SEÑALIZACIÓN DEL DAÑO PRODUCIDO POR RADIACIÓN

José Manuel Sánchez Moreno

Radiología y Medicina Física
4º Curso del Grado en Medicina (2014/15)
Facultad de Medicina
Universidad de Granada

ÍNDICE

1. Respuesta al daño en el ADN

2. Proteínas sensoras

3. Proteínas traductoras

4. Cascada de señalización

5. Implicaciones clínicas

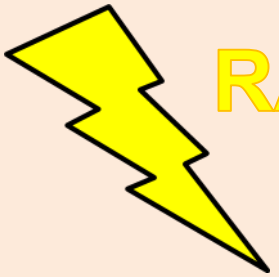
5.1. Enfermedades genéticas de herencia autosómica recesiva

5.2. Técnicas de biología molecular para visualizar y cuantificar los IRIF tras la exposición a radiación

5.3. Utilidad de los IRIF como biomarcador de radiosensibilidad

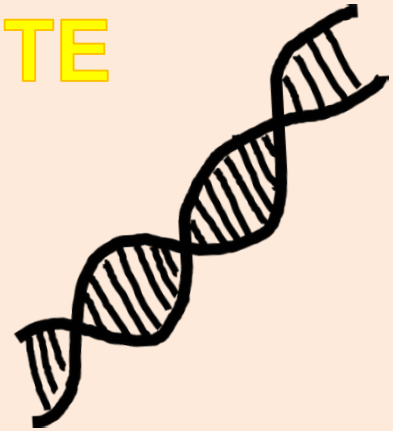
6. Referencias

1. RESPUESTA AL DAÑO (DDR)



RADIACIÓN IONIZANTE

DAÑO EN EL ADN



RESPUESTA AL DAÑO (**DDR**) MEDIANTE **RUTAS DE SEÑALIZACIÓN** Y **REPARACIÓN** EN LAS QUE INTERVIENEN

PROTEÍNAS

SENSORAS

TRADUCTORAS

EFECTORAS

(1)

2. PROTEÍNAS SENSORAS

Complejos proteicos que **se unen a los lugares donde se localiza la lesión del ADN**:

- **Supercomplejo Rad17-RFC-9-1-1**
- **Supercomplejo MNR (Mre11-Rad50-NBS1)**
- **Complejo ku70-ku80**
- **Complejo ATRIP**

(1) (2)

3. PROTEÍNAS TRADUCTORAS

Proteínas que **se unen a las complejos proteicos sensores para activarse y fosforilar a la histona H2AX:**

- **Proteína mutada de la ataxia telangiectasia (ATM)**
- **Proteína relacionada con la ataxia telangiectasia (ATR)**
- **Proteína quinasa dependiente de ADN (DNA-PKcs)**
- **Histona H2AX fosforilada (γH2AX)**

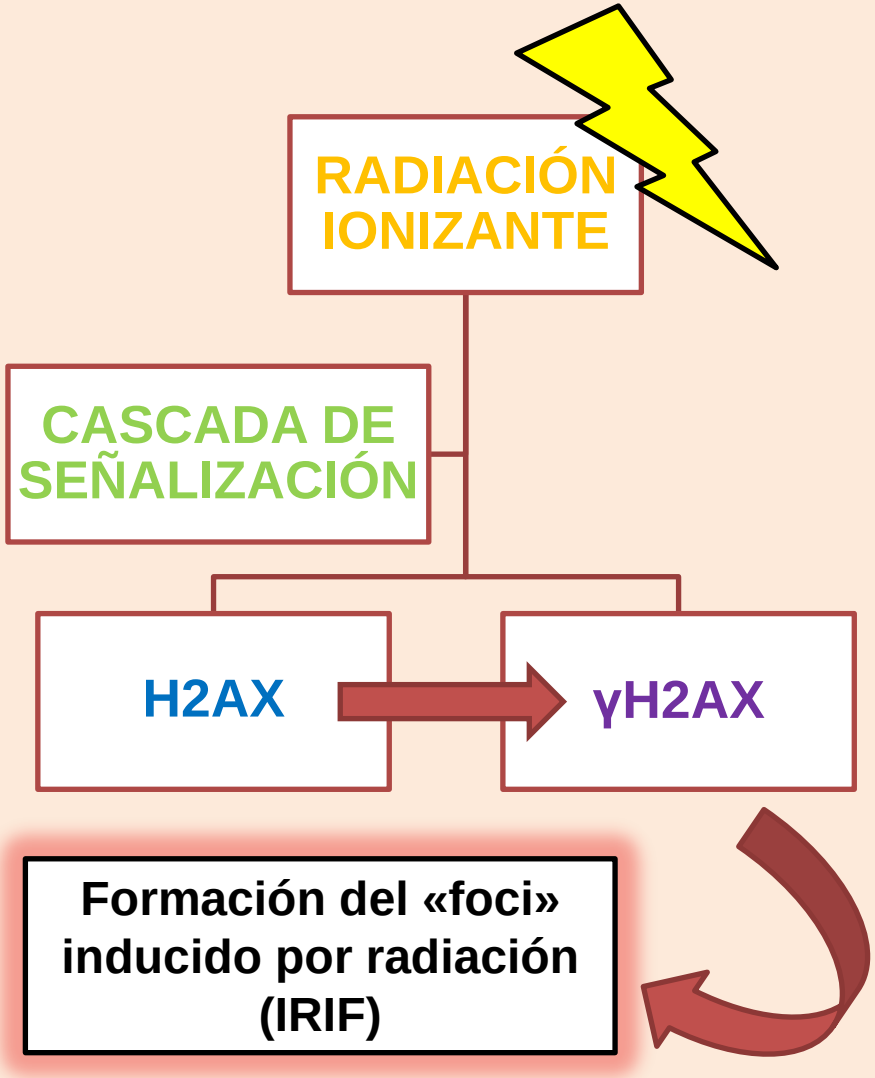
(1) (2)

HISTONA γH2AX

El 2,4 - 25 % de las histonas H2A son H2AX

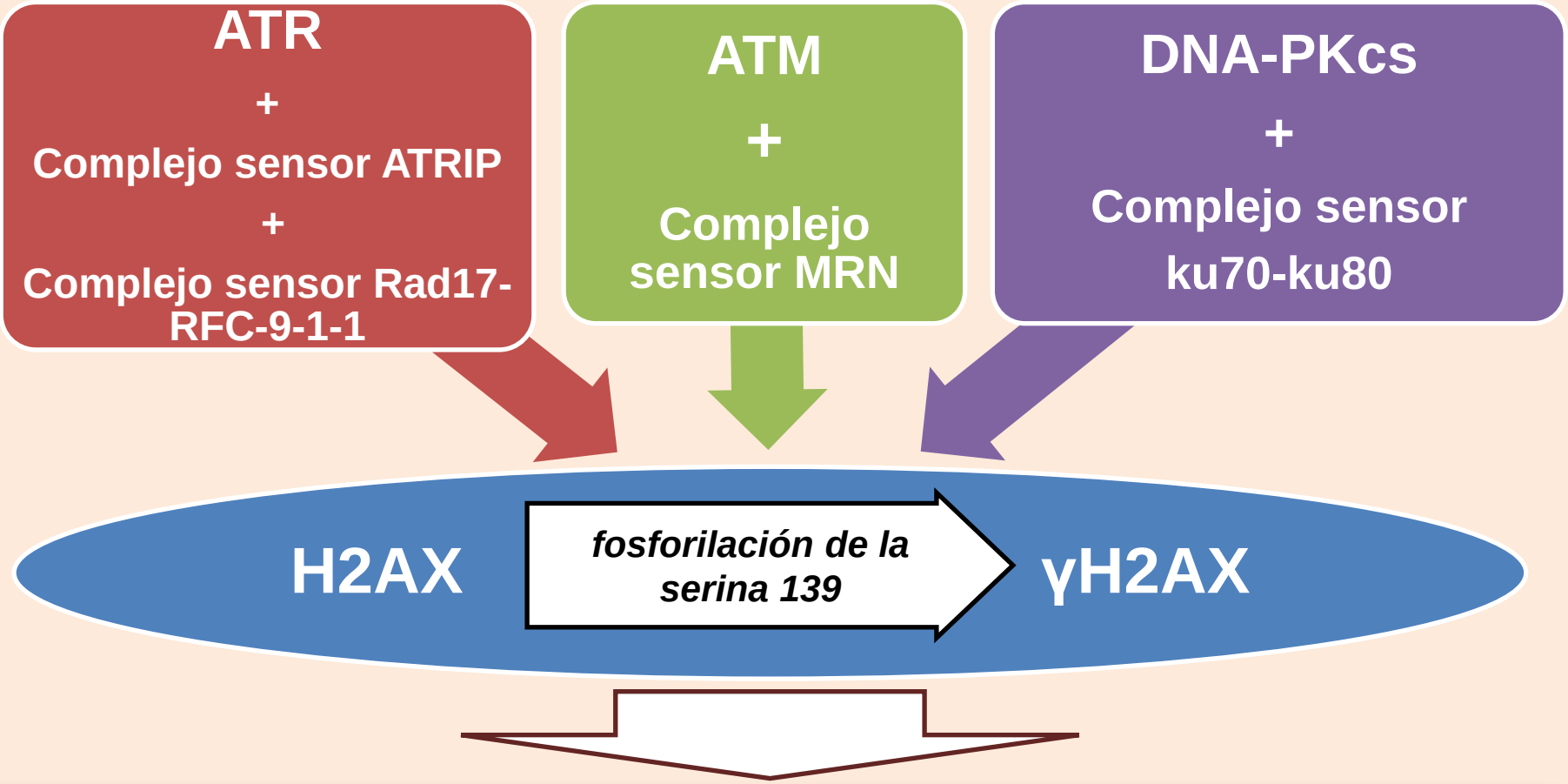
Figura 1. Representación de un nucleosoma = ADN + octámero de histonas (H2A, H2B, H3 y H4)

Fuente: RCSB Protein Data Bank



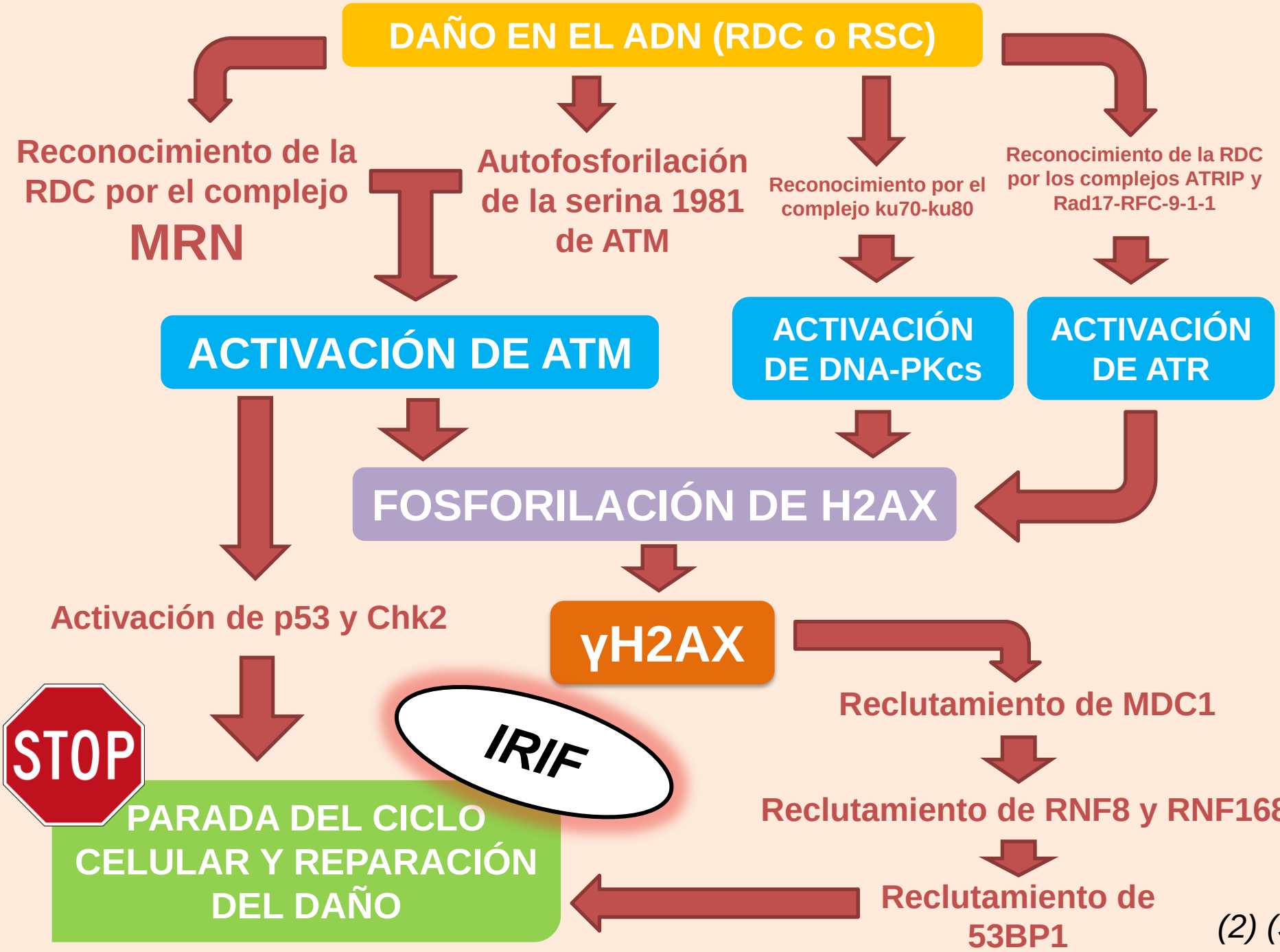
(1) (3)

4. CASCADA DE SEÑALIZACIÓN



«Foci» inducidos por radiación ionizante (IRIF)

(1) (3)


DAÑO EN EL ADN (RDC o RSC)
Reconocimiento de la RDC por el complejo MRN
Autofosforilación de la serina 1981 de ATM
Reconocimiento por el complejo ku70-ku80
Reconocimiento de la RDC por los complejos ATRIP y Rad17-RFC-9-1-1
ACTIVACIÓN DE ATM
ACTIVACIÓN DE DNA-PKcs
ACTIVACIÓN DE ATR
FOSFORILACIÓN DE H2AX
Activación de p53 y Chk2
γH2AX
IRIF
Reclutamiento de MDC1
Reclutamiento de RNF8 y RNF168
Reclutamiento de 53BP1
STOP
PARADA DEL CICLO CELULAR Y REPARACIÓN DEL DAÑO

(2) (3)

5. IMPLICACIONES CLÍNICAS

5.1. Enfermedades genéticas de herencia autosómica recesiva:

- **Síndrome de rotura de Nijmegen por mutación del gen NBS1 (8q21-q24)**
- **Síndrome de la ataxia telangiectasia (o de Louis-Barr) por mutación del gen ATM (11q22-23)**

INDIVIDUOS RADIOSENSIBLES

MAYOR SENSIBILIDAD A LA RADIACIÓN IONIZANTE

MAYOR INCIDENCIA DE CÁNCER

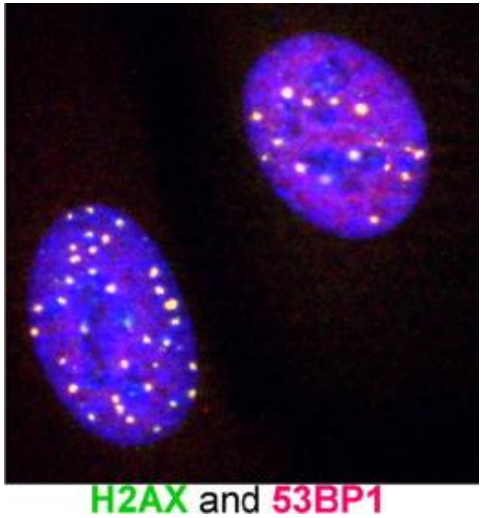
(3) (4)

5.2. Técnicas de biología molecular para visualizar y cuantificar los IRIF tras la exposición a radiación:

- **Tinción con técnicas de inmunofluorescencia con anticuerpos específicos frente a γH2AX**
- **Tinción con técnicas de inmunofluorescencia con anticuerpos específicos frente a 53BP1**
- **Citometría de flujo**
- **Western Blot**
- **Otras**

Figura 2. Células tumorales irradiadas con 10 Gy, teñidas con técnicas de inmunofluorescencia y observadas 24 horas después con microscopía confocal. Se pone de manifiesto la colocalización de γH2AX y 53BP1 en los IRIF.

Fuente: Sak A, Stuschke M. Use of γH2AX and other biomarkers of double-strand breaks during radiotherapy. Semin Radiat Oncol. 2010 Oct;20(4):223-31.



¡¡¡HAY QUE TENER EN CUENTA EL MOMENTO DEL CICLO CELULAR EN EL QUE ESTÁN LAS CÉLULAS QUE SE ANALIZAN PORQUE EN LA FASE G1 HAY MAYOR CONCENTRACIÓN DE γH2AR QUE EN LA FASE S!!!

(3) (4)

5.3. Utilidad de los IRIF como biomarcador de radiosensibilidad:

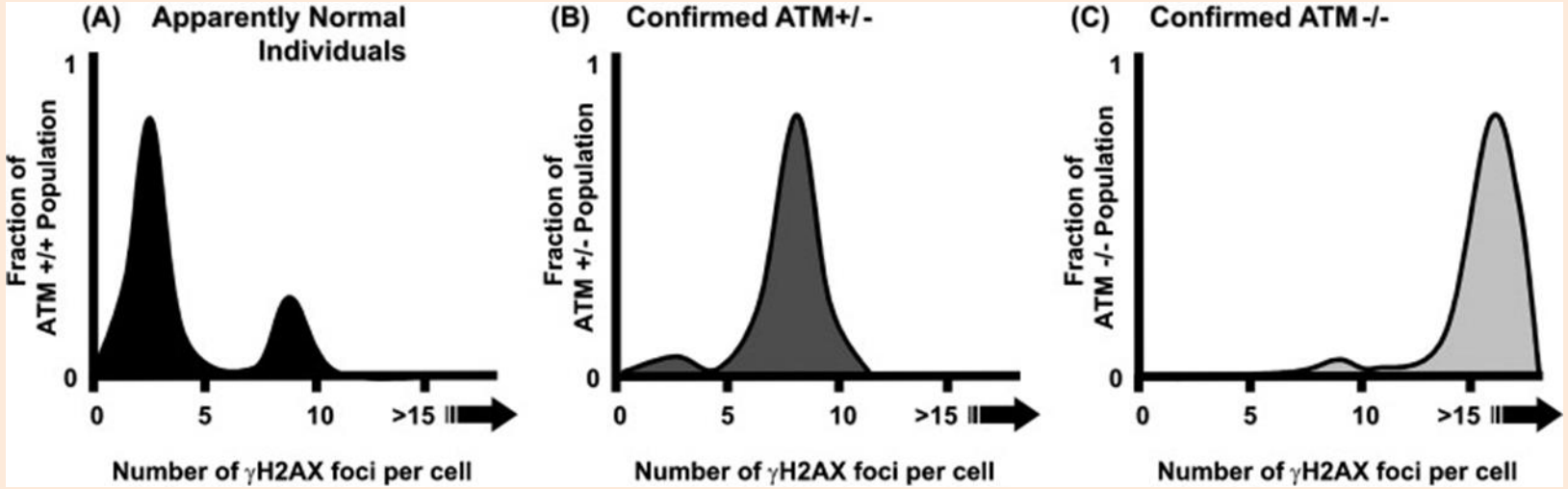
- **Conocer el daño radioinducido tras radioterapia en tejidos *in vivo* (dosimetría biológica tras radioterapia *in vivo*)**
- **Conocer el grado de reparación tras la exposición a radiación**
- **Diagnóstico de síndromes asociados con sensibilidad a la radiación**
- **Identificación de individuos con polimorfismo importante o asintomáticos con defectos en las proteínas que intervienen en la respuesta al daño por radiación**
- **Identificación de individuos heterocigotos para las proteínas que intervienen en la respuesta al daño por radiación o con polimorfismo leve**

EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE FÁRMACOS RADIOSENSIBILIZADORES Y RADIOPROTECTORES

OPTIMIZACIÓN DE LA RADIOTERAPIA EN CADA PACIENTE

(3) (4)

Figura 3. Comparación del número de foci γH2AX tras irradiación crónica a dosis bajas en poblaciones con diferente grado de expresión de ATM.



Fuente: Goodarzi AA, Jeggo P. Irradiation induced foci (IRIF) as a biomarker for radiosensitivity. Mutat Res. 2012 Aug 1;736(1-2):39-47.

Figura 4. Relación lineal entre la intensidad de γH2AX y la dosis de radiación (Gy) medida por citometría de flujo.

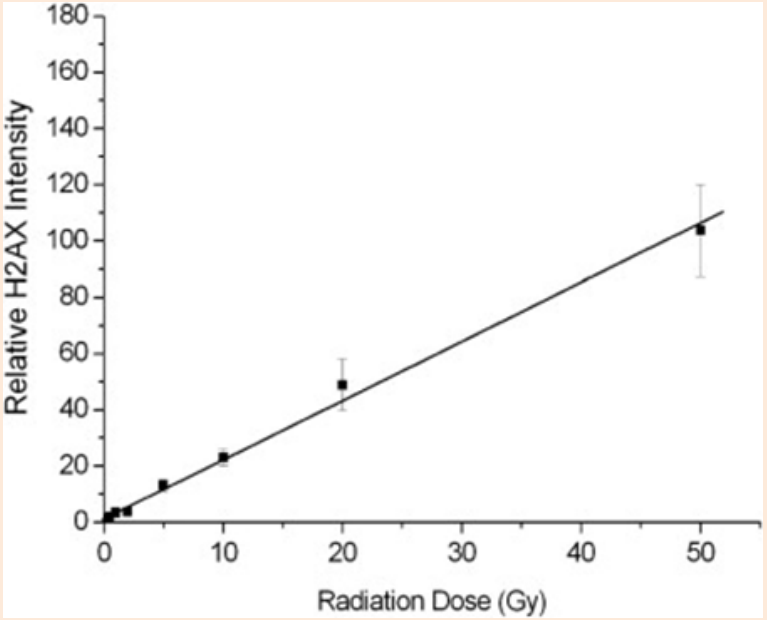
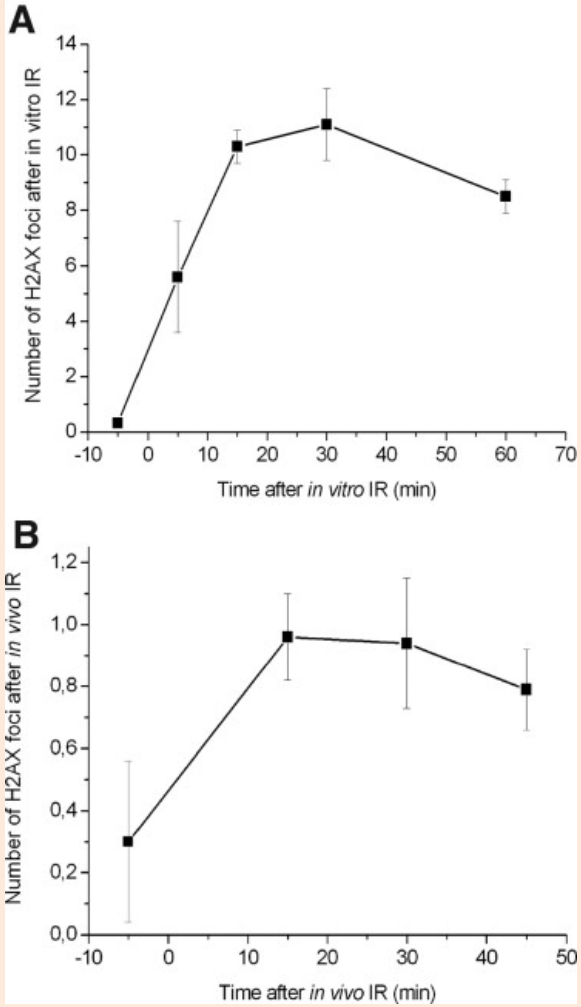


Figura 5. Comparación del número de foci γH2AX en linfocitos antes y después de ser sometidos a irradiación *in vitro* e *in vivo*.



Fuente: Sak A, Stuschke M. Use of γH2AX and other biomarkers of double-strand breaks during radiotherapy. Semin Radiat Oncol. 2010 Oct;20(4):223-31.

6. REFERENCIAS

(1) *Lara P, Bordón E, Góes F. Generalidades de las Bases Moleculares de la Radiación. Aplicaciones Clínicas. Biocancer Research Journal. 2007 Jan;4. Disponible en: http://www.biocancer.com/journal/184/generalidades-de-las-bases-moleculares-de-la-radicacion-aplicaciones-clinicas*

(2) *Uziel T, Lerenthal Y, Moyal L et al. Requirement of the MRN complex for ATM activation by DNA damage. EMBO J. 2003 Oct 15;22(20):5612-21. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC213795/*

(3) *Goodarzi AA, Jeggo P. Irradiation induced foci (IRIF) as a biomarker for radiosensitivity. Mutat Res. 2012 Aug 1;736(1-2):39-47. Disponible en: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0027510711001412*

(4) *Sak A, Stuschke M. Use of γH2AX and other biomarkers of double-strand breaks during radiotherapy. Semin Radiat Oncol. 2010 Oct;20(4):223-31. Disponible en: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S105342961000038X*

**NOTA: cada diapositiva esta referenciada en la esquina inferior derecha. Las imágenes utilizadas están libres de derechos o se cita la fuente junto a la imagen (en ningún caso se supera el máximo de 4 referencias en el conjunto de trabajo aun contabilizando las referencias de las imágenes).*