



# Специфични аспекти в проучването на онкогенезата и метастазирането на ларингеален плоскоклетъчен карцином

*Specific aspects of researching the oncogenesis and metastasizing potential of laryngeal squamous cell carcinoma.*

---

В. Маринов, Р. Кънева, Г. Станчева, Д. Кисова  
Медицински университет – София, Медицински факултет

V. Marinov, R. Kaneva, G. Stancheva D. Kisova  
Medical University Sofia, Medical Faculty

---

## Abstract

Malignant tumor metastasizing, comprised of several consecutive steps beginning with local cancer cell invasion, is a key factor which compromises the prognosis of cancer patients and is responsible for 90% of the lethal outcome. 2/3 of our diagnosed patients show with locally advanced process and/or metastatic disease (stage III/IV).

Researching key molecular and cellular mechanisms tied to development and metastasizing of laryngeal squamous cell carcinoma is of clinical importance to developing and using molecular target therapy.

Based on popular literature studies the emphasize was put on the following genes: TP53, CDKN2A – accentuating on exons 1,2,3, and PIK3CA – exons 9, 20, as primarily connected to the higher mutation potential of laryngeal squamous cell carcinoma.

Researching the genetic similarity between carcinoma and metastasis could potentially help understanding the genotype and mutation potential of Head and Neck squamous cell carcinomas. The practical potential use of this knowledge is the developing of predictive markers and better therapeutic algorithms for diagnosed patients.

**Key words:** Head and Neck squamous cell carcinoma, metastasizing, genotype, mutation potential, target therapy, predictive markers

## Резюме

Туморното метастазиране, включващо няколко последователни стъпки, започвайки от инвазия на раковите клетки в околните тъкани, е ключовият фактор, който компрометира прогнозата на раково болните пациенти и отговаря за 90% от смъртността. 2/3 от диагностицираните пациенти са с локално авансирал процес и/или метастатична болест (стадий III или IV).

Проучването на молекулярни и клетъчни механизми, водещи до формирането и метастазирането на плоскоклетъчния карцином от ларингеален произход, би било от клинична полза за разработването на молекулярна таргетна терапия.

На базата на обширен литературен обзор акцентът е поставен върху следните гени – TP53, CDKN2A – exons 1,2,3 and PIK3CA – exons 9, 20, като потенциални отговорници за повишаване метастатичния потенциал на плоскоклетъчния карцином от ларингеален произход.

Изследването на генетично сродство между карцином и метастаза би имало теоретичен принос към опознаването на генотипа и мутационния статус на плоскоклетъчните карциноми на глава и шия, чийто практически потенциал се изразява като прогностична стойност за преживяемостта на онкоболните и подобряване на терапевтичния алгоритъм при диагностицирани пациенти.

**Ключови думи:** плоскоклетъчен карцином на глава и шия, метастазиране, генотип, мутационен статус, таргетна терапия, прогностична стойност.

Cancerous lesions of the Head and Neck region are the sixth most common oncological disease in male patients worldwide. The laryngeal squamous cell carcinoma is the second most common carcinoma affecting the respiratory system after lung cancer. High risk factors for developing laryngeal cancer are usage of large quantities of Tabaco products and alcohol consumption. In the last decades, there has been a big progress in diagnostics and treatment of these types of diseases, but nonetheless tumors in that anatomical region are being diagnosed in advanced stage, which worsens the patient's prognosis.

Tumor metastasizing is a complex process involving several consecutive steps, beginning with local tissue invasion. Metastasizing is a key factor that worsens the prognosis of cancer patients, and is responsible for 90 % of lethality. 2/3 of diagnosed patients are with locoregionally advanced malignant process and/or metastatic disease (stage III or IV).

Life expectancy of cancer patients is determined by locoregional re-emergence, tumor persistence, presence of distant metastasis or formation of a second primary site.

Metastasizing is by far the most significant prognostic factor, as the involvement of the regional lymph nodes decreases the survival rate by 40 % (Mirisola et al., 2011). The patients with laryngeal carcinoma and positive neck lymph nodes have a shorter remission period and worse overall prognosis compared to other cancer patients. This imposes the need to identify molecular aberrations that induce invasiveness and metastatic potential. Research done until now is focused on the entire genome or separate genes, without accentuating on the pathways of metastasizing and tissue invasion. Developing new prognostic and diagnostic methods is of key importance to raising the survival rates of these patients. Innovations in genomics and molecular medicine lead to considerable improvement in our understanding of the initiation and progression of the oncogenesis. Discovering more insufficiently researched key molecular and cellular mechanisms tied to development of laryngeal squamous cell carcinoma is key to developing and using molecular target therapy.

Раковите образувания на глава и шия се нареждат на шесто място по честота на заболяемост при мъжете в световен мащаб, като плоскоклетъчният ларингеален карцином е вторият по честота след рака на белия дроб в областта на дихателната система. Високорисковите фактори за развитие на ларингеален карцином са употребата и консумацията на големи количества тютюневи изделия и алкохолни напитки. През последните десетилетия се развиха диагностичните подходи и лечение при тези заболявания, но въпреки напредъка на медицината туморите в тази област се диагностицират в авансирал етап от развитието им, което води до лоша прогноза за преживяемост при тези пациенти.

Туморното метастазиране, включващо няколко последователни стъпки, започвайки от инвазия на раковите клетки в околните тъкани, е ключовият фактор, който компрометира прогнозата на раково болните пациенти и отговаря за 90% от смъртността. 2/3 от диагностицираните пациенти са с локално авансирал процес и/или метастатична болест (стадий III или IV). Преживяемостта на пациентите се определя от локо-регионалното повторно появяване на процеса, персистенция на процеса, поява на далечни метастази или втори първичен тумор. Локалната инвазия и метастазирането на раковите клетки са основни причини за смърт. Метастазирането е най-сигнификантният прогностичен фактор, като обхващането на лимфните възли от процеса понижава преживяемостта с около 40% (Mirisola et al., 2011). Пациентите с ларингеален карцином и засягане на шийните лимфни възли имат по-малък интервал на ремисия и по-лоша цялостна прогноза. Това, от своя страна, налага идентифицирането на молекулярни аберации, индициращи инвазивност и метастатичен потенциал. Проучванията, провеждани до момента, са насочени или изцяло към целия геном, или към отделни гени, без конкретно внимание към пътищата на метастазиране и инвазия. Намирането на нови прогностични и диагностични методи е от ключово значение за повишаването преживяемостта на тези пациенти. Новости в геномиката и молекулярната медицина водят до значителен прогрес при познанията в инициацията и прогресията на онкогенезата. Имайки предвид не докрай изяснените ключови молекулярни и клетъчни механизми, водещи до плоскоклетъчен карци-



A global initiative of the medical research community is to develop a genome profile as a means of understanding, classification, and treating the head and neck carcinomas. The aim of a future study is to pick a set of genes, known to be responsible for elevating the metastatic potential of laryngeal squamous cell carcinoma.

Researching the genetic similarity between carcinoma and metastasis could potentially help understanding the genotype and mutation potential of head and neck squamous cell carcinomas. The practical potential use of this knowledge is the developing of predictive markers and better therapeutic algorithms for diagnosed patients.

On a molecular level SCC with laryngeal origin is a complex and heterogeneous disease, associated with multiple genetic anomalies – oncogenes, tumor suppressor genes, loss of heterozygosity in multiple chromosome locations, defects in angiogenic factors expression, as well as processes associated with genetic modulation of the extracellular matrix, proteolysis and epigenetic processes like methylation.

Proto-oncogenes can encode growth factors, the growth factor receptors, transcription factors, components of the cell cycle, etc. Oncogenes encode oncoproteins, which have similar functions as the normal non-mutant proteins, with one key difference – the mutant forms are permanently activated. The result of that mutation is self-sufficiency of the cell in relation to growth and proliferation.

The most common mutations concerning the cellular signal transduction pathways affect the tyrosine kinase signalization, starting with the tyrosine-kinase receptors (grow factor receptors). Tyrosine kinase receptors are transmembranous proteins with extracellular ligand binding domain and cytoplasmatic tyrosin kinase domain. In regular conditions, the receptor is transiently active due to the binding of a specific growth factor with the extracellular domain, which in turn leads to change of its conformation, dimerization and activation. The activated receptor autophosphorylates the tyrosine residues on the intracellular tail, which recruits var-

ном от ларингеален произход (ЛПКК), проучването на подлежащите механизми би било от клинична полза за разработването на молекулярна таргетна терапия.

В световен мащаб науката върви към изготвянето на геномен профил като подход към разучаването, класифицирането и третирането на карциноми на глава и шия.

Цел на бъдещо проучване е подборане на набор от гени, отговорни за повишаване на метастатичния потенциал на плоскоклетъчния карцином от ларингеален произход. Изследването на генетично сродство между карцином и метастаза би имало теоретичен принос към опознаването на генотипа и мутационния статус на плоскоклетъчните карциноми на глава и шия, чийто практически потенциал се изразява като прогностична стойност за преживяемостта на онкоболните и подобряване на терапевтичния алгоритъм при диагностицирани пациенти.

На молекулно ниво ПКК от ларингеален произход е комплексно и хетерогенно заболяване, свързано с множество генетични аномалии, асоциирани както с онкогени, тумор супресорни гени, загуба на хетерозиготност на множество хромозомни локации, увреда експресията на ангиогенезни фактори, така и с процеси, свързани с модулация на екстрацелуларния матрикс, протеолиза и епигенетични процеси като метилиране. Протоонкогените могат да кодират растежни фактори, самите рецептори на растежните фактори, транскрипционни фактори, компоненти на клетъчния цикъл и прочие. Онкогените кодират онкопротеини, които имат сходна функция като нормалните немутантни форми, с тази разлика, че са перманентно активирани. Резултатът е самодостатъчност на клетката по отношение на растежа и пролиферацията.

Най-честите мутации в клетъчните пътища за сигнална трансдукция засягат тирозинкиназната сигнализация, започвайки от т.нар. тирозинкиназни рецептори (*grow factor receptors*). Тирозинкиназните рецептори са трансмембранни протеини с екстрацелуларен, лиганд-свързващ домен и цитоплазмен тирозин киназен домен. В нормални условия рецепторът е преходно активен чрез свързване на специфичен растежен фактор с извънклетъчния домен, което води до промяна в конформацията на рецептора, неговата димеризация и съответно активация. Активираният рецептор автофосфорилира

ious signal molecules.

Some of the most important molecules in that relation are RAS and PI3K (12).

Phosphoinositide 3-kinase (PI3K) signal pathway is of crucial importance to head and neck malignancies. The PI3K pathway is reported as one of the most commonly mutated signal pathways. PI3K is a heterodimer, consisting of regulatory and catalytic subunits. PI3K activates a series of serine/threonine kinases, including AKT, activating mTOR-stimulating the lipid and protein synthesis. PTEN is a tumor suppressor, negative regulator of PI3K and a frequent object of mutation.

In regular conditions, the signal transduction pathway promotes cell survival, growth, development and differentiation. Changes in the PI3K signal pathway are present on not only a molecular level, but also show changed protein expression in patients suffering from Head and Neck cancer. These changes lead to a documented drug resistance towards anti-tyrosine kinase target therapy. Cell lines with wild type PIK3CA show better sensitivity towards EGFR (erlotinib) tyrosine kinase inhibitors in comparison to the mutant gene. Molecules,

тирозиновите остатъци на интрацелуларната си опашка, което служи за рекруйтмънт на сигнални молекули.

Едни от най-важните молекули в това отношение са *RAS* и *PI3K* (12).

Фосфоинозитид 3-киназият (*PI3K*) сигнален път е от особено значение при раковите заболявания на главата и шията, докладван като един от най-често мутиралите сигнални пътища. *PI3K* е хетеродимер, състоящ се от регулаторна и каталитична субединици. Активира серия от серин/треонин кинази, вкл. *AKT*, активиращ *mTOR* – стимулира липидната и протеинова синтеза. *PI3K* бива негативно регулиран от тумор-супресора *PTEN* – чест обект на мутации.

При нормални условия сигналният път промотира клетъчното оцеляване, растежа, развитието и диференциацията. Промени в *PI3K* сигналния път са установени както на генетично, така и на белтъчно ниво при ракови заболявания на главата и шията, като в допълнение е установено, че промени водят до резистентност към анти-тирозинкиназна прицелна терапия. Кетъчните линии с wild type PIK3CA (див тип, т.е. без мутация) показват по-добра чувствителност към тирозинкиназни инхибитори на EGFR (erlotinib) в

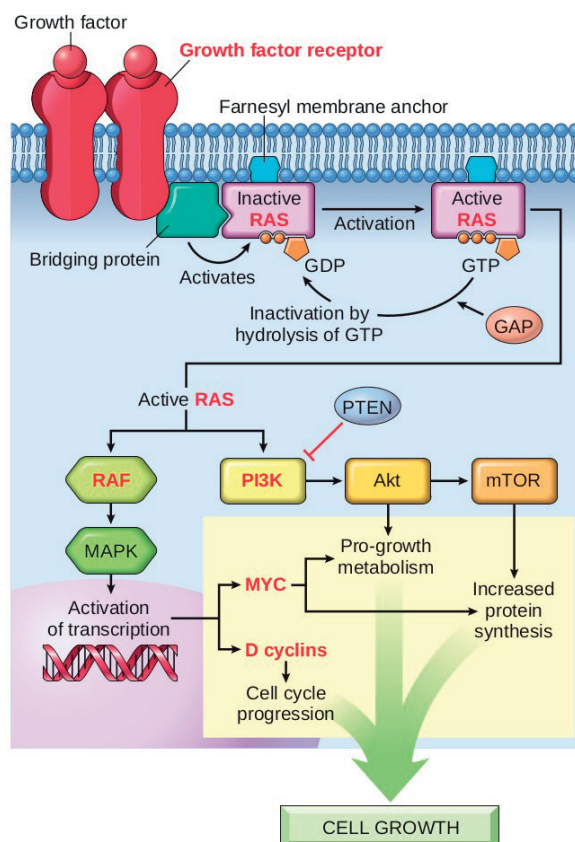


Fig. 1.  
Фиг. 1.





participating in the PI3K pathway include epidermal growth factor receptor (EGFR), G-proteins, PI3K-activators (PIP2, PIP3), Akt, mTOR and PTEN (5). Research papers describe amplifications of the genes taking part in the PI3K pathway, as well as their overexpression. Out of these key genes – PIK3CA codes the catalytic subunit p110 $\alpha$ , which is one of the most commonly mutated components in this pathway.

In Head and Neck carcinomas, PIK3CA mutations are mainly focused on kinase domain: exon 9 and helicase domain: exon 20 (6, 7), with described frequency about 17%. Hot-spot mutations, concerning exon 9 of end amino acid E524 and E545, as well as exon 20: H1047, are the most commonly observed changes in cancer. (5) Overexpression and changes in number of copies are also documented. Various innovative PI3K-inhibitors are being developed in the last decade, such as Buparlisib (BKM20) (8), PX-866 (10), Copanlisib (BAY 80–6946) (11) etc, which is a proof of the promising potential of this molecule being used in a precised target therapy.

Other types of defects, stimulating oncogenesis are loss-of-function mutations of tumor suppressor genes that inhibit G1/S cell cycle progression. Such gene is CDKN2A, located on 9p21, taking part in the early stages of laryngeal cancer development. It is commonly affected, up to 80% of Head and Neck cancers show deletions, hypermethylation, silencing and other mutations. The CDKN2A gene encodes two protein substrates that are functionally connected: p16INK4A and p14ARF. P16 binds specifically CDK4/CDK6, which suppresses the catalytic activity of the CDK/CyclinD1 complex, needed for the Rb1 phosphorylation. This way G1/S cell cycle progression gets inhibited.

In a research done by Guervósa and co., including 56 laryngeal and pharyngeal tissue samples, is reported that the most common deletions were found in CDKN2A(9p21) and MLH1(3p22), the changes were found in early as well as advanced stages of the cancerous growth. (1). These results lead us to

сравнение с мутантния ген. Молекулите, които участват в PI3K сигналния път, включват тирозин кинази като епидермален растежен фактор (EGFR), G-протеини, PI3K-активатори (PIP2; PIP3), Akt, mTOR и PTEN (5). Изследвания в областта описват мутации, амплификации на гените, участващи в него, както и тяхната свръхекспресия. От тези ключови гени – PIK3CA кодира каталитичната единица p110 $\alpha$ , която е един от най-често мутиралите компоненти от този сигнален път. При раковите заболявания на главата и шията PIK3CA мутациите основно се фокусират върху киназен домейн: екзон 9 и хеликазен домейн: екзон 20 (6,7) като описаната честота е около 17% при тези заболявания. Хот-спот мутациите, наблюдавани в екзон 9 на аминокиселиннен остатък E524 и E545, както и в екзон 20: H1047, са най-често срещаните промени при раковите заболявания (5). Повишените нива на експресия, както и промени в броя копия също са докладвани при глава и шия. През последното десетилетие различни иновативни PI3K-инхибитори са развити, като Buparlisib (BKM20) (8), PX-866 (10), Copanlisib (BAY 80–6946) (11) и др., което показва, че тази молекула има обещаващ потенциал за прецизирана таргетна терапия.

Друг тип дефекти, стимулиращи онкогенезата, са loss-of-function мутации на тумор супресорни гени, инхибиращи G1/S прогресията на клетъчния цикъл.

Такъв е генът CDKN2A, който е локализиран в 9p21 хромозомен регион, и е установено, че участва в ранните етапи от развитие на ларингеалната канцерогенеза. Често е засегнат: до 80% при раковите заболявания на глава и шия – делетиран, хиперметиран, заглушен (silenced) или мутирал. CDKN2A генът кодира два белтъчни продукта, които са функционално свързани: p16INK4A и p14ARF. P16 специфично свързва CDK4/CDK6, което потиска каталитичната активност на CDK/CyclinD1 комплекса, необходим за фосфорилирането на Rb1. По този начин се инхибира прогресията на клетъчния цикъл от G1 към S фазата.

В изследване на Guervósa и колеги, включващо 56 ларингеални и фириногеални проби, докладват, че най-често срещани делеции се откриват при CDKN2A (9p21) и MLH1 (3p22), като честотата на детектираните промени се среща както в начални, така и в напреднати стадии на

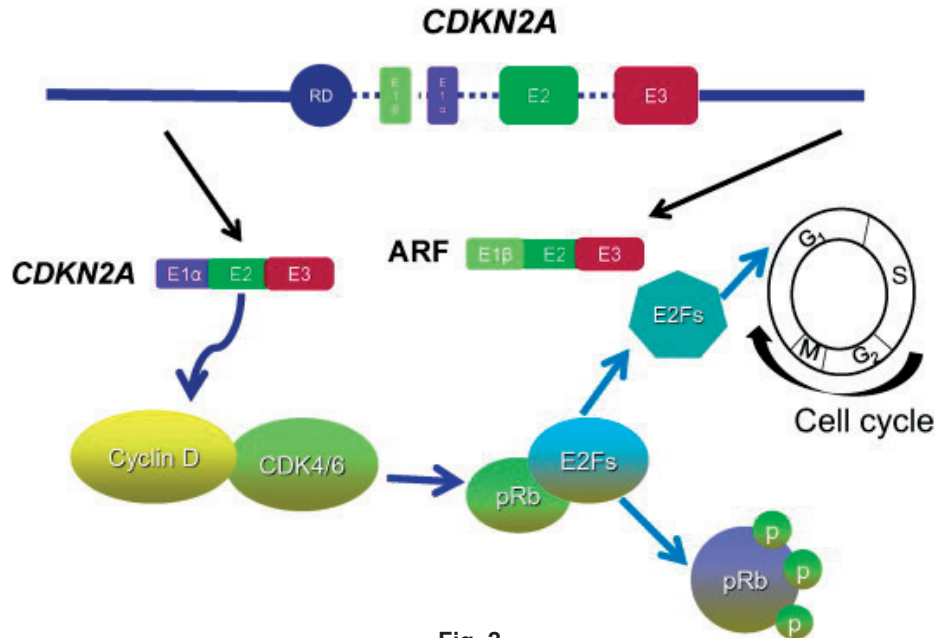


Fig. 2.  
Фиг. 2.

the hypothesis, that changes in both genes occur in the earliest stages of laryngeal and pharyngeal cancer genesis, and could potentially be used as prognostic markers for initiation and progression of malignancy.

P53 is a tumor suppressor, which induces arrest of the cellular cycle through p21 and activates the apoptosis via inducing the transcription of pro-apoptosis genes such as BAX. P53 inhibits G1/S progression and is the main component of the G2/M checkpoint (13.)

изследваните ракови проби (1). Тези резултати водят до хипотезата, че промени в двата гена възникват още в начални етапи на ларингеална и фарингеална канцерогенеза и могат потенциално да се използват като биомаркери за възникване и развитие на ранна злокачественост.

P53 е туморен супресор, който чрез p21 предизвиква арест на клетъчния цикъл и активира апоптозата чрез индукция на транскрипцията на про-апоптични гени като BAX. P53 инхибира G1/S прогресията и е основен компонент на G2/M чекпойнта (13.)

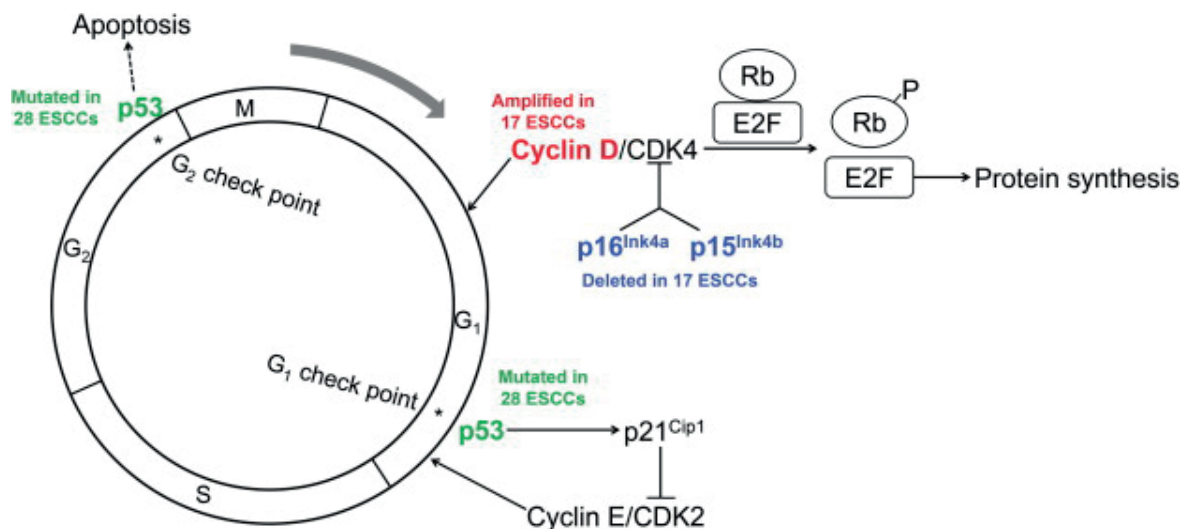


Fig. 3.  
Фиг. 3.



The frequency of TP53 mutations varies in the research data from 30% to 70 % due to the tumor heterozygosity of head and neck cancers(2). Recent study, using new age sequencing confirms, that TP53 is one of the most often mutating tumor suppressor genes. The frequency of mutations in the TP53 gene is positively associated with HPV-negative carcinomas (3). The laryngeal and pharyngeal tumors show a higher frequency of TP53 mutations (85%) in relation to those of tongue and oral cavity (75,6%). The salivary glands tumors and tumors at the base of the tongue have the lowest frequency (28,6%)(2). Scientific advancements in this field establish that the majority of mutations taking place in the TP53 gene in Head and Neck squamous cell carcinoma (HNSCC) are missense, often involving the central DNA-binding region of the p53 protein, the most common mutations being localized in codons R248,R273,G245, R175, R282 and H179 and described as hotspot mutations. TP53 mutations are commonly observed in precancerous lesions (4) and scientific publications present that mutations in the TP53 gene do not differ from those in lymph node metastases. These results indicate the early onset of TP53 mutations, initiating a stepwise expansion and progression of cancer development. (2) Publication reports emphasize on gene deletion of N33, TP53, STK11 in patients with lymph node metastases, adding that TP53 gene deletion correlates with positive lymph nodes in laryngeal cancer, but are not observed in pharyngeal tumors.

Genetic changes that are the foundation of laryngeal carcinogenesis as well as the mechanisms responsible for metastasizing in the Head and Neck region are not yet fully understood. Genetic markers, that could be used in the clinical practice as a prognostic tools for determining metastatic potential have not yet been established. Research done on tissue samples from primary site and metastatic lymph node obtained by surgical excision and comparing their genetic status could potentially lead to better understanding of the mechanisms behind cancer progression and probably lead to the discovery of new genes associated with higher metastatic capacity.

Честотата на TP53 мутациите варира в изследваните научни извадки от 30 до 70% поради туморната хетерогенност на заболяванията на глава и шия (2). Скорошно проучване посредством секвениране от ново поколение потвърждава, че TP53 е един от най-често мутиращите тумор супресорни гени, като честотата на мутации положително се асоциира с HPV-негативни карциноми (3). В допълнение туморите на ларинкса и хипофаринкса показват по-висока честота на TP53 мутации (85%) в сравнение с тези на езика и устната кухина (75.6%), а слюнчените жлези и базата на езика са с най-ниска честота на срещане (28.6%) (2). С напредването на изследванията в областта повечето от мутациите в TP53 гена при рак на главата и шията са миссенс, често възникващи в централния ДНК-свързващ регион на p53 белтъка, като едни от най-честите мутации са локализирани в кодони R248, R273, G245, R175, R282, и H179 и се определят като hotspot мутации. TP53 мутации често се откриват в премалигнени лезии (4) и в допълнение е публикувано, че мутациите в TP53 гена не се различават от тези в съответните лимфни метастази. Тези резултати индикират ранното възникване на TP53 мутации, които водят до стъпаловидна експанзия и прогресия на раковия процес (2). В литературата се докладват делеции на гените N33, TP53, STK11 при пациенти с наличие на лимфни метастази, като делеции на гена TP53 корелират с положителен статус на лимфни метастази при рак на ларинкса, но не и фарингеални тумори.

Генетичните промени, които лежат в основата на ларингеалната канцерогенеза, както и метастатичните механизми в тази област са все още не напълно изяснени и не са открити генетични маркери, които могат да се използват в медико-биологичната и клинична практика с цел диагностициране присъствие или отсъствие на лимфни метастази. Хипотетично изследвайки биопсични материали от първичен тумор от ларинкс и материал от шийна метастаза, взети по време на оперативна лечебна интервенция, и сравняването на генетичния им статус би допринесло за изясняването на онкопрогресията на заболяването и потенциалното откриване на гени, асоциирани с по-висок метастатичен потенциал.

## References

1. Guervós MA, Marcos CÁ, Hermesen M, Nuño AS, Suárez C, Llorente JL. Deletions of N33, STK11 and TP53 Are Involved in the Development of Lymph Node Metastasis in Larynx and Pharynx Carcinomas [Internet]. *Analytical Cellular Pathology*. 2007 [cited 2018 Nov 16]. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/acp/2007/635962/abs/>
2. Zhou G, Liu Z, Myers JN. TP53 Mutations in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma and Their Impact on Disease Progression and Treatment Response. *J Cell Biochem* [Internet]. 2016 Dec [cited 2018 Nov 19];117(12):2682–92. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5493146/>
3. Agrawal N, Frederick MJ, Pickering CR, Bettegowda C, Chang K, Li RJ, et al. Exome sequencing of head and neck squamous cell carcinoma reveals inactivating mutations in NOTCH1. *Science*. 2011 Aug 26;333(6046):1154–7.
4. Boyle JO, Hakim J, Koch W, van der Riet P, Hruban RH, Roa RA, et al. The incidence of p53 mutations increases with progression of head and neck cancer. *Cancer Res*. 1993 Oct 1;53(19):4477–80.
5. Cai Y, Dodhia S, Su GH. Dysregulations in the PI3K pathway and targeted therapies for head and neck squamous cell carcinoma. *Oncotarget* [Internet]. 2017 Jan 18 [cited 2018 Nov 16];8(13):22203–17. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5400658/>
6. Qiu W, Tong G-X, Manolidis S, Close LG, Assaad AM, Su GH. Novel mutant-enriched sequencing identified high frequency of PIK3CA mutations in pharyngeal cancer. *Int J Cancer*. 2008 Mar 1;122(5):1189–94.
7. Qiu W, Schönleben F, Li X, Ho DJ, Close LG, Manolidis S, et al. PIK3CA mutations in head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2006 Mar 1;12(5):1441–6.
8. Kong D, Yamori T, Yamazaki K, Dan S. In vitro multifaceted activities of a specific group of novel phosphatidylinositol 3-kinase inhibitors on hotspot mutant PIK3CA. *Invest New Drugs*. 2014 Dec;32(6):1134–43.
10. Ihle NT, Williams R, Chow S, Chew W, Berggren MI, Paine-Murrieta G, et al. Molecular pharmacology and antitumor activity of PX-866, a novel inhibitor of phosphoinositide-3-kinase signaling. *Mol Cancer Ther*. 2004 Jul;3(7):763–72.
11. Liu N, Rowley BR, Bull CO, Schneider C, Haegerbarth A, Schatz CA, et al. BAY 80–6946 is a highly selective intravenous PI3K inhibitor with potent p110 $\alpha$  and p110 $\delta$  activities in tumor cell lines and xenograft models. *Mol Cancer Ther*. 2013 Nov;12(11):2319–30.
12. Pylayeva-Gupta Y, Grabocka E, Bar-Sagi D: RAS oncogenes: weaving a tumorigenic web. *Nat Rev Cancer* 11:761–74, 2011. [A description of how RAS oncogenes activate multiple downstream signaling pathways to drive cellular transformation and oncogenesis]
13. Goh AM, Coffill CR, Lane DP: The role of mutant p53 in human cancer. *J Pathol* 223:116–26, 2011. [Discussion of emerging oncogenic roles of mutant p53 proteins]

фиг. 1. ROBBINS AND COTRAN PATHOLOGIC BASIS OF DISEASE, Ninth Edition ISBN: 978–1-4557–2613–4

фиг. 2. R. Zhao, B. Choi, M. Lee, A. Bode and Z. Dong, Implications of Genetic and Epigenetic Alterations of CDKN2A (p16 ) in Cancer, *EBioMedicine* (2016). Vol. 8

фиг. 3. Qiyan, Wang & Bai, Jian & Abliz, Amir & Liu, Ying & Gong, Kenan & Li, Jingjing & Shi, Wenjie & Pan, Yaqi & Liu, Fangfang & Lai, Shujuan & Yang, Haijun & Lu, Changdong & Zhang, Lixin & Chen, Wanwan & Xu, Ruiping & Cai, Hong & Ke, Yang & Zeng, Changqing. (2015). An Old Story Retold: Loss of G1 Control Defines A Distinct Genomic Subtype of Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Genomics, proteomics & bioinformatics*. 13. 10.1016/j.gpb.2015.06.003.

