

# p53 e as hemopatias malignas

## *p53 and hematological malignancies*

Geraldo Barroso Cavalcanti Júnior,<sup>1</sup> Claudete Esteves Klumb<sup>2</sup> e Raquel C Maia<sup>3</sup>

### Resumo

p53 é um gene supressor tumoral, que codifica uma fosfoproteína nuclear que desempenha um papel importante no controle do ciclo celular, no reparo do DNA e na indução da apoptose. Em condições de *stress*, particularmente por indução de dano no DNA, a proteína p53 bloqueia o ciclo celular, permitindo dessa forma o reparo do DNA ou promovendo a apoptose. Estas funções são efetuadas pela capacidade transcricional da proteína p53 que ativa uma série de genes envolvidos na regulação do ciclo celular. A forma mutada da p53 é incapaz de controlar a proliferação celular, resultando em reparo ineficiente do DNA e na emergência de células geneticamente instáveis. As alterações mais comuns nas neoplasias são mutações pontuais dentro das seqüências codificantes deste gene. Nas hemopatias malignas, estas mutações, freqüentemente do tipo pontuais, têm sido observadas com menor ocorrência do que em tumores sólidos. Nas neoplasias hematológicas estas alterações são mais observadas na crise blástica da leucemia mielóide crônica, progressão da síndrome mielodisplásica para leucemia mielóide aguda, na transformação do linfoma folicular para linfoma de alto grau, na evolução da leucemia linfóide crônica para síndrome de Richter e recorrência de leucemias agudas. Esta revisão tem como objetivo avaliar as alterações do gene p53 nas hemopatias malignas e discutir o significado clínico destas alterações genéticas na patogenia e prognóstico nessas neoplasias.

**Palavras-chave:** gene p53; hemopatias malignas; mutação.

---

<sup>1</sup>Professor assistente do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (DACT/UFRN). Doutorando do Laboratório de Hematologia Celular e Molecular do Serviço de Hematologia do Hospital do Câncer I / INCA-RJ.

<sup>2</sup>Médica hematologista do Serviço de Hematologia do Hospital do Câncer I / INCA-RJ. Doutoranda do laboratório de Hematologia Celular e Molecular do Serviço de Hematologia do Hospital do Câncer-I / INCA-RJ.

<sup>3</sup>Médica hematologista do Serviço de Hematologia do Hospital do Câncer I / Coordenadora do Laboratório de Hematologia Celular e Molecular do Serviço de Hematologia do Hospital do Câncer-I / INCA-RJ. *Enviar correspondência para R.C.M. E-mail: rcmaia@inca.org.br*

*Recebido em julho de 2002.*

## Abstract

*p53 is a tumor-suppressor gene encoding a nuclear phosphoprotein that plays an important role in the control of normal cell proliferation, repair of DNA damage and apoptosis. Upon cellular stress, particularly the one induced by DNA damage, p53 protein can arrest cell cycle progression, thus allowing the DNA to be repaired; or it can lead to apoptosis. These functions are achieved by the transcriptional properties of p53, which activates a group of genes involved in cell cycle regulation. Mutant p53 is no longer able to control cell proliferation, resulting in inefficient DNA repair and emergence the genetically unstable cells. The most common changes of p53 cancers are point mutations within the coding sequences of this gene. In hematological malignancies, mutations of p53 gene or inactivation and stabilization of p53 protein are less common than in solid tumor, and usually consist in missense mutations. In hematological malignancies, these alterations are more observed in the evolution from the chronic phase to blast crisis of chronic myeloid leukemia, from myelodysplastic to acute myeloid leukemia, from follicular to high-grade lymphoma, from chronic lymphoid leukemia to high-grade Richter's syndrome, and from relapsed of acute leukemias. The objective of this review is to characterize the p53 abnormalities in hematological malignancies and discuss the clinical significance of these genetic alterations in the pathogenesis and prognosis. **Key words:** p53 genes; hematological malignancies; mutation.*

## INTRODUÇÃO

A carcinogênese pode ser compreendida como um processo complexo no qual se encontram envolvidos muitos genes, particularmente os que regulam a estabilidade e o reparo do DNA, crescimento celular, imunidade e quimio-resistência às drogas. Um grupo de genes envolvidos nesse processo são aqueles denominados genes supressores tumorais, os quais parecem agir normalmente, como reguladores da proliferação celular. Fazendo parte desse grupo, destaca-se o gene p53 cuja mutação ou inativação está implicada no surgimento do câncer, por levar a um aumento de uma população celular com maior instabilidade genética.<sup>1,2</sup>

Mutações do gene p53 são consideradas as alterações genéticas mais frequentes nos tumores malignos humanos, ocorrendo em cerca de 60% das neoplasias. Nas hemopatias malignas essas alterações são observadas com menor frequência que em tumores sólidos estando, porém diretamente relacionadas com aqueles casos que apresentam evolução clínica desfavorável.

## ESTRUTURA E FUNÇÃO DO GENE SUPRESSOR TUMORAL p53 E SEU PRODUTO PROTÉICO

O gene supressor tumoral p53 encontra-se situado no braço curto do cromossomo 17 (região p13.1), tendo como seu produto de transcrição uma proteína nuclear de 53 kilodaltons (kD), denominada proteína 53 (p53).<sup>2-8</sup> Este gene é altamente conservado, apresentando homologia estrutural entre as espécies tais como o *Xenopus laevis*, galinha e camundongo. No homem, o gene apresenta peso molecular de 20 Kb, sendo constituído por 11 exons. As regiões situadas entre os exons 5 e 9 são denominadas de sítios quentes de mutação (Figura 1).<sup>2-8</sup>

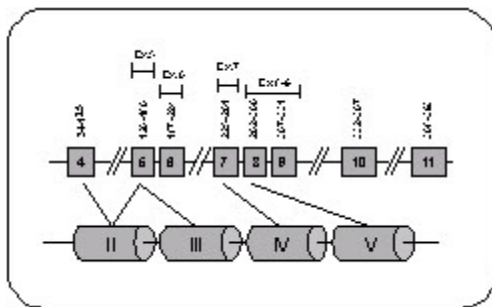
A proteína p53 por sua vez, é uma fosfoproteína nuclear constituída por 375 aminoácidos. A forma funcionalmente ativa (selvagem ou *wild type*), apresenta uma estrutura molecular tetramérica, ou seja, com quatro subunidades básicas idênticas que se juntam, constituindo a forma funcionalmente ativa da molécula.<sup>1,4-7</sup> Cada unidade básica da proteína p53 é formada por quatro domínios que representam unidades

funcionais distintas: a) o primeiro segmento (região amino terminal) é composto por 80 aminoácidos, estando relacionado com a capacidade de transativação de outros genes; b) o segundo domínio (localizado entre os aminoácidos 100 e 300) representa a parte central, sendo responsável pela capacidade de ligação com a molécula de DNA; c) na porção carboxi-terminal, localizam-se os sítios de dimerização e, d) a região de tetramerização das quatro unidades básicas da molécula p53 (Figura 2).<sup>5-13</sup>

A proteína p53 foi descrita pela primeira vez em 1979 como uma fosfoproteína nuclear, formando um complexo com o antígeno T do vírus símio 40 (SV-40), sendo inicialmente referida como proteína oncogênica e em 1989 como gene supressor tumoral.<sup>1,4,9,13</sup>

Quando uma célula apresenta um alelo do gene p53 normal e outro mutado, a função da proteína p53 fica comprometida, visto que a maioria dos tetrâmeros da molécula apresentará pelo menos uma das subunidades alterada, como por exemplo, a troca de um aminoácido.<sup>2</sup> A forma ativa da proteína p53 tem vida média muito curta (em torno de 6 minutos), devido a sua rápida degradação, o que torna extremamente difícil a sua detecção. Ao contrário, as formas mutadas ou inativas tendem a acumular-se no núcleo das células, podendo ser facilmente detectadas por métodos imunológicos como a imunocitoquímica, imuno-histoquímica, Western blot ou citometria de fluxo.<sup>3,11-13</sup>

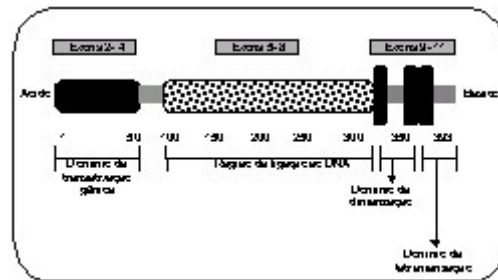
Figura 1. Representação esquemática do gene p53.



O gene p53 é constituído por 11 exons. Nas regiões compreendidas entre os exons 5 e 9 situam-se 90% das mutações observadas nas neoplasias.

Adaptado de: Ichikawa A et al. *Blood* 1992;79(10):2701-2707.

Figura 2. Representação esquemática estrutural e funcional da proteína p53.



a) O domínio de transativação genética (aminoácidos 1 a 100); b) a região central, que representa os sítios de ligação da proteína com o DNA (aminoácidos 91 a 301); c) e d) as regiões de dimerização e tetramerização da proteína, respectivamente.

Adaptado de: Prokocimer M. and Rotter V. *Blood* 1994;84(8):2391-2411.

O termo "guardião do genoma" atribuído à proteína p53 é decorrente da sua função como "policia molecular", monitorando a integridade do genoma e impedindo a proliferação de células com DNA mutado.<sup>14-20</sup> No caso de lesão no DNA por agentes físicos tais como radiação ultravioleta, raios gama ou ainda, por produtos químicos mutagênicos, o gene p53 é ativado, levando à transcrição da proteína p53. O acúmulo dessa proteína no núcleo da célula inibe o ciclo mitótico no início da fase G1 e ativa a transcrição de genes de reparo do DNA, impedindo desta forma a propagação do erro genético para as células filhas. No entanto, se o reparo do DNA não for efetuado de forma satisfatória, a proteína p53 dispara o mecanismo de morte celular programada denominado apoptose.<sup>12,13,16-20</sup> A capacidade regulatória da transcrição de genes envolvidos na apoptose pode resultar na ativação do gene bax cujo produto de transcrição, a proteína bax, irá inibir a ação antiapoptótica do gene bcl-2.<sup>1,4,5,9,10,16-21</sup>

No início do ciclo mitótico, o gene p53 ativa transcricionalmente o gene p21, induzindo a síntese da proteína 21 (p21), cuja função é inibir a ação das quinases dependentes de ciclina (CDKs), fazendo com que as células parem na fase G1 do ciclo celular, até que se complete o reparo do DNA. Para tanto, a proteína p53 ativa o gene *Growth Arrest DNA Damage Inducible* (GADD-45) que atua corrigindo a lesão no DNA. Quando o reparo do DNA é

finalizado, a proteína p53 é então degradada pela ação da proteína MDM-2, produto do gene *mouse double minute 2* (*mdm-2*) (Figura 3).<sup>16-21</sup> Nas células que apresentam o gene p53 mutado e inativação da proteína p53, não ocorre a parada do ciclo celular necessária para o reparo do DNA. Essas células, geneticamente instáveis, tendem a acumular mutações e rearranjos cromossômicos adicionais, levando a uma rápida proliferação de clones de células com DNA mutado e transformação neoplásica (Figura 4).<sup>20-26</sup>

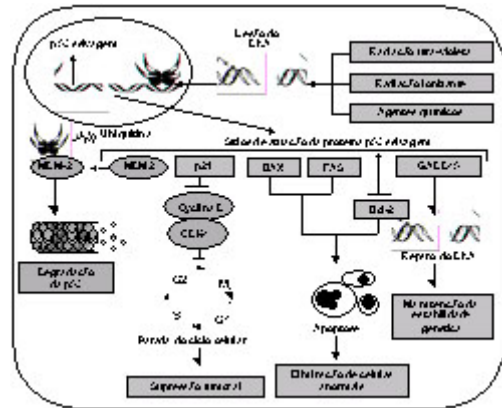
A perda da função da proteína p53 pode ocorrer nas seguintes situações: a) por alteração genética; b) interação da proteína p53 com proteínas virais, c) interação da proteína p53 com outras proteínas regulatórias do ciclo celular, como a proteína MDM-2.<sup>5,21-24</sup> As alterações genéticas podem ser: mutação pontual (*missense*), deleção gênica (*non sense*) de um ou dois alelos do gene p53 e inserção de nucleotídeos na seqüência de DNA.<sup>24</sup> Mutação pontual é a troca de um nucleotídeo e é o tipo de mutação do gene p53 mais frequentemente encontrado nas neoplasias. Essas mutações ocorrem principalmente entre os codons 120 e 290, situados entre os exons 5 e 9 e resulta com freqüência na transcrição de uma proteína não funcional. A mutação do tipo non sense, por sua vez, pode levar a transcrição de uma proteína truncada e também não funcional.<sup>24</sup> Dentre os métodos de detecção dessas alterações, o mais utilizado é a análise do polimorfismo de conformação de fita simples ou *single-stranded conformational polymorphism analysis* (SSCP).<sup>3,4,8,15,16</sup>

Uma mutação no gene p53 seja pontual ou não, altera de forma significativa a proteína p53, o que resulta na incapacidade de efetuar a parada do ciclo celular ou disparar o mecanismo de apoptose. As formas mutadas da proteína apresentam ainda a capacidade de interagir com a proteína selvagem, impedindo a supressão tumoral, sendo este fenômeno conhecido como "efeito dominante negativo", visto que a mutação de um dos alelos do gene p53 produz o que parece ser um efeito dominante sobre o alelo normal restante.<sup>1-3,29</sup>

O antígeno SV-40, a proteína E1B do

adenovírus, a proteína TAX do vírus linfotrópico de células T humano do tipo 1 (HTLV-I) e EBNA5 do vírus Epstein Barr (EBV) quando interagem com a proteína p53 levam a inativação ou estabilização, ao passo que a interação do antígeno E6 do vírus HPV degrada a proteína p53. Esses mecanismos estão provavelmente relacionados à patogênese dessas neoplasias.<sup>5,21-24,30</sup>

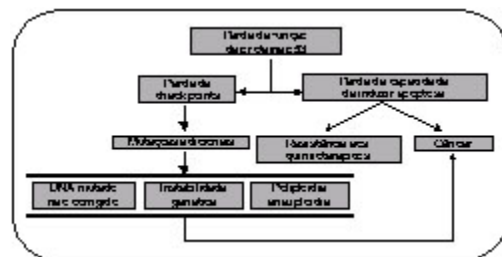
Figura 3. Ação da proteína p53 na supressão tumoral.



Mediante uma situação de stress que determine lesão no DNA, ocorre a superexpressão da proteína p53 selvagem que atua em alvos específicos e por mecanismos de transativação gênica ativa outros genes determinando a parada do ciclo celular no início da fase G1 e o reparo do DNA. Caso a lesão no DNA seja extensa, a p53 ativa genes envolvidos no mecanismo de apoptose, suprimindo a ação de genes com ação anti apoptótica. No final do processo, a proteína p53 é degradada pela ação da proteína MDM-2.

Adaptado de: Bullock AN, and Feisht AR. Nature Rev Cancer 2001;1:68-75.

Figura 4. Modelo sugerido para a perda da atividade da proteína p53 culminando com o surgimento de células com instabilidade genética.



Com a perda da atividade da proteína p53, ocorre a incapacidade das células de efetuar a parada do ciclo celular necessária ao reparo de DNA e a indução da apoptose nas células geneticamente instáveis. Ocorre então a proliferação de clones de células com instabilidade genética e transformação neoplásica.

Adaptado de: El-Deiry WS. Am Soc Clin Oncol (ASCO) / 32º ND annual meeting, may 18-21, 1996;112-118.

## p53 E AS HEMOPATIAS MALIGNAS

As mutações do gene p53 são consideradas as alterações genéticas mais freqüentes nos tumores malignos humanos, ocorrendo em cerca de 60% das neoplasias.<sup>1,26-28</sup> Nas hemopatias malignas, mutações do gene p53 são observadas com menor freqüência que em outras neoplasias, predominando em doenças com o curso clínico desfavorável (Tabela 1, Figura 5).<sup>26-31</sup> Nessas doenças, tem sido observada em muitos casos a associação entre a mutação do gene p53 e a superexpressão da proteína p53 no núcleo das células.<sup>34-36</sup> Também têm sido detectadas alterações cromossômicas tais como translocações, deleções e inversões envolvendo principalmente o cromossomo 17, além de poliploidias, aneuploidias, e a superexpressão de proteínas de outros oncogenes como c-myc e bcl-2.<sup>27-31</sup>

Na rara Síndrome de Li Fraumeni, existe uma predisposição hereditária ao câncer, incluindo vários tipos de neoplasias malignas, tais como leucemias agudas, sarcomas em crianças e adultos jovens e câncer de mama em mulheres jovens. Nos indivíduos acometidos por esta síndrome, foi demonstrado que os pais possuíam em suas células germinativas o gene p53 mutado. Os pacientes afetados apresentam mutação do gene p53 em um dos alelos demonstrando desta forma a ação desse gene na patogênese desta síndrome.<sup>29-31</sup>

Tabela 1. Mutação do gene p53 e características das hemopatias malignas.

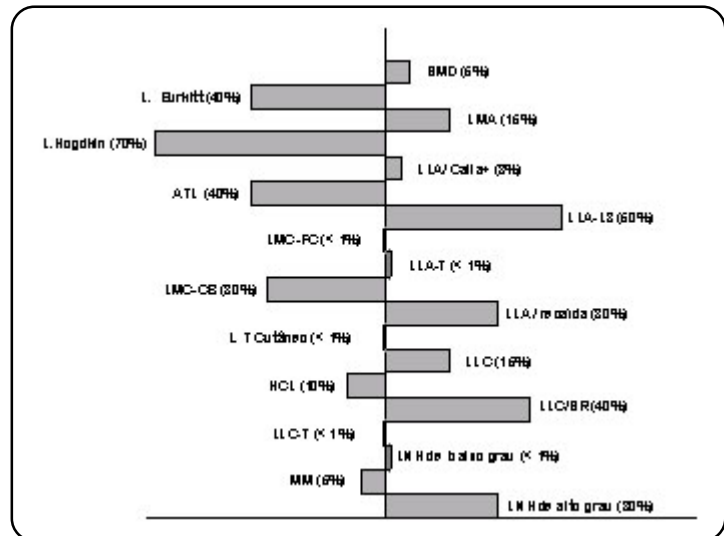
<ul style="list-style-type: none"> <li>· Evolução da forma crônica para crise blástica na leucemia mielóide crônica.</li> <li>· Evolução da síndrome mielodisplásica para leucemia mielóide aguda.</li> <li>· Evolução de linfomas de baixo grau para alto grau de malignidade.</li> <li>· Evolução da leucemia linfóide crônica para síndrome de Richter.</li> <li>· Progressão para fase refratária de mieloma múltiplo.</li> <li>· Recorrência da leucemia linfóide aguda de linhagem B ou T.</li> <li>· Recorrência da leucemia mielóide aguda.</li> <li>· Aumento do fenômeno de resistência a múltiplas drogas.</li> </ul>
--

Adaptado de: Imamura J et al. *Blood* 1994;84(8):2412-2421.

Em pacientes com leucemia mielóide crônica (LMC), mutações do gene p53 são observadas com freqüência elevada na fase de transformação para a crise blástica, em comparação com a fase crônica, onde apenas 5% dos casos apresentam o gene p53 mutado.<sup>29-31</sup> Isto sugere a possibilidade da mutação surgir como evento secundário ao longo da evolução da doença.<sup>28-31,35</sup> Essas mutações são observadas com maior freqüência em pacientes que desenvolveram crise blástica mielóide quando comparados com indivíduos portadores de LMC em crise blástica linfóide.<sup>29-31,35</sup>

A freqüência de mutação do gene p53 é baixa em pacientes com leucemia linfoblástica aguda (LLA) em comparação com indivíduos portadores de leucemia mielóide aguda (LMA) representando, respectivamente, 3% e 15%. Esse percentual aumenta nas recaídas, e em pacientes resistentes ao tratamento.<sup>26-32</sup>

Figura 5. Representação gráfica da freqüência de mutações do gene p53 nas hemopatias malignas.



LLC: leucemia linfóide crônica; LLC/SR: leucemia linfóide crônica em transformação para síndrome de Richter; LLC-T: leucemia linfóide crônica de células T; LMC-FC: leucemia mielóide crônica / fase crônica; LMC-CB: leucemia mielóide crônica / crise blástica; LNH: linfoma não Hodgkin; HCL: hairy cell leukemia; LLA: leucemia linfóide aguda; LMA: leucemia mielóide aguda; MM: mieloma múltiplo; LTA: leucemia de células T do adulto; SMD: síndrome mielodisplásica; L. Hodgkin: linfoma de Hodgkin; LT cutâneo: linfoma T cutâneo.

Adaptado de: Imamura J et al. *Blood* 1994;84(8):2412-2421.

Na LLA do tipo L3 da classificação FAB a freqüência de mutações desse gene é alta, estando presente em cerca de 50% dos casos.<sup>26-32</sup> Nas síndromes mielodisplásicas

(SMD), são observadas em cerca de 5% dos casos, predominando nas formas mais graves como a anemia refratária com excesso de blastos e nos casos que evoluem para LMA, apresentando em muitos casos, monossomia do cromossomo 17 assim como deleção na região 13p do cromossomo 17.<sup>29-31,37-38</sup>

Nos pacientes com doenças linfoproliferativas crônicas (DLC), as mutações do gene p53 também têm se correlacionado com as formas clínicas mais graves. Desta forma, nos pacientes com leucemia linfocítica crônica do tipo B (LLC-B) na sua forma clássica, essas mutações têm sido detectadas em cerca de 10% dos casos, percentual que aumenta na transformação para síndrome de Richter ou leucemia prolinfocítica de células B (LPL-B). Na leucemia linfocítica crônica de células T (LLC-T) essas alterações são raras.<sup>29-31,39,41</sup>

Köning et al,<sup>42</sup> através das técnicas SSCP e seqüenciamento automático de DNA analisaram amostras de 61 pacientes com *Hairy cell leukemia* (HCL) e observaram mutações do gene p53 em 17 casos (28%), contrastando este estudo com outros autores que relatam baixa freqüência de mutação do gene p53 na HCL.<sup>29-31</sup>

Em pacientes acometidos com leucemia de células T do adulto (LTA) são observadas mutações do gene p53 em cerca de 40% das formas agudas, sendo raramente observadas na forma crônica, *smoldering* e em portadores assintomáticos do HTLV-I.<sup>29-31</sup> Semelhante ao que ocorre com a LTA, mutações do gene p53 também têm sido observadas nos linfomas relacionados ao EBV. Tanto o HTLV como o EBV, apresentam capacidade de imortalizar linfócitos *in vitro* e foi demonstrado que a interação entre o antígeno EBNA5 do EBV com a proteína p53 pode levar a sua inativação.<sup>24,26,29-31</sup>

Recentemente, foi demonstrado que células infectadas pelo vírus HTLV-I / II têm alto nível da proteína p53 estabilizada por mecanismo não relacionado à mutação. Estudos da funcionalidade dessa proteína nessas células mostraram ausência de atividade. Como a seqüência da proteína correspondia à forma selvagem, diversos outros estudos investigaram um possível mecanismo de inativação, demonstrando que

a expressão da proteína TAX está correlacionada com a inibição da função da proteína p53.<sup>31,43-45</sup>

Nos linfomas não Hodgkin (LNH), mutações do gene p53 foram detectadas em cerca de 30% dos linfomas de origem B de alto grau. Este achado genético tem sido raramente observado nos linfomas de grau intermediário ou de baixo grau de malignidade.<sup>12,29-31</sup> Em pacientes com linfomas associados à infecção pelo HIV (em geral linfomas de alto grau), a freqüência de mutação do gene p53 oscila em torno de 45% dos casos.<sup>30,31</sup>

No linfoma de Hodgkin, por sua vez, a superexpressão da proteína p53 é facilmente detectada pela imuno-histoquímica nas células de Reed-Sternberg, sendo, porém negativa nos eosinófilos e macrófagos presentes no infiltrado tumoral.<sup>30,31</sup> No entanto, estudos moleculares realizados em material de biópsia, não demonstraram correlação entre a superexpressão da proteína p53 e mutação do gene p53.<sup>46,47</sup> Em contraste, outros estudos demonstraram uma freqüência de 75% ou mais de mutações do gene p53 em preparados celulares com alta concentração de células de Reed-Sternberg, ficando claro o papel relevante da mutação do gene ou inativação da proteína p53 na fisiopatologia do linfoma de Hodgkin.<sup>30,31</sup>

No mieloma múltiplo (MM), a ocorrência de mutações do gene p53 é rara, e quando presentes, as mutações se correlacionam com as formas mais graves da doença, geralmente refratárias ao tratamento.<sup>30,31</sup>

Estudos recentes demonstraram a superexpressão da proteína MDM-2 nas células neoplásicas de pacientes com LNH, LLC em estágio avançado, MM, LLA, SMD em franca transformação para LMA e neoplasias não hematológicas. Este achado sugere que a ação da MDM-2 na inativação da proteína p53 pode ser um dos possíveis mecanismos moleculares envolvidos na carcinogênese.<sup>48-53</sup>

Em última análise, a mutação ou inativação do gene p53 pode ocorrer moderadamente nas hemopatias malignas. Este achado genético tem sido particularmente observado na transformação blástica do tipo mielóide da LMC, LMA pós SMD, recaídas

das leucemias agudas, LNH de alto grau e nas formas clínicas mais graves das DLC.<sup>29-31</sup>

## PERSPECTIVAS E QUESTÕES PARA O FUTURO

p53 é o gene mais extensivamente estudado nas neoplasias e pacientes com mutação têm um pior prognóstico. Entretanto, inconsistências na análise dessas alterações impedem a utilização desse conhecimento na prática clínica. A relação entre o tipo de mutação e a evolução clínica deve ser melhor investigada pois possivelmente nem todas as mutações resultam no mesmo efeito. Além disso, algumas mutações podem ser tecido-específicas.<sup>54</sup> A observação que determinadas mutações podem afetar tratamentos específicos poderá auxiliar o clínico na escolha do tratamento.<sup>55</sup>

Nos últimos anos numerosas pesquisas em terapia gênica vêm sendo desenvolvidas e representam uma promissora esperança. No campo da farmacologia molecular, progressos na compreensão dos mecanismos bioquímicos de ação da p53 permitirão identificar os alvos moleculares para síntese de novas drogas. Também o desenvolvimento de drogas que possam resgatar a função da proteína mutante, como peptídeos que restaurem a conformação selvagem ou interajam com o domínio de ligação ao DNA, ativando formas mutantes, são estratégias que estão em curso.<sup>10,54,55</sup> A inativação da p53 parece ser um passo essencial em muitas neoplasias, e drogas que possam restaurar esta função terão potencial aplicação.

Está claro que muitas questões sobre a função da p53, as proteínas e sinais envolvidos nesta via ainda não estão respondidas, mas a continuidade das pesquisas poderá levar ao sucesso de algumas dessas estratégias resultando em benefício para milhares de pacientes.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Dr. Marcos Scheiner por sua ajuda no preparo das figuras.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Yonish-Rouach E. A question of life or death: the p53 tumor suppressor gene. *Pathol Biol* 1997;45(10):815-23.
2. Harris CH, Hollstein M. Clinical implications of the p53 tumor suppressor gene. *N Engl J Med* 1993;339:1318-26.
3. Milner J. Structures and functions of the tumour suppressor p53. *Pathol Biol* 1997;45(10):797-803.
4. Mowat MRA. P53 in tumour progression: life, death and everything. *Adv Cancer Res* 1998;74:25-48.
5. Martin A. Le gène suppresseur de tumeur p53 (1<sup>re</sup> partie): structure, fonction et mécanismes d'inactivation. *Ann Pathol* 1995;15(3):178-83.
6. Beroud C, Soussi T. p53 gene mutation: software and database. *Nucleic Acids Res* 1998;26(1):200-4.
7. Wolkowicz R, Rotter V. The DNA binding regulatory domain of p53: see the C. *Pathol Biol* 1997;45(10):785-96.
8. Jayaraman L, Prives C. Covalent and noncovalent modifiers of the p53 protein. *Cell Mol Life Sci* 1999;55:76-87.
9. Janus F, Albrechtsen N, Dornreiter I, Wiesmüller L, Grosse F, Depper W. The dual role model for p53 maintaining genomic integrity. *Cell Mol Life Sci* 1999;55:12-27.
10. Bullock AN, Feist AR. Rescuing the function of mutant P53. *Nature Rev Cancer* 2001;1:68-75.
11. Vande Wande GF, Klein G. p53 in tumor progression: life, death and everything. *Adv Cancer Res* 1998;74:25-48.
12. Prokocimer M, Rotter V. Structure and function of p53 in normal cells and their aberrations in cancer cells: projection on the hematologic cell lineages. *Blood* 1994;84(8):2391-411.
13. May P, May E. p53 et cancer. *Pathol Biol* 1995;43(3):165-73.
14. Lane DP. p53, guardian of the genome. *Nature* 1992;358:15-6.
15. Koshland DE. The molecule of the year. *Science* 1993;262:1954.
16. Morgan SE, Kastan MB. p53 and ATM: cell cycle, cell death and cancer. *Adv Cancer Res* 1997;71:2-25.
17. Tarapore P, Fukasawa K. P53 mutation and mitotic infidelity. *Cancer Invest* 2000;18(2):148-55.
18. Hupp TR, Lane DP, Ball K. Strategies for ma-

- nipulating the p53 pathway in the treatment of human cancer. *Biochem J* 2000;352:1-17.
19. Kastan MB, Onyekwere O, Sidransky D, et al. Participation of p53 protein in the cellular response to DNA damage. *Cancer Res* 1991;51:6304-11.
  20. Almong A, Rotter V. An insight into life of p53: a protein coping with many functions! *Biochem Biophys Acta* 1998;1378:43-54.
  21. El-Deiry WS. The p53 tumor gene suppressor gene: bench to bedside. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1996;112-8.
  22. Steele RJC, Thompson AM, Hall PA, Lane DP. The p53 tumour suppressor gene. *Br J Surg* 1998;85:1460-7.
  23. Sidransky D, Hollstein M. Clinical implications of the p53 gene. *Annu Rev Med* 1996;47:285-301.
  24. Soussi T. Cycle cellulaire et apoptose: le gene supprimeur de tumeur p53. *Med Sci* 2000;16:496-472.
  25. Prives C, Hall P. The p53 pathway. *J Pathol* 1999;187:112-26.
  26. Ratter V, Prokocimer M. p53 and human malignancies. *Cancer Res* 1991;57:257-72.
  27. Soussi T, Dehouche K, Bérout C. L'analyse des mutations du gene p53 dans les cancers humains: le lien entre l'épidémiologie et la carcinogénèse. *Med Sci Synth* 2000;16:1378-96.
  28. Martin A. Le gene supprimeur de tumeur p53 (2<sup>a</sup> partie): applications en pathologie humaine. *Ann Pathol* 1995;15(3):184-91.
  29. Fenaux P. The clinical significance of the p53 suppressor gene in haematological malignancies. *Br J Haematol* 1997;98:502-11.
  30. Preudhomme C, Fenaux P. p53 et hemopathies malignes. *Pathol Biol* 1997;45(10):777-908.
  31. Imamura J, Miyoshi I, Koeffler P. p53 in hematologic malignancies. *Blood* 1994;84(8):2412-21.
  32. Diacianmi MB, YU J, Hsiao M, Mukherjee L, Shao E, Yu AL. Clinical significance of p53 mutations in relapsed T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1994;(9):3105-12.
  33. Rotter V, Prokocimer M. p53 and human malignancies. *Adv Cancer Res* 1991;53:257-72.
  34. Paydas S. p53 protein expression in leukemias. *Acta Oncol* 1995;34(1):23-6.
  35. Konikova E, Kuseuda O, Babusikova I. Flow cytometry of p53 protein expression in some hematological malignancies. *Neoplasma* 1999;46(6):368-76.
  36. Konikova E, Kusenda J. p53 protein expression in leukemia and lymphoma cells. *Neoplasma* 2001;48(4):290-8.
  37. Kitagawa M, Yoshida S, Kumata T, Tanizawa T, Kamiyama R. p53 expression in myeloid cells of myelodysplastic syndromes. Association with evolution of overt leukemia. *Am J Pathol* 1994;145(2):338-44.
  38. Lai JL, Preudhomme C, Zamdecki M, Flactif M, Vanrumbeke M, Lepelley P, et al. Myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia with 17q deletion. An entity characterized by specific dysgranulopoiesis and high incidence of p53 mutations. *Leukemia* 1995:370-81.
  39. Gaidano G, Ballerini P, Gong JZ, et al. p53 mutation in lymphoid malignancies: association with Burkitt lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:5413-7.
  40. Ichikawa A, Hota T, Takagi N, Tsushita K, Kinoshita T, Nagai H, et al. Mutation of p53 gene and their relation to disease progression in B-cell lymphoma. *Blood* 1992;79(10):2701-7.
  41. Cordone L, Masi S, Mauro FR, Soddu S, Morsilli O, Valentini T, et al. p53 expression in B-chronic lymphocytic leukemia: a marker of disease progression and poor prognosis. *Blood* 1998;91(11):4342-9.
  42. Köning EA, Kusser WC, Day C, Porzolt F, Glickman BW, Messer G, et al. p53 mutation in hairy cell leukemia. *Leukemia* 2000;14:706-11.
  43. Pise-Masison CA, Mahieux R, Radonovich M, Jiang H, Duvall J, Guillerme C, et al. Insights into the molecular mechanism of p53 inhibition by HTLV type 1 tax. *AIDS Res Human Retroviruses* 2000;16(16):1669-75.
  44. Mahieux R, Pise-Masison CA, Nicot C, Green P, Brady JN. Inactivation of p53 by HTLV type 1 and HTLV type 2 tax trans-Activators. *AIDS Res Human Retroviruses* 2000;16(16):1677-81.
  45. Takemoto S, Trovato R, Cereseto C, Nicot C, Kislyakova T, Casareto L, et al. P53 stabilization and functional impairment in the absence of genetic mutation or the alteration of the p14ARF-MDM-2 loop in ex vivo and cultured adult T-cell leukemia / lymphoma cells. *Blood* 2000;95(12):3939-40.
  46. Chan WC. The Reed-Sternberg cell in clinical Hodgkin's disease. *Hematol Oncol* 2001;19:1-17.
  47. Elenitoba-Johnson KSJ, Medeiros LJ, Khorsand J, King TC. p53 expression in Reed-Sternberg cells does not correlate with gene mutations in Hodgkin's disease. *Am J Clin Pathol* 1996;106(6):728-38.



48. Horie S, Endo K, Kawasaki H, Terada T. Overexpression of MDM-2 protein in intrahepatic cholangiocarcinoma: relationship with p53 overexpression, ki-67 labeling, and clinicopathological features. *Virchows Arch* 2000;437:25-30.
49. Tzardi M, Kovidou CR, Panaviotides I, Stefanaki K, Rontogianni D, Zois E, Koutsoubi K, et al. p53 protein expression in non-Hodgkin's lymphoma: comparative study with the wild type p53 induced protein mdm-2 and p21/waf-1. *J Clin Pathol* 1996;49:278-82.
50. Zhou M, Gu L, Abshire TC, Homans A, Billett AL, Yeager AM, et al. Incidence and prognostic significance of MDM-2 oncoprotein overexpression in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2000;14:61-7.
51. Lozano G, Oca Luna RM. MDM-2 function. *Biochem Biophys* 1988;1377:55-9.
52. Bálint E, Vousden KS. Activation and activities of the p53 tumour suppressor protein. *Br J Cancer* 2001;85(12):1813-23.
53. Bueso-Ramos CE, Manshouri T, Haidar MA, Yo H, Keating MJ, Albitar M. Multiple patterns of MDM-2 desregulation in human leukemias: implications in leukemogenesis and prognosis. *Leuk Lymphoma* 1995;17(1-2):13-8.
54. Ribeiro RC, Sandrini F, Figueiredo B, Zambetti GP, Michalkiewicz E, Lafferty AR, et al. An inherited p53 mutation that contributes in a tissue-specific manner to pediatric adrenal cortical carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98(16):9330-5.
55. Soussi T, Bérout C. Assessing TP53 status in human tumours to evaluate clinical outcome. *Nature Rev Cancer* 2001;1:233-9.
56. Vogelstein B, Kinzler KW. Achilles heel of cancer? *Nature* 2001;412:865-6.