



Memoria del 45º Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

Origen y consecuencias de la inestabilidad genómica Síndromes de inestabilidad cromosómica

Origin and consequences of genomic instability Chromosomal instability syndromes

Juárez-Figueroa, Ulises^{1,2}; Ayala-Zambrano, Cecilia¹; Reyes, Pedro^{1,2} y Frías, Sara^{1*}

1. Laboratorio de Citogenética, Instituto Nacional de Pediatría/ Unidad de Genética de la Nutrición, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

2. Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas, UNAM.

*Correspondencia: Instituto Nacional de Pediatría, Torre de Investigación, 6º. Piso, Insurgentes Sur 3700-C, Col. Insurgentes Cuicuilco, Coyoacán, Ciudad de México. CP 04530 Tel +52(55) 1084-5533, sarafrias@biomedicas.unam.mx

Resumen

El DNA es nuestro patrimonio genético, es la única molécula que no puede reemplazarse a lo largo de toda la vida celular y se encuentra expuesto a diversos agentes que lo dañan, tanto endógenos como exógenos; se estima que una célula humana presenta entre 10^4 - 10^5 lesiones en el genoma por día, que pueden derivar en mutaciones, si no son restauradas, por lo que para mantener la homeostasis, nuestras células tienen toda una batería de mecanismos que se encargan de identificar, señalar y reparar las lesiones del DNA; se calcula que los genes que intervienen para mantener la integridad genómica son cientos y si fallan pueden ser letales o conducir a síndromes de inestabilidad genómica. Existen diversos tipos de lesiones y de mecanismos de reparación; las rupturas de doble hebra del DNA (DSB) son de las más deletéreas para la célula y de no repararse, o repararse erróneamente, se genera daño estructural y numérico en los cromosomas, resultando en una variedad de inestabilidad genómica que es la inestabilidad cromosómica y ésta genera un fenotipo celular y clínico anormal. Los síndromes de inestabilidad cromosómica más estudiados son la Ataxia telangiectasia, el Síndrome de Nijmegen, el Síndrome de Bloom y la Anemia de Fanconi, todos ellos enfermedades raras que tienen en común malformaciones congénitas, alteraciones inmunológicas, envejecimiento prematuro y un riesgo

Abstract

The DNA is our genetic heritage, it is the only molecule that can't be replaced throughout the cellular life and is exposed to both endogenous and exogenous agents that damage it; it is estimated that a human cell receives 10^4 - 10^5 lesions per day, which if they are not repaired, can lead to mutations, so to maintain cellular homeostasis, our cells have a battery of mechanisms that are responsible for identifying, signaling and repair DNA lesions; It is calculated that we have hundreds of genes involved in maintaining the genomic integrity; failure in one of them, may be lethal or lead to genomic instability syndromes. There are several types of DNA damage and repair mechanisms; DNA double-strand breaks (DSB) are one of the most deleterious lesions and if it is not repaired or if repaired erroneously, structural and numerical damage is generated in the chromosomes, resulting in a variety of genomic alterations leading to chromosomal instability generating an abnormal cellular and clinical phenotype. The most studied chromosomal instability syndromes are Ataxia telangiectasia, Nijmegen Syndrome, Bloom Syndrome and Fanconi Anemia, all of them are rare diseases that have in common congenital malformations, immunological alterations, premature aging and a very high risk of developing cancer. In addition, every of these syndromes shows phenotypic characteristics related to the specific gene defect. The study of these diseases has generated

muy elevado de desarrollar cáncer. Además de esto, cada uno de ellos tiene características particulares que se relacionan con el defecto génico específico. El estudio de estas enfermedades ha generado conocimiento sobre los mecanismos de reparación del DNA en humano, lo cual ha repercutido en un mejor diagnóstico, pronóstico y tratamiento de estos pacientes, pero también en el avance y en el conocimiento de la biología del cáncer y su tratamiento.

Palabras clave: inestabilidad genómica, reparación de DNA

knowledge regards the mechanisms of DNA repair in humans, which has resulted in a better diagnosis, prognosis and treatment of these patients, but also in the advancement in the knowledge of cancer biology and its treatment.

Key words: genomic instability, DNA repair

Introducción

Nuestro organismo posee células altamente complejas, tanto en estructura como en función, cada una de ellas contiene en su núcleo DNA asociado a proteínas histonas y no histonas que forman la cromatina, que se visualizará en la mitosis como 46 cromosomas, debido a la alta condensación generada (Figura 1). Estos cromosomas portan en conjunto un DNA con 3200 millones de pares de bases A-T y C-G, que constituyen nuestro genoma diploide y están ordenadas en una secuencia específica, y es donde se encuentra almacenada la información genética y las instrucciones necesarias para construir y mantener funcionando cada célula y el conjunto organizado de células que constituye un individuo; así mismo el DNA es el responsable de la transmisión de esta información de célula a célula mediante mitosis y de generación a generación mediante meiosis, que forma gametos haploides. Lo extraordinario de nuestro genoma, es que aunque tiene la capacidad para hacer que una célula pueda recambiar prácticamente todos sus tipos de componentes, los cromosomas no pueden recambiarse; esto tiene implicaciones muy importantes para la vida, puesto que si se daña el DNA necesita ser reparado, sin embargo, se ha observado que aún en un individuo normal, la reparación puede no ser perfecta, por lo que tiende a acumular lesiones y mutaciones que eventualmente conducirán a la pérdida celular, al envejecimiento o bien si hay mutaciones que confieran a una célula una ventaja reproductiva, puede conducir al desarrollo de cáncer [1].

Daño y reparación del DNA en homeostasis celular

Todo ser humano inicia su existencia como un cigoto, con 23 cromosomas de origen paterno y 23 cromosomas de origen materno para integrar un genoma propio de 46 cromosomas; este genoma se conserva extremadamente similar en todas las células

de un organismo adulto, a pesar de haber pasado por miles de millones de replications y de estar expuesto a múltiples agresiones endógenas y exógenas. Se estima que una célula humana presenta entre 10^4 - 10^5 lesiones en el genoma por día, inducidas por fuentes endógenas y exógenas y que pueden derivar en mutaciones, si no son restauradas [2-4].



Figura 1. Cromosomas humanos en metafase. Cada célula tiene 46 moléculas de DNA, visibles al microscopio como 46 cromosomas, cada uno contiene una molécula de DNA asociada a proteínas histonas y no histonas. Se aprecian los 46 cromosomas íntegros, sin alteraciones.

Fuentes endógenas de daño al DNA

Existen diferentes fuentes endógenas de daño al DNA entre las que destacan: a) la replicación del DNA, b) el contacto con productos del propio metabolismo celular y c) reacciones espontáneas intrínsecas a la naturaleza química del DNA [3].

- a) Las células entran en ciclo celular para reproducirse, durante la replicación del DNA, las DNA polimerasas con frecuencia agregan bases nitrogenadas no complementarias; siendo el principal factor de mutaciones espontáneas en un organismo. Por lo general, la síntesis del DNA se lleva a cabo por las polimerasas de alta precisión α , δ y ϵ , que se estima generan en promedio un error por cada 10,000 bases incorporadas. Sin embargo, en ocasiones se requiere de la acción de polimerasas de síntesis translesión para completar la replicación. Estas polimerasas son menos precisas e introducen hasta 2 errores por cada 1000 bases ya que cuentan con un sitio catalítico de mayor tamaño que les permite acomodar bases modificadas o voluminosas que incluyen bases con alteraciones [1, 2, 4, 5].
- b) Por otra parte, el DNA se encuentra situado en un ambiente acuoso en el que, con frecuencia, es

posible encontrar especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, las cuales pueden dañar el DNA generando enlaces covalentes cruzados, rupturas de hebra sencilla, rupturas de doble hebra, modificación de bases, etc. (Cuadro 1, Figura 2), [6, 7]. La cantidad requerida de estas especies para causar daño varía, por ejemplo, en el caso del acetaldehído (Figura 2) [6].

- c) Por último, todas las macromoléculas biológicas presentan descomposición espontánea, y el DNA no es la excepción. Las moléculas del DNA se unen entre sí por enlaces químicos, el enlace N-glicosídico formado entre la pentosa y la base nitrogenada es susceptible a hidrolizarse en condiciones fisiológicas, lo que implica la desaminación y pérdida de bases nitrogenadas causando cambios en las bases originales; por ejemplo la Citosina puede generar Uracilo, lo cual genera una mutación tipo transición de C > T [8, 9].

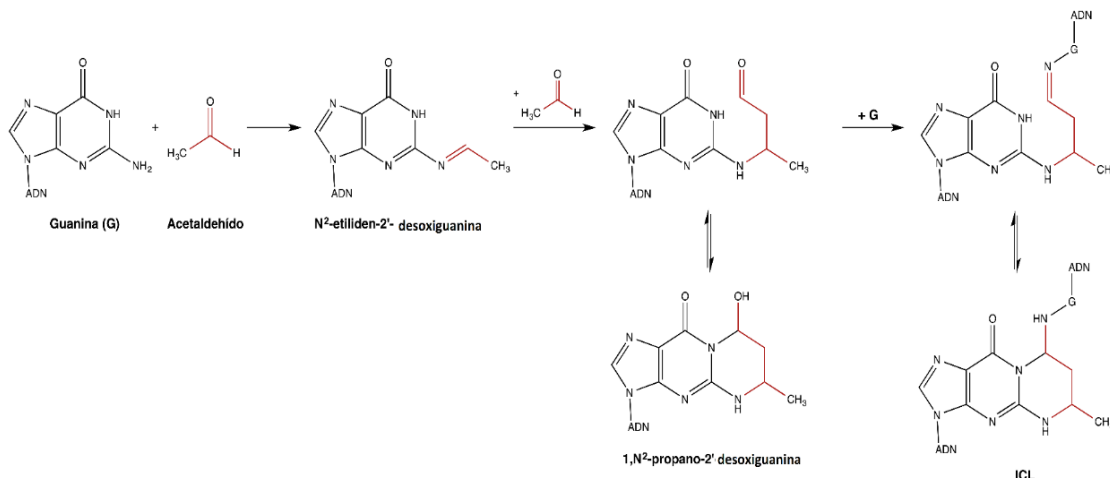


Figura 2. Mecanismo de generación de enlaces covalentes cruzados en el DNA, por acetaldehído.

Cuadro 1. Efecto de las fuentes de daño endógeno sobre el DNA.

Fuente de daño endógena	Ejemplo	Efecto en DNA
Especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés)	Peróxido de hidrógeno. Ion superóxido. Radical hidroxilo.	Oxidación de bases (8-oxo-deoxiguanosina). Ruptura de hebra sencilla. Ruptura de doble hebra.
Especies reactivas de nitrógeno	Óxido nítrico Peroxinitrito	Oxidación de bases (8-nitro-deoxiguanosina) Ruptura DNA Desaminación de guanina a adenina
Productos de la peroxidación de lípidos	Crotonaldehído Acroleína 4-hidroxinonenal (HNE) Malonaldehído (MDA)	Aductos exocíclicos
Agentes alquilantes	Acetaldehído	Enlaces covalentes cruzados o Aductos. Sustitución de bases (G \rightarrow A, A \rightarrow T).
Metabolismo del estrógeno	4-hidroxiestradiol	Aductos. Modificación covalente de DNA.

Fuentes exógenas de daño al DNA

Una de las más importantes fuentes de daño al DNA en los seres vivos, es la radiación solar; existen tres categorías de radiación UV: A, B y C. Debido a que la capa de ozono absorbe UV-C, las principales fuentes de daño al DNA son la luz UV-A y UV-B, quienes pueden causar dos tipos de lesiones en el DNA: 1) la unión covalente de dos pirimidinas adyacentes, timina-timina o timina-citosina, formando dímeros ciclobutano pirimidina; 2) la formación de dímeros pirimidina-pirimidona o 6-4 fotoproductos entre bases de timina y citosina adyacentes [2, 6]. Otro agente físico que genera alteración en la estructura del DNA es la radiación ionizante (IR, por sus siglas en inglés), presente en el decaimiento de elementos radioactivos (como el uranio), la radiación cósmica, tratamientos médicos que utilizan rayos X o radioterapia, etc. La IR produce lesiones químicamente parecidas a las provocadas por las especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés), e incluyen más de 850 modificaciones de pirimidina, 450 de purinas, rupturas de hebra sencilla y rupturas de doble hebra; el daño producido por la IR no se distribuye homogéneamente y puede generar dos o más lesiones dentro de una o dos vueltas de la doble hélice [6, 10]. Sumado a estos eventos, la exposición

a factores químicos en consecuencia a nuestra forma de vida; como el fumar, el usos de pesticidas o agentes quimioterapéuticos, por ejemplo la mostaza nitrogenada, la mitomicina C y el cisplatino reaccionan químicamente con el DNA [9] y se genera una molécula con alteraciones que incluyen modificaciones químicas en las bases nitrogenadas, ruptura de una o ambas hebras y enlaces covalentes entre bases de cadenas complementarias, llamados enlaces covalentes cruzados o ICL (*interstrand cross link*) (Figura 3), [10].

Respuesta celular al daño en el DNA

Las fuentes exógenas y endógenas de daño al DNA, pueden provocar en él una amplia variedad de lesiones y para poder contrarrestar estos insultos, la célula tiene un mecanismo denominado respuesta al daño en el DNA o DDR (*DNA damage response*), compuesto por una red compleja y orquestada de interacción de diferentes vías de señalización, las cuales tienen la habilidad de a) censar el daño generado, b) transducir esta señal a la célula para reparar la lesión y c) modificar la progresión del ciclo celular; sin embargo, si el daño es excesivo, la célula puede tomar el camino de la senescencia o en último caso activar la apoptosis (Figura 4), [1, 10-12].

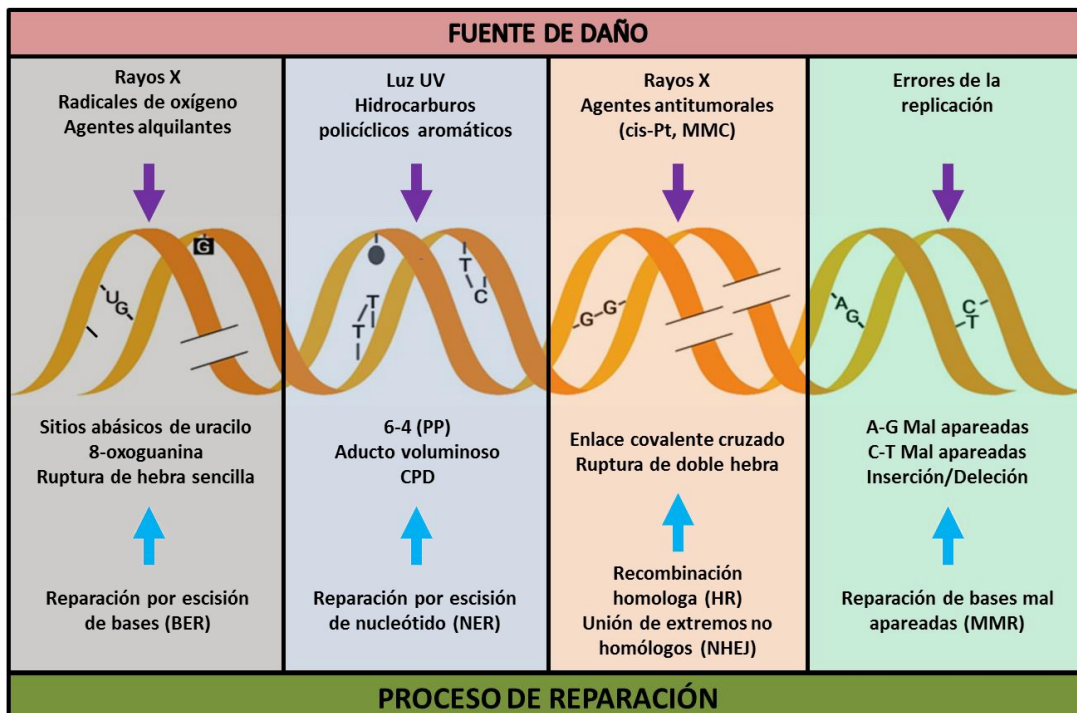


Figura 3. Fuentes de inducción de daño al DNA, lesiones generadas por ellas y mecanismos de reparación específicos.

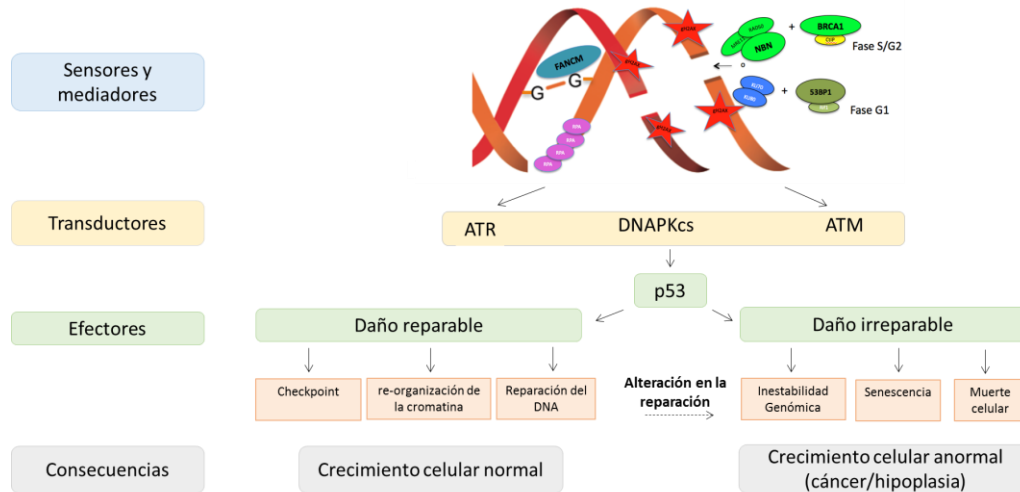


Figura 4. Mecanismos de acción de la DDR ante diversos tipos de lesiones en el DNA.

La DDR se realiza mediante el control de proteínas que participan como sensores, transductores y efectores de las lesiones generadas en el DNA, en este artículo revisaremos primordialmente aquellas que generan inestabilidad cromosómica.

a) La DDR se inicia una vez que los sensores reconocen la lesión, algunos de estos son el complejo MRN (Mre11–Rad50–Nbs1) que reconoce rupturas de doble hebra (DSBs, por sus siglas en inglés) en fase S/G2 y el heterodímero Ku70/Ku80 que actúa en fase G1; otro sensor muy importante es la proteína FANCM la cual reconoce horquillas de replicación estancadas por la presencia de un ICL [13, 14]

b) Una vez reconocida la lesión, se realiza una amplificación de la señal, las proteínas transductoras encargadas de este proceso son la familia PIKK cinasas (*Phosphatidy Inositol 3-Kinase-related Kinases*), compuesta por ATM, ATR y DNAPKcs [13, 14]. Estas cinasas actúan a través de modificaciones postraduccionales (por ejemplo, mediante fosforilación), de varias proteínas blanco. ATM y ATR fosforilan a CHK2 y CHK1 respectivamente, las cuales activarán un checkpoint del ciclo celular que lo detiene para dar paso a la reparación (Figura 5). Otras modificaciones se realizan sobre la cromatina, específicamente, estas PIKK cinasas pueden fosforilar a la variante de histona H2AX en el residuo Ser139 para dar γ H2AX, la cual marca el DNA con DSBs y genera el reclutamiento de otras proteínas para poder procesar la lesión y repararla [6, 15]. Existe otra serie de modificaciones postraduccionales de histonas canónicas, que facilitan el acceso a la cromatina para la detección y reparación del daño al DNA.

c) Por último, se activa un mecanismo específico de reparación dependiendo del daño generado; por ejemplo, en el caso de un ICL se pueden activar diferentes vías para realizar la reparación como la vía FA/BRCA, síntesis translesión (TS), reparación por escisión de nucleótidos (NER), recombinación homóloga (HR) o unión de extremos no homólogos (NHEJ); estas vías se discutirán a continuación [16, 17]. Una vez que la lesión se repara, las células continúan el ciclo celular por un proceso denominado “*checkpoint recovery*” [18, 19]. Sin embargo, si el daño no se repara, la célula puede 1. irse a senescencia, 2. realizar apoptosis o 3. dividirse con el daño no reparado, provocando inestabilidad cromosómica que puede derivar en disfunción celular y cáncer.

Por otro lado, en los últimos años se han dado grandes avances en el conocimiento de los procesos mediados por RNAs no codificantes (ncRNAs), y se han identificado microRNAs (miRNAs) que pueden regular la expresión de los RNAs mensajeros de las proteínas que participan en la DDR [20]. Otros ncRNAs que participan en este proceso, son los pequeños RNAs generados en la DDR (DDRNA) y los RNAs largos no codificantes inducidos por daño (dilncRNAs), y se ha observado que ambos tipos de RNA reguladores se producen después de que se genera una lesión, además de ser sitio-específicos y ayudar en el reclutamiento de factores de reconocimiento como el complejo MRN o 53BP1 [21].

Arresto del ciclo celular

La progresión del ciclo celular durante sus diferentes fases se controla principalmente por

complejos específicos ciclinas-cinasas dependientes de ciclina (CDK). Sin embargo, cuando una célula en división presenta daño en el DNA, se activa la DDR y el checkpoint propio de la fase en la que se encuentre la célula. Estos checkpoints son puntos donde la célula verifica que las actividades de cada fase se completen para poder proseguir con la siguiente. En caso de que exista daño en el DNA, la respuesta inmediata es la inhibición de los complejos ciclina-CDKs; como resultado, se genera un arresto del ciclo celular donde la célula puede realizar: a) reparación del daño o b) senescencia o apoptosis para prevenir la inestabilidad cromosómica, si el daño no puede ser reparado (Figura 5).

El mecanismo específico de respuesta para que el arresto celular se realice dependerá del tipo de lesión y de la fase del ciclo celular en la que se genere el daño, para así activar el “checkpoint” adecuado. Generalmente el no completar la replicación o debido a las lesiones del DNA provoca la activación de las PIKK cinasas ATM/ATR, que activan las cinasas CHK2/CHK1, respectivamente. CHK2/1, activa a la proteína p53, lo que resulta en la inducción de una amplia variedad de blancos transcripcionales, dentro de los cuales se encuentra la proteína p21 inhibidora

de CDK que se une e inhibe al complejo ciclina-CDK para bloquear la progresión del ciclo celular. Otro de los blancos activados por ATM es p38, una MAP cinasa que contribuye en la estabilización del mRNA que codifica a p21. Todo este proceso impide la progresión de G1 por la degradación de ciclina D (Figura 5a) o bien estos mismos actores pueden detener la transición de la fase G1 a S (Figura 5b); la progresión de fase S por daño al DNA o por alteración en la replicación (Figura 5c y 5d) y la transición de fase G2 a M (Figura 5e), en especial en la fase G2, además de la inhibición de CDC25A y CDC25B, la fosforilación de CDKs dependiente de WEE1, niveles bajos de p21 y la presencia de ATR y CHK1, son cruciales para el control y mantenimiento del “checkpoint” de fase G2, [22, 23]. Como se mencionó en el segmento anterior la reparación dependerá de la resección que tenga el DNA. En todos estos puntos interviene también la fosfatasa CDC25A, encargada de la reversión de la fosforilación inhibitoria de las CDK [22, 23]. Estos “checkpoints” que arrestan el ciclo celular, permiten a la célula tener tiempo para que reparen las DSBs, generalmente por NHEJ y por HR de manera post-replicativa durante las fases S y G2.

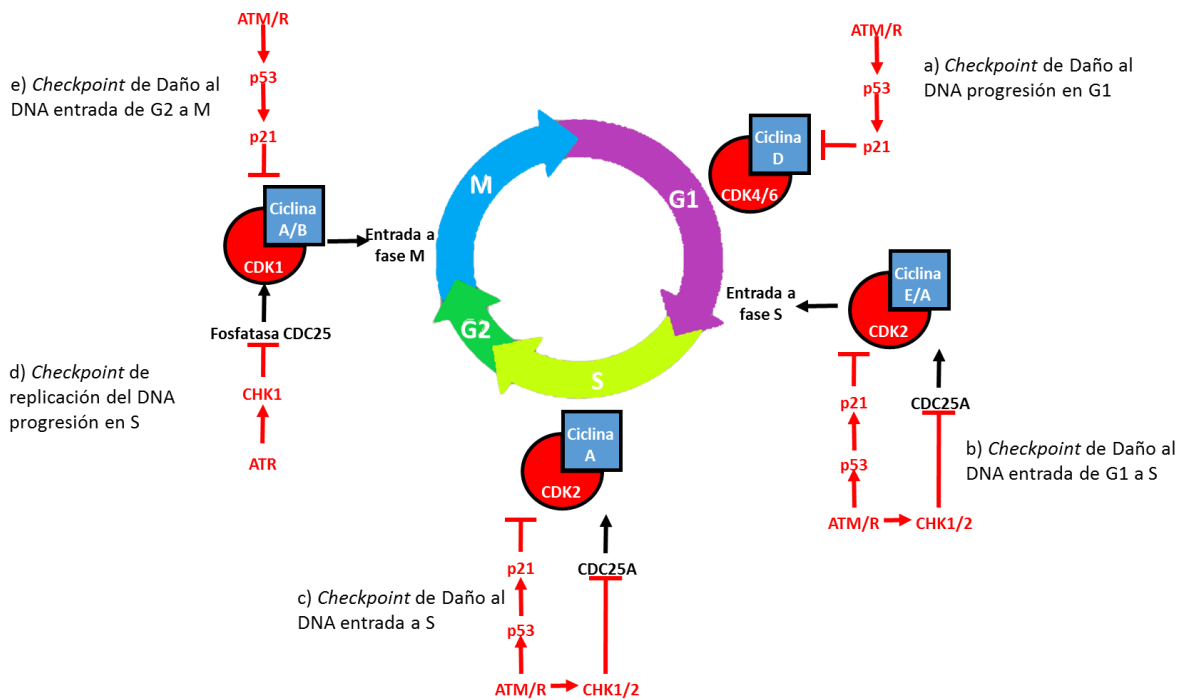


Figura 5. Inhibición de los complejos ciclinas-CDKs en la progresión del ciclo celular en respuesta a daño al DNA o alteración en su replicación.

Mecanismos de reparación del DNA

La reparación del DNA se considera como una de las herramientas que utiliza la célula como parte de la

DDR. Dos factores principales determinan la elección de la vía de reparación que será utilizada: el tipo de lesión presente en el DNA y la fase del ciclo celular en la cual son detectadas las alteraciones. El sistema de reparación de apareamientos erróneos (MMR, *mismatch repair*) se encarga de corregir bases mal apareadas; la reparación por escisión de bases (BER, *base excision repair*) se utiliza para corregir bases alteradas, mientras que la reparación por escisión de nucleótidos (NER, *nucleotide excision repair*) actúa sobre una variedad de lesiones que distorsionan la estructura helicoidal del DNA [1, 24]. Algunas lesiones como los ICLs, interfieren con procesos celulares indispensables, como la replicación y la transcripción, en este caso la vía que se encarga de su reparación es la FA/BRCA, que se considera como una vía maestra que procesa los ICLs y para repararlos, forma intermediarios tipo aductos que distorsionan el DNA y se reparan por NER y también forma DSBs. Las DSBs se consideran como una de las lesiones más peligrosas para la integridad del genoma y pueden originarse por una lesión directa o bien como producto de la reparación de un ICL [24]. Las DSBs se puede reparar por dos mecanismos y que dependen de la fase del ciclo en el que se encuentre la célula: 1) la recombinación homóloga, (HR) que opera en fase S/G2 y es dependiente de la presencia de una molécula homóloga de DNA, y 2) la unión de extremos no homólogos (NHEJ), que opera principalmente en G1 pero puede operar en cualquier fase del ciclo celular ya que no requiere de homología [24]. Una importante diferencia entre ambas vías, es que la HR se considera como un proceso fidedigno de reparación, mientras que la NHEJ es un proceso con tendencia a generar errores, sobre todo si se trata de la vía llamada NHEJ alterna (A-NHEJ, *alternative-non homologous end joining*), ya que puede ocasionar alteraciones cromosómicas o subcromosómicas que producen deleciones o duplicaciones [25, 26].

Las lesiones que pueden generar inestabilidad cromosómica, tema central del presente trabajo, son esencialmente las ICL y DSB; los procesos de reparación que intervienen para eliminarlas del DNA se presentan a continuación.

Reparación por escisión de nucleótidos o NER

Es la encargada de reparar lesiones que ocasionan la distorsión de la doble hélice como dímeros de ciclobutano-pirimidinas y los fotoproductos 6-4 pirimidina-piromidona, inducidos por luz UV; aquellas generadas por ciertos productos químicos como el cisplatino, así como por ciclopurinas derivadas de ROS [4]. NER presenta dos sub-rutas, la que se encarga de la reparación en el genoma global

(GG-NER, *global genome nucleotide excision repair*) y la que está acoplada a la transcripción (TC-NER, *transcription-coupled nucleotide excision repair*), que se activa ante lesiones en una hebra de DNA que servirá de template para la generación de RNA mensajero (Figura 6), [25].

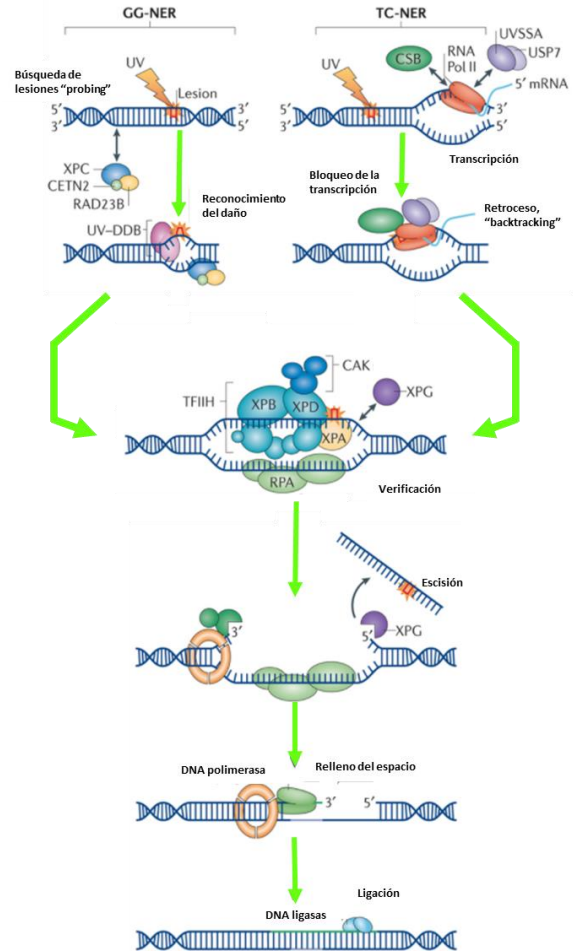


Figura 6. Mecanismo de reparación por escisión de nucleótidos (NER). GG-NER reparación global del genoma; TC-NER reparación acoplada a la transcripción.

El primer paso para ambas rutas es el reconocimiento del daño. En GG-NER, las proteínas relacionadas con el síndrome de Xeroderma pigmentosum son las principales involucradas; el complejo de las proteínas XPC/RAD23B/CETN-2 con ayuda de UV-DDB, reconoce la lesión que distorsiona el DNA; XPC permanece sobre la hebra opuesta a la lesión y su terminal carboxilo se inserta entre las hebras de DNA facilitando así la apertura de las hebras y posteriormente, RAD23B se disocia de la unión [4, 27]. En la sub-ruta TC-NER, el daño se reconoce durante la elongación del transcrito debido al estancamiento de la RNA Pol II en la lesión, en esta etapa la enzima interactúa con UVSSA, CSB y USP7

[4]. Una vez que la polimerasa localiza la lesión, la afinidad de CSB por la RNA Pol II aumenta y se recluta CSA, formándose el complejo CSA-CSB, que induce el retroceso (*backtracking*) de la RNA Pol II, dejando accesible el sitio de la lesión para ser reparado [27].

Los pasos posteriores son comunes para ambas sub-rutas. Así, el complejo TFIIH se recluta al sitio de la lesión. En seguida, se disocia el sub-complejo con actividad cinasa de TFIIH (CAK) y la doble hélice se separa gracias a la actividad helicasa del complejo, siendo la subunidad XPD la encargada de verificar la presencia de una lesión, con la colaboración de XPB y XPA [25]. Posteriormente, RPA se une a la hebra no dañada y XPA recluta al heterodímero XPF-ERCC1, el cual se dirige a la hebra lesionada y genera una incisión en su extremo 5'. Luego, XPG corta la hebra a unos 22-30 nucleótidos en dirección 3' de la lesión, que provoca la escisión del fragmento donde se encontraba la lesión. Para rellenar el espacio se recluta, mediado por PCNA, una DNA polimerasa delta o épsilon. El proceso culmina cuando una DNA ligasa I o III, genera el enlace covalente que unirá la hebra recién sintetizada con la hebra original que contenía la lesión (Figura 6), [4].

Reparación por recombinación homóloga (HR)

Como se mencionó anteriormente, la reparación de un DSB puede ser reparado por HR o NHEJ dependiendo de la fase en la que se encuentre la célula. Primero los extremos de DNA rotos son reseccionados por exonucleasas, con una mayor longitud de resección en la HR, y casi nula en la NHEJ [28]. En la RH se copia la información sin error que contiene la cromátida hermana no dañada y consta de cuatro pasos (Figura 7):

Señalización de la ruptura: protagonizada por las proteínas γ H2AX, MDC1 y RNF8 tras la activación de las cinasas ATM y ATR y la consecuente fosforilación de sus proteínas blanco CHEK1, CHEK2, TP53, BRCA1 y H2AX [29].

Resección de los extremos 5' de la DSB: el complejo MRN formado por MRE11, NBS1 y

RAD50, colabora con las exonucleasas CtIP, que genera una resección corta que se extiende por las exonucleasas EXO1 o DNA2, acopladas con las helicasas WRN o BLM [28, 30].

Invasión de la hebra: el DNA de cadena sencilla se recubre por RPA, la cual se intercambia por RAD51/FANCR con ayuda de BRCA2/FANCD2 y PALB2/FANCN para generar el filamento presináptico; éste se alinea por complementariedad con la hebra homóloga [17, 31].

Formación y resolución de intermediarios de Holliday: La síntesis del DNA faltante a partir de los extremos 3' provoca la formación de una estructura de cuatro brazos bicatenarios unidos entre sí (intermediarios de Holliday), los cuales se resuelven por helicasas y endonucleasas que, dependiendo donde lleva a cabo la incisión generan o no recombinación [32].

Debido a que la información se copia de la cromátida hermana, la reparación de las DSB por la RH es una vía fidedigna que se considera libre de error.

Reparación por unión de extremos no homólogos (NHEJ)

La reparación de DSB por la NHEJ, contrario al resultado de la reparación por HR, es propensa a error y no requiere de la presencia de una cromátida hermana para llevarse a cabo, por lo que la vía puede emplearse en cualquier fase del ciclo celular [28].

El inicio de la NHEJ requiere de la unión del heterodímero Ku70/80 en los extremos rotos del DNA, éste protege al DNA evitando su degradación y la actividad de las proteínas de la HR, además de servir como plataforma para reclutar proteínas de reparación como la DNA-PKcs. La DNA-PKcs es una cinasa con un cofactor proteico con actividad exonucleasa (Artemisa), el cual elimina algunos nucleótidos de los extremos rotos para que se pueda llevar a cabo la ligación por los complejos XRCC4/XLF y la DNA ligasa IV. Ésta resección, aunque pequeña, representa la modificación de la información en el sitio de daño, explicando los errores asociados a la reparación por NHEJ (Figura 7), [28, 33].

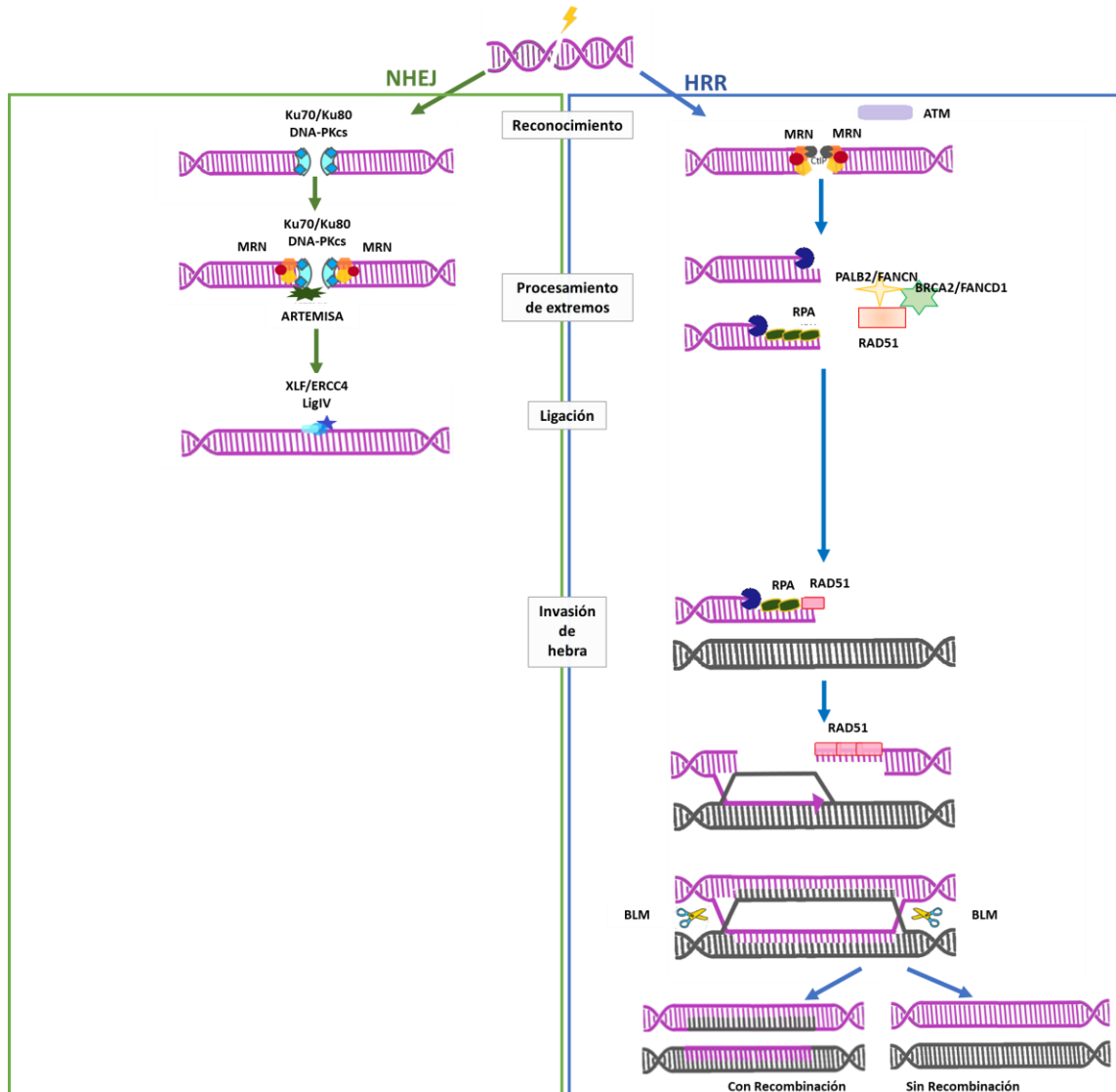


Figura 7. Reparación de DSB por NHEJ y HR. En la ligación durante la NHEJ, se pueden unir los extremos contiguos a la ruptura (como se muestra en la imagen) o extremos productos de rupturas de cromosomas distintos, lo que genera aberraciones cromosómicas como translocaciones, dicéntricos y figuras radiales.

Vía FA/BRCA

Los enlaces covalentes cruzados o ICLs, representan el daño más deletéreo que puede tener una célula, ya que esto provoca la inhibición de procesos esenciales como la transcripción y la replicación. Algunos agentes alquilantes procedentes de fuentes endógenas como el acetaldehído y formaldehído o exógenas como algunos fármacos como el cisplatino y la mitomicina C, reaccionan con las bases nitrogenadas formando un enlace covalente entre las hebras o ICL, éste no genera un cambio evidente en la estructura del DNA, por lo que su detección se llevará a cabo principalmente durante la fase S del ciclo celular, cuando el paso de la maquinaria de replicación

se vea interrumpido al no poder separar la doble hebra. El estancamiento de las dos horquillas de replicación genera la activación de la vía de reparación que se encarga de resolver este tipo de daño: la vía FA/BRCA [17, 34]. La vía FA/BRCA es compleja, ya que coordina diferentes mecanismos de reparación como NER, síntesis translesión y HR, así como la participación de diversas proteínas, entre las que destacan las 22 codificadas por los genes *FANCA*, *FANCB*, *FANCC*, *FANCD1*, *FANCD2*, *FANCE*, *FANCF*, *FANCG*, *FANCI*, *FANCL*, *FANCM*, *FANCN*, *FANCO*, *FANCP*, *FANCO*, *FANCP*, *FANCO*, *FANCR*, *FANCS*, *FANCT*, *FAUNCU*, *FANCV*, *FANCW* [35, 36].

Esta vía (Figura 8) inicia con el reconocimiento de la lesión por la proteína UHRF1 y el complejo FANCM-MHF1-MHF2, que reconocen estructuras ramificadas en el DNA generadas en horquillas estancadas y sirve como sitio de andamiaje para 11 proteínas, las proteínas río arriba de la vía FA/BRCA que incluye FANCA, FANCB, FANCC, FANCE, FANCF, FANCG, FANCL, FANCT, FAAP100, FAAP20 y FAAP24, en un complejo denominado “core AF” el cual tiene como función principal reclutar y ubiquitinar al heterodímero FANCD2-I; una vez posicionado y activado, FANCD2-I incorpora a las FANCP/SLX4, y las endonucleasas MUS81, SLX1 y XPF/ERCC4/FANCO quienes realizarán dos incisiones a ambos lados del ICL sobre una de las hebras parentales, liberando el ICL de una hebra y permitiendo el paso a la maquinaria de replicación, después de lo cual, se generan tres tipos de lesiones: una ruptura de hebra sencilla y un aducto en una de las

cromátidas y en la otra cromátida hermana se genera una DSB en donde las endonucleasas realizaron el corte. Cada una de estas lesiones se repara por diferentes vías de reparación (Figura 8), [34, 36]. La ruptura de hebra sencilla se repara por el complejo conformado por REV1, REV7/FANCV y REV3, el cual es una polimerasa de síntesis translesión capaz de incorporar nucleótidos tomando como molde la hebra complementaria con el aducto, este paso puede introducir mutaciones en la nueva hebra, debido a la baja fidelidad que tiene la polimerasa. El aducto se repara por vía NER y la DSB se procesa por las proteínas río abajo de la vía (FANCD1 / BRCA2, FANCN / PALB2, FANCS / BRCA1, FANCI / BRIP1, FANCO / RAD51C, FANCR / RAD51) que realizan la reparación por HR y así la lesión queda reparada sin errores para poder proseguir con el ciclo celular [34].

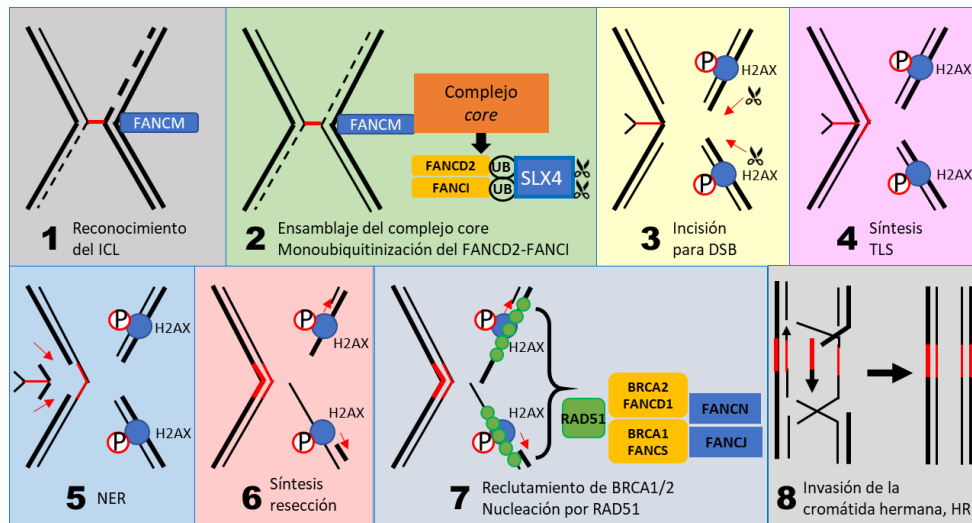


Figura 8. Vía FA/BRCA. En la figura observamos la secuencia de eventos del procesamiento de un ICL, desde el inicio donde se da el reconocimiento del ICL, pasando por el reclutamiento de las diferentes proteínas para el procesamiento de la lesión y por último el restablecimiento de las dos cromátidas hermanas integras.

Lesiones que causan alteraciones cromosómicas

Las alteraciones cromosómicas generalmente resultan de la ruptura y reunión de segmentos no homólogos, por lo que lo más común es que sean el resultado de la reparación no fidedigna de DSBs. El mal funcionamiento de alguno de los procesos de reparación (HR y NHEJ), genera mutaciones y aberraciones cromosómicas y cromatídicas, dependiendo de la fase del ciclo celular en la que se detecta la DSB [25]. Normalmente la HR no introduce errores, pero bajo algunas condiciones una sub-ruta de HR llamada reparación por alineamiento de cadena sencilla (SSA, *single strand annealing*) que repara

DSB flanqueados por secuencias de >25 nucleótidos repetidas (Figura 9), implica la pérdida de segmentos cromosómicos y puede generar translocaciones si el alineamiento se produce entre regiones con secuencias homólogas entre dos cromosomas diferentes [37]. Por otra parte, la conversión génica, resultado de la transferencia de información genética no recíproca entre dos secuencias de DNA, puede conducir a la formación de regiones con pérdida de heterocigidad (LOH, *loss of heterozygosity*) y también al intercambio físico entre dos segmentos cromosómicos (*crossing over*) que generan translocaciones, duplicaciones y deleciones cromosómicas (Figura 9), [26].

Sin embargo, en la mayoría de los casos de alteraciones cromosómicas estructurales, las proteínas que forman parte de la vía NHEJ canónica y alterna (C-NHEJ y A-NHEJ), son las responsables, puesto que ligan extremos que presentan homología en un segmento muy corto, de <25 nucleótidos, de manera que la NHEJ es capaz de unir de forma errónea e independientemente de su secuencia y estructura, cromosomas diferentes [37]. Por esta razón, si existe más de un DSB, se pueden inducir deleciones, inserciones o translocaciones, que pueden a su vez favorecer la formación de cromosomas dicéntricos u otros rearrreglos más complejos [38]. Se ha observado que en la variante alterna de la vía (A-NHEJ), independiente del dímero Ku 70/80 se incrementan los niveles de las uniones erróneas y translocaciones antes descritas (Figura 9), [39].

Alteración de la respuesta al daño al DNA. Síndromes de Inestabilidad cromosómica.

Generalidades

En un individuo sano, un porcentaje bajo de lesiones se convierten en mutaciones de manera a lo largo de nuestra vida y aún con sistemas de reparación normales, el DNA poco a poco se va deteriorando y conduce a envejecimiento.

Sin embargo, si el daño al DNA no se detecta o bien no se repara de manera normal, se genera un exceso de mutaciones tanto a pequeña escala, tipo mutaciones puntuales, como a gran escala, como mutaciones en el número o la estructura cromosómica, lo que genera inestabilidad genómica.

Generalmente, la inestabilidad genómica se produce cuando muta uno de los genes que intervienen en el mantenimiento de la integridad del DNA y esto origina diversas patologías en el humano, dependiendo del momento y el sitio de la mutación. Si ocurre en células somáticas dentro de un individuo normal, puede derivar en cáncer. Si la mutación ocurre en células germinales y se concibe un individuo con mutación constitucional, es decir en todas sus células, entonces se puede tener un individuo con un síndrome de inestabilidad genómica, con una alta y rápida acumulación de lesiones y mutaciones permanentes que pueden desembocar en muerte celular, la disminución de células dará falla en el crecimiento, deficiencia inmunológica o anemias. Pero si el daño celular es subletal, entonces se puede generar envejecimiento prematuro, y si eventualmente una célula adquiere ventaja reproductiva, se podría generar cáncer. Actualmente se reconocen más de 10 síndromes de inestabilidad genómica, entre ellos los llamados síndromes de inestabilidad cromosómica (SIC), porque en sus células se encuentran mutaciones a gran escala, visibles en los cromosomas (Cuadro 2).

Cuadro 2. Síndromes de inestabilidad cromosómica.

Enfermedad	Número probable de genes	Genes identificados	Proceso molecular alterado
Ataxia Telangiectasia	1	ATM	Respuesta y señalización de daño al DNA Tipo DSB
Síndrome Nijmegen	1	NBN	Reparación de DSB (reparación NHEJ)
Síndrome de Bloom	1	BLM (RECQL3)	Reparación de DSB, Desenrollamiento del DNA (reparación/replicación/recombinación)
Anemia de Fanconi	22	FANCA-FANCW	Reparación de enlaces covalentes intercatenarios (HRR), DSBs

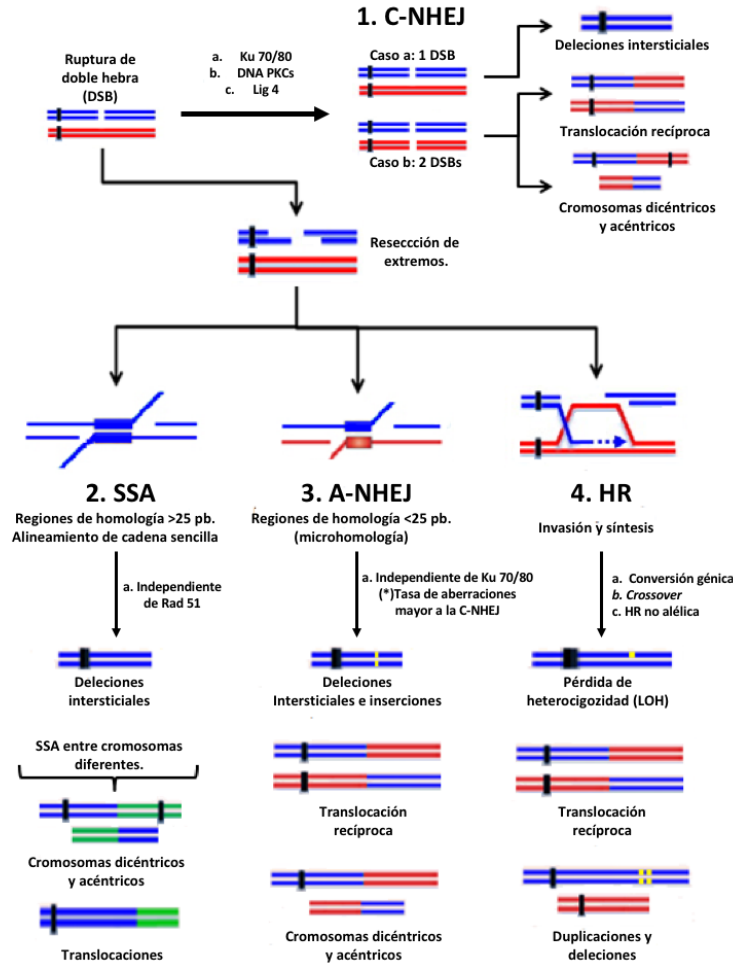


Figura 9. Mecanismos de reparación de DSB que conducen a rearrreglos cromosómicos.

Ataxia Telangiectasia (AT)

La AT tiene una incidencia de ~1/100,000 nacidos vivos. Presenta una herencia autosómica recesiva, se conoce un solo gen responsable, el *ATM* (*ataxia telangiectasia mutated*), localizado en 11q22.3-23.1 [40]. la mayoría de los pacientes presentan mutaciones puntuales patogénicas del tipo inserciones/deleciones intragénicas, mutaciones sin sentido y de sentido erróneo, aunque un pequeño porcentaje, <10% pueden presentar grandes deleciones y duplicaciones de exones completos o de todo el gen. Codifica para una proteína de alto peso molecular, la ATM que pertenece al grupo de las proteínas PIKs, cinasas que fosforilan residuos de serina/ treonina en un amplio espectro de sustratos relacionados con el reconocimiento de las DSBs y la respuesta celular a éstas; usualmente se encuentra como un dímero inactivo que se recluta por los DSBs mediante el complejo MRN, específicamente interactuando con el dominio carboxi-terminal de la proteína NBS1

(NBN). ATM se reconoce también como activadora de vías de señalización que coordinan los *check points*: G1-S fosforilando p53 en Ser15; G2/M fosforilando Chk2 en Thr68; y el *check point* intra-S fosforilando SMC1 en Ser957 y Ser966. Tiene también actividades citoplásmicas como respuesta al estrés oxidante, función mitocondrial, así como en la apoptosis (Figura 4), [40].

Las células de los pacientes con AT presentan inestabilidad cromosómica espontánea e hipersensibilidad a la radiación ionizante y a la bleomicina. Aunque pueden presentar rupturas cromatídicas y cromosómicas que son la evidencia directa de las lesiones tipo DSBs, lo característico de las células AT es que se encuentren translocaciones en sitios cromosómicos en los que se encuentran genes de inmunoglobulinas y receptores de ellas, específicamente translocaciones e inversiones en los cromosomas 7 y 14 en las bandas G 7p14, 7q35, 14q11-q12 y 14q32 (Figura 10), [41].

A nivel clínico, el fenotipo presenta una amplia variabilidad, pero se aprecia una correlación genotipo-fenotipo muy constante; cuando la mutación tiene como consecuencia la ausencia de la proteína ATM, el paciente presenta la forma clásica de la AT, con una presentación temprana y grave, mientras que si existe una mutación que permite la existencia de una actividad residual de ATM, se presenta una forma atenuada de la AT, con una presentación tardía y un fenotipo más leve.

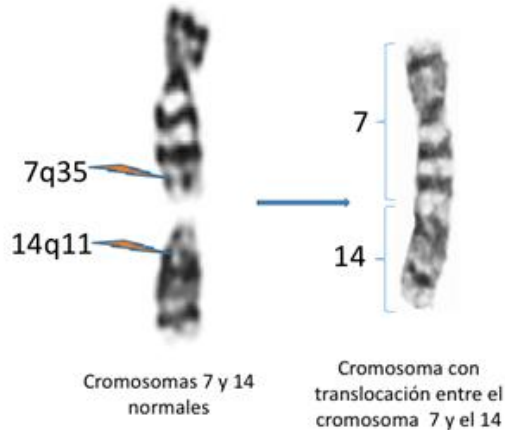


Figura 10. Translocación (7;14) (q35; q11). El rompimiento de los cromosomas, resultado de DSBs y su alteración en la reparación, trae como consecuencia la formación de translocaciones y otras alteraciones como deleciones o inversiones, son características de los Síndromes de Ataxia telangiectasia por mutación en el gen *ATM* y Síndrome de Nijmegen, por mutación en el gen *NBN*.

Las manifestaciones clásicas de la AT son telangiectasias oculocutáneas, degeneración neuronal progresiva, inmunodeficiencia con bajas concentraciones de IgA, IgE e IgG2 y alta susceptibilidad al cáncer.

Las manifestaciones neuronales incluyen ataxia cerebelosa progresiva; anomalías oculomotoras, particularmente apraxia ocular; trastornos del movimiento, tales como corea; y disfunción cognitiva. En la forma clásica, las manifestaciones pueden iniciar a los dos años y frecuentemente a los 10 años los pacientes pueden requerir silla de ruedas [40, 41]. La AT se presenta con afectación multisistémica, que incluye inmunodeficiencia, infecciones sinopulmonares, radiosensibilidad, telangiectasia oculocutánea, niveles elevados de alfa2-microglobulina sérica. Presentan envejecimiento prematuro con manifestaciones clínicas propias del adulto mayor como diabetes, hiperlipidemia, osteoporosis etc. y predisposición al cáncer. En la forma atenuada de AT, presenta actividad residual de ATM, ausencia de telangiectasias, funciones pulmonar y endocrina

normal, inmunoglobulinas normales y menor sensibilidad a la radiación ionizante; los pacientes tienen una esperanza de vida mayor, algunos pueden llegar a los 50 años y el cáncer aparece más tardíamente [42].

Los pacientes AT tienen 100 veces más riesgo que la población general de desarrollar algún cáncer y en edades más tempranas. Los más frecuentes son los linfomas, 50% tipo no Hodgkin, aunque también se presentan los Hodgkin en un 10%. Las leucemias linfoblástica aguda y linfocítica crónica representan el 25% y el resto son tumores sólidos como sarcomas, gonadoblastoma, meduloblastoma, cáncer de mama entre otros [41].

Es importante también hacer notar que los individuos portadores de la mutación, es decir heterocigotos con un alelo normal y un alelo *ATM* mutante, presentan una alta predisposición a cáncer de mama y otros tipos de cáncer, su riesgo es hasta 4 veces mayor que el de la población general [41].

Síndrome de Nijmegen (NBS)

El síndrome de Nijmegen o NBS (por sus siglas en inglés Nijmegen Breakage Syndrome), es una enfermedad rara, sin una prevalencia estimada hasta ahora, aunque se han reportado alrededor de 150 en la literatura médica, se sabe que hay muchos más pacientes en los registros internacionales [43]. Su forma de herencia es autosómica recesiva, originalmente se clasificó como una variante de AT, pero pronto se encontró que es otra entidad y se debe a la mutación de un gen originalmente llamado *NBS*, aunque posteriormente se cambió a *NBN*. La mutación hipomórfica más común es la deleción de 5 pares de bases en el exón 6, que produce un fragmento de proteína NBN de 26 kD y una proteína de 70 kD que se origina por activarse un codón de inicio río-arriba del codón normal. La nibrina o NBN es una proteína que normalmente forma el heterotrímero MRN compuesto por MRE11, RAD50 y NBN (Figura 4), el cual se requiere para fosforilar y así activar a las PIK cinasas ATR y ATM, por lo que su actividad es de primordial importancia en el reconocimiento de lesiones, la reparación del DNA y la activación de los *checkpoints* del ciclo celular; importantemente funciona como sensor para el reconocimiento y procesamiento de los DSBs, tanto en NHEJ como en HR (Figuras 4 y 7). En células murinas, los mutantes nulos para *nbn* tienen alterados los *checkpoints* de G2 e intra-S, muy similar a lo que ocurre con los mutantes *Atm*. La NBN tiene un dominio de unión con ATM, esta interacción activa ATM y le permite realizar la monomerización y autofosforilación necesarios para

el procesamiento de los DSBs. Esta cercana interacción explica las similitudes en el fenotipo clínico y celular entre AT y NBS [43]. A nivel celular, los pacientes con NBS presentan inmunodeficiencia celular y humoral, alteración en los *checkpoints* del ciclo celular e inestabilidad cromosómica espontánea e inducida por radiación ionizante y bleomicina, que se presenta como alteraciones rupturas cromosómicas y translocaciones que involucran los cromosomas 7 y 14, en 4 sitios frecuentes: 7p13, 7q35, 14q11 and 14q32, esto similar que en la AT (Figura 10).

Clínicamente, los pacientes con NBS presentan microcefalia severa que se manifiesta desde el nacimiento y progresa con la edad, tienen retraso leve del crecimiento, malformaciones de cerebro, de pulgares y genito-urinarias; inmunodeficiencia celular y humoral que predispone a infecciones recurrentes. Presentan manifestaciones de envejecimiento prematuro como encanecimiento temprano, insuficiencia ovárica prematura y un riesgo muy alto de desarrollar cáncer a una edad temprana; los principales tipos de cáncer son linfomas de todos los tipos y leucemias agudas linfoblásticas y mieloblásticas, aunque también presentan tumores sólidos como neuroblastomas y sarcomas [41, 43].

Síndrome de Bloom (SB)

El síndrome de Bloom es una enfermedad rara, para la cual no hay una incidencia establecida, tiene un patrón de herencia autosómica recesiva y se sabe que hay una alta incidencia en poblaciones endogámicas en donde la frecuencia de portadores se ha estimado tan alta como 1% [44]. El SB se debe a la mutación bialélica del gen *BLM*, localizado en 15q26.1. La mutación más común se encuentra en la población judía Ashkenazi, es una delección de seis nucleótidos en la posición 2281 y su reemplazo con otros siete nucleótidos. La proteína BLM es una helicasa de la familia RecQ, normalmente funciona restableciendo las horquillas de replicación dañadas y cooperando con la reparación de DSBs. Su función específica es realizar el desenrollamiento de la doble hélice, de manera que es una proteína multifuncional que interviene en el mantenimiento de los telómeros, la reparación por HR (Figura 7), tanto en las células somáticas, en donde coopera en la reparación de DSBs inducidos, así como programados para la formación de inmunoglobulinas. En las células germinales también es esencial para realizar la recombinación meiótica ya que cuando dos moléculas de DNA recombinan, se mantienen unidas por estructuras llamadas de Holliday, que se deben resolver para que pueda continuar el proceso de la recombinación. BLM tiene dos sitios de fosforilación, T99 and T122, la primera

relacionada con la supresión de intercambios de cromátidas hermanas (ICHs) y la segunda que impide que se formen alteraciones cromosómicas tipo figuras radiales [45], por lo que la falla de estas modificaciones tiene como consecuencia alteraciones cromosómicas.

A nivel celular, los pacientes con SB presentan un incremento de aberraciones cromosómicas espontáneas. Entre las más comunes son figuras radiales, que resultan por la falla en la reparación del DNA, dando lugar a la unión anormal de las cromátidas de cromosomas homólogos o no homólogos que forman estructuras de cuatro brazos llamados tetraradios (Figura 11), otra alteración cromosómica que caracteriza a SB, es un gran incremento de aproximadamente 10 veces más ICHs que las células normales (Figura 12), éstas características celulares se aprovechan para hacer el diagnóstico citogenético de SB [44, 45]



Figura 11. Figura de intercambio de cromátidas no hermanas. Se observa una figura radial tipo tetrarradio (Flecha), característica de las células de pacientes con Síndrome de Bloom.

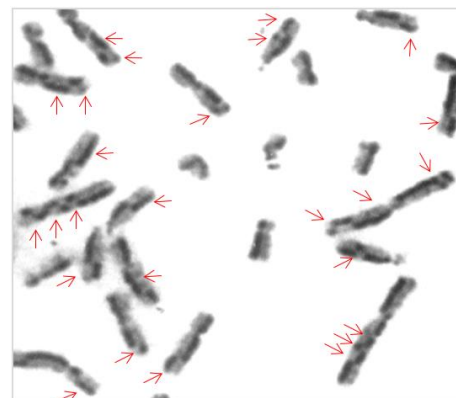


Figura 12. Imagen parcial de una célula de un paciente con Síndrome de Bloom. Se observan cromosomas con un exceso de intercambio de cromátidas hermanas o ICHs (flechas), resultado de la mutación en BLM. Una célula normal presenta entre 1-5 ICHs en total.

A nivel clínico, el SB la característica principal es una falla generalizada del crecimiento, que inicia desde *in útero*, continúa después del nacimiento y se manifiesta como un enanismo proporcionado, aunque el cráneo suele ser más pequeño y estrecho, con pabellones auriculares grandes; presentan inmunodeficiencia y una voz aguda. Tienen hipersensibilidad a la luz solar, por lo cual pueden presentar eritema telangiectásico, en piel también presentan áreas hipo e hiperpigmentadas (Figura 13), [1, 41, 44, 45]. Al igual que los otros síndromes de inestabilidad cromosómica, los pacientes con SB tienen un riesgo de desarrollar cáncer hasta 300 veces mayor que la población general, las neoplasias más comunes en ellos son la leucemia, linfoma y tumores sólidos como cáncer colorrectal, de laringe, mama y piel [44].



Figura 13. Paciente con síndrome de Bloom. Se observan las telangiectasias oculares (también presentes en Ataxia Telangiectasia) y el eritema por hipersensibilidad a la luz solar.

Anemia de Fanconi (AF)

La anemia de Fanconi es el síndrome de falla medular hereditario más frecuente, con una incidencia aproximada de 1-5 por millón de nacidos vivos, y una frecuencia de portadores de 1 en 300, aunque por tener un patrón de herencia primordialmente autosómico recesivo, en poblaciones endogámicas la frecuencia de portadores puede ser hasta de 1 en 77 [46]. La AF tiene alta heterogeneidad genética y la enfermedad se presenta cuando existe una mutación en cualquiera de los 22 genes *FANC* identificados hasta ahora: *FANCA*, *FANCB*, *FANCC*, *FANCD1*, *FANCD2*, *FANCE*, *FANCF*, *FANCG*, *FANCI*, *FANCJ*, *FANCL*, *FANCM*, *FANCN*, *FANCO*, *FANCP*, *FANCQ*, *FANCR*, *FANCS*, *FANCT*, *FAUNCU*, *FANCV*, *FANCW* [35, 36], 20 de ellos tienen un patrón de herencia autosómico recesivo, *FANCB* recesiva ligada al X y *FANCR* autosómica dominante. Las proteínas que codifican se integran en una vía llamada FA/BRCA que opera primordialmente en fase S del

ciclo celular y se encarga de la identificación y reparación de los ICLs (Figura 8).

Las mutaciones en el gen *FANCA* son las más frecuentes, seguidas por las de *FANCC* y *FANCG* y juntos suman cerca del 90% de los pacientes y el resto se distribuyen entre los otros 19 genes [34]. Las mutaciones más frecuentes son las deleciones de *FANCA*, que representan el 30% y el resto son mutaciones prácticamente privadas, ya que hay muy pocas mutaciones fundadoras [1, 34].

Cuando alguno de los genes *FANC* está mutado, la reparación por HR que es libre de error no puede realizarse, por lo que en los pacientes AF se canalizan las lesiones en el DNA hacia la vía NHEJ, que es propensa a introducir errores en el genoma.

A nivel celular, se pueden identificar cuatro características principales: 1) Arresto en la fase G2 del ciclo celular, 2) Alta frecuencia de aberraciones cromosómicas espontáneas e inducidas por agentes alquilantes como el diepoxibutano y la mitomicina C, 3) hipersensibles a especies reactivas de oxígeno y 4) son proapoptóticas. El fenotipo celular es extremadamente constante, por lo que se utiliza su hipersensibilidad a los agentes alquilantes para realizar el diagnóstico de certeza de AF, mediante la prueba de fragilidad cromosómica inducida por mitomicina C o diepoxibutano, con lo cual se induce una frecuencia de aberraciones tipo rupturas cromatídicas, que representan las lesiones que llegaron a DSBs y ya no se repararon, y por otro lado hay una alta cantidad de figuras radiales, resultado de la reparación propensa a error que liga dos cromosomas diferentes (Figura 14), el incremento en aberraciones cromosómicas es de 10 o más veces con respecto a las células normales [41, 46-48].

A nivel clínico, el fenotipo es altamente variable, los pacientes con AF tienen manifestaciones que pueden identificarse en diferentes momentos de la vida:

- 1) Malformaciones congénitas, presentes en 75% de los pacientes [1, 41, 47, 48], son detectables desde el nacimiento (algunas prenatalmente), y comprenden por orden de frecuencia: alteraciones esqueléticas principalmente las que afectan el eje radial, alteraciones de pigmentación en la piel como hiperpigmentación y manchas café con leche, talla baja, hipoplasia o ausencia de radio, hipoplasia, ausencia o duplicación de pulgares, hipoplasia de eminencia tenar; malformaciones renales, microcefalia, cara triangular. Estas malformaciones pueden sobrelaparse con las que definen la asociación

VACTERL-H, acrónimo de (en inglés: *Vertebral anomalies, Anal atresia, Congenital heart disease, Tracheo-esophageal fistula, Esophageal atresia, Renal, Limb anomalies, and Hydrocephalus*) hasta en 33% de los pacientes AF [49].

- 2) Falla de la médula ósea, esta manifestación se presenta en más del 90% de los pacientes y es detectable en promedio a los 7.6 años, con disminución de todos los tipos celulares sanguíneos, es decir pancitopenia; muchos de los pacientes inician con trombocitopenia, seguida de neutropenia y después falla medular completa, por lo que presentan palidez, sangrados frecuentes e infecciones de repetición [46-48].
- 3) Predisposición a cáncer, los pacientes tienen un riesgo hasta de 500 veces mayor que la población general de desarrollar neoplasias. El cáncer se presenta tempranamente, en la adolescencia pueden iniciar comúnmente con leucemia mieloide aguda y posteriormente alrededor de los 30 años, se presentan tumores sólidos de todos tipos, pero el cáncer de cabeza y cuello es sin duda uno de los más frecuentes en AF [46, 47].

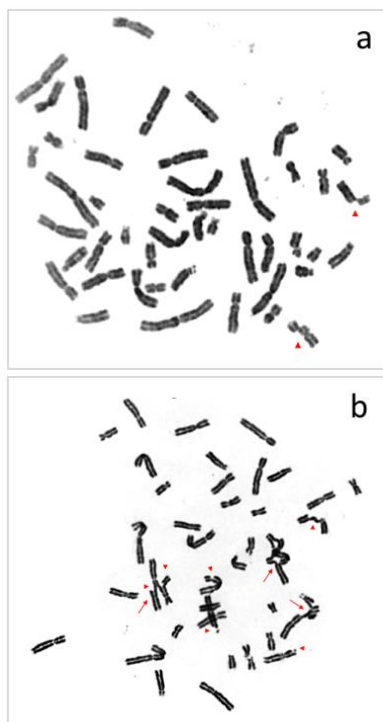


Figura 14. Aberraciones cromosómicas estructurales inducidas por un agente que produce enlaces covalentes cruzados. a) de un individuo normal, b) de un paciente AF, ambos tratados con diepoxibutano. Las puntas de flecha señalan rupturas cromatídicas, las flechas indican figuras radiales. Las figuras radiales son extremadamente raras en el individuo normal, mientras que son frecuentes en los pacientes con AF.

No existe una clara correlación entre el genotipo y el fenotipo de los pacientes AF, pero de manera general se observa que quienes portan mutaciones en genes río abajo de la vía FA/BRCA (es decir después de la función de FANCD2I ubiquitinizada), que abarca la reparación por HR, presentan una mayor incidencia de cáncer [1, 17, 47].

Finalmente, en AF también se presentan enfermedades propias de la tercera edad, tal como diabetes, menopausia precoz, dislipidemia, entre otros [1].



Figura 15. Manifestaciones clínicas en anemia de Fanconi. a) alteraciones en la pigmentación de la piel, b) Duplicación del pulgar en un recién nacido (Fotografía cortesía del Instituto Nacional de Perinatología).

Conclusiones

El contar con las apropiadas vías de reparación de diversas lesiones del DNA, mantiene el genoma íntegro a pesar de la exposición continua a agentes genotóxicos y a los millones de millones de divisiones celulares que se realizan a lo largo de la vida de un individuo.

La falla en los mecanismos de detección y reparación del daño al DNA, como hemos visto, genera un fenotipo especial que da lugar a estos síndromes y que tienen características en común como: falla en el crecimiento, malformaciones congénitas, la alta predisposición a cáncer y envejecimiento prematuro; todas ellas relacionadas con la acumulación de daño no reparado o mal reparado, que puede ser letal para la célula y generar hipoplasia o malformaciones congénitas y en caso de ser daño subletal, puede generar acumulación de lesiones y dar lugar a envejecimiento prematuro y cáncer (Figura 4).

Finalmente, para la generación de conocimiento y para la atención médica, el estudio de los individuos con síndromes de inestabilidad cromosómica es importante, ya que son modelos biológicos naturales

por los cuales se ha generado enorme cantidad de conocimiento sobre los mecanismos de reparación en humano, lo que ha permitido mejorar el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de los individuos afectados y también de una diversidad de neoplasias en las que estos genes están mutados.

Referencias

- García-de, et al., *DNA Damage as a Driver for Growth Delay: Chromosome Instability Syndromes with Intrauterine Growth Retardation*. BioMed Research International, 2017. **2017**: p. 14.
- Clancy, S. *DNA damage & repair: mechanisms for maintaining DNA integrity*. Nature Education 2008.
- Hoeijmakers, J.H.J., *MOLECULAR ORIGINS OF CANCER DNA Damage, Aging, and Cancer*. New England Journal of Medicine, 2009. **361**(15): p. 1475-1485.
- Marteijn, J.A., et al., *Understanding nucleotide excision repair and its roles in cancer and ageing*. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2014. **15**(7): p. 465-481.
- Ohashi, E., et al., *Fidelity and processivity of DNA synthesis by DNA polymerase kappa, the product of the human DINB1 gene*. Journal of Biological Chemistry, 2000. **275**(50): p. 39678-39684.
- Jackson, S.P. and J. Bartek, *The DNA-damage response in human biology and disease*. Nature, 2009. **461**(7267): p. 1071-1078.
- Voulgaridou, G.P., et al., *DNA damage induced by endogenous aldehydes: Current state of knowledge*. Mutation Research-Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 2011. **711**(1-2): p. 13-27.
- De Bont, R. and N. van Larebeke, *Endogenous DNA damage in humans: a review of quantitative data*. Mutagenesis, 2004. **19**(3): p. 169-185.
- Cheung-Ong, K., G. Giaever, and C. Nislow, *DNA-Damaging Agents in Cancer Chemotherapy: Serendipity and Chemical Biology*. Chemistry & Biology, 2013. **20**(5): p. 648-659.
- Ciccía, A. and S.J. Elledge, *The DNA Damage Response: Making It Safe to Play with Knives*. Molecular Cell, 2010. **40**(2): p. 179-204.
- Huang, Y.L. and L. Li, *DNA crosslinking damage and cancer - a tale of friend and foe*. Translational Cancer Research, 2013. **2**(3): p. 144-154.
- Hanawalt, P.C., *Historical perspective on the DNA damage response*. DNA Repair, 2015. **36**: p. 2-7.
- Cimprich, K.A. and D. Cortez, *ATR: an essential regulator of genome integrity*. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2008. **9**(8): p. 616-627.
- Sirbu, B.M. and D. Cortez, *DNA Damage Response: Three Levels of DNA Repair Regulation*. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 2013. **5**(8).
- Rodríguez, A., et al., *Fanconi anemia cells with unrepaired DNA damage activate components of the checkpoint recovery process*. Theoretical Biology and Medical Modelling, 2015. **12**.
- Clauson, C., O.D. Scharer, and L. Niedernhofer, *Advances in Understanding the Complex Mechanisms of DNA Interstrand Cross-Link Repair*. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 2013. **5**(10).
- Ceccaldi, R., P. Sarangi, and A.D. D'Andrea, *The Fanconi anaemia pathway: new players and new functions*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2016. **advance online publication**.
- Medema, R.H. and L. Macurek, *Checkpoint recovery in cells: how a molecular understanding can help in the fight against cancer*. F1000 Biol Rep, 2011. **3**(10): p. 3.
- Halim, V.A., et al., *Comparative Phosphoproteomic Analysis of Checkpoint Recovery Identifies New Regulators of the DNA Damage Response*. Science Signaling, 2013. **6**(272).
- He, M.Y., et al., *MicroRNAs, DNA Damage Response, and Cancer Treatment*. International Journal of Molecular Sciences, 2016. **17**(12).
- Michelini, F., et al., *Damage-induced lncRNAs control the DNA damage response through interaction with DDRNAs at individual double-strand breaks*. Nature Cell Biology, 2017. **19**: p. 1400.
- Shaltiel, I.A., et al., *The same, only different - DNA damage checkpoints and their reversal throughout the cell cycle*. Journal of Cell Science, 2015. **128**(4): p. 607-620.
- Barnum, K.J. and M.J. O'Connell, *Cell Cycle Regulation by Checkpoints*. Cell Cycle Control: Mechanisms and Protocols, 2nd Edition, 2014. **1170**: p. 29-40.
- D'Andrea, A., *4 - \ DNA\ Repair Pathways and Human Cancer*. 2015: p. 47 - 66.e2.
- Thoms, K.-M.a.K.C.a.E.S., *Lessons learned from DNA repair defective syndromes*. Experimental Dermatology, 2007. **16**(6): p. 532-544.
- Kasperek, T.R. and T.C. Humphrey, *DNA double-strand break repair pathways, chromosomal rearrangements and cancer*. Seminars in Cell & Developmental Biology, 2011. **22**(8): p. 886-897.
- Tornaletti, S., D. Reines, and P.C. Hanawalt, *Structural characterization of RNA polymerase II complexes arrested by a cyclobutane pyrimidine dimer in the transcribed strand of template DNA*. Journal of Biological Chemistry, 1999. **274**(34): p. 24124-24130.
- Ranjha, L., S. Howard, and P. Cejka, *Main steps in DNA double-strand break repair: an introduction to homologous recombination and related processes*. Chromosoma, 2018.
- Walsh, C.S., *Two decades beyond BRCA1/2: Homologous recombination, hereditary cancer risk and a target for ovarian cancer therapy*. Gynecologic Oncology, 2015. **137**(2): p. 343-350.
- Liu, T. and J. Huang, *DNA End Resection: Facts and Mechanisms*. Genomics Proteomics & Bioinformatics, 2016. **14**(3): p. 126-130.
- Colavito, S., R. Prakash, and P. Sung, *Promotion and regulation of homologous recombination by DNA helicases*. Methods, 2010. **51**(3): p. 329-335.
- Liu, Y.L. and S.C. West, *Timeline - Happy Hollidays: 40th anniversary of the Holliday junction*. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2004. **5**(11): p. 937-U21.
- Pannunzio, N.R., G. Watanabe, and M.R. Lieber, *Nonhomologous DNA End Joining for Repair of DNA Double-Strand Breaks*. Journal of Biological Chemistry, 2017.
- Rodríguez, A. and A. D'Andrea, *Fanconi anemia pathway*. Current Biology, 2017. **27**(18): p. R986-R988.
- Knies, K., et al., *Biallelic mutations in the ubiquitin ligase RFD3 cause Fanconi anemia*. Journal of Clinical Investigation, 2017. **127**(8): p. 3013-3027.
- Bogliolo, M. and J. Surrallés, *Fanconi anemia: a model disease for studies on human genetics and advanced therapeutics*. Current Opinion in Genetics & Development, 2015. **33**: p. 32-40.
- Nagaraju, G., et al., *Differential regulation of short- and long-tract gene conversion between sister chromatids by Rad51C*. Molecular and Cellular Biology, 2006. **26**(21): p. 8075-8086.

Agradecimientos

CONACYT proyecto SEP-CONACYT 243102, PAPIIT, proyecto IA202615, Instituto Nacional de Pediatría, proyecto 41/2014.

38. Mitelman, F., B. Johansson, and F. Mertens, *The impact of translocations and gene fusions on cancer causation*. Nature Reviews Cancer, 2007. **7**(4): p. 233-245.
39. Han, L. and K. Yu, *Altered kinetics of nonhomologous end joining and class switch recombination in ligase IV-deficient B cells*. The Journal of Experimental Medicine, 2008. **205**(12): p. 2745-2753.
40. Ambrose, M. and R.A. Gatti, *Pathogenesis of ataxia-telangiectasia: the next generation of ATM functions*. Blood, 2013. **121**(20): p. 4036-4045.
41. Frías, S., et al., *Síndromes de Inestabilidad Genómica.*, in *Genética Médica*. 2018: Ciudad de México.
42. Teive, H.A.G., et al., *Ataxia-telangiectasia - A historical review and a proposal for a new designation: ATM syndrome*. Journal of the Neurological Sciences, 2015. **355**(1-2): p. 3-6.
43. Chrzanoska, K.H., et al., *Nijmegen breakage syndrome (NBS)*. Orphanet Journal of Rare Diseases, 2012. **7**.
44. Arora, H., et al., *Bloom syndrome*. International Journal of Dermatology, 2014. **53**(7): p. 798-802.
45. Owen, N., et al., *Bloom Syndrome Radials Are Predominantly Non-Homologous and Are Suppressed by Phosphorylated BLM*. Cytogenetic and Genome Research, 2014. **144**(4): p. 255-263.
46. García-de Teresa, B., et al., *Diagnóstico clínico y de laboratorio de la anemia de Fanconi*. 33, 2012. **1**(Acta Pediátrica de México): p. 6.
47. García de Teresa, B., A. Rodríguez, and S. Frías, *Estudio multidisciplinario del paciente con anemia de Fanconi*. Acta pediátrica de México, 2016. **37**: p. 54-59.
48. Esmer, C., et al., *DEB test for Fanconi anemia detection in patients with atypical phenotypes*. American Journal of Medical Genetics Part A, 2004. **124A**(1): p. 35-39.
49. Alter, B.P. and N. Giri, *Thinking of VACTERL-H? Rule Out Fanconi Anemia According to PHENOS*. American Journal of Medical Genetics Part A, 2016. **170**(6): p. 1520-1524.



DRA. SARA FRÍAS

Bióloga, egresada de la Facultad de Ciencias, UNAM. Maestría y Doctorado en Ciencias Biológicas, UNAM. Cuenta con un posdoctorado en el National Institute of Environmental Health/Lawrence Livermore National Laboratory,

California EEUU.

Investigadora Titular, Coordinadora de la Unidad Periférica en el Instituto Nacional de Pediatría, del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM /Investigadora en Ciencias Médicas, Laboratorio de Citogenética INP. Profesora definitiva, Biología Molecular de la Célula III, Facultad de Ciencias UNAM.

Es tutora de diversos programas de posgrado. Ha publicado 73 artículos nacionales e internacionales, 13 capítulos de libro, con más de 700 citas.

Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores nivel 2. Ha estado involucrada en la formación de más de 40 recursos humanos desde licenciatura hasta Doctorado. Sus líneas de investigación son el a) Estudio del Fenotipo clínico, celular y molecular de la Anemia de Fanconi b) Genética y Cáncer c) Origen y etiología de las aberraciones cromosómicas.