

## P 5 3

Resumen por Mauricio Lema de las dos clases de p53: estructura y actividad biológica / ruta p53-Mdm2-ARF y la clase de mutaciones de p53 (10/2012)

### **p53: estructura y actividad biológica -La ruta p53-Mdm2-ARF**

#### **p53 como supresor tumoral**

Todas las células están expuestas a alteraciones oncogénicas, pero no siempre se forma tumor por diversos mecanismos. En general cualquier alteración de la homeostasis celular (señal de estrés) activa el p53 que genera una supresión tumoral. Se puede considerar el p53 como un nodo central que integra muchas señales. Las señales que pueden inducir el p53 son varios (oncogenes, acortamiento telomérico, daño al DNA, ausencia de nutrientes, hipoxia, disrupción de microtúbulos). El p53 regula otras proteínas por medio de regulación transcripcional ya que el p53 es un factor de transcripción que media su supresión tumoral.

*La función del p53 responde al estrés y bloquea la célula según el grado de estrés. Con estrés de bajo grado se para transitoriamente el ciclo, con posibilidad de reparación. Cuando el estrés es mayor se induce apoptosis o senescencia en un proceso irreversible.*

En ausencia de estrés los niveles de p53 se mantienen bajos por un bucle que involucra el Mdm2 uno de sus genes dianas, que lo marca para la degradación. Cuando hay estrés celular los niveles de p53 se bloquea este ciclo, estabilizando el p53 estimulando la transcripción de los genes diana. Mdm2 antagoniza el p53 estimulando su degradación por la ubiquitina, inhibe la transcripción del p53 y favorece la salida de p53 del núcleo. El Mdm2 es el regulador del p53.

#### **p14ARF (Estrés mitogénico)**

Codificada en el locus INK4a/ARF que codifica la ARF y la p16. La ARF es también un TSG que modula el p53. ARF bloquea la degradación de p53 mediada por Mdm2. La ARF inhibe de Mdm2 mediante secuestro nuclear así: en ausencia de ARF, Mdm2 en nucleoplasma, p53 inestable. El ARF se localiza específicamente en los nucléolos, secuestrando el Mdm2 en los nucléolos, dejando que el p53 actúe. El ARF encaja en la vía del estrés mitogénico. Una señal mitogénica normal no induce ARF. Con señales mitogénicas extrema se incrementa el ARF (Ras, Myc, E1A, estrés de cultivo), con activación del p53. ARF también es el mediador principal de la senescencia.

La regulación transcripcional de ARF es muy fina, que se hace por la combinación de varios factores transcripcionales que la estimulan o inhiben.

Otra función del ARF es como cofactor del p53.

Exp

Conexión funcional ARF-ING1 con p53.

#### **Estrés genotóxico**

Son dos cascadas que involucran el ATM y el ATR cuando hay lesión ionizante con ruptura de DNA de doble cadena, o lesiones UV / estrés replicativo, respectivamente. Estas kinasas fosforilan residuos específicos de Serina en el dominio aminoterminal del p53, estabilizándolo. También fosforilan Chk1/2.

## **Mecanismo de acción del p53**

El p53 tiene varios dominios: el central se une al DNA; hacia el lado carboxi hay dominios de tetramerización; y el extremo N terminal se une al sitio de unión del DNA y el sitio de unión de las Mdm2.

Además de la fosforilación hay acetilación, sumoilación y otras modificaciones postraduccionales del p53.

## **Qué proceso es más importante, el estrés mitogénico o el estrés genotóxico?**

La vía principal es la ARF, al menos en ratones.

## **Otras funciones del p53**

1. Tiene funciones en el citoplasma y mitocondrias por interacción proteína – proteína como BAX (apoptosis), con variación del ARF en la mitocondria con autofagia.
2. Metabolismo celular (efecto Warburg). El p53 tiene varias conexiones con las vías metabólicas: La AMPK aumenta la p53. El p53 inhibe la Fosfogliceromutasa, y estimula la TIGAR y SCO2.
3. P53 y stemness en células ES. El p53 reprime genes de stemness en células ES.
4. El p53 inhibe la reprogramación de células stem (junto con p16/ARF).
5. Los tumores con perfiles más stem, tienen p53 inactivo (en general).

El abanico de efectos del p53 incluye autofagia, apoptosis, senescencia, reparación y metabolismo.

## **Familia p53**

Son 3 genes diferentes que pertenecen a esta familia: p53, p63 y p73. Los genes p63 y p73 son difíciles de estudiar porque tienen varios splicing del extremo amino terminal (TA vs DeltaN). Parecen ser menos importantes para la formación de tumores. En p63 es más importante en diferenciación, especialmente de piel y epitelios. Además, hay varias isoformas de p53.

## **Genes diana de p53**

Son muchos. Genes apoptóticos (APAF, BAX, PTEN, PUMA, FAS), inhibición de ciclo (p21), inhibición de angiogénesis, etc. El p53 también regula microRNAs, y en p53 citoplasmático regula el procesamiento de microRNAs.

## **Cómo se establece cuál va a ser la respuesta del p53 en una célula específica?**

**La Gestalt.**

## **Resumen**

***Estrés mitogénico / estrés genotóxico con p53 funcional se produce parada de ciclo celular, apoptosis, reparación de DNA con eliminación de células potencialmente tumorales, eliminación de daño génico y supresión tumoral.***

## **p53 en la enfermedad**

El gen del p53 está en el cromosoma 17. El 75% de las mutaciones del p53 son cambios de aminoácidos, y el 80% de las mutaciones de p53 ocurre en el sitio de unión de DNA. Hay 5 hotspots (175, 245, 248, 273, 282). Esos hotspots afectan los sitios de unión al DNA o el plegamiento. Este perfil de mutación es muy atípico para un TSG. Más parecido al de un oncógeno.

Las alteraciones del p53 son muy frecuentes en tumores. Aproximadamente 50% de los cánceres. Hay síndrome de Li/Fraumeni: cáncer a temprana edad como sarcomas, mama y tumores cerebrales. Casi siempre hay LOH. Cuando hay p53 mutado (que no funciona), se acumula.

Modelo dominante negativo: los tetrámeros que incluyen p53wt con p53mut puede causar genes. Cuando todos los p53 son mutados pueden funcionar como un oncogen. Otra posibilidad es que las formas mutadas de p53 puede unirse a p63 o p73.

### **Modelos animales de p53**

Ratones knock out genera tumores con latencia corta. Son pruebas de concepto, pero no recapitula lo que se ve en forma natural que son mutaciones.

### **Alteraciones de los otros reguladores de la vía p53**

Son menos comunes.

Alteraciones del ARF han sido difíciles de establecer, pues comparte el gen del p16. En muchos tumores hay silenciamiento epigenético del ARF (su promotor es independiente del p16). También hay delección del exón 1 Beta (o mutación). Mutación del exón 2 de ARF con inactivación. La metilación del ARF ocurre con frecuencia en GBM, vejiga; y, especialmente, en melanoma.

#### **Mdm2**

Este no es un TSG, sino un oncogén. La amplificación de Mdm2 ocurre en varios tumores, como sarcomas. En general, es del 7%. Hay correlación negativa entre mutación del p53 y Mdm2. Por ejemplo, en sarcomas cuando hay amplificación de Mdm2 no ocurre mutación del p53. Hay otros mecanismos de aumento de Mdm2, pero son raros.

#### **ATM**

Gen mutado en el síndrome ataxia telangiectasia. La ausencia de ATM se traduce en una mayor facilidad de mutación.

#### **Chk2**

Un porcentaje de los Li-Fraumeni (variante) es por mutación de Chk2.

#### **Modelos animales**

En general, el fenotipo de las inactivaciones de ARF, Mdm2, ATM, ATR, Chk1, Chk2, muestran fenotipos tumorales en ARF, Chk2 y ATM, o letalidad embrionaria con Mdm2, ATR, Chk1.

#### **Inactivación de p53 por proteínas virales**

El Antígeno T de virus SV40 (inactivación de p53 y Rb). Proteína E1A de adenovirus que inactiva el p53 y Rb. La proteína E6 del HPV16 que favorece la degradación del p53 (como si fuera una Mdm2). En tumores con p53 con inactivación viral no hay mutaciones de p53.

Acumulación aberrante de p53 en citoplasma. Por deslocalización se observa en algunos tumores como el neuroblastoma.

También hay expresión aberrante de diversas isoformas de p53 en los tumores.

### **p53 en la Clínica**

1. p53 como marcador pronóstico: Los tumores que tienen p53 inactivado tienden a ser insensibles a agentes que dañan el DNA (quimioterapia). En general, la mutación del p53 tienen peor pronóstico (no siempre). Debemos ser cautelosos al tratar de adjudicar el valor pronóstico del p53.

2. El p53 actúa distinto según la magnitud relativa del daño celular: daño leve, favorece la reparación. Con daño intenso, apoptosis.

### **Reactivación del p53.**

Es difícil reactivar un TSG. En modelos preclínicos la reactivación del p53 causa regresión tumoral. En linfomas el p53 reactivado causaba apoptosis. En sarcomas, el p53 reactivado causa senescencia. No siempre se obtiene regresión tumoral con reactivación de p53, pues hay ventanas temporales así: mientras más avanzado el tumor, mayor expresión de ARF, y mayor regresión tumoral.

Las mutaciones del p53 causan anomalías en el plegamiento del p53. Se han encontrado medicamentos que normalizan el plegamiento, restituyendo la función del p53 como PRIMA, CP31398.

Otra estrategia de reactivación del p53 cuando el Mdm2 está amplificado y es silenciado farmacológicamente. La interacción Mdm2 con p53 es similar a un sitio catalítico. Ciertos medicamentos tienen la habilidad de desplazar la unión Mdm2, restituyendo la función del p53 (ie, nutlins).

Hay otras moléculas pequeñas que pueden actuar sobre los reguladores. La leptomicina que regula el transporte nuclear de proteínas es capaz de estimular el p53. Tenovin / LMB actúa sobre SirT1 que estimulan la acetilación de p53 que es importante.

El adenovirus p53 se ha usado en la China como terapia génica. Hay también inmunoterapias.

### **Cicloterapia**

Atacar la célula tumoral, protegiendo la normal. En la ronda inicial se estimula la p53 (nutlin), las células normales entra en parada de ciclo celular. Posteriormente se le administra un citotóxico que no van a afectar tanto las células normales – disminuyendo los efectos secundarios.