

PAPEL DA PROTEÍNA P53 NA PROLIFERAÇÃO NEOPLÁSICA

Vanessa de Sousa Cruz Pimenta¹, Yandra Cassia Lobato do Prado², Danilo Rezende e Silva³, Patrícia Almeida Machado⁴, Eugênio Gonçalves de Araújo⁵

¹Doutoranda, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil (vanessascpimenta@yahoo.com.br)

²Pesquisadora Doutora, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil

³Mestrando, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil

⁴Graduanda em Medicina Veterinária, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil

⁵Professor Doutor da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil

Recebido em: 30/09/2013 – Aprovado em: 08/11/2013 – Publicado em: 01/12/2013

RESUMO

A proteína p53, relacionada ao bloqueio do ciclo celular, possui funções biológicas e importância no estudo do câncer, pois suas alterações estão associadas ao desenvolvimento de neoplasias. Nesta revisão foram reunidas informações importantes sobre a p53, em especial sua ação na supressão das neoplasias, relação com outros genes e funções na terapia anticâncer. O gene TP53 é responsável por codificar a proteína p53, cuja expressão é baixa na ausência de estresse celular. No entanto, pode sofrer mutações e ser alterada por outros genes. A análise e a interpretação desta proteína podem ser úteis no diagnóstico precoce do câncer e no prognóstico dessas lesões. Ademais, restaurar a função da p53 tem sido uma esperança para o desenvolvimento de novos agentes antineoplásicos.

PALAVRAS-CHAVE: Apoptose, prognóstico, supressão de tumor, terapia do câncer

ROLE OF P53 PROTEIN IN THE NEOPLASIC PROLIFERATION

ABSTRACT

The p53 protein, related to cell cycle arrest, has biological function and importance in cancer research, because its changes are associated with cancer development. In this review were collected important information on the p53, particularly its action in the suppression of tumors, relationship with other genes and functions in anticancer therapy. The TP53 gene is responsible for encoding the p53 protein, whose expression is low in the absence of cellular stress. However, the same can mutate and be changed by other genes. The analysis and interpretation of this protein may be useful in early diagnosis of cancer and prognosis of these lesions. Moreover, restoring the function of p53 has been a hope for the development of new anticancer agents.

KEYWORDS: Apoptose, cancer therapy, prognostic, tumor suppression

INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença genética cuja evolução conduz a inúmeras alterações no DNA. Os proto-oncogenes são genes responsáveis pela regulação positiva da proliferação celular, enquanto os genes supressores de tumor se encarregam de inibir a multiplicação das células. Durante o desenvolvimento das neoplasias ocorre a ativação de proto-oncogenes simultânea a inativação de genes supressores de tumor. A mutação de um oncogene promove divisões celulares sem restrição e a mutação de um gene supressor de tumor leva a produção de proteínas defeituosas.

Há cerca de duas décadas, p53, uma proteína relacionada ao bloqueio do ciclo celular em caso de dano ao DNA, tornou-se um foco de pesquisas. Sua bioquímica, suas funções biológicas e sua relevância para o câncer, tem favorecido uma série de conhecimentos para a oncologia, mostrando a influência das suas alterações no desenvolvimento das neoplasias. Além disso, a procura por terapias seletivas contra o câncer, proporcionando um direcionamento específico para as células neoplásicas, vem estimulando a ideia de desenvolver meios para reconstituir a função ativa da p53.

Com esta revisão pretendeu-se reunir, de forma global, informações importantes sobre a p53, especialmente sobre sua ação supressora de tumor, relação com outros genes e papel no tratamento anticâncer.

A PROTEÍNA P53

O gene supressor de tumor TP53 (*tumor protein 53*) está localizado, na espécie canina, no cromossomo cinco e codifica a proteína p53 (*phosphoprotein 53*). A p53 humana e canina apresentam estrutura e funções semelhantes. O TP53 é um gene regulador de uma extensa rede que controla a integridade do genoma frente a danos celulares, como alterações cromossômicas, depleção de metabólitos, choque térmico, hipóxia, oncoproteínas virais e ativação de oncogenes celulares (MENENDEZ et al., 2007; FERREIRA & ROCHA, 2010; PASKULIN et al., 2012; SHAHBAZI et al., 2013). A variedade de fatores, como o estresse e cofatores de transcrição pode influenciar a interação direta entre p53 e o reparo ao DNA (VOGELSTEIN et al., 2000). Tais atividades ocorrem durante o desenvolvimento do câncer e resultam em mudanças biológicas, como o equilíbrio entre a apoptose e a sobrevivência celular (MENENDEZ et al., 2007; PETITJEAN et al., 2007; PASKULIN et al., 2012).

As células tumorais são geneticamente instáveis e acumulam rearranjos cromossômicos desequilibrados (PAMPALONA et al., 2012). Os telômeros, estruturas que formam as extremidades dos cromossomos, quando excessivamente curtos, promovem instabilidade cromossômica, observada no início da formação do câncer humano. O encurtamento dos telômeros ocorre devido à excessiva proliferação celular, com deficiência no ponto de checagem, por disfunção da p53, promovendo o aparecimento de extremidades não niveladas, levando a tipos complexos de anormalidades genômicas que são características das células tumorais humanas (ARTANDI et al., 2000).

A tetraploidia, três réplicas para cada cromossomo, também é observada nos primeiros estágios da carcinogênese. Os telômeros curtos disfuncionais, associados à deficiência no ponto de checagem do ciclo celular, também por disfunção da p53,

podem promover a formação de células tetraplóides. A inativação, das vias moduladas pela p53, ocorre em muitos tipos de tumores em ambiente permissivo para a proliferação de células anormais (PAMPALONA et al., 2012).

P53 foi a primeira proteína não histona, ou seja, que permanece após as histonas serem removidas, regulada por acetilação e desacetilação. Os níveis de acetilação da p53 aumentam, significativamente, em resposta ao estresse. Na ausência de estresse celular, a proteína p53 é mantida em baixos níveis, sem exercer efeito sobre o destino da célula. Os tipos de estresse que promovem a ativação da p53 incluem as condições associadas com a iniciação e progressão do câncer. Desta forma, p53 é um ativador de transcrição de sequência específica, pois se liga a elementos dentro do genoma e ativa a transcrição de genes que residem nas imediações dos locais de ligação. Existe um contexto celular, dentre eles a disponibilidade de sinais de sobrevivência, definido por eventos de sinalização intra e extracelulares, que promove alterações genéticas e afeta o estado funcional da p53 (OREN, 2003; LEE & GU, 2013).

As alterações genéticas que tenham impacto sobre a competência de outras proteínas associadas à apoptose, o controle do ciclo celular e o reparo de danos ao DNA, são capazes de modular a probabilidade da ação da p53, bem como o resultado da ativação biológica e suas múltiplas interações para controlar o crescimento das células neoplásicas. A escolha de subconjuntos específicos do gene-alvo e as interações de p53 com outras proteínas podem fazer a diferença entre a vida e a morte da célula em questão. O contexto celular, realizado pelo equilíbrio intra e extracelular nos eventos de sinalização, define se a ativação de p53 poupará a célula ou levará à sua morte por apoptose. Quando os sinais de sobrevivência celular estão disponíveis, a ativação de p53 levará, provavelmente, à interrupção da progressão do ciclo celular. Na ausência de fatores de sobrevivência adequada, será mais provável que p53 conduza à apoptose (OREN, 2003).

Quando as células sofrem agressão, a p53 se acumula no núcleo, onde pode regular os seus alvos de transcrição para induzir os eventos como apoptose e parada do ciclo celular, logo, na célula, a principal localização da p53, é o núcleo, onde promove a transativação dos genes-alvo. No entanto, a p53 também pode ter alguma função de transcrição no citoplasma. E raramente, por indução da apoptose, será encontrada na membrana (ZHANG & XIONG, 2001; ERSTER et al., 2004).

Outros papéis para p53 têm sido estabelecidos, incluindo a senescência, angiogênese, autofagia, regulação da fertilidade humana e metabolismo de carbono e lipídeos (VOUSDEN & PRIVES, 2009; PASKULIN et al., 2012; NAG et al., 2013). O caminho que promove o crescimento celular é o mesmo que deve conduzir o envelhecimento. Quando o ciclo celular é bloqueado, ao contrário do estímulo ao crescimento, ocorre o aumento das funções celulares, doenças e disfunções relacionadas com a idade (MCCUBREY & DEMIDENKO, 2012).

O *Caenorhabditis elegans* é um nematódeo utilizado como modelo para estudar o envelhecimento. CEP-1 (*Caenorhabditis elegans protein*) é uma proteína, no *C. elegans*, evolutivamente relacionada com a p53 do mamífero, cuja expressão é precoce nos tumores uterinos e diminui com a idade. A partir de oócitos não fertilizados, *C. elegans* apresenta crescimentos uterinos exacerbados com a idade, despertando o interesse pelo estudo dos mecanismos dos fenótipos do envelhecimento relacionados com a idade germinativa. CEP-1 controla a transcrição de muitos genes-alvo e promove apoptose induzida por dano ao DNA. No entanto há uma diminuição significativa na transcrição de cep-1, com a idade, no *C. elegans*.

Conjuntamente, o aumento de danos ao DNA por apoptose induzida, os níveis diminuídos de CEP-1, e os tecidos com prováveis consequências funcionais, poderiam fornecer mais detalhes sobre a idade de tumores uterinos em outras espécies. Nos mamíferos, a atividade de p53 também diminui com a idade, e esta diminuição pode ser um fator contribuinte para o aumento da incidência das neoplasias na população de idosos (MCGEE et al., 2012).

VIAS DE SINALIZAÇÃO DEPENDENTES DA PROTEÍNA P53

Existem vias de sinalização, no ciclo celular, que são dependentes da ação da p53. A sequência específica do fator de transcrição da p53 coordena a expressão de um grande número de genes alvo que participam em diferentes respostas celulares a condições de estresse (MENENDEZ et al., 2009).

Por meio da ativação da p21, proteína reguladora da transmissão da fase G1 para S no ciclo celular, p53 controla a fosforilação do complexo molecular ativo ciclina-Cdk (*cyclin dependent kinase*), interrompendo o ciclo celular. Pela conjugação da p21 à proteína PCNA (*proliferating cell nuclear antigen*), p53 promove o reparo ao DNA. Este também ocorre pelo estímulo direto à proteína codificada pelo gene XPC (*Xeroderma pigmentosum-complementation group C*), que está envolvido com o reparo por excisão de nucleotídeos. P53, também, induz a apoptose ao regular a expressão de mediadores anti ou pró-apoptóticos, envolvidos em atividades celulares, como os membros da família de proteínas Bcl-2: NOXA (gene pro-apoptótico), PUMA (*P53 upregulated modulator of apoptosis*), BAX (*Bcl-2 associated X protein*), proteína FASR (Fas Receptor) e a proteína IGF-BP3 (*Insulin-like growth factor binding protein 3*). A apoptose regulada por p53, quando ativada pela via intrínseca, é dependente da ativação de Bcl-2, que controla a liberação da proteína citocromo C, a partir da membrana interna da mitocôndria, promovendo a morte celular (PECORINO, 2008).

TP53INP1 é uma proteína nuclear expressa em muitos tecidos após a exposição a situações de estresse. A expressão deste gene é modulada pela p53, enquanto a p53 mutante é incapaz de ativá-lo. TP53INP1 tem funções como indução de autofagia, repressão da migração de células tumorais, supressão de tumor e indução da apoptose (SHAHBAZI et al., 2013).

MUTAÇÃO DA P53

A inativação da via p53 no câncer frequentemente ocorre por meio da expressão da proteína p53 mutante. A proteção celular é alterada por mutações do gene TP53, combinadas com diferentes polimorfismos, originando uma proteína não funcional (PIETSCH et al., 2006; WU et al., 2006; ANDREOTTI et al., 2011; DENT 2013). As mutações são herdadas ou ocorrem por exposição a carcinógenos ambientais ou agentes infecciosos. Acontecem sobre o domínio central da região codificadora, entre os exons três e nove, alterando a ligação com as sequências no DNA e promovendo alterações no potencial invasivo e migratório das células tumorais (FERREIRA & ROCHA, 2010). Com a mutação, p53 perde a capacidade de transativação por sobreposição dos sítios de ligação dos fatores de transcrição e o recrutamento de histonas (GARRITANO et al., 2013).

Em resposta ao estresse, a acetilação de p53 pode induzir a acetilação da lisina 120 (K120), dentro do domínio de ligação ao DNA. Esta lisina é um sítio de

repetição para a mutação da p53 no câncer, retendo a sua capacidade de interromper o crescimento celular (TANG et al., 2006). Como um guardião completo da integridade do genoma, p53 mutante confere as vantagens de promoção da sobrevivência das células cancerosas, exercendo efeitos anti-apoptóticos, essenciais para o desenvolvimento da neoplasia (KIM et al., 2009).

A p53 mutante ocorre em 50% a 70% das neoplasias, está associada à pior sobrevida global livre de doença e tem sido implicada na resistência às terapias anticâncer. Sua expressão indica um prognóstico preditivo (MILLER et al., 2005; SOUSSI & LOZANO, 2005; GARRITANO et al., 2013). Além disso, o aumento da frequência de p53 mutante em um nódulo inflamatório não tumoral, como uma lesão pré-neoplásica, pode ser considerado como uma maior susceptibilidade ao câncer (HUSSAIN et al., 2000).

A INFLUÊNCIA DE OUTROS GENES SOBRE P53

Vários genes podem ser recrutados simultaneamente dentro da mesma célula. A escolha dos genes específicos parece ter envolvimento com a interação de uma variedade de outras proteínas, favorecendo a transativação de genes pró-apoptóticos. Qualquer alteração genética que tenha impacto sobre a competência de outras proteínas envolvidas com a apoptose, controle do ciclo celular ou reparo aos danos do DNA, também são capazes de modular a resposta da p53 ao estresse (OREN, 2003).

O GENE MDM2

A proteína p53 tem sua função supressora de tumor regulada de forma negativa, ou seja, inativada pelo gene Mdm2 (*Murine double minute 2*). As alterações genéticas das células tumorais, como a superexpressão de Mdm2, afetam o estado funcional da p53. A maior parte da regulação negativa de p53 é executada pela ligase de proteína ubiquitina Mdm2, que é um produto de um proto-oncogene expresso na maioria dos tumores (TANG et al., 2008; THOMASOVA et al., 2012; NAG et al., 2013). Mdm2 leva à repressão da expressão de p53 por três mecanismos. No primeiro, Mdm2 se liga a p53 no seu domínio de transativação e bloqueia sua capacidade de ativar a transcrição. No segundo, promove a exportação nuclear de p53 para o citoplasma. E no terceiro, Mdm2 serve como uma ligase de ubiquitina que promove a degradação de p53 (MICHAEL & OREN, 2003; THOMASOVA et al., 2012).

Dos três mecanismos, destaca-se a ubiquitinação na extremidade carboxi-terminal da cadeia polipeptídica, exportando a p53 do núcleo para o citoplasma, onde a p53 será degradada pelo proteossoma, justificando a esporádica expressão citoplasmática de p53 pela imunistoquímica e caracterizando uma forma mais agressiva de tumor (ZHANG & XIONG, 2001; TEIXEIRA et al., 2011). Em situações normais, quando há mutação envolvendo o gene p53, a estrutura quaternária da proteína p53 é modificada, alterando as posições dos epítomos de MDM2, evitando o processo de degradação, mantendo um acúmulo da proteína p53 no núcleo da célula (LEHRBACH et al., 2009).

Mdm2 pode interferir na atividade transcricional de p53, em virtude da sua ligação aos domínios de transativação N-terminal de p53, desempenhando um papel central na degradação contínua da p53, mesmo em condições não estressantes.

Mdm2 contém dois sítios no seu primeiro intron e p53 pode se vincular a estes sítios, acionando a expressão de Mdm2 e estabelecendo uma retroalimentação negativa de p53, estimulando a síntese de Mdm2 que, por sua vez, desliga a atividade de p53 (OREN, 2003).

A acetilação da p53 é suficiente para revogar a repressão de Mdm2 durante a resposta ao estresse. Além disso, a acetilação e interação de p53 com Mdm2, no DNA, resultam na ativação de p53, independentemente do seu estado de fosforilação. Desta forma, as funções de transcrição da p53 podem ser restauradas pela inativação de Mdm2 (TANG et al., 2008).

ONCOGENE MCT-1

O oncogene MCT-1 (múltiplas cópias em doença maligna de células T) é altamente expresso nos linfomas humanos, promovendo a sobrevivência celular, proliferação e desvio no ponto de checagem. Além disso, MCT-1 origina a depressão do gene p53, alterando a estabilidade da função da p53 ativa. Em contrapartida, a p53 não pode conter os impactos tumorais de MCT-1, prosseguindo a malignidade celular. Seis sítios de ligação de p53 foram identificados na região MCT-1, sendo que, em células epiteliais de mama, a redução de p53 pode alterar inversamente a expressão de MCT-1. O potencial oncogênico de MCT-1 também foi além da função protetora de p53 em xenoinxertos de células de adenocarcinoma pulmonar em ratos. O potencial oncogênico de MCT-1 ultrapassa a capacidade de supressão tumoral de p53. Conseguir um equilíbrio entre eles poderia determinar a prevenção do desenvolvimento tumoral e a disfunção de MCT-1 seria uma estratégia para a inibição da tumorigenicidade (KASIAPPAN et al., 2010).

GENE FOXO3

Existe uma ligação entre o envelhecimento e o câncer e as intervenções que prolongam a vida podem diminuir a incidência de tumores. Da mesma forma, os genes que estendem a vida fazem parte de uma rede molecular que suprime a tumorigênese (MASORO, 2005; RENAULT et al., 2011). O grupo FoxO (Forkhead Box - FoxO1, FoxO3, FoxO4 e FoxO6) pertence a uma família de genes de fatores de transcrição e desempenha um papel fundamental na ligação entre a longevidade e a supressão do tumor. Atua, também, como um supressor de tumor de linhagem específica em mamíferos. FoxO3 está envolvida com o controle, tanto do envelhecimento quanto do câncer. Tendo relação, também, com a parada do ciclo celular, o reparo ao DNA, hipóxia e apoptose (PAIK et al., 2007; RENAULT et al., 2009).

Além da ligação entre o envelhecimento e o câncer, existe interação, direta e indireta, entre FoxO3 e p53 na supressão tumoral (WANG et al., 2008). Eles compartilham funções em comum, mas estas duas moléculas podem ter papéis antagonista sobre o tempo de vida no organismo. A regulação da expressão gênica por FoxO3 e p53 pode ser específica para um determinado tipo de tecido, podendo funcionar melhor em algumas células em relação a outras (RENAULT et al., 2011). A ação de p53 promove o envelhecimento em ratos, vermes e moscas, diminuindo o tempo de vida em moscas do gênero masculino, porém aumentando a longevidade em moscas do gênero feminino (ARUM & JOHNSON, 2007; SHEN & TOWER, 2010).

As bases moleculares para as diferenças entre FoxO3 e p53 no envelhecimento não são conhecidas, mas entender a relação entre eles pode fornecer informações essenciais para os mecanismos que regulam a longevidade (RENAULT et al., 2011).

A PROTEÍNA P53 EM DIVERSOS TIPOS DE CÂNCER

TEIXEIRA et al., (2011) avaliaram a expressão da proteína p53, por imunistoquímica, em tecido mamário com carcinoma e glândulas normais do mesmo animal, totalizando 18 cadelas. Analisaram, também, as mutações no éxon oito do gene TP53, pela técnica de PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction - Restrictions Fragment Length Polymorphism*: Reação em Cadeia de Polimerase - Polimorfismo do comprimento do fragmento de restrição). Não foi observada nenhuma expressão da p53 no grupo das glândulas normais. Também, não houve associação estatisticamente significativa entre o grau histológico e a intensidade da imunomarcação no grupo dos carcinomas. O estudo pela técnica de PCR-RFLP apresentou resultados dependentes de mutações em locais específicos, pois as mutações observadas no éxon oito foram frequentes, inclusive nas mamas que ainda não apresentavam alterações histopatológicas.

A sequência do gene TP53 e a expressão da p53 foram analisadas em amostras de neoplasia, linfonodo e bulbo piloso de tecido normal de 12 cães com linfoma canino. A imunomarcação de p53 foi obtida pela imunistoquímica e a sequência do gene por extração do DNA genômico e PCR. A maioria (90%) dos linfomas apresentou expressão de p53. O único linfoma que não apresentou marcação foi classificado como centrocítico-centroblástico, com baixo grau de malignidade. As maiores expressões ocorreram nos pacientes com menor tempo de sobrevivência, associando a imunomarcação de p53 com o prognóstico desfavorável. Não houve relação entre a reatividade pela imunistoquímica e as mutações na região entre os éxons quatro e nove do gene TP53 (CALAZANS, 2009).

MINICUCCI (2008) investigou o papel da proteína p53 e do gene TP53, induzindo a carcinogênese bucal por agente químico, em língua de rato Wistar. A expressão de p53 nuclear foi observada nas displasias e no carcinoma. Porém, as amostras estudadas apresentaram sequenciamento idêntico ao controle utilizado, sem nenhuma mutação na região entre os éxons cinco e oito do gene TP53. Concluiu-se que a expressão de p53 não foi relacionada à presença de mutações entre os éxons cinco e oito do gene TP53.

O papilomavírus humano (HPV) desempenha um importante papel na indução de carcinomas do colo uterino. A maioria dos carcinomas cervicais expressa uma oncoproteína viral, que promove a degradação da p53 e a transferência horizontal de oncogenes de HPV, podendo ser um mecanismo alternativo de carcinogênese (GAIFFE et al., 2012).

FELIN et al., (2008) escolheram 31 amostras de carcinoma de células escamosas de esôfago humano. Amostras de áreas não-tumorais da mucosa adjacente, referentes a cada caso, foram incluídas no estudo para fins de comparação. A expressão de p53 foi considerada positiva quando a marcação nuclear ocorreu em quantidade igual ou superior a 10%. A análise imunistoquímica foi estatisticamente diferente do tecido normal em 15 amostras tumorais, ou seja, 48,38% das amostras tumorais apresentaram p53 mutante. Com base nos achados deste estudo, a proteína p53 não pode ser associada ao estadiamento destes

tumores, devendo ser mais amplamente estudada em relação a outros parâmetros histopatológicos.

Cortes histológicos de 75 adenocarcinoma da junção esofagogástrica foram analisados por imunohistoquímica para a p53, tendo marcação positiva em todos os tumores, mas não houve associação entre a expressão e a invasão vascular ou perineural, características que determinam a sobrevida geral nos pacientes com este adenocarcinoma (LEHRBACH et al., 2009).

O câncer colorretal é o terceiro câncer mais comum em homens e o segundo em mulheres. Há 943.000 novos casos por ano. Condições associadas a polipose podem ter início na segunda década de vida, sendo que o carcinoma se desenvolve, em média, dez anos após o aparecimento dos pólipos. O acúmulo de células indiferenciadas nas criptas do cólon leva à formação de um pólipo e as mutações subsequentes, envolvendo o gene TP53, podem levar ao carcinoma. A mutação da p53 ocorre, geralmente, durante a instabilidade cromossômica, no momento da transição adenoma-carcinoma (ARMAGHANY et al., 2012).

MENEZES et al., (2010) avaliaram a expressão imunohistoquímica da proteína p53 em 82 casos de câncer colorretal, correlacionando-a com fatores prognósticos. O intervalo livre da doença foi considerado a partir da remoção cirúrgica até a recorrência local ou distante do tumor, variando entre seis e 64 meses. A expressão de p53 foi positiva em 70 tumores (85,4%) e negativa em 12 (14,6%), sendo positiva em 84,6% dos tumores de baixo grau e 100% positiva entre os tumores de alto grau. Houve recorrência do tumor em 18 pacientes. Não houve correlação, estatisticamente significativa, entre a expressão imunohistoquímica e a recorrência. Nos 16 pacientes que morreram durante o período do pós-operatório, a p53 foi positiva em 14 (87,5%) e negativa em dois (12,5%).

O carcinoma basocelular é o tipo de câncer de pele mais comum em humanos. Ocorre, principalmente, em pessoas com mais de 50 anos de idade e gênero masculino. Apresenta-se como nódulo infiltrativo, da cor da pele, eritematoso ou de coloração acastanhada, com telangiectasias e aspecto perolado. O crescimento é lento, de baixa agressividade e raramente apresenta metástase. Para identificação dos fatores de risco para o desenvolvimento de lesões mais agressivas, com maior potencial de recidiva e metástases, a expressão de p53 foi avaliada em 15 casos de carcinoma basocelular com diagnóstico histopatológico confirmado e, de acordo com os resultados encontrados neste estudo, a expressão da p53 pode indicar uma tendência à gravidade deste carcinoma (CORREA et al., 2009).

O carcinoma espinocelular cutâneo representa 20% das neoplasias malignas cutâneas em humanos. Origina-se a partir da proliferação de células escamosas atípicas e lesões não invasivas como a ceratose actínica. O perfil imunohistoquímico, quando associado a outros indicadores como a análise histopatológica e a apresentação clínica, sugere que a expressão de p53 reflete o grau de malignidade destas lesões cutâneas, permitindo um diagnóstico mais seguro (DORNELAS et al., 2009).

TRATAMENTOS ANTICÂNCER E A PROTEÍNA P53

A quimioterapia continua sendo o principal tratamento para doenças malignas sistêmicas. No entanto, alguns tumores são insensíveis a agentes quimioterápicos e outros adquirem resistência sobre a recidiva. Tanto a senescência, quanto a apoptose contribuem para a ação do quimioterápico e a perda de qualquer processo

promove a falha do tratamento. Diversos agentes anticancerígenos podem induzir a apoptose através de vias comuns e, as mutações que desativam estas vias, podem promover resistência a estes quimioterápicos. Os agentes anticâncer podem ativar a p53 a promover a apoptose, no entanto, os defeitos apoptóticos contribuem para a má evolução de pacientes portadores de tumores com p53 mutante. Além disso, a perda da função da p53 ativa pode determinar resistência ao tratamento (JOHNSTONE et al., 2002; SCHMITT et al., 2002).

Em linhagens celulares e em modelos experimentais utilizando animais é possível estabelecer que a reconstituição da atividade de p53 pode levar à morte de células tumorais e a regressão de tumores já estabelecidos. Estes resultados têm estimulado a ideia de desenvolver meios para ativar a função da p53 nas células neoplásicas (ANDREOTTI et al., 2011). A ativação excessiva de p53 é considerada como uma oportunidade de opção para terapias seletivas contra o câncer, proporcionando um direcionamento para as células neoplásicas e poupando o tecido normal não afetado pelo câncer (OREN, 2003).

Uma proposta de tratamento, visando a inibição do crescimento tumoral, é a ativação da via de p53 através da supressão da ligase de ubiquitina-proteína Mdm2 (NAG et al., 2013). Com o objetivo de identificar compostos que pudessem inibir a interação p53-Mdm2, VASSILEV et al., (2004) selecionaram, em uma biblioteca química, os compostos nutlins. Nutlins são imidazolínicos análogos que inibem a interação entre Mdm2 e p53. Procedeu-se o tratamento de células de cultivo do câncer de cólon, com a finalidade de promover a estabilização e o acúmulo da proteína p53, bloqueando sua saída e promovendo a ativação de outros genes regulados pela proteína p53. Os resultados confirmaram que a p53 do tipo ativa pode se acumular nas células tratadas com nutlin-1, elevando os níveis de Mdm2, consistente com a ativação da via de p53.

Além do nutlin-1, duas drogas genotóxicas, doxorrubicina (antibiótico da família das antraciclina) e fosfato de etoposido (inibidor da enzima topoisomerase II) foram analisadas, revelando que todos os três compostos induziram o acúmulo de p53 ativa. No entanto, somente a doxorrubicina e o etoposido causaram fosforilação, sugerindo que nutlin-1, provavelmente, não contribua com mecanismos genotóxicos, para a ativação de p53. Já a utilização de nutlin-3 suprimiu o crescimento de xenoinxertos de tumores de osteossarcoma humano em camundongos. A administração de nutlin-3, por via oral, inibiu o crescimento do tumor, sem perda significativa de peso e sem anormalidades durante a necropsia (VASSILEV et al., 2004).

Da mesma forma, ANDREOTTI et al., (2011) analisaram a interação funcional p53-Mdm2, bem como o impacto das pequenas moléculas nessa interação. Nutlin se ligou a Mdm2 e RITA (reativação de p53 e indução da apoptose de células tumorais) a p53, levando a mudanças conformacionais nas proteínas. O tratamento com nutlin afetou diretamente a ligação de Mdm2 com a região amino-terminal de p53, conduzindo ao acúmulo de p53 em várias células tumorais, interrompendo o ciclo celular, sem muita evidência de toxicidade. Para SAHA et al., 2013, é importante identificar o alvo seletivo para as pequenas moléculas, pois facilita o mecanismo preciso de ação tóxica para as células neoplásicas em relação às células normais.

RITA é uma pequena molécula que se liga à p53, induzindo o seu acúmulo nas células tumorais. Além disso, RITA inibe a interação p53-Mdm-2, minimizando os efeitos reguladores negativos da Mdm-2 sobre a p53. Ao induzir esta molécula, foi possível promover a apoptose em linhagens de células tumorais, expressando a

p53 ativa. RITA pode ser uma esperança no desenvolvimento de novos medicamentos antineoplásicos a partir da atividade da p53 ativa (ISSAEVA et al., 2004; SAHA et al., 2013).

Com a intenção de aumentar a resistência ao câncer, a proteína M também foi examinada em vários contextos celulares. Esta proteína interage com o tipo ativo da p53, aumentando a sua estabilidade e mantendo a sua localização nuclear intacta e funcional, mesmo na ausência de estresse. Ao impedir a saída da p53 para o citoplasma, consegue evitar a sua degradação, promovendo um estado de hiperatividade crônica (MOORE et al., 2007).

Para avaliar as funções antiproliferativas da proteína M, na presença e ausência de p53, ensaios de supressão de colônias foram realizados em três linhas de células de osteossarcoma humano. Quando a proteína M foi introduzida nestas células, houve supressão da formação de colônias, sugerindo que esta proteína tem funções supressivas de crescimento, independente de p53. Com a adição de p53 ativa houve um aumento significativo na supressão do crescimento e redução na formação das colônias. Estes resultados sugerem que a proteína M pode melhorar a função supressora de colônias de p53 ativa (MOORE et al., 2007). Por outro lado, ao gerar ratos com alterações no tipo ativo da p53, promovendo um alelo truncado, sob o efeito da proteína M, foi possível perceber alta resistência ao desenvolvimento de tumores. No entanto, estes ratos exibiram início precoce de sintomas associados ao envelhecimento, tais como redução do peso, atrofia muscular, osteoporose e uma diminuição da tolerância ao estresse (TYNER et al., 2002).

Cdc7 é uma quinase que desempenha um papel crítico na origem da replicação do DNA, sendo essencial para a proliferação de células nos mamíferos. Sua depleção provoca a morte celular, mesmo em células p53 positivas (YAMASHITA et al., 2005). Neste contexto, a morte celular foi induzida em células tumorais p53 positivas e negativas. Utilizou-se uma linhagem de células de câncer colorretal, analisando os efeitos da depleção da Cdc7. Em muitas células cancerosas, a depleção de Cdc7 provocou a morte celular. Em seguida, examinou-se o efeito de agentes genotóxicos, utilizados em tratamentos convencionais para o câncer, em combinação com inibidores de Cdc7, concluindo que o tratamento simultâneo estimula a apoptose. Os melhores resultados foram obtidos em células cancerígenas p53 positivas. No entanto, o mesmo resultado não foi observado em células p53 negativas (ITO et al., 2012).

As abordagens envolvendo terapia gênica de segmentação do gene p53 também têm sido exploradas para reforçar tratamentos quimioterápicos em pacientes oncológicos. A p53 adenoviral (Adp53) é um adenovírus mediado (Ad) contendo transferência de p53 humana. Pacientes humanos com avançado estágio de carcinoma pulmonar de células não pequenas (NSCLC: *Non-small-cell lung carcinoma*) receberam Adp53 associada ao tratamento quimioterápico com cisplatina. A cisplatina isolada induz um baixo grau de apoptose nas células tumorais, enquanto a maioria dos pacientes mostrou um aumento no índice de apoptose com a suplementação de Adp53. A injeção intratumoral com Adp53, em combinação com a cisplatina, foi bem tolerada, sendo a febre a única toxicidade relacionada ao tratamento (NEMUNAITIS et al., 2000).

Plk1 (*Polo-like 1*) é expressa em várias neoplasias humanas e se correlaciona com pior prognóstico dos pacientes. Plk1 atravessa as vias de sinalização de p53 que reprime o promotor de Plk1. A restauração da p53 em células neoplásicas, com a inativação da mutação de p53 e a inibição de Plk1 podem proporcionar uma

terapia eficiente para combater a reincidência e a metástase dos tumores (LOUWEN & YUAN, 2013).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conhecer a p53 e manter-se informado sobre suas atualizações tornou-se necessário para interpretar os resultados da sua expressão nos diferentes tipos de câncer. A avaliação de p53 pode ser útil na identificação precoce do câncer, em indivíduos com exposição a agentes cancerígenos, em situações clínicas onde as lesões não malignas podem ser detectadas antes da progressão para o câncer e para determinar o prognóstico de neoplasias já existentes. Além disso, restaurar a função da p53 ativa parece ser uma esperança na busca de terapias seletivas contra o câncer.

REFERÊNCIAS

ANDREOTTI, V.; CIRIBILLI, Y.; MONTI, P. et al.; BISIO, A.; LION, M.; JORDAN, J.; FRONZA, G.; MENICHINI, P.; RESNICK, M. A.; INGA, A. **p53 transactivation and the impact of mutations, cofactors and small molecules using a simplified yeast-based screening system**. PLoS One, São Francisco, v. 6, n. 6, 2011.

ARMAGHANY, T.; WILSON, J. D.; CHU, Q.; MILLS, G. Genetic alterations in colorectal cancer. **Gastrointestinal Cancer Research Journal**, New York, v. 5, n. 1, p. 19-27, 2012.

ARTANDI, S. E.; CHANG, S.; LEE, S. L.; ALSON, S.; GOTTLIEB, G. J.; CHIN, L.; DEPINHO, R. A. **Telomere dysfunction promotes non-reciprocal translocations and epithelial cancers in mice**. Nature, London, v. 406, n. 6796, p. 641-645, 2000.

ARUM, O.; JOHNSON, T. E. **Reduced expression of the Caenorhabditis elegans p53 ortholog cep-1 results in increased longevity**. Journals of Gerontology, Series A: Biological Sciences and Medical Sciences, Oxford, v. 62, n. 9, p. 951-959, 2007.

CALAZANS, S. **Análise mutacional do gene supressor de tumor TP53 e imunorreatividade da p53 em linfomas caninos**. 2009. f. Tese (Doutorado em Cirurgia Veterinária) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

CORREA, M.; FERREIRA, A.; GOLLNER, A.; RODRIGUES, M.; GUERRA, M. Expressão de marcadores de proliferação celular e apoptose em carcinoma basocelular. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 84, n. p. 606-614, 2009.

DENT, P. **Non-canonical p53 signaling to promote invasion**. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4161/cbt.26174>. 2013. Acesso em: 15.09.2013.

DORNELAS, M.; MACHADO, D.; FERREIRA, A.; RODRIGUES, M.; GOLLNER, A. Expressão de marcadores de proliferação celular e apoptose no carcinoma

espinocelular de pele e ceratose actínica. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 84, n. p. 469-475, 2009.

ERSTER, S.; MIHARA, M.; KIM, R. H. et al.; PETRENKO, O.; MOLL, U. M. **In vivo mitochondrial p53 translocation triggers a rapid first wave of cell death in response to DNA damage that can precede p53 target gene activation.** *Molecular and Cellular Biology*, Washington, v. 24, n. 15, p. 6728-6741, 2004.

FELIN, I.; GRIVICICH, I.; FELIN, C.; REGNER, A.; ROCHA, A. Expressão de p53, p16 e COX-2 em carcinoma escamoso de esôfago e associação histopatológica. **Arquivos de Gastroenterologia**, São Paulo, v. 45, n. p. 308-312, 2008.

FERREIRA, C.; ROCHA, J. **Oncologia Molecular**. São Paulo: Editora Atheneu, 2010. 770p.

GAIFFE, E.; PRÉTET, J. L.; LAUNAY, S.; JACQUIN, E.; SAUNIER, M.; HETZEL, G.; OUDET, P.; MOUGIN, C. Apoptotic HPV positive cancer cells exhibit transforming properties. *PLoS One*, San Francisco, v. 7, n. 5, p. e36766, 2012.

GARRITANO, S.; INGA, A.; GEMIGNANI, F.; LANDI, S. More targets, more pathways and more clues for mutant p53. Disponível em: <http://dx.doi.org:10.1038/oncsis.2013.15>. Acesso em: 15.09.2013.

HUSSAIN, S. P.; AMSTAD, P.; RAJA, K.; AMBS, S.; NAGASHIMA, M.; BENNETT, W. P.; SHIELDS, P. G.; HAM, A. J.; SWENBERG, J. A.; MARROGI, A. J.; HARRIS, C. C. **Increased p53 mutation load in noncancerous colon tissue from ulcerative colitis: a cancer-prone chronic inflammatory disease.** *Cancer Research*, Philadelphia, v. 60, n. 13, p. 3333-3337, 2000.

ISSAEVA, N.; BOZKO, P.; ENGE, M.; PROTOPOPOVA, M.; VERHOEF, L. G.; MASUCCI, M.; PRAMANIK, A.; SELIVANOVA, G. **Small molecule RITA binds to p53, blocks p53-HDM-2 interaction and activates p53 function in tumors.** *Nature Medicine*, New York, v. 10, n. 12, p. 1321-1328, 2004.

ITO, S.; ISHII, A.; KAKUSHO, N.; TANIYAMA, C.; YAMAZAKI, S.; FUKATSU, R.; SAKAUE-SAWANO, A.; MIYAWAKI, A.; MASAI, H. **Mechanism of cancer cell death induced by depletion of an essential replication regulator.** *PLoS One*, San Francisco, v. 7, n. 5, p. e36372, 2012.

JOHNSTONE, R. W.; RUEFLI, A. A.; LOWE, S. W. **Apoptosis: a link between cancer genetics and chemotherapy.** *Cell*, Maryland Heights, v. 108, n. 2, p. 153-164, 2002.

KASIAPPAN, R.; SHIH, H. J.; WU, M. H.; CHOY, C.; LIN, T. D.; CHEN, L.; HSU, H. L. **The antagonism between MCT-1 and p53 affects the tumorigenic outcomes.** *Molecular Cancer*, London, v. 9, n. p. 311, 2010.

KIM, E.; GIESE, A.; DEPERT, W. **Wild-type p53 in cancer cells: when a guardian turns into a blackguard.** *Biochemical Pharmacology*, Kansas City, v. 77,

n. 1, p. 11-20, 2009.

LEE, J.; GU, W. SIRT1: Regulator of p53 Deacetylation. **Genes & Cancer**. v.4, p.112–117, 2013.

LEHRBACH, D. M.; CECCONELLO, I.; RIBEIRO JR, U.; CAPELOZZI, V. L.; AB'SABER, A. M.; ALVES, V. A. **Adenocarcinoma of the esophagogastric junction: relationship between clinicopathological data and p53, cyclin D1 and Bcl-2 immunoexpressions**. Arquivos de Gastroenterologia, São Paulo, v. 46, n. 4, p. 315-320, 2009.

LOUWEN, F.; YUAN, J. Battle of the eternal rivals: restoring functional p53 and inhibiting Polo-like kinase 1 as cancer therapy. *Oncotarget*. v.4, p.958-971, 2013.

MASORO, E. J. **Overview of caloric restriction and ageing**. Mechanisms of Ageing and Development, Oxford, v. 126, n. 9, p. 913-922, 2005.

MCCUBREY, J. A.; DEMIDENKO, Z. N. Recent discoveries in the cycling, growing and aging of the p53 field. **Aging**. v.4, p.887-893, 2012.

MCGEE, M. D.; DAY, N.; GRAHAM, J.; MELOV, S. **cep-1/p53-dependent dysplastic pathology of the aging C. elegans gonad**. Aging, New York, v. 4, n. 4, p. 256-269, 2012.

MENENDEZ, D.; INGA, A.; JORDAN, J. J.; RESNICK, M. A. **Changing the p53 master regulatory network: Elementary, my dear Mr Watson**. Oncogene, New York, v. 26, n. 15, p. 2191-2201, 2007.

MENENDEZ, D.; INGA, A.; RESNICK, M. A. **The expanding universe of p53 targets**. Nature Reviews Cancer, London, v. 9, n. 10, p. 724-737, 2009.

MENEZES, H. L.; JUCÁ, M. J.; GOMES, E. G.; NUNES, B. L.; COSTA, H. O.; MATOS, D. Analysis of the immunohistochemical expressions of p53, bcl-2 and Ki-67 in colorectal adenocarcinoma and their correlations with the prognostic factors. **Arquivos de Gastroenterologia**, São Paulo, v. 47, n. 2, p. 141-147, 2010.

MICHAEL, D.; OREN, M. **The p53-Mdm2 module and the ubiquitin system**. Seminars in Cancer Biology, Philadelphia, v. 13, n. 1, p. 49-58, 2003.

MILLER, L. D.; SMEDS, J.; GEORGE, J.; VEGA, V. B.; VERGARA, L.; PLONER, A.; PAWITAN, Y.; HALL, P.; KLAAR, S.; LIU, E. T.; BERGH, J. **An expression signature for p53 status in human breast cancer predicts mutation status, transcriptional effects, and patient survival**. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, Washington, v. 102, n. 38, p. 13550-13555, 2005.

MINICUCCI, E. **O papel da proteína p53 e do gene TP53 na carcinogênese bucal quimicamente induzida pela 4NQO em ratos**. 2008. 59 f. Tese (Doutorado em Bases Gerais da Cirurgia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

MOORE, L.; LU, X.; GHEBRANIOUS, N.; TYNER, S.; DONEHOWER, L. A. **Aging-associated truncated form of p53 interacts with wild-type p53 and alters p53 stability, localization, and activity.** *Mechanisms of Ageing and Development*, Oxford, v. 128, n. 11-12, p. 717-730, 2007.

NAG, S.; QIN, J.; SRIVENUGOPAL, K. S.; WANG, M.; ZHANG, R. The MDM2-p53 pathway revisited. **The Journal of Biomedical Research.** v.27, p.254-271, 2013.

NEMUNAITIS, J.; TIMMONS, T.; SWISHER, S.; CONNORS, D.; MACK, M.; DOERKSEN, L.; WEILL, D.; WAIT, J.; LAWRENCE, D.; KEMP, B.; FOSSELA, F.; GLISSON, B.; HONG, W.; KHURI, F.; LEE, J.; NGUYEN, D.; NESBITT, J.; PERZ-SOLER, R.; PISTER, K.; PUTNAM, J.; RICHLI, W.; SHIN, D.; WALSH, G.; MERRITT, J.; ROTH, J. **Adenovirus-mediated p53 gene transfer in sequence with cisplatin to tumors of patients with non-small-cell lung cancer.** *Journal of Clinical Oncology*, New York, v. 18, n. p. 609-622, 2000.

OREN, M. **Decision making by p53: life, death and cancer.** *Cell Death and Differentiation*, Oxford, v. 10, n. 4, p. 431-442, 2003.

PAIK, J. H.; KOLLIPARA, R.; CHU, G.; JI, H.; XIAO, Y.; DING, Z.; MIAO, L.; TOTHOVA, Z.; HORNER, J. W.; CARRASCO, D. R.; JIANG, S.; GILLILAND, D. G.; CHIN, L.; WONG, W. H.; CASTRILLON, D. H.; DEPINHO, R. A. **FoxOs are lineage-restricted redundant tumor suppressors and regulate endothelial cell homeostasis.** *Cell*, Maryland Heights, v. 128, n. 2, p. 309-323, 2007.

PAMPALONA, J.; FRÍAS, C.; GENESCÀ, A.; TUSELL, L. **Progressive telomere dysfunction causes cytokinesis failure and leads to the accumulation of polyploid cells.** *PLoS Genetics*, San Francisco, v. 8, n. 4, p. e1002679, 2012.

PASKULIN, D. D.; PAIXÃO-CÔRTEZ, V. R.; HAINAUT, P.; BORTOLINI, M. C.; Ashton-Prolla, P. **Genetics and Molecular Biology.** v.35, p.939-946, 2012.

PECORINO, L. **Molecular Biology of Cancer - Mechanisms, Targets and Therapeutics.** 2.ed. New York: Oxford University Press, 2008.

PETITJEAN, A.; MATHE, E.; KATO, S.; ISHIOKA, C.; TAVTIGIAN, S. V.; HAINAUT, P.; OLIVIER, M. **Impact of mutant p53 functional properties on TP53 mutation patterns and tumor phenotype: lessons from recent developments in the IARC TP53 database.** *Human Mutation*, New York, v. 28, n. 6, p. 622-629, 2007.

PIETSCH, E. C.; HUMBEY, O.; MURPHY, M. E. **Polymorphisms in the p53 pathway.** *Oncogene*, New York, v. 25, n. 11, p. 1602-1611, 2006.

RENAULT, V. M.; RAFALSKI, V. A.; MORGAN, A. A.; SALIH, D. A.; BRETT, J. O.; WEBB, A. E.; VILLEDA, S. A.; THEKKAT, P. U.; GUILLEREY, C.; DENKO, N. C.; PALMER, T. D.; BUTTE, A. J.; BRUNET, A. **FoxO3 regulates neural stem cell homeostasis.** *Cell Stem Cell*, Maryland Heights, v. 5, n. 5, p. 527-539, 2009.

RENAULT, V. M.; THEKKAT, P. U.; HOANG, K. L.; WHITE, J. L.; BRADY, C. A.; KENZELMANN BROZ, D.; VENTURELLI, O. S.; JOHNSON, T. M.; OSKOUI, P. R.; XUAN, Z.; SANTO, E. E.; ZHANG, M. Q.; VOGEL, H.; ATTARDI, L. D.; BRUNET, A. **The pro-longevity gene FoxO3 is a direct target of the p53 tumor suppressor.** *Oncogene*, New York, v. 30, n. 29, p. 3207-3221, 2011.

SAHA, M., N.; QIU, L.; CHANG, H. **Targeting p53 by small molecules in hematological malignancies.** Disponível em: <http://www.jhoonline.org/content/6/1/23>. 2013. Acesso em: 15.09.2013.

SCHMITT, C. A.; FRIDMAN, J. S.; YANG, M.; LEE, S.; BARANOV, E.; HOFFMAN, R. M.; LOWE, S. W. **A senescence program controlled by p53 and p16INK4a contributes to the outcome of cancer therapy.** *Cell*, Maryland Heights, v. 109, n. 3, p. 335-346, 2002.

SHAHBAZI, J., LOCK, R.; LIU, T. **Tumor protein 53-induced nuclear protein 1 enhances p53 function and represses tumorigenesis.** Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fgene.2013.00080>. 2013. Acesso em: 15.09.2013.

SHEN, J.; TOWER, J. **Drosophila foxo acts in males to cause sexual-dimorphism in tissue-specific p53 life span effects.** *Experimental Gerontology*, Oxford, v. 45, n. 2, p. 97-105, 2010.

SOUSSI, T.; LOZANO, G. p53 mutation heterogeneity in cancer. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, New York, v. 331, n. 3, p. 834-842, 2005.

TANG, Y.; LUO, J.; ZHANG, W.; GU, W. **Tip60-dependent acetylation of p53 modulates the decision between cell-cycle arrest and apoptosis.** *Molecular Cell*, Cambridge, v. 24, n. 6, p. 827-839, 2006.

TANG, Y.; ZHAO, W.; CHEN, Y.; ZHAO, Y.; GU, W. **Acetylation is indispensable for p53 activation.** *Cell*, Maryland Heights, v. 133, n. 4, p. 612-626, 2008.

TEIXEIRA, M.; SOBRAL, A.; LIMA, M.; MAIA, F.; CHRISTILIS, M.; SOUZA, D.; ADRIÃO, M.; WISCHRAL, A. **Avaliação da superexpressão da proteína p53 e das mutações no éxon 8 do gene TP53 em carcinomas mamários caninos e glândulas normais.** *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v. 31, n. p. 521-526, 2011.

THOMASOVA, D.; MULAY, S. R.; BRUNS, H.; ANDERS, H. J.; p53-Independent Roles of MDM2 in NF-κB Signaling: Implications for Cancer Therapy, Wound Healing, and Autoimmune Diseases. **Neoplasia**. v.14, p.1097–1101, 2012.

TYNER, S. D.; VENKATACHALAM, S.; CHOI, J.; JONES, S.; GHEBRANIOUS, N.; IGELMANN, H.; LU, X.; SORON, G.; COOPER, B.; BRAYTON, C.; PARK, S. H.; THOMPSON, T.; KARSENTY, G.; BRADLEY, A.; DONEHOWER, L. A. **p53 mutant mice that display early ageing-associated phenotypes.** *Nature*, London, v. 415, n. 6867, p. 45-53, 2002.

VASSILEV, L. T.; VU, B. T.; GRAVES, B.; CARVAJAL, D.; PODLASKI, F.; FILIPOVIC, Z.; KONG, N.; KAMMLOTT, U.; LUKACS, C.; KLEIN, C.; FOTOUHI, N.; LIU, E. A. **In vivo activation of the p53 pathway by small-molecule antagonists of MDM2**. *Science*, New York, v. 303, n. 5659, p. 844-848, 2004.

VOGELSTEIN, B.; LANE, D.; LEVINE, A. J. **Surfing the p53 network**. *Nature*, London, v. 408, n. 6810, p. 307-310, 2000.

VOUSDEN, K. H.; PRIVES, C. **Blinded by the light: the growing complexity of p53**. *Cell*, Maryland Heights, v. 137, n. 3, p. 413-431, 2009.

WANG, F.; MARSHALL, C. B.; YAMAMOTO, K.; LI, G. Y.; PLEVIN, M. J.; YOU, H.; MAK, T. W.; IKURA, M. **Biochemical and structural characterization of an intramolecular interaction in FOXO3a and its binding with p53**. *Journal of Molecular Biology*, London, v. 384, n. 3, p. 590-603, 2008.

WU, H.; HAYASHI, T.; INOUE, M. **Immunohistochemical expression of Mdm2 and p53 in canine cutaneous mast cell tumours**. *Journal of Veterinary Medicine A Physiology, Pathology, Clinical Medicine*, Berlím, v. 53, n. 2, p. 65-68, 2006.

YAMASHITA, N.; KIM, J. M.; KOIWAI, O.; ARAI, K.; MASAI, H. **Functional analyses of mouse ASK, an activation subunit for Cdc7 kinase, using conditional ASK knockout ES cells**. *Genes to Cells*, Oxford, v. 10, n. 6, p. 551-563, 2005.

ZHANG, Y.; XIONG, Y. **A p53 amino-terminal nuclear export signal inhibited by DNA damage-induced phosphorylation**. *Science*, New York, v. 292, n. 5523, p. 1910-1915, 2001.