

28 DE JUNIO DE 02

Complejo intercambio génico provoca una forma de linfoma

Unos investigadores han identificado cómo se desarrolla una forma de linfoma cuando grandes piezas de cromosomas intercambian localizaciones. Sus observaciones sobre cómo los reordenamientos cromosómicos, o translocaciones, producen el linfoma de la célula pro-B en ratones brindan un nuevo punto de vista sobre cómo surgen los cánceres a partir de un dosaje incrementado de genes específicos o de regiones del genoma.

Los estudios son publicados en el número del 28 de junio de 2002, de la revista *Cell* por el investigador del Instituto Médico Howard Hughes (HHMI) [Frederick W. Alt](#), los investigadores asociados del HHMI Chengming Zhu y Kevin D. Mills, y sus colegas en el Hospital de Niños en Boston, en la Facultad de Medicina de Harvard, en el Centro para Investigación de la Sangre y en el Hospital Brigham and Womens.

Las leucemias y los linfomas se pueden originar cuando los cromosomas intercambian inadecuadamente el material genético. Después de que se intercambia el material genético, se quitan varios genes de su contexto natural y éstos promueven el crecimiento celular, dado que ya no se encuentran bajo el control normal. En algunos casos, translocaciones génicas más complejas (en contraste con el intercambio de un gen por otro) llevan a la amplificación de grandes regiones del genoma. Alt y sus colegas acuñaron el término complicón término que deriva de translocación compleja para describir este fenómeno.

"La clave es que estos tipos de lesiones citogenéticas se observan en muchos carcinomas humanos. Aunque existen muchas teorías sobre su origen, hasta este momento nadie ha demostrado mecanísticamente cómo podrían ocurrir."

- Frederick W. Alt

Los complicones pueden desarrollarse cuando los mecanismos de reparación de ADN de la célula funcionan incorrectamente. Cuando la reparación de ADN falla, los cromosomas rotos pueden persistir y recombinarse inadecuadamente con otros cromosomas. Esto lleva a las translocaciones cromosómicas donde genes o pedazos enteros de genoma pasan de un cromosoma a otro.

Los complicones se ven comúnmente en carcinomas humanos, en los cuales reordenamientos muy complejos hacen que dos genes que están normalmente en cromosomas distintos se amplifiquen juntos, dijo Alt. Sin embargo, hasta el día de la fecha, no ha habido estudios mecanísticos que hayan demostrado cómo se origina el complicón.

Alt y sus colegas, quienes han estado estudiando un tipo específico de proceso de reparación de ADN, llamado unión de extremos no homólogos (NHEJ, por sus siglas en inglés), decidieron estudiar si las proteínas de reparación de ADN estaban implicadas en la formación del complicón. Comenzaron por anular un mecanismo importante de reparación de ADN en ratones, creando ratones que carecen de una de las dos proteínas claves para NHEJ. Los ratones que carecen de NHEJ, normalmente mueren antes del nacimiento, porque el sistema celular para detectar niveles altos de daño en el ADN activa la muerte celular programada, también llamada apoptosis. Para mantener a los ratones vivos por mayor tiempo, los investigadores también anularon al gen para p53, que es un componente importante del sistema de detección de daño en el ADN.

Cuando eliminamos la proteína p53, los ratones sobrevivieron muy bien hasta después del nacimiento, dijo Alt. Sin embargo, después de sólo algunas semanas, comenzaron a desarrollar linfomas de la célula pro-B, a causa de los cuales morían. Los linfomas de la célula pro-B son tumores que se presentan cuando las células del sistema inmune, llamadas células B, proliferan en una etapa inmadura del desarrollo.

Los investigadores encontraron que los linfomas en estos ratones presentaban amplificaciones de regiones genómicas, o loci, que contienen dos genes *c-myc* e *IgH* que están involucrados en el desarrollo de la célula B. Estas amplificaciones se presentan, de alguna manera, a partir de los complicones que se producen cuando los cromosomas 12 y 15 de ratón experimentan translocaciones.

Para comprender cómo los complicones daban lugar a estos linfomas, los científicos decidieron estudiar si los desplazamientos dependían de una enzima que cliva al ADN, llamada RAG. Esta enzima es crítica para el ensamblaje y recombinación de genes durante el desarrollo normal de las células B.

Pensábamos que el requerimiento de RAG era probable, dado que sabíamos que el locus del gen *IgH* era blanco de ataque de RAG, dijo Alt. Además, se ha propuesto por mucho tiempo que las fragmentaciones cromosómicas inducidas por RAG pueden conducir a translocaciones que causan amplificaciones en otros tipos de tumores.

Los investigadores demostraron que RAG es requerida para la formación del complicón, haciendo ratones triple knock-out que carecían de RAG, p53 y XRCC4, proteína involucrada en la reparación del ADN. Los ratones triple knock-out no desarrollaron linfomas. Además, los investigadores aprendieron que las roturas cromosómicas involucradas en los linfomas tenían lugar en la región en la que la enzima RAG fragmentaría normalmente al ADN.

En un conjunto de experimentos claves, los investigadores utilizaron una técnica llamada cariotipo espectral para analizar detalladamente las fragmentaciones y reordenamientos cromosómicos en los linfomas. Básicamente, esta técnica rastrea los reordenamientos cromosómicos pintando cromosomas individuales con sondas fluorescentes dirigidas a secuencias específicas de ADN, dijo Alt. Si se pintan los distintos cromosomas con colores diferentes, se puede deducir de dónde provienen los reordenamientos.

Los análisis revelaron que todos los tumores presentaban una translocación compleja complicón que involucraba regiones específicas de los cromosomas 12 y 15 que se introducían en un tercer cromosoma. Encontramos que los genes *c-myc* amplificados, así como partes del locus de *IgH*, estaban en otro lugar, dijo Alt. Estaban en otro cromosoma que a menudo sólo contiene pedazos de los cromosomas 12 y 15 unidos. Fue una sorpresa, porque cuando detectamos originalmente tal translocación entre los dos cromosomas, vimos que se asemejaba a la del linfoma de Burkitt que involucra a los equivalentes humanos de 12 y 15, así que pensamos que allí estaría la acción; pero no estaba.

Además, dijo Alt, las roturas cromosómicas que causaban la amplificación de los genes no se encontraron en una localización donde se podría esperar que desencadenen la activación de *c-myc*. Fue sorprendente que cada gen *c-myc* que descubrimos estaba amplificado se ubicaba lejos del lugar de fragmentación, en lugar de estar pegado a él, como se encuentra en el linfoma de Burkitt. La fragmentación adyacente comúnmente daña la región reguladora que se encuentra adelante del gen, activándolo, explicó Alt. El mecanismo que hemos descubierto activa a *c-myc* produciendo la amplificación de la región del cromosoma en la cual reside, dijo.

De hecho, Alt y sus colegas demostraron que el mecanismo de amplificación que produce los complicones en los linfomas pro-B es un ciclo entre fragmentación y fusión, similar al propuesto por Barbara McClintock en 1941 para explicar patrones inusuales de herencia en las plantas de maíz que estudiaba.

El análisis que los científicos realizaron de las uniones entre los cromosomas reordenados reveló que no estaban unidos por las vías normales de reparación de ADN. Los investigadores ya habían eliminado la vía de reparación NHEJ en los ratones mutantes. Además, las uniones que producen los complices no utilizaban la vía de recombinación homóloga de ADN, que busca hebras complementarias en los dos extremos de ADN rotos. Esta vía de reparación utiliza a las hebras complementarias como apoyo para efectuar las uniones.

Cuando observamos la región de estas uniones, no vimos evidencia de grandes homologías, dijo Alt. En cambio, los complices usaban otra vía poco comprendida que utiliza microhomologías de secuencias muy cortas de ADN. Este descubrimiento nos dice que debemos comenzar a centrarnos en esta vía, dado que claramente puede catalizar estos tipos de eventos de translocaciones transcromosómicas. El investigador del HHMI David Roth y sus colegas en la Facultad de Medicina Baylor descubrieron la vía de unión de los extremos basada en microhomologías.

Los descubrimientos realizados por Alt y sus colegas deberían llevarnos hacia una mejor comprensión de cómo las deficiencias en la reparación de ADN y en el mecanismo celular de detección de daño en el ADN pueden producir complices causantes de tumores. La clave es que estos tipos de lesiones citogenéticas se observan en muchos carcinomas humanos, dijo Alt. Aunque existen muchas teorías sobre su origen, hasta este momento nadie ha demostrado mecánicamente cómo podrían ocurrir.