Rev Cub Oncol* 1997;13(2):126-134
- Dlamini Z, Mbata Z, Zungu M. Genealogy, expression, and molecular mechanisms in apoptosis. *Pharmacol Ther.* 2004 Jan;101(1):1-15.
- Crocker B, Hart A. Cancer and programmed cell death. *Genome Biol.* 2003;4(5):318.
- Schultz DR, Harrington WJ Jr. Apoptosis. programmed cell death at a molecular level. *Semin Arthritis Rheum.* 2003 Jun;32(6):345-69.
- Gasman BR. Apoptosis and its clinical impact. *Head Neck.* 2001 May;23(5):409-25.
- Osborne BA, Schwrtz LM. Essential genes that regulate apoptosis. *Trends in Cell Biol* 1994;4:394-99
- Steller J. Mechanisms and genes of cellular suicide. *Science* 257: 1445,1995
- Cappello F, Bellafiore M, Palma A, Bucchieri F. Defective apoptosis and tumorigenesis: role of p53 mutation and Fas/FasL system dysregulation. *Eur J Histochem.* 2002;46(3):199-208.
- Kho PS, Wang Z, Zhuang L, Li Y, Chew JL, Ng HH, Liu ET, Yu Q. P53-regulated transcriptional program associated with genotoxic stress-induced apoptosis. *J Biol Chem.* 2004 May 14;279(20):21183-92.
- Hollstein M, Sidranski D, Vogelstein B, Harris C. P53 mutations in human cancer. *Science* 1991;253:4953
- Altieri DC. *Survivin* in apoptosis control and cell cycle regulation in cancer. *Prog Cell Cycle Res.* 2003;5:447-52
- Wyllie AH. *E2F1* selects tumour cells for both life and death. *J Pathol.* 2002 Oct; 198(2):139-41.
- Popescu NC. Comprehensive genetic analysis of cancer cells. *J Cell Mol Med* 2000;4(3):151-163.
- Zhao JJ, Roberts TM, Hahn WC. Functional genetics and experimental models of human cancer. *Trends Mol Med.* 2004 Jul;10(7):344-50.
- Soehnge H, Ouhit A, Ananthaswamy ON. Mechanisms of induction of skin cancer by UV radiation. *Front Biosci.* 1997 Nov 1; 2:D538-51.

58. Ishikawa T, Zhang SS, Qin X, Takahashi Y, Oda H, Nakatsuru Y, Ide F. DNA repair and cancer: lessons from mutant mouse models. *Cancer Sci*. 2004 Feb; 95(2):112-7.
59. Magnaldo T. Xeroderma pigmentosum: from genetics to hopes and realities of cutaneous gene therapy. *Expert Opin Biol Ther*. 2004 Feb;4(2):169-79.
60. Baccarelli A, Calista D, Minghetti P, Marinelli B, Albetti B, Tseng T, Hedayati M, Grossman L, Landi G, Struewing JP, Landi MT. *XPD* gene polymorphism and host characteristics in the association with cutaneous malignant melanoma risk. *Br J Cancer*. 2004 Jan 26;90(2):497-502.
61. Plaschke J, Kruger S, Dietmaier W, Gebert J, Sutter C, Mangold E, Pagenstecher C, Holinski-Feder E, Schulmann K, Moslein G, Ruschoff J, Engel C, Evans G, Schackert HK; German HNPCC Consortium. Eight novel *MSH6* germline mutations in patients with familial and nonfamilial colorectal cancer selected by loss of protein expression in tumor tissue. *Hum Mutat*. 2004 Mar;23(3):285.
62. Wang Z. DNA damage-induced mutagenesis: a novel target for cancer prevention. *Mol Interv*. 2001 Dec;1(5):269-81. 63. Hahn WC. Immortalization and transformation of human cells. *Mol Cells*. 2002 Jun 30;13(3):351-61.
63. Hahn WC. Immortalization and transformation of human cells. *Mol Cells*. 2002 Jun 30;13(3):351-61.
64. Lundberg AS, Randell SH, Stewart SA, Elenbaas B, Hartwell KA, Brooks MW, Fleming MD, Olsen JC, Miller SW, Weinberg RA, Hahn WC. Immortalization and transformation of primary human airway epithelial cells by gene transfer. *Oncogene*. 2002 Jul 4; 21(29):4577-86.
65. Meyerson M. Role of telomerase in normal and cancer cells. *J Clin Oncol*. 2000 Jul;18(13):2626-34.
66. Balasubramanian S, Singh N. The role of telomeres and telomerase in human cancer. *Indian J Physiol Pharmacol*. 1996 Jul; 40(3):199-204.
67. Klingelutz AJ. The roles of telomeres and telomerase in cellular immortalization and the development of cancer. *Anticancer Res*. 1999 Nov-Dec;19(6A):4823-30.
68. Masutomi K, Hahn WC. Telomerase and tumorigenesis. *Cancer Lett*. 2003 May 15;194(2):163-72.
69. Newbold RF. The significance of telomerase activation and cellular immortalization in human cancer. *Mutagenesis*. 2002 Nov;17(6):539-50.
70. Maser RS, DePinho RA. Connecting chromosomes, crisis, and cancer. *Science*. 2002 Jul 26;297(5581):565-9.
71. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med*. 1971;285:1182-1186.
72. Harris AL. Are angiostatin and endostatin cures for cancer? *Lancet*. 1998; 351:1598-1599.
73. O'Reilly MS, Holmgren L, Chen C, et al. Angiostatin induces and sustains dormancy of human primary tumors in mice. *Nat Med*. 1996;2:689-692.
74. O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, et al. Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell*. 1997;88:277-285.
75. Rodríguez Fragoso L, Jurado León FR, Reyes- Esperanza JA. La proteólisis en la invasión y metástasis de la célula tumoral. *Cancerología* 2000;46 (1):33-46 (México).
76. Ruoslahti E. How Cancer Spreads. *Scientific American*. 1996;275:72-5
77. Rasmussen HS, McCann PP. Matrix metalloproteinase inhibition as a novel anticancer strategy: a review with special focus on batimastat and marimastat. *Pharmacol Ther*. 1997;75:69-75.
78. Baidas SM, Isaacs C, Crawford J, et al. A phase II evaluation of thalidomide in patients with metastatic breast cancer. *Proc Annu Meet Am Soc Clin Oncol*. 1999:475.
79. Volpert OV, Ward WF, Linggen MW, et al. Captopril inhibits angiogenesis and slows the growth of experimental tumors in rats. *J Clin Invest*. 1996;98:671-679.
80. Brem S, Gately S, Takano S, et al. Captopril selectively inhibits endothelial proliferation *in situ* in the rat C6 glioma. *Proc Annu Meet Am Assoc Cancer Res*. 1994;35:398.
81. Brem S, Wotoczek-Obadia MC. Regulation of angiogenesis by copper reduction and penicillamine: antagonism of cytokine and growth factor activity. AACR Special Conference: *Angiogenesis and Cancer Research*. Orlando, Fla; January 24-28, 1998.
82. Fidler IJ. Molecular biology of cancer: invasion and metastasis. In: *Cancer: principles and practice of Oncology*, fifth edition, edited by Vincent T DeVita, Samuel Hellman, Steve A. Rosenberg Lipincott Raven Publishers, Philadelphia, 1997 capt 7 pp 135-151.
83. Rudek MA, Dyer V, Hamilton JM, et al. Preliminary pharmacokinetics (PK) of COL-3, a matrix metalloproteinase (MMP) inhibitor. *Clin Pharmacol Ther*. 1999;65:195.
84. Pignatelli M, Vessey CJ. Adhesion molecules: novel molecular tools in tumor pathology. *Hum Pathol*. 1994 Sep;25(9):849-56.
85. Otto T, Luemmen G, Bex A, Suhr J, Goebell PJ, Raz A, Ruebben H. Tumor cell motility as a novel target in cancer experimental and clinical results. *Onkologie* 2002 Apr;25(2):172-7.
86. Hasina R, Matsumoto K, Matsumoto-Taniura N, Kato I, Sakuda M, Nakamura T. Autocrine and paracrine motility factors and their involvement in invasiveness in a human oral carcinoma cell line. *Br J Cancer* 1999 Aug;80(11):1708-17
87. Wells A. Tumor invasion: role of growth factor-induced cell motility. *Adv Cancer Res* 2000;78:31-101.
88. Rolli M, Fransvea E, Pilch J, et al. Activated integrin alphavbeta3 cooperates with metalloproteinase MMP-9 in regulating migration of metastasis breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* (United States), Aug 5 2003, 100(16) p9482-7.
89. Sawai H, Funahashi H, Matsuo Y, et al. Expression and prognostic roles of integrins and interleukin-1 receptor type I in patients with ductal adenocarcinoma of the pancreas. *Dig Dis Sci* (United States), Jul 2003, 48(7) p1241-50.
90. Loducca SV, Mantesso A, Kapas S, et al. Salivary gland tumours: immunoprecipitation of integrins beta 1, beta 3 and beta 4. *J Oral Pathol Med* (Denmark), May 2003, 32(5) p305-9.
91. Strobel T, Cannistra SA. Beta1-integrins partly mediate binding of ovarian cancer cells to peritoneal mesothelium *in vitro*. *Gynecol Oncol* (United States), Jun 1999, 73(3) p362-7.
92. Ouatas T, Salerno M, Palmieri D, Steeg PS. Basic and translational advances in cancer metastasis: Nm23. *J Bioenerg Biomembr* 2003 Feb;35(1):73-9
93. Wang LS, Chow KC, Lien YC, Kuo KT, Li WY. Prognostic significance of nm23-H1 expression in esophageal squamous cell carcinoma. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004 Aug;26(2):419-24.
94. Zhao H, Jhanwar-Uniyal M, Datta PK, Yemul S, Ho L, Khitrov G, Kupersmidt I, Pasinetti GM, Ray T, Athwal RS, Achary MP. Expression profile of genes associated with antimetastatic gene: nm23-mediated metastasis inhibition in breast carcinoma cells. *Int J Cancer* 2004 Mar;109(1):65-70.
95. Wang YF, Chow KC, Chang SY, Chiu JH, Tai SK, Li WY, Wang LS. Prognostic significance of nm23-H1 expression in oral squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2004 Jun 1;90(11):2186-93
96. Purtilo DT. Immune deficiency predisposing to Epstein Barr Virus-induced lymphoproliferative diseases: the X-linked lymphoproliferative syndrome as a model. *Adv Can Res* 1981;34:279-312.
97. Peyrade F, Taillan B, Lebrun C, Dujardin P. Cancer in patients infected with the human immunodeficiency virus. The unusual aspects. *Presse Med* 1999 Apr 17;28(15):809-14
98. Ungefroren H, Voss M, Bernstorff WV, Schmid A, Kremer B, Kalthoff H. Immunological escape mechanisms in pancreatic carcinoma. *Ann N Y Acad Sci* 1999 Jun 30;880:243-51
99. Grillo-Lopez AJ, White CA, Varns C, Shen D, Wei A, McClure A, Dallaire BK. Overview of the clinical development of rituximab: first monoclonal antibody approved for the treatment of lymphoma. *Semin Oncol* 1999 Oct;26(5 Suppl 14):66-73
100. Karp JE, Broder S. Molecular foundations of cancer: new targets for intervention. *Nature MED*. 1:309, 1995.
101. Mihich E, Feunteun J, Friend S. Thirteenth annual pezcoller symposium: focusing analytical tools on complexity in cancer. *Cancer Res*. 2002 Jul 1;62(13):3883-7.
102. Chabert-Gisselbrecht S. Oncogenes and their discovery. *Rev Prat*. 1995 Oct 1;45(15):1873-80.
103. Jansen B, Zangemeister-Wittke U. Antisense therapy for cancer-the time of truth. *Lancet Oncol*. 2002 Nov;3(11):672-83.
104. Greer BT, Khan J. Diagnostic classification of cancer using DNA microarrays and artificial intelligence. *Ann N Y Acad Sci*. 2004 May;1020:49-66.
105. Felsner DW. Reversibility of oncogene-induced cancer. *Curr Opin Genet Dev*. 2004 Feb;14(1):37-42.
106. Carbone M, Klein G, Gruber J, Wong M. Modern criteria to establish human cancer aetiology. *Cancer Res*. 2004 Aug 1;64(15):5518-24.