

## MUTACIJE *TP53* GENA – OD ČUVARA GENOMA DO ONKOGENA

Slavica Stojnev, Mlađan Golubović i Petar Babović

Mutacije tumor supresorskog gena *TP53* najfrekventnije su genetske alteracije u humanom kanceru koje pogađaju specifični gen. Na nastanak *TP53* mutacija u velikoj meri utiču kancer-inicirajući događaji, kao što je oštećenje DNK. Efekat tih mutacija je promocija razvoja kancera kroz gubitak antiproliferativnih aktivnosti, uključujući apoptozu i ćelijsko starenje.

Otkriveno je preko 27.000 mutacija *TP53* gena koje se sreću u više od 50% sporadičnih humanih kancera. Najučestalije su tačkaste mutacije sa izmenom samo jedne baze u segmentu gena koji kodira DNK-vezujući domen p53 molekula, dovodeći do stvaranja mutantnog proteina, koji se od produkta divljeg alela razlikuje u jednoj aminokiselini (pogrešno smislene mutacije). One obično uzrokuju izmenu tercijarne strukture genskog produkta, te izostaje vezivanje p53 za DNK i transkripciona aktivacija ciljnih gena. Rezultat mutacija mogu biti i proteini sa novim, abnormalnim funkcijama, sa sposobnošću da modulišu ekspresiju gena odgovornih za neoangiogenezu, rezistenciju na hemioterapeutike i prevenciju tumorske inicijacije i promocije. U takvim okolnostima, mutantni *TP53* ne samo da gubi funkciju tumor supresorskog gena, već stiče onkogeni potencijal i postaje aktivni učesnik u neoplastičnoj transformaciji ćelije.

Velika heterogenost mutacija i metodoloških pristupa u proceni p53 statusa glavne su prepreke brze i efikasne integracije rezultata bazičnih p53 istraživanja u kliničku praksu. *Acta Medica Medianae* 2010;49(1):59-63.

**Ključne reči:** *TP53* gen, p53 protein, mutacije, kancer

Medicinski fakultet u Nišu

Kontakt: Slavica Stojnev  
Medicinski fakultet  
Bulevar dr Zorana Đinđića 81  
18000 Niš, Srbija  
E-mail: slavicastojnev@gmail.com

### Uvod

Mutacije tumor supresorskog gena *TP53* najfrekventnije su genetske alteracije u humanom kanceru koje pogađaju specifični gen (1,2). *TP53* kodira sintezu proteina p53, koji obavlja brojne antiproliferativne funkcije kroz kontrolu transkripcije različitih ciljnih gena i kroz protein-proteinske interakcije. Pošto ima važnu ulogu u regulaciji ćelijskog ciklusa i očuvanju stabilnosti genoma sprečavanjem mutacija, često se naziva i čuvarom genoma (3).

Protein p53 se u normalnoj ćeliji održava na niskom nivou usled aktivne degradacije u proteazomu posredovane ubikvitin ligazom MDM2. Različiti oblici stresa, posebno genotoksična oštećenja, stabilizuju p53 kroz post-transkripcione modifikacije, te p53 ne podleže degradaciji. Stabilizovani p53, direktnom ili indirektnom aktivacijom ili represijom transkripcije, reguliše ekspresiju mnogobrojnih ciljnih gena uključenih u kontrolu ćelijskog ciklusa, apoptozu i reparaciju DNK.

Gubitak funkcije p53 u ćeliji dovodi do nekontrolisane proliferacije i povećava rizik za razvoj kancera (4). Mutacije gena *TP53* pronađene

su u gotovo svakom tipu kancera sa različitom učestalošću javljanja i po svojoj prirodi su veoma raznovrsne.

### Struktura i funkcija *TP53*

P53 identifikovan je 1979. godine (5), ali je veliku pažnju istraživača i naučne javnosti počeo da privlači tek 1989. godine, kada su po prvi put opisane alteracije ovog gena u humanim kancerima (6). Kod čoveka, *TP53* gen lociran je na kratkom kraku hromozoma 17 (17p13.1) (7). Gen obuhvata 19,18 kb DNK i organizovan je u 11 egzonskih sekvenci koje kodiraju sintezu humanog p53 proteina, sačinjenog od 393 aminokiseline.

P53 se aktivira kao odgovor na DNK oštećenje, pojavu jednonančane DNK, oksidativni stres, osmotski šok, depleciju ribonukleotida, neregulisane ekspresije onkogeni i druge raznovrsne vidove stresa. U ćelijama koje su u stanju ugroženosti najpre dolazi do drastičnog produženja polu-života p53 i njegove brze akumulacije. Usled promene konformacije, p53 u ovim ćelijama preuzima aktivnu ulogu transkripcionog faktora.

Generalno je prihvaćeno stanovište da se tumor supresorska funkcija *TP53* ostvaruje putem niza mehanizama u kojima p53: 1) aktivira proteine DNK reparacije u uslovima nastalog oštećenja DNK; 2) indukuje zastoj ćelijskog ciklusa u regulatornoj tački G1/S, kako bi DNK reparatorni proteini imali vremena da poprave oštećenja na DNK; 3) inicira

apoptozu, programiranu ćelijsku smrt, ukoliko se DNK oštećenje ne može popraviti.

Još uvek ne postoji precizan odgovor na pitanje šta određuje da li će p53 proteinom indukovani odgovor odvesti ćeliju u zastoje ćelijskog ciklusa ili apoptozu. Najnovije studije ukazuju da na ovaj izbor može uticati priroda target gena i tajming njihove regulacije p53 proteinom. Naime, p53 ciljni geni koji posreduju u nastanku zastoja ćelijskog ciklusa (WAF1, TIGAR) bivaju indukovani neposredno po nastanku genotoksičnog stresa, dok geni koji posreduju u apoptozu (PUMA) bivaju indukovani tek kasnije, u uslovima održavanja ćelijskog oštećenja (1). Aktivirani p53 vezuje se za DNK i aktivira ekspresiju nekoliko gena, uključujući i WAF1, koji kodira sintezu proteina p21 (ciklin-zavisni inhibitor kinaze, CDK1). P21 inhibira kompleks G1-S/CDK (ciklin zavisne kinaze) i sprečava ulazak ćelije u sintetsku fazu ćelijskog ciklusa pre reparacije oštećene DNK. Indukcija PUMA gena pokreće apoptozu aktivacijom BAX i BAK proteina koji uzrokuju mitohondrijalnu autofagiju, te oslobađanje citohroma C i posledičnu apoptozu. Indukcija PUMA istovremeno izaziva nishodnu regulaciju WAF1 i TIGAR gena (8).

Ćelijska senescenca i starenje tkiva važne su biološke posledice aktivacije p53 genotoksičnim stresom i značajno doprinose njegovoj tumor-supresorskoj aktivnosti. Kod TP53 +/- miševa, ekspresija mutantnog alela sa delecijom prvih 6 egzona TP53 i skraćenim mutantnim proteinskim produktom dovela je do redukcije broja spontanih tumora, ali je indukovala ubrzano starenje ovih miševa u odnosu na one koji nose divlji tip gena (9). Ovakav fenotip posledica je permanentne aktivacije p53 koja nastaje kao rezultat interakcije mutantnog i normalnog p53. U ispitivanju ćelijskog odgovora na inflamaciju indukovanu donorima azot oksida, utvrđeno je da p53 inicira senescencu preko nishodnog efektor mikromRNA miR-34a. Pojačana ekspresija miR-34a zaustavlja ćelijski rast i replikaciju i dovodi do starenja tkiva (10).

Tumor supresorska aktivnost p53, o kojoj se malo zna, je sposobnost da moduliše ćelijsku migraciju. Dokazano je da p53 inhibira CDC42-indukovano formiranje filopodija. Gubitak funkcije p53 povećava motilitet ćelije, što može doprineti invazivnosti tumora (11).

### Mutacije TP53

Somatske mutacije TP53 sreću se u većini sporadičnih humanih kancera i njihova učestalost varira od 5% do 70%, u zavisnosti od tipa i stadijuma kancera (12). U naučnoj literaturi opisano je preko 27.000 mutacija. Njihovo prisustvo može imati prognostički značaj u odgovoru tumora na lečenje i preživljavanje.

O velikom značaju p53 u kancerogenezi svedoči i činjenica da i kod tumora gde sam gen nije pogođen mutacijom, obično su fiziološki putevi dejstva p53 inaktivisani kroz indirektnu mehanizmu kao što je MDM2/MDMX amplifikacija koja dovodi do p53 destabilizacije (13). U karcinomu grlića materice, humani papiloma virus (HPV)

produkuje viralni protein E6 koji se specifično vezuje za p53 i indukuje njegovu degradaciju (14), čime se objašnjava retka pojava p53 mutacija u cervikalnom kanceru.

Mutacije gena TP53 događaju se rano u karcinogenezi i otkrivaju često u premalignim lezijama, pogotovo kad postoji ekspozicija karcinogenima iz sredine. Istraživanja karcinoma jetre i ezofagusa pokazala su da se TP53 mutacije mogu desiti na samom početku prirodnog toka ovih maligniteta (15). Mutacije TP53 nemaju presudni značaj za samu inicijaciju karcinogeneze, već dozvole ćelijama da prevaziđu ograničenje deobe koje postoji u stanju distresa, tj. da ignorišu odgovor na signale koji alterisane ćelije vode u apoptozu ili zastoje ciklusa. Tako je ćelijama sa oštećenom DNK na kratko omogućena proliferacija, što konačno povećava rizik za progresiju kancera.

### Somatske mutacije TP53 u kanceru

Najučestalije izmene TP53 gena u humanim malignim neoplazmama su tačkaste (point) mutacije u vidu supstitucije jednog nukleotida koje dovode do sinteze mutantnog proteina koji se od produkta divljeg alela razlikuje u jednoj aminokiselini (pogrešno smislene - missense mutacije). To obično uzrokuje izmenu terciarne strukture molekula ili onemogućava vezivanje za DNK usled zamene argininskih ostataka u DNK-vezujućem sržnom domenu p53 molekula koji direktno interaguje sa DNK (16), te izostaje transkripciona aktivacija ciljnih gena.

Molekuli p53 mutiranih gena u oligomerizacionom domenu (OD) dimerizuju sa p53 molekulima produktima divljeg alela i sprečavaju ih da aktiviraju transkripciju. OD mutacije imaju dominantan negativan efekat na funkciju p53, jer izmenjeni genetski produkt deluje antagonistički onom divljem alelu.

Dokazana je pojava mutantnih p53 proteina sa neospornim onkogenim potencijalom koji aktivno učestvuju u neoplastičnoj transformaciji (17,18,19). Produkti mutantnih gena modulišu ekspresiju target gena na specifičan način, različit od normalnog p53. Pronađeno je da R175H, R273H i D281G mutacije gena TP53 kodiraju proteine koji mogu da indukuju ekspresiju NF- $\kappa$ B2 gena, što povećava rezistenciju tumorskih ćelija na hemioterapeutike (20). Proizvod gena sa R175H mutacijom može pojačati ekspresiju ID4 gena i indukovati ID4-zavisnu neoangiogenezu in vivo, favorizujući tumorski rast (1). Nedavno je opisano da u in vitro uslovima u ćelijama sisara mutantni p53 kod R175H i R248W mutacija inhibira ekspresiju transformišućeg faktora rasta beta (TGF $\beta$ R2), koji ima ključnu ulogu u prevenciji inicijacije i promocije kancera (21). U ovim slučajevima mutantni p53 ponaša se kao onkogeni transkripcioni faktor.

### Molekularna analiza TP53 mutacija

Direktno sekvencioniranje gena nakon amplifikacije PCR-om predstavlja zlatni standard u molekularnoj analizi alteracija TP53. Ovaj pristup

olakšava i činjenica da je 10 kodirajućih egzona TP53 manje od 350 bp, te se lako mogu amplifikovati u celosti, svaki ponaosob.

U odnosu na efekat mutacija, 75% mutacionih događaja predstavlja pogrešno smislene (missense) mutacije koje dovode do sinteze abnormalnog proteina koji se akumulira u jedrima tumorskih ćelija. Oko 20-25% mutacija ne dovodi do sinteze p53 proteina. Obično su to besmislene (nonsense) mutacije sa nastankom stop kodona, ili male delecije, ređe insercije, koje dovode do promene okvira čitanja (vanfazne, frameshift mutacije). Veće delecije izuzetno su retke. Missense mutacije nađene u humanim kancerima u funkcionalnom smislu uglavnom se karakterišu gubitkom transaktivacione funkcije. U preko 80% ovih mutacija, proteinski produkt nema sposobnost obavljanja funkcije transkripcionog faktora. Kod 8,8% nastaje funkcionalna, a u 11,1% delimično funkcionalna mutacija (12,22).

Oko 280 od 393 kodona TP53 gena biva pogođeno mutacijama, ali se one uglavnom grupišu na DNK-vezujućem domenu, koji obuhvata egzone 5-8. Alteracije na kodonima 175, 248 i 273 odnose se na 19% svih do sada opisanih mutacija na TP53, te se ova kodonska mesta smatraju vrućim tačkama za mutacije. Novija istraživanja pridružuju se ovima i kodonska mesta 245, 249 i 282 kao najafektovanije lokuse (15).

Analiza svih tačkastih mutacija pokazala je da su u 51% slučajeva to GC>AT tranzicije, od kojih 59% pogađa CpG dinukleotide, regione DNK, gde za citozinskim nukleotidom sledi guaninski u linearnoj sekvenci duž DNK (23). U ćelijama sisara, citozin je u ovakvim dinukleotidima često metilisan, a pokazano je i da na TP53 genu u normalnim uslovima postoji 42 CpG mesta gde je citozin metilisan (24). Pretpostavlja se da viši stepen deaminacije 5-metilcitozina, dovodeći do T/G mismеča koji se ne popravljaju efikasno, može uzrokovati veću učestalost tranzicija na TP53. Deaminacija citozina dovodi do U/G mismеča koji se efikasnije otklanja. Egzogeni kancerogeni, poput UV zračenja i benzopirena pokazuju veći afinitet prema metilisanim CpG dinukleotidima nego prema njihovim nemetilisanim naspramnim delovima (25). Moguće je da i endogeni mutageni, koji nastaju u toku izmenjenog ćelijskog metabolizma, takođe mogu ciljati metilisane CpG dinukleotide i dovoditi do veće učestalosti tranzicija.

Obrazac mutacionih događaja koji inaktiviraju TP53 specifičan je za svaki kancer ponaosob. U karcinomu kolona i mozga visoka je učestalost tranzicija u CpG dinukleotidima, dok je u karcinomu bronha GC>AT transverzija vodeća mutacija (22).

#### Mutacije TP53 kao fingerprint kancerogena

Studije molekularne epidemiologije TP53 mutacija pokazale su povezanost između ekspozicije specifičnim karcinogenima i karakteristične sheme mutacija u razvoju određenih neoplazmi (12,26). Najmarkantniji je primer tandem mutacija koje se često sreću u bazocelularnom i planocelularnom karcinomu kože, dok je njihova pojava u drugim neoplazmama izuzetno retka (27).

U ovim tumorima registrovana je visoka učestalost C>T tranzicija na dipirimidinskim mestima (CC), te se smatra da je mutacija indukovana ekspozicijom ultravioletnom zračenju.

Za karcinom pluća, rak ezofagusa i tumore glave i vrata karakteristična je visoka učestalost transverzija G>T. Transverzija G u T na kodonima 157, 158, 248 i 273 javlja se u karcinomu pluća u 30% slučajeva, a u drugim tumorima u manje od 10% i smatra se posledicom ekspozicije duvanskom dimu, odnosno mutagenom dejstvu benzopirena (25).

Ekspozicija aflatoksinu B1 dovodi se u vezu sa transverzijom G u T na kodonu 249, jer se ova mutacija javlja u više od 50% karcinoma jetre, dok je frekvencija u drugim tumorima ispod 2% (28). Specifičnost G>T transverzija na kodonu 249 za hepatocelularni karcinom omogućila je razvoj senzitivnih skrining metoda za detekciju ove mutacije u serumskoj DNK osoba iz regiona u kojima postoji ekspozicija na aflatoksin preko hrane kontaminirane gljivicom koju proizvodi aflatoksin.

Na jaku korelaciju između spektra p53 mutacija i ekspozicije egzogenim karcinogenima utiču ushodni genetski filtri koji modulišu kancerogensku aktivaciju, detoksifikaciju, kao i reparaciju DNK. Međutim, tkivna specifičnost, polimorfizmi gena asociiranih sa putevima interakcije p53 ili heterogenost p53 mutanata, takođe mogu delovati kao drugi, nishodni filtri koji imaju dubok uticaj na spektar p53 mutacija (23).

#### Germinativne mutacije TP53 i Li-Fraumeni sindrom

Za razliku od somatskih mutacija koje se sporadično javljaju u telesnim ćelijama, germinativne mutacije prisutne su u gametima, te se prenose na potomstvo. Kliničke reperkusije germinativnih TP53 mutacija su Li-Fraumeni sindrom (LFS) i LFS-slični sindromi. Do danas je otkriveno 535 germinativnih mutacija.

Li-Fraumeni sindrom prvi put je opisan 1988. kao predispozicija za pojavu malignih tumora već u detinjstvu i adolescenciji, sa dominacijom sarkoma, a kod članova nekih porodica (29). Dve godine kasnije otkriveno je da je sindrom uzrokovan germinativnim mutacijama TP53 gena i da je njegova transmisija autozomno dominantna (30). Danas je jasno da su promene TP53 gena glavni uzrok LFS-a, kao i da različiti tipovi mutacija imaju različitu penetrantnost i ispoljavaju se različitim fenotipovima. Samo mali procenat obolelih ima deleciju gena TP53, dok su missense mutacije dominantni mehanizam gubitka funkcije gena i povezane su sa ranijom pojavom agresivnijih neoplazmi (2). Kod nosilaca TP53 mutacija javljaju se sarkomi (osteosarkomi, sarkomi mekih tkiva), karcinom dojke (obostrana pojava kod mladih devojaka), tumori mozga, leukemije/limfomi, adrenokortikalni karcinom u detinjstvu, karcinom želuca, Vilmsov tumor i druge maligne neoplazme u daleko ranijem uzrastu i sa većom frekvencijom nego u opštoj populaciji. Procenjuje se da danas u svetu ima oko 400 porodica sa LFS.

Pošto su osobe sa LFS sklone razvoju sekundarnih neoplazmi nakon konvencionalne antikancerne terapije, danas se intenzivno razvija genska terapija kojom bi se izbegao nastanak novih agresivnijih tumora. Lokalna intratumorska injekcija adenovirusnog vektora koji sadrži normalni TP53 tumor supresorski gen u progresivne karcinome osoba sa LFS, rezultovala je kompletnom i trajnom remisijom lezija, što je potvrđeno pozitronskom emisionom tomografijom. Sigurnost i efikasnost primene ovakvih vidova terapije i dalje je u fazi kliničke evaluacije (31).

#### Mutacije gena TP53: novi klinički marker

Veliki broj istraživanja fokusiran je na procenu statusa p53 u kanceru kao faktoru značajnom za prognozu i terapijski odgovor. Poznato je da brojni molekuli koji se koriste u hemioterapiji kancera svoje dejstvo ostvaruju indukcijom p53-zavisne apoptoze. Međutim, na ovom polju još uvek ne postoje jedinstvene, konsenzusne strategije. Neposrednu implementaciju u kliničku praksu otežava više faktora: raznovrsnost metodologija za procenu p53 (PCR, imunohistohemija, funkcionalni eseji), velika heterogenost u ponašanju mutantnog p53 i posebno limitirano poznavanje razgranatih p53 signalnih puteva (23). Genomika, kojom se istovremeno otkrivaju mutacije i epigenetske alteracije u velikom broju gena, donosi sveže mogućnosti u razvoju biomarkera i ubrzava put do njihove kliničke primene (32).

Nekoliko meta-analiza ukazalo je da p53 status ima prognostički značaj u ne-sitnoćelijskom karcinomu pluća (33), kao i karcinomu dojke (34). U karcinomu dojke utvrđeno je da su i različiti tipovi mutacija asocirani sa različitim kliničkim ishodom, te da je prisustvo non-missense mutacija TP53 vezano za najgoru prognozu (34).

#### Zaključak

Tumor supresorski gen TP53 jedan je od najčešće izmenjenih gena u humanim malignim neoplazmama. Najveći deo TP53 mutacija predstavljaju tačkaste mutacije sa izmenom samo jedne baze u segmentu gena koji kodira DNK-vezujući domen p53. Njihov rezultat je nastanak mutantnog p53 proteina, nesposobnog da vrši transkripcionu aktivaciju nishodnih target gena koji regulišu ćelijski ciklus i apoptozu. Funkcionalne posledice nastalih mutacija uglavnom su trojake: 1) gubitak transaktivacione funkcije mutantnog proteina; 2) dominantni negativni efekat – ostvaruje se hetero-oligomerizacijom stabilnijeg mutantnog p53 sa divljim tipom p53 koji eksprimira normalni preostali alel; 3) gain-of-function mutacija - mutantni p53 dobija novu, abnormalnu funkciju. Mutantni TP53 na taj način ne samo da gubi funkciju tumor supresorskog gena, već stiče onkogeni potencijal i postaje aktivni učesnik u neoplastičnoj transformaciji ćelije.

Iako je prošlo 20 godina od prvog otkrića mutacija TP53, određivanje p53 statusa još uvek nema nedvosmislen klinički značaj. Velika heterogenost mutacija i metodoloških pristupa otežava uspostavljanje uniformnih kriterijuma za procenu p53 statusa u dijagnostičke i prognostičke svrhe. Podsticaj za nastavak napora u tom pravcu daju nedavno zabeleženi uspesi terapije bazirane na reaktivaciji p53 u p53-deficijentnim tumorima, što je dovelo do potentne apoptoze ili ćelijske senescence. U eri individualizovanog terapijskog pristupa (35), racionalna su očekivanja da će se uspostavljanjem čvrste naučne opravdanosti određivanja bolesnikovog tumorskog p53 genotipa, realizovati i implementacija u kliničku onkologiju.

#### Zahvalnost

Ovaj rad je podržan od strane Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Srbije (ev. br. projekta 145004).

#### Literatura

- Olivier M, Petitjean A, Marcel V, Petre A, Mounawar M, Plymoth A, et al. Recent advances in p53 research: an interdisciplinary perspective. *Cancer Gene Ther* 2009; 16:1-12.
- Petitjean A, Mathe E, Kato S, Ishioka C, Tavtigian SV, Hainaut P, et al. Impact of mutant p53 functional properties on TP53 mutation patterns and tumor phenotype: lessons from recent developments in the IARC TP53 database. *Hum Mutat* 2007; 28:622-9.
- Matlashewski G, Lamb P, Pim D, Peacock J, Crawford L, Benchimol S. Isolation and characterization of a human p53 cDNA clone: expression of the human p53 gene. *Embo J* 1984; 3:3257-62.
- Petitjean A, Achatz MI, Borresen-Dale AL, Hainaut P, Olivier M. TP53 mutations in human cancers: functional selection and impact on cancer prognosis and outcomes. *Oncogene* 2007; 26:2157-65.
- Crawford L. The 53,000-dalton cellular protein and its role in transformation. *Int Rev Exp Path* 1983; 25:1-50.
- Baker SJ, Fearon ER, Nigro JM, Hamilton SR, Preisinger AC, Jessup JM, et al. Chromosome 17 deletions and p53 gene mutations in colorectal carcinomas. *Science* 1989; 244:217-21.
- Isobe M, Emanuel BS, Givol D, Oren M, Croce CM. Localization of gene for human p53 tumour antigen to band 17p13. *Nature* 1986; 320:84-5.
- Yee KS, Vousden KH. Contribution of membrane localization to the apoptotic activity of PUMA. *Apoptosis* 2008; 13:87-95.
- Tyner SD, Venkatachalam S, Choi J, Jones S, Ghebranious N, Igelmann H, et al. p53 mutant mice that display early ageing-associated phenotypes. *Nature* 2002; 415:45-53.
- Perwez HS, Harris CC. Inflammation and cancer: an ancient link with novel potentials. *Int J Cancer* 2007; 121:2373-80.
- Gadea G, de Toledo M, Anguille C, Roux P. Loss of p53 promotes RhoA-ROCK-dependent cell migration and invasion in 3D matrices. *J Cell Biol* 2007; 178:23-30.
- Soussi T, Ishioka C, Claustres M, Beroud C. Locus specific mutation databases: Pitfalls and good

- practice based on the p53 experience. *Nat Rev Cancer* 2006; 6:83–90.
13. Marine JC, Dyer MA, Jochemsen AG. MDMX: From bench to bedside. *J Cell Sci* 2007; 120:371–8.
  14. Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ, Howley PM. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus type-16 and type-18 promotes the degradation of p53. *Cell* 1990; 63:1129–36.
  15. Olivier M, Hussain SP, Caron de FC, Hainaut P, Harris CC. TP53 mutation spectra and load: a tool for generating hypotheses on the etiology of cancer. *IARC Sci Publ* 2004; 157:247–70.
  16. Joerger AC, Ang HC, Fersht AR. Structural basis for understanding oncogenic p53 mutations and designing rescue drugs. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103:15056–61.
  17. Weisz L, Oren M, Rotter V. Transcription regulation by mutant p53. *Oncogene* 2007; 26:2202–11.
  18. Peart MJ, Prives C. Mutant p53 gain of function: The NF-Y connection. *Cancer Cell* 2006; 10:173–4.
  19. Pfeifer GP, Besaratinia A. Mutational spectra of human cancer. *Hum Genet* 2009; 125:493–506.
  20. Scian MJ, Stagliano KE, Anderson MA, Hassan S, Bowman M, Miles MF, et al. Tumor-derived p53 mutants induce NF-kappaB2 gene expression. *Mol Cell Biol* 2005; 25:10097–110.
  21. Kalo E, Buganim Y, Shapira KE, Besserglick H, Goldfinger N, Weisz L, et al. Mutant p53 attenuates the SMAD-dependent transforming growth factor beta1 (TGF-beta1) signaling pathway by repressing the expression of TGF-beta receptor type II. *Mol Cell Biol* 2007; 27:8228–42.
  22. Hjortsberg L, Rubio-Navado JM, Hamroun D, Bérout C, Claustre M, Soussi T, et al. The p53 Mutation handbook 2.0, available online; <http://p53.free.fr>
  23. Soussy T, Wiman KG. Shaping genetic alterations in human cancer: the p53 mutation paradigm. *Cancer Cell* 2007; 12:303–12.
  24. Tornaletti S, Rozek D, Pfeifer GP. The distribution of UV photoproducts along the human p53 gene and its relation to mutations in skin cancer. *Oncogene* 1993; 8:2051–57.
  25. Denissenko MF, Pao A, Tang MS, Pfeifer GP. Preferential formation of benzo[a]pyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in P53. *Science* 1996; 274:430–2.
  26. Harris CC. p53 - at the crossroads of molecular carcinogenesis and risk assessment. *Science* 1993; 262:1980–1.
  27. Brash DE, Ponten J. Skin precancer. *Cancer Surv* 1998; 32:69–113.
  28. Staib F, Hussain SP, Hofseth LJ, Wang XW, Harris CC. TP53 and liver carcinogenesis. *Hum Mutat* 2003; 21:201–16.
  29. Li FP, Fraumeni Jr JF, Mulvihill JJ, Blattner WA, Dreyfus MG, Tucker MA, et al. A cancer family syndrome in twenty-four kindreds. *Cancer Res* 1988; 48:5358–62.
  30. Malkin D, Li FP, Strong LC, Fraumeni Jr JF, Nelson CE, Kim DH, et al. Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms. *Science* 1990; 250:1233–8.
  31. Senzer N, Nemunaitis J, Nemunaitis M, Lamont J, Gore M, Gabra H, et al. p53 therapy in a patient with Li-Fraumeni syndrome. *Mol Cancer Ther* 2007; 6:1478–82.
  32. Stojnev S, Pejčić M, Dolićanin Z, Janković Velicković L, Dimov I, Stefanović V. Challenges of genomics and proteomics in nephrology. *Ren Fail* 2009; 31:765–72.
  33. Steels E, Paesmans M, Berghmans T, Branle F, Lemaitre F, Mascaux C, et al. Role of p53 as a prognostic factor for survival in lung cancer: a systematic review of the literature with a meta-analysis. *Eur Respir J* 2001; 18:705–19.
  34. Olivier M, Langerod A, Carrieri P, Bergh J, Klaar S, Eyfjord J, et al. The clinical value of somatic TP53 gene mutations in 1794 patients with breast cancer. *Clin Cancer Res* 2006; 12:1157–67.
  35. Djordjević N, Janković S. Pharmacogenetics – the future of the drug therapy. *Acta Medica Medianae* 2007; 46(2):56–60.

## **TP53 GENE MUTATIONS – FROM GUARDIAN OF THE GENOME TO ONCOGENE**

Slavica Stojnev, Mlađan Golubović and Petar Babović

TP53 tumor suppressor gene mutations are the most frequent genetic alterations in human cancer affecting a specific gene. The occurrence of TP53 mutations is considerably influenced by cancer-initiating events, such as DNA damage, the aftermath of which is the promotion of cancer development through the loss of anti-proliferative activities, including apoptosis and cellular senescence.

Over 27.000 TP53 gene mutations have been discovered and found in more than 50% of human cancers. The most frequent alterations are the point mutations with a single base substitution in gene segment encoding for DNA-binding domain of p53 molecule, leading to the production of mutant protein that differs from the wild-type protein by one amino acid (missense mutations) usually causing the change in tertiary structure of gene product, thus preventing p53 to bind to DNA and activate transcription of target genes. The result of the mutations may also be the proteins with new, abnormal functions, and the ability to modulate expression of genes responsible for neoangiogenesis, resistance to chemotherapeutics and prevention of tumor initiation and promotion. In such circumstances, not only the mutant TP53 loses its tumor suppressive function, but acquires oncogenic potential and becomes an active participant in the neoplastic transformation of the cell.

Vast heterogeneity of mutations and methodological approaches in p53 status assessment represent the main difficulties in rapid and effective integration of basic p53 research into clinical practice. *Acta Medica Medianae* 2010;49(1):59–63.

**Key words:** TP53 gene, p53 protein, mutations, cancer