

O gene *TP53* e o câncer

**Jheneffer Sonara Aguiar Ramos¹, Lana O'Hara Souza Silva²,
Alice Tâmara de Carvalho¹, Juliano Domiraci Paccez²,
Clayton Luiz Borges², Daniela de Melo e Silva¹**

¹ Universidade Federal de Goiás, Departamento de Genética, Instituto de Ciências Biológicas, ICB 1, Goiânia, GO

² Universidade Federal de Goiás, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Instituto de Ciências Biológicas, ICB 2, Goiânia, GO

Autor para correspondência - silvadanielamelo@gmail.com

Palavras-chave: supressão tumoral, p53, mutações, reparo, tumorigênese



O processo de desenvolvimento de um câncer é complexo e envolve a participação de vários genes, entre eles estão os de um grupo de genes conhecidos como supressores tumorais que participam na regulação da proliferação celular e da morte celular programada (apoptose). O *TP53* é o gene supressor de tumor mais estudado e mutações nesse gene são consideradas as alterações genéticas mais frequentes em cânceres humanos. Após quase quarenta anos desde a sua descoberta, o *TP53* continua a ser objeto de inúmeras pesquisas e novas descobertas vêm sendo feitas a respeito da participação desse gene em um número cada vez maior de processos e vias celulares.

O gene *TP53* (Tumor Protein p53) é um **gene supressor tumoral** cuja proteína induz inibição da divisão celular ou **apoptose**, dependendo das condições fisiológicas e do tipo celular. De maneira simplificada, a proteína p53 atua em dois processos principais relacionados a danos na molécula de DNA. Ocorrendo danos no DNA (mutações), a proteína p53 desempenha um papel crítico para determinação se:

- a) o DNA será reparado, o que leva à parada do ciclo celular até que isso ocorra;
- b) a célula danificada será direcionada para a autodestruição (morte celular programada ou apoptose).

Nas duas situações, a proteína p53 atua ativando a transcrição de outros genes e tradução das respectivas proteínas que repararão o DNA ou então sinalizarão para a apoptose. Dessa forma, a proteína TP53 bloqueia o prosseguimento da divisão celular em células que contêm DNA com mutações, o que previne a proliferação de células com função alterada. Como o desenvolvimento de tumores é decorrente do acúmulo de mutações ao longo do tempo, a proliferação de células com mutações poderia ocasionar o desenvolvimento de tumores, por isso o papel central desse gene como supressor tumoral.

A proteína TP53 é uma **fosfoproteína** localizada no núcleo que foi descrita inicialmente em 1979, formando um complexo com o **antígeno T** do vírus símio 40 (SV-40). Naquela época, foi caracterizada como uma proteína codificada por um **oncogene** devido ao fato de o antígeno T ser uma **oncoproteína** viral e também pela descoberta de grandes quantidades de p53 em células tumorais ou transformadas. Posteriormente, verificou-se que esse aumento de expressão da p53 nas células tumorais era resultado de algumas formas específicas mutantes do gene *TP53*. Em 1989, demonstrou-se que o tipo selvagem de *TP53*, ou seja, o gene existente em células normais, era capaz de inibir a transformação maligna de células por meio da ação da proteína p53. A partir de então, o gene passou a ser considerado como supressor tumoral. Em 1992, o gene *TP53* foi nomeado como o “guardião do genoma” devido à grande relevância na manutenção da integridade do

genoma pelo direcionamento para correção de eventuais mutações, ou então, sinalização de morte celular para as células com genomas muito danificados. Esse gene permanece como alvo de inúmeros estudos.

O GENE *TP53* E A PROTEÍNA P53

O gene *TP53* humano está localizado no braço curto do cromossomo 17 (17p13.1) (Figura 1), abrange uma região de aproximadamente 20 kilobases (Kb) e contém dez íntrons e onze éxons com sequências cujos tamanhos variam de 22 a 1.269 pares de base. O primeiro éxon do gene não contém códons (informações para síntese de aminoácidos), sendo chamado de não-codificante. No entanto, contém sequências regulatórias relacionadas à transcrição do gene; essa constituição do primeiro éxon é frequente para os genes humanos.

O produto proteico do *TP53* é uma fosfoproteína de localização nuclear de 393 aminoácidos, que leva o nome p53 devido ao seu peso molecular de 53 quilodáltons (kDa). Sob condições fisiológicas normais, a p53 é expressa em uma grande variedade de tecidos e é sintetizada de maneira contínua, mas apresenta meia vida muito curta, o que significa que, após produzida, essa proteína é degradada com grande rapidez, por isso está presente em baixos níveis nas células, o que torna relativamente difícil sua detecção. A p53 é ativada e se acumula nas células principalmente em resposta a diferentes estresses celulares, incluindo: danos ao DNA (estresse genotóxico); hipóxia; encurtamento dos telômeros (estruturas presentes nas extremidades dos cromossomos); ativação exacerbada de proliferação em decorrência de oncogenes.

A forma funcionalmente ativa da p53 apresenta uma estrutura molecular homotetramérica, ou seja, possui quatro subunidades básicas idênticas. Cada unidade básica da proteína p53 é formada por quatro domínios que representam unidades funcionais distintas da proteína:

- a) o primeiro segmento da proteína (chamado de região amino terminal) possui a capacidade de estimular a transcrição de outros genes que atuam no controle do ciclo celular e na rota da apoptose;

Gene supressor de tumor

– gene cuja proteína participa do controle da divisão celular e/ou regula o processo de morte celular programada (apoptose). A atuação desses genes em células normais restringe a proliferação sem controle.

Apoptose – morte natural programada de uma célula em resposta a um sinal do meio externo ou programado em seus genes.

Fosfoproteína

– proteína conjugada com fosfato. Mutações de substituição de aminoácido (em inglês, missense) – resultam da substituição de um nucleotídeo por outro, levando à formação de um códon que codifica um aminoácido diferente do original; a proteína derivada é diferente e, em alguns casos, sua função é alterada.

Antígeno T – antígeno, qualquer substância capaz de induzir a geração de anticorpos, no núcleo de uma célula tumoral.

Oncogene – derivado de um proto-oncogene, que é um gene cuja proteína promove os processos de proliferação celular. A atuação desses genes em células normais estimula a divisão celular e crescimento.

Oncoproteínas – são proteínas codificadas a partir de oncogenes que atuam como promotores da proliferação celular desregulada. São responsáveis pela sinalização celular em várias etapas da divisão celular e podem contribuir para o câncer.

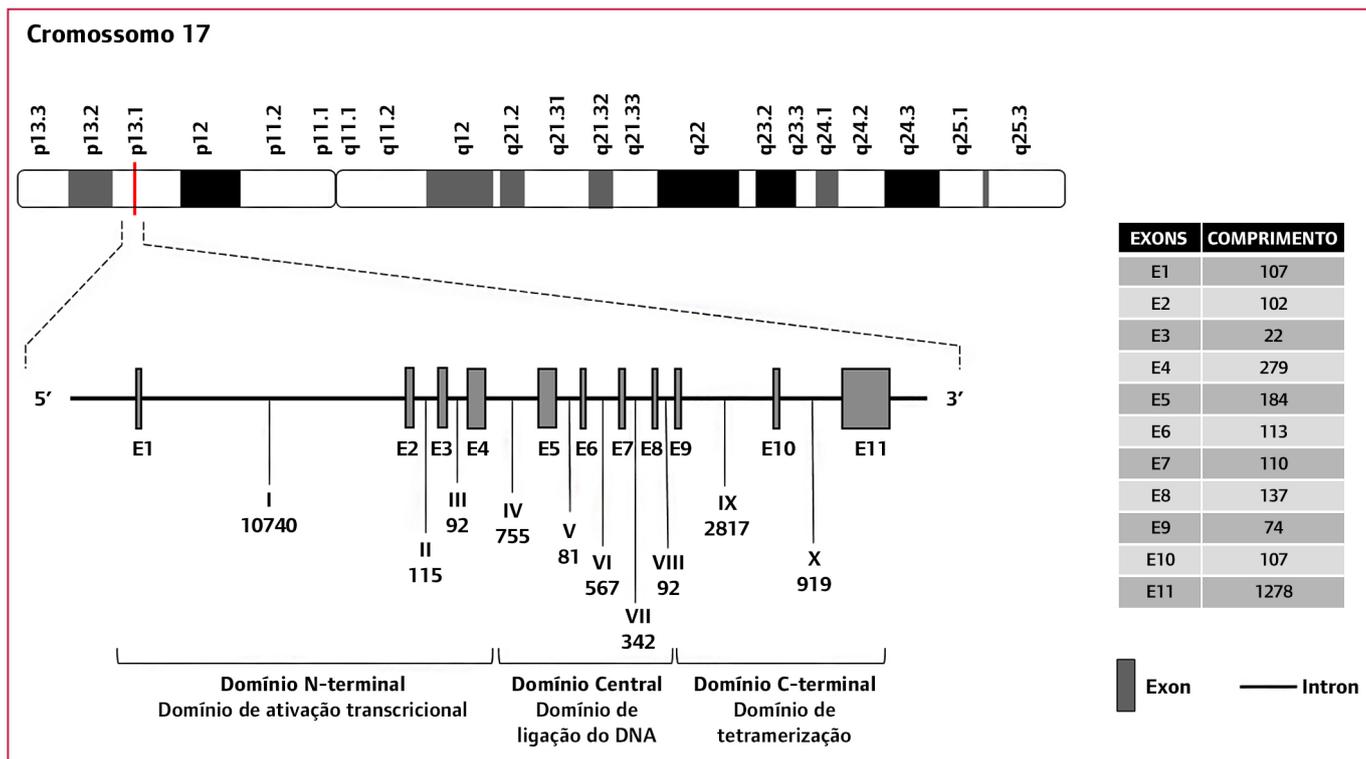


Figura 1.

Representação esquemática do gene *TP53*, no sentido 5'-3'. O éxon 1 (E1) é proximal ao centrômero. De I a X estão representados os íntrons, juntamente com os respectivos comprimentos, em pares de base (pb). Os tamanhos, também em pb, dos éxons 1 a 11 (E1 a E11) estão representados no quadro ao lado. O domínio N-terminal da proteína corresponde aos éxons 1, 2, 3 e 4 (E1, E2, E3 e E4); o domínio central aos éxons 5, 6, 7 e 8 (E5, E6, E7, E8); e o domínio C-terminal aos éxons 9, 10 e 11 (E9, E10 e E11).

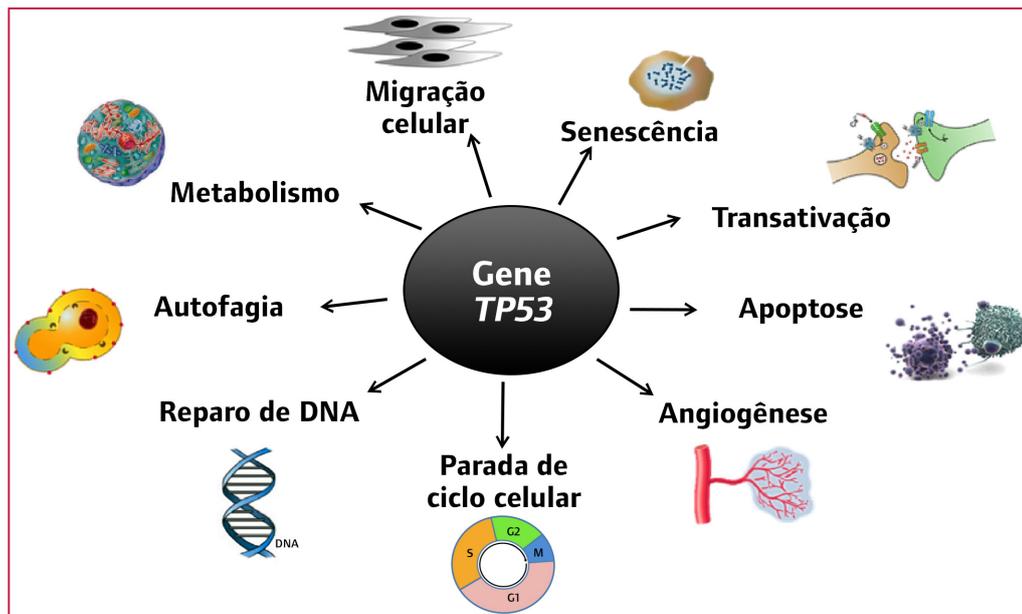
- b) o segundo domínio (região central) é responsável pela capacidade de ligação da proteína p53 com a molécula de DNA;
- c) na região carboxi-terminal, localizam-se a região de tetramerização das quatro unidades básicas da molécula p53 e é a forma mais ativa na função de ativar a transcrição de outros genes;
- d) o domínio regulatório, cuja função é ligar-se ao domínio central de ligação à molécula de DNA, impedindo a interação dessa região com promotores de genes relacionados com a supressão e morte celular programada. A maioria das alterações na sequência do gene *TP53* ocorre no segundo domínio (região central), que é responsável pela capacidade de ligação da proteína p53 com a molécula de DNA.

As funções bem compreendidas da p53 são aquelas que inibem a proliferação de células. Porém, as vias de atuação da p53 (Figura 2) também envolvem migração celular, reparo de DNA, autofagia, regulação da apoptose e senescência, sendo as duas últimas respostas que removem irreversivelmente a célula da população proliferativa e, portanto, neutralizam qualquer perigo potencial de progressão do processo de carcinogênese.

O GENE *TP53*, CANCÊRES E A SÍNDROME DE LI FRAUMENI

Em sua forma ativa, a proteína p53 atua como supressor de tumor, seja por meio do controle do crescimento celular, a fim de promover o reparo de DNA danificado, ou direcionando para apoptose as células com muitas mutações acumuladas que não podem ser corrigidas. Quando ocorrem mutações no gene *TP53*, a função da proteína p53 é inativada. Tais ocorrências estão ligadas, em 95% das mutações identificadas no gene *TP53*, à substituição de um único nucleotídeo na região codificadora do domínio de ligação ao DNA (região central, correspondente aos éxons 5 a 8 do gene), o que resulta na substituição do aminoácido correto por outro diferente (mutação chamada de troca de aminoácido ou *missense*, em inglês). Em decorrência dessas mutações do tipo *missense*, a proteína p53 torna-se ineficaz tanto no controle da divisão celular quanto no direcionamento da célula com mutações para a apoptose, levando a um acúmulo de mutações e à proliferação descontrolada dessas células alteradas, com consequente formação dos tumores.

O câncer desenvolve-se em decorrência do acúmulo ao longo do tempo de várias mu-

**Figura 2.**

Vias de atuação do gene *TP53*. Além de atuar na regulação da integridade do genoma, a parada do ciclo celular e a apoptose, uma série de trabalhos em crescimento sugere que a p53 também controla processos biológicos adicionais não-canônicos (alternativos). Como exemplos, a p53 pode modular a autofagia, alterar o metabolismo, induzir a migração, senescência, transativação celular e angiogênese.

tações em genes supressores tumorais e em **proto-oncogenes**. Cada uma dessas mutações confere às células mutantes um aumento crescente em sua capacidade proliferativa, o que eventualmente ocasiona o desenvolvimento de populações celulares com várias mutações com crescimento irrestrito e que não responde aos sinais fisiológicos de controle de proliferação. As mutações que levam ao desenvolvimento de tumores são chamadas mutações somáticas, ou sejam, ocorrem em células do corpo (soma) e não em células germinativas (germe); portanto, tais mutações somáticas não podem ser transmitidas para descendentes.

Mutações somáticas no gene *TP53* são muito frequentes em tumores em função do papel central desse gene como guardião da integridade do genoma. Se esse gene está mutado, a probabilidade de desenvolvimento de um câncer é muito grande. Mutações somáticas são encontradas em quase 50% de todos os cânceres. As mutações somáticas em *TP53* podem levar à formação de cânceres como câncer de bexiga, carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, câncer de pulmão e de ovário.

A p53 também pode ser inativada por oncoproteínas de DNA viral, como no caso da proteína E6 do HPV (Vírus do Papiloma Humano), que promove a degradação de p53, fator relevante para o desenvolvimento de

câncer cervical provocado por HPV. Estudos recentes demonstraram que, além de mutações de perda de função da proteína em si, algumas formas mutantes de p53 exibem ganho de propriedades oncogênicas, exercendo uma **regulação de dominância negativa** sobre as proteínas p53 selvagens, remanescentes nas células. Adicionalmente, evidências sugerem também a existência de mutações que geram proteínas p53 com ganho de função, capazes de interagir com outros fatores de transcrição para ativar ou reprimir genes associados à proliferação celular, **angiogênese**, migração, invasão e metástases.

Devido à presença de mutação em *TP53* nos tumores, esse gene está sempre associado à intensa proliferação celular e a tumores de alto grau e, conseqüentemente, mutações em *TP53* em geral são detectadas em tumores mais agressivos, com pior prognóstico. Tais aspectos tornam a detecção de mutações nesse gene um importante fator prognóstico, ou seja, uma característica que pode ser identificada durante o diagnóstico do tumor e que auxilia a prever o curso da doença. Por exemplo, as mutações em *TP53* podem tornar as células resistentes a drogas citotóxicas, prejudicando o tratamento por quimioterapia e contribuindo para um prognóstico ruim. Assim, neoplasias que possuem p53 mutante exibem um prognóstico desfavorável em relação àquelas que não possuem mutação em p53. Essa resistência depende de diversos parâmetros como:

Proto-oncogenes – genes constituintes do genoma humano que apresentam diversas funções biológicas relacionadas com processos de proliferação, diferenciação e sobrevivência celular. Mutações nos proto-oncogenes geram oncogenes.

Regulação de dominância negativa – a proteína que sofreu a mutação ao se ligar às p53 normais interfere na atividade normal das outras, inativando-as também.

Angiogênese – processo de formação de vasos sanguíneos a partir de vasos preexistentes.

modo de ação da droga; alterações genéticas durante a carcinogênese; tipo de câncer. Além do mais, p53 mutante possui meia-vida mais longa do que p53 sem mutação. Todos esses fatores destacam a necessidade do desenvolvimento de estratégias que reativem a p53 para auxiliar no tratamento por quimioterapia. Nesse sentido, alguns estudos já identificaram compostos que são capazes de reativar a função da p53, restaurando sua conformação nativa e, conseqüentemente, podendo tornar-se uma classe nova de drogas anticâncer. Além do mais, estudos recentes têm obtido sucesso em associar drogas anticâncer clássicas com pequenas moléculas ativadoras de p53 no tratamento contra câncer.

Os métodos mais utilizados para a avaliação do gene *TP53* e da proteína p53 é o sequenciamento de DNA e a imuno-histoquímica. O método de imunohistoquímica consiste em ligação antígeno-anticorpo em cortes teciduais, quando, então, o complexo formado é visualizado por meio de coloração histoquímica em microscópio de luz. Por meio deste ensaio é possível detectar o acúmulo de p53, em decorrência da presença de proteínas com mutações que se acumulam por apresentarem meia-vida superior ao que é observado em células normais. Apesar de ser uma técnica bastante utilizada, alguns estudos observaram que nem sempre as mutações do gene *TP53* levam ao acúmulo da proteína p53 na célula e, portanto, o estudo da sequência do gene *TP53*, por sequenciamento, tem sido o padrão ouro para detecção de mutações.

Um aspecto único do gene *TP53* é a grande importância de mutações germinativas nesse gene. Quando as mutações no gene *TP53* ocorrem em células germinativas (células que originam gametas), tais mutações podem ser transmitidas para descendentes e, portanto, são chamadas de hereditárias. Os portadores de mutações germinativas no gene *TP53* têm risco muito aumentado de desenvolver tumores ao longo da vida. À condição de mutações germinativas no gene *TP53* dá-se o nome de síndrome de Li-Fraumeni. Os portadores dessa síndrome possuem predisposição aumentada em especial para o desenvolvimento de cânceres como carcinomas de mama, sarcomas e tumores cerebrais. No Brasil, essa síndrome foi bastante estudada pela pesquisadora Dra.

Maria Isabel Waddington Achatz, no Hospital do Câncer AC Camargo, em São Paulo. Em seus estudos, a pesquisadora encontrou em famílias brasileiras uma mutação específica no gene *TP53* que não está localizada na região de ligação ao DNA, mas sim em outra região do gene. Essa mutação específica, que leva o nome de R337H é considerada uma mutação rara nos casos de Li-Fraumeni no mundo, sendo uma mutação com frequência aumentada apenas no Brasil, em especial nas regiões Sul e Sudeste. Ao avaliar o histórico de diversas famílias brasileiras diagnosticadas com a síndrome Li Fraumeni, Achatz e outros pesquisadores descobriram que todos compartilhavam um ancestral comum do século 18, responsável por disseminar no Brasil essa mutação entre seus descendentes.

Tendo em vista todas essas considerações, o gene *TP53* é de extrema significância para a medicina e para a saúde humana. O gene *TP53* age na prevenção do desenvolvimento de tumores, uma vez que mantém a estabilidade do genoma celular e evita a proliferação de células defeituosas, atuando como “guardião do genoma”. Adicionalmente, 50% dos cânceres carregam mutação no gene *TP53* e os tumores com tais mutações são mais agressivos, tornando-o importante marcador para avaliação de prognóstico. As mutações em *TP53* também levam à quimio-resistência, destacando a necessidade do desenvolvimento de métodos que possam reativar a sua função e auxiliar no tratamento de cânceres. Nesse sentido, é de extrema importância conhecer os mecanismos de ação do gene *TP53* para que se possa elaborar estratégias que aprimorem o diagnóstico, prognóstico e a terapêutica do câncer, conduzindo à melhora na qualidade do tratamento das pessoas afetadas por essa enfermidade.

PARA SABER MAIS

LANE, D.; LEVINE, A. p53 research: the past thirty years and the next thirty years. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, v.2, n.12, p. 1-10, 2010.

KASTENHUBER, E.R.; LOWE, S.W. Putting p53 in context. *Cell*, v. 170, n. 6, p. 1062-1078, 2017.

FIORAVANTI, C. Histórias de família. *Pesquisa Fapesp*, São Paulo, v.175, p. 57-60, 2010.