

Síndromes de inestabilidad cromosómica asociados con inmunodeficiencia: Aspectos citogenéticos de importancia en el diagnóstico

Q.F.B. Ma. del Pilar Navarrete Meneses,* Dra. Patricia Pérez Vera,*
Biol. Roberto Cruz Alcívar*

RESUMEN

Los síndromes de inestabilidad cromosómica son causados por fallas en la reparación del ADN y en la respuesta ante daño. Estas enfermedades pertenecen al grupo de inmunodeficiencias primarias asociadas a síndromes bien definidos, debido a que presentan alteraciones en el sistema inmunitario. Adicionalmente muestran alteraciones en la estructura y comportamiento de los cromosomas, por lo que su identificación requiere métodos citogenéticos. El diagnóstico de estos desórdenes representa un reto ya que involucra la participación de especialistas tanto en Inmunología como en Genética. En este trabajo se hace una revisión de los síndromes: Ataxia Telangiectasia, Nijmegen, Bloom e ICF, enfatizando en los aspectos citogenéticos, a fin de ofrecer información sobre las bases del diagnóstico de estas enfermedades.

Palabras clave: Diagnóstico citogenético, Síndromes de inestabilidad cromosómica.

ABSTRACT

Chromosomal instability syndromes are caused by alterations in DNA repair and damage response. These diseases belong to the group of well-defined syndrome associated primary immunodeficiencies because they have immune system failure. Additionally, they present abnormalities in the chromosome structure and behavior, which have to be evidenced by cytogenetic methods. The diagnosis of these disorders is a challenge, since it involves the participation of specialists in Immunology and Genetics. In this paper Ataxia Telangiectasia, Nijmegen, Bloom and ICF Syndromes are reviewed, focusing on the cytogenetic basis of the diagnosis.

Key words: Cytogenetic diagnosis; Chromosomal instability syndromes.

I. SÍNDROMES DE INESTABILIDAD CROMOSÓMICA ASOCIADOS CON INMUNODEFICIENCIA

Las inmunodeficiencias primarias (IP) son un grupo heterogéneo de enfermedades hereditarias caracterizadas por alteraciones en el desarrollo y función del sistema

inmune. Estos desórdenes comparten manifestaciones clínicas como infecciones recurrentes, inflamación crónica y/o autoinmunidad. El diagnóstico de estas entidades representa un reto para el médico tratante.¹⁻³

En particular, las IP asociadas a síndromes genéticos son desórdenes en los que se ven afectados otros

* Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Instituto Nacional de Pediatría.

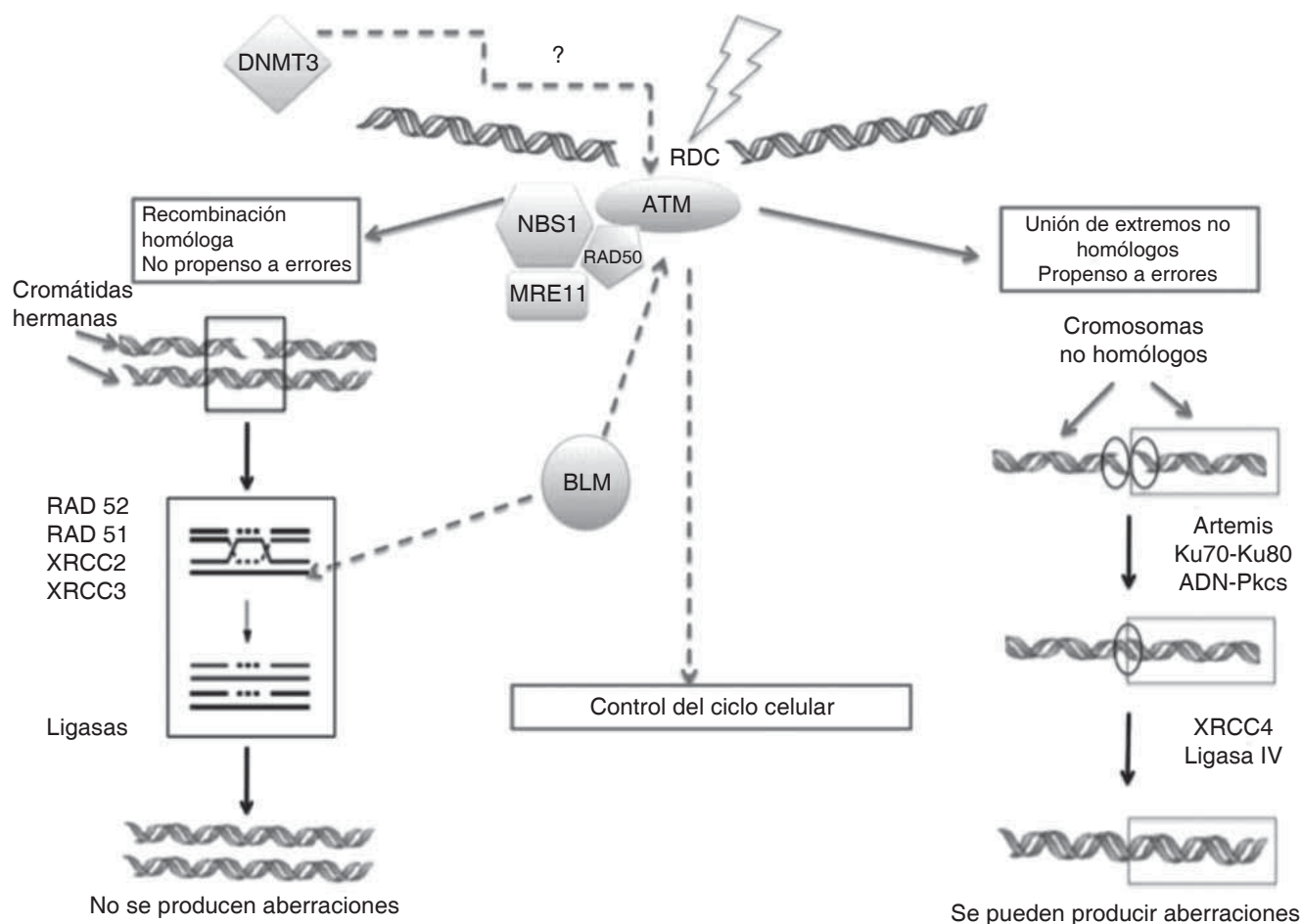


Figura 1. Reparación de rupturas de doble cadena (RDC) a través de dos mecanismos, la recombinación homóloga (RH) y la unión de extremos no homólogos (UENH). También se muestra la participación de las proteínas ATM, NBS1, BLM y DNMT3 en este proceso.

sistemas además del inmunitario y pueden ser resultado de alteraciones monogénicas, alteraciones metabólicas, aberraciones cromosómicas, o bien, tener una base genética aún no conocida.^{4,5} Dentro de este grupo se encuentran los síndromes con inestabilidad cromosómica o asociados con defectos en la respuesta ante daño y reparación del ADN; esta característica condiciona que los pacientes presenten aberraciones cromosómicas espontáneas e hipersensibilidad a la radiación, lo cual puede ser detectado mediante técnicas citogenéticas. Adicionalmente, presentan susceptibilidad a desarrollar cáncer e inmunodeficiencia. Dentro de este grupo de enfermedades se distinguen la ataxia telangiectasia (A-T), síndrome de Nijmegen (NBS), síndrome de Bloom (BLM) y el síndrome de inmunodeficiencia, inestabilidad centromérica y anomalías faciales (ICF).⁴⁻⁶

El diagnóstico de estas entidades requiere de la interacción multidisciplinaria de especialistas tanto en el

área de Inmunología como de Genética, para ofrecer un seguimiento y tratamiento óptimos.^{6,7} En esta revisión se abordarán las bases genéticas de estas enfermedades, con énfasis en los aspectos citogenéticos específicos que son importantes para su diagnóstico.

II. RESPUESTA ANTE DAÑO Y REPARACIÓN DEL ADN

La reparación del ADN comprende los mecanismos de respuesta ante daño que tienen como objetivo mantener la estabilidad genómica. El daño al ADN puede resultar de la exposición a agentes exógenos (radiación y compuestos químicos), así como a agentes endógenos (productos intermediarios del metabolismo); adicionalmente puede ocurrir daño durante el proceso de replicación o de manera espontánea. El tipo de lesiones que se generan es muy amplio. Sin embargo, se pueden agrupar

en: rupturas en las hebras de ADN (sencillas o dobles), formación de sitios abásicos, modificación de bases, formación de dímeros y de enlaces cruzados.^{8,9}

La célula ha desarrollado distintos mecanismos de reparación dependiendo del tipo de daño que presente. Se requiere ejecutar al menos tres pasos para la reparación de rupturas de doble cadena (RDC): 1) detección del daño, 2) control del ciclo celular y de programas transcripcionales de respuesta a daño y 3) catálisis de la reparación del daño.¹⁰ Existen dos mecanismos principales de reparación de RDC que se diferencian tanto en el proceso como en los requerimientos de secuencias homólogas de ADN. Uno de ellos es la unión de extremos no homólogos (UENH), que consiste en la reunión de dos extremos de las RDC a través de un proceso independiente de homología de las secuencias, en consecuencia, este mecanismo está sujeto a error y puede producir aberraciones (*Figura 1*). En contraste, la recombinación homóloga (RH) repara usando secuencias homólogas, principalmente provenientes de la cromátida hermana del mismo cromosoma alterado y en menor grado del cromosoma homólogo; por esta razón este mecanismo es de alta fidelidad y no conlleva errores. La UENH predomina durante la fase G1 a S temprana; en tanto la RH ocurre en S tardía hacia G2, por la disponibilidad de un templado idóneo que es la cromátida hermana. En el proceso de UENH participan principalmente las proteínas Ku70, Ku80, ADN-PKcs, XRCC4 y ADN ligasa IV; en contraste, en la RH participan proteínas como Rad51, Rad52, Rad54, XRCC2 y XRCC3.¹¹⁻¹⁴

Por otro lado, la respuesta ante daño y reparación del ADN tiene una participación fundamental no sólo frente a agentes exógenos, sino también ante fenómenos endógenos, como los que ocurren en el sistema inmunitario para generar variabilidad celular. La respuesta inmunitaria depende de la habilidad del organismo de reconocer una amplia gama de antígenos ajenos, para lo cual requiere generar un vasto repertorio de células genéticamente diversas con receptores capaces de reconocer antígenos específicos. El organismo es capaz de lograr esto a través de diferentes procesos, el mejor comprendido es el de recombinación de los segmentos variable (V), diverso (D) y de unión (J). Este proceso implica la introducción de RDC en sitios específicos que posteriormente son reunidos y rearrreglados mediante la maquinaria de UENH. Adicionalmente, el mecanismo de cambio de isotipo se cree que involucra tanto RH como UENH.^{6,12,15-18}

Ya que los mecanismos encargados de crear variabilidad, requieren de la maquinaria que opera en respuesta ante daño y reparación del ADN, cualquier defecto a este nivel puede conferir anomalías en el mantenimiento de la integridad genómica que conduce a inestabilidad cromosómica, así como alteraciones en el sistema inmunitario que producen inmunodeficiencia.^{5-7,12}

Como ya se ha mencionado, los síndromes con defectos en la respuesta ante daño y reparación del ADN presentan características en común, una de las más importantes y determinantes en el diagnóstico es el comportamiento anormal de los cromosomas. Por esta razón es importante considerar y reconocer el papel de la citogenética, que es la herramienta que permite analizar los defectos cromosómicos característicos en cada uno de estos síndromes.

III. ASPECTOS CITOGENÉTICOS

Los métodos citogenéticos permiten el análisis de la estructura y comportamiento de los cromosomas. Dentro del núcleo de cada célula el material genético (ADN) se encuentra super-enrollado y conjugado con varias proteínas formando estructuras compactas, los cromosomas. Éstos son visibles como estructuras separadas durante la metafase de la mitosis. En esta etapa los cromosomas se encuentran altamente condensados y consisten de dos cromátidas hermanas idénticas que equivalen a dos copias iguales del material genético, se producen durante la fase de síntesis del ciclo celular y permanecen estrechamente unidas mediante el centrómero (*Figura 2*). Al final de la división, las cromátidas hermanas se separan y cada una es llevada a polos opuestos de la célula mediante un sistema de microtúbulos llamado huso mitótico. Al culminar la mitosis se generan dos células hijas cada una con 46 cromosomas, y en ese momento cada cromosoma consiste de una cromátida (*Figura 2*).^{19,20}

El análisis citogenético requiere de cromosomas en metafase, para lo cual generalmente se parte de una muestra de sangre periférica heparinizada obtenida de forma estéril. Posteriormente se realizan cultivos de 72 horas en presencia del mitógeno fitohemaglutinina, que estimula la división de linfocitos T. Después de este periodo se adiciona un inhibidor del huso mitótico como colchicina o colcemida para arrestar a los cromosomas en metafase; posteriormente se les trata con solución hipotónica y finalmente las células son fijadas para permitir la elaboración de preparaciones con cromosomas.^{19,21,22} A partir de esto se pueden realizar diferentes estudios según lo que se desee analizar, con base en los datos clínicos del paciente. En el caso de los síndromes de inestabilidad cromosómica, los estudios útiles para su diagnóstico son: el cariotipo con bandas GTG, análisis de aberraciones cromosómicas inducidas (ACI) e intercambio de cromátidas hermanas (ICH).²³

3.1 Cariotipo con bandas GTG

El complemento cromosómico en el humano cuenta con 22 pares de autosomas (no sexuales) y un par de cromosomas sexuales.

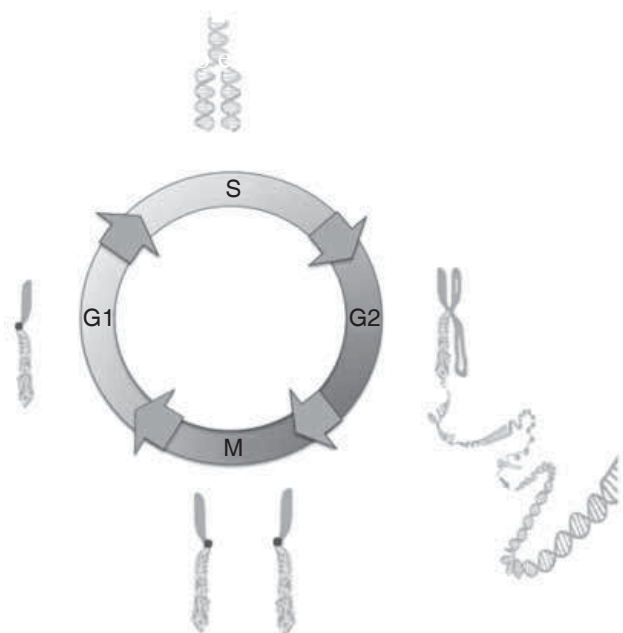


Figura 2. Cromosomas durante el ciclo celular. El ADN se encuentra asociado a proteínas conformando la cromatina, la cual se encuentra más compactada durante la mitosis (M). La doble hebra de ADN conforma una cromátida que se duplica durante la fase de síntesis (S), por lo cual en la fase de «Gap 2» (G2) los cromosomas están conformados por dos cromátidas hermanas, las cuales contienen dos copias idénticas del material genético. En contraste, en la fase G1 los cromosomas solamente tienen una cromátida.

somas sexuales (XX o XY). Su análisis se logra mediante la construcción de un cariotipo, que es un arreglo en el que se muestran los cromosomas de una metafase ordenados en pares de acuerdo con su tamaño y posición del centrómero. La clasificación e identificación acertada de todos los cromosomas se realiza mediante las técnicas de obtención de bandas como las GTG, las cuales revelan patrones reproducibles de bandas transversales a lo largo de los cromosomas. Esta técnica requiere que los cromosomas se traten con una proteasa (tripsina) y se tiñan con colorante Giemsa para producir una secuencia de bandas claras y oscuras específica para cada cromosoma; esto permite analizar el cariotipo en búsqueda de alteraciones espontáneas numéricas o estructurales (por ejemplo: deleciones, inserciones, translocaciones, inversiones, anillos) (Figuras 3 y 4a).²⁴⁻²⁸

3.2 Aberraciones cromosómicas inducidas (ACI)

Esta metodología implica cultivos de células que son retadas con un agente mutágeno para evaluar la respuesta celular y el daño cromosómico. En los síndromes de

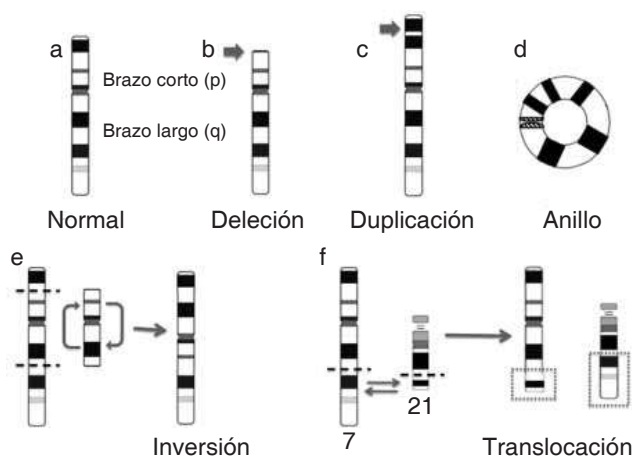


Figura 3. a) Cromosoma 7 normal; b) cromosoma 7 con delección en el brazo corto (p); c) cromosoma con duplicación en brazo corto (p); d) cromosoma 7 en anillo que se origina a partir de la ruptura y reunión de los extremos de los brazos corto y largo (p y q); e) cromosoma 7 con inversión, que se genera por la ruptura del brazo corto (p) y largo (q), el fragmento que se origina gira 360° y se vuelve a insertar en el cromosoma original; f) translocación t(7;21) que se origina a partir de la ruptura e intercambio de los brazos largos (q) de los cromosomas 7 y 21.

inestabilidad cromosómica hay defectos a nivel de respuesta a daño y reparación del ADN. Por esta razón, se observa un incremento en la frecuencia de aberraciones cromosómicas inducidas en comparación con células provenientes de individuos sanos expuestas al mismo reto. Al inicio del cultivo las células se deben exponer al agente mutágeno, que puede ser radiación, o bien, un compuesto radiomimético como bleomicina, para poner en evidencia la hipersensibilidad característica de algunos síndromes de inestabilidad cromosómica.^{29,30} Una vez que las células han sido cosechadas y fijadas en portaobjetos, se realiza una tinción homogénea para analizar las células en busca de rupturas, gaps (hendiduras dentro del cromosoma), anillos y figuras radiales. Para establecer el diagnóstico se obtiene la frecuencia de aberraciones, la cual es comparada con la obtenida de células de un individuo sano sometidas al mismo tratamiento (Figura 4b).^{23,28}

3.3 Intercambio de cromátidas hermanas (ICH)

Para este estudio es necesario agregar durante el cultivo bromodesoxiuridina (BrdU), que es un análogo de la timidina (Figura 4c), el cual se incorpora durante la replicación a la hebra de ADN recién sintetizada. En el primer ciclo celular se obtiene un cromosoma en el cual ambas cromátidas hermanas tienen una hebra de ADN con in-

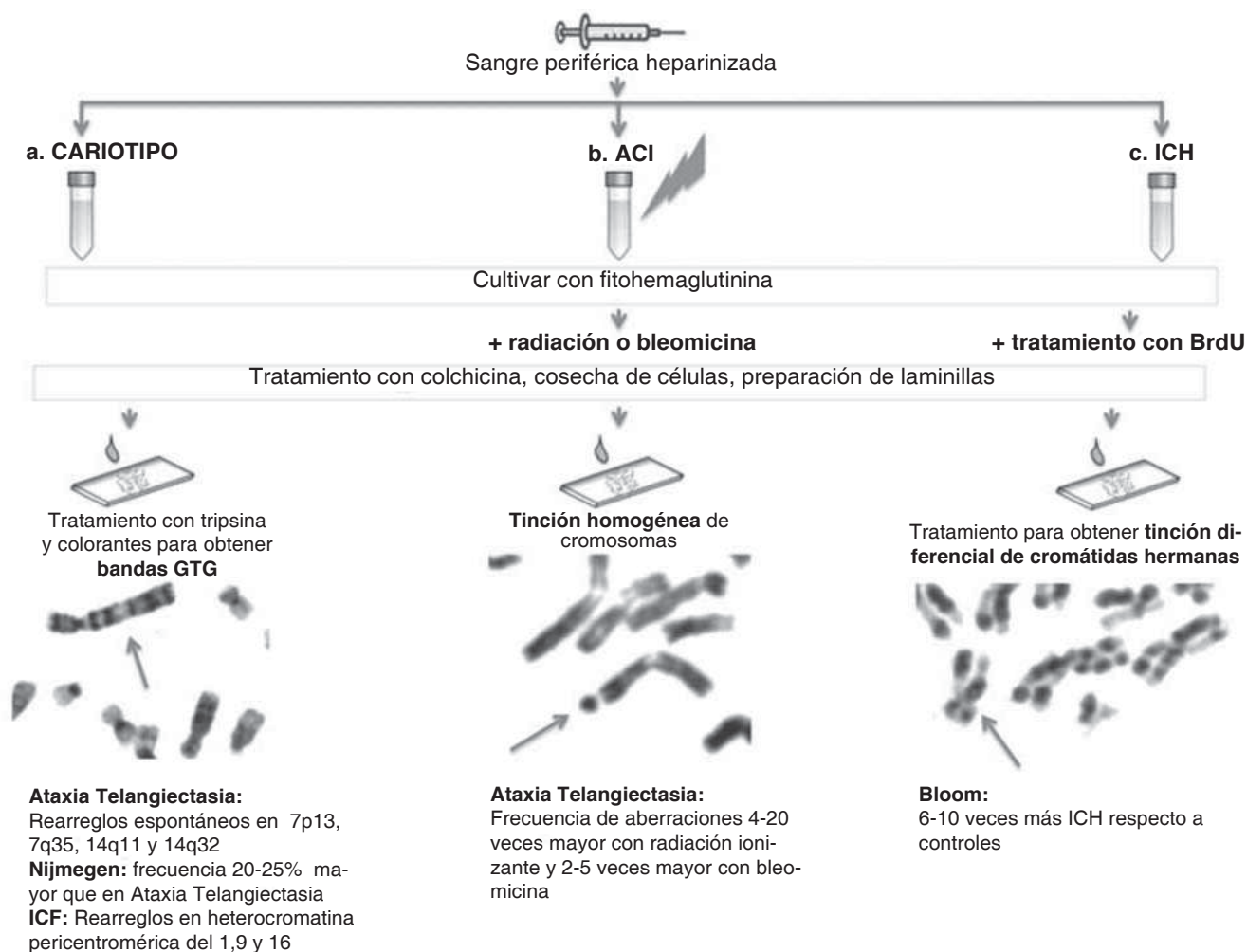


Figura 4. a) Procesamiento de la muestra para obtención de cariotipo GTG que permite en diagnóstico de ataxia telangiectasia y síndrome de Nijmegen e ICF; b) Procesamiento para la obtención de ACI, las cuales muestran frecuencia elevada en ataxia telangiectasia y síndrome de Nijmegen en comparación con el control; c) Metodología para la obtención de ICH que permiten el diagnóstico de síndrome de Bloom.

corporación de BrdU; al final de la división cada célula hija tiene cromosomas con incorporación de BrdU sólo en una hebra. Cuando estos cromosomas se replican en un segundo ciclo celular, se generan cromosomas con dos cromátidas hermanas marcadas diferencialmente. Una cromátida tendrá BrdU solamente en una hebra y la otra tendrá BrdU en ambas hebras de ADN. Después de tratamiento con Hoechst 33258 y exposición a luz y calor, los cromosomas son teñidos con Giemsa. La cromátida con BrdU en una sola hebra se tiñe de manera intensa, mientras que la otra se tiñe ligeramente por lo que se observa de color claro. Esto permite distinguir a cada cromátida hermana (una clara, la otra oscura) y observar los puntos en los que hubo intercambio (Figura

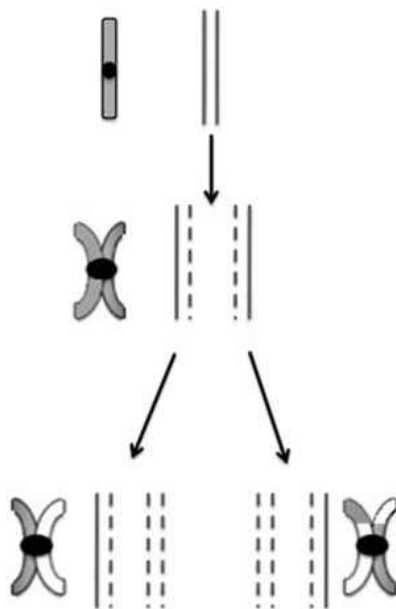
5).^{22,23} El significado biológico del ICH es controvertido, sin embargo, se asume que representan los puntos en los que hubo RDC y reparación.³¹ Con base en esto, si existe incremento de rupturas y reparaciones, habrá una frecuencia elevada de ICH.

Las técnicas previamente descritas hacen posible determinar la inestabilidad cromosómica, la cual puede manifestarse como: **1)** rearreglos cromosómicos espontáneos que ocurren en determinados cromosomas y que son evidenciados mediante cariotipo con bandas GTG; **2)** alta frecuencia de intercambio de cromátidas hermanas, evaluado mediante el estudio de ICH; **3)** hipersensibilidad a agentes mutágenos, reflejado como una frecuencia elevada de ACI.²³

Cromosoma no replicado, sin incorporación de BrdU: Se tiñe intensamente

Cromosoma replicado (primer ciclo): Ambas cromátidas hermanas con BrdU incorporado en ambas hebras de ADN

Cromosoma replicado (segundo ciclo): Una cromátida con incorporación de BrdU en una hebra de ADN (fuertemente teñida), otra cromátida con BrdU incorporado en ambas hebras de ADN (se tiñe débilmente)



Ciclo celular 1

Primer ciclo de replicación



Ciclo celular 2

Segundo ciclo de replicación



Cromosoma en el que hubo ruptura y reunión. Se observa un intercambio de cromátidas hermanas

Figura 5. Obtención de ICH mediante la incorporación del análogo de base bromodesoxiuridina (BrdU).

IV. ATAXIA TELANGIECTASIA (A-T; OMIM 208900)

4.1 Características clínicas

La ataxia telangiectasia es un desorden neurodegenerativo, progresivo, que se presenta de manera temprana (aproximadamente a los 2 años de edad). Las manifestaciones clínicas incluyen ataxia cerebral progresiva, apraxia oculomotora, telangiectasias oculares, disartria, riesgo elevado de desarrollar cáncer (en especial leucemia y linfoma), así como alta sensibilidad a la radiación ionizante.^{29,32,33} Adicionalmente, la mutación del gen **ATM**, que conlleva a la ausencia de su respectiva proteína, genera alteraciones en la función y desarrollo de los linfocitos. Los síntomas de inmunodeficiencia incluyen infecciones sinopulmonares recurrentes y, en algunos casos (10%), se presenta inmunodeficiencia severa. El tipo y grado de disfunción inmunitaria son variables, sin embargo, frecuentemente se detectan niveles de IgA, IgE e IgG2 muy bajos, también se puede presentar linfopenia progresiva.^{5-7,34}

4.2 Etiología

Es una enfermedad autosómica recesiva con prevalencia de 1/300,000 casos,²³ es causada por mutaciones en el gen **ATM** (ataxia telangiectasia-mutated) localizado en 11q22.3, que codifica para una proteína miembro de la familia fosfoinositol 3 cinasa con actividad serina/treonina cinasa. La ATM está implicada en la fosforila-

ción de proteínas involucradas en los mecanismos de respuesta ante daño al ADN (especialmente RDC), incluyendo factores de reparación, así como reguladores del ciclo celular y apoptosis (Figura 1).^{33,35}

La activación de ATM promueve una red de señalización que: 1) provee regulación del ciclo celular (vía Chk1 y Chk2), 2) contribuye en la remodelación de la cromatina requerida para permitir el acceso de la maquinaria de reparación al sitio de la lesión y 3) favorece el reclutamiento y retención de proteínas adicionales responsables de la reparación de las RDC.¹⁰

Se refieren más de 400 mutaciones en el gen **ATM**, lo cual influye en las variaciones en el fenotipo de los pacientes. Aproximadamente 85% de estas mutaciones son de tipo «sin sentido», es decir que una mutación puntual da lugar a un codón de terminación prematuro, generando un producto truncado. También se han encontrado mutaciones originadas por defectos en el proceso de corte y empalme del ARN mensajero.^{32,36}

4.3 Diagnóstico citogenético

Una característica de gran importancia para el diagnóstico de estos pacientes es la inestabilidad cromosómica, ya que de manera espontánea, el 5-15% de los linfocitos estimulados con PHA presentan translocaciones e inversiones que involucran a los cromosomas 7 y 14.^{7,23} Estas alteraciones también pueden presentarse en la población normal. Sin embargo, se observa una frecuencia 40-50 veces menor que en pacientes con

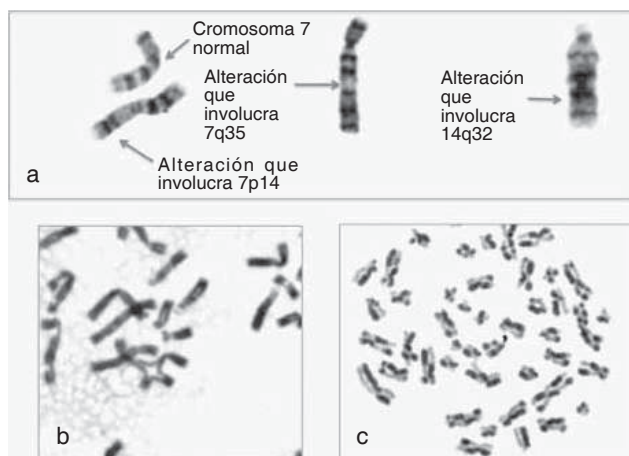


Figura 6. a) Alteraciones en los cromosomas 7 y 14 en un paciente con ataxia telangiectasia; b) Aberraciones cromosómicas inducidas con bleomicina de un paciente con síndrome de Nijmegen; c) Intercambio de cromátidas hermanas de un paciente con síndrome de Bloom.

la enfermedad.²³ Las alteraciones presentan puntos de ruptura que corresponden a loci de genes del sistema inmunitario, como los del receptor de células T (gamma 7p14-15, beta en 7q35, alfa y delta en 14q11.2), o los de las cadenas pesadas (14q32) y ligeras (kappa en 2p12 y lambda en 22q11) de inmunoglobulinas.²⁸ Los rearrreglos clonales característicos que se observan son: las translocaciones $t(14;14)(q11;q32)$ y $t(7;14)(q35;q32)$ y la inversión $inv(14)(q11;q32)$ ^{23,37} (Figura 6). La presencia de estas alteraciones en aproximadamente 10% de las células de los pacientes es la herramienta más útil para el diagnóstico. Sin embargo, se debe considerar que los linfocitos responden pobremente a la PHA, por lo que los índices mitóticos son bajos.²³

Además de la presencia de los rearrreglos espontáneos, otra característica citogenética de A-T que contribuye al diagnóstico es la elevada frecuencia de ACI, que se observa en 90% de los pacientes y que pone en evidencia la hipersensibilidad a radiación. Cuando las células son retadas con rayos X (0.5-1 Gy), la frecuencia de ACI es 4 a 20 veces mayor que la del control, y cuando se exponen a bleomicina (5.0-30 µg/mL durante las últimas 24 horas del cultivo) es 2 a 5 veces mayor (Figura 4).^{23,28,29,38}

V. SÍNDROME DE NIJMEGEN (NBS; OMIM 251260)

5.1 Características clínicas

Este síndrome se caracteriza por retraso en el crecimiento, retraso mental moderado, microcefalia, facies característica (cara de pájaro), hipersensibilidad a radiación y alta susceptibilidad a desarrollar cáncer, en especial linfo-

ma.^{5-7,34} Adicionalmente, se presenta inmunodeficiencia, por lo que los pacientes cursan con infecciones sinopulmonares recurrentes. Comúnmente hay deficiencia de IgG e IgA, así como bajos porcentajes de linfocitos T.^{5,7}

5.2 Etiología

Este desorden autosómico recesivo es causado por mutaciones en el gen NBS1 localizado en 8q21 que codifica p95 o nibrina.^{5,7} El 90% de las mutaciones involucran una delección de 5pb, lo cual genera una proteína truncada.³⁹ El producto de este gen es un miembro del complejo MRN (MRE11/RAD50/NBS1) que actúa como sensor de daño, y como co-activador en la señalización de puntos de control del ciclo celular inducidos por RDC. Asimismo, funciona como efector en la reparación de RDC tanto en RH como en UENH (Figura 1), y también participa en el mecanismo de cambio de isotipo en linfocitos B.^{10,40,41}

En particular, la nibrina se encarga de la translocación del complejo MRN al núcleo, de su reubicación a sitios de RDC, así como de estimular su actividad enzimática. Contribuye a la reparación principalmente mediando interacciones proteína-proteína en el sitio de ruptura del ADN. Además, posee motivos que son fosforilados por ATM en respuesta ante daño así como motivos de interacción con ATM, de esta forma permite su reclutamiento en los sitios de RDC. La participación de ATM y NBS1 en una vía de señalización común explica que ambos síndromes manifiesten características fenotípicas similares.^{10,12,42,43}

5.3 Diagnóstico citogenético

Los pacientes con NBS presentan aberraciones cromosómicas espontáneas, que al igual que en A-T, involucran principalmente a los cromosomas 7 y 14. Sin embargo, la frecuencia de estos rearrreglos es 20-25% mayor en células NBS que en A-T.^{23,29} En cuanto a las ACI, se ha observado una alta sensibilidad a rayos X y bleomicina, también se refiere síntesis de ADN radioresistente, la cual implica que la replicación de ADN puede continuar en presencia de RDC, debido a falla en el control del ciclo celular.^{8,38,44,45} El diagnóstico requiere la identificación de aberraciones características como $inv(7)(p13q35)$, $t(7;7)(p13;q35)$ y $t(7;14)(p13;q11)$ mediante cariotipo con bandas GTG; así como los estudios complementarios de ACI usando como mutágenos rayos X o bleomicina (Figuras 4 y 6).^{7,23}

VI. SÍNDROME DE BLOOM (BLM; OMIM 210900)

6.1 Características clínicas

Este síndrome se caracteriza por retraso en el crecimiento pre y postnatal, eritema facial debido a hipersen-

sibilidad a luz UV, facies característica (con hipoplasia, micrognatia, orejas prominentes) y alta predisposición a cáncer, especialmente leucemia y linfoma.^{5,7,17} Los pacientes manifiestan inmunodeficiencia que se presenta principalmente como infecciones respiratorias que en ocasiones pueden llevar a enfermedad crónica. Se ha reportado disminución de uno o varios isotipos de inmunoglobulinas, principalmente de IgM.^{5,7}

6.2 Etiología

El síndrome de Bloom es una enfermedad autosómica recesiva rara, se han reportado alrededor de 100 casos, aparentemente presenta mayor incidencia en población de judíos Ashkenazi.^{5,23} Es causada por mutaciones que inactivan al gen BLM que se localiza en 15q26.1. Se refieren más de 60 mutaciones que incluyen mutaciones sin sentido y de sentido erróneo, esta última implica la sustitución de un aminoácido por otro y afecta la funcionalidad de la proteína.⁴⁶ El producto proteico de BLM es un miembro de la familia de las helicasas, que participan en la protección e integridad del genoma al evitar la formación de estructuras aberrantes y potencialmente recombinogénicas que surgen como intermediarios durante la replicación, reparación y recombinación del ADN.⁴⁷

La helicasa ATP-dependiente BLM se encarga de resolver estructuras de ADN como las de Holliday que se forman durante la recombinación.⁴⁸ Esta helicasa interactúa con proteínas del proceso de RH como RAD51 y con otras involucradas en reparación y señalización de daño como Mus81 y ATM (*Figura 1*).^{47,48} Adicionalmente, BLM participa en la reparación de la replicación cuando existe retraso o colapso en la horquilla de replicación durante la fase S. Por esta razón se considera a BLM como un sensor, transmisor y efector en diferentes etapas de la respuesta de daño al ADN.^{34,48,49}

6.3 Diagnóstico citogenético

Las características citogenéticas de estos pacientes son determinantes en el diagnóstico. El síndrome de Bloom presenta una elevada frecuencia de aberraciones cromosómicas espontáneas incluyendo rupturas, figuras tetrarradiales y translocaciones; sin embargo, el aspecto más importante es el incremento en los ICH, ya que permite confirmar o excluir el diagnóstico (*Figuras 4 y 6*).^{5,7,23,29} Los pacientes con síndrome de Bloom presentan una frecuencia de 60 a 100 ICHs por célula, en contraste con la frecuencia encontrada en individuos sanos que es de 10 ICHs por célula. Sin embargo, también se puede encontrar una población menor de células normales en las que se sugiere que se deba a un evento de «corrección génica». Los intercambios recíprocos surgen principalmente de eventos de RH que ocurren durante la reparación del ADN en las fases S o G2 del ciclo

celular. También se ha observado por análisis de ACI que las células de los pacientes son altamente sensibles a agentes como el etil-metano sulfonato. Sin embargo, el diagnóstico se basa en el incremento de ICH.^{23,26,29}

VII. SÍNDROME ICF (ICF-SYNDROME; OMIN 242860)

7.1 Características clínicas

El síndrome de inmunodeficiencia, inestabilidad centromérica y anomalías faciales o ICF, se caracteriza por presentar anomalías faciales que incluyen hipertelorismo, puente nasal plano, protrusión de la lengua, pliegues epicánticos y orejas de implantación baja. Se ha reportado retraso mental y defectos neurológicos.^{5,7,39,50} Por otro lado, la inmunodeficiencia se manifiesta con infecciones severas, recurrentes, generalmente respiratorias y gastrointestinales. Se presentan niveles muy bajos o hasta indetectables de al menos dos isotipos de inmunoglobulinas IgA, IgG y/o IgM. En 50% de los pacientes se han observado niveles bajos de linfocitos T y en algunos casos también de linfocitos B; sin embargo, la naturaleza de la inmunodeficiencia es variable.^{5,50,51}

7.2 Etiología

El ICF es una enfermedad autosómica recesiva que se ha reportado en menos de 70 pacientes.⁵⁰ El gen responsable es DNMT3B, localizado en 20q11.2 en el cual se presentan mutaciones especialmente de sentido erróneo. Este gen codifica la enzima ADN metil-transferasa, la cual añade grupos metilo al ADN y de esta forma promueve el silenciamiento de genes y la compactación de la cromatina. Las mutaciones reportadas afectan el dominio catalítico ubicado en el extremo carboxilo, lo que resulta en hipometilación del ADN.^{50,51} A pesar de que esta proteína no está involucrada directamente con la respuesta de daño o reparación del ADN, existe relación entre estos procesos y la remodelación de la cromatina; de hecho, se ha observado que las células ICF exhiben espontáneamente niveles aumentados de ATM autofosforilada (*Figura 1*).¹²

7.3 Diagnóstico citogenético

La alteración cromosómica que caracteriza a este síndrome involucra principalmente la región de heterocromatina centromérica de los cromosomas 1, 9 y 16, aunque también se ha reportado que participan los cromosomas 2 y 10.^{5,20,23,51} El diagnóstico se confirma mediante el análisis de cariotipo en linfocitos de sangre periférica, en donde se presenta elongación y ruptura de la heterocromatina pericentromérica, asociación de centrómeros y presencia de cromosomas multirradiales. También se ha observado delección de brazo corto o lar-

go de los cromosomas 1 y 16 e isocromosoma del 1; en general, el cromosoma 1 es el más afectado.²³ Normalmente el ADN satélite de las regiones pericentroméricas se encuentra metilado. Sin embargo, en las células de pacientes con ICF se presenta una marcada hipometilación, que conduce a una estructura centromérica inadecuada e inestabilidad cromosómica que parece ser característica en esta entidad. Por otro lado, no se ha observado que las células ICF muestren hipersensibilidad a ningún agente, por lo que el diagnóstico se basa en aberraciones cromosómicas espontáneas.^{23,50,51}

VIII. CONCLUSIÓN

La complejidad de los síndromes de inestabilidad cromosómica hace del diagnóstico un reto que debe ser enfrentado mediante el esfuerzo de especialistas de las áreas de Inmunología y Genética. En el Instituto Nacional de Pediatría de la Ciudad de México, estas entidades son la segunda causa más frecuente de inmunodeficiencias primarias. Sin embargo, se refiere que estas enfermedades están subdiagnosticadas, por lo que es necesario el trabajo conjunto multidisciplinario para lograr el diagnóstico temprano, seguimiento y tratamiento óptimos.⁵² Esta revisión acerca al especialista inmunólogo las bases de las metodologías citogenéticas que son determinantes en la identificación de los síndromes de inestabilidad cromosómica asociados a inmunodeficiencia.

BIBLIOGRAFÍA

- Notarangelo LD. Primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125: S182-194.
- Notarangelo LD, Fischer A, Geha RS, Casanova JL, Chapel MD, Conley ME et al. Primary immunodeficiency diseases: 2009 update. International Union of Immunological Societies Expert Committee on Primary Immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 124: 1161-1178.
- de Vries E, Driessen G. Educational paper: Primary immunodeficiencies in children: a diagnostic challenge. *Eur J Pediatr* 2011; 170(2): 169-177.
- Ming JE, Stiehm ER, Graham JM Jr. Immunodeficiency as a component of recognizable syndromes. *Am J Med Genet* 1996; 66(4): 378-398.
- Ming JE, Stiehm ER, Graham JM Jr. Syndromic immunodeficiencies: genetic syndromes associated with immune abnormalities. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2003; 40(6): 587-642.
- Simonte SJ, Cunningham-Rundles C. Update on primary immunodeficiency: defects of lymphocytes. *Clin Immunol* 2003; 109(2): 109-118.
- Kersseboom R, Brooks A, Weemaes C. Educational paper: syndromic forms of primary immunodeficiency. *Eur J Pediatr* 2011; 170(3): 295-308.
- Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Unsal-Kacmaz K, Linn S. Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. *Annu Rev Biochem* 2004; 73: 39-85.
- Meek K, Gupta S, Ramsden DA, Lees-Miller SP. The DNA-dependent protein kinase: the director at the end. *Immunol Rev* 2004; 200: 132-141.
- Lamarche BJ, Orazio NI, Weitzman MD. The MRN complex in double-strand break repair and telomere maintenance. *FEBS Lett* 2010; 584(10): 3682-3695.
- Pfeiffer P, Goedecke W, Obe G. Mechanisms of DNA double-strand break repair and their potential to induce chromosomal aberrations. *Mutagenesis* 2000; 15(4): 289-302.
- Kerzendorfer C, O'Driscoll M. Human DNA damage response and repair deficiency syndromes: linking genomic instability and cell cycle checkpoint proficiency. *DNA Repair* 2009; 8(9): 1139-1152.
- Kühne C, Tjörnhannar ML, Pongor S, Banks L, Simoncsits A. Repair of a minimal DNA double-strand break by NHEJ requires DNA-PKcs and is controlled by the ATM/ATR checkpoint. *Nucleic Acids Res* 2003; 31(24): 7227-7237.
- Jackson SP. Sensing and repairing DNA double-strand breaks. *Carcinogenesis* 2002; 23(5): 687-96.
- Gennery AR, Cant AJ, Jeggo PA. Immunodeficiency associated with DNA repair defects. *Clin Exp Immunol* 2000; 121(1): 1-7.
- Gennery AR. Primary immunodeficiency syndromes associated with defective DNA double-strand break repair. *Br Med Bull* 2006; 77-78: 71-85.
- Gennery AR, O'Driscoll M. Unravelling the web of DNA repair disorders. *Clin Exp Immunol* 2003; 134(3): 385-7.
- Slatter MA, Gennery AR. Primary immunodeficiencies associated with DNA-repair disorders. *Expert Rev Mol* 2011; 8(12): e9.
- Cross I, Wolstenholme J. An introduction to human chromosomes and their analysis. En: D. E. Rooney, Ed. *Human Cytogenetics: constitutional analysis. A practical approach*. 3ª Ed, Nueva York, Oxford University Press, 2001: 1-31.
- Miller OJ, Therman E. General features of mitotic chromosomes. En: O. J. Miller, E. Therman, Ed. *Human Chromosomes*. Nueva York, Springer-Verlag, 2001, pp. 45-56.
- Swanson CP, Merz T, Young WJ. Cytogenetics. *The chromosome in division, inheritance and evolution*. Englewood Cliffs, Prentice-Hall Inc. 1981: 1-19.
- Verma RS, Babu A. *Human chromosomes. Manual of basic techniques*. EUA, Pergamon Press, 1989: 45-140.
- Howell RT. Chromosome instability syndromes. En: D. E. Rooney, Ed. *Human Cytogenetics: malignancy and acquired abnormalities*. 3ª Ed. Nueva York, Oxford University Press, 2001: 227-253.
- Benn PA, Tantravahi U. Chromosome staining and banding techniques. En: D. E. Rooney, Ed. *Human Cytogenetics: constitutional analysis. A practical approach*. Nueva York, Oxford University Press, 2001: 99-127.
- Trask BJ. Human cytogenetics: 46 chromosomes, 46 years and counting. *Nature* 2002; 3: 769-779.
- Miller OJ, Therman E. Chromosome bands. En: O. J. Miller, E. Therman Ed. *Human Chromosomes*. Nueva York, Springer-Verlag, 2001: 79-92.
- Shaffer LG, Slovak ML, Campbell LJ. *An International System of Human Cytogenetic Nomenclature*. Suiz, Karger, 2009: 138.
- Brown MG, Lawce HJ. Peripheral blood cytogenetic methods. En: Barch MJ, Knutsen T, Spurbek JL, Eds. *The AGT cytogenetics laboratory manual*. Filadelfia, Lippincott-Raven, 1997: 77-87.
- Gardner-McKinlay RJ, Sutherland GR. *Chromosome abnormalities and genetic counseling*. 3ª Ed. Nueva York, Oxford University Press, 2004: 301-308.
- Hada M, Huff JL, Patel ZS, Kawata T, Pluth JM, George KA et al. AT cells are not radiosensitive for simple chromosomal exchanges at low dose. *Mutat Res* 2011; 716(1-2): 76-83.

31. Latt SA. Sister chromatid exchanges, indices of human chromosome damage and repair: Detection by fluorescence and induction by mitomycin C. *Proc Nat Acad Sci* 1974; 71(8): 3162-3166.
32. Chun HH, Gatti RA. Ataxia-telangiectasia, an evolving phenotype. *DNA Repair* 2004; 3(8-9): 1187-1196.
33. Pollard JM, Gatti RA. Clinical radiation sensitivity with DNA repair disorders: an overview. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009; 74(5): 1323-1331.
34. Gennery AR, Cant AJ, Jeggo PA. Immunodeficiency associated with DNA repair defects. *Clin Exp Immunol* 2000; 121: 1-7.
35. Kurz EU, Lees-Miller SP. DNA damage-induced activation of ATM and ATM-dependent signaling pathways. *DNA Repair* 2004; 3(8-9): 889-900.
36. Concannon P, Gatti RA. Diversity of ATM gene mutations detected in patients with ataxia-telangiectasia. *Hum Mutat* 1997; 10(2): 100-7.
37. Huret JL. *Ataxia telangiectasia*. Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol. April 1998. URL: <http://AtlasGeneticsOncology.org/Kprones/ataxia.html> Uhrhammer N, Bay JO, Gatti RA. Ataxia telangiectasia. Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol. October 1999. URL: <http://AtlasGeneticsOncology.org/Kprones/ataxia.html> Uhrhammer N, Bay JO, Gatti RA. Ataxia telangiectasia. *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol*. October 2002. URL: <http://AtlasGeneticsOncology.org/Kprones/ataxia.html>
38. Pérez-Vera P, González-del Ángel A, Molina B, Gómez L, Frías S, Gatti RA, Carnevale A. Chromosome instability with bleomycin and X-ray hypersensitivity in a boy with Nijmegen breakage syndrome. *Am J Med Genet* 1997; 70: 24-27.
39. Gersen SL, Keagle MB. *The principles of clinical cytogenetics*. 2ª Ed. Nueva Jersey, Human Press. 2005: 347-360.
40. Difilippantonio S, Nussenzweig A. The NBS1-ATM connection revisited. *Cell Cycle* 2007; 6(19): 2366-2370.
41. Stracker TH, Theunissen JW, Morales M, Petrini JH. The Mre11 complex and the metabolism of chromosome breaks: the importance of communicating and holding things together. *DNA Repair* 2004; 3(8-9): 845-854.
42. Stracker TH, Petrini JH. The MRE11 complex: starting from the ends. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011; 12(2): 90-103.
43. Kobayashi J, Antoccia A, Tauchi H, Matsuura S, Komatsu K. NBS1 and its functional role in the DNA damage response. *DNA Repair* 2004; 3(8-9): 855-861.
44. Bürger S, Schindler D, Fehn M, Mühl B, Mahrhofer H, Flentje M et al. Radiation-induced DNA damage and repair in peripheral blood mononuclear cells from Nijmegen breakage syndrome patients and carriers assessed by the Comet assay. *Environ Mol Mutagen* 2006; 47(4): 260-270.
45. Huang L, Snyder AR, Morgan WF. Radiation-induced genomic instability and its implications for radiation carcinogenesis. *Oncogene* 2003; 22(37): 5848-54.
46. German J, Sanz MM, Ciocchi S, Ye TZ, Ellis NA. Syndrome-causing mutations of the BLM gene in persons in the Bloom's Syndrome Registry. *Hum Mutat* 2007; 28(8): 743-753.
47. Singh DK, Ahn B, Bohr VA. Roles of RECQ helicases in recombination based DNA repair, genomic stability and aging. *Biogerontology* 2009; 10(3): 235-252.
48. Wechsler T, Newman S, West SC. Aberrant chromosome morphology in human cells defective for Holliday junction resolution. *Nature* 2011; 471(7340): 642-646.
49. Tikoo S, Sengupta S. Time to Bloom. *Genom Integrity* 2010; 1: 14.
50. Ehrlich M, Jackson K, Weemaes C. Immunodeficiency, centromeric region instability, facial anomalies syndrome (ICF). *Orphanet J Rare Dis* 2006; 1: 1-9.
51. Ehrlich M. The ICF syndrome, a DNA methyltransferase 3B deficiency and immunodeficiency disease. *Clinical Immunol* 2003; 109(1): 17-28.
52. Coria-Ramírez E, Espinosa-Padilla S, Espinosa-Rosales F, Vargas-Camaño ME, Blancas-Galicia L. An overview of primary immunodeficiency in Mexico. *Rev Alerg Mex* 2010; 57(5): 159-163.

Dirección para correspondencia:
 QFB María del Pilar Navarrete Meneses
 Laboratorio de Cultivo de Tejidos,
 Departamento de Investigación
 en Genética Humana del
 Instituto Nacional de Pediatría.
 Tel. 10840900, ext. 1484, 1471
 E-mail: peachnavarrete@hotmail.com