

Mauricio Lema

Nombre del profesor: Luis Blanco

Título del curso: Master Oncología Molecular - CNIO - 2012 - 2014

Fecha: 11.09.2012

MECANISMOS DE REPARACIÓN DE DNA

Nivel de dificultad: 5/5

Calidad y claridad del expositor: 4/5

Requiere de lectura adicional: Sí (Referencia: Hoeijmakers JHJ. Nature. 2001; 411: 366-374)

NOTA: Este resumen sólo incluye los mecanismos de reparación de DNA. Y dentro de estos no incluye la explicación de los MMR, ni de la Telomerasa que serán tratados aparte. Tampoco se incluye la parte de la clase sobre las variaciones de la DNA polimerasa (no he encontrado la verdadera bibliografía de esa parte).

NER (Nucleotide Excision Repair)

Dianas: Lesiones que distorsionan UNA de las hélices de DNA y que obstaculizan la transcripción y replicación normal. Por ejemplo, las lesiones inducidas por radiación UV que causan dímeros de T – denominadas Lesiones NER.

Estrategia: Escisión de varias bases alrededor de la lesión y repolimerización de la hélice dañada utilizando la otra como molde.

Reparación del daño: Sí.

Fidelidad: Alta.

Tipos: GG (Global Genome) y TCR (Transcription-coupled repair). La variedad GG se hace por un sistema de mantenimiento general antes de la replicación. El TCR ocurre cuando lesiones NER no detectadas por GG son encontradas durante la transcripción por la RNA polimerasa.

Descripción breve

GG: La XPC identifica y se une a la lesión NER (junto con la hHR23B). La TFIIH que contienen las helicasas XPB y XPD) separan las hélices, la RPA se posiciona sobre la hélice sana – protegiéndola, y la XPA certifica que hay lesión NER. Se reclutan a las endonucleasas XPG y XPF (con ERCC1) que clivan los extremos 3' y 5' del fragmento a remover, respectivamente. Se reclutan los factores de replicación normales para reconstruir la hélice utilizando como molde la hélice sana.

TCR: La RNA pol se detiene por la lesión NER. Para poder activar el NER hay que retirar la RNA pol del sitio por acción de la CSA y CSB. Se continúa la vía como en GG así: La TFIIH que contienen las helicasas XPB y XPD) separan las hélices, la RPA se posiciona sobre la hélice sana – protegiéndola, y la XPA certifica que hay lesión NER. Se reclutan a las endonucleasas XPG y XPF (con ERCC1) que clivan los extremos 3' y 5' del fragmento a remover, respectivamente. Se reclutan los factores de replicación normales para reconstruir la hélice utilizando como molde la hélice sana.

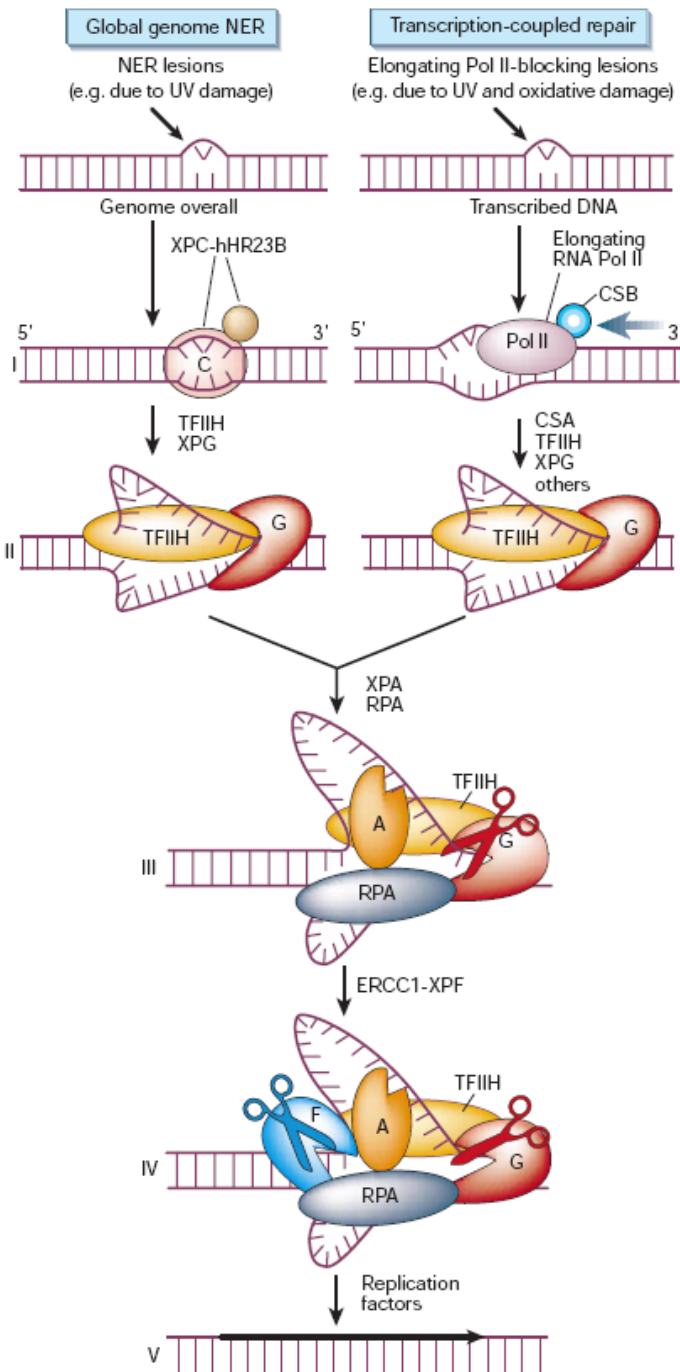
Enfermedades asociadas

Xeroderma pigmentoso (XP): Causado por defectos en las XPA a XPG, se caracteriza por excesiva sensibilidad a la luz solar con incremento marcado en el riesgo de melanoma.

Cockayne síndrome (CS): Casado por defectos en la CSA y CSB de la vía TCR. Además de la fotosensibilidad marcada, hay cambios neurodegenerativos con enanismo y desmielinización. Hay envejecimiento prematuro. No se asocia a neoplasias, porque las lesiones NER son tan severas que generan apoptosis.

La Tricotilodistrofia (TTD): similar al CS más cambios en pelo, uñas y piel. Tampoco se asocia cáncer. Es causado por mutaciones puntuales en varias de las proteínas de las vías NER TCR.

Es de anotar que mutaciones en los genes XPB y XPD (que son subunidades del factor de transcripción TFIIH) pueden dar origen a XP, CS o TTD.



BER (Base Excision Repair)

Dianas: Lesiones en una de las cadenas del DNA por ROS, metilación y desaminación que alteran la fidelidad de la secuencia. También se utiliza el BER para la corrección de la hidrólisis espontánea de las aminas creando un sitio abásico. También se utiliza para rupturas de una sólo hélice (SSB).

Estrategia: Escisión de la base anormal y repolimerización de la hélice dañada utilizando la otra como molde.

Reparación del daño: Sí.

Fidelidad: Alta.

Descripción breve

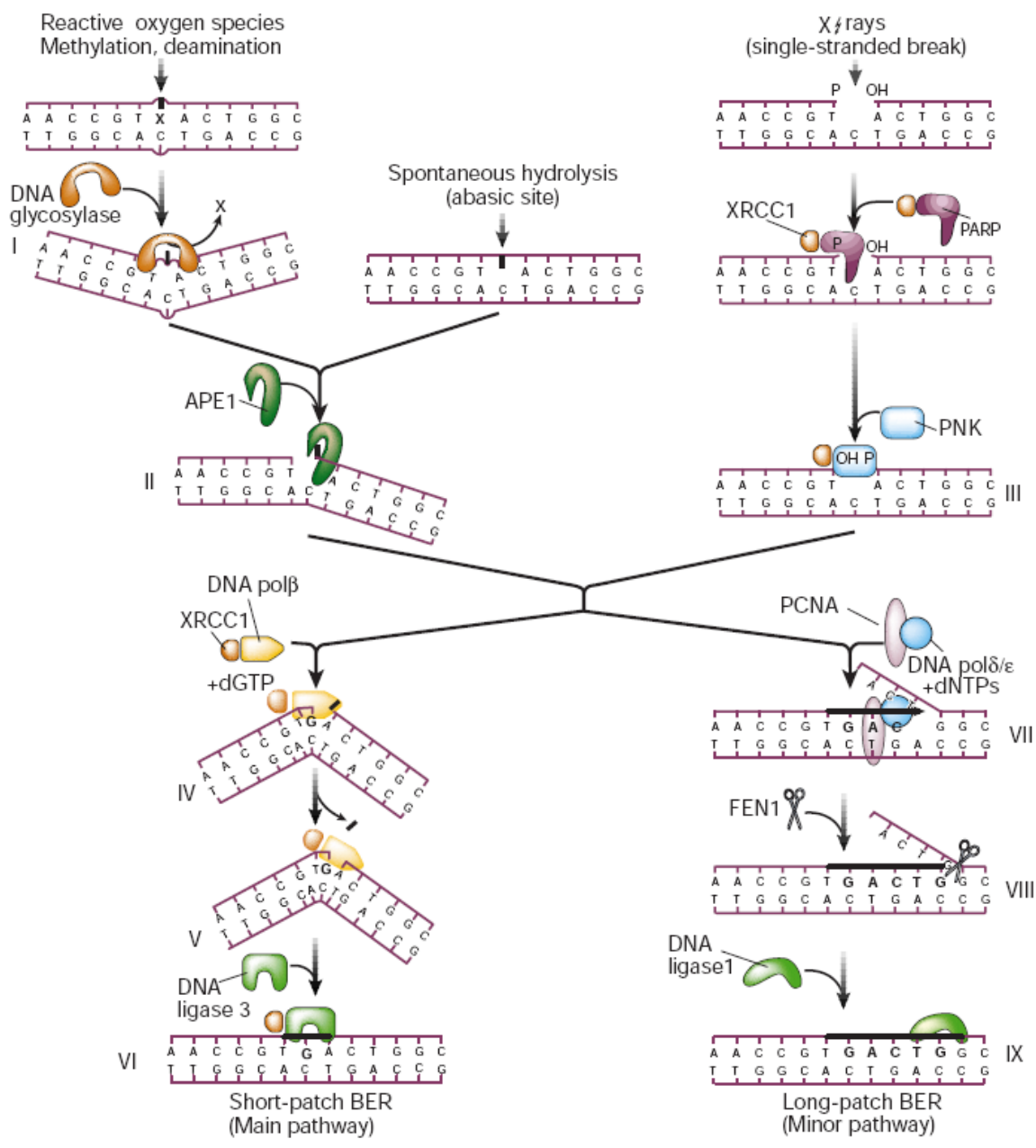
Toxicidad oxidativa (ROS, metilación, desaminación): Glicosilasas específicas se encargan de remover las bases defectuosas creando un residuo abásico. Se convierte en SSB por acción de la APE-I (una endonucleasa). Se continúa con las vías finales de reparación (ver abajo).

SSB: Se estabiliza la cadena rota con la acción de la PARP y la XRCCI y PNK (polynucleotide kinase). Se continúa con las vías finales de reparación (ver abajo).

Vía final de reparación del DNA: Hay dos vías. La primera, denominada de parche-corto es la principal: La DNA polB adiciona el nucleótido correspondiente, seguido por la remoción de la desoxirribosa sin base en el extremo 5' terminal por su actividad liasa. Posteriormente, la XRCCI sella la cadena por su actividad ligasa. La segunda forma, denominada de parche largo involucra DNA PolB, PolD/E, PCNA, FEN1 y la DNA ligasa I.

Enfermedades asociadas

Ninguna. Ciertos polimorfismos de la XRCCI predisponen a cáncer del pulmón.



DSB Repair (Double-Strand Base Repair)

Dianas: Rupturas de doble cadena (DSB) que son las resultantes de rayos X, radicales libres, sustancias químicas, así como resultantes de intentos de reparación de SSB.

Estrategia: Se utiliza como plantilla el cromosoma homólogo cuando existe (Fases S y G₂), con una fidelidad excelente. Esta forma se denomina recombinación homóloga (HR). Cuando no existe (Fase G₀, G₁), simplemente se unen los extremos rotos, con muy pobre fidelidad (alta tasa de mutación). Esta forma se denomina unión-terminal (End-Joining, EJ).

Reparación del daño: Sí.

Fidelidad: Alta con HR y baja con EJ.

Descripción breve

Los DSB generan una cascada de acciones que buscan detener el ciclo celular, y que involucran las quinasas gigantes como la ATM, ATR y DNA-PKcs. La ATM activa el p53 causando paro en G₁. Las tres quinasas gigantes fosforilan la Histona H2AX que facilita la exposición del DNA.

HR: Posteriormente, se reclutan gran cantidad de proteínas como la RAD50/MRE11/NBS1, RPA, RAD51, XRCC2, XRCC3, RAD51B, C y D, así como RAD54, BRCA1, BRCA2, cohesinas, DNA resolvasas y DNA ligasas.

EJ: Cuando no hay cromátide hermana, se procede a la unión-terminal de los extremos. Para ello también se requiere de la exposición del DNA por fosforilación de la Histona H2AX y la incorporación del complejo KU70/80 que protegen los extremos (y los pulen). Con la participación de la DNA-PKcs, la DNA ligasa 4 asociada a XRCC4 se encarga de unir los extremos. El EJ es la estrategia que utilizan los linfocitos B y T para la creación de la variabilidad y por eso también se le conoce como recombinación V(D)J

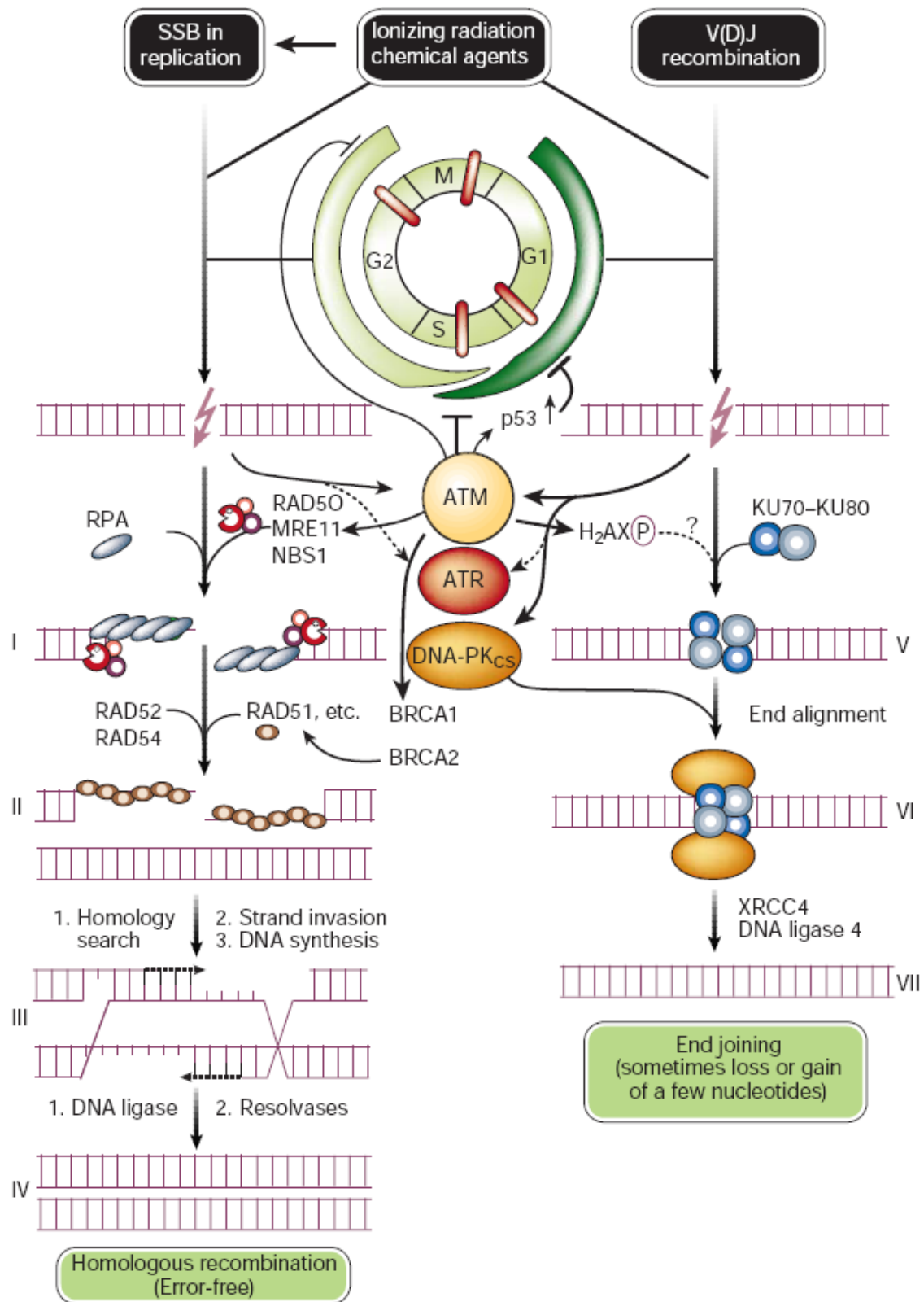
Enfermedades asociadas

Se han descrito síndromes explicados por deficiencia en ATM, MRE11 y NBS1. Se asocian a predisposición a cánceres (usualmente linfomas), inmunodeficiencia, hipersensibilidad a rayos X e inestabilidad cromosómica. En la ataxia telangiectasia se adiciona degeneración cerebelosa y telangiectasias oculares. En el síndrome NBS (Nijmegen breakage síndrome) hay microcefalia y retraso mental.

Las deficiencias de BRCA1 y BRCA2 se asocian a cáncer de mama, entre otros.

Otros trastornos con inestabilidad cromosomal como los síndromes de Werner, Bloom y Rothmund-Thomson asociados a daños en las helicasas ReQ-like pueden contener defectos en la recombinación homóloga.

Se han descrito leucemias con daño en la DNA Ligasa4.



MMR

Enfermedades asociadas

Las mutaciones en línea germinal de hMLH1 y hMSH2 explican la mitad de los HNPCC con cánceres de colon, endometrio y ovario. La pérdida de cualquiera de los dos causa inactivación del MMR. Otras anomalías como hMSH6, hPMS2 y hPMS1 han sido reportados.

MGMT - Reparación de lesiones puntuales de DNA

Diana: O6 metil guanina.

Estrategia: La MGMT se suicida retirando los grupos metilo sobre las CpG, evitando errores de replicación.

Reparación del daño: Sí.

Fidelidad: Alta

Descripción breve

Ver estrategia

Enfermedades asociadas

La expresión de MGMT disminuye la respuesta a la terapia citotóxica.

Bypass replicativo de las lesiones de DNA

Diana: Lesiones varias de DNA

Estrategia y descripción breve: Cuando las DNA pol δ/ϵ se topan con una lesión que impide la replicación de la hélice líder, se pueden activar las DNA Pol ζ - κ que se encargan de replicar secuencias complementarias, de alguna manera. Esta modalidad NO corrige el error, y es prona a la mutación. Esta forma se denomina Switch de Polimerasa. Otro mecanismo de bypass de translesión consiste en utilizar la maquinaria de recombinación de la hélice dañada con la complementaria normal como plantilla. En este caso el error se corrige y se denomina switch de plantilla.

