

Perfil genético y bases moleculares de la carcinogénesis pancreática

Paloma Sánchez-Fayos, María Jesús Martín Reloso y Juan Carlos Porres Cubero

Servicio de Aparato Digestivo. Fundación Jiménez Díaz. Universidad Autónoma. Madrid. España.

RESUMEN

La posibilidad de una secuencia multifásica de la carcinogénesis se ha probado suficientemente en el cáncer colorrectal, al menos el que surge de un pólipos adenomatoso benigno. Sin embargo, y como consecuencia de la difícil accesibilidad del páncreas a los estudios histopatológicos, esta evolución multifásica es más difícil de demostrar en el caso del adenocarcinoma ductal (ADC-d) pancreático, aunque una serie de hechos, revisados en este trabajo, la sugieren vehementeamente.

En primer lugar, está la definición de un perfil genético-molecular bastante exclusivo del ADC-d, en la medida que se repite en más del 70% de los casos; nos referimos a la asociación de la mutación del oncogén *K-ras* y la inactivación de los genes supresores de tumor *p16*, *p53* y *DPC4*. En segundo lugar, se encuentra la identificación de una serie de lesiones del epitelio ductal, en zonas pancreáticas sanas próximas a un ADC-d, que parecen representar estadios histopatológicos precancerosos. Y por último, la sospecha de que los eventos han ido apareciendo, con un cierto orden, durante dichos estadios evolutivos.

De todas maneras, lo más probable es que, más que el orden de aparición, sea la acumulación de estos eventos genético-moleculares lo que determine que un epitelio ductal quiescente evolucione a una citohiperplasia mitogénica para terminar en una citodisplasia mutagénica irreversible.

GENETIC PROFILE AND MOLECULAR BASES OF PANCREATIC CARCINOGENESIS

The possibility that carcinogenesis is a multiphasic process has been well demonstrated in colorectal cancer, at least in

cancers arising from a benign adenomatous polyp. However, because of the difficulty of performing histopathological studies of the pancreas, the multiphasic nature of carcinogenesis is proving more difficult to demonstrate in pancreatic ductal adenocarcinoma (d-ADC), although a series of findings, reviewed in the present article, strongly support this characteristic.

Firstly, d-ADC shows a fairly exclusive genetic-molecular profile, found in 70% of cases; this profile consists of the association of the *K-ras* oncogene and inactivation of the tumor suppressor genes *p16*, *p53* and *DPC4*. Secondly, a series of lesions in the ductal epithelium, in healthy pancreatic tissue close to a d-ADC, have been identified, which seem to represent precancerous histopathological stages. Lastly, there is the suspicion that the mutations defining this genetic-molecular profile appear gradually, in a certain sequence, throughout the stages of progression. Most probably, rather than the order of appearance, the accumulation of these genetic-molecular events are what prompt quiescent ductal epithelium to progress to mitogenic cellular hyperplasia, leading to irreversible mutagenic cellular dysplasia.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de páncreas (CP) es, después del cáncer colorrectal, una de las neoplasias epiteliales malignas más frecuentes del tracto digestivo y uno de los tumores más agresivos en los seres humanos^{1,2}. Conviene puntualizar, desde el principio, que cuando hablamos del CP nos referimos fundamentalmente al adenocarcinoma ductal (ADC-d), ya que representa más del 95% de los tumores epiteliales malignos de este órgano³. Los ADC acinares, los cisto-ADC y los carcinomas de los islotes de Langerhans apenas suman, entre todos, el 5% restante.

El mejor conocimiento de la biología celular de esta neoplasia devastadora —a la que sólo sobrevive un 4% de los pacientes, 5 años después del diagnóstico— permitirá plantear, a medio plazo, estrategias diagnósticas y terapéuticas más rentables que las actuales.

Correspondence: Dra. P. Sánchez-Fayos.
 Servicio de Aparato Digestivo. Fundación Jiménez Díaz.
 Avda. Reyes Católicos, 2. 28040 Madrid. España.
 Correo electrónico: palomasanchezfayos@wanadoo.es

Recibido el 30-1-2007; aceptado para su publicación el 1-2-2007.

Intentar una aproximación al perfil genético y a las bases moleculares de la carcinogénesis pancreática es el propósito de este trabajo.

IDEAS SOBRE CARCINOGENÉSIS

Si tuviésemos que resumir lo que hoy conocemos sobre el mecanismo de realización de la mayoría de los carcinomas podríamos decir que se trata de expansiones celulares autoperpetuables de naturaleza clonal, realizadas en una secuencia multifásica, desde el impacto de numerosos factores etiológicos sobre progenitores divisibles del epitelio diana, a través de la acumulación de varios eventos mutacionales, sufridos por ciertos genes implicados en las funciones celulares vitales⁴⁻⁶. Todo ello, durante una selección competitiva del clono celular dominante, que va trazando un fenotipo progresivamente maligno, tanto en su arquitectura histológica como en su perfil molecular.

Este esquema de realización biológica ha sido probado suficientemente para el cáncer colorrectal –dada la accesibilidad biopsica en las enfermedades del intestino grueso⁷⁻, y se sospecha que podría ser también válido para otras neoplasias menos accesibles, como el CP⁸⁻¹⁰.

La sugerencia de una evolución histogenética multifásica del ADC-d pancreático está apoyada por 3 grupos de argumentos, que desarrollaremos en los apartados siguientes. En primer lugar, la identificación y la estratificación de las posibles lesiones precancerosas pancreáticas; en segundo lugar, la definición de un claro perfil genético-molecular para el ADC-d de este órgano y, en tercer lugar, el hallazgo de que los eventos mutacionales que definen este perfil se han ido adquiriendo y acumulando, con un cierto orden, durante la secuencia evolutiva de las lesiones histológicas progresivamente displásicas.

LESIONES PRECANCEROSAS DEL ADENOCARCINOMA DUCTAL

Se conoce, desde hace tiempo, que algunas enfermedades pancreáticas, en teoría benignas, son situaciones proclives al desarrollo de un CP. Entre ellas destaca la pancreatitis crónica hereditaria –originada por mutación del gen que codifica la síntesis del tripsinógeno catiónico–, en la medida en que, hasta la edad de 70 años, llegan a desarrollar un CP un 40% de los casos. El riesgo de las pancreatitis crónicas esporádicas es mucho menor, ya que afecta al 4% de los pacientes durante los 20 años siguientes a su diagnóstico^{3,11}.

Algunas raras neoplasias quísticas pancreáticas son procesos auténticamente precancerosos, que se presentan como cistoadenomas mucinosos o mucinoso-papilares, y pueden transformarse lentamente en cisto-ADC³.

Sin embargo, el conocimiento de la probable secuencia multifásica del ADC-d proviene, fundamentalmente, de la identificación y la estratificación de las lesiones morfológicas ductales encontradas en zonas pancreáticas «normales», más o menos cercanas a un CP convencional^{12,13}. Es-

tas lesiones parecen representar precursores histológicos de un ADC-d y, recientemente, un comité internacional de expertos las ha designado con la denominación conflictiva de «neoplasias intraepiteliales pancreáticas» (NIP) y las ha ordenado en 4 estadios: estadios 1-A (hiperplasia plana de epitelio mucinoso sin atipias), 1-B (hiperplasia papilar de dicho epitelio sin atipias), 2 (hiperplasia papilar con displasia de «bajo grado») y 3 (hiperplasia papilar con displasia de «alto grado»), difícil de separar del ADC-d *in situ*¹⁴.

SEÑAS GENÉTICAS DE IDENTIDAD DEL ADENOCARCINOMA DUCTAL

A medida que se ha ido investigando el perfil de las alteraciones genéticas que presentan las células del CP, se ha comprobado que, coincidiendo con la imagen histopatológica de ADC-d invasivo, se puede distinguir una acumulación de varios eventos mutacionales que, hasta cierto punto, es característica de esta neoplasia, como a continuación comentaremos^{8-10,15}.

El protooncogén *k-ras* es una estructura nucleotídica situada en el cromosoma 12p1.2, que codifica, en condiciones normales, una proteína con actividad en trifosfatasa de guanosina, la cual hidroliza el trifosfato de guanosina (GTP) a difosfato de guanosina (GDP). Esta hidrólisis es la base bioquímica sobre la que asienta la transducción de señales intracitoplasmáticas de origen extracelular, hacia efectores intracelulares de acción nuclear¹⁶. Las mutaciones puntuales de uno de los alelos de este gen, que actúa como dominante, están presentes en más del 90% de los CP, lo que conlleva una activación por «aumento de función», con efectos carcinogénicos (oncogén *k-ras*). El CP es el tumor humano que presenta con mayor frecuencia una mutación de este gen¹⁷⁻²¹.

En una pequeña proporción de casos, en torno al 10%, se ha encontrado una posible activación de otros protooncogenes (*MYB*, *AKT2*, etc.)¹⁰.

Hay otras estructuras nucleotídicas, dentro del ADN de las células somáticas, que codifican proteínas que impiden a las células genéticamente lesionadas su tránsito a través del «punto de control» situado en la frontera G1-S del ciclo nuclear y, al mismo tiempo, propician su «apoptosis», modulando la acción del gen *bcl-2*, regulador de la muerte celular programada. Se trata de la familia de genes supresores de tumor que, comportándose como receptores, necesitan una alteración genética –en forma de mutación y/o delección bialélica– o epigenética –en forma de anormal metilación de su segmento promotor– para ser inactivados, con lo que se silencian sus proteínas antineoplásicas^{22,23}.

Cuando se estudia el genoma de las células del CP se encuentra, con gran frecuencia, la inactivación de los genes supresores de tumor *p16*, *p53* y *DPC4*^{8,10,15,24}.

El gen *p16*, situado en el cromosoma 9p2.1, codifica una proteína que se comporta normalmente como antiproliferativa, cuando se asocia a una cadena de biomoléculas en la que participan la ciclina D, una cinasa dependiente de

la ciclina (CDK4), y la proteína RB (retinoblastoma)^{25,26}. Hoy sabemos que en el 95% de los CP hay una disregulación «a la baja» de esta vía metabólica por inactivación genética o epigenética del gen *p16*^{8-10,15,27,28}.

El gen *p53*, situado en el cromosoma 17p3.1, codifica, en condiciones normales, una proteína que actúa, con carácter antineoplásico, al unirse a una secuencia nucleotídica específica del ADN. De esta manera, cumple con el mecanismo de acción de los genes supresores de tumor, anteriormente comentado, por lo que recibió el título coloquial de «guardián del genoma»²⁹⁻³³. Hoy sabemos que cerca del 75% de los CP presentan algún tipo de inactivación estructural y/o funcional de este gen supresor^{8-10,15,21,34}.

El gen *DPC4* (*deleted in pancreatic carcinoma, locus 4*) es también una estructura nucleotídica del ADN, situada en el cromosoma 18q2.1, que codifica normalmente una proteína que pertenece a las que sintetizan los genes de la familia SMAD, altamente conservados a lo largo de la evolución de los seres vivos. Estas proteínas, y entre ellas la DPC4/SMAD4, se engarzan en una cascada enzimática que regula la actividad antiproliferativa del factor de crecimiento transformante beta (TGF-β)^{35,36}. La inactivación del gen *DPC4* se ha encontrado hasta en un 50% de los CP, con lo que se bloquea el avance celular a través del «punto de control» G1-S y se dificulta el sano ejercicio de la «apoptosis» de células genéticamente defectuosas^{8-10,15}. En una pequeña proporción de CP se ha detectado una inactivación de otros genes supresores de tumor, como el *BRCA2* (*breast cancer, locus2*), en un 7% de los pacientes, y en una proporción menor la de otros genes de esta familia (*DCC, STK11* y *FHIT*)¹⁰.

Es bien conocido que la replicación del ADN es un acontecimiento que tiene lugar en la fase S del ciclo nuclear, gracias a la acción enzimática de la ADN-polimerasa, que «empareja» adecuadamente a las bases purínicas y pirimidínicas. De vez en cuando, falla la precisión de esta enzima, lo que crea una inestabilidad genómica que propicia la mutagénesis, si no se repara rápidamente. En los seres humanos, se ha identificado varios genes (*MLH1, MSH2, PMS1, MMS2*, etc.) cuyos productos proteicos actúan de manera coordinada y secuencial en la reparación del ADN «desparejado»³⁷. El hallazgo de una elevada «inestabilidad de microsatélites» (IMS) es una posibilidad técnica que permite demostrar la existencia de eventos mutacionales en los genes reparadores del ADN «desparejado». Así, un alta IMS se ha demostrado en un 3-13% de los CP. Por el momento, son muy escasos los estudios genéticos más exhaustivos al respecto, aunque se sospecha la pérdida de expresión de la proteína *MLH1*, en algunos casos^{9,10,15,38,39}. Parece que los CP con errores de replicación del ADN (células RER+) se asocian con una histopatología escasamente diferenciada con un patrón de crecimiento sincitial y una expresión del gen *k-ras* de «tipo silvestre»⁴⁰.

Por último, en el tejido de un ADC-d pancreático se suele encontrar una hiperexpresión de algunos factores de crecimiento y otras biomoléculas, cuya síntesis está codificada por genes que no se incluyen dentro de las familias anteriores. Entre ellas, se encuentra el incremento de los

factores de crecimiento epidérmico (EGF), hepatocítico (HGF) y transformante alfa (TGF-α), y algunos receptores de membrana (EGF-r, Erb-B2, etc.)^{15,41}.

Dentro de este último grupo de proteínas bioactivas, tiene una especial significación la reactivación funcional de la enzima telomerasa encontrada en el tejido patológico del CP, tal como ocurre en otras neoplasias⁴². Como es sabido, los telómeros son estructuras genéticas situadas en el extremo de los brazos cromosómicos que se van acortando tras cada mitosis, dada la replicación incompleta del ADN a este nivel. La enzima telomerasa intenta compensar esta pérdida potenciando la síntesis de ADN telomérico. De todas maneras, la activación de esta enzima es casi indetectable en la mayoría de las células somáticas, salvo en algunos sistemas celulares altamente multiplicativos (hemopoiesis, criptas intestinales, etc.). Algo parecido ocurre en los tejidos cancerosos y, entre ellos, en el CP, en los que la reactivación de la telomerasa podría ser crucial para la emergencia de células neoplásicas «inmortales»¹⁵.

Desconocemos si todos estos acontecimientos de hiperexpresión de ciertos factores de crecimiento, de sus receptores membranarios o de enzimas facilitadoras de la inmortalización clonal son consecuencia de eventos genéticos, epigenéticos o meros reajustes funcionales fisiopatológicos.

Bien es cierto que el ADC-d pancreático es un tumor que luce una marca genético-molecular muy exclusiva a título de «seña de identidad». Y esto es así, en la medida que: a) más del 90% de los casos acumula en sus células dos eventos, que raras veces se combinan en otras neoplasias, como son la mutación del *k-ras* y la inactivación del *p16*; b) más del 80% de los mismos presenta, junto con los eventos precedentes, la supresión funcional del *p53*, y c) la acumulación de los 3 acontecimientos anteriores, junto con la inactivación del gen *DPC4*, se puede descubrir en más del 70% de los CP.

CORRELACIÓN HISTOGENÉTICA DE LA CARCINOGENÉSIS PANCREÁTICA

Hay una creencia bastante generalizada de que para la gestación de cualquier cáncer es más importante la «acumulación» de determinadas alteraciones genético-mutacionales que el «orden» en que éstas se producen. Sin embargo, a medida que se ha ido conociendo la secuencia desde el pólipos adenomatoso benigno del colon hasta el carcinoma colorrectal, se ha comprobado que hay un cierto orden en la acumulación de aquellos acontecimientos^{7,43}. Lo mismo empieza a ocurrir respecto a los conocimientos sobre el desarrollo del ADC-d pancreático desde los estadios precancerosos ordenados en la clasificación NIP¹⁴. A continuación resumiremos brevemente lo que hoy conocemos sobre la secuencia histogenética de la carcinogénesis pancreática^{10,15}, que hemos tratado de representar en la figura 1.

El epitelio ductal pancreático, en condiciones normales, es un sistema celular quiescente en el que participa la acción antiproliferativa de naturaleza paracrina ejercida por el TGF-β. Por el contrario, cuando este epitelio sufre el im-

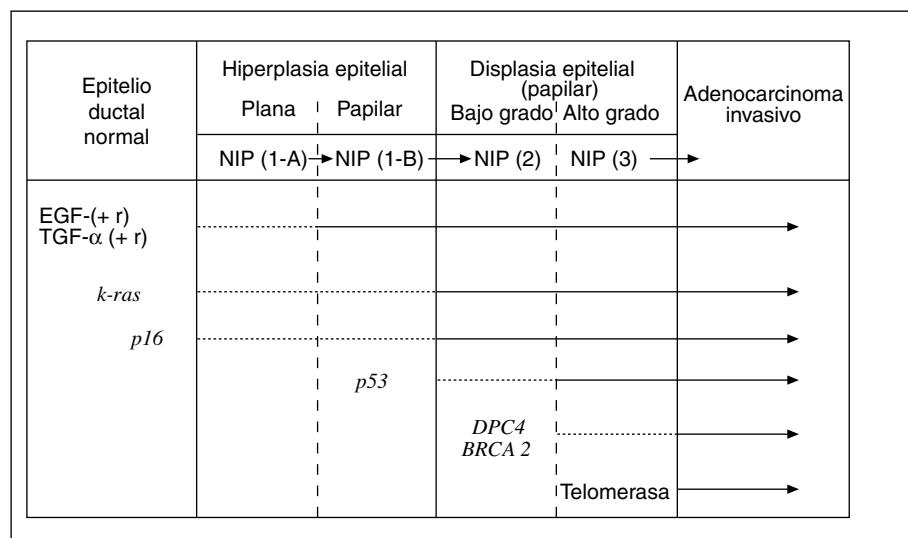


Fig. 1. Carcinogénesis pancreática: secuencia histogenética multifásica. EGF: factores de crecimiento epidérmico; NIP: neoplasias intraepiteliales pancreáticas; TGF-α: Transformante alfa.

pacto de algunos factores etiológicos que actúan como carcinógenos, se pone en marcha el primer escalón de esta secuencia con una hiperactividad proliferativa del epitelio dirigida por la hiperexpresión de algunos factores de crecimiento (EGF, HGF, TGF-α, etc.), junto con la de ciertos receptores de membrana (EGF-r, Erb-B2, etc.). De esta manera, se cierra un círculo de activación autocrina y paracrina de un epitelio que aún es morfológicamente normal o, a lo sumo, se encuentra en estadio NIP-1A^{15,41,44}. Junto a estas alteraciones biológicas, empieza a aparecer el primer acontecimiento genético claramente mutacional; concretamente la activación del protooncogén *k-ras*, que se limita, en un principio, a un número reducido de lesiones en estadio NIP-1A para ir aumentando, durante los estadios siguientes progresivamente displásicos, hasta alcanzar al 90% de los ADC-d invasivos^{10,15,45-49}. La mutación del *k-ras*, convirtiéndose en un auténtico oncogén, se ha encontrado, en ocasiones, en algunos casos de pancreatitis crónica con hiperplasia ductal sin atipias⁵⁰.

En los estadios intermedios de la secuencia histogenética es donde comienza a expresarse la inactivación de genes supresores de tumor protagonistas de la carcinogénesis pancreática^{10,15,51}. Así, la inactivación del gen *p16* empieza a detectarse en los estadios NIP 1-A o 1-B, la del gen *p53* aparece en el estadio NIP-2, y la del gen *DPC-4* en el estadio NIP-3. De manera progresiva, el silencio funcional de estos genes alcanza al 95, 75 y 50% de los ADC-d, respectivamente. La inactivación excepcional del gen supresor *BRCA2* comienza a plasmarse también en este último estadio de displasia precancerosa de «alto grado»¹⁵. En la fase final de esta secuencia histogenética es cuando suele observarse con claridad la reactivación funcional de la enzima telomerasa, que algo tiene que ver con la immortalización de las células cancerosas¹⁵.

Por último, un acontecimiento biológico, que parece que dirigen las propias células del ADC-d, es la llamada «reacción desmoplásica». Ésta consiste en una activación y una proliferación de los fibroblastos de la estroma peritumoral, con depósito local de componentes de la matriz

extracelular, como el colágeno y las metaloproteínas, al mismo tiempo que se estimula la angiogénesis tumoral, con lo que se facilita la diseminación metastásica¹⁵. Se tiene cierta evidencia de que son las propias células del CP las que dirigen esta «reacción desmoplásica», a través de la secreción del TGF-β a los espacios tisulares vecinos. Hay que confesar que, a día de hoy, se desconoce el significado biológico íntimo de este curioso proceso que podría ser la última fase local del «devastador» programa tumorigénico del CP, o una violenta reacción defensiva a cargo del tejido conjuntivo peritumoral.

BIBLIOGRAFÍA

1. Jemal A, Thomas A, Murray T. Cancer statistics 2002. CA Cancer J Clin. 2002;52:23-47.
2. Warshaw AL, Fernández del Castillo C. Medical progress: pancreatic carcinoma. N Engl J Med. 1992;326:455-65.
3. Fernández del Castillo C, Jiménez RE. Pancreatic cancer, cystic pancreatic neoplasms and other nonendocrine pancreatic tumors. En: Sleisenger and Fordtran's gastrointestinal and liver disease. 7th ed. Philadelphia: Saunders; 2002. p. 970-87.
4. Nowell PC. The clonal evolution of tumor cell population. Science. 1976;194:23-5.
5. Weinberg RA. Oncogenes, antioncogenes and the molecular bases of multistep carcinogenesis. Cancer Res. 1998;49: 3713-21.
6. Vogelstein B, Kinzler KW. The multistep nature of cancer. Trends Genet. 1993;9:138-52.
7. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. Cell. 1990;61:759-67.
8. Hahn SA, Kem SE. Molecular genetics of exocrine pancreatic neoplasms. Surg Clin North Am. 1995;75:857-69.
9. Hruban RH, Iacobuzio-Donahue C, Wilentz RE. Molecular pathology of pancreatic cancer. Cancer J. 2001;7:251-62.
10. Hilgers W, Rosty C, Hahn SA. Molecular pathogenesis of pancreatic cancer. Hematol Oncol Clin North Am. 2002;16:17-35.
11. Lowenfels AB, Maisonneuve P, Cavallini G. Pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. N Engl J Med. 1993;328:1433-7.
12. Cubilla AL, Fitzgerald PJ. Morphological lesions associated with human primary invasive nonendocrine pancreas cancer. Cancer Res. 1976;36:2690-8.
13. Kozuka S, Sassa R, Takai T, Masamoto K, Nagasawa S, Saga S, et al. Relation of pancreatic duct hyperplasia to carcinoma. Cancer. 1979;43:1418-28.

14. Hruban RH, Adsay NV, Albores-Saavedra J, Compton C, Garrett ES, Goodman SN, et al. Pancreatic intraepithelial neoplasia: a new nomenclature and classification systems for pancreatic duct lesions. *Am J Surg Pathol.* 2001;25:579-86.
15. Bardeesy N, De Pinho RA. Pancreatic cancer biology and genetics. *Nat Rev Cancer.* 2002;2:897-909.
16. Barbacid M. ras genes. *Annu Rev Biochem.* 1987;56:770-827.
17. Almoguera C, Shibata D, Forrester K, Martin J, Amheim N, Perucco M, et al. Most human carcinomas of the exocrine pancreas contain mutant K-ras genes. *Cell.* 1988;53:549-54.
18. Bos JL. ras oncogenes in human cancer: a review. *Cancer Res.* 1989;49:4682-9.
19. Hruban RH, Van Mansfield AD, Offerhaus GJ, Van Weering DH, Allison DC, Goodman SN, et al. K-ras oncogenes activation in adenocarcinoma of human pancreas. A study of 82 carcinomas using a combination of mutant-enriched polymerase chain reaction analysis and allele-specific oligonucleotide hybridization. *Am J Pathol.* 1993;143:545-54.
20. Jiménez RE, Warshaw AL, Z'Graggen K. Sequential accumulation of K-ras mutations and p53 overexpression of pancreatic mucinous cystic neoplasms to malignancy. *Ann Surg.* 1999;230:501-11.
21. Pellegata NS, Sessa F, Renault B, Bonato M, Leone BE, Soleia E, et al. K-ras and p53 gene mutations in pancreatic cancer. Ductal and nonductal tumors progress through different genetic lesions. *Cancer Res.* 1994;54:1556-60.
22. Weinberg RA. Tumor suppressor genes. *Science.* 1991;254:1138-45.
23. Marshall CJ. Tumor suppressor genes. *Cell.* 1991;64:313-26.
24. Rozenblum E, Schutte M, Goggins M, Hahn SA, Panzer S, Zahurak M, et al. Tumor suppressive pathways in pancreatic carcinoma. *Cancer Res.* 1997;57:1731-4.
25. Nobori T, Miura K, Wu DJ. Deletion of the cyclin-dependent kinase-4 inhibitor gene in multiple human cancers. *Nature.* 1994;368:753-6.
26. Kamb A, Gruis NA, Weaver-Feldhaus J, Liu Q, Harshman K, Tavtigian SV, et al. A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types. *Science.* 1994;264:436-40.
27. Caldas C, Hahn SA, Da Costa LT, Redston MS, Schutte M, Seymour AB, et al. Frequent somatic mutations and homozygous deletions of the p16 (MTS1) gene in pancreatic adenocarcinoma. *Nat Genet.* 1994;8:27-32.
28. Schutte M, Hruban RH, Geradts J, Maynard R, Hilgers W, Rabindran SK, et al. Abrogation of the Rb/p16 tumor-suppressive pathway in virtually all pancreatic carcinomas. *Cancer Res.* 1997;57:3126-30.
29. Kern SE, Kinzler KW, Baker SJ, Nigro JM, Rotter V, Levine AJ, et al. Mutant p53 protein bind DNA abnormally in vitro. *Oncogene.* 1991;6:131-6.
30. Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumor suppressor gene. *Nature.* 1991;351:453-6.
31. Rotter V, Prokocimer M. p53 and human malignancies. *Adv Cancer Res.* 1991;57:257-72.
32. Vogelstein B, Kinzler KW. p53 function and dysfunction. *Cell.* 1992;70:523-6.
33. Signal A, Rotter V. Oncogenic mutations of the p53 tumor suppressor: the demons of the guardian of the genome. *Cancer Res.* 2000;60:6788-93.
34. Barton CM, Staddon SL, Hughes CM. Abnormalities of p53 tumor suppressor gene in human pancreatic cancer. *Br J Cancer.* 1991;64:1076-85.
35. Hahn SA, Schutte M, Shamsul K, Hoque ATM, Moskaluk CA, Da Costa LT, et al. DPC4, a candidate tumor suppressor gene at human chromosome 18q2.1. *Science.* 1996;271:350-3.
36. Chiao PJ, Hunt KK, Grau AM. Tumor suppressor gene SMAD4/DPC4, its downstream target genes and regulation of cell cycle. *Ann NY Acad Sci.* 1999;880:31-7.
37. Chung DC, Rustgi AK. DNA mismatch repair and cancer. *Gastroenterology.* 1995;109:1685-99.
38. Ghimenti C, Tannergard P, Wahlberg S. Microsatellite instability and mismatch repair gene inactivation in sporadic pancreatic and colon tumors. *Br J Cancer.* 1999;80:11-21.
39. Yamamoto H, Itoh F, Nakamura H, Fukushima H, Sasaki S, Perucco M, et al. Genetic and clinical features of human pancreatic ductal adenocarcinomas with widespread microsatellite instability. *Cancer Res.* 2001;61:3139-44.
40. Goggins M, Offerhaus GJ, Hilgers W, Griffin CA, Shekher M, Tang D, et al. Pancreatic adenocarcinoma with DNA replication errors (RER+) are associated with wild-type K-ras and characteristic histopathology. *Am J Pathol.* 1998;152:1501-7.
41. Friess H, Berberat P, Schilling M. Pancreatic cancer: the potential clinical relevance of alterations in growth factors and other receptors. *J Mol Med.* 1996;74:35-44.
42. Hahn WC. Role of telomeres and telomerase in the pathogenesis of human cancer. *J Clin Oncol.* 2003;21:2034-43.
43. Sánchez-Fayos P, Juzgado D, Bosch O, González-Guirado A, Porres JC. Carcinoma colorrectal: circunstancias inducторes y vías de realización. *Rev Clin Esp.* 2000;200:605-15.
44. Lowenfels AB, Maisonneuve P. Epidemiologic and etiologic factors of pancreatic cancer. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2002;16:1-16.
45. Kalthoff H, Schmiegel W, Reeder C, Kasche D, Schmidt A, Laver G, et al. p53 and K-ras alterations in pancreatic epithelial cell lesions. *Oncogene.* 1993;8:289-98.
46. Di Giuseppe JA, Hruban RH, Offerhaus GJ, Clement MJ, Van den Berg FM, Cameron JL, et al. Detection of K-ras mutations in mucinous pancreatic duct hyperplasia from a patient with a family history of pancreatic carcinoma. *Am J Pathol.* 1994;144:889-95.
47. Tada M, Ohashi M, Shiratori Y, Okudaira T, Komatsu Y, Kawabe T, et al. Analysis of K-ras gene mutation in hyperplastic duct cells of the pancreas without pancreatic disease. *Gastroenterology.* 1996;110:227-31.
48. Moskaluk CA, Hruban RH, Kern SE. p16 and K-ras mutation in the intraductal precursors of human pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Res.* 1997;57:2140-3.
49. Luttges J, Reineke-Luthge A, Mollmann B, Menke MA, Clemens A, Klimpfinger M, et al. Duct changes and K-ras mutations in the disease-free pancreas. *Virchows Arch.* 1999;435:461-8.
50. Rivera JA, Rall CJN, Graeme-Cook F. Analysis of K-ras oncogene mutations in chronic pancreatitis with ductal hyperplasia. *Surgery.* 1997;121:42-9.
51. Wilentz RE, Iacobuzio-Donahue CA, Argani P, McCarthy DM, Parsons JL, Yeo CJ, et al. Loss of expression of DPC4 in pancreatic intraepithelial neoplasia: evidence that DPC4 inactivation occurs late in neoplastic progression. *Cancer Res.* 2000;60:2002-6.