p53: دوره في حراسة المحتوى المورثي وفي الاستماتة الخلوية وكبح التسرطن (مراجعة في الأدب الطبي)

مايا بسام الجوخدار*

الملخص

يعدُّ البروتين p53 حارساً لمحتوى الخلية المورثي من أي تبدل، ووصفت المورثة التي تنتجه بالكابحة للورم.يتحقق البروتين من وجود أي خلل في دورة الخلية، وفي حال وجود الخلل يسهم الـــ p53 بإصلاحه وتحفيز نسخ بعض البروتينات المهمة في الإصلاح، وفي حال إخفاق الخلية في الإصلاح فإنه يقودها للاستموات. خروج الخلية عن هذه السلسلة الطبيعية واستمرارها بالمقاومة والتكاثر يجعلها خلية ورمية مما يجعل الـــp53 موضوعاً دراسياً عالي الأهمية.

* قسم النسج والتشريح المرضي - كلية طب الأسنان- جامعة دمشق.

P53:Its Role As Gardian of The Genome and in Apoptosis and Antioncogenesis

Maya Bassam Joukadar*

Abstract

P53 is the guardian of genome from any alteration, its gene is called tumor suppressor gene . p53 checks any alteration in cell cycle ,and if the alteration happened p53 resolves or shares in activation proteins important in resolving , if the cell couldn't resolve the alteration p53 leads it to apoptosis . goingthe cell out of this nature cycle and continuing its resistance and proliferation makes it a tumor celland that make p53 very important study.

* Department, Dentistry School, Damascus University.

1- المورثة الكابحة للورم *TP53*:

تدعى بالمورثة الحارسة للجينوم، وتتألف من 20 kb من الـــ DNA ، مكانها على الذراع القصير للصبغي السابع عشر في الموقع 17p13.1.

2- طفرات المورثة *TP53*:

أكدت دراسة أجريت في مركز أندرسون للسرطان-جامعة تكساس ترافق طفرة الـــ ***TP53*** في 45% من حالات سوء التصنع[1]، تعدُّ طفرة هذه المورثة هي الأكثر شيوعاً بين الأورام البشرية فتبلغ نسبة وجودها 50% [2,3]، وسجلت عدد الطفرات التي تصيب هذه المورثة بـــ 7500 طفرة في الأورام كلّها عند البشر[4].

تختلف نسبة وجود هذه الطفرة بين السرطانات: فهي 70% في سرطان الرئة و65% في سرطان الكولون و50% في السرطان شائك الخلايا للرأس والعنق[1] و45%في سرطان المعدة و 30% في سرطانات الثدي والبروستات[4]، وقد تُضمِر الأورام التي نادراً ما تحتوي على طفرة في الـــ *TP53* بعض التغيرات الأخرى التي تعطل سبيل الـــ p53[5].

في معظم هذه الحالات السرطانية التي تطفر فيها المورثة ***TP53*** يطفر كلا أليليها سواء كان سبب هذه الطفرة وراثياً أم مكتسباً؛ وذلك يتفق مع نظرية نودسون Knudson الضربة المضاعفة "two hits" . طفرة المورثة تنتج بروتيناً معيباً (طافراً) ذا نصف عمر زائد[5].

3- البروتين p53:

1- لمحة تاريخية عن البروتين p53:

عرف البروتين p53 منذ عام1979على أنه بروتين خلوي يمكن أن يترافق مع المستضد large T للفيروس Simian virus 40 (SV40)[6,7]، وقد افترض بسبب هذا الترافق أن الـــ p53 يتدخل بالتحول الورمي المتواسط بالـــ SV40[8,9]، وتبين فيما بعد ترافق الـــ p53 مع البروتين الورمي للفيروس الغدي E1B مما أدى إلى افتراض خاصيتها الورمية[10]. من ثم تبين ارتفاع مستوياته بشكل واضح في خلاياعدة أورام بشرية بالمقارنة بالخلايا السليمة مما أكد خاصيته الورمية[11]. أما وظيفته الكابحة للورم فقد عرفت عندما أظهرت الخلايا المحقونة بـــ cDNA لـــ p53سليم وقف للدورة الخلوية أو استمواتها[12,13]، وذلك بعد عشرة أعوام من اكتشافه.

بيّنت الدراسات أن الارتفاع المشاهد في مستوى تعبيرية البروتين p53 في العديد من الخلايا الورمية إنما هو مؤشر لطفرة مورثة الـــ *TP53*، وأن البروتين ذا الصفة الورمية هوالبروتين الطافر.

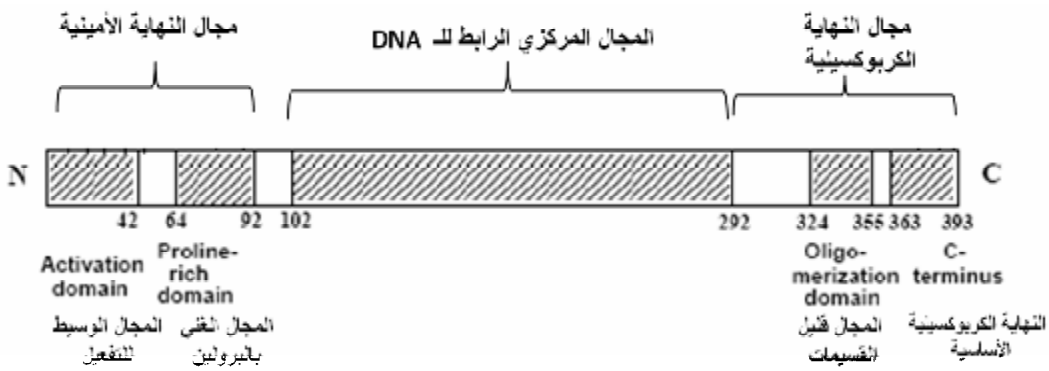
أكدت دراسات تالية أن البروتين p53 يوجد بشكل طبيعي في الخلية السليمة بمستويات منخفضة ثابتة. وازدياد نصف عمر الأنماط الطافرة من البروتين بالمقارنة بالبروتين السليم إنما هو عائد للتغير في البنية الهيكلية للبروتين الطافر [14,15]، كما تبّن أن البروتين الطافر يمكن أن يقوم بدور سلبي مسيطر بتعطيل الفعالية الكابحة للورم للبروتين wtp53 السليم [16,17,18] إذ يقوم البروتين الطافر بـــالارتباط بالشكل السليم بآلية الـــ OLIGOMERIZE ويمنعه من ربط الـــ DNA ومن ثَمَّ القيام بدوره الناسخ[2]. كما تبيّنت أهمية وظائف البروتين p53 حيوياً عندما اكتشفت طفرات (germ line) في المورثة *TP53* عند المصابين بمتلازمة لي فراومني Li-Fraumeni، الذي هو مرض عائلي يعاني فيه المريض من ارتفاع نسبة حدوث سرطان الثدي والأورام الدماغية والسرطانات الضامة[19,20].

2- بنية البروتين p53:

تشفر المورثة *TP53* البشرية بروتيناً ذا وزنٍ جزيئيٍّ 53kDa (ومن هنا جاءت تسميته) مؤلفاً من 393 حمضاً أمينياً يمكن تقسيمه إلى 3 مجالات مختلفة الوظيفة (الشكل1) :

أ- مجال النهاية الأمينية.

ب- المجال المركزي الرابط للـــ DNA . ت- مجال النهاية الكربوكسيلية .



(الشكل1) المجالات الأساسية الثلاثة للبروتين p53

يؤدي كل من المجالات الثلاثة دوراً مهماً في تنظيم وظائف البروتين p53:

أ- يتضمن مجال النهاية الأمينية المجال الوسيط للتفعيل (TAD) المؤلف من الحموض الأمينية من1-42 [5]، يرتبط هذا المجال بالبروتينات المنظمة لوظيفة الـــ p53 كعامل نسخ[21]. يرتبط البروتين MDM2 بهذا المجال مما يكبح الدور التفعيلي الوسيط للـــp53 بقطع طريق ارتباطه بآليات النسخ[22]، وقد سجلت نسبة 1% من الطفرات مرتبطة بهذا المجال[23]. كما تحتوي النهاية الأمينية على المجال الغني بالبرولين(PRD أو SH3) سجلت طفرات بنسبة 3,2% مرتبطة بهذا المجال[23]. حموضه الأمينية من 64-92 [2]، ولهذا المجال أهمية في فسفرة الـــ p53[24] ويؤدي دوراً نوعياً لشلال المورثات الذي يفعل نسخه الـــ p53، فهو غير ضروري لتفعيل BAX،MDM2،P21 لكنه ضروري لتفعيل PIG3[25]، ولهذا المجال أهمية في كبح نموالخلية المتواسط بالـــ p53 [26] .

ب- يتضمن المجال المركزي الرابط للـــ DNA (DBD) الحموض الأمينية* من102-292 [5] وهو ضروري لربط تتاليات خاصة من الـــ DN [28] إذْ تبيّن أن الـــ DNA البشري يتضمن 200-300 موقعاً للـــ p53 [29].

برزت أهمية وظيفة الـــ p53 الرابطة للـــ DNA الكابحة للورم عندما تبيّن أن معظم طفرات الـــ p53 المسببة للورم تحدث في المجال المركزي فتشكل95-93% من مجمل الطفرات التي تصيب هذا البروتين[23]، وتسبب من ثَمَّ تعطلاً في قدرة الـــ p53 على الارتباط بالـــ DNA [30,31] .تكتظ هذه الطفرات في أربعة مواقع تدعى بالبقع الحامية hot spots[32]. تقسم هذه الطفرات إلى قسمين تبعاً للطريقة التي تغيّر فيها قدرة ربط الـــ DNA : الطفرات الاتصالية contact وهي تقلل ربط الـــ p53 مع الـــ DNA وهي تتدخل بثمالات الحموض الأمينية التي تربط بين الطرفين[33]، الطفرات التكوينية conformational وتشكل فقط 7% من طفرات البروتينp53 ، وتشوش العناصر البنيوية للبروتين وتكون على الأرجح عيباً في طي البروتين بدلاً من كونها طفرة تكوينية نوعية[33].

ت- يتضمن مجال النهاية الكربوكسيلية الحموض الأمينية من 293-393 ويقسم إلى أربع مناطق:

*ويذكر في بعض المراجع أنها 100-293 [2] لكن القول الأول أقوى نظراً إلى اتفاق المراجع على بدء المجال التالي من الحمض الأميني293

I- منطقة توضع إشارة النواة NLSويمتد من الحموض الأمينية** 315-[2] 386 .

II- المجال قليل القسيمات oligomerization ويدعى أيضاً مجال الرباعياتtetramerization ويمتد من الحموض الأمينية*** 324-355 [5]. ويرتبط بالمجال المركزي الرابط للـــDNA بروابط مرنة[5].

III- منطقة الإشارة الصادرة للنواة NES ويمتد من الحموض الأمينية 340- 351 [2].

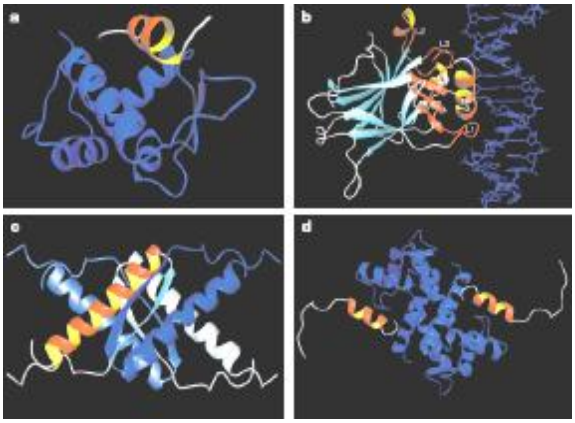
IV- النهاية الكربوكسيلية الأساسية أو المنظمة (CTD) وتتألف من الحموض الأمينية 363 – 393 [5].

تنظم كلٌ من الإشارات الصادرة والواردة بين النواة والبروتين p53 تموضع البروتين في الخلية[35].

إن شكل المجال قليل القسيمات الحلزوني المتقابل الزمر يسمح للـــ p53 بتشكيل ثنائيات أو رباعيات متماثلة ذات فعالية نسخية[36,37]. كما يتواسط هذا المجال في سياق الأورام التأثير السلبي للبروتين p53 الطافر في النمط السليم wtp53 بربطه وتشكيل رباعيات معه[38] فيكبح قدرة الأخير على ربط الـــ DNA ومن ثَمَّ يؤثر في فعاليته النسخية[39]. يحجب التشكل الرباعي للـــ p53 الإشارة الصادرة للنواة التي محتواها إخراج الـــp53 إلى البلاسما فيبقى فعالاً في النواة غير معرض للتدرك[40].

تعدُّ أخيراً النهاية الكربوكسيلية موقعاً لفسفرة وأستلة الـــ p53، التي تدعى بالتعديلات ما بعد الترجمة وهي تنظم قدرة الـــ p53على القيام بوظيفته كعامل نسخي [24] .

يمتلك البروتين p53 شكلاً ثلاثي الأبعاد ، مؤلفاً من العديد من التحلزنات helix والعرى loops والصفائح shee ، تقوم العديد من البروتينات بطي البروتينp53 ، وترتبط ذرة توتياء بسلاسل الحموض الأمينية مما يضمن بقاء الشكل الفراغي له (الشكل 2) .



(الشكل2) البنية الفراغية لمجالات البروتين p53 :
a- النهاية الأمينية ،b- المجال المركزي،c - مجال الرباعيات في مجال النهاية الكربوكسيلية ، d - النهاية الكربوكسيلية الأساسية.
مع العلم أن الصور هي للبروتين p53 (باللون البرتقالي والأصفر والفيروزي) مرتبط بأكثر من بروتين ومرتبط مع الـــDNA (التي تظهر بلون أزرق غامق)

3- وظائف البروتين p53:

أ- دوره كعامل نسخ:

أظهرت الدراسات أن الـــ p53 يؤدي دوره بوصفه عامل نسخ لتسلسلات نوعية، وأدى هذا الاكتشاف إلى معرفة العديد من المورثات والطرق التي ينظمها.

يرتبط الـــ p53 بالـــ DNA بتتاليات خاصة [17]، وينظم نسخ منتجات مورثات لها دور في إيقاف دورة الخلية وأخرى لها دور في إصلاح الـــDNA، وأخرى في الاستموات، وأخرى في كبح التشكل الوعائي المرافق للورم[42,41,37] (الشكل3)

- فإيقاف دورة الخلية المتواسط بالـــ p53 ناتج عن تفعيل نسخ متواسط بالـــ p53 لكل من البروتين ـــ14-3-3σ [34] والـــ GADD45[45,44] والـــ p21[46].

- أما إصلاح الـــDNA المتواسط بالـــ p53 فهو ناتج عن تفعيل البروتينp21 [47] الذي له دور في الشيخوخة والهرم والـــ p48 [48] والـــ GADD45 [44].

**وذكرت بعض المراجع أنها مـــن 316-325 [34] ونـــرجح القـــول الأول لحداثته.

***كما ذكرت بعض المراجع أنها تبدأ من337 [2].

- أما الاستموات المتواسط بالـــ p53 فيعتقد أنه متواسط بنسخ الـــ
Fas/APO1[54] ,KILLER/DR5,[53] IGF-BP3 ,[52] AIP1 ,[51] Pidd، Apaf1[47]، BAX[55]، PUMA[47]، NOXA[47]، caspase[47] 6 .

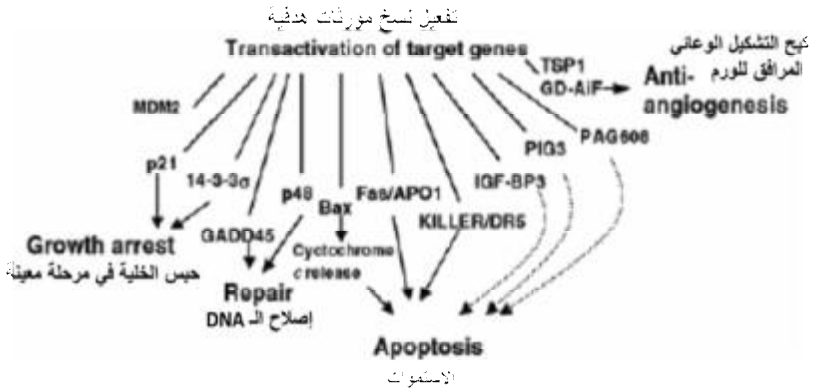
- كما يتدخل في تنظيم تشكيل الأوعية المعتمدعلى الـــ p53النسخ المعتمد على الـــ p53 لكل من الثرومبوسبوندين-1 [55,56]، عامل كبح تشكل الأوعية في الورم الدبقي[57]،العامل 1α الحاث على نقص الأكسجة[58] .

يقوم الـــ p53 بتفعيل نسخ الـــ MDM2 الذي يعدُّ مفتاح النسخ المنظم للـــp53 [59,60] إذْ يحفز التدرك(التحلل) السريع للبروتين p53؛ مما يحدث حلقة راجعة منظمة أوتوماتيكياً تنظم بقوة مستويات البروتين p53 [62,61].

- كما يتواسط الـــ p53 كتم نسخ بروتينات داخلة في طرق إشارة متنوعة من هذه البروتينات: c-fos[66] Wee-1,[67] , ،, Bcl2,[65] BRCA1,[63,64] MAP4, [69] topoisomeraseIIα, [68] presenilin[70], hsp70,[71] stathmin,[72] سيكلين B1 [73-74]، انترلوكين-Cdc2,6[75][73,74] مستقبل عامل النمو الشبيه بالأنسولين -1[76].

يتحدد الطريق الذي يفعله الـــ p53 بحسب نوع الأذية وشدتها وطريقة استجابة الخلية لها[77]، فمثلاً للمورثات المنظمة للدورة الخلوية محفزات عالية الألفة للـــ p53تتفعل بتراكيز منخفضة من الـــ p53في حين تحتاج مورثات الاستموات إلى تراكيز عالية من الـــp53 أو تحتاج إلى مساعدات تفعيل (co-activator)[49] ومهما كان نوع المحفز فلكي يقوم الـــ p53 بدوره كعامل نسخ لا بد له أن يستقر ويتجمع في النواة على شكل رباعيات فعالة[23].

تفقد الأشكال الطافرة للبروتين p53 في الخلايا السرطانية قدرتها على تفعيل نسخ المورثات الهدفية التي يفعلها الشكل السليم، وتحتاج تلك المورثات لتتفعل على آليات مفعلة وحيدة غير متشاركة مع الـــp53 [49-78].



(الشكل3) دورp53 كعامل نسخ : يتواسط نسخ بروتينات لها دور في إيقاف الخلية وأخرى لها دور في إصلاح الـــDNA وأخرى في الاستموات وأخرى في كبح التشكيل الوعائي المرافق للورم.

ب- دوره في تنظيم نقاط تحقق الدورة الخلوية:

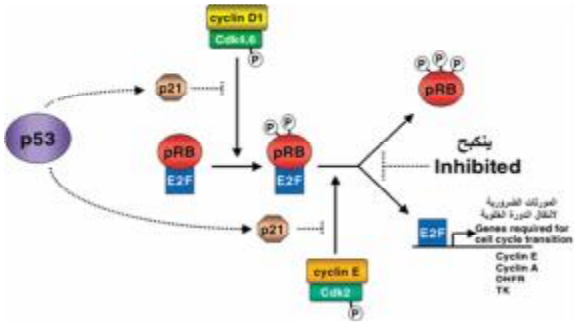
للبروتين p53 دور في نقاط التحقق G1/S وG2 ونقطة تحقق المغزل الانقسامي، وقد أظهرت الدراسات وجود ارتباط بينخلل البروتين p53 وعدم سلامة نقاط التحقق في سياق الأورام [79-80].

1. نقطة التحقق G1/S:

يوجد في الخلية معقدات تدعى معقدات(الـــسيكلين-الكيناز المعتمد على السيكلينCdk) تقوم بتنظيم انتقال الخلية من مرحلة إلى أخرى . هذه المعقدات تنظم بكوابح [81-82] منها بروتين يدعىp21 [47].

عند تعرض الـــ DNA لأذية فإن الـــ p53 يفعل الـــp21 [47]، الذي يربط ويكبح المعقدات سيكلين-كيناز المعتمد على السيكلين التي تتواسط تقدم الخلية من المرحلة G1 إلى المرحلة S مما يؤدي إلى فرط فسفرة الـــ pRB ومن ثَمَّ انفصال الـــ E2Fعنه وتكون النتيجة احتجاز الخلية في نقطة التحقق G1/S (الشكل4).

كما يقوم الـــ p21 بربط مستضد الانقسام النووي PCNA ويمنع من تواسط التعرف إلى معقد القالب الأولي للـــ DNA؛ مما يكبح مرحلة فرد الـــDNA خلال عملية انقسام الـــ DNA [83-84].



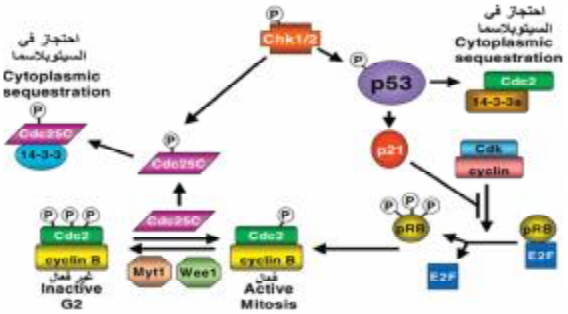
(الشكل4) دور الـــ p53 في تنظيم نقطة التحقق G1/S :هذه النقطة تعتمد في تقدمها على السيكلين D1 وE اللذين يرتبطان بالـــ Cdk4,6 والـــ2 Cdk على الترتيب ، عند تفعل هذه المعقدات فإنها تسمح بتفسفر الـــ pRB بشكل ضعيف بقدر ما يربطها بالـــ E2F . عند حدوث أذية يحفز الـــp53 نسخ الـــ P21 الذي يمنع ربط السيكلين بالـــ Cdk كما بإمكانه أن يكبح المعقد سيكلين-Cdk المفعَّل مما يؤدي إلى فرط فسفرة الـــ pRB فينفصل عن الـــ E2F و النتيجة احتجاز الخلية في نقطة التحقق G1/S .

2. نقطة التحقق G2:

تحفزأذية الـــ DNA نقطة التحقق G2 أيضاً مما يؤدي إلى احتجاز الخلية في المرحلةG2 ويتواسط هذا الاحتجاز شلال من الإشارات التي تتجمع لتكبح تفعيل الـــ Cdc2 [85].

من هذه الإشارات تحفُّز بعض أفراد عائلة الـــ PI-3K ومنها الـــ ATM والـــ ATR اللذان يفسفران الـــ Chk2 والـــ Chk1 على الترتيب ويفعلانها، مما يؤدي إلى فسفرة الـــ Cdc25C ومن ثَمَّ ارتباطه مع البروتينات 14-3-3 ، هذا الارتباط يسبب خروج الـــ Cdc25C من النواة إلى الهيولى وتشظيه فيها وبسبب كبح فعالية الـــ Cdc2 يحدث احتجاز الخلية في الـــG2 [87].

ومن هذه الإشارات أيضاً فسفرة الـــATM، ATR للـــ p53 بشكل مباشر[86] أو غير مباشر عبر الـــChk1,2 [87] مما يفعل الـــ p53 الذي يقوم بتفعيل نسخ 14-3-3σ الذي يرتبط مع الـــ Cdc2 ويحتجزه في السيتوبلاسما، كما يقوم بتفعيل الـــGADD45 [88] الذي يرتبط مع المعقد cdc2-cyclineB ويفصل تحت وحدتي المعقد[89]، كما يقوم بتفعيل الـــp21 الذي يرتبط مع المعقد سيكلين-CdK مما يؤثر في فسفرة الـــpRB الذي يتدخل في كل من سيكلينB1 والـــCdc2 وينقص مستوياتهما (الشكل5).



(الشكل5) دور الـــ p53 في تنظيم نقطة التحقق G2 :التي تعتمد على فعالية الـــ Cdc2 المنظَّمة عبر الفسفرة والارتباط بالسيكلين. تكبح الخلية في المرحلتين G2,S المعقد Cycline B-Cdc2 غير فعال بفسفرته عبر الـــMyt1,Wee1 ،تحول المعقد للشكل الفعال ضروري للدخول بالمرحلةM ويكون بوساطة الأنزيم Cdc25C. عند حدوث أذية للـــ DNA يتفعل الـــ Chk2فيفسفر الـــ Cdc25C مما يحفز تفاعله مع الـــ 14-3-3 فتنكبح قدرة الـــ Cdc25Cعلى تفعيل المعقد Cycline B-Cdc2، أيضاً أذية للـــ DNA تحفز فسفرة الـــATM، ATRوالـــChk1,2 للـــ p53 مما يفعل الـــ p53فيفعل نسخ 14-3-3σ الذي يرتبط مع الـــ Cdc2 ويحتجزه في السيتوبلاسما، ويفعل الـــGADD45 الذي يرتبط مع المعقد cdc2-cycline B ويفصل تحت وحدتي المعقد ، ويفعل الـــ p21 الذي يرتبط مع المعقد سيكلين-CdK مما يؤثر في فسفرة الـــpRB الذي يتدخل في كل من سيكلين B1 والـــCdc2 وينقص مستوياتهما .

3. نقطة تحقق المغزل الانقسامي:

في حال حدوث خلل في هذه النقطة تنتقل الخلية إلى المرحلة S بمحتوى 4N من الـــ DNA بدلاً من 2N، وهذا يدعى بالتضاعف الداخلي[90].

يتوضع الـــ p53 في المريكزات (centrosomes)، لذا يعتقد أن الـــ p53 مهم وضروري للاحتجاز الانقسامي[91-92].

ت- دوره في إصلاح الـــ DNA:

بعد الأذية المورثية يتواسط الـــ p53 إصلاح الـــ DNA بآليات متعددة منها آلية تفعيل تتاليات نوعية وآلية التعامل المباشر مع بروتينات الإصلاح[88].

- آلية إصلاح الـــ DNA بتفعيل الـــ p53 نسخ تتاليات نوعية : أهمها تفعيل الـــ p53 نسخ الـــ**p21** الذي يقوم بربط مستضد الانقسام النووي PCNA ويمنعه من تواسط التعرف إلى معقد القالب الأولي للـــ DNA مما يكبح مرحلة فرد الـــ DNA في أثناء انقسامه[83-84]، ومن ثَمَّ يكبح وظيفة الـــ PCNA في تواسط مضاعفة الـــ DNA لكنه يبقي على وظيفة الـــ PCNA في تواسط إصلاح الـــDNA[93].

كما يفعِّل الـــ p53 نسخ الـــ **GADD45**[44] الذي ذكرنا أنه يكبح دخول الخلية إلى المرحلة S [45] كما يرتبط بالـــ PCNA[45] مما يحفز الـــ DNA على الإصلاح[94].

كما يقوم الـــp53 بتحفيز المورثة *P48*[48]، وقد تبيّن دور البروتين **p48** في إصلاح الـــ DNA المتأذي بالأشعة فوق البنفسجية عند الإنسان[48].

- آلية إصلاح الـــ DNA بتعامل الـــ p53 المباشر مع بروتينات الإصلاح :عند حدوث أذية في الـــ DNA يرتبط الـــ p53 بعدة بروتينات تتدخل في إصلاح الـــ DNA عبر آلية الإصلاح الاستئصالي للنيكليوتيدات* NER منها بروتينات من عائلة الـــ **TFIIH** والبروتين**XPB**و**XPD**، مما يكبح القدرة الأنزيمية للأخيرين المفككة لشكل الـــ DNA الحلزون[101]، كما يرتبط الـــp53 في الحالة السليمة ببروتين متلازمة الكوكائين **CSB**[102] وبروتين التضاعف **RPA** وينفصل عنها عند حدوث أذية في الـــDNA مما يفتح المجال أمامها كي تقوم بعملها في إصلاح الـــDNA[103]. كما أن للـــ p53 دوراً في الـــ GGR (فحص المحتوى المورثي الشامل، وهو قسم من الـــ NER) وقد أظهرت الدراسات أن الخلايا ذات الـــ p53 المعيب تبدي عيباً في الـــ GGR[103].

- كما يعتقد أن لارتباط الـــ p53 المباشر بالـــ DNA دور مهماً في إصلاحه[104].

ث- دوره في إشارات الاستموات:

يحفز البروتين p53 العديد من المورثات التي تهيئ للاستموات ، لكن هذا التحفيز قد لا يكون كافياً لحدوث الموت الخلوي المبرمجÿ programmed cell death الذي يعتمد حدوثه على تفعيل عدد معين من هذه المورثات وبتراكيز محددة، ومن ثَمَّ يحتاج حدوث الاستموات إلى تفعيل متناسق من البروتين p53 لمجموعة مورثات الاستموات[105]. يمكن تقسيم المورثات الاستمواتية المحفَّزة

---

*يتم إصلاح الـــ DNAبثلاث آليات الإصلاح الاستئصاليexcision، المؤشب recombinational،الفاقد للتوافق[59]mismatch.يتم الإصلاح الاستئصالي باستئصال النكليوتيدات المتأذية ويدعى بـــ nucleotide excision repair (NER)أو باستئصال الأسس المتأذية فيدعىبـــ[69] base excision repair (BER). يتضمن الإصلاح الاستئصالي للنكليوتيدات(NER)فرعين أحدهما يدعى بالـــ global genome repair (GGR)والآخر يدعى بالـــ [97-98] transcription-coupled repair (TCR) يتم في الـــ GGR فحص كاملا لمحتوى المورثي لكن بشكل بطيء أما في الـــTCRفيكون الفحص أسرع وأكثر خصوصية .تلعب البروتينات XPC-HR23Bالدور الرئيسي في الـــ GGR[99] كما تلعب البروتينات CSA, CSB,XAB2,TFIIH,XPGالدور الرئيسي في الـــTCR[100] .

*يشمل مصطلح الموت الخلوي المبرمج programmed cell death شكلي موت الخلية: التنخر nicrosis والاستموات apoptosis.

من قبل الـــ p53 إلى مجموعتين الأولى مورثات تنتج البروتينات الاستمواتية ، والثانية مورثات تنتج بروتينات تنظم البروتينات الاستمواتية(الشكل6) .

- يتواسط الـــ p53 تفعيل الـــ IGF-BP3 الذي يحقق الاستموات بقطع الربط بين IGF-1 و مستقبله IGF-1R ، وعند ارتباط الـــ IGF-BP3 مع المستقبل IGF-1R يتحقق أعلى مستوى قطع لهذا الطريق[106].

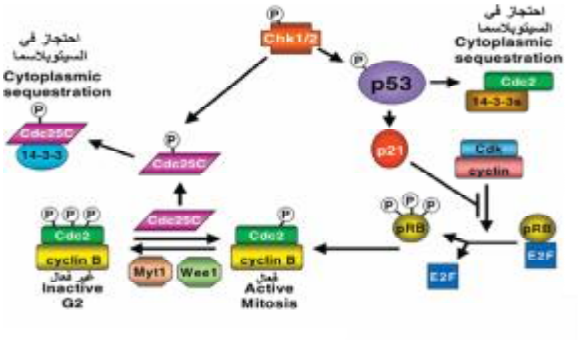
- كما يحفز الـــ مستقبلات p53 KILLER/DR5 والـــ Fas (CD95) الذي له أهمية في الاستموات المتواسط بالتائيات في سياق الاستجابة للأدوية المضادة للسرطان [106-107]

- كما يفعِّل الـــ p53 الـــCdc42[108] الذي يقوم بفسفرة وكبح الـــBcl2 الذي يقوم بالحالة العادية بكبح الاستموات بمنع تحرر الـــAIF والسيتوكروم c من المتقدرات .

- يزداد تفعيل الـــ p53 للـــ BAX في الاستموات المتواسط بالـــ p53 ، مع العلم أن الـــ BAX يسهل تحرر الـــ AIF والسيتوكروم c من المتقدرات؛ مما يفعل شلال الـــcaspase[106]،كما أن لموضع الـــ BAX داخل الخلوي أهمية في الاستموات فانتقاله من العصارة الخلوية cytosol إلى المتقدرات (الذي يعتقد أن للـــ p53 دوراً في حدوثه) ضروري لحدوث الاستموات المعتمد على الـــ p53[109].

- يمكن للـــ p53 أن يتواسط إشارة الاستموات المتقدرية برفع مستوى الأكسجين الفعال، وقد حددت الدراسات قائمة مؤلفة من 14 مورثة يفعِّلها الـــ p53 بعد أذية الأكسجة[110] (منها PIG3) تنسخ بروتينات تسبب رفع مستوى الأكسجين الفعال [110]، ومن هذه المورثات أيضاً PIG8 الذي يحفز على الاستموات[111].

- كما أن زيادة التفعيل لكل من الـــ NOXA والـــAIP1 من قبل الـــ p53 يحفز الاستموات بآلية مشابهة لآلية الـــ Bax نظراً إلى وجودهما في المتقدرات[112].



(الشكل6) دورالـــ p53 في إشارات الاستموات : يتدخل الـــ p53بتحفيز تفعيل كل من IGF-BP3، Fas، BAX، PIG3، PIG8، في حين يكون له دور غير مباشر في كبح الـــ Bcl-2 وفي تحفيز شلال الـــ caspase .

ه- مراحل تفعُّل البروتين و عمله p53[112] والتي لخصت بعشر مراحل (الشكل7):

- المرحلة الأولى: يتفعل طريق الـــ p53 عند حدوث أذية داخلية أو خارجية .

- المرحلة الثانية :يجري التحري عن هذه الأذيات عبر بروتينات مثل الـــATM و ATR و CHK2 و p14 التي تتفعل بحسب نوع الأذية وتنقل المعلومات إلى الـــp53 فتفعله بفسفرته وبكبح تدركه المتواسط بالـــ MDM2.

- المرحلة الثالثة : تزيد الفسفرة وكبح التدرك نصف عمر الـــp53 من 20 دقيقة إلى ساعات ، مما يزيد من مستوياته.

- المرحلة الرابعة : تتلو الفسفرة أستلة الـــp53 ومتيلته مما يزيد استقراره و ارتباطه بمواقع خاصة من الـــDNA .

- المرحلة الخامسة : يحدث توازن بين العوامل المفعلة للـــ P53 والكابحة له، لذا يقوم الأنزيم المانع للأستلة HDAC2 بمنع ارتباط الـــ p53 مع الـــ DNA بمنع أستلته[113] .

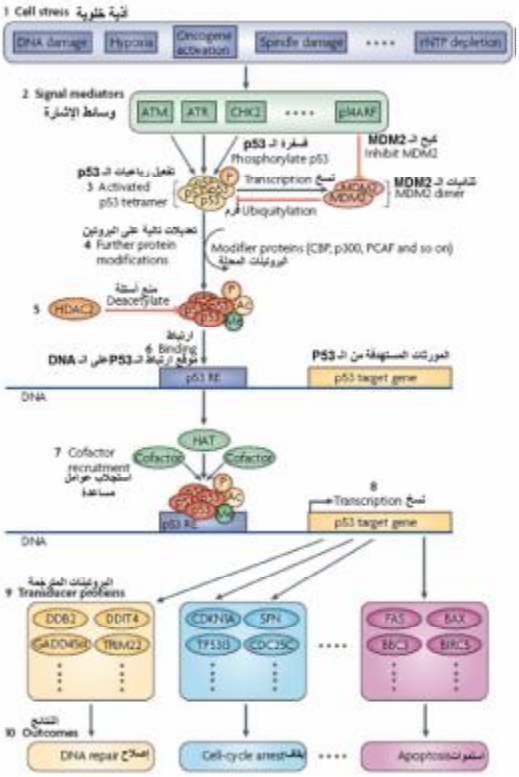
- المرحلة السادسة: ترتبط الوحدات المفردة للـــp53 مع بعضها على شكل رباعيات.

- المرحلة السابعة: يستجلب الـــ p53 عوامل مساعدة مثلTAFs [115] [114-] و[116] HATs ويرتبط الـــp53 بالـــ DNA .

- المرحلة الثامنة:يقوم الـــ p53 بتواسط تفعيل أو نسخ مورثات نوعية .

- المرحلة التاسعة:تتدخل البروتينات (المتَرجمة) الناتجة عن النسخ في طرق متعددة.

- المرحلة العاشرة : هي نتيجة عمل هذه البروتينات التي لها الدور الكبير في منع تشكل الورم ومن ثَمَّ المرحلة العاشرة هي إمَّا إصلاح للـــ DNA أو إيقاف للدورة الخلوية أو الاستموات.



(الشكل 7) مراحل تفعُّل وعمل البروتين p53

6- آلية عدم تفعُّل البروتين p53 (الجدول 1) :

بيّنت الدراسات أن سبب عدم تفعل البروتينp53 يعود إمَّا لآلية مباشرة وهي طفرة المورثة بكلا أليليها التي وجدت في نصف حالات السرطان البشرية، أو لآليات غير مباشرة التي منها:

ارتباط البروتين p53 السليم مع بروتينات فيروسية، أو حدوث اضطراب في مورثات البروتينات التي تفعل البروتين p53 السليم في الحالة الطبيعية، وقد تكون المعلومات التي تنقل للبروتين p53 السليم ومنه معلومات غير صحيحة [78]، كما بيّنت الدراسات الحديثة أن البروتين p53المعيب الناتج عن أليل المورثة الطافر قد يكون مسيطراً فيكبح فعالية البروتين السليم الـــ wtp53 الناتج عن أليل المورثة السليم، ومن ثَمَّ يكبح فعاليته النسخية[117].غالباً ما ينتج هذا البروتين عن طفرة المورثة ذات النمط missense ويملك إمكانيات لا يملكها البروتين السليم تدعى هذه الظاهرة بكسب وظيفة"gain function" مثل إمكانية تحويل الخلايا السليمة إلى سرطانية و زيادة القابلية الورمية؛ كما يبدل حساسية الخلايا السرطانية للأدوية والمعالجة الكيماوية.

Mechanism of inactivating p53 آلية عدم تفعل الـp53	Typical tumours	Effect of inactivation آثار عدم التفعيل
Amino-acid-changing mutation in the DNA-binding domain تغيرات في الحموض الأمينية طفرات في مجال ربط الـ DNA	Colon, breast, lung, bladder, brain, pancreas, stomach, oesophagus and many others	Prevents p53 from binding to specific DNA sequences and activating the adjacent genes يمنع الـP53 من الارتباط بالـDNA وتفعيل مورثات مجاورة للارتباط
Deletion of the carboxy-terminal domain حذف مجال النهاية الكربوكسيلية	Occasional tumours at many different sites	Prevents the formation of tetramers of p53 يمنع تشكل الرباعيات من الـP53
Multiplication of the MDM2 gene in the genome طبات متعددة في مورثة الـ MDM2	Sarcomas, brain	Extra MDM2 stimulates the degradation of p53 زيادة في تحفيز تدرك الـ P53
Viral infection إصابة فيروسية	Cervix, liver, lymphomas	Products of viral oncogenes bind to and inactivate p53 in the cell, in some cases stimulating p53 degradation ترتبط النواتج الورمية للفيروسات بـ P53 وأحياناً تحفز تدركه
Deletion of the $p14^{ARF}$ gene حذف مورثة $p14^{ARF}$	Breast, brain, lung and others, expecially when p53 itself is not mutated	Failure to inhibit MDM2 and keep p53 degradation under control فشل كبح الـMDM2 والسيطرة على تدرك الـ P53
Mislocalization of p53 to the cytoplasm, outside the nucleus عدم تموضع الـ P53 في السيتوبلاسما خارج النواة	Breast, neuroblastomas	Lack of p53 function (p53 functions only in the nucleus) نقص في وظيفة الـ P53 (الموجود فقط في النواة)

(الجدول 1) ملخص عن آليات عدم تفعل البروتين p53

7- أهمية التحري عن البروتين p53السليم (wtp53):

يكون الـــ p53 السليم معطلاً(غير قادر على النسخ) في الخلايا السرطانية التي تظهره [5-118]، وإلا لقام بمهمته ومنع حدوث التحول السرطاني، لكن على الرغم من تعطله فقد أظهرت الدراسات أهمية وجوده:

تظهر أهمية التحري عن الخلايا التي تظهرwtp53 أنها أكثر حساسية للمعالجة الشعاعية من الخلايا ذات الـــ p53الطافر[119]، وأكثر حساسية للعلاجات الدوائية الحاثة على الاستموات عبر تحفيز إشارة الـــ Fas[120]، فقد أظهرت خلايا سرطان الثدي التي تظهر تعبيرية للـــ wtp53 و الـــ BAX زيادة في الاستموات بعد العلاج الدوائي [121]، كما أظهرت دراسات أن خلايا سرطان الثدي نمط MCF-7 والسرطان الكولوني المستقيمي RKO ، التي تبدي تعطلاً بالبروتين p53 المسبب من قبل البروتين E2 أو بسبب الكبح الناتج عن أليل المورثة الطافر تكون حساسة للمعالجة الكيماوية بالـــ cisplatin[122]، في حين أن خلايا سرطان المبيض التي تحتويwtp53 تبدي مقاومة للـــcisplatin[124-123]، مما أعطى فرضية النوعية الخلوية والنوعية الدوائية في المعالجة الكيميامناعية[125].

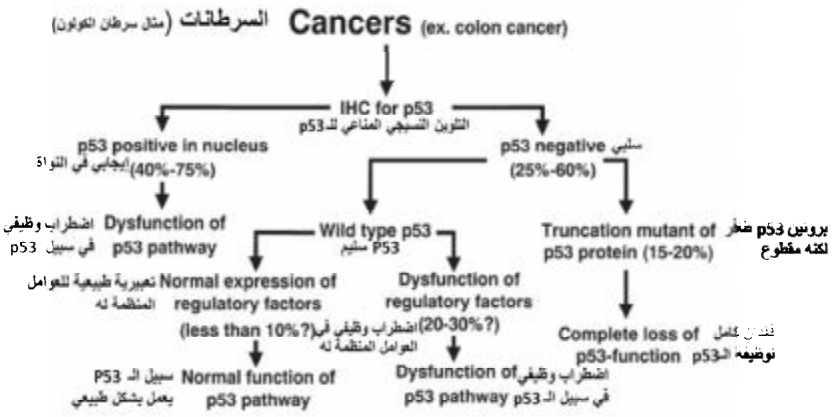
في الدراسات الحديثة تبيّن إمكانية إعادة الـــ wtp53 والـــ p53 المقطوع* (truncated) إلى وضعه الأصلي بوصفه جزءاً من المعالجة الجزيئية ضد السرطان، وذلك إمَّا بكبح الـــMDM2 أو بتحفيز الارتباط مع الـــ DNA (حتى للشكل الطافر) أو بحماية البروتين السليم من الطافر[119].

كما طورت الدراسات آليات تحفز مناعة المريض التي تظهر خلاياه الورمية أضداداً للبروتينp53 الطافر؛ وذلك بقتلها عبر الخلايا التائية CD8+ [126].

*ينشأ البروتين المقطوع عن طفرة المورثة من نـــوع point نمـــط Nonsense التي توقف التشفير أو تنتج بروتيناً مقطوعاً.

أظهرت إحدى الدراسات أن سبب عدم تفعل البروتين p53 السليم في سرطان الثدي نمطMCF7 [127] وفي سرطان الكولون[128] يعود لعيب في طيه ناجم عن طفرة البروتين (المسؤول في الحالة السليمة عن ربط ذرة التوتياء بسلاسل البروتين p53 مما يحافظ على الشكل الفراغي للبروتينp53)،كما بيّنت هذه الدراسة أن البروتين p53 السليم عاد لفعاليته عند إعادة ربطه بذرة التوتياء بتواسط دوائي[127-128].

كما يؤكد أهمية التحري عن الـــp53 السليم في الخلايا ما أكدته الدراسات بأن سلبية التعبيرية للـــp53 الطافر لا تعني بالضرورة تعبيرية إيجابية للـــp53 السليم، بل قد لا تبدو الطفرة على البروتينp53 لكونه مقطوعاً (truncated p53) ويكون بالتالي غير وظيفي[129] (الشكل8) .



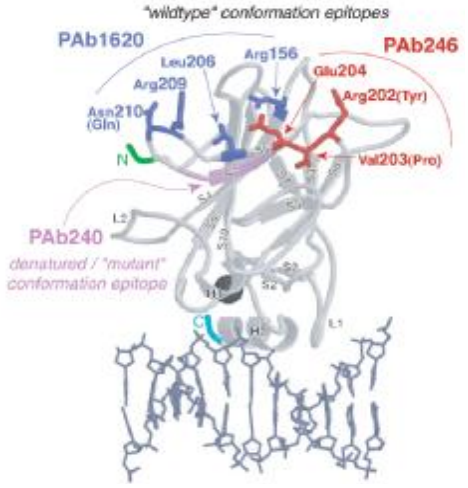
(الشكل 8) شكل توضيحي لاحتمالات التلون بالـــ p53 الطافر

8- آلية التعرف إلى البروتين p53 السليم:

يعتمد قيام الـــ p53 بدوره على كونه بالشكل السليم wildtype conformation الذي يجري التعرف إليه بالأضداد PAb1620 وPAb246[130]. يفقد هذا الشكل عندما يطفر في كثير من السرطانات.تم التعرف إلى ناشبات(epitops)** هذه الأضداد باستعمال p53 هجيناً[131].

إن الثمالات المفتاحية التي يرتبط فيها الضد PAb246 بالـــ p53 هي202-204 في حين الثمالات المفتاحية التي يرتبط فيها الضد PAb1620 بالـــ p53 156-206-209-210.

ناشبات الشكل السليم للـــp53



(الشكل9) تموضع ثلاثي الأبعاد لناشبات أضداد الـــ P53: تظهر سلسلة الـــ P53 الرئيسة على شكل شريط كما تظهر السلاسل الجانبية .تظهر ناشبات الأضداد PAb1620 و PAb246 و PAb240 باللون الأزرق،الأحمر والبنفسجي بالترتيب كما تظهر ثمالات النهاية الأمينية والكربوكسيلية باللون الأخضر والفيروزي و الـــ DNA باللون الرمادي المزرق والزنك على شكل كرة سوداء.

** الناشبة epitop هي جزء من المستضد يرتبط عليها الضد (المستضد هنا البروتينp53).

ترتبط ناشبة الضد PAb246 به عبر الثمالات 92-113 ، لا يؤثر هذا الارتباط بارتباط الـــ p53 مع الـــ DNA، في حين يكون ارتباط ناشبة الضد PAb1620 به مع الثمالات كالآتي: 113 من الناشبة مع206 من الضد ، و 146 من الناشبة مع 156 من الضد. إلا أن الثمالات 209-210 من الضد لم يتضح ارتباطها. أمَّا الضد PAb240فيرتبط بالشكل الطافر من p53[132-133-134] (الشكل 9).

9 - wtp53 والسرطانات:

- أظهرت إحدى الدراسات أن فرط تعبيرية الـــ wtp53 ظهر في 40% من خلايا سرطان الرئة non small cell[135]، أمَّا في اللمفوما البائية فكانت فرط التعبيرية بنسبة 12% ترافقت مع 18% من الـــATM المعطل؛ مما أعطى صلة كبيرة للـــ ATM في اضطراب وظيفة الـــ p53[136]. كما تبيّن عدم تفعل الـــ wtp53 من قبل الـــ MDM2 في لمفوما بوركت[31]، ولهذا عزيت قابلية ظهور سرطانات مختلفة عند أشخاص لديهم قصة عائلية في سرطان الثدي[14]، ومع تأكيد دراسات أخرى في سرطان الثدي على اضطراب وظيفة البروتين p53السليم رغم خلوه من الطفرات، لكنها عزت الاضطراب لتوضعه غير الملائم في الهيولى بدلاً من النواة بإشارة صادرة من النواة[137-138].

10 - wtp53 و السرطان شائك الخلايا:

1. سجلت طفرة الـــ p53 في أكثر من 60% من حالات السرطان شائك الخلايا الفموي [139]، في حين يراوح عدد الحالات التي سجلت فيها طفرة الـــ p53 في السرطان شائك الخلايا للرأس والعنق بين 30-70%[1]، وأظهرت الدراسات أن طفرة الـــp53تحدث في مرحلة مبكرة من تطور السرطان شائك الخلايا[140] .
2. أمَّا بالنسبة للشكل السليم wtp53 فقليلاً ما تعرضت له البحوث التي أجريت على سرطان شائك الخلايا، وخاصة في الرأس والعنق. فقد درست معظم البحوث وجود البروتين p53في الخلايا سواء كان الشكل الطافر أم السليم. القليل من البحوث اهتمت بتحري في الشكل السليم wtp53 فقط في الخلايا فراوحت نسبته في السرطان شائك الخلايا بين الـــ 77% [141] و50% [142] 30% [117] من عينات السرطان.

References

1. Lentsch E.J, Myers J.N. pathogenesis and progression of squamous cell carcinoma of head and neck .Myers E.N, Suen J.Y, Hanna E . Cancer of the Head and Neck. 4TH ed . USA: Saunders Elsevier; 2000:13.
2. Stewart Z.A, Pietenpo J.A. p53 signaling and cell cycle checkpoint ,invited review. Chem Res Toxicol 2001; 14(3): 243-263.
3. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B,Harris C. p53 mutations in human cancers. Science 1991;253: 49-53.
4. Beroud C, Soussi T. p53 gene mutation: software and database. Nucleic Acids Res1998; 26: 202-207 .
5. Mälkönen T. UV response of mammalian p53 tumor suppressor gene,[Academic Dissertation], Finland, Haartman Institute University of Helsinki.1999:1-93
6. Lane D. P, Crawford L. V. T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells. Nat 1979;278, 261-263.
7. Linzer D. I. H, Levine, A. J. Characterization of a 54K dalton cellular SV40 tumor antigen in SV40 transformed cells. cell 1979;17, 43-52
8. .Aaronson S. A., Todaro G. J. SV40 T antigen induction and transformation in human fibroblast cell strains.Virology 1968;36 (2): 254-261.
9. Potter C. W, Potter A. M, Oxford J. S. Comparisonof transformation and T antigen induction in human cell lines. J. Virol. 1970;5(3): 293-298.
10. Sarnow P, Ho Y. S, Williams J, Levine A. J. Adenovirus E1B-58Kd tumor antigen and SV40 large tumor antigen are physically associated with the same 54Kd cellular protein in transformed cells. Cell 1982;2: 387-394.
11. Crawford L. V, Pim D. C, Gurney E. G, Goodfellow P, Taylor-Papadimitriou J. Detection of a common feature in several human tumor cell lines: A 53,000-dalton protein. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A 1981; 78: 41-45.
12. Braithwaite A. W, Sturzbecher H.W, Addison C, Palmer C, Rudge K, Jenkins J. R. Mouse p53 inhibits SV40 origin-dependent DNA replication. Nat 1987;329: 458-460.

13. Yonish-Rouach E, Resnitzky D, Lotem J, Sachs L, Kimchi A, Oren M. Wild-type p53 induces apoptosis of myeloid leukaemic cells that is inhibited by interleukin-6. Nat 1991;352: 345-347.
14. Maltzman W, Czyzyk L. UV irradiation timulates levels of p53 cellular tumor antigen in nontransformed mouse cells. Mol Cell Biol. 1984;4:1689-1694.
15. Olson D. C, Levine A. J. The properties of p53 proteins selected for the loss of suppression of transformation. Cell Growth Differ 1994; 5: 61-71.
16. Finlay C. A, Hinds P. W, Levine A. J. The p53 protooncogene can act as a suppressor of transformation. Cell 1989;57:1083-1093.
17. Kern S E, Kinzler K W, Bruskin A, Jarosz D, riedman P, Prives C. Identification of p53 as a sequence-specific DNA-binding protein. Science 1991;252: 1708-1710.
18. Milner J, Medcalf E. A. Cotranslation of activated mutant p53 with wild-type drives the wild-type p53 protein into the mutant conformation. Cell 1991;65: 765-774 .
19. Malkin D, Li F. P, Strong L. C, Fraumeni, J. F. Jr, Nelson C. E, Kim D. H. Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms.Science 1990;250: 1233-1238.
20. Srivastava S, Zou Z, Pirollo K, Blattner W, Chang E.H. Germ-line transmission of a mutated p53 gene in a cancer-prone family with Li-Fraumeni syndrome. Nat 1990;348,747-749.
21. Fields S, Jang S. K. Presence of a potent transcription activating sequence in the p53 protein. Science 1990;249, 1046-1049.
22. Oliner J. D, Pietenpol J. A, Thiagalingam S, Gyuris J, Kinzler K. W, and Vogelstein B. Oncoprotein MDM2 conceals the activation domain of tumour suppressor p53. Nat 1993;362: 857-860.
23. Bode A.M , Dong Z. Post Translational Modification Of P53 In Tumorgenesis . Nat 2004; 4: 793-805.
24. Meek D. W. Mechanisms of switching on p53: a role for covalent modification? Oncogene 1999;18: 7666-7675.
25. Venot C, Maratrat M, Dureuil C, Conseiller E, Bracco L,Debussche L. The requirement for the p53 prolinerich functional domain for ediation of apoptosis is correlated with specific PIG3 gene transactivation and with transcriptional repression. EMBO J. 1998;17: 4668-4679
26. .Walker K. K, Levine A. J. Identification of a novel p53 functional domain that is necessary for efficient growth suppression. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1996;93: 15335-15340.
27. Pavletich N. P, Chambers K. A, Pabo C. O. The DNA-binding domain of p53 contains the four conserved regions and the major mutation hot spots. Genes Dev. 1993;7: 2556-2564
28. .Bargonetti J, Manfredi J, Chen X, Marshak, D. R, Prives C. A proteolytic fragment from the central region of p53 has marked sequence-specific DNA-binding activity when generated from wild-type but not from oncogenic mutant p53 protein. Genes Dev. 1993;7: 2565-2574.
29. Tokino T, Thiagalingam S, El-Deiry W. S, Waldmann T,Kinzler K W, Vogelstein B. p53 tagged sites from human genomic DNA. Hum. Mol. Genet. 1994;3: 1537-1542
30. Kern S E, Kinzler K W, Baker S J, Nigro J M, Rotter V,Levine A J. Mutant p53 proteins bind DNA abnormally in vitro. Oncogene 1991;6:131-136.
31. Nigro J M, Baker S J, Preisinger A C, Jessup J M,Hostetter R, Cleary K. Mutations in the p53 geneoccur in diverse human tumour types. Nat 1989;342: 705-708.
32. Hollstein M, Rice K, Greenblatt M S, Soussi T, Fuchs R, Sorlie T. Database of p53 gene somatic mutations in human tumors and cell lines. Nucleic Acids Res. 1994;22: 3551-3555.
33. Cho Y, Gorina S, Jeffrey P D, Pavletich N P. Crystal structure of a p53 tumor suppressor-DNA complex: understanding tumorigenic mutations. Science 1994;265: 346-355.
34. Gorden Peters ,Karen H.Vousden . Oncogenes and tumour suppressors. OIRL PRESS,Oxford, 1997; 236
35. Shaulsky G, Goldfinger N, Tosky M. S, Levine A. J, Rotter V. Nuclear localization is essential for the activity of p53 protein. Oncogene 1991;6: 2055-2065.
36. SturzbecherHW, Brain R, Addison C, Rudge K, Remm M,Grimaldi M, Keenan E, Jenkins J R. A C-terminal R-helix plus basic region motif is the major structural determinant of p53 tetramerization. Oncogene 1992;7:1513-1523.
37. Pietenpol J A, Tokino T, El-Deiry W S, Kinzler K W, and Vogelstein B. Sequence-specific transcriptional activation is essential for growth suppression by p53. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1994; 91: 1998-2002.
38. Chene P. In vitro analysis of the dominant negative effect ofp53 mutants. J. Mol. Biol. 1998;281: 205-209.
39. Kern S E, Pietenpol J A, Thiagalingam S, Seymour A, Kinzler K W, Vogelstein B. Oncogenic forms of p53 inhibit p53-regulated gene expression. Science 1992;256: 827-830.
40. Stommel J M, Marchenko N D, Jimenez G S, Moll U M,Hope T J, Wahl G M. A leucine-rich nuclear export signal in the p53 tetramerization domain: regulation of subcellular localization and p53 activity by NES masking. EMBO J. 1999;18: 1660-1672.

41. Farmer G, Bargonetti J, Zhu H, Freidman P, Prywes R, Prives C. Wild-type p53 activates transcription in vivo. Nat 1992;358: 83-85
42. Zambetti G P, Bargonetti J, Walker K, Prives C, Levine AJ. Wild-type p53 mediates positive regulation of gene expression through a specific DNA sequence element. Genes Dev. 1992;6 (7): 1143-1152
43. Hermeking H, Lengauer C, Polyak K, He TC, Zhang L,Thiagalingam S, et al. 14-3-3 is a p53-regulated inhibitor of G2/M progression. Mol. Cell 1998;1: 3-11.
44. Kastan M B, Zhan Q, El-Deiry W S, Carrier F, Jacks T,Walsh W V,et al. A mammalian cell cycle checkpoint pathway utilizing p53 and GADD45 is defective in ataxia-telangiectasia. Cell 1992;71:587-597.
45. Smith M L, Chen IT, Zhan Q, Bae I, Chen CY, Gilmer TM, et al. Interaction of the p53-regulated protein Gadd45 with proliferating cell nuclear antigen. Science 1994; 266: 1376-1380.
46. El-Deiry W S, Tokino T, Velculescu V E, Levy D B, Parsons R, Trent JM, et al. WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression. Cell 1993;75: 817-825.
47. Pan ZQ, Reardon J T, Li L, Flores Rozas H, Legerski R, Sancar A. Inhibition of nucleotide excision repair by the cyclin dependent kinase inhibitor p21. J.Biol. Chem. 1995;270 (37): 22008-22016.
48. Hwang B J, Ford J M, Hanawalt P C, Chu G. Expression of the p48 xeroderma pigmentosum gene is p53-dependent and is involved in global genomic repair. Proc. Natl.Acad. Sci. U.S.A. 1999;96: 424-428.
49. Gasco M, Crook T. The p53 network in head and neck cancer, Oral Oncol 2003;39:222-231.
50. Lin YP, Ma WL, Benchimol S. Pidd, a new deathdomain-containing protein, is induced by p53 and promotes apoptosis. Nat. Genet. 2000;26: 122-125.
51. Oda K, Arakawa H, Tanaka T, Matsuda K, Tanikawa C, Mori T, et al. p53 AlP1, a potential mediator of p53-dependent apoptosis, and its regulation by Ser-46-phosphorylated p53. Cell 2000;102: 849-862
52. Buckbinder L, Talbott R, Velasco-Miguel S, Takenaka I,Faha B, Seizinger B. Induction of the growth inhibitor IGF-binding protein3 by p53.Nat1995;377:646-649
53. Wu G S, Bums T F, McDonald E R, Jiang W, Meng R, Krantz I D, et al. KILLER/DR5 is a DNA damage-inducible p53-regulated death receptor gene. Nat. Genet. 1997;17: 141-143
54. .Owen-Scaub L B, Zhang W, Cusack J C, Angelo L S, Santee S M, Fujiwara T, et al. Wild-type human p53 and a temperature-sensitive mutant induce Fas/APO-1 expression. Mol. Cell. Biol. 1995;15: 3032-3040.
55. Dameron K M, Volpert O V, Tainsky M A, Bouck N.Control of angiogenesis in fibroblasts by p53 regulation of thrombospondin-1. Science 1994;265: 1582-1584.
56. Van Meir E G, Polverini P J, Chazin V R, Su Huang HJ, De Tribolet N, Cavenee WK. Release of an inhibitor of angiogenesis upon induction wild-type p53 expression in glioblastoma cells. Nat. Genet. 1994;8: 171-176.
57. Fukushima Y, Oshika Y, Tsuchida T, Tokunaga T, Hatanaka H, Kijima H, et al. Brain specific angiogenesis inhibitor1 expression is inversely correlated with vascularity and distant metastasis of colorectal cancer. Int. J. Oncol. 1998;13(5): 967-970.
58. Ravi R, Mookerjee B, Bhujwalla Z M, Sutter C H, Artemov D, Zheng Q, Dillehay L E, Madan A, Semenza G L, Bedi A. Regulation of tumor angiogenesis by p53-induced degradation of hypoxia-inducible factor 1 alpha. Genes Dev. 2000;14(1): 34-44.
59. Juven T, Barak Y, Zauberman A, George D L, Oren M. Wild-type p53 can mediate sequence-specific transactivation of an internal promoter within the mdm2 gene. Oncogene 1993;8: 3411-3416.
60. Barak Y, Juven T, Haffner R, Oren M. mdm2 expression is induced by wild-type p53 activity. EMBO J. 1993;12: 461-468.
61. Haupt Y, Maya R, Kazaz A, Oren M. Mdm2 promotes the rapid degradation of p53. Nat 1997;387: 296-299.
62. Kubbutat M H G, Jones S N, Vousden K H. Regulation of p53 stability by Mdm2. Nat 1997;387: 299-303.
63. Arizti P, Fang L, Park I, Yin Y X, Solomon E, Ouchi T, Aaronson S A, Lee S W. Tumor suppressor p53 is required to modulate BRCA1 expression. Mol. Cell. Biol. 2000;20:7450-7459.
64. MacLachlan T K, Dash B C, Dicker D T, El Deiry WS. Repression of BRCA1 through a feedback loop involving p53. J. Biol. Chem. 2000;275: 31869-31875.
65. Miyashita T, Harigai M, Hanada M, Reed J C. Identification of a p53-dependent negative response element in the bcl-2 gene. Cancer Res. 1994;54: 3131-3135.
66. Leach S D, Scatena C D, Keefer C J, Goodman H A, Song S Y, Yang L, et al. Negative regulation of Weel expression and Cdc2 phosphorylation during p53-mediated growth arrest and apoptosis. Cancer Res. 1998;58: 3231-3236.
67. Ginsberg D, Mechta F, Yaniv M, Oren M. Wild type p53 can down-modulate the activity of various promoters. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1991;88: 9979-9983.
68. Wang Q J, Zambetti G P, Suttle D P. Inhibition of DNA topoisomerase IIa gene expression by the p53 tumor suppressor. Mol. Cell. Biol. 1997;17: 389-397.

69. Murphy M, Hinman A, Levine A J. Wild-type p53 negatively regulates expression of a microtubule-associated protein. Genes Dev. 1996; 10: 2971-2980.
70. Roperch J P, Alvaro V, Prieur S, Tuynder M, Nemani M, Lethrosne F, et al. Inhibition of presenilin 1 expression is promoted by p53 and p21WAF-1 and results in apoptosis and tumor suppression. Nat. Med. 1998;4: 835-838.
71. Agoff S N, Hou J, Linzer D I H, Wu B. Regulation of the human hsp70 promoter by p53. Science 1993;259: 84-87.
72. Ahn J, Murphy M, Kratowicz S, Wang A, Levine A J, George D L. Down-regulation of the stathmin/Opl8 and FKBP25 genes following p53 induction. Oncogene 1999;18: 5954-5958.
73. Flatt P M, Tang L J, Scatena C D, Szak S T, Pietenpol J A. p53 Regulation of G2 checkpoint is retinoblastoma protein dependent. Mol. Cell. Biol.2000;20:4210-4223.
74. Taylor W R, DePrimo S E, Agarwal A, Agarwal M L,Schtnthal A H, Katula K S. Mechanisms of G2 arrest in response to overexpression of p53. Mol. Biol. Cell 1999;10: 3607-3622.
75. Santhanam U, Ray A, Sehgal P B. Repression of the interleukin 6 gene promoter by p53 and the retinoblastoma susceptibility gene product. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1991;88:7605-7609.
76. Prisco M, Hongo A, Rizzo M G, Sacchi A, Baserga R. The insulin-like growth factor I receptor as a physiologically relevant target of p53 in apoptosis caused by interleukin-3 withdrawal. Mol. Cell. Biol. 1994;17: 1084-1092.
77. Zhao R , Gish K, Murphy M , Yin Y, Notterman D, Hoffman WH , et al . Analysis of p53-regulated gene expression patterns using oligonucleotide arrays. Genes Dev 2000;14:981-993.
78. Vogelstein B, Lane D, Levine A.J. Surfing the p53 network. Macmillan Magazines Ltd 2000; 408:307-310.
79. Hartwell, L. H., and Weinert, T. A. Checkpoints: Controls that ensure the order of cell cycle events. Science 1989:246, 629-634.
80. Paulovich A G, Toczyski D P, Hartwell L H. When checkpoints fail. Cell 1997;88: 315-321.
81. Sherr CJ. G1 phase progression: Cycling on cue. Cell 1994;79: 551-555.
82. Sherr CJ. Roberts JM. Inhibitors of mammalian G1 cyclin-dependent kinases. Genes Dev 1995; 9: 1149-1163.
83. Waga S, Stillman B. Cyclin-dependent kinase inhibitor p21 modulates the DNA primer-template recognition complex. Mol. Cell. Biol. 1998;18: 4177-4187.
84. Waga S, Hannon G J, Beach D, Stillman B. The p21 inhibitor of cyclin-dependent kinases controls DNA replication by interaction with PCNA. Nat 1994;369: 574-578.
85. Hwang A, Muschell R J. Radiation and the G2 phase of the cell cycle. Radiat. Res. 1998;150: S52-S59
86. Hall-Jackson C A, Cross D A, Morrice N, Smythe C. ATR is a caffeine-sensitive, DNA-activated protein kinase with a substrate specificity distinct from DNA-PK. Oncogene 1999;18: 6707-6713.
87. Lopez-Girona A, Fumari B, Mondesert O, Russell P. Nuclear localization of Cdc25C is regulated by DNA damage and a 14-3-3 protein. Nat 1999;397: 172-175.
88. Wang XW, Zhan QM, Coursen JD, Khan MA, Kontny HU, Yu LJ. et al. GADD45 induction of a G2/M cell cycle checkpoint. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1999 ; 96 : 3706-3711
89. Hans Widlund . Cell cycle control ,G2/M DNA damage control. cell signaling technology 2008;152:1 .
90. Sorger PK, Dobles M, Tournebize R, Hyman AA. Coupling cell division and cell death to microtubule dynamics. Curr. Opin. Cell Biol. 1997 ; 9 : 807-814.
91. Cross SM, Sanchez CA, Morgan CA, Schimke MK, Ramel S, Idzerda RL, et al. A p53-dependent mouse spindle checkpoint. Science 1995 ; 267: 1353-1356.
92. Brown CR, Doxsey SJ, White E, Welch WJ. Both viral (adenovirus E1B) and cellular (hsp70 and p53)components interact with centrosomes. J. Cell. Physiol. 1994 ; 160 : 47-60.
93. Li R, Waga S, Hannon GJ, Beach D, Stillman B. Differential effects by the p21 CDK inhibitor on PCNA-dependent DNA replication and repair. Nat 1994 ; 371 : 534-537.
94. Smith ML, Kontny HU, Zhan Q, Sreenath A, O'Connor PM, Fornace AJ. Antisense GADD45 expression results in decreased DNA repair and sensitizes cells to UV irradiation or cisplatin. Oncogene 1996 ; 13 : 2255-2263.
95. Hoeijmakers J H J .Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. Nat 2001; 411: 366-374.
96. Wood RD . Nucleotide excision repair in mammalian cells. J Biol Chem 1997;272: 23465-23468.
97. de Laat WL, Jaspers NGJ , Hoeijmakers JHJ . Molecular mechanism of nucleotide excision repair. Genes Dev 1999;13: 768-785 .
98. Tornaletti S , Hanawalt PC . Effect of DNA lesions on transcription elongation. Biochimie 1999;81: 139-146.

99. Sugasawa K, Okamoto T, Shimizu Y, Masutani C, Iwai S , Hanaoka F . A multistep damage recognition mechanism for global genomic nucleotide excision repair. Genes Dev 2001;15: 507-521.
100.Svejstrup JQ . Mechanisms of transcription-coupled DNA repair. Nat Rev Mol Cell Biol 2002 ;3: 21-29.
101.Wang XW, Yeh H, Schaeffer L, Roy R, Moncollin V, Egly JM, et al. p53 modulation of TFIIH-associated nucleotide excision repair activity. Nat. Genet. 1995;10: 188-195.
102.Le´veillard T, Andera L, Bissonnette N, Schaeffer L, Bracco L, Egly JM, and Wasylyk B. Functional interactions between p53 and the TFIIH complex are affected by tumourassociated mutations. EMBO J.1996; 15: 1615-1624.
103.Abramova N A, Russell J, Botchan M, Li R. Interaction between replication protein A and p53 is disrupted after UV damage in a DNA repair-dependent manner. Proc.Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1997;94: 7186-7191.
104.Lee S, Elenbaas B, Levine A, Griffith J. p53 and its 14 kDa C-terminal domain recognize primary DNA damagein the form of insertion/deletion mismatches. Cell 1995;81: 1013- 1020.
105.Bums TF, El-Deiry W S. The p53 pathway and apoptosis. J. Cell. Physiol. 1999;181: 231-239.
106.Sionov RV, Haupt Y. The cellular response to p53: the decision between life and death. Oncogene 1999;18: 6145- 6157.
107.Friesen C, Herr I, Krammer PH, Debatin KM. Involvement of the CD95 (APO 1/Fas) receptor/ligand system in drug-induced apoptosis in leukemia cells. Nat. Med. 1996;2: 574- 577.
108.Thomas A, Giesler T, White E. p53 mediates Bcl-2 phosphorylation and apoptosis via activation of the Cdc42/JNK1 pathway. Oncogene 2000;19:5259-5269.
109.Deng Y, Wu X. Peg3/Pw1 promotes p53-mediated apoptosis by inducing Bax translocation from cytosol to mitochondria. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2000;97: 12050-12055
110.Polyak K, Xia Y, Zweier JL, Kinzler KW, Vogelstein B. A model for p53-induced apoptosis. Nat 1997;389: 300-305.
111.Gu ZM, Flemington C, Chittenden T, Zambetti GP. ei24, a p53 response gene involved in growth suppression and apoptosis. Mol. Cell. Biol. 2000;20: 233-2
112.Riley T, Sontag E, Chen P, Levine A . Transcriptional control of human p53-regulated genes. Nat Rev Mol Cell Biol 2008; 9:402-412
113.Harms K L , Chen X. Histone deacetylase 2 modulates p53 transcriptional activities through regulation of p53-DNA binding activity. Cancer Res 2007; 67: 3145–3152.
114.Farmer G, Colgan J, Nakatani Y, Manley J L , Prives C. Functional interaction between p53, the TATA-binding protein (TBP), and TBP-associated factors in vivo. Mol. Cell. Biol. 1996;16: 4295–4304.
115.Thut CJ, Chen JL, Klemm R, Tjian R. p53 transcriptional activation mediated by coactivators TAFII40 and TAFII60. Science 1995;267: 100–104.
116.Gu W, Shi XL , Roeder RG. Synergistic activation of transcription by CBP and p53. Nat 1997;387: 819–823 .
117.Hassan N.M.M, Tada M, Hamada J.I, Kashiwazak H, Kameyama T, Akhter R, Yamazaki Y, Yano M, Inoue N, Moriuchi T. Presence of dominant negative mutation of TP53 is a risk Of early recurrence in oral cancer. Cancer Letters 2008 ; 270:108-119.
118.Landers J.E, Cassel S.L , George D.L. Translational Enhancement of mdm2 Oncogene Expression in Human Tumor Cells Containing a Stabilized Wild-Type p53 Protein. Cancer Res 1997;57:3562-3568.
119.Wang W , El-Deiry WS . Restoration of p53 to limit tumor growth. Curr Opin Oncol 2008; 20:90–96.
120.Muller M, Strand S, Hug H, Heinemann EM, Walczak H, Hofmann WJ. et al. Drug-induced apoptosis in hepatoma cells is Mediated by the CD95 (APO-1/Fas)receptor/ligandsy stem and Involves activation of wild-typep53. J.Clin.Invest. 1997;99:403-413.
121.Wagener C, Bargou RC, Daniel PT, Bommert K, Mapara MY, Royer HD, Dorken B. Induction of the death-Promoting gene bax-alphasensitizes cultured breast-cancer cells to drug-induced apoptosis. Int.J.Cancer 1996;67:138-141.
122.Fan S, Smith M L, Rivet D J, Duba D, Zhan Q, Kohn KW,et al. Disruption of p53 function sensitizes breast cancer MCF-7 cells to cisplatin and pentoxifylline. Cancer Res1995; 5: 1649-1654.
123.Vasey PA, Jones NA, Jenkins S, Dive C, Brown R. Cisplatin, camptothecin, and taxol sensitivities of cells with p53-associated multidrug resistance. Mol. Pharmacol 1996; 50: 1536-1540.
124.Gallagher W M, Cairney M, Schott B, Rominson IB, Brown R. Identification of p53 genetic suppressor elements which confer resistance to cisplatin. Oncogene 1997;14: 185- 193.
125.Bunz F, Hwang PM, Torrance C, Waldman T, Zhang YG, Dillehay L, et al. Disruption of p53 in human cancer cellsalters the responses to therapeutic agents. J. Clin. Invest 1999; 104: 263-269

126.Pedro A. Andrade Filho • Daisuke Ito •Albert B. DeLeo • Robert L. Ferris. CD8+ T cell recognition of polymorphic wild-type sequence p53 65–73 peptides in squamous cell carcinoma of the head and neck: Cancer Immunol Immunother Springer-Verlag 2010;published online:25 june 2010, DOI 10.1007/s00262-010-0886-1.
127.Puca R, Nardinocchi L, Bossi G, Sacchi A, Rachavi G, Givol D: Restoration wtp53 activity in HIPK2 depleted MCF7 cells by modulating metallothionein and zinc; Exp Cell Res 2009;315: 67-75.
128.Puca R, Nardinocchi L, Gal H, Rechavi G, Amariglio N, Domany E, et al. Reversible Dysfunction of Wild-Type p53 following Homeodomain-Interacting Protein Kinase-2Knockdown; Cancer Res 2008; 68 (10) :3707-3714.
129.Horiuchi H , Kawamata H, Omotehara F, Fujii S, Fujimori T. Negative immunohistochemical staining of p53 protein does not always reflect wild-type p53 gene in cancer cells, J Springer a,Gastroenterol 2004; 39:801–806.
130.Cook A , Milner J. Evidence for allosteric variants of wild-type p53, a tumour suppressor protein. Br. J. Cancer1990; 61: 548- 552.
131.Wang P.L, Sait F, Winter G. The `wildtype' conformation of p53: epitope mapping using hybrid proteins; Oncogene 2001; 20: 2318 – 2324.
132.Gannon JV, Greaves R, Iggo R , Lane DP. EMBOJ. 1990; 9: 1595- 1602.
133.Legros Y, Meyer A, Ory K and Soussi T. Oncogene 1994; 9: 3689 - 3694.
134.Vojtesek B, Dolezalova H, Lauerova L, SvitakovaM, Havlis P, Kovarik J, Midgley CA and Lane DP. Oncogene 1995; 10: 389 - 393.
135.Wang Y.CH, Lin R.K, Tan Y.H, Chen J.T, Chen CH.Y. Wild-Type p53 Overexpression and Its Correlation WithMDM2 and p14ARF Alterations: An Alternative Pathway to Non–Small-Cell Lung Cancer.J Clin Oncol2005;23(1):154-164.
136.Trbusek M, Malcikova J, Smardova J, Kuhrova V, Mentzlova D, Francova H, et al.Inactivation of p53 and deletion of ATM in B-CLL patients in relation to IgVH mutation status and previous treatment :Leukemia 2006; 20: 1159–1161.
137.Moll UM, Riou G, Levine A J. Two distinct mechanisms alter p53 in breast cancer: mutation and nuclear exclusion. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.1992;89:7262-7266.
138.Takahashi K, Suzuki K. Association of insulin-like growth-factor-I-induced DNA synthesis with phosphorylation and nuclear exclusion of p53 in human breast cancer MCF-7 cells.Int. J. Cancer 1993;55: 453-458.
139.Sakai E, Tsuchida N, Most human squamous cell carcinomas in the oral cavity contain mutated p53 tumor-suppressor genes, Oncogene 1992;7: 927–933.
140.Kubo Y, Murao K, Matsumoto K, and Arase S; Molecular carcinogenesis of squamous cell carcinomas of the skin. J Med Invest 2002; 49 :111-117.
141.Balz V, Scheckenbach K, Götte Kl. Is the p53 Inactivation Frequency in Squamous Cell Carcinomas of the Head and Neck Underestimated: Analysis of p53 Exons 2-11 and Human Papillomavirus16/18 E6 Transcripts in 123 Unselected Tumor Specimens. Cancer Res 2003;63:1188-1191.
142.Yin X, Zhang H, Burrows F. Potent Activity of a Novel Dimeric Heat Shock Protein 90 Inhibitor against Head and Neck Squamous Cell Carcinoma In vitro and In vivo. Clin Cancer Res 2005;11:3889-3896.

تاريخ ورود البحث إلى مجلة جامعة دمشق 2012/1/12.
تاريخ قبوله للنشر 2012/5/13.