



Review article

'DNA Hasarı Yanıtı' nın İnce Ayarında PPM1D/Wip1 Fosfataz'ın Rolü

Role of PPM1D/Wip1 Phosphatase on Fine-tuning of 'DNA Damage Response'

Mehtap Kılıç Eren ^{a,*} & Nur Betül Kartal ^a

^a Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Aydın Adnan Menderes University, Aydın, Turkey

Özet

Sağlıklı hücreler genom bütünlüğünü, hücre döngüsündeki ilerleyişi erteleyen/durduran ve DNA tamirini devreye sokan korunmuş bir DNA hasarı yanıtı yolağını aktive ederek sürdürürler. Bu sinyal yolağının düzgün olarak çalışmasını engelleyen moleküler bozukluklar genellikle kansere yatkınlık kazandırır. DNA hasarı yanıtı (DDR), hücreleri genomik kararsızlıktan korur ve kanser gelişimini önler.

DNA hasarının moduna ve seviyesine bağlı olarak, DDR sinyal ağı hücre döngüsünün geçici durdurulmasını (kontrol noktası), kalıcı büyümenin durdurulmasını (yaşlanma, senesens) veya programlanmış hücre ölümünü (apoptozis) teşvik eder. DDR'ye katılan proteinleri kodlayan genler tipik olarak tümör baskılayıcılar ve yaygın olarak kanserde mutasyona uğrarlar. DDR yolağı temel olarak proteinlerin fosforilasyon ve defosforilasyonlarını kapsayan bir mekanizma ile düzenlenir.

Yabanıl tip p53 ile indüklenen fosfataz veya (Wild-type p53-inducible phosphatase (Wip1)), veya protein fosfataz tip 2C delta (protein phosphatase type 2C delta (PPM1D)) olarak da bilinen Wip1, DDR' in merkezinde yer alan ve önemli tümör baskılayıcıları hedef alan bir onko-proteindir. Bu derleme de, DDR'nin ince ayarında Wip1 aktivitesinin rolü ve bir onkogen olarak apoptozis ve senesens gibi hücrel stres yanıtları üzerine etkileri tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: DNA hasarı yanıtı, PPM1D / Wip1, p53, apoptoz, yaşlanma

Abstract

Healthy cells maintain their genomic integrity by activating a conserved DNA damage response that delays the progression of the cell cycle and activates DNA repair. Molecular disorders that hinder the proper functioning of this signaling pathway often predispose to cancer. DNA damage response (DDR) protects cells from genomic instability and prevents cancer development. Depending on the mode and level of DNA damage, the DDR signaling network promotes transient arrest of the cell cycle (checkpoint), induction of permanent growth arrest (cellular senescence), or programmed cell death (apoptosis). Genes encoding the major proteins involved in DDR pathway are typically known as tumor suppressors and they are commonly mutated in human cancers. The DDR pathway is primarily regulated by mechanisms involving phosphorylation and dephosphorylation of the proteins.

* Corresponding author:

Mehtap Kilic Eren is associate professor in the Department of Medical Biology at Aydın Adnan Menderes, Aydın, Turkey. Her research interests include 'cancer biology and genetics, cellular failsafe programs, tumor micro-environment'.
Email: mkiliceren@gmail.com

Wip1, known as wild-type p53-induced phosphatase or protein phosphatase type 2C delta (PPM1D), is an important onco-protein phosphatase residing in the center of DDR pathway and targeting tumor suppressors. In this review, the role of Wip1 activity in the fine-tuning of DDR pathway and as an oncogene its effects on cellular stress responses such as apoptosis and senescence are discussed.

Keywords: DNA damage reponse, PPM1D/Wip1, p53, apoptosis, senescence.

Received: 24 September May 2019 * Accepted: 08 October 2019 * DOI: <https://doi.org/10.29329/ijiasr.2019.213.2>

GİRİŞ

Sağlıklı hücrelerde DNA hasarı oluştuğunda, DNA tamirini sağlamak üzere hücre döngüsündeki ilerleyişi erteleyen/durduran korunmuş bir DNA hasarı yanıtı aktive edilir. DNA hasarı yanıtı (DDR) genomik bütünlüğü koruyarak hücrelerin hasarlı DNA ile kontrolsüz çoğalmasını engelleyen bir bariyer gibi davranır. Bu sinyal yolağında görev alan moleküllerde meydana gelen bozukluklar sonucu sinyal yolağı fonksiyon görmez hale geldiğinde genomik kararsızlık ve beraberinde kanser gelişimi görülür.

DNA hasarının şiddeti ve tipi hücrenin kaderinin belirlenmesinde etkili olur ve buna göre göre DDR sinyal ağı hücre döngüsünün geçici durdurulmasını (kontrol noktası), kalıcı büyümenin durdurulmasını (yaşlanma, senesens) veya programlanmış hücre ölümünü (apoptozis) başlatılmasını sağlar. Proteinlerin serin/treonin rezidularından fosforilasyonu, hem hücre döngüsü sırasında hem de DDR'ın aktivasyonunun sürdürülmesi ve DDR'dan çıkış toparlanma fazlarında meydana gelen en büyük post-translasyonel modifikasyonlardır. Son on yılda protein kinaz ve fosfatazların bu süreçlerdeki rolleri oldukça yoğun olarak çalışılmıştır. Bu fosfatazlardan olan Protein fosfataz 2C (PP2C) ailesine ait fosfatazlar iyi korunmuş monomerik serin/treonin fosfatazlar olup hücrel stress sinyallerinin inhibisyonunda rol alırlar (Zhu ve Bulavin 2012). Memelilerde protein phosphatase 2C-delta (PPM1D) ya da diğer adıyla Wild-type p53-inducible phosphatase (Wip1), DDR'ın sonlandırılması ve kontrol noktasından geri toparlanmada merkezi bir rol oynar (Le Guezennec ve Bulavin 2010).

Yapılan çalışmalar Wip1'in insan tümörlerinde mutasyona sonucu amplifikasyon göstererek aşırı ifade edildiğini, ve buna bağlı olarak hücre döngüsünün geçici durdurulmasını (kontrol noktası), kalıcı büyümenin durdurulmasını (yaşlanma, senesens) sağladığı yanısıra programlanmış hücre ölümünün (apoptozis) baskılanması gibi önemli etkileri olduğunu ortaya koymuştur. Mutasyon sonrası kazanılan tüm bu özellikler Wip1'in tümörigenezi teşvik edici bir onkogen olduğunu açıklamakta ve bu haliyle Wip1'i oldukça önemli bir kemoterapötik hedef haline getirmektedir..

DNA Hasarı Cevabı

Sağlıklı hücreler, çoğalmak üzere hücre büyümesinin fazlarını geçerek, genomik DNA'nın replikasyonu sağlar ve takiben nükleer bölünme ve hücre bölünmesini gerçekleştirirler. Hücre proliferasyonu organizmaları canlı ve sağlıklı tutmak için gereklidir ve proliferasyonda meydana gelen hatalar kanser ve yaşlanma gibi ağır insan patolojileriyle sonuçlanır. Hücreler sürekli olarak DNA'da hasara neden olan ve genomik kararsızlığa yol açan çeşitli endojen ve eksojen stres (replikatif stres, iyonize radyasyon IR,UV-radyasyon) kaynaklarına maruz kalırlar. DNA hasarı meydana gelen hücreler genom bütünlüğünü korumak için hücre döngüsünün ilerlemesini geçici olarak durduran ve DNA tamirini başlatan yüksek oranda korunmuş bir DNA hasarı yanıtı (DNA Damage Response, DDR olarak kullanılacaktır) aktive ederler (Bartkova vd., 2006; Bartek ve Lukas 2007; Bartek vd., 2007). “DNA hasarı yanıtı” (DDR) esasen, hasarlı DNA'yı algılayan ve tamiri başlatan bir hücre içi sinyal ağı anlamına gelir. DNA hasarı tamir edilmediğinde, programlanmış hücre ölümü devreye sokulur (Roos vd., 2016), Ancak hücre ölüm yollarının aktivasyonun engellenmesi önemli bir genomik kararsızlık kaynağı olabilir (Halazonetis vd., 2008). DNA hasarı yanıtında, DNA hasarının algılanması, sinyallenmesi ve onarılmasında yer alan proteinler görev alırlar.

DNA hasarı meydana geldiğinde, öncelikle polimerazlar aracılığıyla bir dizi post-translasyonel histon modifikasyonu (poli (ADP-riboz) (PARP'ler) poli- (ADP-ribosilasyon, fosforilasyon ve asetilasyon dahil) gerçekleştirilir ve böylece kromatinin gevşemesi sağlanır. Kromatinde oluşan bu yapısal değişiklikler, sonraki adımda onarımı kolaylaştırmak için hasarın meydana geldiği DNA bölgesi ve çevresindeki transkripsiyonu ve replikasyonu durdurur. DNA hasarı yanıtında iki önemli protein ATM ve ATR kinazlar anahtar rol oynar. Çift iplik kırıklarına bağlanan ve ATM (ataxia telangiectasia mutated kinase) kinazı hasar bölgesine getiren MRE11 – Rad50 – Nbs1 (MRN) kompleksi ve ağırlıklı olarak tek zincir kırıklarına yanıt veren ve ATR kinazı (ataxia telangiectasia and Rad3-related kinase) getiren replikasyon protein A (RPA) gibi DDR sensör proteinleri bölgeye erişimi sağlarlar. Bu kinazların hasarlı DNA'ya bağlanmasıyla bir fosforilasyon kaskadı başlatılır ve böylece DNA replikasyonu durdurulması, hücre döngüsü kontrolü, transkripsiyon, hasar onarımı ve/veya ölüme karşı hayatta kalma sinyallerini ileten diğer proteinlerin aktivasyonu tetiklenir (Lukas vd., 2011).

DDR'nin başlıca düzenleyicileri arasında yer alan ATM, çift iplik DNA kırıklarının oluşumu ve ATR ise tek iplik DNA (ssDNA) kırıklarının oluşumuyla hızlıca aktive olurlar. Yapılan proteomik çalışmalarından ATM ve ATR kinazların fosforile ettikleri bir kaç yüz kadar hedef protein olduğu ve kromatin organizasyonu ve gen ekspresyonunda da yoğun değişiklikleri de tetikledikleri bilinmektedir. DNA hasarı gerçekleştiğinde öncelikle ATM tarafından histone H2AX (γ -H2AX) fosforillenir ve böylece adaptor protein MDC1'in yönlendirilmesi ile kromatin organizasyonu ile ilgili basamaklar başlatılır. Kromatin organizasyonunda görev alan çeşitli proteinler, DNA tamiri sinyalinin kararının verilmesini sağlar. Kromatinde devam eden bu sinyal iletimlerine paralel olarak ATM ve ATR, sırasıyla

DNA hasarına bağlı olarak kontrol noktasının aktivasyonunda çok önemli rollere sahip Chk2 ve Chk1 kinazları fosforilasyon yoluyla aktive ederler. ATM Chk2'yi Thr68 rezidusu üzerinden, ATR ise Chk1'i S345 ve S317 üzerinden fosforilleyerek aktive eder. Chk1 ve Chk2, hücre döngüsünün ilerleyişini geçici olarak durdurmak için siklin-bağımlı kinazların aktivasyonunu engelleyen üç temel fosfatazı (Cdc25A/B/C) inaktive ederler. Ayrıca ATM ve ATR kinazlar tümör süpresör protein p53'ün stabilizasyonu ve transkripsiyonel aktivasyonunu sağlamak üzere p53'ü baskılayan Mdm2'yi direkt inhibe ederler. p53 ise p21'in transkripsiyonel aktivasyonunu sağlayarak hücre döngüsünün ilerlemesini teşvik eden çok sayıda proteinin ekspresyonunu baskılar. Böylece hücre döngüsünün durdurulmasına katkıda bulunur (Bartek ve Lukas 2007; Medema ve Macurek 2012).

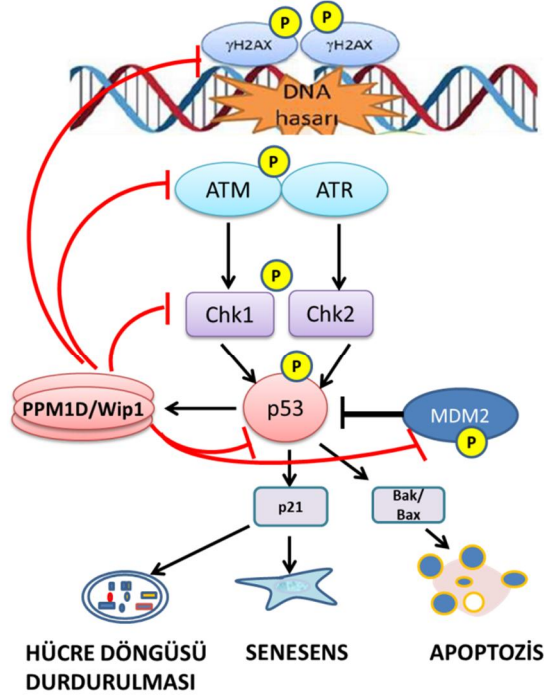
DDR' nin önemli bir son noktası, DNA hasarı tamir sisteminin aktivasyonudur. Hasarın türüne ve hücre döngüsünün fazına bağlı olarak, DNA bütünlüğünü geri kazanmak için farklı onarım mekanizmaları kullanılır (Jackson ve Bartek, 2009). Örneğin, PARP1, XRCC1, polimeraz β ve DNA ligaz III gibi baz eksizyon onarımı için gerekli enzimleri hasar alanlarına çekerek DNA çift iplik kırıklarının (Double Strans Break) tamirinde rol oynar (Schreiber vd., 2002). DSB'ler, esas olarak, hücre döngüsünün S ve G2 fazlarında ağırlıklı olarak çalışan homolog rekombinasyon (HR) tarafından, ve hücre döngüsünün tüm fazlarında işlevsel olan ancak uygun hasarsız DNA kalıbının olmaması nedeniyle hataya açık olan serbest uçların homolog olmayan birleştirilmesiyle (NHEJ) onarılır (Lieber vd., 2010). Genel olarak, ATM / ATR aracılı DDR sinyal yolağı DNA onarımını, (a) DNA onarım genlerinin transkripsiyonunu indükleyerek, (b) fosforilasyon, asetilasyon, ubikuitinasyon veya SUMOlaşım gibi translasyon sonrası modifikasyonlar aracılığıyla DNA-tamir protein aktivitesini modüle ederek ve (c) DNA hasarına tamir faktörlerini ortama çekerek, düzenler. Hasar tamir edilmezse, kronik DDR sinyalleme hücre ölüm mekanizmalarından apoptozisi veya kalıcı hücre yaşlanmayı (senesensi) tetikler (Roos vd., 2016). Son yıllarda yapılan çalışmalar hücre korumada bir diğer yanıt olan otofajinin de DNA hasarı cevabında önemli bir rolü olduğuna işaret etmektedir. DNA tamirinin tamamlanmasından sonra hücreler döngüye tekrar girerler, ancak kontrol noktasından sonra tekrar toparlanmak için p53'ün protein fosfatazlar tarafından doğru zamanda inaktivasyonu gereklidir (Lowe vd., 2012; Mirzayans vd., 2013). PPM1D/Wip1 DDR'ın sonlandırılması ve kontrol noktasından geri toparlanmada merkezi rol oynayan bir fosfataz olarak görev almaktadır.

DDR' in Düzenlenmesinde Wip1 Fosfataz'ın Rolü

Proteinlerin serin/treonin rezidularından fosforilasyonu, hem hücre döngüsü sırasında hem de DDR'ın aktivasyonunun sürdürülmesi ve DDR'dan çıkış toparlanma fazlarında meydana gelen en büyük post-translasyonel modifikasyonlardır. Son on yılda protein kinaz ve fosfatazların bu süreçlerdeki rolleri oldukça yoğun olarak çalışılmıştır. Bu fosfatazlardan olan Protein fosfataz 2C (PP2C) ailesine ait fosfatazlar oldukça korunmuş monomerik serin/treonin fosfataz olup hücre stress sinyallerinin inhibisyonunda rol alırlar (Zhu ve Bulavin 2012). Memelilerde fosfataz PP2CA ya da diğer adıyla

PPM1D/Wip1 (burdan sonra Wip1 olarak anılacaktır) DDR'ın sonlandırılması ve kontrol noktasından geri toparlanmada merkezi bir rol oynar (Le Guezennec ve Bulavin 2010). Wip1 başlangıçta ifadesi p53'e bağımlı olarak iyonize radyasyonla indüklenen bir gen olarak tanımlanmıştır (Fiscella vd., 1997). Ancak daha sonra Wip1'in ifadesinin çeşitli dış kaynaklı, özellikle de genotoksik stresle (iyonize radyasyon, UV, anisomycin, hidrojen peroksid, metil metan sulfonat, ve inflamatuvar sitokinler) artmakta olduğu ve bunu takiben fosfataz aktivitesi sayesinde stres sinyallerini düzenlediği ortaya çıkmıştır (Lu vd., 2008).

Wip1'in fosfataz aktivitesinin modülasyonu ekspresyon düzeyinin kontrolü ile sağlanmaktadır (Lowe vd., 2012). Genotoksik stresi takiben Wip1'in transkripsiyonu p53 tarafından artırılmakta ve Wip1'in ifadesinde bir artış görülmektedir. Wip1'in transkripsiyonel indüksiyonunu takiben nükleer olarak biriken Wip1, fosforile olmuş Ser/Thr-Gln motiflerini tanıyarak DDR'ın majör düzenleyicisi olan ATM'yi ve çok sayıda substratını defosforile eder. Bu nedenle Wip1 DDR'ın ana homeostatik düzenleyicisi olarak değerlendirilmektedir. Wip1, DDR'de ve genomik stabilitenin sağlanmasında önemli rolü olan γ -H2AX'i de direkt olarak defosforile eder. Daha sonra Wip1, p53'ü direkt ve indirekt olarak defosforile etmekte ve hem degradasyonunu sağlayıp hem de transkripsiyonel aktivitesini baskılayarak bir geri-bildirimli inhibisyon basamağı oluşturmaktadır (Lowe vd., 2012). Wip1 p53'ü Ser15 kalıntısından direkt defosforilasyona uğratar, bununla beraber p53'ün Ser20, Ser33, ve Ser46'dan fosforilasyonlarını da azaltır. ATM'yi Ser1981, Chk1'i Ser345, Chk2'yi Thr68, Mdm2'yi Ser395, ve p38/MAPK'ı da defosforile ederek de p53'ü baskılayabilir. Wip1 p53 sinyalini sadece p53 protein stabilitesini etkileyerek değil, aynı zamanda p53'ün hedef genlerinin transkripsiyonunu da baskılayarak etkiler (Zhu ve Bulavin 2012), (Şekil 1.). Wip1'in p38/MAPK yolağını direkt inaktive etmesi Wip1'in diğer hücrel stress yanıtları/yolaklarını da etkili bir biçimde baskıladığına işaret etmektedir (Lu vd., 2007; Lu vd., 2008; Zhu ve Bulavin 2012). Wip1 DNA tamirinde görev alan UNG2, XPA, XPC gibi önemli proteinlerinde defosforilasyonunu gerçekleştirmekte ve böylece DNA tamirini de engellemektedir.



Şekil 1. Wip1'in hedefleri ve fonksiyonel aktivasyonunun sonuçları. Özellikle tümör baskılayıcı rol oynayan proteinlerin Wip1 tarafından inhibisyonları tümörigenezi teşvik etmektedir.

Wip1'in ekspresyonunun normal koşullarda oldukça düşük düzeyde olduğu ve bu durumun miR-16 tarafından mRNA translasyonunun baskılanmasıyla sağlandığı bilinmektedir (Zhang vd., 2010). Wip1 ekspresyonu herhangi bir dokuya spesifik değildir ve hemen her dokuda ifade edilen bir genidir (Choi vd. 2002). Wip1 geninin promotörü Guanin ve Sitozince zengin olup sadece p53 için değil çeşitli stres cevaplarında görev alan CREB, NFKB, ERalpha, c-Jun, ve E2F gibi transkripsiyon faktörleri için bağlanma motifleri içermektedir (Lu vd., 2008; Chew vd., 2009; Lowe vd., 2012; Song vd., 2013).

Onkogenik Wip1

Wip1 fosfatı kodlayan PPM1D genini içeren kromozomal lokus 17q23' ün insan meme, ovaryum, gastrik, medulloblastoma, neuroblastoma, prostat ve pankreatik adeno karsinoma gibi çeşitli kanser türlerinde amplifiye olduğu ve buna bağlı olarak Wip1'in ifadesinin artmış olduğu görülmektedir. Bu durumun kötü prognozla da ilişkilendirilmesi Wip1'in tümörigenezde önemli bir rolü olduğunu göstermektedir (Saito-Ohara vd., 2003; Fuku vd., 2007; Yu vd., 2007; Castellino vd., 2008; Tan vd., 2009; Hu vd., 2010; Song vd., 2013, Bulavin vd., 2002; Rauta vd., 2006; Yu vd., 2007; Kleiblova vd., 2013).

Wip1 amplifikasyonlu tümörlerde p53 mutasyonları seyrek olarak görülmektedir. Tablo 1.'de de gösterildiği üzere Bulavin vd. tarafından 164 primer meme kanserinin 27'sinde Wip1'in aşırı ifade edildiği bildirilmiştir. Bununla birlikte Wip1'in amplifiye olduğu tümörlerin sadece 1/8'de p53 mutasyonu olduğu bildirilmiştir (Bulavin vd., 2004). Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar PPM1D

lokusunun amplifikasyonunun ve artmış ekspresyonunun p53'ü inaktive edici mutasyonlara sahip olmayan tümörlerde olduğuna işaret etmektedir.

İnsan pankreatik nöroendokrin tümörleri ile yapılan bir çalışmada bu tümörlerde yüksek oranda artmış Wip1 mRNA ekspresyonu ile birlikte seyreden PPM1D amplifikasyonu (%51) tanımlanmıştır. (Yang vd., 2010, Hu vd., 2010). Yine insan primer medullablastom tümörlerinde her 11 tümörden 7'sinde Wip1 amplifikasyonu olduğu tespit edilmiştir (Castellino vd., 2008). İnsan meme kanserlerinde yapılan çalışma da ise bu tümörler de Wip1'in %11 oranında amplifiye olduğu ve bu hastaların önemli ölçüde kötü prognoz gösterdiği bulunmuştur (Rauta vd., 2006).

Tablo 1. Wip1'in aşırı ifade edildiği veya gen amplifikasyonunun bulunduğu bazı insan tümörleri

Tümör Tipi	Wip1 amplifikasyon / overekspresyon	P53 Mutasyonu	Prognozu	Referans
Meme Adenokarsinoma	%28	1/10	Kötü	Rauto ve ark. (2006)
Medulloblastoma	%64	1/8	Kötü	Buss ve ark. (2015), Castellino ve ark. (2008)
Glioma	%37,5	-	Kötü	Zhang ve ark. (2014)
Nöroblastoma	%56	1/16	Kötü	Richter ve ark. (2015)
Ovaryum adenokarsinoma	%40	-	Kötü	Tan ve ark. (2009), Lu ve ark. (2008)
Pankreatik adenokarsinoma	-	-	Kötü	Lukopoulos ve ark. (2007)

Diğer bir çalışmada Wip1'in aşırı ifade edilmesinin nükleotid ve baz eksizyonunu onarım sistemlerini inhibe ederek DNA tamirini bozduğu kanıtlanmıştır (Macurek vd. 2013). Ayrıca PPM1D genin exon 6 bölgesi üzerinde Wip1' in fonksiyonunu etkileyen nokta mutasyonlarının var olduğu ortaya çıkarılmıştır. PPM1D'de bulunan bu nokta mutasyonları daha yüksek protein kararlılığı sergileyen ve genotoksik stres sonrası kontrol noktalarını devre dışı bırakan C-terminalinden kesilerek (truncated) daha kısa Wip1 varyantlarını oluşturur. Oluşan Wip1 varyantları meme ve ovaryum kanserlerinin yanı sıra beyin sapı gliomalarında, akciğer adenokarsinomasında ve prostat kanserinde de ortaya konmuştur (Kleiblova vd., 2013 ; Ruark vd., 2013).

Yapılan çalışmalar, Wip1'in tek başına artmış ifadesinin tümörigenezi teşvik etmese de diğer onkogenlerle olan (Myc, Erbb2 ve HRas1) ilişkisinin tümörigenezi teşvik ettiğini göstermektedir (Lu vd., 2008). Ayrıca, çalışmalar meme kanseri gelişiminde p53'ün Wip1 tarafından inhibe edilmesinin de önemine işaret etmektedir. Diğer kanser türlerinde yapılan çalışmalar da (nöroendokrin ve

medulloblastoma) p53'ün Wip1 tarafından inhibe edilmesinin tümörigenezde önemli rolü olduğunu göstermektedir (Castellino vd., 2008; Hu vd., 2010).

PPM1D knock-out fareler ve klinik örneklerle yapılan çalışmalar Wip1'in onkogenik davranışı ve işlevsel p53 yolağı arasında negatif bir korelasyon olduğunu göstermektedir (Uyanık vd., 2017). Özellikle PPM1D geninde fonksiyon kazandıran mutasyonların p53'ün tümör baskılayıcı bariyerinin aşılmasına olanak sağlayarak hücre çoğalmasını teşvik etmektedir. PPM1D'nin kaybı sadece p53'ün aktif olduğu hücrelerde çoğalmanın yavaşlatılmasına izin vermektedir (Pechakova vd., 2017).

p53 negatif tümörlerde ise Wip1'in aşırı ekspresyonu, *wt-p53*' e sahip tümörlerdekinden daha farklı bir fonksiyona sahiptir (Clausse vd., 2016). p53'ün işlevsiz olduğu bu tümörlerde artmış Wip1 ekspresyonunun inhibe edilmesinin hücre çoğalmasına etkisiz olduğu görülmüştür. İlginç bir şekilde Wip1'in aşırı ekspresyonu bu tümörleri anti-kanser ilaçlarına duyarlı hale getirmiştir. Wip'in bu etkiyi p53 negatif tümörlerde farklı mekanizmalarla, indüklediği bilinmektedir. Özellikle Bcl-2 ailesi üyelerinden pro-apoptotik protein Bax'ın düzeyini arttırırken anti-apoptotik Bcl_{XL} düzeyini ise azalttığı görülmektedir. Böylece bu tümörlerde, normale dokuya kıyasla azalmış olan Bax/Bcl_{XL} oranını artırılarak kaspaz-3'e bağımlı apoptozis indüklenmekte ve tümör hücreleri ortadan kaldırılmaktadır (Goloudina vd., 2012b; Goloudina vd., 2016).

PPM1D/Wip1'in Hücre Döngüsünün Regülasyonunda Rolü

Sağlıklı hücreler DNA hasarını takiben hücre döngüsünde görev alan kontrol noktası kinazlarının aktivasyonu sağlanarak hücre çoğalmasını engellemek amacıyla döngü geçici olarak durdurulur ve böylece DNA tamirinin gerçekleştirilmesi için olanak tanınır. DNA hasarı cevabının aktivasyonu hasarlı DNA'ya sahip hücrelerin bölünmelerini engelleyen ve hasarın sonraki kuşaklara aktarılmasını önleyen bir bariyer gibi davranır.

Fonksiyonel çalışmalar, Wip1'in G1/S, intra-S ve G2/M kontrol noktalarındaki rolünü doğrulamışlardır. Wip1'i aşırı ifade eden hücreler iyonize radyasyona maruz kaldığında daha düşük G2 tutulumu gösterdikleri bilinmektedir. Ayrıca Wip1^{-/-} fare embriyonik fibroblastlarının (Mouse Embryonic Fibroblasts, MEF), *wtMEF* 'e göre çok daha yüksek G2/M oranına sahip olduğu da bilinmektedir (Oliva-Trastoy vd., 2007). Yapılan çalışmalar Wip1'in aynı zamanda G1 kontrol noktasında da etkili olduğunu göstermektedir (Choi vd., 2002; Kleiblova vd., 2013; Pechakova vd., 2016). Wip1'i aşırı ifade eden ya da Wip1'in baskılandığı hücrelerde yapılan çalışmalar Wip1'in intra-S faz kontrol noktasını da regüle ettiğini göstermektedir (Lu vd., 2008). Düşük dozda radyasyon'a maruz kalan MCF-7 hücreleri ile gerçekleştirilen bir çalışmada spesifik allosterik Wip1 inhibitörü (GSK2830371) (Gillmartin vd., 2014) ile Wip1'in inhibe edildiği hücrelerin kontrol hücrelere kıyasla G1 kontrol noktasında daha güçlü bir tutulum gösterdiği belirtilmiştir (Pechakova vd., 2016). Kolon karsinoma hücreleriyle yapılan bir başka çalışmada endojen Wip1' e sahip hücrelerin Wip1'in azaltıldığı

hücrelere göre G2 kontrol noktasından çok daha etkili bir çıkış ve toparlanma sağlamakta olduğu ve bunu da p53' ü inhibe etmek suretiyle yaptığı bulunmuştur (Lindqvist vd., 2009). Bu durumda hücreler proliferasyona devam edebilmekte ve bu da Wip1'in tümörigenezi teşvik etmek için kullandığı diğer bir yol olarak karşımıza çıkmaktadır. Wip1'in hücre döngüsü süresince farklı seviyelerde ifade edildiği görülmektedir. Wip1'in protein ekspresyonu G1 evresinde düşük olmakla birlikte G2'de daha yüksek seviyeye ulaşmakta ve mitoz sürecinde ise azaldığı görülmektedir (Macurek vd., 2013). Yapılan bu çalışmalar DNA hasarı ile indüklenen G2 kontrol noktalarından geri toparlanmak için Wip1'in gerekli olduğuna işaret etmektedir. Ayrıca Wip1'in aslında hücrenin strese maruz kaldıktan sonra normal döngüye girebilmesi için G2/M, G1/S ve intra-S fazlarının regülasyonunda aktif görev aldığı görülmektedir.

Wip1'in Apoptosis Regülasyonunda Rolü

Sağlıklı hücreler, DNA hasarının onarımını etkili bir şekilde gerçekleştirildikten sonra geçici olarak durdurulan hücre döngüsünün tekrar başlatılması ve apoptozisin engellenmesi için, görev alan proteinlere ihtiyaç duyarlar ve bu proteinlerden biri de Wip1 fosfatazdır.

p53, apoptozisin ana regülatörü olduğundan Wip1'in p53'ü direkt defosforile ederek veya bu sinyal yolağının bir üst aşamasında olan örn. Chk2 gibi molekülleri inaktive etmesi hücre proliferasyonunu teşvik ederek apoptozisi baskılamaktadır (Mirzayans vd., 2013). Wip1, Eμ-myc-indüklü lenfoma fare modelinde, myc-indüklü apoptozisi ATM-p53 yolağını inhibe ederek baskılamakta ve böylece tümörigenezi de teşvik etmektedir (Shreeram vd., 2006). Bundan başka Wip1'i aşırı ifade eden MCF-7 hücrelerinde Wip1'in düzeyinin baskılanması doxorubicin indüklü apoptozis seviyesini oldukça arttırmıştır (Song vd., 2013). wtp53'e sahip meme kanser hücrelerinde herhangi bir eksojen stres olmaksızın Wip1, siRNA ile hedeflendiğinde apoptozisin yine arttığı bildirilmiştir (Parssinen vd., 2008).

Wip1'i aşırı ifade eden ve aktif p53' e sahip olan A549 (akciğer) hücreleriyle yapılan diğer bir çalışmada UV radyasyonla indüklenen apoptozisin, kontrol hücrelerine oranla çok daha düşük seviyede olduğu ve bu durumun Wip1'in fosfataz aktivitesine bağlı olduğu görülmüştür (Takekawa vd., 2000). U2OS sarkoma hücreleriyle yapılan bir başka çalışmada ise Wip1'in p38 MAPK'ı defosforile etmesi sonucunda E2F1-aracılı ve UV radyasyon-indüklü apoptozisin de baskılandığı görülmektedir (Hershko vd., 2006). Ayrıca medulloblastomada Wip1'in bazal ve etoposid-indüklü p53 aracılı apoptozisi inhibe ettiği, böylece medulloblastoma canlılığı için pozitif regülatör ödevi gördüğü anlaşılmaktadır (Castellino vd., 2008). Bu konuda yapılan diğer bir çalışma da insan ovaryum karsinoma hücresi olan SKOV3 hücre dizilerinde Wip1 seviyesinin siRNA ile baskılanması ile gerçekleştirilmiştir. Wip1'in baskılanması sonucunda p53 artışı sağlanmış ve böylece Bax/Bcl2 oranı da artarak apoptozis oranında artış gözlemlendiği bildirilmiştir (Feng vd., 2017). Fare embriyonik fibroblastlarıyla (Mouse Embryonic Fibroblasts, MEF) yapılan diğer bir çalışma da ise Wip1-/- MEF'te anisomycin, etoposide, H2O2, UV-

radyasyon ya da staurosporin ile indüklenen apoptozis oranının wt-MEF'e göre daha yüksek olduğu bulunmuştur (Xia vd., 2009).

Bütün bu veriler ışığında Wip1'in p53, E2F1, p38/MAPK, JNK /c-Jun, Chk1 ve Chk2 gibi moleküller üzerinde apoptozisin global negatif regülatörü olduğu sonucuna varabiliriz.

PPM1D/Wip1'in Hücrel Senesens'in Regülasyonunda Rolü

Premature senesens genç hücrelerde, belirli onkogenlerin aktivasyonu (örn. Ras, Braf) veya tümör supresör gen inaktivasyonu (örn. Pten), mitojenik stimülasyonu, DNA hasarı yaratan anti kanser ajanlar ile, oksidatif stres gibi çeşitli mekanizmalarla indüklenebilir. Senesensin aktivasyonunda p53-p21 ve Rb-P16 gibi iki temel tümör baskılayıcı yolağın etkili olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, senesens hangi yol üzerinden indüklenirse indüklensin, ATM/ATR kinazlarının aktivasyonu ile yürüyen DNA hasarı sinyal yollarının (DDR) aktivasyonu da gerçekleşmektedir (Kilic ve Schmitt 2008). DNA hasarı yaratan ajanlarla ya da radyoterapi ile indüklenen senesens, apoptozis yanında kemoterapiye diğer bir majör hücrel yanıt olarak yerini almaktadır (Kilic ve Schmitt 2008; Kilic Eren ve Tabor 2014).

Wip1'in aslında DNA hasarı cevabının önemli elemanlarını defosforile etmesiyle sensensin regülasyonunda da yer alması şaşırtıcı değildir. Wip1'in primer insan fibroblastlarında özellikle Ras onkogeniyle indüklenen sensensi inhibe ettiği bildirilmiştir (Lu vd., 2008). Buna karşın, PPM1D (-/-) MEF'le yapılan bir çalışmada Ras, Erbb2, Myc, E1A gibi onkogenlerin aktivasyonuna karşın bu fibroblastların transformasyona direnç gösterdikleri görülmüştür (Bulavin vd., 2004). Buna göre Wip1'in bu onkogenlerle işbirliği içerisinde transformasyonu teşvik ettiği söylenebilir.

Yapılan diğer bir çalışmada ise A549 ve MCF-7 hücrelerinde kemoterapi (doxorubicinle) ile indüklenen senesens sırasında Wip1'in ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir (Crescenzi vd., 2013). Ayrıca aynı hücrelerde senesens indüklendikten sonra artan Wip1 ekspresyonu bu hücrelerde G2/M kontrol noktasını bozarak hücrelerin mitotik katastrofiye uğramalarına yol açmıştır. Bundan başka insan mezenkimal kök hücrelerinde Wip1'in ifade edilmesi sonucunda senesens bariyerinin aşılmasına yol açmıştır (Lee vd., 2009).

Bu bilgiler ışığında değerlendirdiğimizde Wip1'in kendi aktivitesinin senesens sırasında negatif regüle edildiği aynı zamanda senesensi negatif regüle edebildiği sonucu da ortaya çıkmaktadır. Ancak özellikle Wip1'in senesens üzerinde etkileri ve mekanizmalarını açıklayabilecek çok fazla çalışma bulunmadığı ve bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu da dikkat çekmektedir.

SONUÇ

- Fonksiyonel ve wt p53'e sahip olan tümörler, tümörigenez sırasında DDR bariyerini aşabilmelerine olanak sağlayan başka genetik bozukluklar biriktirmişlerdir. PPM1D/Wip1 tam da bu özelliklere sahip bir gen olarak karşımıza çıkmaktadır. Bir Ser/Thr fosfatase olan Wip1,

aslında DNA hasarı sonucunda p53' ün ATM/ATR kinazlarca başlatılan aktivasyonunu kapatma da görevli bir proteindir. Aktive olduğunda p53'ü ya direkt defosforile ederek ya da MDM2' yi defosforile etmek yoluyla inaktive eder ve böylece p53'e bir geri-bildirim inhibisyonu sağlamış olur. Öte yandan Wip1'in defosforilasyon yoluyla inaktive ettiği diğer hedefleri arasında DDR' in önemli elemanları olan ATM, H2AX, Chk1, Chk2 ve p38/MAPK da bulunmaktadır.

- Wip1 her zaman ve her yerde ifade edilebilen bir gen olarak herhangi bir dokuya özgü değildir. Wip1'in tümörigenezdeki rolü de oldukça açıktır; Wip1'in solid tümörlerde amplifiye olduğu, aşırı ekspresyonu olduğu, Wip1 geninde nokta mutasyonların bulunduğu ve kötü prognozla da ilişkisi olduğu görülmektedir. Böylece Wip1, hem aşırı ifade edilerek hem de mutant formlarıyla DNA tamiri, hücre döngüsü kontrol noktaları, apoptozis, hücre senesens gibi global hücre stres yanıtlarını negatif yönde regüle etmekte ve hatta tümörigenezi teşvik etmek için onkogenlerle işbirliğine bile gitmektedir.
- Yapılan çalışmalarda da insan solid tümörlerinin birçoğunda meme, ovaryum, pankreatik, nöroendokrin, medulloblastoma, nöroblastoma, kolon karsinoma, non-hodgkin lenfoma (yayınlanmamış veri), Wip1'in amplifiye olduğu ve aşırı ifade edildiği görülmektedir. Tüm bu özellikleriyle Wip1'in tümörigenezi teşvik edici bir onkogen olduğu açıktır ve bu haliyle oldukça önemli ve dikkat çekici bir kemoterapötik hedef haline gelmiştir.

KAYNAKLAR

- Bartek, J. Lukas, J. Bartkova, J. 2007. "DNA damage response as an anti-cancer barrier: damage threshold and the concept of 'conditional haploinsufficiency'". *Cell cycle* 6: 2344-2347.
- Bartek, J. Lukas, J. 2007. "DNA damage checkpoints: from initiation to recovery or adaptation". *Current opinion in cell biology* 19: 238-245.
- Bartkova, J. Rezaei, N. Lontos, M. Karakaidos, P. Kletsas, D. Issaeva, N. Vassiliou, LV. Kolettas, E. Niforou, K. Zoumpourlis, VC. et al. 2006. "Oncogene-induced senescence is part of the tumorigenesis barrier imposed by DNA damage checkpoints". *Nature* 444: 633-637.
- Bulavin, DV. Demidov, ON. Saito, S. Kauraniemi, P. Phillips, C. Amundson, SA. Ambrosino, C. Sauter, G. Nebreda, AR. Anderson, CW. et al. 2002. "Amplification of PPM1D in human tumors abrogates p53 tumor-suppressor activity". *Nature genetics* 31: 210-215.
- Bulavin, DV. Phillips, C. Nannenga, B. Timofeev, O. Donehower, LA. Anderson, CW. Appella, E. Fornace, AJ. 2004. "Inactivation of the Wip1 phosphatase inhibits mammary tumorigenesis through p38 MAPK-mediated activation of the p16(Ink4a)-p19(Arf) pathway". *Nature genetics* 36: 343-350.
- Buss MC, Read TA, Schniederjan MJ, Gandhi K and Castellino RC. 2012. "HDM2 promotes Wip1-mediated medulloblastoma growth". *Neuro Oncol* 14: 440-458,
- Castellino, RC. De Bortoli, M. Lu, X. Moon, SH. Nguyen, TA. Shepard, MA. Rao, PH. Donehower, LA. Kim, JY. 2008. "Medulloblastomas overexpress the p53-inactivating oncogene WIP1/PPM1D". *Journal of neuro-oncology* 86: 245-256.

- Chew, J. Biswas, S. Shreeram, S. Humaidi, M. Wong, ET. Dhillion, MK. Teo, H. Hazra, A. Fang, CC. Lopez-Collazo, E. et al. 2009. "WIP1 phosphatase is a negative regulator of NF-kappaB signalling". *Nature cell biology* 11: 659-666.
- Choi, J. Appella, E. Donehower, LA. 2000. "The structure and expression of the murine wildtype p53-induced phosphatase 1 (Wip1) gene". *Genomics* 64: 298-306.
- Choi, J. Nannenga, B. Demidov, ON. Bulavin, DV. Cooney, A. Brayton, C. Zhang, Y. Mbawuikie, IN. Bradley, A. Appella, E. et al. 2002. "Mice deficient for the wild-type p53-induced phosphatase gene (Wip1) exhibit defects in reproductive organs, immune function, and cell cycle control". *Molecular and cellular biology* 22: 1094-1105.
- Clausse V, Goloudina AR, Uyanik B, Kochetkova EY, Richaud S, Fedorova OA, Hammann A, Bardou M, Barlev NA, Garrido C et al. 2016. "Wee1 inhibition potentiates Wip1-dependent p53-negative tumor cell death during chemotherapy". *Cell death & disease* 7: e2195.
- Crescenzi, E. Raia, Z. Pacifico, F. Mellone, S. Moscato, F. Palumbo, G. Leonardi, A. 2013. "Down-regulation of wild-type p53-induced phosphatase 1 (Wip1) plays a critical role in regulating several p53-dependent functions in premature senescent tumor cells". *The Journal of biological chemistry* 288: 16212-16224.
- Feng, Z. Hu, W. Stanchina, E. Teresky, AK. Jin, S. Lowe, S. Levine, AJ. 2007, 'The regulation of AMPK beta1, TSC2, and PTEN expression by p53: stress, cell and tissue specificity, and the role of these gene products in modulating the IGF-1-AKT-mTOR pathways'. *Cancer research*, 3043–3053.
- Fiscella, M. Zhang, H. Fan, S. Sakaguchi, K. Shen, S. Mercer, WE. Vande Woude, GF. O'Connor, PM. Appella, E. 1997. "Wip1, a novel human protein phosphatase that is induced in response to ionizing radiation in a p53-dependent manner". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94: 6048-6053.
- Fuku, T. Semba, S. Yutori, H. Yokozaki, H. 2007. "Increased wild-type p53-induced phosphatase 1 (Wip1 or PPM1D) expression correlated with downregulation of checkpoint kinase 2 in human gastric carcinoma". *Pathology international* 57: 566-571.
- Gilmartin, AG. Faitg, TH. Richter, M. Groy, A. Seefeld, MA. Darcy, MG. Peng, X. Federowicz, K, Yang, J. Zhang, SY. et al. 2014. "Allosteric Wip1 phosphatase inhibition through flap-subdomain interaction". *Nature chemical biology* 10: 181-187.
- Goloudina AR, Kochetkova EY, Pospelova TV, Demidov ON. 2016. "Wip1 phosphatase: between p53 and MAPK kinases pathways". *Oncotarget* 7: 31563-31571.
- Goloudina AR, Mazur SJ, Appella E, Garrido C, Demidov ON. 2012a. "Wip1 sensitizes p53-negative tumors to apoptosis by regulating the Bax/Bcl-xL ratio". *Cell cycle* 11: 1883-1887.
- Goloudina AR, Tanoue K, Hammann A, Fourmaux E, Le Guezennec X, Bulavin DV, Mazur SJ, Appella E, Garrido C, Demidov ON. 2012b. "Wip1 promotes RUNX2-dependent apoptosis in p53-negative tumors and protects normal tissues during treatment with anticancer agents". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109: E68-75.
- Halazonetis, TD. Gorgoulis, VG. Bartek, J. 2008, 'An oncogene-induced DNA damage model for cancer development'. *Science* 319 (5868):1352-5.
- Hershko, T. Korotayev, K. Polager, S. Ginsberg, D. 2006. "E2F1 modulates p38 MAPK phosphorylation via transcriptional regulation of ASK1 and Wip1". *The Journal of biological chemistry* 281: 31309-31316.

- Hu Feng W., Modica Z., Klimstra I., Song DS., Allen L., Brennan PJ., Levine MF., Tang AJ., LH. 2010. "Gene Amplifications in Well-Differentiated Pancreatic Neuroendocrine Tumors Inactivate the p53 Pathway". *Genes & cancer* 1: 360-368.
- Jackson, SP Bartek, J. 2009, 'The DNA-damage response in human biology and disease'. *Nature*, 461:1071-8.
- Kilic Eren, M. Tabor, V. 2014. "The role of hypoxia inducible factor-1 alpha in bypassing oncogene-induced senescence". *PloS one* 9: e101064.
- Kilic, M. Schmitt, CA. 2008. Tumor senescence in cancer treatment. Part 6. Chapter III. "Exploiting drug induced senescence in transgenic mouse models" BEYOND APOPTOSIS: CELLULAR OUTCOMES OF CANCER THERAPY., in Book " Tumor senescence in cancer treatment. Part 6. Chapter III. "Exploiting drug induced senescence in transgenic mouse models" BEYOND APOPTOSIS: CELLULAR OUTCOMES OF CANCER THERAPY," p. 273. Informa Health Care USA, New York.
- Kleiblova, P. Shaltiel, A. Benada, J. Sevcik, J. Pechackova, S. Pohlreich, P. Voest, EE. Dundr, P. Bartek, J. Kleibl, Z. et al. 2013. "Gain-of-function mutations of PPM1D/Wip1 impair the p53-dependent G1 checkpoint". *The Journal of cell biology* 201: 511-521.
- Lee, J. S., Lee, M. O., Moon, B. H., Shim, S. H., Fornace Jr, A. J., & Cha, H. J. (2009). Senescent growth arrest in mesenchymal stem cells is bypassed by Wip1-mediated downregulation of intrinsic stress signaling pathways. *Stem cells*, 27(8), 1963-1975.
- Le Guezennec, X. Bulavin, DV. 2010. "WIP1 phosphatase at the crossroads of cancer and aging". *Trends in biochemical sciences* 35: 109-114.
- Le Guezennec, X. Brichkina, A. Huang, YF. Kostromina, E. Han, W. Bulavin, DV. 2012, 'Wip1-dependent regulation of autophagy, obesity, and atherosclerosis'. *Cell Metab*, 16 (1):68-8.
- Lieber, M. R. (2010). The mechanism of double-strand DNA break repair by the nonhomologous DNA end-joining pathway. *Annual review of biochemistry*, 79, 181-211.
- Lindqvist, A. de Bruijn, M. Macurek, L. Bras, A. Mensinga, A. Bruinsma, W. Voets, O. Kranenburg, O. Medema, RH. 2009. "Wip1 confers G2 checkpoint recovery competence by counteracting p53-dependent transcriptional repression". *The EMBO journal* 28: 3196-3206.
- Loukopoulos, P., Shibata, T., Katoh, H., Kokubu, A., Sakamoto, M., Yamazaki, K., ... & Ohki, M. (2007). Genome-wide array-based comparative genomic hybridization analysis of pancreatic adenocarcinoma: identification of genetic indicators that predict patient outcome. *Cancer science*, 98(3), 392-400.
- Lowe, J. Cha, H. Lee, MO. Mazur, SJ. Appella, E. Fornace, AJ. 2012. "Regulation of the Wip1 phosphatase and its effects on the stress response". *Frontiers in bioscience* 17: 1480-1498.
- Lu, X. Ma, O. Nguyen, TA. Jones, SN. Oren, M. Donehower, LA. 2007. "The Wip1 Phosphatase acts as a gatekeeper in the p53-Mdm2 autoregulatory loop". *Cancer cell* 12: 342-354.
- Lu, X. Nguyen, TA. Moon, SH. Darlington, Y. Sommer, M. Donehower, LA. 2008. "The type 2C phosphatase Wip1: an oncogenic regulator of tumor suppressor and DNA damage response pathways". *Cancer metastasis reviews* 27: 123-135.
- Lukas, J. Lukas, C. Bartek, J. 2011, ' More than just a focus: The chromatin response to DNA damage and its role in genome integrity maintenance'. *Nat Cell Biology*, 13(10):1161-9

- Macurek L, Benada J, Mullers E, Halim VA, Krejcikova K, Burdova K, Pechackova S, Hodny Z, Lindqvist A, Medema RH et al. 2013. "Downregulation of Wip1 phosphatase modulates the cellular threshold of DNA damage signaling in mitosis". *Cell cycle* 12: 251-262.
- Medema, RH. Macurek, L. 2012. "Checkpoint control and cancer". *Oncogene* 31: 2601-2613.
- Mirzayans, R. Andrais, B. Scott, A. Wang, YW. Murray, D. 2013. "Ionizing radiation-induced responses in human cells with differing TP53 status". *International journal of molecular sciences* 14: 22409-22435.
- Oliva-Trastoy, M. Berthonaud, V. Chevalier, A. Ducrot, C. Marsolier-Kergoat, MC. Mann, C. Leteurtre, F. 2007. "The Wip1 phosphatase (PPM1D) antagonizes activation of the Chk2 tumour suppressor kinase". *Oncogene* 26: 1449-1458.
- Parssinen J, Alarmo EL, Khan S, Karhu R, Vihinen M, Kallioniemi A. 2008. "Identification of differentially expressed genes after PPM1D silencing in breast cancer". *Cancer letters* 259: 61-70.
- Pecháčková, S. Burdová, K. Macurek, L. 2017, 'WIP1 phosphatase as pharmacological target in cancer therapy'. *J Mol Med.* 589–599.
- Pechackova S, Burdova K, Benada J, Kleiblova P, Jenikova G, Macurek L. 2016. "Inhibition of WIP1 phosphatase sensitizes breast cancer cells to genotoxic stress and to MDM2 antagonist nutlin-3". *Oncotarget* 7: 14458-14475.
- Rauta, J. Alarmo, EL. Kauraniemi, P. Karhu, R. Kuukasjarvi, T. Kallioniemi, A. 2006. "The serine-threonine protein phosphatase PPM1D is frequently activated through amplification in aggressive primary breast tumours". *Breast cancer research and treatment* 95: 257-263.
- Roos, WP. Thomas, AD. Kaina, B. 2016, 'DNA damage and the balance between survival and death in cancer biology'. *Nat Rev Cancer.*, 16(1):20-33.
- Ruark E, Snape K, Humburg P, Loveday C, Bajrami I, Brough R, Rodrigues DN, Renwick A, Seal S, Ramsay E et al. 2013. "Mosaic PPM1D mutations are associated with predisposition to breast and ovarian cancer". *Nature* 493: 406-410.
- Saito-Ohara, F. Imoto I. Inoue, J. Hosoi, H. Nakagawara, A. Sugimoto, T. Inazawa J. 2003. "PPM1D is a potential target for 17q gain in neuroblastoma". *Cancer research* 63: 1876-1883.
- Schreiber, V., Amé, J. C., Dollé, P., Schultz, I., Rinaldi, B., Fraulob, V., ... & de Murcia, G. (2002). Poly (ADP-ribose) polymerase-2 (PARP-2) is required for efficient base excision DNA repair in association with PARP-1 and XRCC1. *Journal of Biological Chemistry*, 277(25), 23028-23036.
- Shreeram, S. Hee, WK. Demidov, ON. Kek, C. Yamaguchi, H. Fornace, AJ. Anderson, CW. Appella, E. Bulavin, DV. 2006. "Regulation of ATM/p53-dependent suppression of myc-induced lymphomas by Wip1 phosphatase". *The Journal of experimental medicine* 203: 2793-2799.
- Song, JY. Ryu, SH. Cho, YM. Kim, YS. Lee, BM. Lee, SW. Choi, J. 2013. "Wip1 suppresses apoptotic cell death through direct dephosphorylation of BAX in response to gamma-radiation". *Cell death & disease* 4: e744.
- Takekawa, M. Adachi, M. Nakahata, A. Nakayama, I. Itoh, F. Tsukuda, H. Taya, Y. Imai, K. 2000. "P53-inducible wip1 phosphatase mediates a negative feedback regulation of p38 MAPK-p53 signaling in response to UV radiation". *The EMBO journal* 19: 6517-6526.

- Tan, DS. Lambros, MB. Rayter, S. Natrajan, R. Vatcheva, R. Gao, Q. Marchio, C. Geyer, FC. Savage, K. Parry, S. et al. 2009. "PPM1D is a potential therapeutic target in ovarian clear cell carcinomas". *Clinical Cancer Research* 15: 2269-2280.
- Uyanik B, Grigorash BB, Goloudina AR, Demidov ON. 2017. "DNA damage-induced phosphatase Wip1 in regulation of hematopoiesis, immune system and inflammation". *Cell death discovery* 3: 17018
- Xia, Y. Ongusaha, P. Lee, SW. Liou, YC. 2009. "Loss of Wip1 sensitizes cells to stress- and DNA damage-induced apoptosis". *The Journal of biological chemistry* 284: 17428-17437.
- Yang DH, He JA, Li J, Ma WF, Hu XH, Xin SJ, Duan ZQ. 2017. "[Expression of proto-oncogene Wip1 in breast cancer and its clinical significance]". *Molecular medicine report* 15 (2): 519-522.
- Yu, E. Ahn, YS. Jang, SJ. Kim, MJ. Yoon, HS. Gong, G. Choi, J. 2007. "Overexpression of the wip1 gene abrogates the p38 MAPK/p53/Wip1 pathway and silences p16 expression in human breast cancers". *Breast cancer research and treatment* 101: 269-278.
- Zhang, X. Wan, G. Mlotshwa, S. Vance, V. Berger, FG. Chen, H. Lu, X. 2010. "Oncogenic Wip1 phosphatase is inhibited by miR-16 in the DNA damage signaling pathway". *Cancer research* 70: 7176-7186.
- Zhang L, Chen LH, Wan H, Yang R, Wang Z, Feng J, Yang S, Jones S, Wang S, Zhou W. 2014. "Exome sequencing identifies somatic gain-of-function PPM1D mutations in brainstem gliomas". *Nat Genet* 46: 726-730,.
- Zhu, YH. Bulavin, DV. 2012. "Wip1-dependent signaling pathways in health and diseases". *Progress in molecular biology and translational science* 106: 307-325.