
P53: LA HISTORIA SIN FINAL DE UN POLIFACÉTICO GUARDIÁN

Juan Camilo Baena Valencia¹
Ivonne Peláez Giraldo¹
Eduardo Castaño Molina²

....."Si he logrado ver más lejos,
ha sido porque he subido a hombros de gigantes"
(Isaac Newton, 1676).

RESUMEN

El gen *p53* ha sido muy estudiado en los últimos años. Inicialmente su producto fue considerado como promotor tumoral; pero hoy en día no sólo se le reconocen sus bondades como un represor tumoral, sino que también juega un papel protagónico en otros procesos celulares como el mantenimiento de la integridad del genoma, la apoptosis, la senescencia y el desarrollo, entre otros. Pero, aún no se conoce los límites de sus alcances; sin embargo la información obtenida ha logrado trascender a las aplicaciones clínicas y probablemente falta mucho más por explorar y aplicar acerca de éste polifacético guardián.

Palabras clave: *p53*, gen supresor tumoral, guardián del genoma.

P53: THE NEVER-ENDING STORY OF A MULTIFACETED GUARDIAN

ABSTRACT

The *p53* gene has been extensively studied in recent years, with initial results considering it a tumor promoter. However, currently it is not only recognized for being a tumor repressor, but also for playing a leading role in other cellular processes such as maintaining the integrity of the genome, apoptosis, senescence and development, among others. The limits of its scope are still unknown; however, the information obtained has transcended clinical applications and there is probably much more to explore and implement regarding this multifaceted guardian.

Key words: *p53* tumor suppressor gene, genome guardian.

¹ MD. Fellow en University of Texas at Houston. School of public health.

² Profesor Titular, Facultad de Ciencias para la Salud, Universidad de Caldas. E-mail: eduardo.castano@ucaldas.edu.co

1. INTRODUCCIÓN

En sus casi 30 años de historia, *p53* ha pasado de ser considerado un oncogén para convertirse en un gen supresor tumoral y según datos recientes, además, es un supresor de teratogenia. Su descubrimiento y estudio posterior significó un hito para el campo de la genética y la oncología, e implicó la necesidad de unificar teorías hasta entonces aisladas y redefinir conceptos sobre el origen y la progresión tumoral. Gracias a su amplia red de transcripción, el producto del gen *p53*, se encuentra involucrado en múltiples procesos celulares entre los cuales se destacan: la apoptosis, la senescencia, el metabolismo, el desarrollo, las neoplasias, enfermedades cardiovasculares, la neurodegeneración y el envejecimiento, entre otros. Del mismo modo, la información acumulada ha logrado trascender del campo teórico a la aplicación clínica, la cual continúa en progreso. En la presente revisión se hace una recapitulación de los principales eventos que fueron necesarios para que *p53* se encuentre hoy en la mira de las principales investigaciones en oncología molecular y en general en genética de las enfermedades.

2. LOS INICIOS

Durante la década de 1960, el campo de la investigación en oncología se fundamentaba en cuatro observaciones: a). Que los virus se asociaban con la aparición de neoplasias, conclusiones a las que se llegaron después de 50 años de investigación, y que demostraron que los virus con genomas DNA y RNA podían ocasionar neoplasias en animales. En las últimas cinco décadas seis nuevos virus que podían generar cáncer en humanos fueron descubiertos (Epstein Barr, leucemia de células T, hepatitis B y C, sarcoma de Kaposi y el del papiloma humano). b). Que ciertos químicos ocasionaban neoplasias en animales. c). El estudio de la genética en ratones demostró claramente que algunos cánceres eran hereditarios lo cual ratificó las publicaciones previas que sugerían un rol

para los genes causantes de cáncer en humanos y animales; y d). Los epidemiólogos aportaron el hallazgo de que las tasas de incidencia de las neoplasias incrementaban exponencialmente con la edad y crecían dramáticamente entre la quinta y sexta década de la vida (1).

Mientras estas cuatro observaciones eran hechos aceptados, la relación entre ellos no era clara y los investigadores, quienes estudiaban virus, difícilmente discutían sobre los químicos cancerígenos y aquellos quienes meditaban sobre genes y virus no consideraban la edad como una variable a tener en cuenta. Varios hechos parecían estar bien establecidos y ser correctos, pero las relaciones no eran aparentes. El panorama cambió cuando se estableció que algunos virus tumorales RNA portaban un gen extra en sus genomas y este gen podía ser el causante del cáncer. Los oncogenes resultaron pertenecer a las células hospederas y cuando se activaban, se convertían en mutaciones dominantes que permitían la progresión del cáncer en las células infectadas por los retrovirus estableciendo una clara relación entre los virus y la genética.

Para entonces, la idea de que los humanos y los animales tenían genes que prevenían la formación del cáncer o retrocedían el fenotipo oncogénico era nueva. Para 1971, Alfred Knudson de la escuela de Texas, hipotetizó que dos mutaciones independientes en el mismo gen, más tarde denominado el gen RB (retinoblastoma), podían ocasionar cáncer en el globo ocular de algunos niños. Sin embargo, fue más allá planteando que los dos patrones de presentación de esta neoplasia se podían explicar por la *teoría de "los dos impactos"*. El primer patrón consistía en aquellos niños que desarrollaban este tumor durante el primer año de vida, presentando tumores bilaterales y generalmente dos o más en cada ojo. Knudson planteó que los hallazgos se debían a un alelo mutante heredado, "primer impacto", seguido por una mutación espontánea en el otro alelo, "segundo impacto". En el segundo patrón, los niños

desarrollaban el tumor varios años después del nacimiento, presentando tumores unilaterales y generalmente únicos gracias a un evento extraño de dos mutaciones independientes adquiridas , en este caso los dos impactos se adquirirían después del nacimiento y muy espaciados en el tiempo, por ello desarrollaban los tumores más tardíamente (2). Esta idea sugirió oficialmente el concepto del gen supresor tumoral y terminó por unificar las cuatro nociones que inicialmente se encontraban desligadas.

Posteriormente, los virus tumorales DNA pequeños, descubiertos a mediados de 1950, fueron rápidamente revisados para determinar si cargaban oncogenes que fueran derivados de las secuencias de DNA celular. Se esclareció que los virus tumorales DNA (SV 40, poliovirus, los adenovirus y el papilomavirus), codificaban sus propios genes para desarrollar neoplasias y por este motivo fueron denominados oncogenes virales. Cuando estos virus eran inoculados a un animal, éste desarrollaba un tumor en el sitio de inyección después de un periodo de latencia largo. Era más común que el virus infeccioso desapareciera y que de una sola célula se desarrollara el tumor con el DNA integrado al cromosoma celular dando paso a la *teoría monoclonal de oncogénesis* (3). Este DNA era expresado diferencialmente y se generaban algunas proteínas en las células tumorales. Dichas proteínas eran reconocidas como extrañas por el sistema inmune quien generaba anticuerpos contra las proteínas codificadas por el virus. Para el SV 40 las proteínas fueron llamadas el antígeno T largo y el antígeno t pequeño, para los adenovirus E1A y E1B y para el virus del papiloma las proteínas E6 y E7. Así por ejemplo, 40 años después del descubrimiento de estos virus, se comprendería que la proteína p105-Rb del retinoblastoma también formaba complejos con los productos oncogénicos E1A del adenovirus, el antígeno T largo del poliomavirus y la proteína E7 del papilomavirus humano (4).

3. REDEFINIENDO UN PARADIGMA: P53 ENTRE DOS EXTREMOS

En 1979, David Lane, Lionel Crawford, Daniel Linzer y Arnold Levine reportaron que el antígeno de uno de los virus DNA, el SV40, se unía a una proteína celular que llegó a ser denominada *p53* (5), término que era empleado para identificar una familia de proteínas que se encontraban en pesos moleculares que iban de 48.000 a 55.000 daltons y que habían sido halladas en grandes cantidades en células de mamíferos transformadas por una variedad de agentes tales como virus tumorales DNA, virus tumorales RNA y agentes químicos (6). Para el mismo tiempo de los trabajos de Lane y Crawford, Lloyd Old y sus colegas del Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, demostraron que los animales inmunizados con células tumorigénicas y espontáneamente transformadas también presentaban anticuerpos contra la proteína *p53* (7). Old y su grupo lograron superar las dificultades para obtener antígenos de superficie en ratones y observaron, que posterior a la inmunización, los ratones se volvían resistentes a los trasplantes subsecuentes del mismo tumor. Compararon varias proteínas de diferentes pesos moleculares, 200.000, 123.000, 93.000 y 53.000, hallando que todas, se encontraban en fibroblastos normales, y que en las células de sarcoma, la mayoría de las veces se expresaba *p53*. Finalmente dedujeron que la presencia de esta última proteína en tumores de etiología no viral indicaba que genes residentes celulares podían codificar este componente y que el *p53* se encontraba finamente regulado, siendo su aparición en las células transformadas el producto de una mutación en un locus regulador. Un año después sugerirían que el *p53* podría estar implicado en la regulación normal de la división celular y la atención del mundo científico comenzó a girar en torno del nuevo hallazgo (8,9). Así la *p53* llegó a ser clasificada inicialmente como un antígeno tumoral (10). El siguiente paso, luego de dilucidar cómo el SV40 transformaba las células, fue dado por

Mosche Oren en el laboratorio de Levine (11). Oren sabía que comprendiendo los mecanismos que llevaban al incremento de los niveles y vida media de la proteína *p53* en las células tumorales, podría esclarecer la relación existente entre esta y el proceso de transformación. El obstáculo para los investigadores de la época era la ausencia de una prueba de ácidos nucleicos apropiada. Mosche se dio a la tarea de preparar un clon de cDNA del *p53* proveniente de células SVT2, una línea celular de ratones transformada por el SV40, a través de polisomas inmunoprecipitados con anticuerpos monoclonales contra la proteína, para obtener RNAm y acceder finalmente a una librería de DNA complementario (12). Sin embargo, antes de completar el trabajo, Mosche regresó a Israel para establecer su propio laboratorio en el instituto Weizmann y el grupo norteamericano con el que había trabajado se alió con el laboratorio de Levine para encontrar una librería de cDNA que tuviera un clon de longitud completa del cDNA de *p53*, logrando finalizar el proyecto para 1984. Mientras tanto, Mosche Oren empleaba en Israel una librería genómica de hígado de ratón (13). Oren se basaba en estudios previos, donde se demostraba una estrecha relación entre la modulación experimental del fenotipo transformado y las alteraciones en los niveles de *p53* celular. Lo anterior era compatible con el modelo que asumía que *p53* se encontraba involucrado en la regulación de la proliferación celular a través del control de la entrada desde G1 hacia la fase de síntesis; así, la posibilidad de que la sobreproducción de *p53* estuviese directamente implicada en la transformación maligna por la inducción continua de la replicación del DNA era casi un hecho.

Sin saberlo, la librería que Oren había producido en Israel se había contaminado por algunos clones de células transformadas. Al compararse las secuencias de aminoácidos predichas por el clon genómico de Oren y los hallazgos en el laboratorio de Levine, se descubrió que eran idénticas, excepto por el aminoácido en la posición 135, donde Oren encontró una valina y el

laboratorio de Levine una alanina, hallazgos que no tuvieron mucha relevancia para aquel tiempo. Lo siguiente fue determinar definitivamente si el *p53* era un oncogén que podía transformar las células. Para aquel momento existían dos tipos de oncogenes: aquellos que podían inmortalizar células en cultivo pero no tenían impacto sobre las otras propiedades del fenotipo transformado (*myc*, E1A), y los que podían transformar completamente líneas celulares permanentes (*ras*, E1B) pero que sólo lo hacían cuando se encontraban en el mismo medio junto a *myc* o E1A. Para la época, Cathy Finlay, una postdoctoral *fellow* quien había obtenido su título en el instituto Wistar de Filadelfia por su trabajo en senescencia celular, y Phil Hinds, un estudiante recientemente graduado, se unieron al laboratorio de Levine y comenzaron a trabajar en las propiedades transformantes de los clones de cDNA del *p53* que se habían aislado. Cuando se observó que dichos clones no tenían actividad transformante hubo gran sorpresa, pero hubo más problemas en el laboratorio Levine cuando Mosche pudo demostrar que su clon de *p53* unido a clones cDNA de Ras podían transformar fibroblastos primarios de embriones de rata (14). Otros laboratorios tuvieron hallazgos similares (4,15) y Levine decidió intercambiar sus clones con los de Oren pudiendo de esta forma reproducir los resultados de Israel, llegando a ser evidente la importancia, antes no reconocida, de la variante alanina-valina.

Los problemas no paraban allí. Levine no estaba seguro si la diferencia encontrada no era más que un inofensivo polimorfismo, si la mutación en el codón 135 activaba o inactivaba la habilidad transformante de *p53* o si incluso la presencia de intrones en el clon genómico de Oren podía producir una variante de empalme más activa. Otro elemento que se agregaba a la discusión era el hecho de que el clon de ADN complementario de Levine viniese de una librería de teratocarcinoma y resultara ser de tipo silvestre, mientras el clon de Moshe venía de un hígado de ratón y resulto ser un mutante. El mapeo cuidadoso y los experimentos

con marcadores realizados por Phil Hinds establecieron la secuencia F9 no transformante como el tipo silvestre e identificaron la mutación val135 como la responsable de la transformación en el constructo genómico de Oren. Mientras tanto en la unidad de oncología molecular de Villejuif (Francia) se llegaba a una conclusión similar gracias a la comparación de las secuencias de *p53* en humanos, ratones y sapos, las cuales revelaron cinco bloques de secuencias de aminoácidos altamente conservados. En uno de los bloques, se encontraba el aminoácido 135 y en todas las secuencias estudiadas se codificaba la alanina en esta posición (4). Levine comenzó a apreciar que la mayoría de las líneas celulares transformadas en cultivo contenían un grupo diverso de proteínas *p53* mutantes y que todas las líneas celulares provenientes de teratocarcinomas u otros tumores contenían una proteína *p53* tipo silvestre (16). La primera pista verdadera acerca de la importancia de la mutación del *p53* en cáncer fue obtenida cuando Cathy Finlay llevó a cabo estudios transformantes mezclando las dos secuencias diferentes de *p53*, la mutante y la tipo silvestre, con oncogenes como E1A y ras o myc y ras. Phil Hinds analizó las proteínas *p53* expresadas en cada uno de los clones transformados para ver si contenían el tipo silvestre o el mutante y encontró que los clones *p53* con cDNA que tenían la secuencia tipo silvestre (con alanina en la posición 135 del gen) inhibían la habilidad de myc y ras o E1A y ras para transformar las células en cultivo. Los pocos clones transformados que resultaron de estos experimentos expresaban myc y ras o E1A y ras pero siempre presentaban una proteína *p53* mutada. De igual forma, los clones de cDNA de *p53* con alteraciones adicionales, como la presencia ausencia de intrones podían generar ventajas cuantitativas para cooperar con ras y transformar las células (17). Se pudo determinar entonces que el gen silvestre estaba actuando como un anti-oncogene o supresor tumoral. Cuando los datos se compararon con observaciones de espectro mutacional similar de *p53* en eritroleucemias, el grupo del laboratorio de Levine pudo

establecer que la proteína mutada de *p53* había perdido su actividad supresora tumoral y que al mismo tiempo podía actuar, a través de la sobreexpresión, como un mutante dominante negativo para inactivar el *p53* endógeno en las células primarias (18) cooperando con ras en la transformación y aumentando su vida media gracias a la estabilización de la proteína mutada por regulaciones postraslacionales (19,20).

Se había revelado un misterio: SV40 transformaba las células inactivando la función de la proteína *p53*. Luego de que el trabajo fuera enviado a Cell, Levine fue al Banbury Center en Cold Spring Harbor para hablar sobre el hallazgo. Allí, B. Vogelstein mostraba sus propios resultados acerca de las mutaciones puntuales en una de las copias de *p53* y la pérdida del alelo no mutado en cáncer de colon. Vogelstein y Levine habían llegado a la misma conclusión pero por caminos completamente diferentes; sin embargo, además de concluir que el *p53* era un supresor tumoral, Vogelstein demostraba que éste tenía un rol en la oncología humana. Toda la historia pendiente por escribirse a partir de esta fecha le daría la razón a las observaciones de Vogelstein.

4. EN LA NATURALEZA NADA OCURRE AISLADAMENTE

Con el camino un poco más despejado gracias a los valiosos aportes de todos los pioneros, los interrogantes continuaron surgiendo casi desbordados por la promisoriosa idea que implicaba redefinir un concepto. Para la década de los noventa, el qué había sido reemplazado por el cómo y el hallazgo de que el *p53* se unía al ADN en formas particulares haciendo complejos con otras proteínas, permitía vislumbrar el mecanismo por medio del cual cumplía sus funciones la partícula que unos pocos años atrás se creyera oncogén (21-23). Varios trabajos demostraban entonces la participación de la proteína *p53* como un factor de transcripción y su regulación llegó a ser materia de debate. Se encontró que la proteína MDM-2 se unía a la

p53 inhibiendo su capacidad de transcripción (24-27). También se pudo comprobar que existía entre ambas proteínas un sistema de retroalimentación haciendo que, en condiciones normales, la proteína MDM2 se uniera a la proteína *p53* y la mantuviese en niveles bajos incrementando su susceptibilidad a la proteólisis por el proteosoma 26s, mientras que cuando la célula entraba en algún tipo de estrés, se bloqueaba la capacidad de unión entre las partículas alterando por consecuencia la forma de degradación mediada por MDM2. (28). Para 1997, la escuela de Ciencias de la Vida de la Universidad de Tokio anunciaba que el MDM2 no era más que un homólogo de la ligasa 3 que al unirse a la ubiquitina colaboraba en la regulación del supresor tumoral (29). Se establecía entonces el hecho de que el descubrimiento del *p53* sólo era la punta del iceberg del incipiente panorama molecular, y comenzaron a surgir ideas que revolucionarían la concepción que el ser humano había tenido de un viejo conocido: el cáncer, su origen y la progresión tumoral. Así, se encontró que al inducir mutaciones en *p53*, las células no fabricaban proteínas MDM2; que si se amplificaba el gen del homólogo de la ligasa 3 se puede bloquear la formación de *p53*; que las modificaciones postransduccionales, como la fosforilación alteran la interacción *p53*-MDM2 (30-32) y que aún más, otras proteínas podían inactivar al MDM2.

Pronto, el *p53* tuvo que ver con todo. Desde 1992, había sido bautizado como el guardián del genoma (33), y el 24 de diciembre de 1993 Science le había declarado molécula del año (34). Su proteína, conformada por 392 aminoácidos, configurada como un tetrámero para reconocer secuencias de ADN específicas, aseguraba que las células de los organismos multicelulares tuvieran siempre un comportamiento altruista, pues en condiciones normales, jamás permitía la competencia entre células sanas y aquellas que habían sido dañadas manteniendo así la estabilidad del genoma (35). Para lograr este fin, el *p53* mostraba que su función de factor de transcripción era la mejor herramienta

la cual le permitía interactuar con múltiples componentes de un sistema regulador común que lo tenía dentro del engranaje como la pieza clave (7). Se comprobó que dentro de los genes efectores se activaban aquellos que inducían la detención del ciclo celular en la fase G1, G2 e incluso en la etapa de síntesis. Allí estaba implicado principalmente el producto génico de *p21-WAF1* ya fuera iniciando la detención o ayudando a mantener la misma ante el daño del ADN (36-39). Posteriormente se fueron sumando a la lista los productos del *GADD45*, *B99* y aquellos que sin detener el ciclo también eran considerados genes reparadores por hacer parte del arreglo genómico global (40) o que colaboraban con otros genes en su función pro apoptótica como el gen que codifica un homólogo estructural de la reductasa de ribonucleótidos la cual es fundamental para el mantenimiento del compartimiento de nucleótidos durante la reparación del ADN (41). También se encontraron genes dependientes de *p53* que participaban en la apoptosis, actuando sobre la mitocondria para inducir la liberación de citocromo c y activar las caspasas que en últimas ocasionan fragmentación nuclear y muerte celular, o bien, liberando las caspasas a través de homologías con el factor de necrosis tumoral y formando radicales de oxígeno para destruir las membranas mitocondriales e iniciar la apoptosis (42,43). Los avances estaban en todos los frentes. En el mecanismo de la angiogénesis se llegó a determinar por medio de estudios con fibroblastos en gliomas malignos altamente vascularizados que al inducir el tipo silvestre del *p53* se obtenía una disminución considerable de productos de genes como el VEGF, ampliamente reconocido por ser uno de los factores de crecimiento que se expresa en mayor cantidad en aquellas neoplasias con alto poder metastásico. De igual forma se reconocieron genes que regulados por *p53* eran capaces de generar sustancias antiangiogénicas como la trombospondina 1 (TSP1) (44). El *p53*, básicamente inducía una mayor producción de ARN mensajeros de genes como el de TSP1, BAI1, GD-AiF, TGF β 2 e inhibidores de las

proteasas de serina, generando a su vez una mayor traducción proteica (45,46). Con el tiempo, vías alternativas para la estabilidad genómica fueron encontradas; *p53* no sólo regulaba genes reparadores y proapoptóticos sino que también desempeñaba un rol importante en la supervivencia celular a través de la codificación de proteínas antioxidantes (Gpx1, superóxido dismutasa Sod2, Gpx2 y algunas sestrinas) (47-49) evitando los efectos adversos del estrés oxidativo e incluso interviniendo en el metabolismo celular que desde 1920, gracias a las ideas de Warburg, se consideraba alterado en células tumorales las cuales mostraban un predominio por la vía de la glicolisis aeróbica con mayor producción de especies reactivas del oxígeno en lugar de la tradicional fosforilación oxidativa; todo esto, debido a la pérdida del guardián del genoma a quien apenas a inicios del siglo XXI se le comenzaban a reconocer influencias sobre genes como el TIGAR el cual disminuye los niveles intracelulares de fructosa 2-6 bifosfato, llevando a la célula por la vía alternativa de las pentosas fosfato que terminan en una reducción considerable de los radicales de oxígeno (50-51). Aunque hasta la fecha estudios bioinformáticos predigan que existen más de 4000 genes humanos que contienen sitios de unión a *p53* (52), análisis seriados de genes hayan identificado más de 100 genes regulados por éste y estimaciones experimentales basadas en inmunoprecipitación de cromatina hablen de un aproximado de 500 a 1600 genes bajo el gobierno del supresor tumoral, el *p53* no sólo es un potente factor de transcripción. Desde 1995 se tienen noticias acerca de la actividad apoptótica independiente de transcripción realizada por este gen cuando fue demostrado que la apoptosis dependiente del mismo ocurría en presencia de inhibidores de transcripción y de traducción y los *p53* mutantes carentes de actividad transcripcional podían desencadenar funciones de muerte celular programada. Sólo hasta el año 2004 fue posible conocer una explicación mecanicista del proceso. En respuesta a la señal de estrés, la proteína *p53* que se encuentra en el citosol

es rápidamente llevada a la mitocondria donde interactúa con miembros de la familia Bcl-2 anti y proapoptótica para inhibirlos o activarlos, lo cual resulta en una fuerte permeabilización de la membrana externa mitocondrial y liberación del citocromo c desencadenando la maquinaria enzimática de las caspasas y la degradación de cromatina sin necesidad de sufrir el paso de poli ubiquitinización nuclear (53-55).

5. SOCIEDADES INSOSPECHADAS

En realidad, el sistema *p53* ha sido asemejado más a una red o complejo donde los puntos de partida y de llegada no alcanzan a ser discriminados por completo y los límites y las dimensiones de sus funciones son cada vez más amplios. Por esto, ya no es posible hablar del gen que responde al daño del ADN, porque sencillamente ha sido descrito que existen múltiples situaciones que llevan a la activación del mismo, entre las cuales se incluyen la escasez en el compartimiento de nucleótidos (56), errores en el citoesqueleto (57,58), biogénesis ribosomal alterada (59), la hipoxia, la isquemia (60), hiperoxia, el déficit o ausencia de ciertos factores de crecimiento y algunas citoquinas (61), la adhesión alterada, integrinas defectuosas (62), la unión anormal de las células al sustrato (63), acumulación de células poliploides (64), destrucción o malformación del uso mitótico, hipo e hipertermia (65) y la exposición a óxido nítrico (66), entre otras. No es extraño entonces, que al gen que se encarga de la estabilidad genómica se le haya asignado algún papel en contextos poco usuales. Por ejemplo, se ha visto que *p53* contrarresta claramente el mecanismo fisiopatológico de la aterosclerosis (67) La disfunción del *p53* se ha relacionado con el desarrollo de lesiones ateromatosas inestables y potencialmente peligrosas, lo cual implica un rol de este gen en las placas activas posiblemente reduciendo la inflamación y el daño del ADN en presencia de radicales libres.

Otras asociaciones que se han encontrado con este gen son las enfermedades neurodegenerativas. El estrés oxidativo y la estimulación por aminoácidos excitatorios activan el *p53* llevando a degeneración neuronal y muerte con activación localizada de las caspasas que generan disfunción celular y pérdida dendrítica. El *p53* se ha visto sobre expresado en las neuronas alteradas que contienen ovillos neurofibrilares característicos de la enfermedad de Alzheimer (68). Así mismo existen relaciones entre la disminución de la pérdida neuronal dopaminérgica y los inhibidores de *p53* en la enfermedad de Parkinson (69), como también se han publicado datos que vinculan la respuesta al daño celular a cargo de genes regulados por *p53* y las ataxias (70).

5.1 La Ontogenia, maltratada y sin voluntad ante la Filogenia

En cuanto al envejecimiento y su relación con *p53*, los datos obtenidos hasta la fecha aún no son contundentes. Estudios en murinos han presentado hallazgos ambivalentes en donde al introducir una copia del *p53* constantemente activada se demuestra una reducción significativa en la frecuencia de tumores esporádicos, mientras al mismo tiempo, los ratones desarrollan fenotipos de envejecimiento prematuro (71); por otro lado, al producir una regulación a la baja de la expresión del gen MDM-2, se genera protección directa contra la formación tumoral, sin embargo, no se evidencia reducción en la vida media de los ratones (72). En humanos, desde 1987, se tiene identificado el polimorfismo en el codón 72 del *p53*. En éste, el alelo Arg72 difiere de la variante Pro72 por su mayor resistencia a las neoplasias gracias a su eficaz función proapoptótica mitocondrial. Aquellos individuos homocigotos en el alelo Pro72 muestran una mayor frecuencia de neoplasias mientras viven más tiempo y en general poseen una vida media más larga comparados con los individuos que presentan el alelo Arg72. Lo anterior, tal vez sólo tenga sentido desde el punto de vista evolutivo (73,74).

Al parecer, *p53* se encuentra altamente conservado en todos los metazoarios; de hecho, está presente en organismos eucariotas simples y su fidelidad es tal, que los homólogos *p53* en *C. elegans* y *Drosophila* pueden transactivar promotores que contienen sitios de unión a *p53* humanos. Sin embargo, en dichos organismos nunca se ha comprobado la existencia de neoplasias (75,76). Lo anterior llevó a los investigadores, a partir de la mitad de la década de los noventa, a reflexionar acerca de la función principal de *p53*. En 1992 Donehower había difundido la idea de que los ratones que nacían carentes de *p53* eran viables y se tuvo entonces la concepción de que durante la embriogénesis se podía prescindir del gen en cuestión (77). Estudios posteriores demostraron que una parte importante de los ratones carentes de *p53* en realidad sí presentaban anomalías significativas del desarrollo incluyendo defectos del tubo neural asociados con sobrecrecimiento del tejido neurológico o incluso resorción frecuente de los embriones afectados. Así mismo, también se evidenció que la sobreexpresión de *p53* en ratones se relacionaba con profundas alteraciones del desarrollo renal. Estos hallazgos y estudios posteriores comparando ratones Knockout y silvestres a los cuales se les inducía teratogenicidad con agentes que alteraban el ADN sugirieron que el *p53* juega un rol crítico en el desarrollo de los mamíferos (78). Durante la embriogénesis, este gen controla el crecimiento a través de sus dos actividades bandera, la senescencia y la apoptosis celular, lo cual permite la eliminación de las células alteradas y repara el daño del ADN en el embrión o en las líneas germinales.

Una vez más, se cambiaba el nombre a *p53*. Pasaba de ser un supresor tumoral a convertirse en supresor teratógeno. En la actualidad se considera que la función de supresión tumoral no es más que una actividad secundaria en organismos multicelulares complejos como el ser humano (79). Gracias a que a partir del siglo XX nuestra esperanza de vida se ha incrementado considerablemente ahora debemos pagar

la deuda evolutiva que hemos adquirido volviéndonos susceptibles a enfermedades propias del estado de senectud como lo son el cáncer, la diabetes mellitus tipo II, la aterosclerosis entre otras. Con el envejecimiento, aumenta la posibilidad de error en nuestro genoma y el *p53* se ve obligado a actuar en calidad de guardián; sin embargo, en ocasiones, las mutaciones acumuladas impiden inducir la apoptosis o a la senescencia promoviendo el fenotipo neoplásico. Por otro lado, cuando *p53* actúa en organismos que ya han superado la etapa de reproducción, existe una más alta probabilidad de que los compartimentos de células madres se agoten y la renovación tisular disminuya dando paso al fenotipo del envejecimiento. Aún más, las células que entran en senescencia se acumulan y secretan factores como enzimas degradantes, citoquinas inflamatorias y factores de crecimiento, los cuales modifican el microambiente celular y por un mecanismo diferente al ya descrito, también expresan el fenotipo neoplásico (80). Esto es lo que se conoce como la *teoría pleotrópica negativa* en donde eventos que pudieron ser benéficos en estadios tempranos de un organismo, llegan a ser perjudiciales en etapas tardías (81,82).

6. DE LA TEORÍA A LA PRÁCTICA

Sin embargo, tal vez lo más interesante de la historia de este gen, es el hecho de que toda la información acumulada en poco más de un cuarto de siglo ha logrado trascender los conceptos académicos y la teoría básica para modificar el pensamiento clínico y reasumir el manejo de la oncología humana. La investigación

en *p53* ha colaborado para que la terapia “blanco” sea cada vez más parte de la realidad y abandone un poco más el campo de la ficción. Así, la reactivación del tipo silvestre de *p53* en aquellos tumores donde su función ha sido suprimida ha sido evaluada en la clínica desde la década de los noventa (83); la búsqueda para aquellas moléculas que puedan activar la función de las proteínas mutadas de *p53* se encuentra abierta; las nutlinas, los primeros inhibidores MDM2 selectivos, han demostrado contrarrestar el crecimiento tumoral y disminuir la masa de neoplasias en ratones, dando paso a nuevas moléculas con funciones similares; (84,85); varios inhibidores de las quinasas dependientes de ciclinas han mostrado activar el *p53* y contrarrestar su degradación inhibiendo la expresión de MDM2 y en la actualidad se encuentran en diferentes etapas de investigación y de desarrollo como agentes antineoplásicos (86); la liberación de caspasas por permeabilización de la membrana mitocondrial dependiente de *p53* para inducir apoptosis ha sido claramente identificada en derivados del selenio (87) y la lista de aproximaciones terapéuticas tiende a incrementarse con el tiempo.

7. CONCLUSIONES

En conclusión, *p53* no es más que el reflejo de cómo la ciencia, y de hecho la civilización en su conjunto, consisten en una serie de pequeños progresos, cada uno de los cuales se alza sobre los alcanzados anteriormente. Este maestro y guardián del genoma seguirá dando de qué hablar, porque su acción es muy polifacética y dependiendo de las condiciones funcionales fomentará la salud o la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Hainaut P, Wiman K G. 25 years of p53 research. Springer P 2004;1-10.
2. Knudson AG Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. Proc Natl Acad Sci U.S.A. 1971;68:820-823.
3. Sell S, Pierce GB. Maturation arrest of stem cell differentiation is a common pathway for the cellular origin of teratocarcinomas and epithelial cancers. Lab Invest 1994;70:6-22.
4. Lane DP, Benchimol S. p53: oncogene or anti-oncogene? Genes Dev 1990;4:1-8.
5. Levine AJ, Finlay CA, Hinds PW. p53 is a Tumor Suppressor Gene. Cell. 2004;116(2 Suppl):S67-69.
6. Calabretta B, Kaczmarek L, Selleri L, Torelli G, Ming PM, Ming SC, Mercer WE. Growth-dependent Expression of Human Mr 53,000 Tumor Antigen MessengerRNA in Normal and Neoplastic Cells. Cancer Res 1986;46:5738-5742.
7. Chumakov PM. Versatile Functions of p53 Protein in Multicellular Organisms. Biochemistry (Mosc).2007;72:1399-1421.
8. DeLeo AB, Jay G, Appella E, Dubois GC, Law LW, Old LJ. Detection of a transformation-related antigen in chemically induced sarcomas and other transformed cells of the mouse. Proc Natl Acad Sci U.S.A. 1979;76:2420-2424.
9. Dippold WG, Jay G, DeLeo AB, Khoury G, Old LJ. p53 transformation-related protein: Detection by monoclonal antibody in mouse and human cells. Proc Natl Acad Sci U.S.A. 1981;78(3):1695-1699.
10. Mercer WE, Avignolo C, Baserga R. Role of the p53 Protein in Cell Proliferation as Studied by Microinjection of Monoclonal Antibodies. Mol Cell Biol 1984;4:276-281.
11. Reich NC, Oren M, Levine AJ. Two Distinct Mechanisms Regulate the Levels of a Cellular Tumor Antigen, p53. Mol Cell Biol 1983; 3:2143-2150.
12. Oren M, Levine AJ. Molecular cloning of a cDNA specific for the murine p53 cellular tumor antigen. Proc Natl Acad Sci U.S.A. 1983; 80:56-59.
13. Oren M, Bienz B, Givol D, Rechavi G, Zakut R. Analysis of recombinant DNA clones specific for the murine p53 cellular tumor antigen. EMBO J 1983;2:1633-1639.
14. Pinhasi O, Oren M. Expression of the Mouse p53 Cellular Tumor Antigen in Monkey Cells. Mol Cell Biol 1984;4:2180-2186.
15. Leppard K, Totty N, Waterfield M, Harlow E, Jenkins J, Crawford L. Purification and partial amino acid sequence analysis of the cellular tumour antigen, p53, from mouse SV40-transformed cells. EMBO J 1983;2:1993-1999.
16. Harvey D M; Levine A J. p53 alteration is a common event in the spontaneous immortalization of primary BALB/c murine embryo fibroblasts. Genes Dev 1991;5:2375-2385.
17. Hinds P, Finlay C, Levine AJ. Mutation Is Required To Activate the p53 Gene for Cooperation with the ras Oncogene and Transformation. J Virol 1989; 63:739-746.
18. Lavigueur A, Maltby V, Mock D, Rossant J, Pawson T, Bernstein A. High Incidence of Lung, Bone, and Lymphoid Tumors in Transgenic Mice Overexpressing Mutant Alleles of the p53 Oncogene. Mol Cell Biol 1989;9:3982-3991.

19. Rovinski B, Munroe D, Peacock J, Mowat M, Bernstein A, Benchimol S. Deletion of 5'-Coding Sequences of the Cellular p53 Gene in Mouse Erythroleukemia: a Novel Mechanism of Oncogene Regulation. *Mol Cell Biol* 1987;7:847-853.
20. Oren M, Maltzman W, Levine AJ. Post-Translational Regulation of the 54K Cellular Tumor Antigen in Normal and Transformed Cells. *Mol Cell Biol* 1981;1:101-110.
21. Funk WD, Pak DT, Karas RH, Wright WE, Shay JW. A Transcriptionally Active DNA-Binding Site for Human p53 Protein Complexes. *Mol Cell Biol* 1992;12:2866-2871.
22. Zauberman A, Barak Y, Ragimov N, Levy N, Oren M. Sequence-specific DNA binding by p53: identification of target sites and lack of binding to p53 MDM2 complexes. *EMBO J* 1993;12:2799-2808.
23. Shaulian E, Zauberman A, Milner J, Davies EA, Oren M. Tight DNA binding and oligomerization are dispensable for the ability of p53 to transactivate target genes and suppress transformation. *EMBO J* 1993;12:2789-2797.
24. Fakharzadeh SS, Trusko SP, George DL. Tumorigenic potential associated with enhanced expression of a gene that is amplified in a mouse tumor cell line. *EMBO J* 1991;10:1565-1569.
25. Cahilly-Snyder L, Yang-Feng T, Francke U, George DL. Somat. Molecular analysis and chromosomal mapping of amplified genes isolated from a transformed mouse 3T3 cell line. *Cell Mol Genet* 1987;13:235-244.
26. Chen J, Wu X, Lin J, Levine AJ. MDM-2 Inhibits the G1 Arrest and Apoptosis Functions of the p53 Tumor Suppressor Protein. *Mol Cell Biol* 1996;16:2445-2452.
27. Wu HH, Dasgupta G. MDM2, master regulator of the p53 tumor suppressor protein. *Gene* 2000;242(1-2):15-29.
28. X Wu, J H Bayle, D Olson, et al. The p53-mdm-2 autoregulatory feedback loop. *Genes Dev* 1993;7:1126-1132.
29. Honda R, Tanaka H, Yasuda H. Oncoprotein MDM2 is a ubiquitin ligase E3 for tumor suppressor p53. *FEBS Lett* 1997;420(1):25-27.
30. Unger T, Juven-Gershon T, Moallem E, Berger M, Vogt Sionov R, Lozano G, Oren M, Haupt Y. Critical role for Ser20 of human p53 in the negative regulation of p53 by Mdm2. *EMBO J* 1999;18(7):1805-1814.
31. Unger T, Vogt Sionov R, Moallem E, Yee L. C, Howley P, Oren M, Haupt Y. Mutations in serines 15 and 20 of human p53 impair its apoptotic activity. *Oncogene* 1999;18:3205-3212.
32. Lin J, Chen J, Elenbaas B, et al. Several hydrophobic amino acids in the p53 amino-terminal domain are required for transcriptional activation, binding to mdm-2 and the adenovirus 5 E1B 55-kD protein. *Genes Dev* 1994;8(10):1235-46.
33. D.P.Lane. p53, guardian of the genome. *Nature* 1992;358:15-16.
34. DE Koshland, Jr. Molecule of the year. *Science* 1993;262:1953.
35. P.M. Chumakov. Function of the p53 Gene: Choice between Life and Death. *Biochemistry (Moscow)* 2000;65:28-40.
36. Harper JW, Elledge SJ, Keyomarsi K, Dynlacht B, Tsai LH, Zhang P, Dobrowolski S, Bai C, Connell-Crowley L, Swindell E, et al. Inhibition of Cyclin-dependent Kinases by p21. *Mol Biol Cell* 1995;6:387-400.

37. Su L, Sai Y, Fan R, Thurston SW, Miller DP, Zhou W, Wain JC, Lynch TJ, Liu G, Christiani DC. P53 (codon 72) and P21 (codon 31) polymorphisms alter in vivo mRNA expression of p21. *Lung Cancer* 2003;40:259-266.
38. Draetta G, Eckstein J. Cdc25 protein phosphatases in cell proliferation. *Biochim Biophys Acta* 1997;1332:53-63.
39. William Taylor WR, Stark GR. Regulation of the G2/M transition by p53. *Oncogene* 2001;5:1803-1815.
40. Hwang BJ, Ford JM, Hanawalt PC, Chu G. Expression of the p48 xeroderma pigmentosum gene is p53-dependent and is involved in global genomic repair. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:424-428.
41. Helton ES, Chen X. p53 modulation of the DNA damage response. *J Cell Biochem* 2007;100:883-896.
42. Thierry Rossé T, Olivier R, Monney L, Rager M, Conus S, Fellay I, Jansen B, Borner C. Bcl-2 prolongs cell survival after Bax-induced release of cytochrome c. *Nature* 1998;391:496-499.
43. Sheikh MS, Burns TF, Huang Y, Wu GS, Amundson S, Brooks KS, Fornace AJ Jr, el-Deiry WS. p53 dependent and -independent Regulation of the Death Receptor KILLER/DR5 Gene Expression in Response to Genotoxic Stress and Tumor Necrosis Factor alpha. *Cancer Res* 1998;58:1593-1598.
44. Nishimori H, Shiratsuchi T, Urano T, Kimura Y, Kiyono K, Tatsumi K, Yoshida S, Ono M, Kuwano M, Nakamura Y, Tokino T. A novel brain-specific p53-target gene, BAI1, containing thrombospondin type 1 repeats inhibits experimental angiogenesis. *Oncogene* 1997;18:2145-2150.
45. Van Meir EG, Polverini PJ, Chazin VR, Su Huang HJ, de Tribolet N, Cavenee WK. Release of an inhibitor of angiogenesis upon induction of wild type p53 expression in glioblastoma cells. *Nat Genet* 1994;8:171-176.
46. Harada H, Nakagawa K, Saito M, Kohno S, Nagato S, Furukawa K, Kumon Y, Hamada K, Ohnishi T. Introduction of wild-type p53 enhances thrombospondin-1 expression in human glioma cells. *Cancer Lett* 2003;191:109-1019.
47. Hussain SP, Amstad P, He P, Robles A, Lupold S, Kaneko I, Ichimiya M, Sengupta S, Mechanic L, Okamura S, Hofseth LJ, Moake M, Nagashima M, Forrester KS, Harris CC. p53-induced up-regulation of MnSOD and GPx but not catalase increases oxidative stress and apoptosis. *Cancer Res* 2004;64:2350-2356.
48. Yoon KA, Nakamura Y, Arakawa H. Identification of ALDH4 as a p53-inducible gene and its protective role in cellular stresses. *J Hum Genet* 2004;49:134-1340.
49. Budanov AV, Sablina AA, Feinstein E, Koonin EV, Chumakov PM. Regeneration of peroxiredoxins by p53-regulated sestrins, homologs of bacterial AhpD. *Science* 2004;304:596-600.
50. Bensaad K, Tsuruta A, Selak MA, Vidal MN, Nakano K, Bartrons R, Gottlieb E, Vousden KH. TIGAR, a p53-inducible regulator of glycolysis and apoptosis. *Cell* 2006;126:107-120.
51. Bensaad K, Vousden KH. p53: new roles in metabolism. *Trends Cell Biol* 2007;17:286-291.
52. Lu X. p53: a heavily dictated dictator of life and death. *Curr Opin Genet Dev* 2005;15:27-33.
53. Erster S, Mihara M, Kim RH, Petrenko O, Moll UM. In vivo mitochondrial p53 translocation triggers a rapid first wave of cell death in response to DNA damage that can precede p53 target gene activation. *Mol Cell Biol* 2004;24:6728-41.
54. Murphy ME, Leu JI, George DL. p53 moves to mitochondria: a turn on the path to apoptosis. *Cell Cycle* 2004;3(7):836-9.
55. A.V. Vaseva, U.M. Moll. The mitochondrial p53 pathway. *Biochimica et Biophysica Acta* 2009;1787:414-420.

56. Taylor WR, DePrimo SE, Agarwal A, Agarwal ML, Schönthal AH, Katula KS, Stark GR. Mechanisms of G2 arrest in response to overexpression of p53. *Mol Biol Cell* 1999; 10:3607-36022.
57. Blagosklonny MV, Schulte TW, Nguyen P, Mimnaugh EG, Trepel J, Neckers L. Taxol induction of p21WAF1 and p53 requires c-raf-1. *Cancer Res* 1995;55:4623-4626.
58. Sablina AA, Agapova LS, Chumakov PM, Kopnin BP. p53 does not control the spindle assembly cell cycle checkpoint but mediates G1 arrest in response to disruption of microtubule system. *Cell Biol Int* 1999;23:323-334.
59. David-Pfeuty T, Nouvian-Dooghe Y, Sirri V, Roussel P, Hernández-Verdún D. Common and reversible regulation of wild-type p53 function and of ribosomal biogenesis by protein kinases in human cells. *Oncogene* 2001;20(42):5951-5963.
60. Graeber TG, Peterson JF, Tsai M, Monica K, Fornace AJ Jr, Giaccia AJ. Hypoxia induces accumulation of p53 protein, but activation of a G1-phase checkpoint by low-oxygen conditions is independent of p53 status. *Mol Cell Biol* 1994;14:6264-6277.
61. Blandino G, Scardigli R, Rizzo MG, Crescenzi M, Soddu S, Sacchi A. Wild-type p53 modulates apoptosis of normal, IL-3 deprived, hematopoietic cells. *Oncogene* 1995;10:731-737.
62. Bachelder RE, Marchetti A, Falcioni R, Soddu S, Mercurio AM. Activation of p53 function in carcinoma cells by the alpha6beta4 integrin. *J Biol Chem* 1999;274:20733-20737.
63. Nikiforov MA, Hagen K, Ossovskaya VS, Connor TM, Lowe SW, Deichman GI, Gudkov AV. p53 modulation of anchorage independent growth and experimental metastasis. *Oncogene* 1996;13:1709-1719.
64. Agapova LS, Ilyinskaya GV, Turovets NA, Ivanov AV, Chumakov PM, Kopnin BP. Chromosome changes caused by alterations of p53 expression. *Mutat Res* 1996;354:129-138.
65. Seo YR, Smith ML, Han SS, Fairbairn DW, O'Neill KL, Ryu JC. Mild hyperthermia-induced apoptosis is dependent on p53 in human lymphoid cells. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1999;104:285-92.
66. Forrester K, Ambs S, Lupold SE, Kapust RB, Spillare EA, Weinberg WC, Felley-Bosco E, Wang XW, Geller DA, Tzeng E, Billiar TR, Harris CC. Nitric oxide-induced p53 accumulation and regulation of inducible nitric oxide synthase expression by wild-type p53. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 1996;93:2442-2447.
67. Aoki M, Nata T, Morishita R, Matsushita H, Nakagami H, Yamamoto K, Yamazaki K, Nakabayashi M, Ogihara T, Kaneda Y. Endothelial apoptosis induced by oxidative stress through activation of NF-kappaB: antiapoptotic effect of antioxidant agents on endothelial cells. *Hypertension* 2001;38:48-55.
68. JA Royds, B Iacopetta. p53 and disease: when the guardian angel fails. *Cell Death and Differentiation* 2006;13:1017-1026.
69. Duan W, Zhu X, Ladenheim B, Yu QS, Guo Z, Oyler J, Cutler RG, Cadet JL, Greig NH, Mattson MP. p53 inhibitors preserve dopamine neurons and motor function in experimental parkinsonism. *Ann Neurol* 2002;52:597-606.
70. Lavin MF, Khanna KK. ATM: the protein encoded by the gene mutated in the radiosensitive syndrome ataxia-telangiectasia. *Int J Radiat Biol* 1999;75:1201-14.
71. Tyner SD, Venkatachalam S, Choi J, Jones S, Ghebranious N, Igelmann H, Lu X, Soron G, Cooper B, Brayton C, Hee Park S, Thompson T, Karsenty G, Bradley A, Donehower LA. p53 mutant mice that display early ageing-associated phenotypes. *Nature* 2002; 15:45-53.
72. Mendrysa SM, O'Leary KA, McElwee MK, Michalowski J, Eisenman RN, Powell DA, Perry ME. Tumor suppression and normal aging in mice with constitutively high p53 activity. *Genes Dev* 2006;20:16-21.

73. Bukhman VL, Ninkina NN, Chumakov PM, Khilenkova MA, Samarina OP. Structural organization of the human p53 gene. I. Molecular cloning of the human p53 gene. *Genetika* 1987;23:1547-1554.
74. Van Heemst D, Mooijaart SP, Beekman M, Schreuder J, de Craen AJ, Brandt BW, Slagboom PE, Westendorp RG; Variation in the human TP53 gene affects old age survival and cancer mortality. Long Life study group. *Exp Gerontol* 2005;40:11-15.
75. Sutcliffe JE, Brehm A. Of flies and men; p53, a tumour suppressor. *FEBS Lett* 2004;567:86-91.
76. Derry WB, Putzke AP, Rothman JH. *Caenorhabditis elegans* p53: role in apoptosis, meiosis, and stress resistance. *Science* 2001;294:591-595.
77. Donehower LA, Harvey M, Slagle BL, McArthur MJ, Montgomery CA Jr, Butel JS, Bradley A. Mice deficient for p53 are developmentally normal but susceptible to spontaneous tumours *Nature* 1992;356:215-221.
78. Hall PA, Lane DP. Tumor suppressors: a developing role for p53? *Curr Biol* 1997;7:144-147.
79. Aranda-Anzaldo A, Dent MA. Reassessing the role of p53 in cancer and ageing from an evolutionary perspective. *Mech Ageing Dev* 2007;128:293-302.
80. Campisi J. Cancer and ageing: rival demons? *Nat Rev Cancer* 2003;3:339-349.
81. Kirkwood TB, Rose MR. Evolution of senescence: late survival sacrificed for reproduction. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1991;332:15-24.
82. Kirkwood TB, Austad SN. Why do we age?. *Nature* 2000;408:233-238.
83. Hedström E, Issaeva N, Enge M, Selivanova G. Tumor-specific induction of apoptosis by a p53-reactivating compound. *Exp Cell Res* 2009;315:451-461.
84. Vassilev LT. Small-molecule antagonists of p53-MDM2 binding: research tools and potential therapeutics. *Cell Cycle* 2004;3:419-421.
85. Toledo F, Wahl GM. MDM2 and MDM4: p53 regulators as targets in anticancer therapy. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39(7-8):1476-1482.
86. Dey A, Verma CS, Lane DP. Updates on p53: modulation of p53 degradation as a therapeutic approach. *Br J Cancer* 2008;98:4-8.
87. Chen T, Wong YS, Zheng W, Liu J. Caspase and p53 dependent apoptosis in breast carcinoma cells induced by a synthetic selenadiazole derivative. *Chem Biol Interact* 2009;180:54-60.