

REGULACE STABILITY A AKTIVITY NÁDOROVÉHO SUPRESORU p53

STJEPAN ULDRIJAN, VLADIMÍR KOTALA
a BOŘIVOJ VOJTĚSEK

Oddělení experimentální onkologie, Masarykův onkologický
ústav, Žlutý kopec 7, 656 53 Brno, e-mail: uldrijan@atlas.cz,
kotala@mou.cz, vojtesek@mou.cz

Došlo dne 26.III.2001

Klíčová slova: p53, stabilita, aktivita

Obsah

1. Úvod
2. Regulace stability p53
3. Regulace aktivity p53
4. Stabilizátory a aktivátory p53 v terapii nádorových onemocnění
5. Závěr

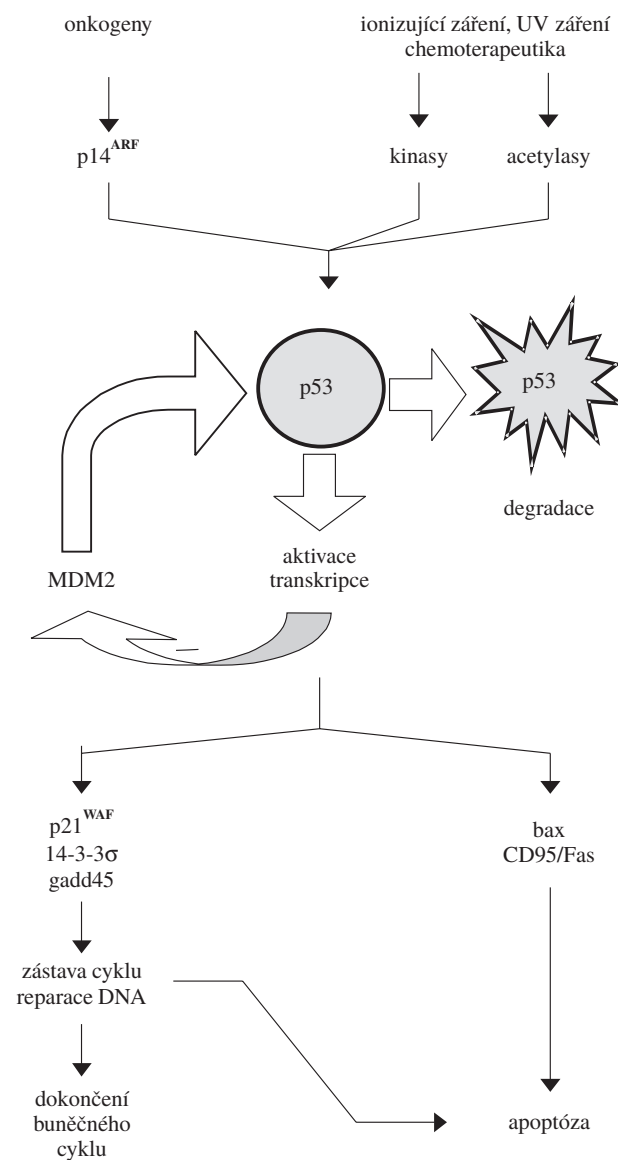
1. Úvod

Během více než dvaceti let, která uběhla od objevení p53 v roce 1979, se protein p53 stal nejintenzivněji studovaným objektem výzkumu v oblasti molekulární onkologie. Významně k tomu přispěla jeho schopnost působit proti nádorové transformaci buňky a také zjištění, že u více než poloviny lidských nádorů dochází k delecí nebo mutaci genu p53. Lidský protein p53, fungující jako jaderný transkripční faktor, je tvořen 393 aminokyselinami a obsahuje 4 hlavní funkční domény. Mutace p53 v nádorových buňkách nejčastěji postihují centrální oblast proteinu, která je nutná pro sekvenčně specifickou vazbu na cílové sekvence DNA. N-konec proteinu obsahuje doménu aktivující transkripci cílových genů a na C-konci se nachází oligomerizační a regulační doména.

Protein p53 je považován za jeden z nejdůležitějších regulátorů odpovědi na nejrůznější formy buněčného stresu (obr. 1). Podílí se na řízení řady buněčných procesů, počínaje zástavou buněčného cyklu, přes inhibici replikace DNA, řízení diferenciace, regulaci transkripce a reparace DNA, udržování stability genomu až po indukci programované buněčné smrti, tzv. apoptózy. Pro supresi nádorového růstu je zvláště významná jeho schopnost řídit reakci buňky na poškození dědičné informace uložené v DNA. Po poškození DNA vyvolá protein p53 zástavu buněčného cyklu v G1 nebo G2 fázi, čímž je umožněna oprava poškozené DNA. V případě rozsáhlého poškození, které nelze opravit, indukuje protein p53 apoptózu, a tím zabrání přenosu poškozené genetické informace do dceřiných buněk.

Většina buněčných procesů řízených p53 závisí na jeho schopnosti aktivovat transkripci cílových genů. Pro účinnou aktivaci transkripce je nutné, aby vznikl tetramer p53, který se

v promotorech cílových genů váže na dvě po sobě následující sekvence 5'PuPuPuC^{A/T}/T^AGPyPyPy 3' (Pu – purinová báze, Py – pyrimidinová báze), které mohou být odděleny až 13 páry



Obr. 1. V normální buňce indukuje protein p53 expresi proteinu MDM2, který blokuje jeho transkripční aktivitu a zároveň stimuluje jeho degradaci. Vzniká tak zpětnovazební regulační smyčka, která je v nestresované buňce schopna udržovat velmi nízkou hladinu neaktivního proteinu p53. Ke stabilizaci a aktivaci p53 dochází působením různých stresových faktorů, např. poškozením DNA (účinkem UV nebo ionizujícího záření, chemoterapeutik apod.) nebo aktivací onkogenů. Aktivní p53 indukuje transkripci cílových genů, jejichž produkty buď zastaví buněčný cyklus, aby mohlo dojít k opravě poškozené DNA, nebo spustí, v případě rozsáhlého poškození dědičné informace, programovanou buněčnou smrt (apoptózu).

Tabulka I
Regulátory buněčného cyklu a apoptózy indukované proteinem p53

Transkripce aktivována p53	Funkce produktu	Výsledek indukce
p21 ^{WAF1}	inhibitor CDK	zástava b. cyklu (G1, G2/M)
MDM2	vazba na p53, ubikvitin ligasa	inhibice aktivity a degradace p53
EGF-R	receptor EGF	zástava b. cyklu
gadd45	interakce s CDK1, reparace DNA, vazba na PCNA	zástava b. cyklu
14-3-3 σ	regulační protein, váže se na p53, CDC25C	zástava b. cyklu (G2/M)
Bax	dimerizace s Bcl-2	podporuje apoptózu
BCL-xL	kompetuje s Bax ve vazbě na Bcl-2	inhibice apoptózy
CD95/APO1/Fas	membránový receptor pro CD95L	indukce apoptózy po vazbě CD95L
IGF-BP3	váže IGF (insulin-like growth factor)	apoptóza nebo zástava b. cyklu
PIG3	regulace odpovědi na oxidativní stres	apoptóza nebo zástava b. cyklu
p53R2	podjednotka ribonukleotid reduktasy	zástava cyklu (G2/M), reparace DNA

bází. V tab. I je uveden výběr regulátorů buněčného cyklu a apoptózy, jejichž exprese je transkripčně aktivována proteinem p53 (cit.¹⁻³). Kromě aktivace transkripce se p53 podílí také na negativní regulaci transkripce mnoha genů, jejichž produkty se mohou účastnit vzniku a progresu nádorových onemocnění. Příkladem může být protein MRP (multidrug resistance – associated protein) (cit.⁴), který způsobuje odolnost nádorových buněk k některým cytostatikům, nebo protein VEGF (Vascular endothelial growth factor) (cit.⁵), jehož působením je indukována tvorba nových cév nutných pro vyživování rostoucího nádoru.

2. Regulace stability p53

V normálních buňkách je hladina proteinu p53 velmi nízká, protože nově syntetizovaný protein je velmi rychle degradován proteasomem 26S (cit.⁶). Degradace proteasomem je obecný mechanismus, kterým je regulováno množství celé řady buněčných proteinů. Aby mohly být proteiny určené k degradaci rozeznány aparátem proteasomu, je nezbytná jejich ubikvitinace, tj. kovalentní připojení k lyzinům cílového proteinu. Ubikvitin (angl. ubiquitin) je malý protein složený z 76 aminokyselin, jehož sekvence je evolučně konzervována. Byl nalezen prakticky ve všech eukaryotických buňkách, a to buď volně v cytoplazmě, nebo vázaný na proteiny. Pro připojení ubikvitinu k cílovým proteinům je nutná aktivita tří různých enzymů označovaných jako E1 (enzym aktivující ubikvitin), E2 (enzym přenášející ubikvitin) a E3 (ubikvitin ligasa). Ubikvitin ligasy tvoří velkou heterogenní skupinu proteinů a jsou zodpovědné za substrátovou specifitu ubikvitinace. Ubikvitin ligasovou aktivitu, důležitou pro degradaci p53, vykazuje protein MDM2 (mouse double minute 2). Expresce proteinu MDM2 je transkripčně indukována proteinem p53 (cit.⁷), a protože se MDM2 zároveň podílí na jeho degradaci, vzniká tak zpětnovazebná regulační smyčka, která omezí působení proteinu p53 v buňce pouze na dobu nutnou pro iniciaci transkripce cílových genů (viz obr. 1). Dlouhodobé působení aktivního proteinu p53 v buňce totiž může indukovat apoptózu, která je však nežádoucí v případě menšího poškození způsobeného stresovým faktorem, které lze odstranit.

Samotná vazba proteinu MDM2 na p53 pouze blokuje jeho transkripční aktivitu a ke spuštění procesu degradace je nutný transport komplexu p53 – MDM2 z jádra buňky do cytoplazmy⁸⁻¹⁰. Tento transport umožňuje signální sekvence pro export z jádra (NES – nuclear export sequence) proteinu MDM2 (cit.⁹). Mutace v sekvenci NES proteinu MDM2 vede ke zvýšené stabilitě proteinu p53 a jeho akumulaci v jádře¹⁰.

Pokusy na myších, u nichž byly obě alely genu MDM2 vyřazeny homologní rekombinací, prokázaly zásadní význam regulace aktivity a stability p53 proteinem MDM2 pro normální průběh embryogeneze. Tyto myši umírají kvůli nekontrolované aktivitě p53 ve velmi časném stadiu embryonálního vývoje^{11,12}. Příčinou pozorované embryonální letality je aktivace p53 – závislé apoptózy v nepřítomnosti MDM2 (cit.¹³). Naproti tomu myši, u nichž byly homologní rekombinací vyřazeny oba geny, MDM2 i p53, se vyvíjejí normálně.

Neschopnost některých mutantních forem proteinu p53 aktivovat expresi MDM2 vede k jejich akumulaci v nádorových buňkách ve velkém množství. Pokud je v těchto buňkách exprese MDM2 uměle navozena, dochází k degradaci mutantního p53 stejně velkou rychlostí jako v případě nemutovaného p53 (cit.^{14,15}).

Další významnou ubikvitin ligasou způsobující účinnou degradaci p53 je komplex buněčného proteinu E6-AP (E6-associated protein) s onkoproteinem E6 některých lidských papilomavirů (cit.^{16,17}). V nepřítomnosti E6 se buněčný protein E6-AP na degradaci p53 nepodílí¹⁸, ale interakce s E6 pravděpodobně mění jeho substrátovou specifitu a umožní tak ubikvitinaci p53. Předpokládá se, že tento mechanismus degradace p53 je jedním z kritických faktorů pro vznik karcinomu děložního čípku.

Stabilizace p53 zablokováním jeho degradace je odpovědí buňky na různé druhy stresu, např. poškození DNA, aktivaci onkogenů, změny pH nebo teploty, hypoxii nebo nedostatek živin. Jednou z cest vedoucích ke stabilizaci p53 je fosforylace p53 na N-konci v oblasti, na kterou se váže MDM2. Mezi nejlépe prozkoumaná fosforylační místa na N-konci proteinu p53 patří serin 15, fosforylovaný *in vivo* kinasami ATM (ataxia telangiectasia-mutated) a ATR (ATM-related), které hrají důležitou roli při stabilizaci p53 indukované ionizujícím nebo UV zářením¹⁹. Významnou roli při stabilizaci a následné akti-

Tabulka II

Nejdůležitější buněčné regulátory p53 (SST – sekvenčně specifická transaktivace)

Regulátory p53	Mechanismus působení na p53	Efekt na úrovni p53
<i>Pozitivní</i>		
ATM	fosforylace (Ser 15)	stabilizace, aktivace SST
DNA-PK	fosforylace (Ser 15,37)	stabilizace, aktivace SST
ATR	fosforylace (Ser 15)	stabilizace, aktivace SST
JNK	fosforylace (Ser 33)	stabilizace (ve stresovaných buňkách)
CDK7/CycH/p36	fosforylace (Ser 33)	aktivace SST
CDKs	fosforylace (Ser 315)	aktivace SST
p38	fosforylace (Ser 392)	aktivace SST
Casein kinase II	fosforylace (Ser 392)	aktivace SST
Protein kinase C	fosforylace (Ser 371,376,378)	aktivace SST
p300	acetylace (Lys 382)	stabilizace, aktivace SST
PCAF	acetylace (Lys 320)	aktivace SST
c-Abl	vazba na p53, působení proti MDM2	stabilizace, aktivace SST
p14 ^{ARF}	působení proti MDM2	stabilizace, aktivace SST
E2F-1	indukce p14 ^{ARF}	stabilizace, aktivace SST
c-Myc	indukce p14 ^{ARF}	stabilizace, aktivace SST
Rb	částečné působení proti MDM2	stabilizace
HIF-1 α	vazba na p53	stabilizace
Ref-1	regulace redoxního stavu	aktivace SST
WT1	vazba na p53	stabilizace, aktivace SST
PARP	vazba na p53	stabilizace, aktivace SST
BRCA1	vazba na p53	aktivace SST
p33 ^{ING1}	vazba na p53	aktivace SST
<i>Negativní</i>		
MDM2	vazba na p53, export z jádra, ubikvitinace	inhibice SST, destabilizace
JNK	ubikvitinace	destabilizace (v nestresovaných buňkách)
Bcl-2	blokování importu p53 do jádra	inhibice SST
BRCA2	vazba na p53	inhibice SST
MDMX	vazba na p53	inhibice SST
IGF-1	indukce exprese MDM2	působení prostřednictvím MDM2
bFGF	indukce exprese MDM2	působení prostřednictvím MDM2
Receptor T3R	indukce exprese MDM2	působení prostřednictvím MDM2

vaci p53 po poškození DNA hraje také fosforylace serinu 20 kinasami Chk1 (Checkpoint kinase 1) a Chk2 (cit.^{20,21}). Bylo prokázáno, že aktivita Chk1 je regulována kinasou ATR (cit.²²). Ke stabilizaci proteinu p53 dochází i v případě výrazného zrychlení proliferace buňky, často důsledkem aktivace onkogenů. Na rozdíl od stabilizace vyvolané poškozením DNA se v tomto případě, kromě fosforylace, navíc výrazně uplatňuje protein p14^{ARF}, který se váže na MDM2, inhibuje jeho ubikvitin ligasovou aktivitu, a tím brání degradaci p53 (cit.²³).

3. Regulace aktivity p53

Nedávno publikované práce prokázaly, že samotná stabilizace p53 nezaručuje odpovídající reakci buňky na buněčný stres, a že neexistuje přímá závislost mezi množstvím p53 v buňce a jeho transkripční aktivitou^{24,25}. Aktivita p53 je totiž řízena mnoha různými mechanismy, které ji mohou inhibovat

nebo stimulovat. Mimo mutací, které naruší strukturu některé z důležitých funkčních domén p53, je významným faktorem inhibujícím aktivitu proteinu p53 již zmíněná interakce s proteinem MDM2, která brání kontaktu N-koncové domény p53 s bazálním transkripčním aparátem^{26,27}.

Jak již bylo zmíněno, důležitým předpokladem biologické aktivity p53 je jeho oligomerizace. *In vitro* se p53 váže na cílové sekvence DNA již ve formě dimeru, tato vazba je však poměrně slabá. Spojením dvou dimerů do tetrameru afinita p53 k cílovým sekvencím výrazně roste, udává se, že přinejmenším padesátinásobně²⁸. *In vivo* však ani tyto tetramery nemusí být plně aktivní, a teprve změnou konformace jsou aktivovány k vazbě na cílové sekvence DNA. Tohoto řízení aktivity p53 se účastní jeho C-koncová regulační doména. Její odstranění nebo záměna některých aminokyselin^{29,30}, případně navázání protilátek^{29,31} nebo malých peptidů na tuto doménu^{32,33} vede k aktivaci vazby p53 na DNA.

Pro aktivaci jsou velmi významné posttranslační modifikace p53, zejména fosforylace serinu 315 kinasami CDK1 (cyclin-dependent kinase 1) a CDK2 (cit.³⁴), serinu 378 protein

kinasou C (cit.³⁵) a serinu 392 kasein kinasou II a acetylacetyltransferasou p300 (cit.³⁶).

Přehled nejdůležitějších pozitivních a negativních buněčných regulátorů p53 je uveden v tab. II (upraveno podle cit.³⁷).

4. Stabilizátory a aktivátory p53 v terapii nádorových onemocnění

Většina chemoterapeutik používaných při léčbě nádorových onemocnění narušuje replikaci a transkripci DNA, případně segregaci chromosomů v mitóze (tj. brání rovnoměrnému rozdělení chromosomů do dceřiných buněk při dělení), což způsobí nevratné poškození nádorové buňky a její smrt. K účinku těchto látek jsou však citlivé všechny dělící se buňky, nejen nádorové. Zvláště citlivé jsou rychle se dělící buňky sliznic a vlasových folikulů, což vede ke známým negativním vedlejším účinkům léčby cytostatiky. Navíc je třeba podávání těchto léků opakovat v několika vlnách, protože se v době jejich aplikace nachází jen určitá část nádorových buněk ve fázi buněčného cyklu, v níž jsou buňky k dané látce citlivé. Tím se zvyšuje riziko vzniku genetického poškození somatických i pohlavních buněk, které může u pacienta vést ke vzniku dalších nádorových onemocnění v pozdějším věku, k neplodnosti, případně k výskytu genetického poškození u jeho potomků. Současný farmaceutický výzkum se proto intenzivně věnuje vývoji stále účinnějších látek, které by však zároveň vykazovaly co nejméně negativních vedlejších účinků.

Stabilizace a aktivace endogenního proteinu p53 bez indukce poškození DNA je jedním z přístupů, který by mohl umožnit účinnější terapii některých typů nádorových onemocnění, která málo reagují na léčbu konvenčními chemoterapeutiky. Příkladem je maligní melanom kůže, který patří mezi zhoubná nádorová onemocnění, jejichž výskyt v naší populaci prudce narůstá. Tento typ nádoru se v rozvinutém stadiu vyznačuje vysokou radiorezistencí a chemorezistencí, a proto u něj klasická léčba často selhává.

Nedávno byla publikována práce ukazující, že syntetické inhibitory cyklin – dependentních kinas (CDK) 6-(benzylamino)-2-[2-(hydroxyethyl)amino]-9-methylpurin (olomoucín) a 6-(benzylamino)-2-[1-(hydroxyethyl)propylamino]-9-isopropylpurin (roscovitín) velmi účinně stabilizují nemutovaný protein p53 u buněčných linií ve 40 μ M, respektive 20 μ M koncentraci v kultivačním médiu, aniž by přitom docházelo k poškození DNA (cit.³⁸). Přesný mechanismus jejich působení není znám, předpokládá se účast dosud nespecifikované biochemické dráhy regulované CDK, jejíž zablokování vede ke stabilizaci a aktivaci p53. Naše vlastní výsledky dokazují, že protein p53 indukovaný roscovitinem v buňkách maligního melanomu je transkripčně aktivní a zodpovědný za expresi proteinu p21^{WAF1}, který je sám o sobě také inhibitorem CDK. Protože je aktivita CDK nutná pro normální průběh buněčného cyklu, předpokládáme, že by indukovaný p21^{WAF1} mohl dále zesílit inhibiční účinek roscovitinu na dělení buněk. Dalším účinným stabilizátorem proteinu p53 je 2-methoxy-estradiol, přirozený produkt metabolismu estrogenu, který působí zatím neobjasněným mechanismem již v 1 μ M koncentraci v kultivačním médiu³⁹. U této látky bylo navíc prokázáno, že výrazně zesiluje účinek radioterapie na určitý typ nádorového onemocnění plic⁴⁰.

5. Závěr

Od objevu proteinu p53 uplynulo již více než dvacet let, přesto však můžeme stěží říci, že o jeho úloze v regulaci buněčných procesů víme vše. Intenzivní studium p53 přináší stále nové informace, které formují náš pohled na řízení procesů vedoucích k nádorové transformaci buňky. Znalost mechanismů ovlivňujících degradaci proteinu p53 proteasomem a regulujících jeho transkripční aktivitu má význam pro vývoj nových účinnějších chemických látek pro léčbu nádorových onemocnění, a proto jsme se v této práci pokusili o shrnutí nejvýznamnějších z těchto mechanismů.

Tato práce vznikla za podpory grantů IGA MZ ČR č. NC 6404-3 a GA ČR č. 312/99/1550.

LITERATURA

1. Wiman K. G.: Exp. Cell Res. 237, 14 (1997).
2. Amundson S. A., Myers T. G., Fornace A. J.: Oncogene 17, 3287 (1998).
3. Tanaka H., Arakawa H., Yamaguchi T., Shiraishi K., Fukuda S., Matsui K., Takei Y., Nakamura Y.: Nature 404, 42 (2000).
4. Wang Q., Beck W. T.: Cancer Res. 58, 5762 (1998).
5. Bouvet M., Ellis L. M., Nishizaki M., Fujiwara T., Liu W., Bucana C. D., Fang B., Lee J. J., Roth J. A.: Cancer Res. 58, 2288 (1998).
6. Maki C. G., Huibregtse J. M., Howley P. M.: Cancer Res. 56, 2649 (1996).
7. Barak Y., Juven T., Haffner R., Oren M.: EMBO J. 12, 461 (1993).
8. Freedman D. A., Levine A. J.: Mol. Biol. Cell 18, 7288 (1998).
9. Roth J., Dobbelsstein M., Freedman D. A., Shenk T., Levine A. J.: EMBO J. 17, 554 (1998).
10. Tao W., Levine A. J.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96, 3077 (1999).
11. Jones S. N., Roe A. E., Donehower L. A., Bradley A.: Nature 378, 206 (1995).
12. Montes de Oca Luna R., Wagner D. S., Lozano G.: Nature 378, 203 (1995).
13. de Rozieres S., Maya R., Oren M., Lozano G.: Oncogene 19, 1691 (2000).
14. Midgley C. A., Lane D. P.: Oncogene 15, 1179 (1997).
15. Yu Z. K., Geyer R. K., Maki C. G.: Oncogene 19, 5892 (2000).
16. Scheffner M., Werness B. A., Huibregtse J. M., Levine A. J., Howley P. M.: Cell 63, 1129 (1990).
17. Scheffner M., Huibregtse J. M., Vierstra R. D., Howley P. M.: Cell 75, 495 (1993).
18. Talis A. L., Huibregtse J. M., Howley P. M.: J. Biol. Chem. 273, 6439 (1998).
19. Lakin N. D., Hann B. C., Jackson S. P.: Oncogene 18, 3989 (1999).
20. Unger T., Juven-Gershon T., Moallem E., Berger M., Vogt Sionov R., Lozano G., Oren M., Haupt Y.: EMBO J. 18, 1805 (1999).
21. Shieh S. Y., Ahn J., Tamai K., Taya Y., Prives C.: Genes Dev. 14, 289 (2000).
22. Liu Q., Guntuku S., Cui X. S., Matsuoka S., Cortez D.,

- Tamai K., Luo G., Carattini-Rivera S., DeMayo F., Bradley A., Donehower L. A., Elledge S. J.: *Genes Dev.* **14**, 1448 (2000).
23. Honda R., Yasuda H.: *EMBO J.* **18**, 22 (1999).
 24. Lu X., Burbidge S. A., Griffin S., Smith H. M.: *Oncogene* **13**, 413 (1996).
 25. Blaydes J. P., Craig A. L., Wallace M., Ball H. M., Traynor N. J., Gibbs N. K., Hupp T. R.: *Oncogene* **19**, 3829 (2000).
 26. Momand J., Zambetti G. P., Olson D. C., George D., Levine A. J.: *Cell* **69**, 1237 (1992).
 27. Oliner J. D., Pietenpol J. A., Thiagalingam S., Gyuris J., Kinzler K. W., Vogelstein B.: *Nature* **362**, 857 (1993).
 28. McLure K. G., Lee P. W.: *EMBO J.* **17**, 3342 (1998).
 29. Hupp T. R., Meek D. W., Midgley C. A., Lane D. P.: *Cell* **71**, 875 (1992).
 30. Marston N. J., Ludwig R. L., Vousden K. H.: *Oncogene* **16**, 3123 (1998).
 31. Pospíšilová S., Brázda V., Amrichová J., Kamermeierová R., Paleček E., Vojtěšek B.: *J. Immunol. Methods* **237**, 51 (2000).
 32. Hupp T. R., Sparks A., Lane D. P.: *Cell* **83**, 237 (1995).
 33. Selivanova G., Iotsova V., Okan I., Fritsche M., Strom M., Groner B., Grafstrom R. C., Wiman K. G.: *Nat. Med.* **3**, 632 (1997).
 34. Blaydes J. P., Luciani M. G., Pospíšilová S., Ball H. M., Vojtěšek B., Hupp T. R.: *J. Biol. Chem.* **14**, 14 (2000).
 35. Baudier J., Delphin C., Grunwald D., Khochbin S., Lawrence J. J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **89**, 11627 (1992).
 36. Sakaguchi K., Herrera J. E., Saito S., Miki T., Bustin M., Vassilev A., Anderson C. W., Appella E.: *Genes Dev.* **12**, 2831 (1998).
 37. Sionov R. V., Haupt Y.: *Oncogene* **18**, 6145 (1999).
 38. David-Pfeuty T.: *Oncogene* **18**, 7409 (1999).
 39. Mukhopadhyay T., Roth J. A.: *Oncogene* **17**, 241 (1998).
 40. Huober J. B., Nakamura S., Meyn R., Roth J. A., Mukhopadhyay T.: *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **48**, 1127 (2000).

S. Uldrijan, V. Kotala, and B. Vojtěšek (*Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno*): **Regulation of the p53 Tumour Suppressor Stability and Activity**

The p53 tumour suppressor protein plays a crucial role in regulating cell growth and death in response to various types of cellular stress. The loss of its function is the most common event leading to the development of cancer. In normal cells, p53 is present at low levels because the protein is rapidly degraded by the ubiquitin-mediated proteasome pathway following the synthesis. Stress-induced signals inhibit p53 degradation, leading to its rapid stabilization and accumulation in the cell, and followed by its activation by mechanisms including phosphorylation and acetylation. The complexity of the pathways regulating p53 stabilization and activation as well as possible p53 activation in response to small chemical compounds used in certain experimental anti-cancer therapy approaches are discussed in this review.