

EL CICLO CELULAR Y LA CARCINOGENÉISIS

F. Solé Balcells

Los urólogos manejamos términos comunes en el diagnóstico y tratamiento de los tumores vesicales: tumor superficial o infiltrante, carcinoma in situ, resección endoscópica, cistectomía radical, instilaciones endovesicales, quimioterapia sistémica... Para los investigadores el carcinoma vesical se interpreta con diferente lenguaje: factores de crecimiento y sus receptores, oncogen ras, oncogen myc, proteína p53, gen del retinoblastoma...

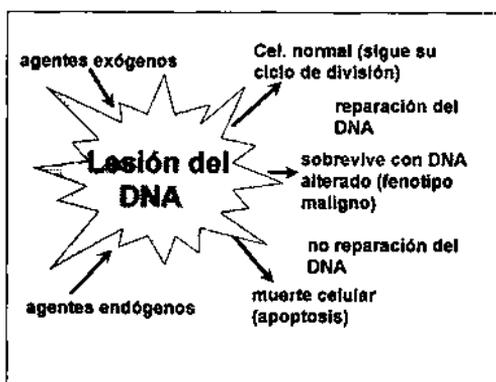
Los conocimientos de los investigadores empiezan a traducirse en métodos de mejorar el diagnóstico y el pronóstico (estudio por inmunohistoquímica del p53 en tumores vesicales por ejemplo, así como en métodos terapéuticos, algunos de ellos en estudio clínico).

Al urólogo le compete en este momento comprender la terminología de la Biología Molecular, y para ello debe empezar por conocer la fisiología celular normal, y de ello deducir las causas por las que se modifica hasta pasar una célula normal a ser una célula cancerosa.

Los agentes exógenos o endógenos que pueden alterar la normal funcionalidad celular lo hacen mediante lesión de su DNA. La célula intenta (y generalmente consigue) reparar el DNA alterado, y la célula sigue entonces en su ciclo de división, o bien, si no lo consigue, la célula muere (apoptosis). Pero en ocasiones la célula sobrevive a la lesión del DNA, sin reparar la misma,

quedando una alteración genética permanente o sea un fenotipo maligno. Así pues la célula ante su DNA lesionado tiene tres opciones: dividirse después de reparar la lesión, morir si no lo consigue o sobrevivir bajo distinto fenotipo.

¿En qué punto y cómo se repara la lesión del DNA? ¿Por qué mecanismos la célula se vuelve cancerosa?

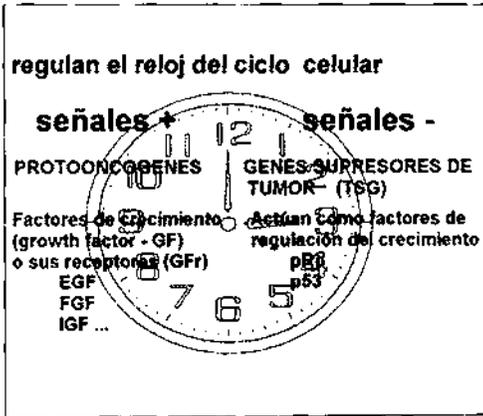


Regulación del ciclo celular. La vida es un permanente equilibrio entre dos fuerzas, una positiva y otra negativa. La homeostasis de los tejidos normales se mantiene por un balance o equilibrio entre proliferación y muerte celular. Se produce un tumor cuando el crecimiento celular excede a la muerte celular, ya sea por aumento del número de células en proliferación, por disminución del número de células que mueren, o por ambos hechos a la vez.

En términos de Biología Molecular, esta homeostasis se traduce en forma

simplista en la actuación de **proto-oncogenes** (señales positivas) y **genes supresores de tumor (TSG)**, con señales negativas.

Los proto-oncogenes actúan en forma de estímulo para dar lugar a proteínas que actúan como **factores de crecimiento** (Growth-Factor: GF) o sus re-



ceptores (GFr). Los genes supresores de tumores actúan como factores de regulación del crecimiento celular. Hasta el momento se han identificado más de 100 proto-oncogenes y unos 15 genes supresores de tumores y sin lugar a dudas su número crecerá a medida que se incrementa el conocimiento en Biología Molecular.

¿Cómo actúan los proto-oncogenes y los genes supresores de tumor en el ciclo celular normal?

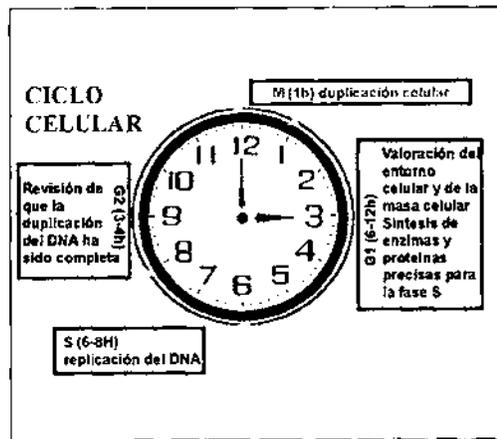
La acción de los proto-oncogenes y los TSG, se ejerce a través de las proteínas que producen y debe ser comprendida en términos de cómo y de qué manera influyen en el reloj del ciclo celular.

La célula se divide para dar dos células hijas idénticas en un proceso conti-

nuo en 18-25 horas. Primeramente la célula entra en la denominada fase G_1 , de 6 a 12 horas de duración, en la que efectúa una valoración de su masa celular y del entorno, realizando la síntesis de enzimas y proteínas precisas para el doblaje del DNA. A la fase G_1 le sucede la fase S (6-8 horas) de síntesis o replicación del DNA, y a ella le sucede la fase G_2 (3-4 horas) en que se comprueba si la duplicación del DNA ha sido completa, entrando finalmente la célula en la fase M o de mitosis (1 hora) en que se produce la duplicación celular.

La célula resultante puede seguir tres caminos distintos:

- Diferenciación celular definitiva
- Entrar en fase de aquiescencia o reposo (G_0)
- O bien, reiniciar el ciclo de división celular (G_1)



La célula sale de la fase G_0 y entra en G_1 o directamente pasa de la fase de mitosis a G_1 , por estimulación producida por factores extracelulares activadores, los Growth Factors. Los GF o factores de crecimiento son proteínas

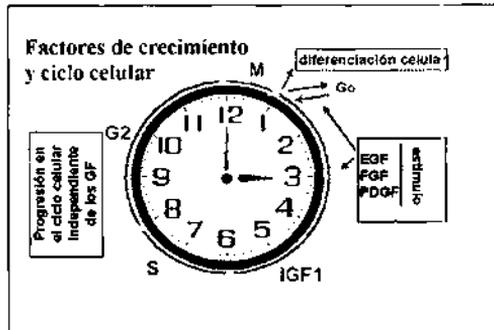
originadas por la activación de proto-oncogenes. Entre los principales cabe citar:

- Epidermal Growth Factor (EGF), producto del oncogen C-erb-B2
- Fibroblast Growth Factor (FGF), del oncogen Int-2
- Platelet Derived Growth Factor (PDGF), del oncogen C-sis
- Insulin Like Growth Factor (IGF), del oncogen ros
- Transforming Growth Factor a (TGF-a), con el mismo receptor que el EGF
- Transforming Growth Factor B-1 (TGF B-1), con efecto inhibidor

EGF, PDGF, FGF y TFG-a actúan a nivel de la parte inicial de la fase G₁ del ciclo celular, mientras que el IGF actúa en su fase final.

El EGF, polipéptido de 53 aminoácidos, producido por el proto-oncogen C-erb-B2 es el más conocido de los GF, siendo preciso para la proliferación y desarrollo de las células del ectodermo, mesodermo, y endodermo, desempeñando un importantísimo papel en la embriogénesis, en la diferenciación celular, y en la angiogénesis.

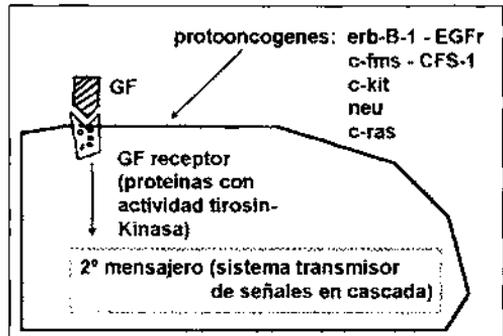
El TGF B-1, actúa en sentido contrario, como inhibidor del ciclo celular a nivel de G₁, pudiendo evitar su entrada en la fase S.



Una vez la célula alcanza el punto G₁-S y empieza la síntesis del DNA se vuelve insensible a los GF, y sigue en forma autónoma su progresión en el ciclo celular.

“En contraste con las células normales, las células cancerosas tienen disminuida su respuesta frente a los Growth Factor estimuladores (EGF) en fase G₁ y tienen perdida su capacidad de detener su crecimiento en respuesta a las señales inhibitorias del TGF-B1”. En otras ocasiones la oncogénesis se debe a un aumento en la cantidad de GF estimuladores o de sus receptores y en caso de aumento de TGF-B1 por la insensibilidad a la respuesta inhibitoria.

Los GF transmiten su señal a la célula mediante su unión al receptor específico. Los receptores de los factores de crecimiento son proteínas, también producto de proto-oncogenes (erb-B1, c-fms, c-kid, neu...) con actividad tirosin-



kinasa. La mayor parte de receptores de los factores de crecimiento transmiten su señal vía tirosin-kinasa intracelular, es decir, mediante enzimas que modifican la conducta de las proteínas mediante fosforilización de la tirosina. Se han identificado más de 50 receptores

con actividad tirosin-kinasa.

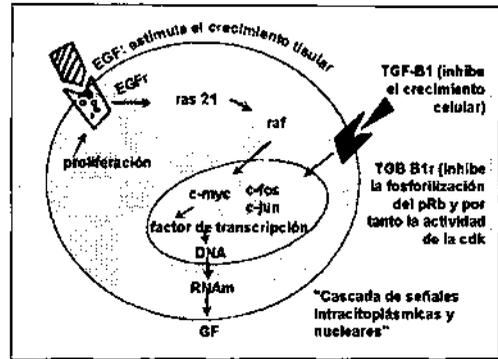
Cada receptor del factor de crecimiento viene originado por un determinado y específico proto-oncogen, y así el erb-B1 es el responsable de la producción del receptor del EGF, el oncogen c-ros del receptor del IGF, etc.

La unión del factor de crecimiento a su receptor da lugar a un sistema transductor de señales o segundo mensajero, constituido por proteínas citoplasmáticas, originadas por estímulos de otros oncogenes, con una serie de reacciones bioquímicas en cascada hasta llevar el estímulo a los oncogenes intranucleares.

El mecanismo interno intracelular de la acción de los factores de crecimiento se ha estudiado especialmente a través del EGF. De su unión con el receptor específico (EGFr) se origina una señal estimuladora que activa el proto-oncogen intracitoplásmico ras21, el cual a su vez activa el proto-oncogen raf, quien a través de una serie de señales intermedias, lleva el estímulo a los proto-oncogenes intranucleares, activando el c-myc, conjuntamente con el c-fos y el c-jun, que actúan como factores de transcripción.

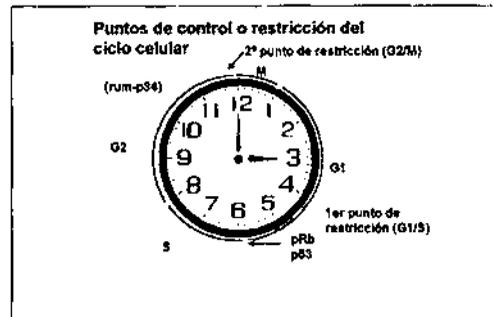
El factor de crecimiento Transforming Growth Factor B-1 (TGF B-1) actúa como inhibidor del crecimiento celular, pudiendo detener el ciclo en forma reversible en la parte final de la fase G₁, antes de su entrada en la fase S. Tiene asimismo un receptor específico con actividad tirosin-kinasa. Su acción inhibitoria se produce por impedir la fosforilización del pRb y por tanto la actividad de las "ciclin-dependient-kinasa" (cdk), tal como se describirá más adelante.

El TGF B1 actúa pues regulando la



proliferación celular, y asimismo modular el sistema inmune, activándose como respuesta a la lesión tisular.

Puntos de control del ciclo celular. El ciclo celular viene regulado por varios controles o puntos de restricción, que evitan el pase a la fase siguiente si se demuestra algún defecto en la fase anterior. Los dos principales puntos de restricción o control son el paso G₁-S y el paso G₂-M.

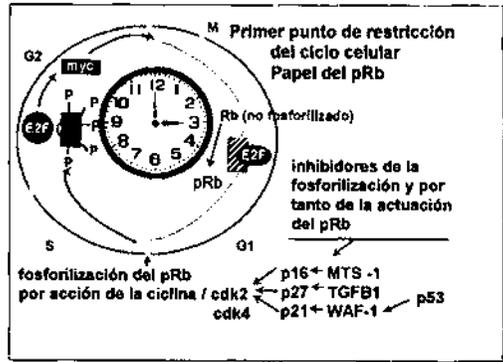


El más importante de los puntos de control es el primer punto de restricción (paso G₁-S o punto start que se ejerce mediante las acciones del gen del retinoblastoma (Rb) y el gen p53. El gen del **gen del retinoblastoma** situado en la banda 14 del cromosoma 13 (13q14), codifica una proteína de 110 aminoácidos.

dos (p110 Rb), que cambia su fosforilización durante el ciclo celular. Esta fosforilización o desfosforilización es precisamente lo que regula su actividad. En G_1 la pRb no está fosforilizada y se une al factor de transcripción E_2F . A nivel del punto de restricción G_1-S se fosforiliza por la actividad de los complejos "ciclina-quinasa-dependientes" (cdk), con lo que se libera el E_2F y se posibilita la transcripción. Los complejos ciclina-ciclina-quinasa-dependientes (ciclina-cdk) ejecutan su función reguladora mediante la fosforilización de las proteínas involucradas en los puntos de transición, tales como el pRb. La ciclina actúa como elemento regulador y la proteína quinasa dependiente (cdk) actúa como unidad catalítica.

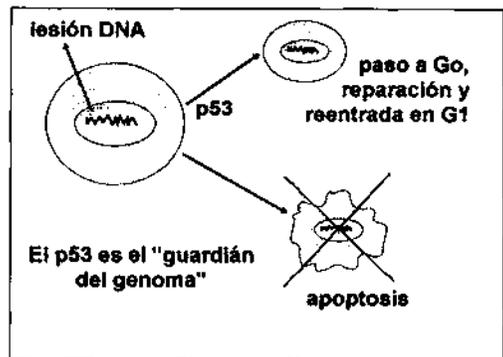
El gen Rb da lugar a la proteína pRb que se encuentra desfosforilizada en la fase M y G_1 , quedando unida a la fase G_1 al factor de transcripción E_2F . Al llegar al punto start la pRb se fosforiliza por la acción del complejo ciclina-cdk2, con lo que cede el factor de transcripción E_2F , que actúa sobre el oncogén myc, para estimular la replicación del DNA. Existen una serie de genes que inhiben la fosforilización del pRb, y por tanto la inactivan, tales como el MTS-1 productor de la proteína p16, el WAF-1 productor de la p21 y el TGF-B.1 productor de la p27. La liberación del E_2F , al desprenderse del pRb por su fosforilización, posibilita la entrada de la célula en fase de síntesis.

El otro importante factor de control en el punto G_1-S es el **gen tumor supresor p53** con su proteína p53 "Wild-type" o nativa, que identifica los posibles errores del DNA y frena el ciclo celular si lo precisa. El gen p53 se encuentra en



la banda 13 del brazo corto del cromosoma 17 (17p13), contiene 11 exones y codifica una proteína de 393 aminoácidos y 53 kb (p53 Wt), que da lugar a un RNA m de 2,5 kd que es quien produce la proteína p53, llamada así por tener una longitud de 53 kd.

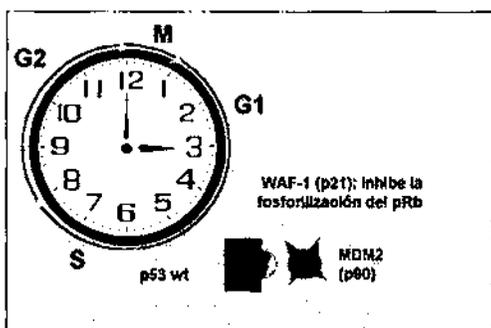
La p53 se acumula en el citoplasma en la fase G_1 y penetra en el núcleo, si no existe lesión en el DNA; durante unas 3 horas, para permitir la replicación del DNA. Luego se acumula de nuevo en el citoplasma. La p53 bloquea la replicación del DNA si existen errores en el mismo, evitando el paso de G_1 a S, ya sea pasando la célula a la fase G_0 , y procediendo si es posible a su reparación, o bien, si no consigue su normalización lleva la célula al fenómeno



denominado Apoptosis, "suicidio inducido" o "muerte programada".

El p53 a su vez es controlado por el gen MDM.2 (que codifica la proteína p93). La proteína p53 actúa sobre el gen WAF.1 (p21), que según hemos indicado antes inhibe la fosforilización del pRb (correlación entre pRb y p53).

La clave de que se produzca la transición, paso de G₁ a S en el ciclo celular, viene controlada por la activación de las "ciclin-dependent-kinasas" (cdk)

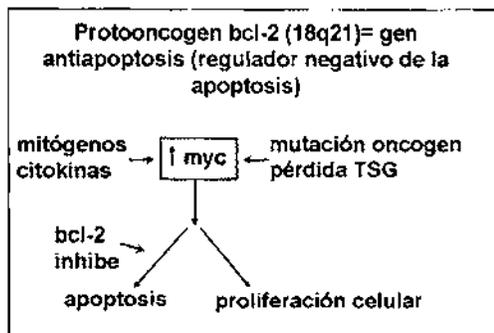


que, como se ha señalado antes, fosforilizan en el punto de restricción y activan proteínas específicas para transmitir la orden de síntesis del DNA.

Frente al p53 que actúa como gen tumor supresor, capaz de inducir la muerte celular, se contrapone el **proto-oncogen bcl-2** o gen antiapoptosis (18q21), que actúa como regulador negativo de la apoptosis. El proto-oncogen bcl-2 fabrica una proteína citoplásmica de 26 kd, que se encuentra en la cara externa de la membrana nuclear, en el retículo endoplasmático y en la membrana externa de las mitocondrias. La proteína bcl-2 posibilita que la célula sobreviva frente a diversos insultos, tales como: radiación, drogas citotóxicas, etc.

Trabajos recientes demuestran que el proto-oncogen myc, al ser estimulado por mitógenos o citocinas, o como consecuencia de una mutación oncogénica, o por la pérdida de un gen tumor supresor, desencadena una simultánea apoptosis y proliferación celular, dependiendo el resultado final del nivel de bcl-2, capaz de inducir o inhibir el número de células en apoptosis.

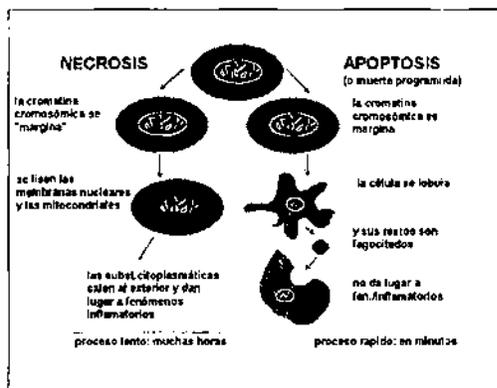
La apoptosis y la necrosis son dos tipos totalmente distintos de muerte celular. La necrosis es una respuesta patológica a la lesión celular severa: la cromatina forma grumos, se hinchan las mitocondrias, se lisa la membrana en citoplasmática y la célula derrama su contenido en su entorno, dando lugar a un proceso inflamatorio. La apoptosis (del griego apoptosis = hojas caídas del



árbol), es una respuesta celular fisiológica frente a determinadas señales o consecuencia de la ausencia de otras señales. Se trata de un fenómeno activo y genéticamente controlado: la cromatina se condensa en grandes masas junto a la membrana nuclear, el citoplasma se "arruga" y la célula se fragmenta en los denominados "cuerpos apoptóticos", rodeados por la membrana citoplásmica.

ca, siendo fagocitados por las células vecinas. En la apoptosis la destrucción celular se produce sin ruptura de la arquitectura celular y sin dar lugar a inflamación. La célula muerta rápidamente desaparece por fagocitosis, lo que dificulta el reconocimiento de la apoptosis, su detección en los tejidos normales.

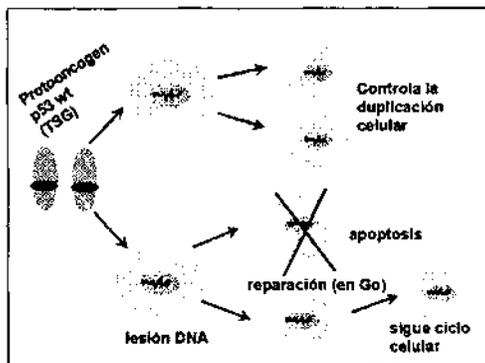
Un programa de "suicidio celular" es ventajoso para el organismo al poder eliminar células no precisas o células "peligrosas", y para salvaguardar una correcta homeostasis celular. Los principales genes reguladores de la apoptosis son: el p53 y el bcl-2.



lugar al cese del crecimiento incontrolado y producir cambios morfológicos semejantes a los de las células en semencia.

La importancia del p53 en la homeostasis tisular ha hecho que reciba la denominación de "guardián del genoma".

Resumen del ciclo celular normal. La regulación del crecimiento tisular es



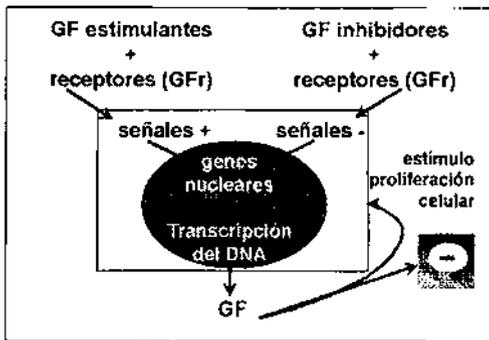
consecuencia del equilibrio entre factores positivos y negativos, capaces de dar lugar a señales que actúan sobre el núcleo, induciendo agentes específicos a actuar como factores de transcripción, a través de la familia de las proteínas ciclinas-cdk, para seguir las células en su ciclo celular y lograr su división.

Los genes Rb y p53 ambos TSG, son genes que regulan la senescencia (vejez) celular. El escape de la vejez celular es una etapa importante en la progresión neoplásica, creciendo las células tumorales en forma indefinida en un medio de cultivo adecuado, es decir, se vuelven inmortales. La immortalización celular es un factor de crecimiento tumoral incontrolado, permitiendo la progresión maligna del tumor. La reintroducción de los genes Rb y p53 a un cultivo de células tumorales puede dar

Diferentes proto-oncogenes codifican proteínas estimuladoras (GF), que uniéndose a receptores específicos dan lugar a señales intracitoplasmáticas que por una cascada de interacciones llevan el estímulo a genes del núcleo que actúan como factores de transcripción y hacen pasar el DNA a RNA mensajero, con la consiguiente producción de una nueva proteína, capaz asimismo de estimular la sucesiva proliferación celular. En contraste con los factores de estímulo

lo al doblaje celular existen mecanismos reguladores inhibitorios, como el TGF-B1 y las proteínas de 2 genes tumor supresor, el Rb y el p53, capaces de detener el ciclo celular en G₁.

Este delicado balance de factores de crecimiento estimuladores y factores inhibitorios dirige el ciclo celular y regula la normal proliferación celular.



CARCINOGENÉISIS: SU DESCRIPCIÓN DESDE EL PUNTO DE VISTA DEL CICLO CELULAR

La alteración de reloj de ciclo celular, en cualquiera de sus delicados y precisos mecanismos de actuación, da lugar a la proliferación celular normal incontrolada, (cáncer). Y por tanto cualquiera de los fenómenos descritos: aumento de los efectos estimulantes o disminución de los inhibidores, es responsable de una alteración de la normal homeostasis tisular.

Aumento de factores de crecimiento o sus receptores. Uno de los mecanismos por el cual los tumores génito-urinaarios mantienen una proliferación celular incontrolada es por la estimulación autocrina de factores tales como el EGF o el EGFr. En el cáncer de próstata, tan-

to en las líneas celulares andrógeno-sensibles como en las andrógeno-insensibles, existe una sobre-producción de TGF-a y EGFr, dando como resultado una continuada proliferación celular. Asimismo en el cáncer de vejiga se ha demostrado una sobreexpresión de EGF y EGFr, tanto más elevados los niveles cuanto más invasor sea el tumor, con menor tiempo libre de recidiva.

Sobreexpresión de TGF-B1. La mayor parte de los tumores génito-urinaarios presentan aumento de TGF-B1, pero con reducida sensibilidad a los efectos inhibitorios sobre el crecimiento. En el cáncer de próstata, al progresar el tumor, las células adquieren resistencia a los efectos inhibitorios del crecimiento del TGF-B1, especialmente en los casos avanzados. Así pues en lugar de inhibir el crecimiento tumoral, lo potencia. Por otra parte, el TGF-B1 es un factor angiogénico y anula el efecto del sistema inmune del huésped. Así pues su sobreexpresión equivale a progresión tumoral y conducta muy maligna del tumor.

Mutación del proto-oncogen ras p21. Su sobreexpresión o mutación es responsable de una permanente estimulación de la cascada de señales intracelulares. Los distintos miembros de la familia ras (Ha-ras, Ky-ras, N-ras) son sobreexpresados en muchos tumores. En el cáncer de próstata se presenta sobreexpresión de ras p21 en estadios avanzados, especialmente en los metastásicos. También es bastante frecuente una elevación de ras p21 en el cáncer vesical de alto grado, siendo también común una elevación de ky-ras y n-ras en los tumores testiculares, no habiéndose demostrado mutaciones del gen

ras en los tumores renales.

Sobreexpresión del proto-oncogen c-myc. También es bastante común en los tumores urológicos. La sobreexpresión del oncogen c-myc hace que el ciclo celular no se detenga en los puntos de control. El 67% de las piezas de prostatectomía radical por cáncer de próstata presentan elevación de c-myc, siendo del 86% en el cáncer vesical G3 y del 73% en el cáncer renal, no habiéndose demostrado sobreexpresión en los tumores testiculares.

Aumento de ciclinas. Se ha demostrado aumento de ciclina D₁ en el cáncer vesical y en el cáncer renal. La sobreexpresión de ciclina D₁ lleva a la persistencia de la hiperfosforilización del pRb, por lo que no se detiene el ciclo celular en el punto G₁.

Mutación o pérdida del gen supresor pRb. La mutación o pérdida del gen pRb da lugar a una incapacidad de detención del ciclo celular en el punto de restricción. Se encuentra dicha alteración en gran número de cánceres de próstata, en 1/3 de los tumores vesicales (especialmente en el tipo invasor) siendo rara esta alteración en el cáncer renal y en los tumores testiculares.

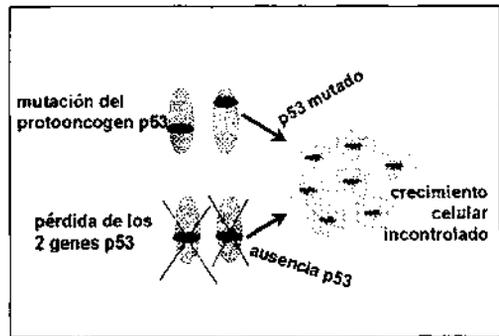
Mutación o pérdida del gen supresor p53. La mutación del proto-oncogen p53 da lugar a una proteína distinta de la que normalmente produce. En lugar de producir la proteína p53 "Wild Type" produce una proteína mucho más estable por lo que puede ser detectada por inmunohistoquímica.

El alto riesgo de transformación maligna en ausencia de p53 se debe probablemente a una menor oportunidad de reparar el DNA alterado y a la incapacidad de eliminar por apoptosis las

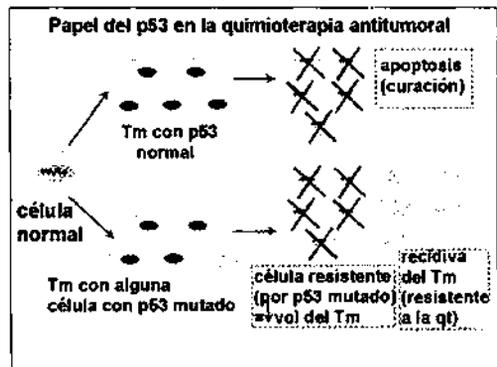
células que no pueden ser reparadas.

Gran número de cánceres humanos presentan mutaciones de p53: el cáncer de próstata en estadios avanzados, los cánceres vesicales infiltrantes y/o de alto grado, siendo en cambio más raro el de carcinoma renal y en los tumores testiculares tipo seminoma.

Un factor que puede contribuir a la curabilidad de algunos tumores por las drogas quimioterápicas es la posibilidad de que estos agentes produzcan una rápida apoptosis por ser lesionado el DNA de las células con p53 normal. Es



decir, ante una célula tumoral pero con p53 normal la quimioterapia puede dar lugar a la apoptosis celular y por tanto la curación del paciente. Si en dicha



población de células tumorales existen algunas con mutación del gen p53, la acción de la quimioterapia destruirá por apoptosis las células con p53 normal pero las que presenten el p53 mutado son resistentes a la quimioterapia, obteniéndose una disminución del volumen del tumor, con posterior recidiva tumoral por progresión de la población no sensible a la quimioterapia.

RESUMEN

La presentación realizada permite poder entender la terminología utilizada

por los investigadores en Biología Molecular frente a la oncogénesis. Gracias a la descripción en detalle de la normal fisiología del ciclo celular, la descripción de sus mecanismos de regulación, de los efectos estimulantes e inhibitorios de los factores de crecimiento, podemos ahora fácilmente interpretar el lenguaje utilizado y de esta forma estar preparados para salvar gracias al puente establecido el vacío de conocimientos y establecer de esta forma una relación cada vez más necesaria en la práctica clínica diaria con la Biología Molecular.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aaronson SA. Growth Factors and cancer. *Science* 254:1146-1953, 1991.
2. Algaba F. Fundamentos de la evaluación anatomopatológica de los tumores. En prensa 1995.
3. Barret JC, Annar LA, Alcorta D, Preston G, Vojta P, Yin Y. Celular tumescence and cancer. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*. Vol. LIX 411-419, 1994.
4. Canman CE, Chen CT, Lee MH, Kastan MB. DNA damage responses: p53 induction, cell cycle perturbations and apoptosis. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*. Vol. LIX 277-287, 1994.
5. Chéchile G. Factores de crecimiento en el cáncer de próstata: mecanismos de acción y posibilidades terapéuticas. *Actas de la Fundación Puigvert* 12.3:173-178, 1993.
6. Cordon Cardo C, Wartinger D, Petrylak D et al. Altered expression of the retinoblastoma gene product. Prognostic indicator in bladder cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 84:1256-1261, 1992.
7. Cory S, Strasser A, Jacks T, Corcoan LM et al. Enhanced cell survival and tumorigenesis. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*. Vol. LIX 365-375, 1994.

8. D-Type Cyclins and Their cyclin dependent kinases: G₁ phase integrators of the mitogenic response. Their CJ, Kato J, Gueil DE, Matsnoka M, Roussel MF. Cold spring harbor simposio on quantitative biology. Urol LIX 11-18, 1994. Desgrand-champs F, Tafoud R, Cussenet O, Teillac P, Le Duc A. Facteurs de croissance prostatique et hypertrophie benigne de la prostate. Etat des connaissances actuelles et perspectives. Progrès en urologie. 2. 1031-1044, 1992.
9. Harley CB, Kim NW, Prowse KR, Weinrich SL et al. Telomerase, cell immortality and cancer. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology. Vol. LIX 307-315, 1994.
10. Hartwell L, Weinert T, Kadyk L, Garvick B. Cell cycle checkpoints, genoma integrity and cancer. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology. Vol LIX 259-264, 1994.
11. Hatakeyama M, Herrera RA, Makela T, Dowdy SP, Jacks T, Weinberg RA. The cancer cell and the cell cycle clock. Cold Spring Harbor Simposia on Quantitative Biology. Vol. LIX 1-9, 1994.
12. Lewis B. Genes V. Oxford University Press, 1994.
13. Lin J, Wu X, Chen J, Chang A, Levine AJ. Functions of the p53 protein in Growth regulation and tumor suppresion. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology. Vol. LIX 215-124, 1994.
14. Lowe SW, Bodis S, Bardeesy N, McClatchey A et al. Apoptosis and the prognostic significance of p53 mutation. Cold Spring Harbor Symposia on Qualitative Biology. Vol. LIX 419-426, 1994.
15. Massague J. Transforming Growth Factor alfa. J. Biol. Chem. 265:21393-21396, 1990.
16. Massague J, Attisano L, Wrana JL. The TGF B family and its composite receptors. Trends cell Biol. 4:172-178, 1994.
17. Roberts JM, Koff A, Polyak K, Firpo E, Collins S, Ohtsbu M, Massague J. Cyclins, Cdks and cyclin kinase inhibitors. Cold Spring Harbor Simposia on Quantitative Biology. Vol. LIX 31-38, 1994.
18. Sarkis AS, Dalbagni G, Cordon Cardo C et al. Association of p53 nuclear overexpression and tumor progression in carcinoma in situ of the bladder. J. Urol. 152:388-392, 1994. Kerr JFr, Winterfold CM, Harmon BV. Apoptosis. Its significance in cancer and cancer therapy. Cancer 73:2013-2026, 1994.
19. Sherr CJ, Kato J, Gueil DE, Matsnoka M, Roussel MF. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology. Vol. LIX 11-18, 1994.
20. Sole-Balcells F, Chéchile G, Algaba F, Villavicencio H, Cordon Cardo C. Biología Molecular de los tumores urológicos. Tema monográfico. LX Congreso Nacional de Urología. Asociación Española de Urología. Junio 1995. ENE Ediciones. Madrid.
21. Steiner MS. "Review of Peptide Growth Factors in bening prostate hyperplasia and urological malygancy". J. Urol. 153:1085-1096, 1995.
22. Steiner MS. Role of Peptide Growth Factor in the prostate: a review. Urology 42:92-95', 1993.

23. Steiner MS, Satterwhite DJ, Moses HL. Molecular insights into altered cell cycle regulation and genitourinary malignancy. *Urol. Onc.* 1:3-17, 1995.
24. Symonds H, Krall L, Renington L, Saenz Robles M, Jaks T, Van Dyke T. p53 dependent apoptosis in vivo: impact of p53 inactivation on tumorigenesis. *Cold Spring Harbor Symposio on Quantitative Biology.* Vol. LIX 247-258, 1994.
25. Williams BO, Morgen Besser SD, de Punto RA, Jacks T. Tumorigenic and developmental effects of combined germ-line mutations in Rb and p53. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology.* Vol. LIX, 449-457, 1994.
26. Wyllie AH, Curdier PJJ, Clarke AR et al. Apoptosis in carcinogenesis: the role of p53. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology.* Vol. LIX 403-410, 1994.