



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**  
**«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ-ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ»**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«ΙΣΟΜΟΡΦΕΣ ΤΗΣ P53 ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ»**

**ΜΥΡΤΩ ΠΑΝΑΓΙΩΤΑ ΖΑΡΡΟΥ**

ΓΕΝΕΤΙΣΤΡΙΑ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΔΗΜΑΣ ΚΩΝ/ΝΟΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ ΠΑΝ/ΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ, *Επιβλέπων*

ΤΡΑΧΑΝΑ ΒΑΡΒΑΡΑ, ΕΠΙΚ. ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΠΑΝ/ΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ, Μέλος

ΠΑΠΑΘΑΝΑΣΙΟΥ ΙΩΑΝΝΑ, ΕΠΙΚ. ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΠΑΝ/ΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ, Μέλος

**ΛΑΡΙΣΑ, 2022**



**UNIVERSITY OF THESSALY  
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES  
FACULTY OF MEDICINE**



**POSTGRADUATE MASTER PROGRAM  
“HUMAN GENETICS – GENETIC COUNSELING”**

**MASTER’S THESIS**

**«P53 ISOFORMS AND THEIR ROLE IN CANCER»**

**MYRTO PANAGIOTA ZARROU**

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

*Ευχαριστώ θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου, Δήμα Κωνσταντίνο, για τον πολύτιμο χρόνο και συμβουλές που μου διέθεσε για την ολοκλήρωση της πτυχιακής μου εργασίας.*

*Το παρόν εγχείρημα αφιερώνεται στους γονείς μου, Ευμορφία Συρράκου και Θεόδωρο Ζάρρο, που πάντα με υποστηρίζουν άνευ όρων.*

## Περίληψη

Ο καρκίνος είναι μια θανατηφόρα ασθένεια που επηρεάζει εκατομμύρια ανθρώπους κάθε χρόνο. Οι περισσότεροι καρκίνοι φέρουν μεταλλάξεις σε τουλάχιστον ένα γονίδιο, και η συσσώρευση αυτών των μεταλλάξεων με την πάροδο του χρόνου οδηγεί τελικά στον σχηματισμό καρκινικών όγκων. Ένα από τα πιο μεταλλαγμένα γονίδια στον καρκίνο είναι το TP53, το οποίο κωδικοποιεί την πρωτεΐνη p53— γνωστή και ως «προστάτης του γονιδιώματος».

Η p53 αποτελεί την βασική πρωτεΐνη ενός πολύπλοκου ρυθμιστικού συστήματος που διασφαλίζει την πρόληψη του σχηματισμού καρκίνου σε κύτταρα που έχουν υποστεί κάποιας μορφής στρες. Η φυσιολογική δράση της σταματά τον κυτταρικό κύκλο, επιτρέποντας την επιδιόρθωση οποιασδήποτε βλάβης που προκαλείται στο DNA μετά από στρες. Εάν το DNA δεν είναι δυνατό να επιδιορθωθεί, η p53 προκαλεί απόπτωση και κυτταρική γήρανση, προκαλώντας την καταστροφή των κυττάρων. Ωστόσο, έπειτα από μετάλλαξη ή βλάβη στην ίδια την p53, η ογκοκατασταλτική της λειτουργία παύει και έτσι αναπτύσσονται καρκινικοί όγκοι.

Για μεγάλο χρονικό διάστημα, πιστευόταν ότι η p53 ήταν ο μοναδικός ρυθμιστής των πολύπλοκων ογκοκατασταλτικών μηχανισμών της. Σήμερα γνωρίζουμε πως υπάρχουν 12 ισομορφές της που είναι περικομμένες μορφές της πλήρους μήκους κανονικής p53 και συμβάλλουν στο πολύπλοκο δίκτυο λειτουργίας της αλληλοεπιδρώντας μεταξύ τους ή με άλλα μόρια. Συγκεκριμένα, μπορούν να προκαλέσουν ή να αναστείλουν την απόπτωση, να ρυθμίσουν κυτταρική γήρανση και να συμβάλουν στην επιδιόρθωση βλαβών του DNA. Ωστόσο, οι μηχανισμοί μέσω των οποίων λειτουργούν οι ισομορφές της p53 δεν είναι ακόμα πλήρως ξεκάθαροι.

Η έκφραση των ισομορφών της p53 μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με τον τύπο του καρκίνου και το στάδιο στο οποίο έχει προχωρήσει, ενώ μπορεί επίσης να λειτουργήσει ως δείκτης για την πρόγνωση του καρκίνου. Στην παρούσα εργασία παρατίθενται ο ρόλος των ισομορφών της p53 στον καρκίνο, αναλύονται οι μηχανισμοί μέσω των οποίων συμβάλλουν στη νόσο, καθώς και η σημασία τους στη διάγνωση και στη θεραπεία του καρκίνου.

**Λέξεις-Κλειδιά: Καρκίνος, ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη p53, ισομορφές**

## **Abstract**

Cancer is one of the deadliest diseases in the world that affects millions every year. Most cancers have mutations in at least one gene, and it is the accumulation of those mutations which eventually leads to the formation of cancerous tumours. One of the most mutated genes in cancer is TP53, which encodes for the p53 protein— also known as the “guardian of the genome”.

p53 is the core protein of a complex regulatory system that ensures the prevention of cancer formation in cells that have been subjected to stressors. The physiological action of p53 halts the cell cycle, allowing for any damage caused to DNA upon stress to be repaired. If the DNA is unable to be repaired, p53 then induces apoptosis and cellular senescence, which cause damaged cells to be destroyed. However, upon mutation or damage to the p53 protein itself, malignant cells can escape regulation and thus, grow to become cancerous tumours.

For the longest time, it was thought that p53 was the sole regulator of its complex tumour-suppressive mechanisms. Nowadays, we are aware that there are 12 isoforms of the p53 protein, which are truncated forms of the full-length canonical p53, and they contribute to its complex network by interacting with each other or other molecules. Specifically, the p53 isoforms can induce or inhibit apoptosis, regulate cellular senescence, and contribute to the repair of DNA damage. However, the mechanisms through which the isoforms of p53 function largely remain unknown.

Isoform expression can vary depending on the type of cancer and its progression, while it can also act as an indicator regarding cancer prognosis. The present work explores the role of p53 isoforms in cancer, analysing the mechanisms through which they contribute to the disease, as well as their importance in diagnosing and treating cancer.

**Key words: Cancer, p53 tumour suppressor, isoforms**

## Πίνακας Περιεχομένων

1. Εισαγωγή.....	8
A.1 Καρκίνος, καρκινογένεση και η γενετική του καρκίνου.....	8
A.1.1 Ορισμός του καρκίνου.....	8
A.1.2 Πρώτο-ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια.....	9
A.1.3 Ορόσημα του καρκίνου.....	10
A.1.4 Θεραπεία του καρκίνου μέσω της γενετικής.....	11
A.2 «Ο προστάτης του γονιδιώματος»: p53.....	13
A.2.1 Η ανακάλυψη της p53.....	13
A.2.3 Το γονίδιο TP53.....	14
A.2.4 Η πρωτεΐνη p53.....	15
A.3 Ο ρόλος της p53 στον καρκίνο.....	17
A.3.1 Ογκοκατασταλτική λειτουργία.....	17
A.3.2 Μεταλλαγμένη p53.....	18
2. Οι δώδεκα ισομορφές της p53.....	20
B.1 Σύνθεση και δομή των ισόμορφων.....	20
B.2 Μέθοδοι έρευνας των p53 ισόμορφων.....	22
B.3 Αλληλοεπίδραση και έκφραση των ισόμορφων στο κύτταρο.....	24
B.4 Χαρακτηριστικές λειτουργίες των ισόμορφων.....	26
B.4.1 p53β και p53γ.....	26
B.4.2 Δ40p53.....	26
B.4.3 Δ133p53.....	27
B.4.4 Δ160p53.....	28
B.5 Ζωικά πρότυπα και η βιολογική σημασία των ισόμορφων.....	29
B.5.1 <i>Drosophila melanogaster</i> .....	29
B.5.2 <i>Danio rerio</i> .....	30
B.5.3 <i>Mus musculus</i> .....	31
3. Ο ρόλος των ισόμορφων της p53 στον καρκίνο.....	33
Γ.1 Καρκινογένεση μέσω των ισόμορφων της p53.....	33
Γ.2 Σποραδικοί καρκίνοι και οι p53 ισομορφές.....	34
Γ.2.1 Καρκίνος του μαστού.....	34
Γ.2.2 Καρκίνος των ωοθηκών.....	36
Γ.2.3 Καρκίνος του ενδομήτριου.....	37
Γ.3.4 Καρκίνος του παχέος εντέρου.....	37
Γ.2.5 Νεφροκυτταρικό καρκίνωμα.....	39

Γ.2.6 Καρκίνος του δέρματος.....	39
Γ.2.7 Άλλες μορφές καρκίνου.....	40
Γ.3 Κληρονομικοί καρκίνοι.....	42
Γ.3.1. Σύνδρομο Li-Fraumeni .....	42
4. Θεραπευτικές προσεγγίσεις με βάση τις p53 ισομορφές .....	44
Δ.1 Οι ισομορφές της p53 ως καρκινικοί βιοδείκτες .....	44
Δ.2 Εναλλακτικό μάτισμα και αντικαρκινικές θεραπείες .....	45
Δ.3 Αντιστροφή της κυτταρικής γήρανσης.....	46
5. Συμπεράσματα.....	49
6. Βιβλιογραφία .....	50

# 1. Εισαγωγή

## A.1 Καρκίνος, καρκινογένεση και η γενετική του καρκίνου

### A.1.1 Ορισμός του καρκίνου

Ο καρκίνος αποτελεί την κύρια - ή δεύτερη κύρια - αιτία θανάτου σε άτομα κάτω των 70 ετών στις περισσότερες χώρες του κόσμου (Sung *et al.*, 2021). Είναι μια πολύπλοκη, πολυπαραγοντική ασθένεια που χαρακτηρίζεται από ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό κυττάρων σε οποιοδήποτε ιστό ή όργανο του ανθρώπινου οργανισμού. Φυσιολογικά, ο πολλαπλασιασμός και η επακόλουθη διαίρεση των κυττάρων είναι μια αυστηρά ρυθμιζόμενη διαδικασία αναγκαία για τη διατήρηση της υγείας ενός οργανισμού. Όμως, μερικές φορές μπορεί η διαδικασία αυτή να είναι λανθασμένη και να αποτύχουν να διορθωθούν τα λάθη από τους ρυθμιστικούς παράγοντές της. Τα λάθη αυτά οδηγούν σε παθολογικά κύτταρα, τα οποία έχουν την τάση να μετατρέπονται σε καρκινικά.

Το μεγαλύτερο ποσοστό των καρκίνων (90-95%) στον άνθρωπο οφείλεται σε μεταλλάξεις οι οποίες προέρχονται από περιβαλλοντικούς παράγοντες και επηρεάζουν συνήθως γονίδια τα οποία συμβάλουν σε λειτουργίες σημαντικές για τη φυσιολογική ανάπτυξη των σωματικών κυττάρων (Anand *et al.*, 2008). Για να μετατραπεί ένα φυσιολογικό κύτταρο σε καρκινικό κύτταρο, χρειάζεται συνήθως η συσσώρευση μεταλλάξεων σε περισσότερα από ένα γονίδια. Αυτό οδηγεί στη δημιουργία όγκων, μάζες κυττάρων οι οποίες μπορούν να πολλαπλασιάζονται ανεξέλεγκτα.

Ένας όγκος μπορεί να είναι καλοήθης ή κακοήθης ανάλογα με τα χαρακτηριστικά του. Οι καλοήθεις όγκοι πολλαπλασιάζονται με αργό ρυθμό και βρίσκονται πάντα περιορισμένοι σε έναν συγκεκριμένο ιστό, χωρίς να εισβάλουν σε άλλα μέρη του σώματος (Patel, 2020). Συνήθως δεν οδηγούν σε προβλήματα και μπορεί ο άνθρωπος να περάσει ολόκληρη τη ζωή του μη ξέροντας πως έχει έναν καλοήθη όγκο. Μερικές φορές, όμως, μπορεί οι καλοήθεις όγκοι να μεγαλώσουν σε τέτοιο σημείο που να συμπιέζουν ένα ή περισσότερα παρακείμενα όργανα, το οποίο τότε απαιτεί την αφαίρεσή τους. Σπανιότερα, μερικοί τύποι καλοηθών όγκων, όπως οι πολύποδες του παχέος εντέρου, μπορεί να μετατραπούν σε κακοήθεις εάν δεν αφαιρεθούν άμεσα (Patel, 2020). Οι κακοήθεις όγκοι είναι αυτοί που οδηγούν στον καρκίνο, καθώς μπορούν να πολλαπλασιάζονται και να εξαπλώνονται ανεξέλεγκτα σε γειτονικούς ιστούς (Weinberg, 2008). Η εξάπλωση των κακοηθών όγκων ονομάζεται μετάσταση, και είναι δυνατή μέσω της εισβολής τους στο κυκλοφορικό και λεμφικό σύστημα (Patel, 2020). Τα



συμπτώματα που προκαλούν οι καρκίνοι διαφέρουν ανάλογα με τον ιστό που βρίσκεται ο όγκος αλλά και τα συγκεκριμένα χαρακτηριστικά του κακοήθους όγκου. Οι πιο επιθετικοί κακοήθεις όγκοι έχουν τις περισσότερες μεταστάσεις, γεγονός που τους κάνει δύσκολους να αντιμετωπιστούν με θεραπείες.

### **A.1.2 Πρώτο-ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια**

Τα περισσότερα γονίδια που εμπλέκονται συνήθως στην καρκινογένεση χαρακτηρίζονται ως πρώτο-ογκογονίδια ή ογκοκατασταλτικά γονίδια ανάλογα με τη λειτουργία τους. Μεταλλάξεις σε οποιαδήποτε από τις δυο κατηγορίες γονιδίων οδηγούν στην απορρύθμιση των φυσιολογικών τους λειτουργιών, το οποίο επιτρέπει στον καρκίνο να πολλαπλασιαστεί και να εξαπλωθεί ανεξέλεγκτα.

Τα πρώτο-ογκογονίδια κωδικοποιούν πρωτεΐνες που ρυθμίζουν την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου, ενεργοποιώντας τη μετάβαση από τη μια φάση του κύκλου στην επόμενη (Weinberg, 2008). Συνήθως η δράση τους διεγείρει την κυτταρική διαίρεση, ενώ αναστέλλει την διαφοροποίηση και τον κυτταρικό θάνατο. Για παράδειγμα, το HER2 είναι ένα πρώτο-ογκογονίδιο που κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη της ίδιας ονομασίας, η οποία συμβάλει στην υγιή ανάπτυξη κυττάρων του μαστού (Moasser, 2007). Μεταλλάξεις στο HER2 οδηγούν στην ανεξέλεγκτη παραγωγή της HER2 πρωτεΐνης, με αποτέλεσμα την δημιουργία καρκίνου καθώς τα κύτταρα του μαστού υπερ-πολλαπλασιάζονται ασταμάτητα και ανεξέλεγκτα. Το φαινόμενο αυτό παρατηρείται σε όλα τα πρώτο-ογκογονίδια— η φυσιολογική τους δράση υπεραυξάνεται υπό την επήρεια μεταλλάξεων και γίνεται ανεξέλεγκτη (Weinberg, 2008). Τα μεταλλαγμένα πρώτο-ογκογονίδια ονομάζονται ογκογονίδια, και καταλήγουν να είναι θετικοί ρυθμιστές του καρκίνου. Η υπεραύξηση της κυτταρικής διαίρεσης, μαζί με την συνεχή αναστολή της διαφοροποίησης και του κυτταρικού θανάτου είναι χαρακτηριστικά των ογκογονιδίων που επιτρέπουν στον καρκίνο να ευδοκιμήσει στον οργανισμό, καθώς δεν υποβάλλεται σε κανέναν ρυθμιστικό έλεγχο.

Αντιθέτως, τα ογκοκατασταλτικά γονίδια λειτουργούν ως αρνητικοί ρυθμιστές του κυτταρικού κύκλου, κωδικοποιώντας πρωτεΐνες που καταστέλλουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση ή οδηγούν στον κυτταρικό θάνατο (απόπτωση) (Weinberg, 2008). Ένα από τα πιο μελετημένα ογκοκατασταλτικά γονίδια είναι το RB1, το οποίο κωδικοποιεί την πρωτεΐνη του ρετινοβλαστώματος pRb (Engel, Cress and Santiago-Cardona, 2015). Η φυσιολογική έκφραση της pRb οδηγεί στην παύση του κυτταρικού κύκλου πριν την S φάση, προτού τα κύτταρα προχωρήσουν στην αντιγραφή του DNA τους. Όταν όμως

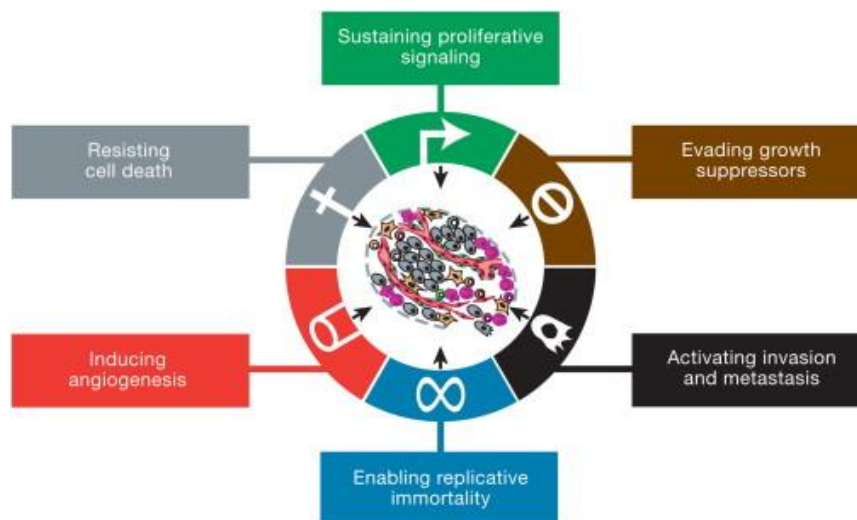
η pRb μεταλλάσσεται, χάνει την λειτουργία της, οδηγώντας στην ανεξέλεγκτη αντιγραφή του DNA (Engel, Cress and Santiago-Cardona, 2015). Γενικότερα, μεταλλάξεις σε ογκοκατασταλτικά γονίδια οδηγούν στην απώλεια της λειτουργίας τους, έχοντας ως αποτέλεσμα την απορρύθμιση του ελέγχου του κυτταρικού κύκλου και την δημιουργία καρκίνου.

### A.1.3 Ορόσημα του καρκίνου

Όλα τα καρκινικά κύτταρα φέρουν παρόμοιο μοριακό μηχανισμό, ο οποίος μπορεί να περιγραφεί με 6 χαρακτηριστικά, «ορόσημα» (Hanahan and Weinberg, 2000):

1. Αυτάρκεια σε αυξητικά σήματα
2. Αναισθησία σε αντί-αυξητικά σήματα
3. Αποφυγή απόπτωσης
4. Απεριόριστος πολλαπλασιασμός
5. Συνεχής αγγειογένεση
6. Διήθηση του ιστού και μετάσταση

Επιπρόσθετα ορόσημα έχουν προταθεί καθώς συνεχίζεται να εμπλουτίζεται με τα χρόνια το σώμα γνώσης στην έρευνα για τον καρκίνο, όμως τα παραπάνω είναι τα βασικά 6.



Εικόνα 1. Τα 6 βασικά ορόσημα του καρκίνου. Προσαρμοσμένο από Hanahan and Weinberg, 2011.

Κοινό υποκείμενο χαρακτηριστικό όλων των ορόσημων του καρκίνου είναι η αστάθεια του γονιδιώματος (Hanahan and Weinberg, 2011). Ο καρκίνος αναπτύσσεται όταν μεταλλάξεις συσσωρεύονται στο κύτταρο, λόγω της αποτυχίας των ρυθμιστικών μηχανισμών και μορίων που διατηρούν την ομοιότητα των κυττάρων. Όσο περισσότερες μεταλλάξεις

συσσωρεύονται σε ένα κύτταρο, τόσο πιο ασταθές γίνεται το γονιδίωμα του. Μόνο περίπου το 1% του ανθρώπινου γονιδιώματος αποτελείται από κωδικοποιητικές περιοχές, όμως τις τελευταίες δεκαετίες η σημαντικότητα του υπόλοιπου, μη-κωδικοποιητικού, γονιδιώματος έχει έρθει στο φως (Spielmann and Mundlos, 2016). Για το μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, πιστευόταν στον τομέα της γενετικής πως μόνο μεταλλάξεις του κωδικοποιητικού γονιδιώματος σχετιζόταν με ασθένειες. Σήμερα, όμως, γνωρίζουμε πως το μη-κωδικοποιητικό είναι εξίσου σημαντικό για τη διατήρηση ενός υγιούς οργανισμού, άρα μεταλλάξεις σε οποιαδήποτε περιοχή του γονιδιώματος μπορεί να προκαλέσουν την αστάθειά του.

Από όλα τα ορόσημα του καρκίνου, η αυτάρκεια σε αυξητικά σήματα από τα πιο θεμελιώδους σημασίας. Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, τα κύτταρα ενός οργανισμού και οι λειτουργίες τους διατηρούνται σε ομοιόσταση μέσω ενός πολύπλοκου και αυστηρά ρυθμισμένου μηχανισμού που ελέγχει τον πολλαπλασιασμό και τη διαίρεσή τους με συγκεκριμένα αυξητικά σήματα (Hanahan and Weinberg, 2011). Όταν αυτός ο μηχανισμός απορρυθμίζεται λόγω της αστάθειας του γονιδιώματος, ο καρκίνος αφήνεται να ευδοκιμήσει υπό συνθήκες που επιτρέπουν τον ανεξέλεγκτο και ακανόνιστο πολλαπλασιασμό του.

Οι αρχαίοι Αιγύπτιοι πίστευαν πως ο καρκίνος είναι κατάρα από τους θεούς (Senga and Grose, 2021). Σήμερα, γνωρίζουμε πως είναι μια ετερογενής ομάδα ασθενειών που χαρακτηρίζεται από την αδυναμία των κυττάρων να ελέγξουν τον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και το θάνατό τους. Ισχύει για οποιαδήποτε νόσο το ότι όσο πιο καλύτερη κατανόηση της έχουμε, τόσο πιο εξειδικευμένες μεθόδους ανίχνευσης και θεραπείας μπορούμε να αναπτύξουμε. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό στον καρκίνο, ο οποίος σε πολλές περιπτώσεις μπορεί να μην είναι πλήρως ιάσιμος.

#### **A.1.4 Θεραπεία του καρκίνου μέσω της γενετικής**

Το 2003, πραγματοποιήθηκε για πρώτη φορά η αλληλούχιση ολόκληρου του ανθρώπινου γονιδιώματος από το Human Genome Project (Abdellah *et al.*, 2004). Αυτό ακολούθησε μια «ερευνητική έκρηξη» στον τομέα της γενετικής, η οποία είχε μεγάλο αντίκτυπο και στην έρευνα για τον καρκίνο. Οι κύριες μορφές θεραπείας του καρκίνου πριν δυο δεκαετίες ήταν η χειρουργική θεραπεία, ακτινοθεραπεία και χημειοθεραπεία (Lippman and Hawk, 2009). Σήμερα, η θεραπεία αλλά και η ανίχνευση του καρκίνου είναι πιο εξειδικευμένη και στοχευμένη από ποτέ, χάρη στη δημιουργία του τομέα της γενετικής του καρκίνου.

Η γνώση των γονιδίων που εμπλέκονται στον καρκίνο έχει επιτρέψει την ανάπτυξη τεχνολογιών γονιδιακής θεραπείας που, αν και ακόμα βρίσκονται σε σχετικά πρώιμα στάδια, φαίνονται ελπιδοφόρες για τη θεραπεία του καρκίνου. Μια από αυτές τις καινούργιες τεχνολογίες είναι η ανοσοθεραπεία. Η ιδέα της ανοσοθεραπείας – η ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος έτσι ώστε να μπορεί να αντιμετωπίσει μόνο του τον καρκίνο – δεν είναι από μόνη της καινούργια, όμως ήταν εδώ και δεκαετίες ανέφικτη καθώς δεν υπήρχε η σωστή τεχνολογία (Cross and Burmester, 2006). Σήμερα, η γονιδιακή θεραπεία χρησιμοποιείται για τη δημιουργία αντικαρκινικών εμβολίων τα οποία δεν έχουν σκοπό να αποτρέψουν την ασθένεια, αλλά να τη θεραπεύσουν μέσω ανοσοθεραπείας (Armstrong, Eaton and Ewing, 2001). Τα εμβόλια αυτά παράγονται χρησιμοποιώντας καρκινικά κύτταρα από ασθενείς τα οποία επεξεργάζονται μέσω γενετικής μηχανικής έτσι ώστε να είναι πιο αναγνωρίσιμα από το ανοσοποιητικό σύστημα (Cross and Burmester, 2006). Όταν τα επεξεργασμένα κύτταρα επιστρέφουν στον οργανισμό μέσω του εμβολίου, ενεργοποιούν το ανοσοποιητικό σύστημα το οποίο με τη σειρά του αναγνωρίζει και εξουδετερώνει τα υπόλοιπα καρκινικά κύτταρα (Nawrocki, Wysocki and Mackiewicz, 2001). Καμία μορφή της συγκεκριμένης θεραπείας δεν έχει ακόμα εγκριθεί για ιατρική χρήση, όμως οι εργαστηριακές μελέτες είναι προς το παρόν ελπιδοφόρες.

Άλλες μορφές ανοσοθεραπείας χρησιμοποιούν τη γονιδιακή θεραπεία για να επηρεάσουν πιο άμεσα το ανοσοποιητικό σύστημα. Από τις πιο αξιοσημείωτες είναι η θεραπεία με T κύτταρα χμαιοτικού αντιγόνου (CAR-T κύτταρα), η οποία βασίζεται στη φυσιολογική δράση των T λεμφοκυττάρων που ενεργοποιεί το ανοσοποιητικό σύστημα και άμεσα αντιμετωπίζει τα παθογόνα (Cross and Burmester, 2006). Τα κύτταρα από το αίμα του ασθενούς υποβάλλονται σε γονιδιακή θεραπεία και μετατρέπονται σε CAR-T κύτταρα με την εισαγωγή του χμαιοτικού υποδοχέα αντιγόνου (CAR) γονιδίου, (Miao *et al.*, 2021). Αφού παραχθεί μεγάλος αριθμός CAR-T κυττάρων, εισάγονται πίσω στον ασθενή μέσω έγχυσης. Τα CAR-T κύτταρα έπειτα αναγνωρίζουν συγκεκριμένες πρωτεΐνες που εκφράζονται από τα καρκινικά κύτταρα ως αντιγόνα και οδηγούν στην καταστροφή τους από το ανοσοποιητικό σύστημα (Miao *et al.*, 2021). Παραλλαγές της συγκεκριμένης θεραπείας έχουν εγκριθεί για ιατρική χρήση κατά της λευχαιμίας, λεμφώματος και μυελώματος, (Young *et al.*, 2022).

Πέρα από την ανοσοθεραπεία, ίσως η πιο ενδιαφέρουσα χρήση της γονιδιακής θεραπείας στον καρκίνο είναι η τροποποίηση του γονιδιώματος. Θεωρητικά, η εισαγωγή γονιδίων που μπορούν να προκαλέσουν την απόπτωση ή να καταστείλουν άλλες λειτουργίες που οδηγούν στην καρκινογένεση (π.χ. αγγειογένεση) σε καρκινικά κύτταρα ή στους

γειτονικούς τους ιστούς μπορεί να οδηγήσει στην «αυτοκαταστροφή» του καρκίνου. Κλινικές δοκιμές έχουν χρησιμοποιήσει ιικούς φορείς (π.χ. εξασθενημένους αδενοϊούς) για να εισάγουν διάφορα γονίδια σε καρκινικά κύτταρα, όμως η συγκεκριμένη θεραπεία αντιμετωπίζει ακόμα πολλά λειτουργικά αλλά και ηθικά προβλήματα. Είναι σημαντικό η μεταφορά του θεραπευτικού γονιδίου στο κύτταρο να είναι στοχευμένη έτσι ώστε να αποφευχθεί η εισαγωγή γονιδίων σε ανεπιθύμητα κύτταρα ή χειρότερα, στους αναπαραγωγικούς ιστούς (Cross and Burmester, 2006). Η γονιδιακή θεραπεία προς το παρόν επιτρέπεται μόνο σε σωματικά κύτταρα και απαγορεύεται αυστηρά από το νόμο σε γενετικά κύτταρα (Kirubarajan, Norris and Oliveria, 2017). Επειδή το γενετικό υλικό των γενετικών κυττάρων είναι το μόνο που οι απόγονοι ενός ατόμου κληρονομούν, προκύπτουν μεγάλα ηθικά ζητήματα όσον αφορά τη γονιδιακή θεραπεία με στόχο τα γενετικά κύτταρα. Έχει ο άνθρωπος το δικαίωμα να αλλάξει το δικό του γονιδίωμα αλλά και αυτό των απογόνων του εάν σημαίνει πως μπορεί να απαλλαγεί από θανατηφόρες ασθένειες; Προς το παρόν, υπάρχει κοινή συναίνεση ανάμεσα στους επιστήμονες πως το δικαίωμα αυτό δεν υπάρχει, όσο θανατηφόρα και να είναι μια ασθένεια. Παρόλα αυτά, η γονιδιακή θεραπεία σωματικών κυττάρων παραμένει από τις πιο υποσχόμενες στη μάχη εναντίον του καρκίνου.

## **A.2 «Ο προστάτης του γονιδιώματος»: p53**

### **A.2.1 Η ανακάλυψη της p53**

Τη δεκαετία του '70, μεγάλο μέρος της έρευνας για τον καρκίνο ήταν εστιασμένο στους καρκινογόνους ιούς (Levine and Oren, 2009). RNA και DNA ιοί μπορούν να οδηγήσουν σε καρκίνο, όμως ο μηχανισμός της καρκινογένεσης ήταν μέχρι εκείνη την περίοδο άγνωστος. Το 1979, πολλές ανεξάρτητες ερευνητικές ομάδες κατέληξαν στο ίδιο συμπέρασμα— οι πρωτεΐνες του καρκινογόνου ιού Πολυόμα SV40 (Simian Virus 40) αλληλοεπιδρούσαν με μια άγνωστη κυτταρική πρωτεΐνη μοριακής μάζας 45-55 kDa (Lane and Crawford, 1979; Linzer and Levine, 1979; Melero *et al.*, 1979). Επιπλέον έρευνες σε ποντίκια βρήκαν πως η νέα αυτή πρωτεΐνη εκφραζόταν σε υψηλά επίπεδα και σε άλλα καρκινικά κύτταρα (Rotter *et al.*, 1980). Το 1983, δόθηκε επισήμως η ονομασία p53, με βάση τη μοριακή μάζα της πρωτεΐνης που υπολογιζόταν γύρω στα 53 kDa (Levine and Oren, 2009). Παραδόξως, σήμερα γνωρίζουμε πως η ακριβής μάζα της πρωτεΐνης είναι 43.7 kDa, όμως η αρχική ονομασία παραμένει.

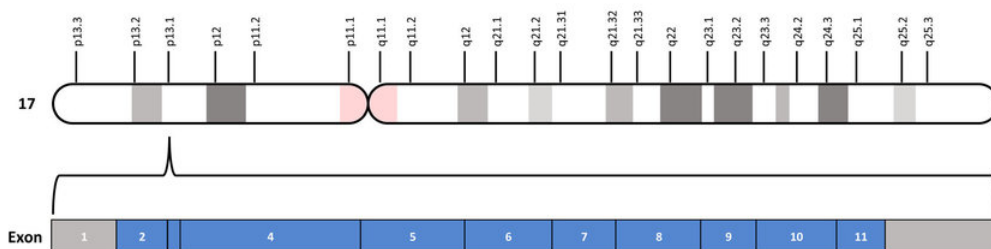
Η p53 είναι χαρακτηριστικά μια ογκοπρωτεΐνη που ενεργοποιείται όταν το κύτταρο βρίσκεται κάτω από «στρεσογόνες συνθήκες», όπως η υποξία, βλάβη στο DNA, ή μεταβολική δυσλειτουργία (Aubrey, Strasser and Kelly, 2016). Έχει χαρακτηριστεί ως ο «προστάτης του

γονιδιώματος» διότι η ενεργοποίηση της οδηγεί σε λειτουργίες που αποτρέπουν την καρκινογένεση, προστατεύοντας έτσι το γονιδίωμα από μεταλλάξεις. Η ενεργοποίηση της p53 μπορεί να οδηγήσει σε απόπτωση, κυτταρική γήρανση, παύση του κυτταρικού κύκλου, επιδιόρθωση του DNA, προσαρμογές του μεταβολισμού και αλλαγές στα χαρακτηριστικά των κυττάρων (π.χ. διαφοροποίηση) ανάλογα με τον τύπο, διάρκεια και εύρος του στρεσογόνου ερεθίσματος (Aubrey, Strasser and Kelly, 2016). Ο μηχανισμός με τον οποίο η p53 λειτουργεί ελέγχεται από ένα περίπλοκο σύστημα σηματοδοτικών μονοπατιών και μοριακών αλληλεπιδράσεων στο οποίο εμπλέκονται πολυάριθμα γονίδια, πρωτεΐνες, και άλλοι παράγοντες. Δεκαετίες μετά την ανακάλυψή της, η πολυπλοκότητά του μηχανισμού της, αλλά και η σημαντικότητα της ίδιας της p53 στην κυτταρική ζωή και στον κυτταρικό θάνατο, την κάνει ένα από τα πιο ερευνημένα μόρια της μοντέρνας επιστήμης.

### A.2.3 Το γονίδιο TP53

Η p53 στον άνθρωπο κωδικοποιείται από το γονίδιο TP53, το οποίο βρίσκεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 17 (17p13.1) (McBride, Merry and Givol, 1986). Είναι ένα ογκοκατασταλτικό γονίδιο μήκους 20kb που έχει «διπλή» γονιδιακή δομή λόγω της ύπαρξης δυο διαφορετικών προαγωγέων (promoters) της μεταγραφής πάνω στο γονίδιο (Vieler and Sanyal, 2018). Η συγκεκριμένη δομή φαίνεται να συντηρείται και σε άλλους οργανισμούς όπως η *Drosophila* (Khoury and Bourdon, 2010). Το εύρημα αυτό έχει μεγάλη εξελικτική σημασία γιατί φανερώνει ότι η δομή αυτή παρείχε εξελικτικό όφελος στους διάφορους οργανισμούς.

Το γονίδιο TP53 αποτελείται από 11 κανονικά εξόνια και δύο εξόνια που προκύπτουν με εναλλακτικό μάτισμα, δίνοντας συνολικά 13 εξόνια στον άνθρωπο (Vieler and Sanyal, 2018). Έχει επίσης 10 ιντρόνια, εκ των οποίων το ένα μήκους 10kb χωρίζει το εξόνιο 1 από το εξόνιο 2 (Lamb and Crawford, 1986). Στο μοριακό επίπεδο, ολόκληρο το γονίδιο εκτείνεται 19.148 ζεύγη βάσεων πάνω στο χρωμόσωμα 17 (Hayman *et al.*, 2019). Με τη χρήση των δυο



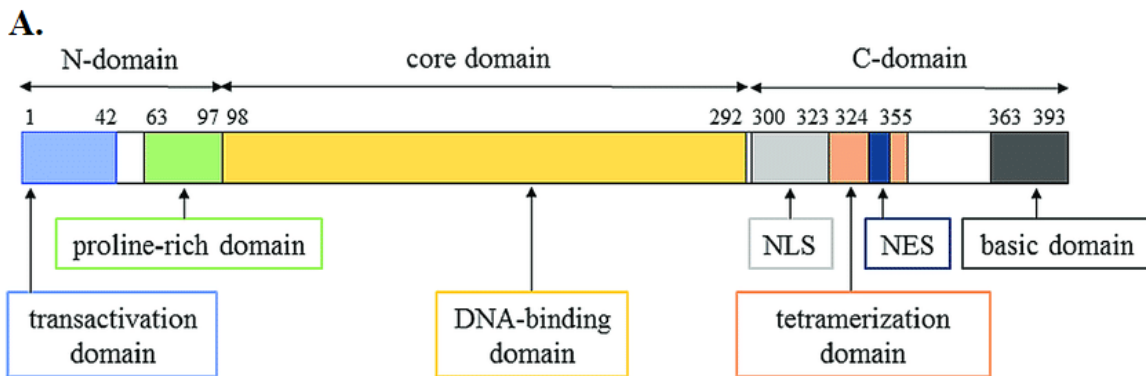
διαφορετικών προαγωγέων, αλλά και μέσω του εναλλακτικού ματίσματος, το γονίδιο μπορεί να παράγει 12 διαφορετικές ισομορφές (παραλλαγές) της p53 πρωτεΐνης.

#### A.2.4 Η πρωτεΐνη p53

Η πρωτεΐνη p53 εκτείνεται 393 αμινοξέα στην ολόκληρη μορφή της (FLp53) και λειτουργεί ως μεταγραφικός παράγοντας (Hayman *et al.*, 2019). Είναι μια πυρηνική τετραμερής πρωτεΐνη που αποτελείται από δυο διμερή και αποτελείται από επτά λειτουργικούς τομείς (Vieler and Sanyal, 2018). Οι επτά τομείς τακτοποιούνται σε αρθρωτά τμήματα με την ακόλουθη σειρά:

1. Transactivation Domain 1 (TAD1): Περιοχή ενεργοποίησης της μεταγραφής που βρίσκεται στο N-τελικό άκρο της πρωτεΐνης. Βρίσκεται μεταξύ των αμινοξέων 1-42 και ελέγχει την μεταγραφή διαφόρων γονιδίων. Αλληλοεπιδρά με την TBP (TATA-binding protein) για την ενεργοποίηση της μεταγραφής (Hayman *et al.*, 2019).
2. Transactivation Domain 2 (TAD2): Παρόμοια με την TAD1, βρίσκεται μεταξύ των αμινοξέων 43-63. Θεωρείται πως η λειτουργία της είναι σημαντική για τον έλεγχο της απόπτωσης (Zhu *et al.*, 1998).
3. Proline Rich Domain (PRD): Περιοχή πλούσια σε προλίνη μεταξύ των αμινοξέων 64-91. Έχει σημαντικό ρόλο στην αναστολή της μεταγραφής και στην απόπτωση (Hayman *et al.*, 2019).
4. DNA-binding Domain (DBD): Βρίσκεται στον κεντρικό τομέα της πρωτεΐνης περίπου μεταξύ των αμινοξέων 102-292. Αναγνωρίζει μια συγκεκριμένη δεκαμερική επαναλαμβανόμενη αλληλουχία (response element) στο DNA και δεσμεύεται στη μείζον αύλακα (Vieler and Sanyal, 2018).
5. Nuclear Localization Signaling Region (NLS): Κατευθύνει την μετακίνηση της p53 προς τον πυρήνα. Βρίσκεται μεταξύ των αμινοξέων 316-325 (Hayman *et al.*, 2019).
6. Tetramerization/Oligomerization Domain (TD/OD): Ευθύνεται για την τετραμερική μορφή της πρωτεΐνης και θεωρείται κρίσιμο για τη λειτουργία της. Βρίσκεται μεταξύ των αμινοξέων 326-355 (Hayman *et al.*, 2019).
7.  $\alpha$ -Regulatory Domain: Ρυθμίζει τη μεταγραφική δράση και καθορίζει την ειδικότητα των προαγωγέων. Βρίσκεται στο C-τελικό άκρο, μεταξύ των αμινοξέων 363-393 (Hayman *et al.*, 2019).

Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, η p53 βρίσκεται σε χαμηλά επίπεδα μέσα στο κύτταρο και παραμένει αδρανοποιημένη χάρη σε αρνητικούς ρυθμιστές όπως ο MDM2 και MDMX (Liu, Leslie and Zhang, 2021). Η αδρανοποιημένη p53 είναι κυρίως μονομερής (Sakaguchi *et al.*, 1997). Κάτω από συνθήκες πίεσης (π.χ. βλάβη στο DNA), η p53 ενεργοποιείται και αναδιατάσσεται σε τετραμερική μορφή η οποία είναι πιο συμπαγής και αποτελεσματική για την ογκοκατασταλτική της λειτουργία (Lubin, Butler and Loh, 2010).



Εικόνα 3: Πρωτεϊνική δομή της p53 με τους διαφορετικούς τομείς της. Τροποποιήθηκε από Tanaka, Watanabe and Yamashita, 2018.

Η δράση της p53 ελέγχεται μέσω μετά-μεταφραστικών τροποποιήσεων όπως η φωσφορυλίωση, η ουβικουτίνωση και η μεθυλίωση. Η φωσφορυλίωση και ουβικουτίνωση της p53 είναι οι πιο συχνά παρατηρημένες τροποποιήσεις και συμβάλλουν στην ενεργοποίηση ή αδρανοποίηση της πρωτεΐνης αντίστοιχα. Ο αρνητικός ρυθμιστής MDM2 είναι κυρίως υπεύθυνος για την ουβικουτίνωση της p53 σε έξι κατάλοιπα λυσίνης του C-τελικού άκρου (Hafner *et al.*, 2019). Υπάρχουν όμως και άλλα μόρια που λειτουργούν ως E3 λιγάσες και ουβικουτινώνουν την p53 κατά την απουσία του MDM2. Έρευνες σε ποντίκια με έλλειψη του MDM2 βρήκαν πως η p53 παρέμεινε σε χαμηλά επίπεδα κάτω από φυσιολογικές συνθήκες (Brooks and Gu, 2011). E3 λιγάσες όπως η Pirh2 και COP1 μπορούν να ουβικουτινώσουν την p53 ανεξάρτητα από το MDM2 μέσω του 26S πρωτεασώματος (Lee and Gu, 2010). Όταν το κύτταρο λαμβάνει σήματα που συνεπάγον κάποιο στρες, η p53 φωσφορυλιώνεται σε κατάλοιπα σερίνης και θρεονίνης του N-τελικού άκρου (Hafner *et al.*, 2019). Η φωσφορυλίωση «ελευθερώνει» την p53 από τον MDM2 και ενεργοποιεί τις δράσεις της ανάλογα με τις απαιτήσεις του κυττάρου. Για παράδειγμα, η φωσφορυλίωση της σερίνης 46 από την κινάση HIPK2 ενεργοποιεί το αποπτωτικό γονίδιο p53AIP1 και ενισχύει τη δέσμευση προαγωγέων σε άλλα αποπτωτικά γονίδια (Smeenk *et al.*, 2011). Από την άλλη, η



φωσφορυλίωση της σερίνης 15 από τις κινάσες ATR και ATM που αποκρίνονται σε βλάβες του DNA οδηγεί στην παύση του κυτταρικού κύκλου (Hafner *et al.*, 2019).

Πιο σπάνιες αλλά εξίσου σημαντικές είναι οι μεθυλίώσεις της p53. Η μεθυλίωση κατάλοιπων λυσίνης μπορεί να ενεργοποιήσει ή να απενεργοποιήσει γονίδια ανάλογα με τη θέση και έκταση της μεθυλίωσης (Hafner *et al.*, 2019). Η μονομεθυλίωση της λυσίνης 382 από τη μεθυλτρανσφεράση KMT5A καταστέλλει τη λειτουργία της p53 υπό φυσιολογικές συνθήκες, ενώ μειώνεται έπειτα από βλάβες στο DNA (Shi *et al.*, 2007). Αντιθέτως, η μονομεθυλίωση και διμεθυλίωση της λυσίνης 372 έπειτα από βλάβες στο DNA αυξάνει τη σταθερότητα της p53 και επιτρέπει την ενεργοποίηση αποπτωτικών γονιδίων (Chuikov *et al.*, 2004). Η μεθυλίωση τριών κατάλοιπων αργινίνης από τη μεθυλτρανσφεράση PRMT5 έχει επίσης βρεθεί να παίζει ρόλο στη ρύθμιση γονιδίων που προκαλούν την παύση του κυτταρικού κύκλου, αλλά όχι αποπτωτικών γονιδίων (Jansson *et al.*, 2008).

Δεν είναι τυχαίο πως οι περισσότερες μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις της p53 επηρεάζουν την απόπτωση. Όταν ένα κύτταρο έχει ξεκινήσει τη διαδικασία της απόπτωσης είναι αδύνατο να σταματήσει, άρα είναι σημαντικό η διαδικασία να ελέγχεται με ένα τρόπο που αποτρέπει την πρόωρη έναρξη της απόπτωσης. Παραμένουν άγνωστα πολλά στοιχεία του μηχανισμού ρύθμισης της p53, όμως είναι σίγουρο πως οι μετά-μεταφραστικές τροποποιήσεις είναι ένα σημαντικό κομμάτι αυτού του πολύπλοκου μηχανισμού.

## **A.3 Ο ρόλος της p53 στον καρκίνο**

### **A.3.1 Ογκοκατασταλτική λειτουργία**

Ως ο «προστάτης του γονιδιώματος», η p53 παίζει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της σταθερότητας του γονιδιώματος και την πρόληψη όγκων που μπορεί να οδηγήσουν σε καρκίνο. Η p53 δεν δρα μόνη της, αλλά αποτελεί τον «πυρήνα» ενός δυναμικού δικτύου που περιλαμβάνει διάφορα γονίδια, πρωτεΐνες και άλλους παράγοντες. Το πως αυτό το δυναμικό δίκτυο ρυθμίζεται και λειτουργεί δεν είναι ακόμα πλήρως γνωστό, όμως γνωρίζουμε πως η ενεργοποίηση της p53 οδηγεί σε διάφορες λειτουργίες με σκοπό την καταστολή όγκων, όπως η αναστολή του κυτταρικού κύκλου, απόπτωση και γονιδιωματική σταθεροποίηση (Vogelstein, Lane and Levine, 2000).

Από τις πρώτες λειτουργίες της p53 που ανακαλύφθηκαν ήταν πως αναστέλλει τον κυτταρικό κύκλο. Ο κυτταρικός κύκλος αποτελεί τις φάσεις ζωής από τις οποίες περνάει ένα

κύτταρο καθώς αναπτύσσεται, μέχρι τη διαίρεση (μίτωση) του (Tan, Duncan and Slawson, 2017). Η έκφραση της p53 διεγείρει την έκφραση του p21<sup>WAF1/CIP1</sup>, ο οποίος είναι αναστολέας των κυκλινο-εξαρτώμενων κινασών (CDKs) (Vogelstein, Lane and Levine, 2000). Οι κυκλινο-εξαρτώμενες κινάσες είναι σημαντικοί ρυθμιστές του κυτταρικού κύκλου, άρα η αναστολή τους προκαλεί την παύση του. Συγκεκριμένα, η αναστολή με τον p21<sup>WAF1/CIP1</sup> κάνει τα κύτταρα να σταματήσουν στην G1 ή G2 φάση (Vogelstein, Lane and Levine, 2000), δηλαδή πριν τα κύτταρα προλάβουν να προχωρήσουν στην αντιγραφή του DNA τους ή στη μίτωση. Άλλα γονίδια που εμπλέκονται στην παύση του κυτταρικού κύκλου μέσω της δράσης της p53 είναι το Rprimo και το 14-3-3σ, τα οποία επίσης λειτουργούν ως αναστολείς και σταματούν τον κυτταρικό κύκλο στην G2 φάση (Chan *et al.*, 1999; Ohki *et al.*, 2000).

Όταν ένα κύτταρο αποτυγχάνει να περάσει στην επόμενη φάση του κυτταρικού κύκλου, μπαίνει στη διαδικασία της απόπτωσης. Δεν είναι τυχαίο πως η p53 εμπλέκεται στη ρύθμιση και των δυο αυτών διαδικασιών, καθώς είναι βαθιά αλληλένδετες μεταξύ τους. Όμως επειδή η απόπτωση είναι μη ανατρέψιμη και πλήρως καταστροφική, ο ρόλος της p53 στη ρύθμισή της είναι ακόμα πιο σημαντικός. Τρεις αποπτωτικές πρωτεΐνες που έχουν βρεθεί να ενεργοποιούνται άμεσα από την p53 είναι η Bax, NOXA, και P53AIP (Vogelstein, Lane and Levine, 2000). Και οι τρεις είναι μιτοχονδριακές πρωτεΐνες οι οποίες οδηγούν στην απόπτωση όταν υπεραυξάνονται στο κύτταρο.

Πέρα από την απόπτωση και ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, η p53 πιστεύεται να ρυθμίζει άλλα γονίδια και πρωτεΐνες που συμβάλουν στη διατήρηση ενός σταθερού γονιδιώματος, αποτρέποντας τη διαμόρφωση καρκινικών όγκων. Ένα από αυτά τα γονίδια είναι το p53R2, το οποίο κωδικοποιεί μια ριβονουκλεοτιδική αναγωγή (ribonucleotide reductase) σημαντική για τη σύνθεση του DNA (Vogelstein, Lane and Levine, 2000). Το p53R2 ενεργοποιείται από την p53 έπειτα από έκθεση των κυττάρων σε υπερϊώδη ακτινοβολία ή άλλους επιβλαβείς παράγοντες και συμβάλει στην επιδιόρθωση του DNA (Tanaka *et al.*, 2000). Κύτταρα στα οποία το p53R2 δεν ενεργοποιείται είναι πιο ευαίσθητα σε βλάβες στο DNA και έχουν περισσότερες πιθανότητες να μετατραπούν σε καρκινικά.

### **A.3.2 Μεταλλαγμένη p53**

Το γονίδιο TP53 είναι το πιο συχνά μεταλλαγμένο στον ανθρώπινο καρκίνο (Kandoth *et al.*, 2013). Οι περισσότερες μεταλλάξεις του TP53 είναι σημειακές και συνεπάγονται την αντικατάσταση ενός αμινοξέος με άλλο (Baugh *et al.*, 2017). Η μεταλλαγμένη p53 (mut-p53) συνήθως φέρει μεταλλάξεις στον DNA Binding Domain (DBD) τομέα μεταξύ των αμινοξέων

102-292 και είναι «ελαττωματική» στη λειτουργία της (Baugh *et al.*, 2017). Αυτό αποτελεί πλεονέκτημα για κύτταρα που έχουν την τάση να μετατραπούν σε καρκινικά, καθώς γίνεται πιο δύσκολο να αντιμετωπιστούν μέσω της ογκοκατασταλτικής λειτουργίας της p53. Επίσης, πιστεύεται πως η mut-p53 αποκτά διαφορετικές λειτουργίες οι οποίες όχι μόνο επιτρέπουν, αλλά και συμβάλουν απευθείας στην ογκογένεση (Baugh *et al.*, 2017). Πώς γίνεται ο «προστάτης του γονιδιώματος» να συμβάλει έτσι στον καρκίνο; Το παράδοξο της mut-p53 έχει μελετηθεί σε μεγάλο βαθμό τις τελευταίες δεκαετίες, όμως ο λόγος που η p53 είναι τόσο συχνά μεταλλαγμένη στον καρκίνο παραμένει άγνωστος.

Η mut-p53 έχει συνδεθεί με πολλά από τα ορόσημα του καρκίνου, όπως η αποφυγή της απόπτωσης και αυτάρκεια σε αυξητικά σήματα. Μελέτες σε ποντίκια με mut-p53 βρήκαν πως τα κύτταρα ήταν πιο ανθεκτικά σε αντικαρκινικές θεραπείες (π.χ. ακτινοθεραπεία) οι οποίες έχουν σκοπό τον κυτταρικό θάνατο (Oren and Rotter, 2010). Παρόμοια αποτελέσματα βρέθηκαν σε ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα του πνεύμονα που υπερέκφραζαν την mut-p53 (Oren and Rotter, 2010). Κάνοντας τα κύτταρα πιο ανθεκτικά, η mut-p53 λειτουργεί «ανάποδα» από την φυσιολογική p53, αποφεύγοντας την απόπτωση αντί να οδηγεί τα καρκινικά κύτταρα σε κυτταρικό θάνατο.

Ακόμα, η mut-p53 συμβάλει στην εξάπλωση των καρκινικών κυττάρων μέσω του μετατρεπτικού αναπτυξιακού παράγοντα β (TGF-β). Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, ο TGF-β έχει αντι-πολλαπλασιαστική λειτουργία υπό την παρουσία της p53 και οδηγεί στην καταστολή της πρόωμης ογκογένεσης (Oren and Rotter, 2010). Η mut-p53 έχει βρεθεί να καταστέλλει αλλά και να αυξάνει τη λειτουργία του TGF-β ανάλογα με το στάδιο στο οποίο βρίσκεται ο καρκίνος. Στα πιο πρώιμα στάδια, η καταστολή του TGF-β από την mut-p53 επιτρέπει τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων (Kalo *et al.*, 2007). Αντιθέτως, εάν η μετάλλαξη της p53 συμβεί όταν ο καρκίνος έχει ήδη προχωρήσει από μόνος του, η mut-p53 αυξάνει τη δράση του TGF-β σε βαθμό που συμβάλει στην εξάπλωση και μετάσταση του καρκίνου (Adorno *et al.*, 2009).

Ανάλογα με τις συνθήκες κάτω από τις οποίες η p53 βρίσκεται μεταλλαγμένη στο κύτταρο, οι λειτουργίες τις οποίες εμφανίζει διαφέρουν (Oren and Rotter, 2010). Παρόλα αυτά, φαίνεται πως κατά κύριο λόγο οι λειτουργίες της mut-p53 θα είναι σχεδόν πάντα αντιθετικές από τις φυσιολογικές λειτουργίες της p53. Από τον «προστάτη του γονιδιώματος», η mut-p53 μετατρέπεται στον μεγαλύτερό του αντίπαλο και εχθρό.

## 2. Οι δώδεκα ισομορφές της p53

### B.1 Σύνθεση και δομή των ισόμορφων

Για δεκαετίες, η p53 θεωρούταν μια μονή πρωτεΐνη, με οποιαδήποτε αλλαγή ως μετάλλαξη (Hayman *et al.*, 2019). Με την πρόοδο της έρευνας τα τελευταία χρόνια, διαπιστώθηκε πως για κάθε ένα γονίδιο, υπάρχουν πολλές πρωτεΐνες που παράγονται από τη μετάφρασή του χάρη σε μηχανισμούς όπως το εναλλακτικό μάτισμα, η μεταβλητή χρήση προαγωγέων και οι μετα-μεταγραφικές τροποποιήσεις. Οι πρωτεΐνες που προκύπτουν από το ίδιο γονίδιο είναι γνωστές ως ισομορφές και έχουν συνήθως παρόμοια χαρακτηριστικά, αλλά μπορούν να διαφέρουν στη δράση και τη λειτουργία τους (Schlüter *et al.*, 2009). Επί του παρόντος είναι γνωστές 12 ισομορφές της p53 (Hayman *et al.*, 2019). Όλες οι ισομορφές είναι περικομμένες μορφές της κανονικής p53, που συχνά αναφέρεται και ως FLp53 ή p53α. Η p53α παράγεται από τη μεταγραφή ολόκληρου του γονιδίου TP53, ξεκινώντας από τον πρώτο προαγωγέα P1. Η ύπαρξη του δεύτερου προαγωγέα P2 συμβάλλει στην παραγωγή διαφορετικών ισόμορφων μαζί με το εναλλακτικό μάτισμα των ιντρονίων 2 και 9 (Vieler and Sanyal, 2018).

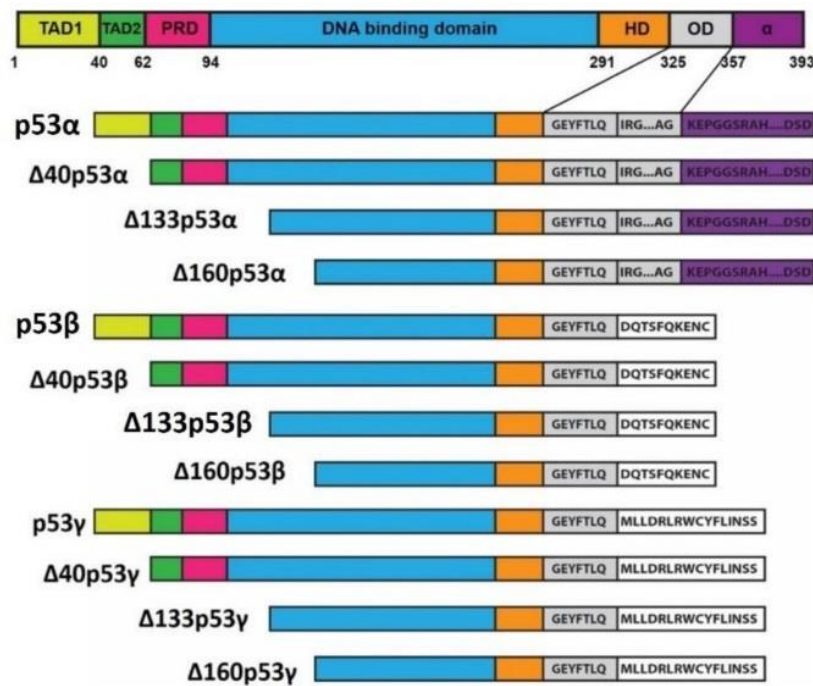
Οι ισομορφές της p53 μπορούν να χωριστούν σε 4 κατηγορίες με βάση τη σύνθεση και τη δομή τους. Στην πρώτη κατηγορία ανήκει η κανονική p53 (p53α), μαζί με τις p53β και p53γ. Η μεταγραφή των συγκεκριμένων ισόμορφων γίνεται μέσω του προαγωγέα P1, όμως διαφέρουν στο ότι η p53β και p53γ είναι περικομμένες στο C-τελικό άκρο λόγω εναλλακτικού ματίσματος του ιντρονίου 9 (Khoury and Bourdon, 2011). Το ιντρόνιο 9 φέρει τα «κρυμμένα» εξόνια 9β και 9γ, τα οποία εκφράζονται μέσω εναλλακτικού ματίσματος (Hayman *et al.*, 2019). Η ισομορφή p53β φέρει το εξόνιο 9β, ενώ η p53γ φέρει το εξόνιο 9β. Και τα δυο συγκεκριμένα εξόνια φέρουν κωδικόνια τερματισμού που οδηγούν στον τερματισμό της μετάφρασης πριν την ολοκλήρωση του C-τελικού άκρου (Vieler and Sanyal, 2018).

Η δεύτερη κατηγορία είναι οι Δ40p53 ισομορφές, η ονομασία των οποίων προέρχεται από το γεγονός ότι τους λείπουν τα πρώτα 40 αμινοξέα της κανονικής p53. Οι ισομορφές αυτές είναι η Δ40p53α, Δ40p53β και Δ40p53γ και παράγονται μέσω του εναλλακτικού ματίσματος του ιντρονίου 2 και εναλλακτικού ξεκινήματος της μετάφρασης (Khoury and Bourdon, 2010). Οι Δ40p53 ισομορφές κατέχουν μια εσωτερική θέση εισόδου ριβοσώματος (internal ribosome entry site – IRES) που επιτρέπει την εναλλακτική έναρξη της μετάφρασης, ανεξαρτήτως από το 5'-κάλυμμα του mRNA (Ray, Grover and Das, 2006). Δομικά, η Δ40p53α είναι η πιο κοντινή στην κανονική p53 (p53α) καθώς διατηρεί όλους τους λειτουργικούς τομείς της εκτός

από τον Transactivation Domain 1 (TAD1) που βρίσκεται στα πρώτα 40 αμινοξέα (Khoury and Bourdon, 2011). Οι Δ40p53β και Δ40p53γ υποβάλλονται σε επιπλέον εναλλακτικό μάτισμα των εξονίων 9β και 9γ αντίστοιχα, το οποίο οδηγεί στην προσθήκη επιπρόσθετων αμινοξέων στο C-τελικό άκρο των ισόμορφων (Hayman *et al.*, 2019).

Στην τρίτη κατηγορία ανήκουν οι Δ133p53 ισομορφές. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το γονίδιο TP53 κατέχει δύο προαγωγείς της μεταγραφής, P1 και P2. Ο P1 βρίσκεται στο ιντρόνιο 1, ενώ ο P2 στο ιντρόνιο 4 (Vieler and Sanyal, 2018), άρα οποιαδήποτε μεταγραφή από τον P2 θα έχει ως αποτέλεσμα μια περικομμένη μορφή της κανονικής p53. Ενώ οι δυο πρώτες κατηγορίες ισόμορφων προέρχονται από τη μεταγραφή του P1, οι Δ133p53 ισομορφές προέρχονται από τον P2 (Hayman *et al.*, 2019). Συνεπώς, η ονομασία τους βασίζεται από το γεγονός ότι τους λείπουν τα πρώτα 133 αμινοξέα της κανονικής p53. Επιπλέον, οι Δ133p53 ισομορφές δεν έχουν τέσσερεις από τους επτά λειτουργικούς τομείς της κανονικής p53-Transactivation Domain 1 και Transactivation Domain 2 (TAD1/TAD2), Proline Rich Domain (PRD) και μέρος του DNA Binding Domain (DBD) λείπουν από τις συγκεκριμένες ισομορφές (Khoury and Bourdon, 2010). Η Δ133p53α είναι ίδια δομικά με την p53α πέρα από τους λειτουργικούς τομείς που λείπουν, ενώ οι Δ133p53β και Δ133p53γ περιέχουν επιπρόσθετα αμινοξέα στο C-τελικό τους άκρο λόγω των εξονίων 9β και 9γ αντίστοιχα (Hayman *et al.*, 2019).

Στην τέταρτη και τελευταία κατηγορία ανήκουν οι Δ160p53 ισομορφές, οι οποίες έχουν ανακαλυφθεί πιο πρόσφατα και είναι οι μικρότερες σε μήκος. Οι Δ160p53 ισομορφές προκύπτουν από την εναλλακτική έναρξη της μετάφρασης στη μεθειονίνη 160 και δεν έχουν τα πρώτα 160 αμινοξέα της κανονικής p53 (Vieler and Sanyal, 2018). Μεταγράφονται παρόμοια με τις Δ133p53 ισομορφές μέσω του P2 προαγωγέα και τους λείπουν οι ίδιοι τέσσερεις λειτουργικοί τομείς, όμως μεγαλύτερο μέρος του DBD τομέα χάνεται στις Δ160p53 (Hayman *et al.*, 2019). Η Δ160p53α ακολουθεί παρόμοια δομή του C-τελικού τομέα με την Δ133p53α. Το ίδιο ισχύει για τις Δ160p53β και Δ160p53γ αντίστοιχα με τις Δ133p53β και Δ133p53γ (Hayman *et al.*, 2019).



Εικόνα 4: Δομή των ισόμορφων της p53. Τροποποιημένη από Anbarasan and Bourdon, 2019.

## B.2 Μέθοδοι έρευνας των p53 ισόμορφων

Η πειραματική έρευνα των p53 ισόμορφων βασίζεται σε συγκεκριμένες μεθόδους και τεχνολογίες για την ανίχνευση και την ανάλυση τους. Από τις πιο απλές μεθόδους ανίχνευσης των ισόμορφων στο κύτταρο είναι η ποσοτική αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο (RT-q PCR). Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης είναι από τις πιο απλές τεχνικές που επιτρέπουν την ποσοτικοποίηση συγκεκριμένων αλληλουχιών DNA ή RNA, όπως για παράδειγμα τις αλληλουχίες που αντιστοιχούν στις ισομορφές της p53. Ο τρόπος με τον οποίο η PCR μπορεί και στοχεύει τις συγκεκριμένες αλληλουχίες είναι με τη χρήση ειδικών εκκινητών, αλληλουχίες ολιγονουκλεοτιδίων οι οποίες οριοθετούν την περιοχή που θα λάβει χώρα η αντίδραση (Khoury *et al.*, 2013). Η RT-q PCR είναι από τις πιο ευαίσθητες μεθόδους ποσοτικοποίησης mRNA καθώς επιτρέπει την ανίχνευση ακόμα και των μικρότερων παραλλαγών της γονιδιακής έκφρασης (Ho-Pun-Cheung *et al.*, 2009). Ειδικό εκκινητές έχουν αναπτυχθεί συγκεκριμένα για τις p53 ισομορφές για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση του mRNA τους σε κύτταρα (Khoury *et al.*, 2013). Όμως καθώς μεγάλο μέρος των p53 ισόμορφων ρυθμίζεται στο μετα-μεταγραφικό επίπεδο, η έκφραση του mRNA τους μπορεί να μην είναι πάντα ίδια με την πρωτεϊνική τους έκφραση, γεγονός το οποίο είναι ένα μειονέκτημα της χρήσης της RT-q PCR (Joruz and Bourdon, 2016).

Μια άλλη μέθοδος έρευνας των ισόμορφων της p53 στα κύτταρα είναι η χρήση μικρών παρεμβαλλόμενων RNAs (siRNAs). Τα siRNAs προκαλούν την παρεμβολή του RNA, το οποίο καταστέλλει την έκφραση του mRNA και των αντίστοιχών του πρωτεϊνών στα κύτταρα στόχους (Ruigrok *et al.*, 2018). Διάφορα siRNAs έχουν δημιουργηθεί συγκεκριμένα για τις p53 ισομορφές, τα οποία στοχεύουν ιντρόνια και εξόνια του TP53 γονιδίου που αντιστοιχούν σε συγκεκριμένες ισομορφές (Jorquiz and Bourdon, 2016). Η χρήση των siRNAs είναι ιδανική για τον προσδιορισμό των φυσιολογικών λειτουργιών των p53 ισόμορφων, καθώς επιτρέπει την παραποίηση της έκφρασής τους στα κύτταρα.

Από τις πιο ειδικές μεθόδους ανίχνευσης των ισόμορφων της p53 είναι η χρήση μονοκλωνικών ή πολυκλωνικών αντισωμάτων. Τα μονοκλωνικά αντισώματα είναι τεχνητές μορφές αντισωμάτων οι οποίες λειτουργούν όπως τα φυσιολογικά αντισώματα του σώματος, όμως είναι σχεδιασμένα να αναγνωρίζουν μόνο ένα συγκεκριμένο επίτοπο ενός αντιγόνου (Nelson *et al.*, 2000). Αντιθέτως, τα πολυκλωνικά αντισώματα μπορούν να αναγνωρίζουν πάνω από ένα επίτοπο του ίδιου αντιγόνου (Nelson *et al.*, 2000). Μονοκλωνικά αντισώματα συγκεκριμένα για τις ισομορφές της p53 έχουν σχεδιαστεί σε ποντίκια, ενώ υπάρχουν και πολυκλωνικά αντισώματα κουνελιού και προβάτου που είναι ειδικά για την p53 (Jorquiz and Bourdon, 2016). Αν και τα αντισώματα δεν παράγονται σε ανθρώπινους ιστούς, μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην έρευνα της ανθρώπινης p53 και των ισόμορφών της μέσω της γενετικής μηχανικής.

Από τα μονοκλωνικά αντισώματα που χρησιμοποιούνται στην έρευνα των ισόμορφων της p53, τα DO-1 και DO-7 αναγνωρίζουν το ίδιο επίτοπο στον TAD1 τομέα, και συνεπώς μπορούν να ανιχνεύουν μόνο ισομορφές που διατηρούν τον συγκεκριμένο τομέα—άρα τις p53α, p53β και p53γ ισομορφές (Sabapathy and Lane, 2019). Το μονοκλωνικό αντίσωμα 1801 αναγνωρίζει ένα επίτοπο στον TAD2 τομέα, άρα μπορεί να αναγνωρίζει τις p53α, p53β και p53γ καθώς και επίσης τις Δ40p53 ισομορφές οι οποίες διατηρούν τον TAD2 τομέα στη δομή τους (Jorquiz and Bourdon, 2016). Τέλος, τα μονοκλωνικά αντισώματα 412 και BP53.10 αναγνωρίζουν παρόμοια επίτοπα στον α-ρυθμιστικό τομέα της p53, κι έτσι μπορούν να αναγνωρίζουν όλες τις ισομορφές, συμπεριλαμβανομένων των Δ133p53 και Δ160 p53 ισόμορφων (Jorquiz and Bourdon, 2016). Παρομοίως, τα πολυκλωνικά αντισώματα κουνελιού (CM1) και προβάτου (SAPU) αναγνωρίζουν πολλαπλά επίτοπα στον α-ρυθμιστικό τομέα της p53, γεγονός που τα κάνει ειδικά για όλες τις ισομορφές (Sabapathy and Lane, 2019).

### B.3 Αλληλοεπίδραση και έκφραση των ισόμορφων στο κύτταρο

Οι ισομορφές της p53 «συνυπάρχουν» στο κύτταρο, δηλαδή εκφράζονται παράλληλα και οι βιοχημικές και βιολογικές λειτουργίες τους μπορούν να επηρεάσουν η μια την άλλη (Hayman *et al.*, 2019). Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ ισόμορφων μπορεί να είναι άμεσες ή έμμεσες και οδηγούν στην ενεργοποίηση στοχευμένων σημάτων που αναλόγως ρυθμίζουν την κυτταρική λειτουργία (Anbarasan and Bourdon, 2019).

Ισομορφές στις οποίες ο Oligomerization Domain (OD) τομέας διατηρείται έχουν τη δυνατότητα να σχηματίζουν ετερο-ολιγομερή μεταξύ τους. Συγκεκριμένα, οι Δ40p53α και Δ133p53α αλληλοεπιδρούν άμεσα με την p53α μέσω του OD τομέα τους και σχηματίζουν ετερο-ολιγομερή που καθορίζουν τη λειτουργία πρωτεϊνών που σχετίζονται με την p53 όπως οι αρνητικοί ρυθμιστές MDM2 και MDMX (Anbarasan and Bourdon, 2019). Άλλες ισομορφές που δεν έχουν OD τομέα αλληλοεπιδρούν έμμεσα με την p53α μέσω προαγωγέων των γονιδίων που ρυθμίζουν. Η p53β αλληλοεπιδρά με την p53α υπό την παρουσία του προαγωγέα του γονιδίου BAX και ρυθμίζει τη μεταγραφική του δραστηριότητα, όμως ο τρόπος με τον οποίο η p53β δεσμεύεται στον προαγωγέα παραμένει άγνωστος (Bourdon *et al.*, 2005).

Πέρα από τις αλληλοεπιδράσεις μεταξύ τους, μερικές ισομορφές μπορούν να σχηματίσουν ετερο-ολιγομερή με άλλες πρωτεΐνες ή ακόμα και ομο-ολιγομερή ανεξάρτητα από την p53α. Η Δ133p53α συμβάλλει στην επιδιόρθωση του DNA αλληλοεπιδρώντας με τη συγγενική πρωτεΐνη της p53, p73 (Bourdon *et al.*, 2005). Από την άλλη, πιστεύεται πως η Δ40p53α μπορεί να δημιουργήσει ομο-ολιγομερή με τον «εαυτό» της, οδηγώντας στην ενεργοποίηση κυτταρικών λειτουργιών ανεξάρτητα από την p53α (Mehta *et al.*, 2021).

Η κανονική p53 είναι χαρακτηριστικά μια πυρηνική πρωτεΐνη. Οι περισσότερες ισομορφές εκφράζονται στον πυρήνα των κυττάρων, όμως μερικές έχουν βρεθεί και στο κυτταρόπλασμα (Hayman *et al.*, 2019). Οι p53β, p53γ, Δ133p53α και Δ133p53β εκφράζονται στον πυρήνα αλλά και στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων σε μικρότερες ποσότητες (Bourdon *et al.*, 2005). Από την άλλη, η Δ133p53γ έχει βρεθεί μόνο στο κυτταρόπλασμα, το οποίο ίσως συμβαίνει λόγω της διαφορετικής αλληλουχίας αμινοξέων που έχει στο C-τελικό της άκρο (Hayman *et al.*, 2019). Ακόμα πιο ενδιαφέρουσα είναι η έκφραση της Δ40p53α στο κύτταρο, η οποία βρίσκεται κυρίως στο κυτταρόπλασμα. Έχει βρεθεί πως η Δ40p53α έχει την ικανότητα να επηρεάζει τον υποκυτταρικό εντοπισμό των άλλων ισόμορφων. Κάτω από στρεσογόνες συνθήκες, η έκφραση της Δ40p53α φέρνει την p53α από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα,



επηρεάζοντας ίσως την μεταγραφική και μεταφραστική της δραστηριότητα (Hayman *et al.*, 2019).

Τέλος, αν και δεν γνωρίζουμε πολλά για τους μοριακούς μηχανισμούς της, η έκφραση των ισόμορφων της p53 στα κύτταρα φαίνεται να ελέγχεται στο μεταγραφικό επίπεδο αλλά και στο μεταγραφικό και μετα-μεταγραφικό επίπεδο. Στο μεταγραφικό επίπεδο, η διαμόρφωση της δράσης του TP53 προαγωγέα και του εναλλακτικού ματίσματος των ιντρονίων 2 και 9 ρυθμίζει την έκφραση των ισόμορφων (Jorviz and Bourdon, 2016). Η δραστηριότητα του εσωτερικού προαγωγέα P2 του TP53 γονιδίου επηρεάζεται από διάφορους πολυμορφισμούς, το οποίο οδηγεί στη διαφορετική έκφραση των Δ133p53 και Δ160p53 ισόμορφων (Marcel *et al.*, 2012). Από την άλλη, οι συντελεστές του εναλλακτικού ματίσματος SRSF1 και SRSF3 ρυθμίζουν το εναλλακτικό μάτισμα του ιντρονίου 9, οδηγώντας στην αναστολή της διατήρησης των εξονίων 9β και 9γ και συνεπώς μειώνοντας την έκφραση των p53β και p53γ ισόμορφων (Marcel *et al.*, 2014). Το εναλλακτικό μάτισμα του ιντρονίου 2 ρυθμίζεται από μια G-τετραπλή δομή (G-quadruplex structure) που βρίσκεται στο ιντρόνιο 3, η έκφραση της οποίας ρυθμίζει την έκφραση των Δ40p53 ισόμορφων (Jorviz and Bourdon, 2016).

Στο μεταγραφικό επίπεδο, οι Δ40p53 ισομορφές ελέγχονται από παράγοντες μετενεργοποίησης της εσωτερικής θέσης εισόδου ριβοσώματος (IRES), όπως ο PTB, PSF, DAP5 και DKC1 (Jorviz and Bourdon, 2016). Οι παράγοντες αυτοί ενεργοποιούν τη χρήση της IRES, οδηγώντας στην έκφραση των Δ40p53 ισόμορφων. Στο μετα-μεταγραφικό επίπεδο, μελέτες έχουν δείξει πως οι ισομορφές της p53 ουβικουιτινώνονται και καταστρέφονται μέσω του πρωτεασώματος και της αυτοφαγίας. Ο αρνητικός ρυθμιστής MDM2 μπορεί να δεσμεύεται σε όλες τις ισομορφές της p53, όμως φαίνεται να προάγει την ουβικουιτίνωση και αποσύνθεση μέσω του πρωτεασώματος της p53β (Camus *et al.*, 2012). Ο τρόπος με τον οποίο οι υπόλοιπες ισομορφές καταφέρουν και «αποδρούν» από τη λειτουργία του MDM2 παραμένει άγνωστος. Τέλος, οι Δ133p53 ισομορφές φαίνεται να αποσυντίθενται μέσω της αυτοφαγίας κατά την αρχή της κυτταρικής γήρανσης (Horikawa *et al.*, 2014).

Γενικότερα, η έκφραση των ισόμορφων της p53 ρυθμίζεται αυστηρά από διάφορους παράγοντες στο κύτταρο και φαίνεται να είναι ένας πολύπλοκος μηχανισμός που συμπεριλαμβάνει τις αλληλοεπιδράσεις μεταξύ ισόμορφων ή με άλλους ρυθμιστικούς παράγοντες.

## **B.4 Χαρακτηριστικές λειτουργίες των ισόμορφων**

### **B.4.1 p53β και p53γ**

Όταν η p53β ισομορφή ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά, θεωρήθηκε πως δεν είχε καμία μεταγραφική λειτουργία στα φυσιολογικά κύτταρα καθώς της έλλειπαν σημαντικοί τομείς της κανονικής p53 (Khoury and Bourdon, 2011). Σήμερα γνωρίζουμε πως η p53β μπορεί να δεσμεύεται σε προαγωγείς ειδικούς για την p53α όπως ο BAX και MDM2 προαγωγέας. Η p53β επίσης ενισχύει τη μεταγραφική δραστηριότητα του p21 προαγωγέα, ο οποίος κωδικοποιεί την κυκλινο-εξαρτωμένη κινάση p21<sup>WAF1/CIP1</sup> (Murray-Zmijewski, Lane and Bourdon, 2006). Η έκφραση της p53β στο κύτταρο αυξάνει την αποπτωτική λειτουργία της p53α λόγω της αλληλοεπίδρασης μεταξύ των διαφορετικών ισόμορφων (Khoury and Bourdon, 2011). Ακόμα, έχει βρεθεί πως η p53β έχει την ικανότητα να οδηγήσει στην ενεργοποίηση της απόπτωσης ανεξάρτητα από την p53α, όμως με μειωμένη αποτελεσματικότητα (Murray-Zmijewski, Lane and Bourdon, 2006). Τέλος, σε υψηλά επίπεδα, η p53β λειτουργεί ανεξάρτητα ως ρυθμιστής της κυτταρικής γήρανσης (Fujita *et al.*, 2009).

Ο C-τελικός τομέας της p53γ είναι υδροφοβικός, γεγονός το οποίο καθιστά τη μελέτη των μηχανισμών της πιο δύσκολη. Σε σχέση με την p53β που βρίσκεται κυρίως στον πυρήνα των κυττάρων, η p53γ έχει βρεθεί να «πηγαиноέρχεται» μεταξύ του πυρήνα και του κυτταροπλάσματος σε μεγάλο βαθμό (Khoury and Bourdon, 2011). Η p53γ έχει την ικανότητα μετενεργοποίησης του εσωτερικού προαγωγέα P2 της p53α και μπορεί να αυξήσει την μεταγραφική δραστηριότητα του BAX προαγωγέα (Bourdon *et al.*, 2005). Μερικές μελέτες έχουν βρει πως η p53γ είναι κυτταροτοξική, καθώς απόπειρες να δημιουργηθούν καλλιέργειες κυττάρων με έκφραση λειτουργικής p53γ ήταν αποτυχημένες (Khoury and Bourdon, 2011).

Και οι δυο ισομορφές έχουν επίσης βρεθεί να παίζουν ρόλο στη σηματοδότηση ιντερφερόνων (IFNs). Η ενεργοποίηση των p53β και p53γ προκαλεί την παραγωγή IFN-α και IFN-β, οι οποίες είναι κρίσιμες για τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος (Zhao and Sanyal, 2022). Με τη σειρά τους οι ιντερφερόνες IFN-β αυξάνουν την έκφραση της p53α και των p53β/γ σε μονοκύτταρα λευκά αιμοσφαίρια, παύοντας τον κυτταρικό κύκλο και ενεργοποιώντας την απόπτωση (Zhang and Sriram, 2009).

### **B.4.2 Δ40p53**

Η Δ40p53α είναι η πιο κοντινή δομικά στην p53α καθώς της λείπουν μόνο τα πρώτα 40 αμινοξέα που αποτελούν τον TAD1 τομέα, όμως διαφέρει στη λειτουργία της. Η δράση της

Δ40p53α φαίνεται να εξαρτάται από τα επίπεδά της στο κύτταρο. Σε χαμηλά επίπεδα, η Δ40p53α αυξάνει τη λειτουργία της p53α, όμως όταν αυξάνεται η Δ40p53α, οι αντιπολλαπλασιαστικές λειτουργίες της p53α καταστέλλονται (Anbarasan and Bourdon, 2019). Τετραμερή της Δ40p53α με την p53α είναι πιο σταθερά από τετραμερή της p53α μόνης της, ίσως λόγω της ικανότητας της Δ40p53α να αποφεύγει την αποσύνθεση από τον αρνητικό ρυθμιστή MDM2 (Courtois *et al.*, 2002). Αν και ο μηχανισμός δεν είναι ξεκάθαρος, φαίνεται πως ο MDM2 μπορεί και αναγνωρίζει τις διαφορετικές ισομορφές με βάση την έκφρασή τους στα κύτταρα (Anbarasan and Bourdon, 2019).

Παρόλα αυτά, η Δ40p53α και υπόλοιπες Δ40p53 ισομορφές λειτουργούν και ανεξάρτητα της p53α. Γονίδια όπως το BAX, GADD45 και ο MDM2 ενεργοποιούνται από τις Δ40p53 (Yin *et al.*, 2002). Όμως πολλά αποπτωτικά γονίδια που ενεργοποιούνται από την Δ40p53α δεν ενεργοποιούνται συνήθως από την p53α, το οποίο τονίζει το ρόλο της Δ40p53α ως ανεξάρτητη ισομορφή (Ohki *et al.*, 2007). Η ύπαρξη δραστικών μορφών οξυγόνου (reactive oxygen species – ROS) στο κύτταρο αυξάνει την έκφραση των Δ40p53 ισομορφών, το οποίο έχει βρεθεί να ρυθμίζει τη δράση της p53α (Solomon *et al.*, 2017). Μεγάλη συγκέντρωση ROS μπορεί να οδηγήσει σε βλάβη στα μιτοχόνδρια λόγω οξειδωτικού στρες, η οποία συνήθως επιδιορθώνεται από την DNA πολυμεράση γ (Mehta *et al.*, 2021). Οι Δ40p53 ισομορφές αυξάνουν τη δράση της συγκεκριμένης πολυμεράσης, το οποίο είναι ενδεικτικό της δράσης τους κατά του οξειδωτικού στρες (Solomon *et al.*, 2017).

Οι Δ40p53 ισομορφές επίσης φαίνεται να εμπλέκονται στην κυτταρική ανάπλαση. Μελέτες σε εμβρυικά βλαστοκύτταρα ποντικού έχουν δείξει πως οι Δ40p53 ενισχύουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό όταν εκφράζονται στα βλαστοκύτταρα, ενώ η μείωση της συγκέντρωσής τους οδηγεί στη διαφοροποίηση των βλαστοκυττάρων (Solomon *et al.*, 2017). Γονίδια ειδικά στη διαφοροποίηση όπως το Oct4, Nanog και ο IGF-1 υποδοχέας ενεργοποιούνται από την p53α υπό τη δράση των Δ40p53 ισομορφών (Ungewitter and Scrbble, 2010). Αυτό σημαίνει πως οι Δ40p53 ισομορφές παίζουν ρόλο στην μεταβολή από τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό στη διαφοροποίηση.

### **B.4.3 Δ133p53**

Οι Δ133p53 ισομορφές είναι σημαντικές για μια πληθώρα διαδικασιών, από την επιδιόρθωση του DNA μέχρι και την κυτταρική γήρανση. Η Δ133p53α εμπλέκεται στην επιδιόρθωση του DNA, κυρίως όταν υπάρχουν δομικές βλάβες στη διπλή έλικα. Έπειτα από έκθεση κυττάρων σε ιονίζουσα ακτινοβολία, η Δ133p53α έχει βρεθεί να ενεργοποιεί την

μεταγραφή γονιδίων που ενεργοποιούν τα σηματοδοτικά μονοπάτια επιδιόρθωσης του DNA, όπως το RAD51, RAD52 και LIG4 (Khoury and Bourdon, 2011). Η δράση αυτή είναι ανεξάρτητη της δραστηριότητας της p53α – τα γονίδια που ενεργοποιούνται από την Δ133p53α έχουν στοιχεία ειδικά για την ισομορφή στους προαγωγείς τους (Gong *et al.*, 2015). Παρόλα αυτά, η φυσιολογική λειτουργία της p53α αναστέλλει την επιδιόρθωση του DNA υπέρ της απόπτωσης έπειτα από βλάβες στη διπλή έλικα, γεγονός το οποίο σημαίνει πως ίσως η επιδιόρθωση του DNA μέσω της Δ133p53α έχει και μηχανισμούς που εξαρτώνται από την p53α (Jorruiz *et al.*, 2020). Πράγματι, έχει βρεθεί πως η Δ133p53α αλληλοεπιδρά με την p53α και αναστέλλει την απόπτωση (Anbarasan and Bourdon, 2019). Σε ζεβρόψαρα, το σύμπλοκο Δ133p53α /p53α ενεργοποιεί την αντι-αποπτωτική πρωτεΐνη Bcl-xL, αναστέλλοντας την απόπτωση (Zhao and Sanyal, 2022).

Επιπλέον, η Δ133p53α ισομορφή είναι εξίσου σημαντική για την κυτταρική γήρανση. Κύτταρα που βρίσκονται στη διαδικασία της κυτταρικής γήρανσης δεν πολλαπλασιάζονται αλλά παραμένουν μεταβολικά ενεργά μέχρι τον θάνατό τους (Solomon *et al.*, 2017). Η Δ133p53α ισομορφή έχει βρεθεί να ενισχύει τη διαδικασία της κυτταρικής γήρανσης σε χαμηλά επίπεδα, αν και ο μηχανισμός παραμένει άγνωστος (Von Muhlinen *et al.*, 2018). Αντιθέτως, η υπερέκφραση της ισομορφής συμβάλει στην καταστολή της κυτταρικής γήρανσης και οδηγεί στον κυτταρικό αναπρογραμματισμό σε πολυδύναμα βλαστοκύτταρα (induced pluripotent stem cells) επικρατώντας επί της δράσης της p53α (Horikawa *et al.*, 2017). Πρόσφατες μελέτες έχουν βρει πως ίσως η επίδραση της Δ133p53α στην κυτταρική γήρανση και η αλληλοεπίδρασή της με την p53α σχετίζεται με τον τύπο του στρεσογόνου σήματος που λαμβάνει το κύτταρο- όσο πιο ήπιο το σήμα, τόσο λιγότερο η Δ133p53α αλληλοεπιδρά με την p53α και επηρεάζει την κυτταρική γήρανση (Jorruiz *et al.*, 2020).

Αν και δεν γνωρίζουμε πολλά για τις Δ133p53β και Δ133p53γ ισομορφές, πιστεύεται πως είναι εξίσου σημαντικές για την επιδιόρθωση του DNA και ρύθμιση της κυτταρικής γήρανσης. Η Δ133p53β συγκεκριμένα έχει την ικανότητα να αλληλοεπιδρά με την μικρή GTPάση RhoB, ρυθμίζοντας αρνητικά την προ-αποπτωτική της λειτουργία (Anbarasan and Bourdon, 2019).

#### **B.4.4 Δ160p53**

Καθώς οι Δ160p53 ισομορφές είναι οι πιο πρόσφατα ανακαλυμμένες, δεν υπάρχουν ακόμα πολλές πληροφορίες σε σχέση με τις χαρακτηριστικές λειτουργίες τους. Πιστεύεται πως η Δ160p53β εμπλέκεται στη διαφοροποίηση των ερυθρών αιμοσφαιρίων (Marcel *et al.*, 2010).

Γενικότερα, οι Δ160p53 φαίνεται να έχουν παρόμοιο ρόλο στην κυτταρική γήρανση και επιδιόρθωση του DNA με τις Δ133p53 ισομορφές, καθώς είναι σχετικά παρόμοιες στη δομή τους (Khoury and Bourdon, 2011). Μελέτες σε H1299 κύτταρα από καρκίνο του πνεύμονα έχουν δείξει πως οι Δ160p53 ισομορφές – κυρίως η Δ160p53a – συνδέονται πάνω στη χρωματίνη και εισέρχονται στον πυρήνα των κυττάρων, όπου ίσως συμβάλουν στην επιδιόρθωση του DNA έπειτα από βλάβη (Tadijan *et al.*, 2021). Ακόμα, η υπερέκφραση των ισομορφών σε κύτταρα H1299 από καρκίνο του πνεύμονα έχει βρεθεί να αυξάνει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και κυτταρική επιβίωση (Tadijan *et al.*, 2021). Χρειάζονται ακόμα περισσότερες μελέτες για να επισημανθούν οι λειτουργίες των Δ160p53 ισομορφών, όμως είναι σίγουρο πως έχουν και αυτές σημαντικό ρόλο στο p53 δίκτυο του οργανισμού (Khoury and Bourdon, 2011).

## **B.5 Ζωικά πρότυπα και η βιολογική σημασία των ισομορφών**

### **B.5.1 *Drosophila melanogaster***

Η μύγα του ξυδιού, ή Δροσόφιλα, είναι από τους πιο συχνούς οργανισμούς που χρησιμοποιούνται ως ζωικά πρότυπα στην έρευνα. Περίπου 65% των γονιδίων που σχετίζονται με ασθένειες στον άνθρωπο πιστεύεται να έχουν λειτουργικά ομόλογα στη μύγα (Ugur, Chen and Bellen, 2016). Η χρήση ζωικών προτύπων όπως η Δροσόφιλα επιτρέπει τη μελέτη βιολογικών διαδικασιών στο μοριακό και κυτταρικό επίπεδο που σχετίζονται με ασθένειες ή με υγιείς καταστάσεις, όμως παρέχουν επίσης σημαντικές πληροφορίες σχετικά με την εξελικτική σημασία μορίων των οποίων η λειτουργία διατηρείται σε όλους τους οργανισμούς (Barré-Sinoussi and Montagutelli, 2015).

Στην Δροσόφιλα, ένα p53-σχετικό γονίδιο κωδικοποιεί 3 πρωτεϊνικές ισομορφές: Dp53, DANp53, και Dp53ΔC. Η Dp53 ισομορφή αντιστοιχεί στην ανθρώπινη p53a, ενώ η DANp53 είναι πανομοιότυπη με τις Δ40p53 και Δ133p53 ισομορφές καθώς έχει περικομμένο τον TAD τομέα (Marcel *et al.*, 2011). Από την άλλη, η Dp53ΔC είναι η μικρότερη από τις ισομορφές και αποτελείται μόνο από τον TAD τομέα (Marcel *et al.*, 2011). Το p53-σχετικό γονίδιο της Δροσόφιλας ενεργοποιείται έπειτα από έκθεση σε ακτινοβολία οδηγεί σε κατασταλτικές λειτουργίες παρόμοιες με της ανθρώπινης p53, όπως η απόπτωση, κυτταρική γήρανση, κυτταρικός πολλαπλασιασμός και διαφοροποίηση (Rutkowski, Hofmann and Gartner, 2010).

Συγκεκριμένα, η DΔNr53 ισομορφή έχει βρεθεί να σχετίζεται με τον έλεγχο του κυτταρικού θάνατου στη Δροσόφιλα μέσω της ρύθμισης του γονιδίου *reaper/rpr* (Marcel *et al.*, 2011). Το αν η δράση της DΔNr53 ενεργοποιεί ή αναστέλει την απόπτωση εξαρτάται από το κυτταρικό περιβάλλον και την κυτταρική διαφοροποίηση (Fan *et al.*, 2010). Ακόμα, η DΔNr53 ελέγχει τη διάρκεια ζωής της Δροσόφιλας με τρόπο που εξαρτάται από το φύλο και στάδιο ζωής της μύγας (Marcel *et al.*, 2011). Η υπερέκφραση της DΔNr53 σε ενήλικες μύγες μειώνει τη διάρκεια ζωής των θηλυκών και αυξάνει τη διάρκεια ζωής των αρσενικών, ενώ η μείωση της έκφρασής της αυξάνει τη διάρκεια ζωής των θηλυκών χωρίς να επηρεάζει σημαντικά τα αρσενικά (Waskar *et al.*, 2009). Ο ρόλος της p53 της Δροσόφιλας έχει ακόμα μελετηθεί και σε σχέση με την επιδιόρθωση του DNA και τον αντισταθμιστικό πολλαπλασιασμό, όμως οι μηχανισμοί δράσης όλων των ισομορφών παραμένουν προς το παρόν άγνωστοι.

### **B.5.2 *Danio rerio***

Το ζεβρόψαρο (*Danio rerio*) είναι το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο ζωικό μοντέλο στη μελέτη των ισομορφών της p53. Μεγάλο κομμάτι του γονιδιώματος του ζεβρόψαρου (~70%) είναι ομόλογο με το ανθρώπινο γονιδίωμα, το οποίο το κάνει ιδανικό πρότυπο ζώου (Choi *et al.*, 2021). Η p53 στο ζεβρόψαρο έχει 3 ισομορφές, την Zp53, ZΔNr53 και ZΔ113p53. Η Zp53 είναι η ολόκληρη πρωτεΐνη που αντιστοιχεί στην p53α, ενώ οι ZΔNr53 και ZΔ113p53 είναι παρόμοιες με τις Δ40p53 και Δ133p53 ισομορφές αντίστοιχα στον άνθρωπο (Marcel *et al.*, 2011). Οι ισομορφές της Zp53 παράγονται μέσω εναλλακτικού ματίσματος και εμπλέκονται σε παρόμοιες κατασταλτικές και προ-αποπτωτικές λειτουργίες υπό την παρουσία στρεσογόνων συνήκων, όπως ακριβώς συμβαίνει και με την ανθρώπινη p53 και τις ισομορφές της (Davidson *et al.*, 2010).

Μελέτες έχουν βρει πως η ZΔNr53 υπερεκφράζεται έπειτα από έκθεση σε ιονίζουσα ακτινοβολία (Marcel *et al.*, 2011). Πιο ενδιαφέρον όμως είναι το γεγονός ότι φαίνεται πως η ZΔNr53 αλληλοεπιδρά με την Zp53, δημιουργώντας ένα πρωτεϊνικό σύμπλοκο που ενώνεται στους OD τομείς των πρωτεϊνών (Marcel *et al.*, 2011). Η αλληλοεπίδραση μεταξύ ισομορφών είναι χαρακτηριστικό και των ανθρώπινων p53 ισομορφών, γεγονός το οποίο σημαίνει πως είναι πιθανότατα μεγάλης εξελικτικής σημασίας. Από την άλλη, η ZΔ113p53 έχει βρεθεί να οδηγεί σε ελαττώματα στην μορφογένεση των οργάνων του πεπτικού συστήματος ζεβρόψαρων, καθώς οδηγεί στην απώλεια του Def γονιδίου (Digestive organ Expansion Factor) (Chen *et al.*, 2005). Η υπερέκφραση της ZΔ133p53 έχει ακόμα σχετιστεί με την αύξηση γονιδίων του κυτταρικού κύκλου (π.χ. p21<sup>WAF1/CIP1</sup>, κυκλίνη-G1) και τη ρύθμιση αντι-

αποπτωτικών γονιδίων όπως το Bcl-2L (Marcel *et al.*, 2011). Η δράση αυτή αντικατοπτρίζει τη δράση της ανθρώπινης Δ133p53, ενισχύοντας τη θεωρία εξελικτικής σημασίας των ισόμορφων.

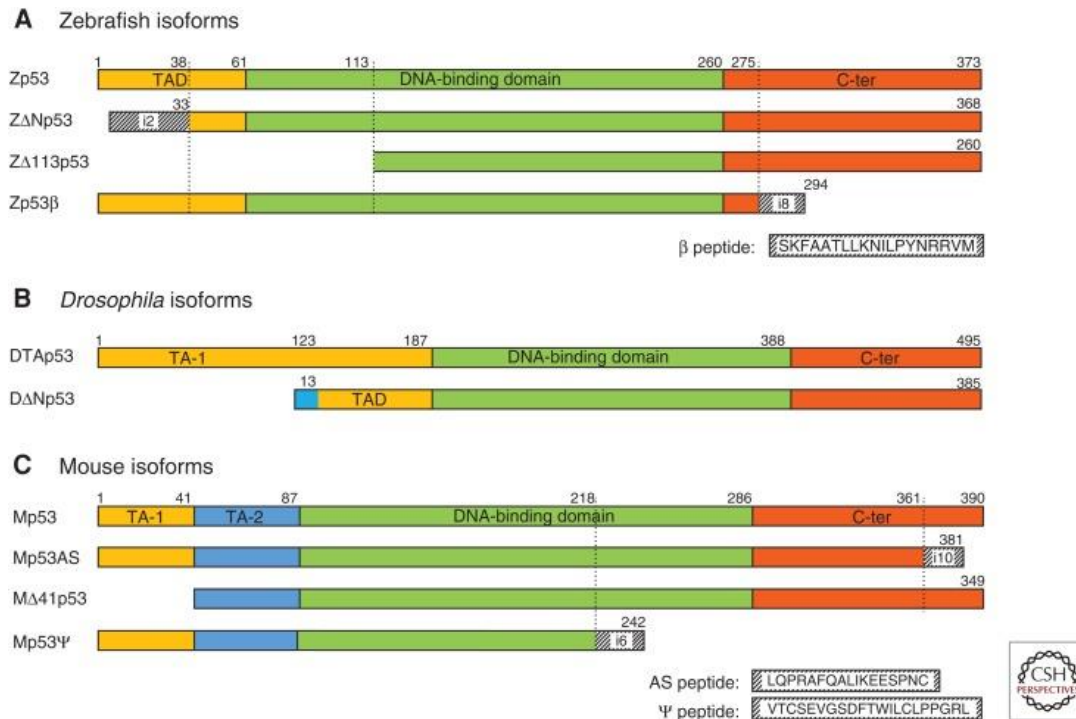
### **B.5.3 *Mus musculus***

Το ποντίκι (*Mus musculus*) είναι το πιο γνωστό και μελετημένο πρότυπο ζώου στις βιολογικές επιστήμες, με 90% του γονιδιώματός του να έχει συγκρίσιμη συνταινία σε συγκεκριμένες περιοχές (Monaco *et al.*, 2015). Όσον αφορά την p53, 6 ισομορφές έχουν βρεθεί στο ποντίκι (Marcel *et al.*, 2011). Η Mp53 που αντιστοιχεί στην ανθρώπινη p53α υφίσταται εναλλακτικό μάτισμα, το οποίο οδηγεί στη δημιουργία μιας μικρότερης ισομορφής, ονόματι Mp53AS, με διαφορετικό OD τομέα, ομόλογη της ανθρώπινης p53β (Levine and Oren, 2009). Ακόμα, οι MΔ41p53/ MΔ41p53AS και MΔ157p53/ MΔ157p53AS είναι ομόλογες των ανθρώπινων Δ40p53α/β και Δ160p53α/β αντίστοιχα (Marcel *et al.*, 2011).

Η υπερέκφραση της MΔ41p53 σε διαγονιδιακά (transgenic) ποντίκια έχει οδηγήσει στην επιτάχυνση της γήρανσης, σε μειωμένο μέγεθος και σε μικρότερη διάρκεια ζωής, δράσεις που σχετίζονται με την υπο-ινσουλιναίμια και ανεπάρκεια γλυκόζης (Marcel *et al.*, 2011). Ακόμα, τα ίδια ποντίκια έχουν δείξει γνωστική εξασθένηση και συναπτική δυσλειτουργία νωρίτερα στη ζωή τους (Pehar *et al.*, 2010). Όλες οι παραπάνω δράσεις σχετίζονται με την υπερ-ενεργοποίηση του άξονα σηματοδότησης του αυξητικού παράγοντα (IGF) που μοιάζει με την ινσουλίνη, ο οποίος όταν ρυθμίζεται από την MΔ41p53, θέτει σε κίνηση μια σειρά σημάτων που τελικώς έχει ως αποτέλεσμα τον εμπλοκισμό της φυσιολογικής ανάπτυξης των ποντικών (Marcel *et al.*, 2011).

Επιπλέον, πρόωρη γήρανση έχει παρατηρηθεί σε knock-in μοντέλα ποντικών που εκφράζουν μια «ενδιάμεση», μεταλλαγμένη MΔ122p53 ισομορφή (Slatter *et al.*, 2011). Η MΔ122p53 χαρακτηρίζεται από την έλλειψη του TAD τομέα και μέρος του DBD τομέα, εξ ου και η αναγνώρισή της ως «ενδιάμεση» ισομορφή (Marcel *et al.*, 2011). Τα ποντίκια στη συγκεκριμένη μελέτη παρουσίασαν συμπτώματα πρόωρης γήρανσης παρόμοια της δράσης

ανθρώπινης μεταλλαγμένης p53, υποστηρίζοντας το ρόλο των Mp53 ισόμορφων ως ογκογονίδια.



Εικόνα 5: Ομόλογες της p53 και των ισόμορφων της στο ζεβράφαρο (A), Δροσόφιλα (B) και στο ποντίκι (C). Τροποποιήθηκε από Joruiiz and Bourdon, 2016.

Από την μύγα, μέχρι στο ποντίκι και τον άνθρωπο, φαίνεται πως οι ισομορφές της p53 ακολουθούν ένα παρόμοιο μοτίβο έκφρασης και λειτουργίας. Η παραγωγή ισόμορφων μέσω του εναλλακτικού ματίσματος και η διατήρηση ή έλλειψη συγκεκριμένων τομέων είναι δυο από τα χαρακτηριστικά των p53 ισόμορφων που έχουν συντηρηθεί κατά μήκος της εξέλιξης. Η θεωρία της εξέλιξης προτείνει πως μόνο χαρακτηριστικά που παρέχουν όφελος προς την επιβίωση ενός οργανισμού διατηρούνται στις επόμενες γενιές. Πέρα από τους τρεις προαναφερόμενους οργανισμούς, ομόλογες της p53 και των ισόμορφών της έχουν παρατηρηθεί σε σχεδόν όλα τα σπονδυλωτά και μερικά ασπόνδυλα ζώα (Belyi *et al.*, 2010). Άρα, ο μηχανισμός της p53 σίγουρα παρείχε κάποιο όφελος που εξασφάλισε τη διατήρησή του κατά την εξέλιξη. Η σημαντικότητα της p53 και των ισόμορφών της στην προστασία του γονιδιώματος μέσω της επιδιόρθωσης του DNA, ενεργοποίηση αποπτωτικών μονοπατιών και άλλων λειτουργιών υποστηρίζεται σε πρότυπα ζώων και στον άνθρωπο, αν και οι ακριβείς μηχανισμοί λειτουργίας τους δεν είναι ακόμα πλήρως ξεκάθαροι.



### 3. Ο ρόλος των ισόμορφων της p53 στον καρκίνο

#### Γ.1 Καρκινογένεση μέσω των ισόμορφων της p53

Αν και η p53 είναι συχνά μεταλλαγμένη στον καρκίνο, οι μεταλλάξεις δεν είναι ο μόνος τρόπος με τον οποίο εμπλέκεται στην ασθένεια. Η υπερέκφραση ή απορρύθμιση των ισόμορφων μπορεί να ευθύνεται για την ανάπτυξη καρκίνων, καθώς αναστέλουν την ογκοκατασταλτική λειτουργία της p53 (Bourdon *et al.*, 2005). Κλινικές μελέτες έχουν βρει ασυνήθιστα επίπεδα των p53 ισόμορφων σε διάφορους καρκίνους, σποραδικούς (π.χ. καρκίνος του μαστού) και κληρονομικούς (π.χ. σύνδρομο Li-Fraumeni). Σε φυσιολογικούς ιστούς, οι ισομορφές της p53 λειτουργούν ως ρυθμιστές του p53 δικτύου, διατηρώντας τη σταθερότητα του γονιδιώματος. Όμως στον καρκίνο, του οποίου κύριο χαρακτηριστικό είναι ένα ασταθές γονιδίωμα, οι ισομορφές απορρυθμίζονται και αποκτούν διαφορετική λειτουργία ανάλογα με τον ιστό στον οποίο εκφράζονται (Vieler and Sanyal, 2018). Όλες οι ισομορφές της p53 έχουν ανιχνευθεί σε καρκινικούς ιστούς, όμως οι Δ160p53 ισομορφές δεν έχουν μελετηθεί στο ίδιο βάθος καθώς η ανακάλυψή τους είναι ακόμα πολύ πρόσφατη.

Οι τρόποι με τους οποίους οι ισομορφές της p53 συμβάλουν στην καρκινογένεση δεν είναι απολύτως ξεκάθαροι, όμως πιστεύεται πως η συσσώρευσή τους είναι ένας πιθανός τρόπος απορρύθμισης του p53 δικτύου. Η p53a είναι από μόνη της αρκετά επιρεπής στη συσσώρευση, ειδικά όταν βρίσκεται μεταλλαγμένη (Silva *et al.*, 2014). Πρόσφατα, όμως, έχει ανακαλυφθεί πως και οι Δ133p53 ισομορφές είναι επιρεπείς στη συσσώρευση σε υψηλότερο βαθμό από την p53a (Vieler and Sanyal, 2018). Θεωρείται πως οι συσσωρευμένες ισομορφές χάνουν τη φυσιολογική τους λειτουργία, απορρυθμίζοντας το p53 δίκτυο και οδηγώντας στον καρκίνο. Μεγάλο μέρος της θεωρίας συσσώρευσης της p53 και των ισόμορφών της βασίζεται πάνω στο παράδειγμα των πριόνων (prions). Οι πριόνες είναι πρωτεΐνες που υπάρχουν φυσιολογικά στον οργανισμό, όμως έχουν ισομορφές με ανώμαλα χαρακτηριστικά οι οποίες είναι μολυσματικές και μπορούν να μετατρέπουν τις φυσιολογικές πρωτεΐνες σε ανώμαλες, οδηγώντας σε νευροπάθειες καθώς συσσωρεύονται στον οργανισμό (Prusiner, 1998). Με τον ίδιο τρόπο, πιστεύεται πως ανώμαλες μορφές της p53 και των ισόμορφών της επηρεάζουν η μια την άλλη και δημιουργούν συσσωρεύσεις λόγω της ανικανότητάς τους να δημιουργήσουν κανονικά ολιγομερή, οδηγώντας στην απορρύθμιση του p53 δικτύου (Kim and An, 2016).

Ένας άλλος πιθανός μηχανισμός μέσω του οποίου οι ισομορφές της p53 εμπλέκονται στον καρκίνο σχετίζεται με τις νέες λειτουργίες που αποκτά η p53 έπειτα από μετάλλαξη. Συγκεκριμένα, σημειακές μεταλλάξεις συνήθως προκαλούν την εμφάνιση νέων λειτουργιών

οι οποίες είναι ανεξάρτητες από τις φυσιολογικές λειτουργίες της πρωτεΐνης και συνήθως είναι ωφέλιμες για την εξάλπωση του καρκίνου (Vieler and Sanyal, 2018). Οι νέες αυτές λειτουργίες συνήθως σχετίζονται με τα ορόσημα του καρκίνου—π.χ. η αυτάρκεια σε αυξητικά σήματα επιτρέπει στις μεταλλαγμένες πρωτεΐνες να αποφεύγουν το ανοσοποιητικό σύστημα. Πρόσφατες μελέτες προτείνουν πως ίσως οι Δ160p53 ισομορφές ευθύνονται εξελικτικά για τουλάχιστον μερικές από τις νέες λειτουργίες μεταλλαγμένης p53 (Candeias, Hagiwara and Matsuda, 2016). Κύτταρα που υπερεκφράζουν Δ160p53 έχουν παρόμοιες λειτουργίες με κύτταρα όπου η p53 βρίσκεται μεταλλαγμένη, ενώ κύτταρα που δεν εκφράζουν καθόλου Δ160p53 αλλά έχουν μεταλλαγμένη p53 χάνουν την ικανότητα τους να οδηγήσουν στην καρκινογένεση (Candeias, Hagiwara and Matsuda, 2016). Είναι πιθανόν πως οι Δ160p53 ισομορφές εμπλέκονται στη ρύθμιση των «μεταλλαγμένων» λειτουργιών της p53 υπό φυσιολογικές συνθήκες και συμβάλουν στη διατήρηση της ισορροπίας για να μη προκύψει καρκινογένεση. Όταν όμως η p53 μεταλλάσσεται, η ισορροπία ολόκληρου του δικτύου καταρρέει, οδηγώντας στην ελεύθερη έκφραση των «μεταλλαγμένων» λειτουργιών.

Ωστόσο, ο ρόλος των ισόμορφων της p53 στον καρκίνο δεν είναι πάντα αρνητικός. Πολλαπλές μελέτες έχουν βρει πως η έκφραση μερικών ισόμορφων σχετίζεται με θετική πρόγνωση σε συγκεκριμένους καρκίνους (Anbarasan and Bourdon, 2019). Η απορρύθμιση των ισόμορφων, λοιπόν, μπορεί να έχει και ανασταλτική λειτουργία στον καρκίνο. Αυτό είναι ενδεικτικό της πολυπλοκότητας του p53 δικτύου, καθώς γίνεται οι ίδιες ισομορφές που προάγουν μια μορφή καρκίνου να ανατρέπουν μια άλλη.

## **Γ.2 Σποραδικοί καρκίνοι και οι p53 ισομορφές**

### **Γ.2.1 Καρκίνος του μαστού**

Ο καρκίνος του μαστού είναι από τους πιο συχνά διαγνώσιμους καρκίνους στις γυναίκες. Μια στις δέκα γυναίκες έχει κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του μαστού κατά τη διάρκεια της ζωής της χωρίς να υπάρχει καμία γενετική προδιάθεση (Ghoncheh, Pournamdar and Salehiniya, 2016). Η p53 δεν βρίσκεται συνήθως μεταλλαγμένη στον καρκίνο του μαστού, όμως όλο και περισσότερες μελέτες προτείνουν πως οι αλληλοεπιδράσεις μεταξύ των ισόμορφων της μπορεί να συμβάλουν στην καρκινογένεση. Από τις 12 ισομορφές, οι Δ40p53 έχουν βρεθεί να εκφράζονται σε υψηλότερο βαθμό στον καρκίνο του μαστού (Anbarasan and Bourdon, 2019). Ακόμα, οι Δ40p53 ισομορφές υπερεκφράζονται στις πιο επιθετικές μορφές καρκίνου του μαστού όπως ο HER2+ και ο τριπλά αρνητικός καρκίνος του μαστού (Avery-

Kiejda *et al.*, 2014). Αντιθέτως, η p53β ισομορφή έχει συνδεθεί με την πιθανότητα επιβίωσης και εμφάνισης μεταστάσεων. Ασθενείς με αυξημένα επίπεδα της p53β έχουν μεγαλύτερες πιθανότητες επιβίωσης και μη επανεμφάνισης καρκίνου σε σχέση με ασθενείς με μειωμένα επίπεδα (Avery-Kiejda *et al.*, 2014). Παρόμοια αποτελέσματα έχουν βρεθεί και σε σχέση με την έκφραση της p53γ, με ασθενείς που είχαν αυξημένα επίπεδα να αναπτύσσουν λιγότερες μεταστάσεις (Bourdon *et al.*, 2011).

Ο τρόπος με τον οποίο οι ισομορφές της p53 εμπλέκονται στον καρκίνο του μαστού έχει μελετηθεί σε μεγάλο βαθμό, όμως πολλοί από τους μηχανισμούς δράσης τους παραμένουν άγνωστοι. Η έκφραση των Δ133p53 ισομορφών στον καρκίνο του μαστού οδηγεί σε πιο επιθετικές μορφές καρκίνου καθώς προάγουν την εισβολή των καρκινικών κυττάρων σε γειτονικούς ιστούς (Gadea *et al.*, 2016). Συγκεκριμένα, η Δ133p53α ισομορφή έχει βρεθεί να εμπλέκεται στην αγγειογένεση (Khoury and Bourdon, 2010), χωρίς την οποία ένας όγκος δεν θα μπορούσε να εξαπλωθεί. Οι Δ133p53 ισομορφές επίσης έχουν συνδεθεί με τη λειτουργία της p68 πρωτεΐνης στον καρκίνο του μαστού (Anbarasan and Bourdon, 2019). Η p68 είναι μια RNA ελικάση που αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή της μεταγραφής της p53α και του μηχανισμού της επιδιόρθωσης του DNA (Moore *et al.*, 2010). Έχει βρεθεί πως οι Δ133p53 ισομορφές και η p68 εκφράζονται με αντιστρόφως ανάλογο τρόπο σε κύτταρα του καρκίνου του μαστού, δηλαδή η αύξηση της συγκέντρωσης των ισομορφών σχετίζεται με την σημαντική μείωση της p68 (Moore *et al.*, 2010). Από την άλλη, οι αυξημένες Δ133p53 ισομορφές φαίνεται να καταστέλλουν τη μεταγραφή του p21 παράγοντα από την p68, ο οποίος είναι σημαντικός ρυθμιστής της επιδιόρθωσης του DNA από το p53 δίκτυο (Anbarasan and Bourdon, 2019). Αυτά τα αποτελέσματα συνεπάγονται την ύπαρξη ενός περίπλοκου βρόχου ανάδρασης όπου η p68 ρυθμίζει την έκφραση της Δ133p53 ως απόκριση σε βλάβες στο DNA (Moore *et al.*, 2010). Κατά τα αρχικά στάδια διαμόρφωσης του καρκίνου, τα σηματοδοτικά μονοπάτια επιδιόρθωσης του DNA συνήθως παραμένουν ενεργοποιημένα (Halazonetis, Gorgoulis and Bartek, 2008). Αυτό πιθανότατα οδηγεί στην υπερέκφραση των Δ133p53 ισομορφών από την p68, οι οποίες με την σειρά τους καταστέλλουν τις επιδιορθωτικές λειτουργίες του p21, επιτρέποντας τη διαμόρφωση και εξάπλωση όγκων.

Σε περιπτώσεις όπου η p53α είναι μεταλλαγμένη στον καρκίνο του μαστού, έχει βρεθεί πως η Δ40p53α ισομορφή αναλαμβάνει τις λειτουργίες της (Zhang *et al.*, 2022). Οι Δ40p53 ισομορφές φαίνεται να σταθεροποιούν την μεταλλαγμένη p53α, διατηρώντας φυσιολογικές λειτουργίες της όπως η καταστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Όμως, η υπερέκφραση των Δ40p53 ισομορφών είναι οι πιο συχνά παρατηρημένη στον καρκίνο του μαστού, το οποίο

είναι ενδεικτικό της σημαντικότητας της συγκέντρωσης των ισόμορφων στο κύτταρο (Zhang *et al.*, 2022). Από την άλλη, η υπερέκφραση των p53β και p53γ ισόμορφων φαίνεται να σχετίζεται με καλύτερη πρόγνωση του καρκίνου του μαστού. Αν και δεν γνωρίζουμε ακόμα τους μηχανισμούς μέσω των οποίων οι Δ40p53 ισομορφές οδηγούν στον καρκίνο, έχουμε μια ιδέα του ρόλου της p53β ισομορφής. Η υπερέκφραση της p53β αυξάνει την έκφραση γονιδίων όπως το BAX και το p21<sup>WAF1/CIP1</sup>, οδηγώντας στην απόπτωση και κυτταρική γήρανση (Anbarasan and Bourdon, 2019). Αυτό συνεπάγεται καλύτερη πρόγνωση του καρκίνου, καθώς η p53β λειτουργεί ως ογκοκαταστολέας.

### Γ.2.2 Καρκίνος των ωοθηκών

Ο καρκίνος των ωοθηκών έχει την υψηλότερη θνησιμότητα από όλους τους γυναικολογικούς καρκίνους, όντας 3 φορές πιο θανατηφόρος από τον καρκίνο του μαστού (Momenimovahed *et al.*, 2019). Είναι ο έβδομος πιο συχνά παρατηρημένος καρκίνος στον κόσμο και θεωρείται κυρίως ως μετεμμηνοπαυσιακή ασθένεια, δηλαδή εμφανίζεται κυρίως σε μεγαλύτερες γυναίκες που έχουν περάσει την εμμηνόπαυση (Chornokur *et al.*, 2013). Σχεδόν όλες οι πιο επιθετικές μορφές του καρκίνου των ωοθηκών (96%) οφείλονται σε μεταλλάξεις της p53, όμως πρόσφατες έρευνες έχουν φέρει στο φως πληροφορίες σχετικά με τη σημαντικότητα των p53 ισόμορφων στον καρκίνο των ωοθηκών (Chambers and Martinez, 2012). Οι Δ133p53 ισομορφές, καθώς και οι p53β και p53γ έχουν βρεθεί σε κύτταρα ασθενών με καρκίνο των ωοθηκών. Τα επίπεδα των Δ133p53 ισομορφων είναι συνήθως πιο αυξημένα σε σχέση με των p53β/γ, όμως η p53β έχει βρεθεί σε πιο αυξημένα επίπεδα σε κύτταρα καρκίνου 3<sup>ου</sup> σταδίου (Bischof *et al.*, 2019). Ο καρκίνος ωοθηκών 3<sup>ου</sup> σταδίου χαρακτηρίζεται από όγκους στις ωοθήκες οι οποίοι είναι μεγαλύτεροι από 2 εκατοστά και μπορεί να έχουν μεταστάσεις στην σπλήνα και το συκώτι (American Cancer Society, 2018). Η αύξηση της p53β στο συγκεκριμένο στάδιο μπορεί να σημαίνει πως εμπλέκεται στη μετάσταση του καρκίνου.

Αντιθέτως, πιστεύεται πως οι Δ40p53 και Δ133p53 ισομορφές σημαίνουν καλή πρόγνωση σε ασθενείς με μεταλλαγμένη p53. Η έκφραση των Δ40p53 ισόμορφων έχει συσχετιστεί με περισσότερες πιθανότητες επιβίωσης χωρίς επανεμφάνιση καρκίνου (Chambers and Martinez, 2012). Επειδή οι Δ40p53 ισομορφές είναι οι πιο κοντινές δομικά με την p53α, έχει θεωρηθεί πως κατά τη μετάλλαξη της κανονικής p53, οι ισομορφές λαμβάνουν τις λειτουργίες της για τη διατήρηση της ογκοκατασταλτικής της λειτουργίας. Από την άλλη, οι Δ133p53 ισομορφές ίσως αλληλοεπιδρούν με την μεταλλαγμένη p53α για την καταστολή

της ογκογενικής δράσης της, καθώς τα αυξημένα επίπεδά τους σχετίζονται με καλύτερη πρόγνωση (Hofstetter *et al.*, 2011).

### **Γ.2.3 Καρκίνος του ενδομήτριου**

Ο καρκίνος του ενδομήτριου είναι η πιο κοινή μορφή καρκίνου της μήτρας που εμφανίζεται σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (Dos Santos *et al.*, 2019). Χαρακτηρίζεται συνήθως ως καρκίνος του ενδομήτριου τύπου I ή II με βάση την ιστοπαθολογία των όγκων και έχει σχετικά χαμηλή θνησιμότητα (Lobo and Thomas, 2016). Ο καρκίνος του ενδομήτριου τύπου I σχετίζεται με την ανώμαλη έκκριση οιστρογόνων και είναι λιγότερο επιθετικός από τον τύπου II, ο οποίος σχετίζεται με μη ορμονικές ανωμαλίες (Felix *et al.*, 2010). Όγκοι τύπου II Τύπου έχουν σχεδόν πάντα μεταλλαγμένη p53, ενώ οι όγκοι τύπου I οφείλονται σε μεταλλάξεις της p53 σε ποσοστό μόνο 5-12% των περιπτώσεων (Dos Santos *et al.*, 2019).

Μελέτες σε κύτταρα ασθενών έχουν βρει πως οι Δ40p53 ισομορφές σχετίζονται με τη συσσώρευση αμυλοειδούς σε όγκους τύπου II ενδομητριάκου καρκίνου. Το αμυλοειδές είναι μια λιποπρωτεΐνη που παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση φλεγμονής και το μεταβολισμό της χοληστερίνης (Cocco *et al.*, 2009). Οι Δ40p53 ισομορφές μπορούν να αποφεύγουν την αποσύνθεση από τους αρνητικούς ρυθμιστές της p53α (π.χ. MDM2) λόγω της έλλειψης του TAD1 τομέα, το οποίο συμβάλλει στη δημιουργία συσσωματωμάτων όταν υπεραυξάνονται στο κύτταρο (Dos Santos *et al.*, 2019). Η αύξηση των συσσωματωμάτων αμυλοειδούς σε όγκους ενδομητριάκου καρκίνου σχετίζεται με πιο επιθετικές μορφές καρκίνου με μεγάλη αντίσταση στη θεραπεία (Dos Santos *et al.*, 2019).

Οι Δ133p53, p53β και p53γ ισομορφές έχουν επίσης βρεθεί σε καρκινικά κύτταρα ενδομήτριου. Η έκφραση των συγκεκριμένων ισόμορφων είναι δυναμική και εξαρτάται από τη συνολική έκφραση της p53α στα καρκινικά κύτταρα (Bischof *et al.*, 2018). Εάν αυτό σημαίνει πως η έκφραση ισόμορφων σε ασθενείς είναι απλά προϊόν της δράσης της p53α παραμένει άγνωστο, όμως με βάση την πολυπλοκότητα του p53 δικτύου μπορεί να θεωρηθεί πως οι ισομορφές έχουν πιο σημαντικό ρόλο. Η p53γ συγκεκριμένα φαίνεται να σχετίζεται με μειωμένη επιβίωση και αυξημένη επιθετικότητα όταν υπεραυξάνεται σε καρκινικά κύτταρα του ενδομήτριου (Bischof *et al.*, 2018).

### **Γ.3.4 Καρκίνος του παχέος εντέρου**

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου, ή ορθοκολικός καρκίνος, είναι η τέταρτη συχνότερη μορφή καρκίνου στον κόσμο και εμφανίζεται κυρίως σε άτομα άνω των 50 ετών (Ahmed,

2020). Η p53 είναι συχνά μεταλλαγμένη στον ορθοκολικό καρκίνο, με περίπου το 50% των περιπτώσεων να φέρουν κάποια μετάλλαξη στον DBD τομέα της πρωτεΐνης (Li *et al.*, 2015). Υψηλά επίπεδα της p53α, αλλά και των Δ133p53 ισόμορφων της έχουν βρεθεί να εκφράζονται σε υγιείς κύτταρα του παχέος εντέρου (Bourdon *et al.*, 2005). Αντιθέτως, καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου έχουν υψηλά επίπεδα της p53β ισομορφής και χαμηλά επίπεδα Δ133p53 (Horvat *et al.*, 2021). Φαίνεται όμως πως η έκφραση των δυο προαναφερόμενων ισόμορφων στον ορθοκολικό καρκίνο είναι δυναμική, καθώς έχει παρατηρηθεί πως η έκφραση των Δ133p53 ισόμορφων αυξάνεται από το πρώτο στο δεύτερο στάδιο του καρκίνου, ενώ η έκφραση της p53β μειώνεται από το δεύτερο στο τρίτο στάδιο (Fujita *et al.*, 2009).

Επιπλέον, έχουν μελετηθεί μερικοί από τους μηχανισμούς μέσω των οποίων οι Δ133p53 ισομορφές συμβάλουν στον ορθοκολικό καρκίνο. Μελέτες σε μοντέλα ποντικών έχουν βρει πως το σηματοδοτικό μονοπάτι JAK-STAT3, το οποίο εμπλέκεται στην ανοσολογική απόκριση, ελέγχεται από την ιντερλευκίνη 6 (IL-6) υπό την παρουσία των Δ133p53 ισόμορφων (Campbell *et al.*, 2018). Η αύξηση της IL-6 σχετίζεται με αυξημένη φλεγμονή στα κύτταρα, το οποίο έχει παρατηρηθεί και σε κύτταρα ορθοκολικού καρκίνου (Horvat *et al.*, 2021). Η παρουσία των Δ133p53 ισόμορφων στον ορθοκολικό καρκίνο συνδέεται κυρίως με κακή πρόγνωση και μεγαλύτερες πιθανότητες μετάστασης, καθώς η ικανότητα των καρκινικών κυττάρων να αποφεύγουν το ανοσοποιητικό σύστημα και να εισβάλουν πιο εύκολα σε γειτονικούς ιστούς αυξάνεται με την απορρύθμιση της IL-6 (Campbell *et al.*, 2018).

Τέλος, οι Δ133p53 ισομορφές έχουν αντι-αποπτωτική λειτουργία στον καρκίνο του παχέος εντέρου. Συγκεκριμένα, η Δ133p53β έχει βρεθεί να ρυθμίζει τη δραστηριότητα της RhoB GTPάσης, η οποία φυσιολογικά λειτουργεί ως ογκοκαταστολέας ενεργοποιώντας την απόπτωση όταν υπάρχει βλάβη στο DNA (Prendergast, 2001). Μέσω μη ακόμα ξεκάθαρου μηχανισμού, η Δ133p53β καταστέλλει τη δράση της RhoB σε κύτταρα ορθοκολικού καρκίνου, οδηγώντας στην αποφυγή της απόπτωσης. Η υπερέκφραση της Δ133p53β έχει συνδεθεί με αυξημένο βαθμό νοσηρότητας και θνησιμότητας, αλλά και με αυξημένη αντίσταση σε καρκινικά φάρμακα που προκαλούν την απόπτωση. Η καμπτοθεκίνη (camptothecin) είναι ένα από τα αντικαρκινικά φάρμακα που δεν είναι αποτελεσματικό κατά του ορθοκολικού καρκίνου με υπεραυξημένη Δ133p53β (Arsic *et al.*, 2017). Το γεγονός ότι η Δ133p53β παρέχει τόσο δυνατή αντίσταση στην απόπτωση είναι μεγάλης κλινικής σημασίας, καθώς μελλοντικές μελέτες θα μπορούσαν να αφοσιωθούν στην ανάπτυξη πιο στοχευμένων θεραπειών.

## Γ.2.5 Νεφροκυτταρικό καρκίνωμα

Ο καρκίνος των νεφρών είναι από τους πιο συχνούς καρκίνους του ουροποιητικού συστήματος μετά από τον καρκίνο της ουροδόχου κύστης (Hsieh *et al.*, 2018). Υπάρχουν διάφοροι τύποι του καρκίνου των νεφρών, όμως ο πιο συχνός είναι το νεφροκυτταρικό καρκίνωμα, το οποίο αποτελεί περίπου το 90-95% των περιπτώσεων και ξεκινάει συνήθως στα επιθηλιακά κύτταρα του νεφρικού σωληνάριου (Cairns, 2010). Η p53 δεν βρίσκεται συχνά μεταλλαγμένη στο νεφροκυτταρικό καρκίνωμα, αλλά οι περισσότερες από τις ισομορφές της έχουν εντοπιστεί σε κύτταρα ασθενών. Η p53β ισομορφή έχει βρεθεί σε αυξημένα επίπεδα σε όγκους νεφροκυτταρικού καρκινώματος και πιστεύεται πως συνδέεται με τα διαφορετικά στάδια του καρκίνου (Song *et al.*, 2009). Η έκφραση της p53β φαίνεται να μειώνεται με την εξέλιξη των διαφορετικών σταδίων του καρκίνου των νεφρών και να συμβάλει στην καλύτερη πρόγνωση (Anbarasan and Bourdon, 2019). Πρόσφατες μελέτες έχουν βρει τον πιθανό μηχανισμό λειτουργίας της p53β στο νεφροκυτταρικό καρκίνωμα. Η δράση της p53β σε κύτταρα ασθενών ρυθμίζει το γονίδιο BAX και ενεργοποιεί την κασπάση-3 η οποία είναι ο τελευταίος μεταγραφικός παράγοντας που χρειάζεται για να ξεκινήσει η απόπτωση (Zhang *et al.*, 2018). Αν και ο μηχανισμός δεν είναι ακόμα απόλυτα ξεκάθαρος, υποστηρίζει την «προστατευτική» λειτουργία της p53β στο νεφροκυτταρικό καρκίνωμα, καθώς η ενεργοποίηση της απόπτωσης οδηγεί στην αντιμετώπιση καρκινικών κυττάρων.

Επιπλέον, οι Δ40p53 και Δ133p53 έχουν παρατηρηθεί σε χαμηλά επίπεδα σε κύτταρα ασθενών με καρκίνο των νεφρών. Καρκινικά κύτταρα όπου η p53α είναι μεταλλαγμένη εκφράζουν υψηλότερα επίπεδα των Δ40p53 και Δ133p53 ισομορφών σε σχέση με καρκινικά κύτταρα όπου η p53α διατηρεί τη φυσιολογική δομή και λειτουργία της (Knezović Florijan *et al.*, 2019). Θεωρείται πως οι μεταλλάξεις της p53α καταστρέφουν την λεπτή ισορροπία που κυριαρχεί ανάμεσα στις διαφορετικές ισομορφές στα κύτταρα, επιτρέποντας στον καρκίνο να ευδοκιμήσει κάτω από ακανόνιστες συνθήκες.

## Γ.2.6 Καρκίνος του δέρματος

Ο καρκίνος του δέρματος – ή μελάνωμα – είναι από τους πιο συχνά διαγνώσιμους στους νέους και ο πέμπτος πιο συχνά παρατηρημένος καρκίνος παγκοσμίως (Heistein, Acharya and Mukkamalla, 2022). Η p53 βρίσκεται σπάνια μεταλλαγμένη στον καρκίνο του δέρματος, και μάλιστα συνήθως παρατηρούνται υψηλά επίπεδα p53α στους όγκους μελανώματος (Avery-Kiejda *et al.*, 2011). Παραδόξως, η έκφραση της p53α έχει συσχετιστεί με χειρότερη

πρόγνωση και γρηγορότερη επιδείνωση του καρκίνου του δέρματος, γεγονός το οποίο σημαίνει πως η p53α δεν διατηρεί τη φυσιολογική ογκοκατασταλτική λειτουργία της (Li *et al.*, 2006).

Πρόσφατες μελέτες έχουν επικεντρωθεί στο ρόλο που παίζουν οι ισομορφές της p53 στη ρύθμιση της λειτουργίας της p53α στο μελάνωμα. Οι Δ40p53α, Δ133p53β/γ, Δ160p53α και p53β ισομορφές έχουν βρεθεί να εκφράζονται σε κύτταρα μελανώματος (Tadijan *et al.*, 2021). Η έκφραση της Δ160p53α είναι συγκεκριμένα η πιο ευμετάβλητη και φαίνεται να εξαρτάται από παράγοντες που προκαλούν βλάβες στο DNA. Αν και δεν γνωρίζουμε πολλά για τους γενικούς μηχανισμούς των Δ160p53 ισομορφών, η αυξημένη έκφρασή τους σε καρκινικά κύτταρα μελανώματος έχει συσχετιστεί με πιο επιθετικές μορφές καρκίνου, με μεγαλύτερη ικανότητα ανεξέλεγκτου πολλαπλασιασμού και μετάστασης (Tadijan *et al.*, 2021). Η υπερέκφραση της Δ133p53β επίσης σχετίζεται με αυξημένη θνησιμότητα (Ozretić *et al.*, 2019).

Αντιθέτως, οι Δ40p53 ισομορφές φαίνεται να ενεργοποιούν την απόπτωση σε καρκινικά κύτταρα μελανώματος αλληλοεπιδρώντας με την p53α και τα γονίδια στόχους της (Avery-Kiejda *et al.*, 2008). Η ενδογενής δράση της p53α ενεργοποιείται από τις Δ40p53 ισομορφές και οδηγεί στην αυξημένη έκφραση προ-αποπτωτικών γονιδίων όπως το PIDD (Takahashi, Markovic and Scrable, 2014). Η προ-αποπτωτική λειτουργία των Δ40p53 θεωρητικά «διασώζει» τα κύτταρα από το μελάνωμα όταν η p53α αποτυχαίνει στη λειτουργία της. Παρόλα αυτά, το γεγονός ότι διαφορετικές ισομορφές δεν έχουν προστατευτική λειτουργία καθώς σχετίζονται με πιο σοβαρές μορφές μελανώματος σημαίνει πως υπάρχει ένας περίπλοκος μηχανισμός που ελέγχει το ρόλο της p53 και των ισομορφών της στον καρκίνο του δέρματος.

### **Γ.2.7 Άλλες μορφές καρκίνου**

Όπως είναι φανερό από τα προαναφερόμενα, οι ισομορφές της p53 εμπλέκονται με ένα πλήθος διαφορετικών μορφών σποραδικού καρκίνου. Μερικοί ακόμα αξιοσημείωτοι καρκίνοι που έχουν μελετηθεί σε σχέση με τις p53 ισομορφές είναι ο καρκίνος του πνεύμονα, το γλοιοβλάστωμα εγκεφάλου, η οξεία μυελογενής λευχαιμία, το ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα και το χολαγγειοκαρκίνωμα (Anbarasan and Bourdon, 2019).

Η έκφραση των Δ133p53 ισομορφών στον καρκίνο του πνεύμονα είναι δραματικά αυξημένη και σχετίζεται με τη μείωση της έκφρασης της p21 πρωτεΐνης (Fragou *et al.*, 2017).



Το αν οι Δ133p53 οδηγούν άμεσα στην καταστολή της p21 δεν είναι ακόμα ξεκάθαρο, καθώς οι τρέχουσες μελέτες δεν έχουν βρει καμία στατιστικά σημαντική συσχέτιση. Παρόλα αυτά, η ανίχνευση των Δ133p53 ισόμορφων στον καρκίνο του πνεύμονα σημαίνει κακή πρόγνωση, καθώς συνοδεύεται από μειωμένη δράση της ογκοκατασταλτικής λειτουργίας της p53 μέσω της p21, είτε ρυθμίζεται από την ισομορφή είτε οφείλεται σε διαφορετικούς παράγοντες (Fragou *et al.*, 2017). Παρομοίως, οι Δ133p53 ισομορφές έχουν ανιχνευθεί σε αυξημένα επίπεδα σε καρκινικά κύτταρα γλοιοβλαστώματος, μια επιθετική μορφή καρκίνου του εγκεφάλου με μεγάλη θνησιμότητα (Kazantseva *et al.*, 2018). Συγκεκριμένα, η Δ133p53β ισομορφή φαίνεται να σχετίζεται με αυξημένα μακροφάγα στους όγκους γλοιοβλαστώματος, τα οποία θεωρούνται δείκτες κακής πρόγνωσης (Hung *et al.*, 2016). Η Δ133p53β μπορεί να συμβάλει στην αύξηση των μακροφάγων μέσω της ενεργοποίησης της CCL2 κυτοκίνης, η οποία εμπλέκεται στην επαγωγή μακροφάγων (Fragou *et al.*, 2017).

Η οξεία μυελογενής λευχαιμία (ΟΜΛ) είναι από τις πιο επιθετικές μορφές καρκίνου του μυελού των οστών και σπάνια συνδέεται με μεταλλάξεις στην p53 (Estey and Döhner, 2006). Οι p53β και p53γ ισομορφές έχουν εντοπιστεί σε καρκινικά κύτταρα ΟΜΛ και φαίνεται να σχετίζονται με την καλή πρόγνωση της ασθένειας. Υψηλά επίπεδα p53β και p53γ έχουν συσχετιστεί με την έκφραση μεταλλαγμένης NPM1, πρωτεΐνη η οποία είναι θετικός δείκτης της πρόγνωσης της ΟΜΛ (Ånensen *et al.*, 2011). Μειωμένα επίπεδα της p53α μαζί με την υπερέκφραση των p53β και p53γ σχετίζονται με αυξημένες πιθανότητες επιβίωσης ασθενών με ΟΜΛ (Ånensen *et al.*, 2011). Αντιθέτως, το ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα (ΑΚ) είναι ένας τύπος επιθηλιώματος, δηλαδή καρκίνος που εμφανίζεται στα κύτταρα του επιθήλιου, συνήθως στον λαιμό και την κεφαλή (Boldrup *et al.*, 2007). Η p53β ισομορφή έχει βρεθεί να εκφράζεται σε καρκινικά κύτταρα ΑΚ, όμως ο τρόπος με τον οποίο εμπλέκεται στην ασθένεια δεν είναι ακόμα ξεκάθαρος.

Τέλος, η υπερέκφραση των Δ133p53 ισόμορφων στο χολαγγειοκαρκίνωμα έχει συσχετιστεί με χειρότερη πρόγνωση της ασθένειας. Το χολαγγειοκαρκίνωμα είναι ένας σπάνιος τύπος καρκίνου που εμφανίζεται στα επιθηλιακά κύτταρα του χοληδόχου πόρου (Sripa and Pairojkul, 2008). Η αλληλοεπίδραση μεταξύ της p53α και των Δ133p53 ισόμορφων όταν οι ισομορφές υπεραυξάνονται οδηγεί στην αρνητική ρύθμιση των λειτουργιών της p53α που ενεργοποιούν την απόπτωση και αναστέλλουν τον κυτταρικό κύκλο (Nutthasirikul *et al.*, 2013). Αυτό συνεπάγεται την ενίσχυση της επιθετικότητας του χολαγγειοκαρκινώματος, καθώς τα καρκινικά κύτταρα μπορούν να πολλαπλασιάζονται ανεξέλεγκτα.

Καρκίνος	Ισομορφές της p53
Ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα	p53β
Γλοιοβλάστωμα	Δ133p53β
Καρκίνος του δέρματος	Δ40p53α, Δ133p53β/γ, Δ160p53α, p53β
Καρκίνος του ενδομήτριου	p53β/γ, Δ40p53, Δ133p53
Καρκίνος του μαστού	p53β/γ, Δ40p53, Δ133p53
Καρκίνος του παχέος εντέρου	Δ133p53
Καρκίνος του πνεύμονα	Δ133p53
Καρκίνος των ωοθηκών	p53β/γ, Δ40p53, Δ133p53
Νεφροκυτταρικό καρκίνωμα	p53β, Δ40p53, Δ133p53
Οξεία μυελογενής λευχαιμία	p53β/γ
Χολαγγειοκαρκίνωμα	Δ133p53

*Πίνακας 1: Οι p53 ισομορφές που σχετίζονται με διαφορετικές μορφές καρκίνου.*

### Γ.3 Κληρονομικοί καρκίνοι

#### Γ.3.1. Σύνδρομο Li-Fraumeni

Το σύνδρομο Li-Fraumeni (LFS) είναι ένα σπάνιο κληρονομικό σύνδρομο που σχετίζεται με την ανάπτυξη καρκίνου σε νεαρή ηλικία (Schneider *et al.*, 2019). Κληρονομείται με αυτοσωμικά επικρατή τρόπο και συνήθως σχετίζεται με μεταλλάξεις της p53 (Michaeli and Malkin, 2022). Λόγω του τρόπου κληρονόμησής του, άτομα με LFS έχουν σχεδόν σίγουρες πιθανότητες εμφάνισης καρκίνου, αν και ο τύπος και σοβαρότητα του καρκίνου μπορεί να διαφέρει. Η έκφραση των ισομορφών της p53, συγκεκριμένα των Δ40p53 σε ασθενείς με LFS έχει βρεθεί να σχετίζεται με την ηλικία διάγνωσης του καρκίνου.

Μια μελέτη σε οικογένειες με LFS από τη Βραζιλία ερεύνησε το ρόλο πολυμορφισμών του TP53 γονιδίου στη γενετική προδιάθεση για τον καρκίνο (Marcel *et al.*, 2009). Ασθενείς με πολυμορφισμούς που σχετίζονται με την έκφραση των Δ140p53 ισομορφών βρέθηκαν να έχουν περισσότερες πιθανότητες ανάπτυξης καρκίνου κατά τα πρώτα 19 χρόνια της ζωής τους (Marcel *et al.*, 2009). Ακόμα, φάνηκε πως οι Δ140p53 ισομορφές μπορεί να συμβάλουν στην φαινοτυπική ποικιλομορφία του LFS ανάλογα με το εναλλακτικό μάτισμά τους (Marcel *et al.*, 2009). Λαμβάνοντας υπόψη τη σοβαρότητα του LFS, η διαφορετική έκφραση των ισομορφών της p53 σε κύτταρα ασθενών θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης για την πρόγνωση του καρκίνου που προκαλεί το σύνδρομο.

Το γεγονός ότι οι ισομορφές της p53 έχουν διαφορετικό ρόλο στον καρκίνο ανάλογα με τον ιστό στον οποίον εκφράζονται και τους παράγοντες με τους οποίους αλληλοεπιδρούν είναι ενδεικτικό του περίπλοκου και παράδοξου μηχανισμού του p53 δικτύου. Εάν ολόκληρο το p53 δίκτυο αποτελεί ένα μωσαϊκό, κάθε καινούργια πληροφορία σχετικά με τη λειτουργία του είναι ένα κομμάτι που μας φέρνει όλο και πιο κοντά στην ολοκλήρωση του έτσι ώστε να μπορούμε να το θαυμάσουμε σε όλο του το μεγαλείο. Ο ρόλος της p53 και των ισομορφών της στον καρκίνο δεν συμβάλει μόνο στην καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών των διαφορετικών καρκίνων, αλλά μπορεί και να μας βοηθήσει στην ανάπτυξη καλύτερων μεθόδων ανίχνευσης και θεραπείας για τις πιο επιθετικές μορφές καρκίνου.

## 4. Θεραπευτικές προσεγγίσεις με βάση τις p53 ισομορφές

### Δ.1 Οι ισομορφές της p53 ως καρκινικοί βιοδείκτες

Οι βιοδείκτες χαρακτηρίζονται ως βιολογικά μόρια τα οποία βρίσκονται στο αίμα και άλλα σωματικά υγρά ή ιστούς, τα οποία μπορούν να μετρηθούν αντικειμενικά ως δείκτες φυσιολογικών και παθογενικών διαδικασιών ή φαρμακολογικής απόκρισης έπειτα από θεραπευτική παρέμβαση (Mishra and Verma, 2010). Όσον αφορά τον καρκίνο, οι βιοδείκτες μπορεί να βοηθούν στην ανίχνευση, διάγνωση αλλά και πρόγνωση της ασθένειας ανάλογα με τον τύπο του καρκίνου σε διαφορετικούς βαθμούς ακρίβειας. Ο ιδανικός βιοδείκτης είναι πάντα ακριβής, όμως λόγω της πολυπλοκότητας των μηχανισμών του καρκίνου αυτό είναι σχεδόν αδύνατο. Η p53 είναι θεωρητικά ένας ιδανικός βιοδείκτης, καθώς οι ισομορφές της εκφράζονται διαφορετικά στις περισσότερες μορφές καρκίνου.

Όπως προαναφέρθηκε παραπάνω, οι ισομορφές της p53 εμπλέκονται με διαφορετικό τρόπο σε διάφορες μορφές καρκίνου ανάλογα με τον ιστό και τους παράγοντες με τους οποίους αλληλοεπιδρούν. Η ίδια ισομορφή μπορεί να έχει διαφορετική λειτουργία σε διαφορετικές μορφές καρκίνου, όμως διαφορετικές ισομορφές μπορεί να εμπλέκονται διαφορετικά στην ίδια μορφή καρκίνου. Για παράδειγμα, η p53γ σχετίζεται με καλύτερη πρόγνωση του καρκίνου του μαστού σε υψηλά επίπεδα, αλλά με χειρότερη πρόγνωση του καρκίνου του ενδομήτριου (Bourdon *et al.*, 2011; Bischof *et al.*, 2018). Από την άλλη, η έκφραση της p53β στον καρκίνο των νεφρών έχει «προστατευτική» λειτουργία, ενώ οι Δ40p53 προάγουν την καρκινογένεση (Anbarasan and Bourdon, 2019). Ακόμα, η παρουσία μεταλλάξεων της p53α μπορεί να επηρεάσει το ρόλο των ισομορφών στον καρκίνο (Knezović Florijan *et al.*, 2019).

Χρησιμοποιώντας βιοψίες καρκινικών κυττάρων από ασθενείς, οι ισομορφές της p53 θα μπορούσαν να ανιχνευθούν ως βιοδείκτες για την πρόγνωση αλλά και καλύτερη θεραπεία του καρκίνου. Τις τελευταίες δεκαετίες, η ιδέα της εξατομικευμένης ιατρικής έχει απασχολήσει πολλούς ερευνητές. Συνοπτικά, η εξατομικευμένη ιατρική πιστεύει πως κάθε άνθρωπος έχει μοναδικά χαρακτηριστικά τα οποία επηρεάζουν το πως ανταποκρίνεται σε συγκεκριμένες ασθένειες και θεραπείες και στοχεύει την προσαρμοσμένη πρακτική της ιατρικής ανάλογα με τα μοναδικά χαρακτηριστικά του καθενός (Goetz and Schork, 2018). Η χρήση των ισομορφών της p53 ως βιοδεικτών του καρκίνου θα μπορούσε να είναι μια μορφή εξατομικευμένης ιατρικής, επιτρέποντας τον καθορισμό του μοναδικού «προφίλ» του ασθενούς με βάση τις ισομορφές που αναγνωρίζονται στα κύτταρά τους (Hayman *et al.*, 2019). Με βάση το «προφίλ» του κάθε ασθενούς, θα μπορούσε να προσδιοριστεί η πρόγνωση του

καρκίνου του αλλά και οι πιο αποτελεσματικές για αυτόν θεραπείες, καθώς η έκφραση των ισόμορφων μπορεί να καθορίσει και την ανταπόκριση των καρκινικών κυττάρων σε διαφορετικές θεραπείες.

## Δ.2 Εναλλακτικό μάτισμα και αντικαρκινικές θεραπείες

Πρόσφατες μελέτες έχουν βρει πως το ανεξέλεγκτο εναλλακτικό μάτισμα είναι ακόμα ένα ορόσημο του καρκίνου (Ladomegy, 2013). Αν και ο ρόλος των p53 ισόμορφων στον καρκίνο είναι δυναμικός και αρκετά περίπλοκος, μπορεί το γεγονός ότι παράγονται μέσω εναλλακτικού ματίσματος να χρησιμοποιηθεί στη δημιουργία αντικαρκινικών θεραπειών. Νέες θεραπείες που έχουν ήδη στόχο το εναλλακτικό μάτισμα είναι τα μικρά μόρια-αναστολείς (small molecule inhibitors), τα αντινοσηματικά ολιγονουκλεοτίδια μεταγωγής ματίσματος (splice-switching antisense oligonucleotides – SSAOs) και η CRISPR/Cas9 τεχνολογία (Zhao and Sanyal, 2022).

Μικρά μόρια-αναστολείς μπορεί να είναι οποιαδήποτε βιολογικά μόρια (π.χ. λιπίδια, αμινοξέα) ή φαρμακευτικά προϊόντα που έχουν μοριακή μάζα μικρότερη από 900 Da (Govardhanagiri, Bethi and Nagaraju, 2019). Το μικρό τους μέγεθος τους δίνει τη δυνατότητα να εισέρχονται σε ιστούς και κύτταρα με μεγάλη ευκολία, γεγονός το οποίο τα κάνει ιδανικά αντικαρκινικά φάρμακα. Ένα τέτοιο μικρό μόριο είναι, παραδόξως, η καφεΐνη (1,3,7-τριμεθυλοξανθίνη). Μελέτες έχουν δείξει πως η χρήση της καφεΐνης αυξάνει την έκφραση της p53β ενώ μειώνει την έκφραση της p53α μέσω της αρνητικής ρύθμισης του SRF3 (Lin *et al.*, 2014). Ο SRF3 είναι ένας παράγοντας που ρυθμίζει το εναλλακτικό μάτισμα διαφόρων γονιδίων, συμπεριλαμβανομένου και του TP53 (Tang *et al.*, 2013). Μια από τις χαρακτηριστικές λειτουργίες της p53β είναι η κυτταρική γήρανση, άρα η ενεργοποίησή της μέσω της χρήσης καφεΐνης θα έχει ογκοκατασταλτική λειτουργία. Πράγματι, μειωμένη επιβίωση καρκινικών κυττάρων έχει παρατηρηθεί έπειτα από τη χρήση καφεΐνης σε κύτταρα καλλιέργειας HeLa (Lin *et al.*, 2014). Αν και εκατομμύρια άνθρωποι καταναλώνουν καφεΐνη καθημερινά με τα ροφήματά τους, η καφεΐνη ως μικρό μόριο-αναστολέας κατά του καρκίνου δεν έχει ακόμα να εγκριθεί για ανθρώπινες κλινικές μελέτες.

Τα αντινοσηματικά ολιγονουκλεοτίδια μεταγωγής ματίσματος (SSAOs) είναι μικρά, συνθετικά τροποποιημένα μόρια που δεσμεύονται στο pre-mRNA και διαταράσσουν το εναλλακτικό μάτισμα μπλοκάροντας το μηχανισμό του (Havens and Hastings, 2016). Η χρήση των SSAOs σε σχέση με την p53 και τις ισόμορφές της δεν έχει μελετηθεί ακόμα με λεπτομέρεια, όμως θεωρητικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην θεραπεία του καρκίνου. Η

p53 δεν είναι συχνά μεταλλαγμένη στο μελάνωμα, όμως ο ρυθμιστής της MDM4 βρίσκεται συχνά υπεραυξημένος και λειτουργεί ανταγωνιστικά της προ-αποπτωτικής λειτουργίας της (Gembarska *et al.*, 2012). Σε φυσιολογικά κύτταρα, ο MDM4 παράγεται μέσω εναλλακτικού ματίσματος που παραλείπει το εξόνιο 6, ενώ σε καρκινικά κύτταρα το εξόνιο 6 περιλαμβάνεται στην ολοκληρωμένη πρωτεΐνη (Dewaele *et al.*, 2016). Πειραματική θεραπεία καρκινικών κυττάρων με SSAOs οδηγεί στην απόπτωση και παύση του κυτταρικού κύκλου, καθώς τα επίπεδα της MDM4 που περιλαμβάνει το εξόνιο 6 μειώνονται, επιτρέποντας στην p53 να εκτελέσει τη φυσιολογική λειτουργία της (Dewaele *et al.*, 2016). Γνωρίζοντας τη δυναμική του p53 δικτύου, δεν είναι απίθανο να θεωρηθεί πως μια ή περισσότερες από τις ισομορφές εμπλέκονται στην MDM4-p53 δράση. Συγκεκριμένα στο μελάνωμα, οι Δ133p53 και Δ160p53 ισομορφές σχετίζονται με την καρκινογένεση, ενώ η Δ40p53α έχει προστατευτική λειτουργία (Takahashi, Markovic and Scrable, 2014; Ozretić *et al.*, 2019; Tadijan *et al.*, 2021).

Τέλος, από τις πιο πολλά υποσχόμενες αντικαρκινικές θεραπείες του 21<sup>ου</sup> αιώνα είναι η νέα τεχνολογία επεξεργασίας του γονιδιώματος CRISPR/Cas9. Η τεχνολογία βασίζεται στο σύστημα ανοσολογικής απόκρισης των βακτηρίων, τα οποία έχουν μικρές, επαναλαμβανόμενες παλινδρομικές αλληλουχίες στο γονιδίωμα τους που αποτελούν κομμάτι του ανοσοποιητικού (Sun, Lutz and Tao, 2016). Οι αλληλουχίες αυτές ανήκουν σε ιούς που έχουν στο παρελθόν προσβάλει το βακτήριο- έτσι, όταν το βακτήριο ξαναέρχεται σε επαφή με τον ίδιο ιό, οι αλληλουχίες αντιγράφονται σε μια μορφή RNA (guide-RNA) που δεσμεύεται στην ενδονουκλεάση Cas9 και αναγνωρίζει τη συμπληρωματική αλληλουχία του ιού, οδηγώντας στην καταστροφή του. Στον άνθρωπο, αυτό το σύστημα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την τροποποίηση του γονιδιώματος χρησιμοποιώντας ειδικά guide-RNAs για ένα συγκεκριμένο γονίδιο. Πρόσφατες μελέτες σε ποντίκια έχουν βρει πως η χρήση του CRISPR/Ca9 μπορεί να προκαλέσει εναλλακτικό μάτισμα του mRNA στόχου (Zhang *et al.*, 2020). Παρόλα αυτά, το αν αυτό το αποτέλεσμα μπορεί να αναπαραχθεί στο πλαίσιο της p53 και των ισόμορφων της δεν είναι γνωστό. Η CRISPR/Cas9 τεχνολογία μπορεί να είναι πολλά υποσχόμενη, όμως καθώς προκαλεί μόνιμες τροποποιήσεις στο γονιδίωμα των σωματικών κυττάρων, είναι σημαντικό να εφαρμόζεται όσο πιο ειδικά γίνεται για την αποφυγή ανεπιθύμητων αποτελεσμάτων.

### **Δ.3 Αντιστροφή της κυτταρικής γήρανσης**

Για δεκαετίες, η κυτταρική γήρανση θεωρείτο ένας από τους μηχανισμούς αποτροπής του καρκίνου, καθώς ενεργοποιείται έπειτα από έκθεση των κυττάρων σε στρεσογόνους

παράγοντες που προκαλούν κυτταρική βλάβη (Sharpless and Sherr, 2015). Η διαδικασία της κυτταρικής γήρανσης σχετίζεται με ποικίλες αλλαγές όπως επιγενετικές αλλαγές, τροποποιήσεις στην έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων και έκκριση διαφόρων προφλεγμονωδών μορίων (Loaiza and Demaria, 2016). Όλες αυτές οι αλλαγές χαρακτηρίζονται μαζί ως ο εκκριτικός φαινότυπος της κυτταρικής γήρανσης (senescence-associated secretory phenotype – SASP) και οδηγούν στον κυτταρικό θάνατο κυττάρων που έχουν υποστεί βλάβη. Παρόλα αυτά, πρόσφατες μελέτες προτείνουν πως η κυτταρική γήρανση εμπλέκεται, παραδόξως, στην καρκινογένεση και πως τα γηραία κύτταρα είναι στην πραγματικότητα προκαρκινικά. Συγκεκριμένα, φαίνεται πως διαφορετικά κομμάτια του εκκριτικού φαινοτύπου SASP συμβάλουν στην ανάπτυξη, εισβολή αλλά και μετάσταση καρκινικών όγκων (Yang *et al.*, 2021).

Η ιδέα της αντιστροφής της κυτταρικής γήρανσης δεν είναι κάτι καινούργιο, λαμβάνοντας υπόψη την αιώνια επιθυμία του ανθρώπου να γίνει αθάνατος. Αποτελεί όμως μια νέα υποσχόμενη μορφή θεραπείας ενάντια του καρκίνου. Δεδομένης της σημαντικότητας των ισόμορφων της p53 στην φυσιολογική διαδικασία της κυτταρικής γήρανσης, τρέχουσες μελέτες εστιάζουν στην ανάπτυξη αντικαρκινικών θεραπειών με βάση την αντιστροφή της κυτταρικής γήρανσης. Μελέτες σε CD8+ T λεμφοκύτταρα έχουν βρει πως η έκφραση της Δ133p53α ισομορφής «διασώζει» τα κύτταρα από την κυτταρική γήρανση (Mondal *et al.*, 2013). Τα CD8+ T κύτταρα συνδέονται στενά με την κυτταρική γήρανση και η δυσλειτουργία τους μπορεί να οδηγήσει στον καρκίνο (Van der Leun, Thommen and Schumacher, 2020). Γηραία CD8+ T κύτταρα έχουν ως χαρακτηριστικά μειωμένη CD28, πρωτεΐνη η οποία έχει κύριο ρόλο στη διέγερση σημάτων που χρειάζονται για την ενεργοποίηση των CD8+ T κυττάρων (Beck *et al.*, 2020). Από την άλλη, δυσλειτουργικά CD8+ T κύτταρα που δεν έχουν ακόμα μπει στη διαδικασία της κυτταρικής γήρανσης εκφράζουν αυξημένες πρωτεΐνες που σχετίζονται με σημεία ελέγχου του ανοσοποιητικού, όπως η PD-1, TIM-3, CTLA-4 και LAG-3 (Wherry, 2011).

Πειραματικά, η Δ133p53α αποκαθιστά την έκφραση της CD28 και μειώνει την έκφραση πρωτεϊνών όπως οι LAG-3 και PD-1 (Beck *et al.*, 2020). Έτσι, επαναφέρει τα γηραία και δυσλειτουργικά CD8+ T κύτταρα στην κανονική τους λειτουργική και πολλαπλασιαστική κατάσταση. Αν και δεν γνωρίζουμε πλήρως τον μηχανισμό με τον οποίο η Δ133p53α ισομορφή λειτουργεί στη «διάσωση» των CD8+ T κυττάρων, η δράση της αποτελεί στόχο για μελλοντικές θεραπείες κατά του καρκίνου. Η Δ133p53α θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί στην ανοσοθεραπεία του καρκίνου, όπου τα κύτταρα του ασθενούς επαναπρογραμματίζονται μέσω

γονιδιακής θεραπείας έτσι ώστε ο οργανισμός να μπορεί να αντιμετωπίσει τον καρκίνο μόνος του. Συγκεκριμένα, η ισομορφή θα μπορούσε να προσφέρει μεγάλο όφελος στην ανοσοθεραπεία με CAR-T κύτταρα, καθώς ένας από τους μεγαλύτερους περιορισμούς της σήμερα είναι η κυτταρική γήρανση και δυσλειτουργία των T λεμφοκυττάρων (Beck *et al.*, 2020).



## 5. Συμπεράσματα

Η p53 είναι ίσως από τις πιο παράδοξες πρωτεΐνες του ανθρώπινου γονιδιώματος, καθώς ανάλογα με τις συνθήκες προστατεύει τα κύτταρα από την καρκινογένεση ή οδηγεί στη δημιουργία καρκινικών όγκων. Οι ισομορφές της διατηρούν πολλές από τις χαρακτηριστικές ογκοκατασταλτικές λειτουργίες της, όπως η επιδιόρθωση του DNA, η απόπτωση και η κυτταρική γήρανση. Η λειτουργία των ισομορφών βασίζεται πάνω σε τι κομμάτια της κανονικής p53α διατηρούν στη δομή τους, καθώς είναι περικομμένες μορφές της πρωτεΐνης. Ακόμα, οι αλληλοεπιδράσεις των ισομορφών μεταξύ τους, αλλά και με την p53α ή άλλες πρωτεΐνες μπορεί να καθορίσει τη λειτουργία τους. Η παρουσία ομόλογων της p53 και των ισομορφών της σε άλλα σπονδυλωτά επιβεβαιώνει τη σημαντικότητά της για τον οργανισμό, καθώς οι ομόλογες διατηρούν παρόμοιες λειτουργίες μεταξύ διαφορετικών ειδών. Οι τρόποι με τους οποίους οι ισομορφές της p53 λειτουργούν και αλληλοεπιδρούν μεταξύ τους ή με άλλα μόρια παραμένουν κατά κύριο λόγο άγνωστοι, όμως είναι σίγουρο πως αποτελούν σημαντικούς μηχανισμούς ενός ευρύτερου, δυναμικού p53 δικτύου που υποστηρίζει έναν υγιή οργανισμό υπό φυσιολογικές συνθήκες.

Όταν η p53 και οι ισομορφές της απορρυθμίζονται λόγω μεταλλάξεων ή άλλων επιβλαβών παραγόντων, ο καρκίνος ευδοκίμει καθώς δεν μπορεί ο «προστάτης του γονιδιώματος» να τον σταματήσει. Ο ρόλος των ισομορφών στον καρκίνο είναι αναμφίβολα σημαντικός, είτε η κανονική p53α βρίσκεται μεταλλαγμένη σε έναν καρκίνο είτε διατηρείται χωρίς καμία μετάλλαξη. Ανεξαρτήτως ή μη της p53α, οι ισομορφές εκφράζονται σε διαφορετικά επίπεδα ανάλογα με τον καρκίνο και το στάδιο στο οποίο βρίσκεται. Ανάλογα με την ισομορφή, η έκφρασή τους στον καρκίνο μπορεί να σημαίνει καλύτερη ή χειρότερη πρόγνωση, αν υπάρχει περισσότερη πιθανότητα για μεταστάσεις και πως θα λειτουργήσουν τα αντικαρκινικά φάρμακα. Ωστόσο, χρειάζονται περισσότερες έρευνες πάνω στους μηχανισμούς με τους οποίους οι p53 ισομορφές εμπλέκονται στον καρκίνο για να γίνει ξεκάθαρος ο ρόλος τους. Για ποιο λόγο η p53γ σχετίζεται με καλή πρόγνωση στον καρκίνο του μαστού, αλλά χειρότερη πρόγνωση στον καρκίνο του ενδομήτριου; Τι διαφορετικά σήματα και μόρια συμβάλουν στη διαφοροποίηση της έκφρασης των ισομορφών και πώς αυτά οδηγούν σε διαφορετικούς φαινοτύπους ανάλογα με τον καρκίνο; Λαμβάνοντας υπόψη το πόσο γρήγορα έχει εξελιχθεί ο τομέας της γενετικής του καρκίνου τις τελευταίες δεκαετίες, ίσως να έχουμε τις απαντήσεις στις παραπάνω ερωτήσεις μέχρι το τέλος της τωρινής δεκαετίας.

Σε κάθε περίπτωση, όσες περισσότερες πληροφορίες έχουμε για το ρόλο των ισομορφών της p53 στον καρκίνο, τόσο πιο στοχευμένες θεραπευτικές μεθόδους θα μπορούσαμε να αναπτύξουμε. Οι ισομορφές αποτελούν ιδανικούς υποψήφιους για βιοδείκτες του καρκίνου, καθώς η έκφρασή τους φαίνεται να είναι ειδική σε κάθε ιστό. Ως καρκινικοί βιοδείκτες, οι ισομορφές της p53 θα μπορούσαν να «προβλέψουν» την πορεία της ασθένειας, καθώς και επίσης την ανταπόκρισή της σε συγκεκριμένες θεραπείες. Γνωρίζοντας από νωρίς εάν ένας ασθενής κατέχει μια πιο επιθετική μορφή καρκίνου μπορεί να επιτρέψει τη νωρίτερη χρήση πιο επεμβατικών θεραπειών για την καλύτερη αντιμετώπιση της ασθένειας. Ακόμα, οι ισομορφές θα μπορούσαν να συμβάλουν στην νωρίτερη ανίχνευση του καρκίνου, καθώς μπορεί να εκφράζονται στα κύτταρα πολύ πιο πριν εμφανιστούν πολλά συμπτώματα. Εκτός από βιοδείκτες της πορείας του καρκίνου, οι ισομορφές της p53 μπορεί να αποτελέσουν σημαντικούς θεραπευτικούς στόχους.

Τις τελευταίες δεκαετίες, η άνοδος της γενετικής μηχανικής και της γονιδιακής θεραπείας έχει επιτρέψει την ανάπτυξη τεχνολογιών που επιτρέπουν την πιο ειδική και στοχευμένη αντιμετώπιση του καρκίνου. Καθώς οι ισομορφές της p53 αποτελούν κομμάτι ενός περίπλοκου δικτύου, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως άμεσοι ή έμμεσοι στόχοι στην ανάπτυξη θεραπευτικών προσεγγίσεων. Παρόλα αυτά, η ανάπτυξη θεραπειών με βάση τις p53 ισομορφές αντιμετωπίζει περιορισμούς που έχουν να κάνουν με την έκταση των πληροφοριών που υπάρχουν προς το παρόν σχετικά με τους μηχανισμούς τους. Μελλοντικές έρευνες χρειάζεται να εστιάσουν στο πώς οι ισομορφές της p53 διατηρούνται σε ισορροπία ανάλογα με τον ιστό στον οποίο βρίσκονται, τα σήματα που λαμβάνουν, και τους τρόπους που αλληλοεπιδρούν μεταξύ τους.

Συνοψίζοντας, οι ισομορφές της p53 είναι ενδεχομένως από τα πιο σημαντικά μέρη πάνω στα οποία πρέπει να εστιάσει η έρευνα στον τομέα της γενετικής του καρκίνου. Η καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών λειτουργίας τους και του ρόλου τους στον καρκίνο έχει το ενδεχόμενο να αλλάξει το πώς αντιμετωπίζεται ιατρικά ο καρκίνος και να ανοίξει το δρόμο για την εξατομικευμένη ιατρική.

## 6. Βιβλιογραφία

Abdellah, Z. *et al.* (2004) ‘Finishing the euchromatic sequence of the human genome’, *Nature* 2004 431:7011, 431(7011), pp. 931–945. doi: 10.1038/nature03001.

Adorno, M. *et al.* (2009) ‘A Mutant-p53/Smad complex opposes p63 to empower TGFbeta-

induced metastasis', *Cell*, 137(1), pp. 87–98. doi: 10.1016/J.CELL.2009.01.039.

Ahmed, M. (2020) 'Colon Cancer: A Clinician's Perspective in 2019', *Gastroenterology research*, 13(1), pp. 1–10. doi: 10.14740/GR1239.

American Cancer Society (2018) *Ovarian Cancer Stages / Staging for Ovarian Cancer*, American Cancer Society. Available at: <https://www.cancer.org/cancer/ovarian-cancer/detection-diagnosis-staging/staging.html> (Accessed: 15 September 2022).

Anand, P. *et al.* (2008) 'Cancer is a Preventable Disease that Requires Major Lifestyle Changes', *Pharmaceutical Research*, 25(9), p. 2097. doi: 10.1007/S11095-008-9661-9.

Anbarasan, T. and Bourdon, J. C. (2019) 'The Emerging Landscape of p53 Isoforms in Physiology, Cancer and Degenerative Diseases', *International journal of molecular sciences*, 20(24). doi: 10.3390/IJMS20246257.

Ånensen, N. *et al.* (2011) 'Correlation analysis of p53 protein isoforms with NPM1/FLT3 mutations and therapy response in acute myeloid leukemia', *Oncogene 2012 31:12*, 31(12), pp. 1533–1545. doi: 10.1038/onc.2011.348.

Armstrong, A. C., Eaton, D. and Ewing, J. C. (2001) 'Science, medicine, and the future: Cellular immunotherapy for cancer', *BMJ (Clinical research ed.)*, 323(7324), pp. 1289–1293. doi: 10.1136/BMJ.323.7324.1289.

Arsic, N. *et al.* (2017) 'The p53 isoform delta133p53 $\beta$  regulates cancer cell apoptosis in a RhoB-dependent manner'. doi: 10.1371/journal.pone.0172125.

Aubrey, B. J., Strasser, A. and Kelly, G. L. (2016) 'Tumor-Suppressor Functions of the TP53 Pathway', *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(5). doi: 10.1101/CSHPERSPECT.A026062.

Avery-Kiejda, K. A. *et al.* (2008) 'Small molecular weight variants of p53 are expressed in human melanoma cells and are induced by the DNA-damaging agent cisplatin', *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 14(6), pp. 1659–1668. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1422.

Avery-Kiejda, K. A. *et al.* (2011) 'P53 in human melanoma fails to regulate target genes associated with apoptosis and the cell cycle and may contribute to proliferation', *BMC Cancer*, 11(1), pp. 1–17. doi: 10.1186/1471-2407-11-203/FIGURES/4.

- Avery-Kiejda, K. A. *et al.* (2014) 'The relative mRNA expression of p53 isoforms in breast cancer is associated with clinical features and outcome', *Carcinogenesis*, 35(3), pp. 586–596. doi: 10.1093/CARCIN/BGT411.
- Barré-Sinoussi, F. and Montagutelli, X. (2015) 'Animal models are essential to biological research: issues and perspectives', *Future Science OA*, 1(4). doi: 10.4155/FSO.15.63.
- Baugh, E. H. *et al.* (2017) 'Why are there hotspot mutations in the TP53 gene in human cancers?', *Cell Death & Differentiation* 2018 25:1, 25(1), pp. 154–160. doi: 10.1038/cdd.2017.180.
- Beck, J. *et al.* (2020) 'Targeting cellular senescence in cancer and aging: roles of p53 and its isoforms', *Carcinogenesis*, 41(8), pp. 1017–1029. doi: 10.1093/CARCIN/BGAA071.
- Belyi, V. A. *et al.* (2010) 'The Origins and Evolution of the p53 Family of Genes', *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(6). doi: 10.1101/CSHPERSPECT.A001198.
- Bischof, K. *et al.* (2018) 'High expression of the p53 isoform  $\gamma$  is associated with reduced progression-free survival in uterine serous carcinoma', *BMC cancer*, 18(1). doi: 10.1186/S12885-018-4591-3.
- Bischof, K. *et al.* (2019) 'Influence of p53 Isoform Expression on Survival in High-Grade Serous Ovarian Cancers', *Scientific reports*, 9(1). doi: 10.1038/S41598-019-41706-Z.
- Boldrup, L. *et al.* (2007) 'Expression of p53 isoforms in squamous cell carcinoma of the head and neck', *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, 43(3), p. 617. doi: 10.1016/J.EJCA.2006.10.019.
- Bourdon, J. C. *et al.* (2005) 'p53 isoforms can regulate p53 transcriptional activity', *Genes & Development*, 19(18), pp. 2122–2137. doi: 10.1101/GAD.1339905.
- Bourdon, J. C. *et al.* (2011) 'P53 mutant breast cancer patients expressing p53 $\gamma$  have as good a prognosis as wild-type p53 breast cancer patients', *Breast Cancer Research*, 13(1), pp. 1–10. doi: 10.1186/BCR2811/FIGURES/2.
- Brooks, C. L. and Gu, W. (2011) 'p53 Regulation by Ubiquitin', *FEBS letters*, 585(18), p. 2803. doi: 10.1016/J.FEBSLET.2011.05.022.
- Cairns, P. (2010) 'Renal cell carcinoma', *Cancer biomarkers : section A of Disease markers*, 9(1–6), pp. 461–473. doi: 10.3233/CBM-2011-0176.

- Campbell, H. *et al.* (2018) 'Δ133p53 isoform promotes tumour invasion and metastasis via interleukin-6 activation of JAK-STAT and RhoA-ROCK signalling', *Nature Communications*, 9(1). doi: 10.1038/S41467-017-02408-0.
- Camus, S. *et al.* (2012) 'The p53 isoforms are differentially modified by Mdm2', *Cell Cycle*, 11(8), pp. 1646–1655. doi: 10.4161/CC.20119/SUPPL\_FILE/KCCY\_A\_10920119\_SM0001.ZIP.
- Candeias, M. M., Hagiwara, M. and Matsuda, M. (2016) 'Cancer-specific mutations in p53 induce the translation of Δ160p53 promoting tumorigenesis', *EMBO reports*, 17(11), pp. 1542–1551. doi: 10.15252/EMBR.201541956.
- Chambers, S. K. and Martinez, J. D. (2012) 'The significance of p53 isoform expression in serous ovarian cancer', <http://dx.doi.org/10.2217/fon.12.60>, 8(6), pp. 683–686. doi: 10.2217/FON.12.60.
- Chan, T. A. *et al.* (1999) '14-3-3σ is required to prevent mitotic catastrophe after DNA damage', *Nature* 1999 401:6753, 401(6753), pp. 616–620. doi: 10.1038/44188.
- Chen, J. *et al.* (2005) 'Loss of function of def selectively up-regulates Delta113p53 expression to arrest expansion growth of digestive organs in zebrafish', *Genes & development*, 19(23), pp. 2900–2911. doi: 10.1101/GAD.1366405.
- Choi, T. Y. *et al.* (2021) 'Zebrafish as an animal model for biomedical research', *Experimental & Molecular Medicine*, 53(3), p. 310. doi: 10.1038/S12276-021-00571-5.
- Chornokur, G. *et al.* (2013) 'Global ovarian cancer health disparities', *Gynecologic oncology*, 129(1), pp. 258–264. doi: 10.1016/J.YGYNO.2012.12.016.
- Chuikov, S. *et al.* (2004) 'Regulation of p53 activity through lysine methylation', *Nature*, 432(7015), pp. 353–360. doi: 10.1038/NATURE03117.
- Cocco, E. *et al.* (2009) 'Serum amyloid A (SAA): a novel biomarker for uterine serous papillary cancer', *British Journal of Cancer* 2009 101:2, 101(2), pp. 335–341. doi: 10.1038/sj.bjc.6605129.
- Courtois, S. *et al.* (2002) 'DeltaN-p53, a natural isoform of p53 lacking the first transactivation domain, counteracts growth suppression by wild-type p53', *Oncogene*, 21(44), pp. 6722–6728. doi: 10.1038/SJ.ONC.1205874.

- Cross, D. and Burmester, J. K. (2006) 'Gene Therapy for Cancer Treatment: Past, Present and Future', *Clinical Medicine & Research*, 4(3), pp. 218–227. doi: 10.3121/CMR.4.3.218.
- Davidson, W. R. *et al.* (2010) 'Differential regulation of p53 function by the N-terminal  $\Delta$ Np53 and  $\Delta$ 113p53 isoforms in zebrafish embryos', *BMC developmental biology*, 10. doi: 10.1186/1471-213X-10-102.
- Dewaele, M. *et al.* (2016) 'Antisense oligonucleotide-mediated MDM4 exon 6 skipping impairs tumor growth', *The Journal of Clinical Investigation*, 126(1), p. 68. doi: 10.1172/JCI82534.
- Engel, B. E., Cress, W. D. and Santiago-Cardona, P. G. (2015) 'THE RETINOBLASTOMA PROTEIN: A MASTER TUMOR SUPPRESSOR ACTS AS A LINK BETWEEN CELL CYCLE AND CELL ADHESION', *Cell health and cytoskeleton*, 7, p. 1. doi: 10.2147/CHC.S28079.
- Estey, E. and Döhner, H. (2006) 'Acute myeloid leukaemia', *Lancet (London, England)*, 368(9550), pp. 1894–1907. doi: 10.1016/S0140-6736(06)69780-8.
- Fan, Y. *et al.* (2010) 'Dual roles of Drosophila p53 in cell death and cell differentiation', *Cell death and differentiation*, 17(6), pp. 912–921. doi: 10.1038/CDD.2009.182.
- Felix, A. S. *et al.* (2010) 'Factors associated with Type I and Type II endometrial cancer', *Cancer causes & control : CCC*, 21(11), p. 1851. doi: 10.1007/S10552-010-9612-8.
- Fragou, A. *et al.* (2017) 'Increased  $\Delta$ 133p53 mRNA in lung carcinoma corresponds with reduction of p21 expression', *Molecular Medicine Reports*, 15(4), p. 1455. doi: 10.3892/MMR.2017.6162.
- Fujita, K. *et al.* (2009) 'p53 isoforms Delta133p53 and p53beta are endogenous regulators of replicative cellular senescence', *Nature cell biology*, 11(9), pp. 1135–1142. doi: 10.1038/NCB1928.
- Gadea, G. *et al.* (2016) 'TP53 drives invasion through expression of its  $\Delta$ 133p53 $\beta$  variant', *eLife*, 5(September2016). doi: 10.7554/ELIFE.14734.
- Gembarska, A. *et al.* (2012) 'MDM4 is a key therapeutic target in cutaneous melanoma', *Nature medicine*, 18(8), pp. 1239–1247. doi: 10.1038/NM.2863.
- Ghoncheh, M., Pournamdar, Z. and Salehiniya, H. (2016) 'Incidence and Mortality and

- Epidemiology of Breast Cancer in the World', *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*, 17(S3), pp. 43–46. doi: 10.7314/APJCP.2016.17.S3.43.
- Goetz, L. H. and Schork, N. J. (2018) 'Personalized Medicine: Motivation, Challenges and Progress', *Fertility and sterility*, 109(6), p. 952. doi: 10.1016/J.FERTNSTERT.2018.05.006.
- Gong, L. *et al.* (2015) 'p53 isoform  $\Delta 113p53/\Delta 133p53$  promotes DNA double-strand break repair to protect cell from death and senescence in response to DNA damage', *Cell research*, 25(3), pp. 351–369. doi: 10.1038/CR.2015.22.
- Govardhanagiri, S., Bethi, S. and Nagaraju, G. P. (2019) 'Small Molecules and Pancreatic Cancer Trials and Troubles', *Breaking Tolerance to Pancreatic Cancer Unresponsiveness to Chemotherapy*, pp. 117–131. doi: 10.1016/B978-0-12-817661-0.00008-1.
- Hafner, A. *et al.* (2019) 'The multiple mechanisms that regulate p53 activity and cell fate', *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2019 20:4, 20(4), pp. 199–210. doi: 10.1038/s41580-019-0110-x.
- Halazonetis, T. D., Gorgoulis, V. G. and Bartek, J. (2008) 'An oncogene-induced DNA damage model for cancer development', *Science (New York, N.Y.)*, 319(5868), pp. 1352–1355. doi: 10.1126/SCIENCE.1140735.
- Hanahan, D. and Weinberg, R. A. (2000) 'The hallmarks of cancer', *Cell*, 100(1), pp. 57–70. doi: 10.1016/S0092-8674(00)81683-9.
- Hanahan, D. and Weinberg, R. A. (2011) 'Hallmarks of cancer: The next generation', *Cell*, 144(5), pp. 646–674. doi: 10.1016/J.CELL.2011.02.013/ATTACHMENT/3F528E16-8B3C-4D8D-8DE5-43E0C98D8475/MMC1.PDF.
- Havens, M. A. and Hastings, M. L. (2016) 'Splice-switching antisense oligonucleotides as therapeutic drugs', *Nucleic Acids Research*, 44(14), p. 6549. doi: 10.1093/NAR/GKW533.
- Hayman, L. *et al.* (2019) 'What is the potential of p53 isoforms as a predictive biomarker in the treatment of cancer?', *Expert review of molecular diagnostics*, 19(2), pp. 149–159. doi: 10.1080/14737159.2019.1563484.
- Heistein, J. B., Acharya, U. and Mukkamalla, S. K. R. (2022) 'Malignant Melanoma', *StatPearls*. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470409/> (Accessed: 15 September 2022).

- Ho-Pun-Cheung, A. *et al.* (2009) 'Reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction: description of a RIN-based algorithm for accurate data normalization', *BMC Molecular Biology*, 10, p. 31. doi: 10.1186/1471-2199-10-31.
- Hofstetter, G. *et al.* (2011) ' $\Delta 133p53$  is an independent prognostic marker in p53 mutant advanced serous ovarian cancer', *British Journal of Cancer*, 105(10), p. 1593. doi: 10.1038/BJC.2011.433.
- Horikawa, I. *et al.* (2014) 'Autophagic degradation of the inhibitory p53 isoform  $\Delta 133p53\alpha$  as a regulatory mechanism for p53-mediated senescence', *Nature communications*, 5, p. 4706. doi: 10.1038/NCOMMS5706.
- Horikawa, I. *et al.* (2017) ' $\Delta 133p53$  represses p53-inducible senescence genes and enhances the generation of human induced pluripotent stem cells', *Cell death and differentiation*, 24(6), pp. 1017–1028. doi: 10.1038/CDD.2017.48.
- Horvat, A. *et al.* (2021) 'p53/p73 Protein Network in Colorectal Cancer and Other Human Malignancies', *Cancers*, 13(12). doi: 10.3390/CANCERS13122885.
- Hsieh, J. J. *et al.* (2018) 'Genomic classifications of renal cell carcinoma: a critical step towards the future application of personalized kidney cancer care with pan-omics precision', *The Journal of pathology*, 244(5), pp. 525–537. doi: 10.1002/PATH.5022.
- Hung, N. A. *et al.* (2016) 'Telomere profiles and tumor-associated macrophages with different immune signatures affect prognosis in glioblastoma', *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*, 29(3), pp. 212–226. doi: 10.1038/MODPATHOL.2015.156.
- Jansson, M. *et al.* (2008) 'Arginine methylation regulates the p53 response', *Nature cell biology*, 10(12), pp. 1431–1439. doi: 10.1038/NCB1802.
- Joruiz, S. M. *et al.* (2020) 'The  $\Delta 133p53$  Isoforms, Tuners of the p53 Pathway', *Cancers* 2020, Vol. 12, Page 3422, 12(11), p. 3422. doi: 10.3390/CANCERS12113422.
- Joruiz, S. M. and Bourdon, J. C. (2016) 'p53 Isoforms: Key Regulators of the Cell Fate Decision', *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 6(8). doi: 10.1101/CSHPERSPECT.A026039.
- Kalo, E. *et al.* (2007) 'Mutant p53 attenuates the SMAD-dependent transforming growth factor beta1 (TGF-beta1) signaling pathway by repressing the expression of TGF-beta



- receptor type II', *Molecular and cellular biology*, 27(23), pp. 8228–8242. doi: 10.1128/MCB.00374-07.
- Kandoth, C. *et al.* (2013) 'Mutational landscape and significance across 12 major cancer types', *Nature*, 502(7471), p. 333. doi: 10.1038/NATURE12634.
- Kazantseva, M. *et al.* (2018) 'Elevation of the TP53 isoform  $\Delta 133p53\beta$  in glioblastomas: an alternative to mutant p53 in promoting tumor development', *The Journal of Pathology*, 246(1), p. 77. doi: 10.1002/PATH.5111.
- Khoury, M. P. *et al.* (2013) 'Detecting and quantifying p53 isoforms at mRNA level in cell lines and tissues', *Methods in Molecular Biology*, 962, pp. 1–14. doi: 10.1007/978-1-62703-236-0\_1/TABLES/2.
- Khoury, M. P. and Bourdon, J. C. (2010) 'The Isoforms of the p53 Protein', *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(3). doi: 10.1101/CSHPERSPECT.A000927.
- Khoury, M. P. and Bourdon, J. C. (2011) 'p53 Isoforms: An Intracellular Microprocessor?', *Genes & cancer*, 2(4), pp. 453–465. doi: 10.1177/1947601911408893.
- Kim, S. and An, S. S. A. (2016) 'Role of p53 isoforms and aggregations in cancer', *Medicine*, 95(26). doi: 10.1097/MD.0000000000003993.
- Kirubarajan, A., Norris, E. and Oliveria, J.-P. (2017) 'It's In Your Genes: Recent Considerations in Germline versus Somatic Gene Therapy', *Health Science Inquiry*, 8(1), pp. 47-Page 49. doi: 10.29173/HSI238.
- Knezović Florijan, M. *et al.* (2019) 'The role of p53 isoforms' expression and p53 mutation status in renal cell cancer prognosis', *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, 37(9), pp. 578.e1-578.e10. doi: 10.1016/J.UROLONC.2019.03.007.
- Ladomery, M. (2013) 'Aberrant alternative splicing is another hallmark of cancer', *International journal of cell biology*, 2013. doi: 10.1155/2013/463786.
- Lamb, P. and Crawford, L. (1986) 'Characterization of the human p53 gene.', *Molecular and Cellular Biology*, 6(5), p. 1379. doi: 10.1128/MCB.6.5.1379.
- Lane, D. P. and Crawford, L. V. (1979) 'T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells', *Nature*, 278(5701), pp. 261–263. doi: 10.1038/278261a0.
- Lee, J. T. and Gu, W. (2010) 'The multiple levels of regulation by p53 ubiquitination', *Cell*

*death and differentiation*, 17(1), pp. 86–92. doi: 10.1038/CDD.2009.77.

Van der Leun, A. M., Thommen, D. S. and Schumacher, T. N. (2020) ‘CD8+ T cell states in human cancer: insights from single-cell analysis’, *Nature reviews. Cancer*, 20(4), p. 218. doi: 10.1038/S41568-019-0235-4.

Levine, A. J. and Oren, M. (2009) ‘The first 30 years of p53: growing ever more complex’, *Nature Reviews Cancer* 2009 9:10, 9(10), pp. 749–758. doi: 10.1038/nrc2723.

Li, W. *et al.* (2006) ‘The role of cell cycle regulatory proteins in the pathogenesis of melanoma’, *Pathology*, 38(4), pp. 287–301. doi: 10.1080/00313020600817951.

Li, X. L. *et al.* (2015) ‘p53 mutations in colorectal cancer- molecular pathogenesis and pharmacological reactivation’, *World Journal of Gastroenterology : WJG*, 21(1), p. 84. doi: 10.3748/WJG.V21.I1.84.

Lin, W. S. *et al.* (2014) ‘Caffeine induces tumor cytotoxicity via the regulation of alternative splicing in subsets of cancer-associated genes’, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 47(1), pp. 83–92. doi: 10.1016/J.BIOCEL.2013.12.004.

Linzer, D. I. H. and Levine, A. J. (1979) ‘Characterization of a 54K dalton cellular SV40 tumor antigen present in SV40-transformed cells and uninfected embryonal carcinoma cells’, *Cell*, 17(1), pp. 43–52. doi: 10.1016/0092-8674(79)90293-9.

Lippman, S. M. and Hawk, E. T. (2009) ‘Cancer prevention: From 1727 to milestones of the past 100 years’, *Cancer Research*, 69(13), pp. 5269–5284. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-1750/655401/P/CANCER-PREVENTION-FROM-1727-TO-MILESTONES-OF-THE.

Liu, Y., Leslie, P. L. and Zhang, Y. (2021) ‘Life-and-Death Decision-Making by p53 and Implications in Cancer Immunotherapy’, *Trends in cancer*, 7(3), p. 226. doi: 10.1016/J.TRECAN.2020.10.005.

Loaiza, N. and Demaria, M. (2016) ‘Cellular senescence and tumor promotion: Is aging the key?’, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, 1865(2), pp. 155–167. doi: 10.1016/J.BBCAN.2016.01.007.

Lobo, F. and Thomas, E. (2016) ‘Type II endometrial cancers: A case series’, *Journal of Mid-Life Health*, 7(2), p. 69. doi: 10.4103/0976-7800.185335.

Lubin, D. J., Butler, J. S. and Loh, S. N. (2010) ‘Folding of Tetrameric p53: Oligomerization

and Tumorigenic Mutations Induce Misfolding and Loss of Function’, *Journal of Molecular Biology*, 395(4), pp. 705–716. doi: 10.1016/J.JMB.2009.11.013.

Marcel, V. *et al.* (2009) ‘TP53 PIN3 and MDM2 SNP309 polymorphisms as genetic modifiers in the Li–Fraumeni syndrome: impact on age at first diagnosis’, *Journal of Medical Genetics*, 46(11), pp. 766–772. doi: 10.1136/JMG.2009.066704.

Marcel, V. *et al.* (2010) ‘ $\Delta$ 160p53 is a novel N-terminal p53 isoform encoded by  $\Delta$ 133p53 transcript’, *FEBS Letters*, 584(21), pp. 4463–4468. doi: 10.1016/J.FEBSLET.2010.10.005.

Marcel, V. *et al.* (2011) ‘Biological functions of p53 isoforms through evolution: lessons from animal and cellular models’, *Cell Death & Differentiation 2011 18:12*, 18(12), pp. 1815–1824. doi: 10.1038/cdd.2011.120.

Marcel, V. *et al.* (2012) ‘Diverse p63 and p73 isoforms regulate  $\Delta$ 133p53 expression through modulation of the internal TP53 promoter activity’, *Cell Death and Differentiation*, 19(5), p. 816. doi: 10.1038/CDD.2011.152.

Marcel, V. *et al.* (2014) ‘Modulation of p53 $\beta$  and p53 $\gamma$  expression by regulating the alternative splicing of TP53 gene modifies cellular response’, *Cell Death and Differentiation*, 21(9), p. 1377. doi: 10.1038/CDD.2014.73.

McBride, O. W., Merry, D. and Givol, D. (1986) ‘The gene for human p53 cellular tumor antigen is located on chromosome 17 short arm (17p13).’, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 83(1), p. 130. doi: 10.1073/PNAS.83.1.130.

Mehta, S. *et al.* (2021) ‘Adaptive homeostasis and the p53 isoform network’, *EMBO reports*, 22(12). doi: 10.15252/EMBR.202153085.

Melero, J. A. *et al.* (1979) ‘Identification of new polypeptide species (48–55K) immunoprecipitable by antiserum to purified large T antigen and present in SV40-infected and -transformed cells’, *Virology*, 93(2), pp. 466–480. doi: 10.1016/0042-6822(79)90250-2.

Miao, L. *et al.* (2021) ‘Obstacles and Coping Strategies of CAR-T Cell Immunotherapy in Solid Tumors’, *Frontiers in immunology*, 12. doi: 10.3389/FIMMU.2021.687822.

Michaeli, O. and Malkin, D. (2022) ‘Li-Fraumeni Syndrome’, *Encyclopedia of Cancer*, pp. 356–368. doi: 10.1016/B978-0-12-801238-3.96122-1.

- Mishra, A. and Verma, M. (2010) 'Cancer Biomarkers: Are We Ready for the Prime Time?', *Cancers*, 2(1), p. 190. doi: 10.3390/CANCERS2010190.
- Moasser, M. M. (2007) 'The oncogene HER2; Its signaling and transforming functions and its role in human cancer pathogenesis', *Oncogene*, 26(45), p. 6469. doi: 10.1038/SJ.ONC.1210477.
- Momenimovahed, Z. *et al.* (2019) 'Ovarian cancer in the world: epidemiology and risk factors', *International Journal of Women's Health*, 11, p. 287. doi: 10.2147/IJWH.S197604.
- Monaco, G. *et al.* (2015) 'A comparison of human and mouse gene co-expression networks reveals conservation and divergence at the tissue, pathway and disease levels', *BMC Evolutionary Biology*, 15(1). doi: 10.1186/S12862-015-0534-7.
- Mondal, A. M. *et al.* (2013) 'p53 isoforms regulate aging- and tumor-associated replicative senescence in T lymphocytes', *The Journal of Clinical Investigation*, 123(12), pp. 5247–5257. doi: 10.1172/JCI70355.
- Moore, H. C. *et al.* (2010) 'The RNA helicase p68 modulates expression and function of the  $\Delta 133$  isoform(s) of p53, and is inversely associated with  $\Delta 133$ p53 expression in breast cancer', *Oncogene*, 29(49), p. 6475. doi: 10.1038/ONC.2010.381.
- Von Muhlinen, N. *et al.* (2018) 'p53 isoforms regulate premature aging in human cells', *Oncogene*, 37(18), pp. 2379–2393. doi: 10.1038/S41388-017-0101-3.
- Murray-Zmijewski, F., Lane, D. P. and Bourdon, J. C. (2006) 'p53/p63/p73 isoforms: an orchestra of isoforms to harmonise cell differentiation and response to stress', *Cell Death & Differentiation* 2006 13:6, 13(6), pp. 962–972. doi: 10.1038/sj.cdd.4401914.
- Nawrocki, S., Wysocki, P. J. and Mackiewicz, A. (2001) 'Expert Opinion on Biological Therapy Genetically modified tumour vaccines: an obstacle race to break host tolerance to cancer Genetically modified tumour vaccines: an obstacle race to break host tolerance to cancer', *Exp. Opin. Biol. Ther*, 1(2), pp. 193–204. doi: 10.1517/14712598.1.2.193.
- Nelson, P. N. *et al.* (2000) 'Demystified ...: Monoclonal antibodies', *Molecular Pathology*, 53(3), p. 111. doi: 10.1136/MP.53.3.111.
- Nutthasirikul, N. *et al.* (2013) 'Ratio disruption of the  $\Delta 133$ p53 and TAp53 isoform equilibrium correlates with poor clinical outcome in intrahepatic cholangiocarcinoma', *International Journal of Oncology*, 42(4), pp. 1181–1188. doi:

10.3892/IJO.2013.1818/HTML.

Ohki, R. *et al.* (2000) 'Reprimo, a new candidate mediator of the p53-mediated cell cycle arrest at the G2 phase', *Journal of Biological Chemistry*, 275(30), pp. 22627–22630. doi: 10.1074/jbc.C000235200.

Ohki, R. *et al.* (2007) 'Dissecting functional roles of p53 N-terminal transactivation domains by microarray expression analysis', *Cancer science*, 98(2), pp. 189–200. doi: 10.1111/J.1349-7006.2006.00375.X.

Oren, M. and Rotter, V. (2010) 'Mutant p53 Gain-of-Function in Cancer', *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(2). doi: 10.1101/CSHPERSPECT.A001107.

Ozretić, P. *et al.* (2019) 'Expression profiles of p53/p73, NME and GLI families in metastatic melanoma tissue and cell lines', *Scientific reports*, 9(1). doi: 10.1038/S41598-019-48882-Y.

Patel, A. (2020) 'Benign vs Malignant Tumors', *JAMA Oncology*, 6(9), pp. 1488–1488. doi: 10.1001/JAMAONCOL.2020.2592.

Pehar, M. *et al.* (2010) 'Altered longevity-assurance activity of p53:p44 in the mouse causes memory loss, neurodegeneration and premature death', *Aging cell*, 9(2), pp. 174–190. doi: 10.1111/J.1474-9726.2010.00547.X.

Prendergast, G. C. (2001) 'Actin' up: RhoB in cancer and apoptosis', *Nature Reviews Cancer* 2001 1:2, 1(2), pp. 162–168. doi: 10.1038/35101096.

Prusiner, S. B. (1998) 'Prions', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(23), pp. 13363–13383. doi: 10.1073/PNAS.95.23.13363.

Ray, P. S., Grover, R. and Das, S. (2006) 'Two internal ribosome entry sites mediate the translation of p53 isoforms', *EMBO Reports*, 7(4), p. 404. doi: 10.1038/SJ.EMBOR.7400623.

Rotter, V. *et al.* (1980) 'Abelson murine leukemia virus-induced tumors elicit antibodies against a host cell protein, P50', *Journal of virology*, 36(2), pp. 547–555. doi: 10.1128/JVI.36.2.547-555.1980.

Ruigrok, M. J. R. *et al.* (2018) 'siRNA-mediated protein knockdown in precision-cut lung slices', *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V*, 133, pp. 339–348. doi: 10.1016/J.EJPB.2018.11.005.

- Rutkowski, R., Hofmann, K. and Gartner, A. (2010) 'Phylogeny and function of the invertebrate p53 superfamily', *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2(7). doi: 10.1101/CSHPERSPECT.A001131.
- Sabapathy, K. and Lane, D. P. (2019) 'Understanding p53 functions through p53 antibodies', *Journal of Molecular Cell Biology*, 11(4), p. 317. doi: 10.1093/JMCB/MJZ010.
- Sakaguchi, K. *et al.* (1997) 'Phosphorylation of serine 392 stabilizes the tetramer formation of tumor suppressor protein p53', *Biochemistry*, 36(33), pp. 10117–10124. doi: 10.1021/BI970759W.
- Dos Santos, N. M. *et al.* (2019) 'Loss of the p53 transactivation domain results in high amyloid aggregation of the  $\Delta$ 40p53 isoform in endometrial carcinoma cells', *The Journal of Biological Chemistry*, 294(24), p. 9430. doi: 10.1074/JBC.RA119.007566.
- Schlüter, H. *et al.* (2009) 'Finding one's way in proteomics: a protein species nomenclature', *Chemistry Central Journal*, 3(1), p. 11. doi: 10.1186/1752-153X-3-11.
- Schneider, K. *et al.* (2019) 'Li-Fraumeni Syndrome', *GeneReviews*(®). Edited by M. Adam *et al.* Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1311/> (Accessed: 19 September 2022).
- Senga, S. S. and Grose, R. P. (2021) 'Hallmarks of cancer—the new testament', *Open Biology*, 11(1). doi: 10.1098/RSOB.200358.
- Sharpless, N. E. and Sherr, C. J. (2015) 'Forging a signature of in vivo senescence', *Nature Reviews Cancer* 2015 15:7, 15(7), pp. 397–408. doi: 10.1038/nrc3960.
- Shi, X. *et al.* (2007) 'Modulation of p53 function by SET8-mediated methylation at lysine 382', *Molecular cell*, 27(4), p. 636. doi: 10.1016/J.MOLCEL.2007.07.012.
- Silva, J. L. *et al.* (2014) 'Prion-like aggregation of mutant p53 in cancer', *Trends in biochemical sciences*, 39(6), pp. 260–267. doi: 10.1016/J.TIBS.2014.04.001.
- Slatter, T. L. *et al.* (2011) 'Hyperproliferation, cancer, and inflammation in mice expressing a  $\Delta$ 133p53-like isoform', *Blood*, 117(19), pp. 5166–5177. doi: 10.1182/BLOOD-2010-11-321851.
- Smeenk, L. *et al.* (2011) 'Role of p53 serine 46 in p53 target gene regulation', *PloS one*, 6(3). doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0017574.

- Solomon, H. *et al.* (2017) 'Post-translational regulation of p53 function through 20S proteasome-mediated cleavage', *Cell death and differentiation*, 24(12), pp. 2187–2198. doi: 10.1038/CDD.2017.139.
- Song, W. *et al.* (2009) 'Expression of p53 isoforms in renal cell carcinoma', *Chinese Medical Journal*, 122(8), pp. 921–926. doi: 10.3760/CMA.J.ISSN.0366-6999.2009.08.008.
- Spielmann, M. and Mundlos, S. (2016) 'Looking beyond the genes: the role of non-coding variants in human disease', *Human Molecular Genetics*, 25(R2), pp. R157–R165. doi: 10.1093/HMG/DDW205.
- Sripa, B. and Pairojkul, C. (2008) 'Cholangiocarcinoma: Lessons from Thailand', *Current Opinion in Gastroenterology*, 24(3), pp. 349–356. doi: 10.1097/MOG.0B013E3282FBF9B3.
- Sun, L., Lutz, B. M. and Tao, Y.-X. (2016) 'The CRISPR/Cas9 system for gene editing and its potential application in pain research', *Translational perioperative and pain medicine*, 1(3), p. 22. doi: 10.31480/2330-4871/040.
- Sung, H. *et al.* (2021) 'Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries', *CA: a cancer journal for clinicians*, 71(3), pp. 209–249. doi: 10.3322/CAAC.21660.
- Tadijan, A. *et al.* (2021) 'Altered Expression of Shorter p53 Family Isoforms Can Impact Melanoma Aggressiveness', *Cancers*, 13, p. 5231. doi: 10.3390/cancers13205231.
- Takahashi, R., Markovic, S. N. and Scrable, H. J. (2014) 'Dominant Effects of  $\Delta 40p53$  on p53 Function and Melanoma Cell Fate', *Journal of Investigative Dermatology*, 134(3), pp. 791–800. doi: 10.1038/JID.2013.391.
- Tan, E. P., Duncan, F. E. and Slawson, C. (2017) 'The sweet side of the cell cycle', *Biochemical Society transactions*, 45(2), p. 313. doi: 10.1042/BST20160145.
- Tanaka, H. *et al.* (2000) 'A ribonucleotide reductase gene involved in a p53-dependent cell-cycle checkpoint for DNA damage', *Nature* 2000 404:6773, 404(6773), pp. 42–49. doi: 10.1038/35003506.
- Tang, Y. *et al.* (2013) 'Downregulation of splicing factor SRSF3 induces p53 $\beta$ , an alternatively spliced isoform of p53 that promotes cellular senescence', *Oncogene*, 32(22), p. 2792. doi: 10.1038/ONC.2012.288.

- Ugur, B., Chen, K. and Bellen, H. J. (2016) 'Drosophila tools and assays for the study of human diseases', *Disease Models & Mechanisms*, 9(3), pp. 235–244. doi: 10.1242/DMM.023762.
- Ungewitter, E. and Scrable, H. (2010) ' $\Delta 40p53$  controls the switch from pluripotency to differentiation by regulating IGF signaling in ESCs', *Genes & Development*, 24(21), p. 2408. doi: 10.1101/GAD.1987810.
- Vieler, M. and Sanyal, S. (2018) 'p53 Isoforms and Their Implications in Cancer', *Cancers*, 10(9). doi: 10.3390/CANCERS10090288.
- Vogelstein, B., Lane, D. and Levine, A. J. (2000) 'Surfing the p53 network', *Nature* 2000 408:6810, 408(6810), pp. 307–310. doi: 10.1038/35042675.
- Waskar, M. *et al.* (2009) '*Drosophila melanogaster* p53 has developmental stage-specific and sex-specific effects on adult life span indicative of sexual antagonistic pleiotropy', *Aging*, 1(11), pp. 903–936. doi: 10.18632/AGING.100099.
- Weinberg, R. A. (2008) 'Oncogenes and tumor suppressor genes', *CA: a cancer journal for clinicians*, 10(3). doi: 10.19080/CTOIJ.2018.10.555790.
- Wherry, E. J. (2011) 'T cell exhaustion', *Nature immunology*, 12(6), pp. 492–499. doi: 10.1038/NI.2035.
- Yang, J. *et al.* (2021) 'The Paradoxical Role of Cellular Senescence in Cancer', *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, p. 2200. doi: 10.3389/FCELL.2021.722205/BIBTEX.
- Yin, Y. *et al.* (2002) 'p53 stability and activity is regulated by Mdm2-mediated induction of alternative p53 translation products', *Nature Cell Biology* 2002 4:6, 4(6), pp. 462–467. doi: 10.1038/ncb801.
- Young, R. M. *et al.* (2022) 'Next-Generation CAR T-cell Therapies', *Cancer discovery*, 12(7), pp. 1625–1633. doi: 10.1158/2159-8290.CD-21-1683.
- Zhang, F. and Sriram, S. (2009) 'Identification and characterization of the interferon- $\beta$ -mediated p53 signal pathway in human peripheral blood mononuclear cells', *Immunology*, 128(1pt2), pp. e905–e918. doi: 10.1111/J.1365-2567.2009.03104.X.
- Zhang, H. *et al.* (2018) 'p53 $\beta$ : a new prognostic marker for patients with clear-cell renal cell carcinoma from 5.3 years of median follow-up', *Carcinogenesis*, 39(3), pp. 368–374. doi:



10.1093/CARCIN/BGY001.

Zhang, Q. *et al.* (2020) 'CRISPR-Cas9 gene editing causes alternative splicing of the targeting mRNA', *Biochemical and biophysical research communications*, 528(1), p. 54. doi: 10.1016/J.BBRC.2020.04.145.

Zhang, X. *et al.* (2022) 'Effect of p53 and its N-terminally truncated isoform,  $\Delta 40p53$ , on breast cancer migration and invasion', *Molecular Oncology*, 16(2), p. 447. doi: 10.1002/1878-0261.13118.

Zhao, L. and Sanyal, S. (2022) 'p53 Isoforms as Cancer Biomarkers and Therapeutic Targets', *Cancers 2022, Vol. 14, Page 3145*, 14(13), p. 3145. doi: 10.3390/CANCERS14133145.

Zhu, J. *et al.* (1998) 'Identification of a novel p53 functional domain that is necessary for mediating apoptosis', *The Journal of biological chemistry*, 273(21), pp. 13030–13036. doi: 10.1074/JBC.273.21.13030.