

Fukushima: El Desastre Mundial Más Grave de la Historia: Mecanismos Moleculares

José O. Bustamante Pérez, PhD

Fukushima: The World's Gravest Disaster in History: Molecular Mechanisms

Resumen

En marzo 11 de 2011, comenzó en Fukushima el mayor desastre de la historia de la humanidad. YouTube y otros medios independientes de internet nos mantienen informados sobre la creciente amenaza de Fukushima. Desde mi llegada al Ecuador en noviembre de 2012, he sido asiduo cliente de taxistas en Guayaquil: La Perla del Pacífico, mayor ciudad del Ecuador. Mi visa de trabajo me describe como Investigador. Por tanto, he sido fiel a esta descripción. Llego al fin de 2013 sin encontrar un taxista en Guayaquil que conozca la palabra Fukushima. Desde mis estudios universitarios (Escuela de Física, Universidad de La Habana) he estado interesado en Física Nuclear, Reactores Nucleares, etc. En 1972 terminé mis estudios y fui a trabajar para el Ministerio de Salud Pública (La Habana). Desde 1972 estudio los avances en Física Médica (Radioterapia, Radioprotección, Imageamiento, Defibrilación, Lasers, etc). En 1972 también comencé mi entrenamiento como Biofísico y Fisiólogo. En 1977 defendí mi tesis de Doctorado. En 1989 comencé a estudiar Biología Celular y Molecular. He publicado en revistas internacionales prestigiosas (Science, Biophysical Journal, Physiological Reviews, etc). Aquí enfatizo nuestra obligación social y moral de mantenernos actualizados e informar al pueblo sobre Fukushima y su impacto en Ecuador.

Palabras clave: Radioterapia, Radioprotección, Imageamiento, Defibrilación, Lasers.

Summary

On March 11, 2011, the greatest disaster in human history started in Fukushima. Youtube and other independent internet media maintain us informed on the increasing threat of Fukushima. Since my arrival in Ecuador on November 2012, I have been a taxi customer in Guayaquil: The Pearl of The Pacific, Ecuador's biggest city. My work visa describes me as Investigator. Therefore, I have been faithful to this description. I arrive to the end of 2013 without finding a cab driver that knows the word Fukushima. Since my university studies (School of Physics, University of Havana) I have been interested in Nuclear Physics, Nuclear Reactors, etc. In 1972 I finished my studies and went to work for the Ministry of Public Health (Havana). Since 1972 I keep up with advances in Medical Physics (Radiotherapy, Radioprotection, Imaging, Defibrillation, Lasers, etc). Also in 1972 I started training as Biophysicist and Physiologist. In 1977 I defended my Doctoral thesis. In 1989 I started studying Cell and Molecular Biology. I have published in prestigious international journals such as: Science, Biophysical Journal, Physiological Reviews, etc. Here I emphasize our social and moral obligation of keeping updated and informing the public on Fukushima and how it impacts Ecuador.

Keywords: Radiotherapy, Radioprotection, Imaging, Defibrillation, Lasers

Fukushima: Paradigma Político, Socio-Económico, Científico y Tecnológico

El desastre de la central nuclear eléctrica de Fukushima Dai-ichi (de aquí en adelante Fukushima) es el de mayor impacto en la historia de la humanidad. A pesar de esto, pocos ecuatorianos conocen de este desastre y de sus letales consecuencias¹. La tragedia de Fukushima (por incontables décadas a seguir) da una oportunidad única para aprender de las enfermedades que el mundo sufre hoy. Fukushima, como Hiroshima, sirve de paradigma para aprender lo que pasa por detrás de la escena a nivel mundial (ver Bustamante Pérez, 2013)¹. Como ocurre en medicina, muchas veces son los raros casos los que nos permiten apreciar la importancia de ciertos factores que normalmente están escondidos. Por tal razón, Fukushima puede ser utilizado (como lo han sido los casos de los desastres de Chernobyl y Three Mile Island - de mucho menor envergadura que el desastre de Fukushima) como Laboratorio Investigativo-Educativo para estudiar los efectos de las radiaciones ionizantes (RI), la naturaleza de la industria nuclear y nuestra sociedad; y así poder tomar medidas para evitar o combatir eventos futuros semejantes. Tal Laboratorio ofrece oportunidad única para aquellos que quieren hacer programas de posgrado y para aquellos que quieren ayudar a Ecuador y a la humanidad a alcanzar a tener una vida plena, como definida en el Plan Nacional para el Buen Vivir de Ecuador. Con nuestro esfuerzo colectivo podremos detener la progresión de la extensión e intensidad de este cáncer radiológico y toxicológico. A seguir damos la base de los mecanismos de biología celular y molecular que pueden decidir el futuro de la humanidad. De particular importancia son los mecanismos relacionados con las RI de baja intensidad porque, a pesar de su denominación, son estas las que pueden causar mutaciones genéticas a largo plazo y así crear una gran carga para la sociedad y el medio ambiente.

¹ Como investigador científico (físico, biofísico, físico-médico, multidisciplinario), he sido estudioso de la materia de centrales nucleares y de su impacto en la sociedad. Esta preocupación fue creada en mí durante el esfuerzo de La Revolución Cubana por tener una Central Nuclear (1960s-1970s) – tiempos que cubren mi niñez y juventud. Esos eran los tiempos de: (1) la Invasión de los EUA a Cuba (la famosa invasión de Playa Girón o Bahía de Cochinos, 17-19 de abril de 1961); (2) la Crisis de Octubre (14-28 de octubre de 1962) causada por la instalación en Cuba de cohetes con ojivas nucleares; (3) de los sabotajes y actos de terrorismo constantes (quema de cañaverales, asesinatos de maestros voluntarios, etc); (4) etcétera. Terrorismo, por tanto, no es novedad para mí y para mi generación. Desde la 2ª Guerra Mundial existen documentos que demuestran la capacidad de las grandes potencias neocolonialistas para causar terremotos, tsunamis, etc (ver videos en el canal de YouTube de Bustamante Pérez, 2013). Considerando el historial de las grandes potencias neocolonialistas en referencia al respeto de los Derechos Humanos (cigarrillos que causan cáncer en todo el mundo; destrucción de la atmósfera, océanos e islas/atoles con ensayos nucleares; destrucción ambiental y teratogénesis con agente naranja en Vietnam y otros países; destrucción ambiental y teratogénesis con uranio empobrecido en Iraq, Puerto Rico, Italia, etc) no debemos sorprendernos de la capacidad destructora de aquellos que quieren imitar al Imperio Romano de la antigüedad (aquel imperio que borró a Cartago del mapa y de la memoria de la humanidad).

Importancia de los Mecanismos de Biología Celular y Molecular

Entender los mecanismos celulares y moleculares de las RI puede determinar nuestro futuro (p.ej., Azzam et al. 2012; Alsbeih et al. 2013; Chua et al. 2013; Liang et al. 2013; Lomax et al. 2013). A seguir, demuestro, con un ejemplo específico, el de las vías de señalización asociadas a la proteína ATM, cómo es que el conocimiento de los mecanismos biológicos puede ayudar a mejorar la protección contra las RI (i.e. radioprotección), y otras metodologías de física médica (FM) como la radioterapia.

Los mecanismos asociados al gene ATM (por ataxia-telangiectasia mutated) explican la aparente paradoja de que la RI de baja dosis (p.ej., <0.6 Gy) es más eficiente que la de dosis alta (p.ej., Short et al. 2005). La complejidad de los mecanismos involucrados esclarece conceptos anacrónicos (si hablamos con precisión científica) tales como: (1) “Los efectos biológicos son directamente proporcionales a la dosis de RI”, y (2) “La radiosensibilidad está directamente relacionada con la velocidad de división celular” (i.e., Ley de Bergonié y Tribondeau – ver, p.ej., Haber & Rothstein, 1969). Como veremos, cualquier efecto biológico resultante de la RI depende de muchas variables o magnitudes. Una de esas variables o magnitudes es ATM, la proteína resultante de la expresión del gene ATM (materia discutida en el siguiente párrafo) El lector puede encontrar buenas revisiones sobre el tema (p.ej., Shiloh & Ziv, 2013; Stracker et al. 2013).

Importancia de la Ataxia-Telangiectasia para la Radioterapia

En Medicina, las enfermedades raras siempre tienen algo que enseñar. Ese es el caso de ataxia-telangiectasia (A-T). La rara enfermedad ge-

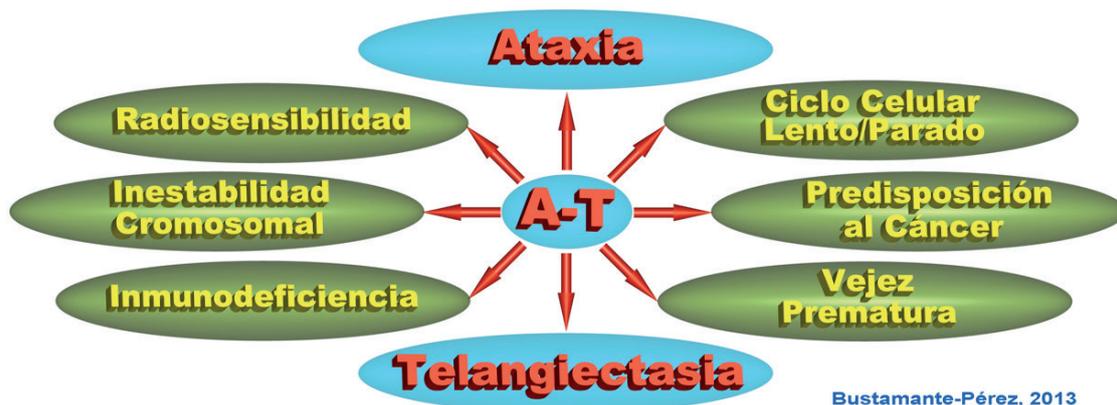


Figura 1: Algunas características de ataxia-telangiectasia (A-T).

Fuente: Autor

nética A-T, de fenotipo complejo, es una de varias patologías autosomales recesivas de ataxias cerebrales. La enfermedad tiene 2 características principales que determinan su denominación: (1) ataxia progresiva del córtex cerebral y (2) telangiectasia o dilatación de los vasos sanguíneos (p.ej., Ludwig et al. 2013; Shiloh & Ziv, 2013). Debe notarse que la RI usada en radioterapia puede causar telangiectasia como resultado de la inducción de radicales libres durante el tratamiento (p.ej., Bentzen & Overgaard, 1991). La Figura 1 muestra las principales características de la enfermedad A-T. Aparte de las 2 características principales, la patología también presenta: (1) hiper-radiosensibilidad, (2) hiper-predisposición al desarrollo de cáncer, (3) neurodegeneración, (4) defectos en los puntos de monitoreo/chequeo (PMC) del ciclo celular, (5) inmunodeficiencia, (6) vejez prematura, etc. (p.ej., Fang et al. 2010; Byrd et al. 2012).

La hiper-radiosensibilidad (también referida como radiosensibilidad) fue reportada inicialmente como reacción adversa en pacientes con A-T (Morgan et al. 1968). Los linfocitos de pacientes con A-T presentan aberraciones cromosomales después de tratamiento con RI (p.ej., Tobi et al. 1990) y sus fibroblastos tienen más radiosensibilidad que los

de los pacientes del grupo control (p.ej., Taylor et al. 1975). A pesar de esto, las células de los pacientes con A-T son eficientes en el reparo de casi todas las quiebras de ADN (ver Ludwig et al. 2013; Shiloh & Ziv, 2013).

Los pacientes con el síndrome de quiebra de Nijmegen (NBS, del inglés Nijmegen breakage syndrome), presentan también radiosensibilidad que puede ser atribuida al defecto en el reparo de DSBs (del inglés double-stranded DNA breaks – p.ej., Girard et al. 2000). El NBS tiene muchas analogías con la A-T y, por eso, los mecanismos de NBS son relevantes para los de A-T. Como A-T, el NBS es caracterizado por hiper-radiosensibilidad, inmunodeficiencia, e predisposición a cáncer (p.ej., Saidi et al. 2010). También es interesante notar que el producto del gene deficiente en NBS: la proteína Nbs1/Nibrina, es fosforilada por ATM en respuesta al ADN quebrado (p.ej., Lim et al. 2000; Difilippantonio & Nussenzweig, 2007). A pesar de que las quiebras residuales de ADNs puedan explicar la radiosensibilidad de las células en A-T, la evidencia experimental indica que una anomalía intrínseca en la estructura de la cromatina parece causar una transformación de las DSBs a las quiebras de los cromosomas. Es probable que las quiebras residuales envíen señales a la maquinaria de reparo de ADN en una forma que es

¹¹ Es de particular importancia reconocer que hay fuerzas ajenas al bienestar social, que por dinero y poder harían cualquier cosa. El famoso caso del desastre ambiental causado por la Chevron es bien conocido por los ecuatorianos porque ser afectados directamente. El caso de Fukushima es diferente en extensión pues Fukushima afecta a todo el mundo. Otras posibilidades, explotadas por los geo-ingenieros, incluyen terrorismo (Anderson & Bokor, 2013). Mucha de la información que hay sobre Fukushima está en inglés. Por tanto, en esta reflexión-revisión, trataré de ser sucinto. Primero que todo, este artículo de reflexión y revisión está estimulado por 2 entrevistas que vi con 2 profesionales de prestigio y décadas de experiencia: (1) el físico-químico-PhD Christopher Bisby y (2) ingeniero nuclear-MSc Arnie Gundersen (ver Bustamante Pérez, 2013). Por muchos meses he seguido con gran preocupación los artículos y videos sobre Fukushima. La fuente que encuentro más confiable (desde el punto de vista de la contaminación de intereses neocolonialistas) es el de Energy News (ver Bustamante Pérez, 2013). Esta última fuente da una buena idea de cómo funciona el sistema en los países desarrollados: los gobiernos, industrias, medios de información, mantienen ignorante al público. Sólo algunos intrépidos profesionales arriesgan sus cómodos puestos de trabajo para denunciar el peligro. En el caso de Fukushima, tenemos al gobierno de Japón diciéndole al mundo que todo está perfecto (y por ello Tokio fue designada la sede de los próximos Juegos Olímpicos), la industria (en este caso Tokyo Electric Power Company o TEPCO – ver Bustamante Pérez, 2013).

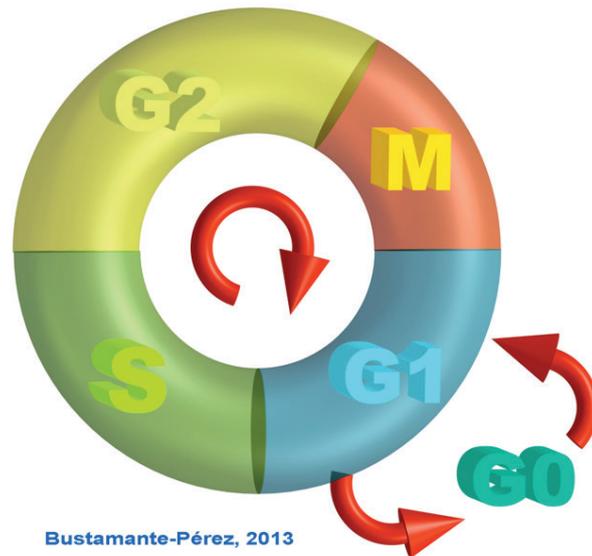


Figura 2: El ciclo celular y sus fases (células nucleadas).
Fuente: Autor

dependiente de ATM y, por tanto, que permanezcan sin reparo en las células A-T. Esto, por su parte, causa quiebras en los cromosomas (ver Ludwig et al. 2013; Shiloh & Ziv, 2013).

La Importancia del Estado del Ciclo Celular en la Etiología del Cáncer

Una de las características más importantes de las células cancerosas es su alta capacidad de multiplicación, resultante de la aceleración del ciclo celular, ilustrado en la Figura 2 (la flecha indica la dirección del ciclo). El ciclo celular consiste de eventos coordinados que normalmente culminan en el crecimiento y división celular. El ciclo celular puede imaginarse como un túnel por el cual la célula es forzada a moverse, usando aceleradores, frenos y enfrentando policías de tránsito. Cuando uno o más de esos mecanismos fallan (y la célula no muere), la velocidad puede aumentar sin control y las células se pueden dividir continuamente y rápidamente. Las células que no se dividen, y que no están sintetizando material para la división celular, son consideradas fuera del ciclo celular (quiescentes en relación a la multiplicación celular). A esa fase se le asigna el símbolo G0. Las fases del ciclo celular son: G1 (GAP 1), S (síntesis de ADN), G2 (GAP 2) y M (mitosis).

Para que la célula pueda dividirse, 2 procesos son necesarios: (1) Duplicación del genoma (fase S por síntesis) y (2) División del genoma (fase M por mitosis). El intervalo entre M y S es llamado G1 (Gap 1). El intervalo entre S y M es llamado G2.

ATM

Junto a otros factores, la proteína ATM controla procesos celulares relevantes a la radiosensibilidad y, por tanto a la radioresistencia (p.ej., Viniestra et al. 2005). La proteína ATM está localizada principalmente en el núcleo celular (i.e., ATM es una proteína nuclear), mas puede ser encontrada en el citoplasma (ver Ludwig et al. 2013). Esta localización es el resultado de una secuencia de aminoácidos llamada señal de localización nuclear (NLS por nuclear localization signal), que está presente en el amino-terminal de ATM. Ese terminal es crucial no solo para a localización nuclear de ATM pero también para su asociación con la cromatina (Stracker et al. 2013). Como otras proteínas nucleares, la localización de ATM depende de otros factores no relacionados a NLS. Así, por ejemplo, la proteína nuclear NFκB (nuclear factor kappa B, con papel importante para el sistema de defensa de los organismos vivos) es retenida en el citoplasma ya que es secuestrada por la proteína inhibitoria IκB. Cuando IκB es fosforilada, se separa de NFκB y esta última consigue entrar en el núcleo a través del poro nuclear. Del mismo modo, la forma inactiva de ATM crea un multímero en el citoplasma. Una vez fosforilada/activada, el multímero es convertido a monómeros de ATM (ver McKinnon, 2005). De esta forma, ATM puede entrar en el núcleo celular a través de la única vía de transporte núcleo-citoplasmático directo: los poros nucleares (p.ej., Bustamante, 2005, 2006).

El gene alterado en esta enfermedad (ATM – acrónimo para el gene A-T mutado) fue identificado por Savitsky et al. (1995). La importancia del conocimiento sobre la proteína ATM, de su gene



Bustamante-Pérez, 2013

Figura 3: Estructura de 3 miembros de la familia PIKK: ATM, ATR y DNAPKcs.

Fuente: Autor

codificador, ATM, y de sus mecanismos de señalización, en relación al suceso de los métodos utilizados en el área de la FM (p.ej., radioterapia), ha sido demostrada (p.ej., Cesaretti et al. 2005). Gran parte del entendimiento de los mecanismos que usa las células humanas para responder a RI han resultado de investigaciones sobre A-T y ATM.

La proteína ATM es un miembro de la familia fosfatidilinositol 3-quinase (PIKK, por phosphatidylinositol 3-kinase-like protein kinase). ATM tiene similitud en su carboxy-terminal a los otros miembros de familia, también conocida como PI(3)K (por phosphatidylinositol-3-OH-kinase). Tres miembros de esta familia son activados por RI (y otros agentes que dañan el ADN): (1) ATM, (2) ATR (A-T-related and Rad3-related) y (3) DNA-PKcs (DNA-dependent protein kinase catalytic subunit) – ver, p.ej., McKinnon (2004); Falck et al. (2005). La Figura 3 ilustra la estructura lineal de los 3 miembros de la familia. Los miembros de la familia contienen dominios similares: (1) un dominio FAT, nombrado así porque es un motivo molecular común en otras proteínas relacionadas: FRAPP, ATM e TRRAP, (2) el dominio PI(3)K, usado inicialmente para clasificar ATM en la familia PI(3)K, y (3) el dominio FATC, que representa una secuencia de amino-ácidos (aa) en el terminal-C de la proteína. Los discos azules en la Fig. 3 indican señales de localización nuclear, NLSs, y el disco rosa indica la región de zíper de leucina dentro de la molécula de ATM.

Al igual que ATM, la DNA-PKcs responde a las quebras de dsDNA. En contraste, ATR es activada por quebras de ADN de filamentos simples o ssDNAs, y por tenedores de replicación de ADN sin actividad. Las 3 quinases son reclutadas para los locales dañados de ADN. Por tanto, está claro que ATM es relevante al tema de este artículo, a saber: RI en radioprotección, mutagénesis, etc (ver, p.ej., Krenzlin et al. 2012).

La RI de alta dosis (así como otros agentes físicos y químicos) resulta en la quebra de ADNs de doble filamento (dsDNA por double-stranded DNA). Esas rupturas de dsDNA (DSBs por double-stranded breaks) causan la rápida activación de ATM (p.ej., Stracker et al. 2013), a través de la regulación por el complejo MRN formado por MRE11, RAD50 y NBS1 (p.ej., Difilippantonio & Nussenzweig, 2007; Stracker et al. 2013). ATM también es regulada por la quinasa dependiente de ADN (DNA-PK, p.ej., Le et al. 2013).

El daño al ADN genómico, causado por RI y otros agentes físicos y químicos, ocurre en la vida cotidiana. Esos agentes inducen una serie de lesiones al ADN, incluyendo, entre otras, las rupturas de tipo DSBs. En la mayoría de los casos, el reparo del daño reconstituye la estructura fisiológica del ADN. No obstante, si el ADN no es reparado, la situación puede llevar a mutaciones de los genes, aberraciones cromosomales y, hasta transforma-

ción celular. Si la lesión del ADN no es reparada, la lesión interfiere con la replicación del ADN o con la segregación cromosomal (necesarias para la multiplicación de las células). Esto lleva a la muerte celular programada (p.ej., apoptosis). Por tanto, para que la célula sobreviva a la lesión del ADN, la respuesta celular deberá ser eficiente.

La respuesta celular es dirigida no solamente al reparo de la lesión pero también a la coordinación

de este reparo con el progreso de la célula a través del ciclo celular (incluyendo la división celular) y a la activación de los eventos de transcripción y traducción (de síntesis de ARN y proteínas) relacionados con este proceso global. Como mecanismo de protección adicional, las células de organismos multicelulares tienen la opción de activar el suicidio celular (apoptosis) en las células dañadas para evitar que esas células sean transformadas en células cancerosas. La selección de la respues-

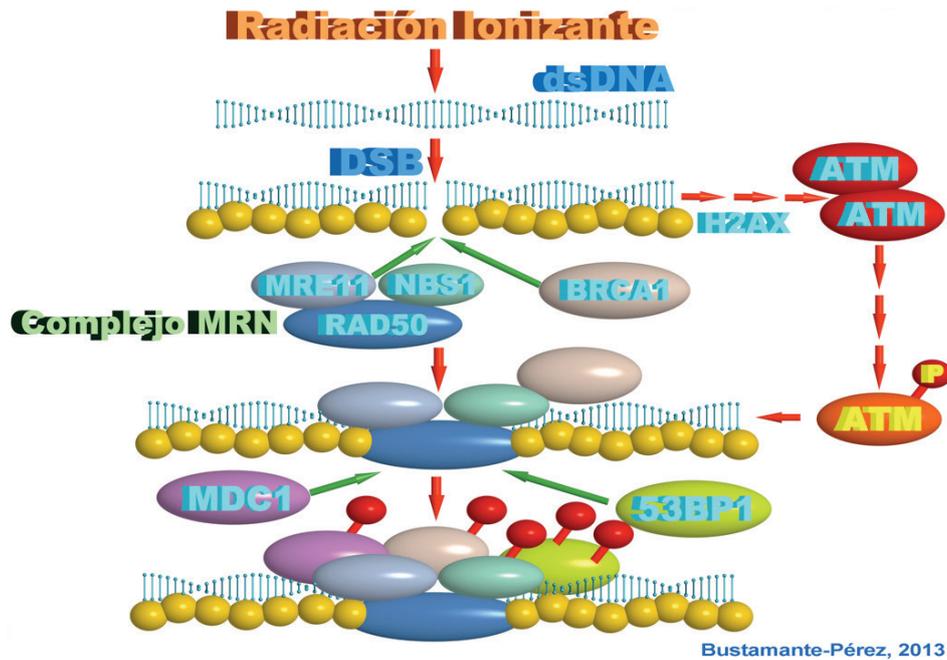


Figura 4: Señalización ATM en el Reparó de ADN.

Fuente: Autor

ta en cada caso depende del tipo de célula, la localización de ella, y la extensión del daño celular (ver Ludwig et al. 2013; Shiloh & Ziv, 2013).

La respuesta celular a las DSBs involucra un gran número de proteínas asociadas con los PMC del ciclo celular y de reparo, y responsables por: (1) detección de la lesión, (2) inactivación y activación de PMC, (3) reparo de la lesión, y (4) retomada del ciclo celular (ver, p.ej., Lisby et al. 2004). Muchas de esas proteínas son importantes para el reparo de otros tipos de daños del ADN. La importancia de los mecanismos de reparo de las DSBs para la preservación de la integridad genómica es enfatizada por su conservación a través de la evolución (ver Lisby et al. 2004, McKinnon, 2004). ATM se une de una forma mejor con ADN después que el ADN es sometido a la RI (ver Ludwig et al. 2013; Shiloh & Ziv, 2013). La Figura 4 (adaptada de McKinnon, 2004), ilustra el papel de ATM en el reparo de ADN. Las flechas rojas indican la secuencia

de los eventos: desde la aplicación de la RI (ADN intacto – parte superior de la Fig. 4) hasta la aplicación de la maquinaria de reparo del ADN (parte inferior de la Fig. 4). En respuesta a las DSBs, varios eventos ocurren para activar a la señalización ATM (i.e., señalización dependiente de ATM).

ATM existe como un complejo multimérico inactivo que, en respuesta a la lesión de ADN, sufre auto-fosforilación. Durante ese proceso, el multímero es transformado en monómero activo/fosforilado. La variante de histona H2AX, presente dentro de la cromatina, es fosforilada y sirve como una plataforma de anclaje para los factores de reparo del ADN. El complejo MRN (MRE11-RAD50-NBS1) se forma en el local de la lesión del ADN junto con BRCA1. La formación de este complejo facilita la co-localización coordinada de ATM junto con otros factores, incluyendo MDC1/NFBD1 y 53BP1. BRCA1, MDC1 y 53BP1 también son fosforilados en una forma que depende de

ATM. La formación de este complejo facilita la respuesta celular al DSB.

Regulación por ATM de los Puntos de Monitoreo/Chequeo del Ciclo Celular

Para mantener la integridad del genoma, las células han desarrollado los mecanismos de vigilancia y salvaguarda que llamamos puntos de monitoreo/chequeo, PMC, del ciclo celular. Esos PMC retardan y pueden interrumpir (cuando necesario) el ciclo celular, después de su activación por el ADN no replicado (i.e. multiplicado) o dañado. La activación del PMC G2-M impide la entrada de la célula a la fase M (mitosis o división celular), evitando así la reproducción de las anomalías celulares. La activación del PMC G2-M necesita de las funciones de las quinasas de los PMC ATM y ATR. Esas 2 proteínas activan muchas de las proteínas involucradas en la regulación del ciclo celular: P53, BRCA1, las quinasas de los PMC Chk1 y Chk2, etc. Esto trae como resultado el enlentecimiento o interrupción del ciclo celular (p.ej., Stracker et al. 2013). La activación de los PMC constituyen una respuesta integrada que involucra genes sensores (RAD, BRCA, NBS1), genes traductores (ATM, CHK), y genes efectores (p53, p21, CDK).

Una de las proteínas claves en las vías de monitoreo/chequeo es el producto del gene p53 (supresor de tumor): la proteína P53. El gene p53 coordina el reparo de ADN con la progresión del ciclo celular y apoptosis. En adición a otros mediadores de la respuesta de los PMC (quinasas CHK, P21), P53 media los dos PMC del ciclo celular que dependen de la lesión del ADN: (1) transición G1-S y (2) transición G2-M. La influencia de la primera transición es más directa y significativa. Para permitir el reparo del ADN dañado, la ATM activada retarda, y hasta interrumpe, el ciclo celular (ver, p.ej. Löbrich & Jeggo, 2005). Para esto, ATM activa proteínas de los 3 PMC del ciclo celular (G1-S, Intra-S y G2-M): 53BP1, BRCA1, BLM, P53, MDC1, NBS1, H2AX, RAD17, SMC1, etc. (p.ej., Falck et al. 2001; Goldberg et al. 2003; Lou et al. 2003; Kang et al. 2005). Se ha establecido que ATM también busca a la nucleasa Artemis y hasta funciona junto a ella (p.ej., Jeggo & Löbrich, 2005). Como consecuencia del control de los PMC del ciclo celular por ATM, después de un evento de RI, las células en A-T muestran una interrupción de los 3 PMC (G1-S, Intra-S y G2-M – ver, p.ej., Lavin & Khanna, 1999). Uno de los mecanismos que usa ATM para esto es la fosforilación de las quinasas de los PMC: Chk1 e Chk2. En células normales, cuando el mecanismo

de reparo del ADN dañado no opera adecuadamente, la célula normal pierde su estabilidad genética y puede transformarse en célula cancerosa (ver, p.ej., Burdak-Rothkamm & Prise, 2009).

La temporalización del inicio de la replicación (multiplicación) de ADN depende de la quinasa promotora de la fase S del ciclo celular o SPK (por S-phase promoting kinase). La lesión de ADN impide la activación de SPK usando la inhibición (dependiente de ATM y ATR) de Cdk2 y Cdc7. Las vías de señalización de ATM y ATR operan durante el ciclo celular normal para regular el inicio y progresión de la síntesis de ADN y, por tanto, tienen la capacidad de impedir la replicación del ADN en la presencia del daño de ADN (p.ej., Smith et al. 2010). Como es el caso para muchas otras proteínas, la activación/fosforilación de ATM requiere una fosfatasa para su desfosforilación ya que la célula no puede mantener ATM activo todo el tiempo (fosfatasa 2A o PP-2A – p.ej., Goodarzi et al. 2004).

La fase del ciclo celular es uno de los determinantes de la radiosensibilidad celular (lei de Bergonié-Trebondeau). Así, el orden de radiosensibilidad de las células, en función del ciclo celular es: (1) transición G2-M, (2) fase G1, y (3) parte final de la fase S. Este conocimiento ha llevado a la conclusión de que la radioterapia funciona mejor en células que sincronizadas en la fase más radiosensible del ciclo celular. La activación de P53 por la RI depende de ATM (Chen et al. 2005). MDM2 y MDMX son reguladores importantes de P53 y, por tanto, son blancos para las señales de estrés.

Punto de Monitoreo/Chequeo G1-S. En A-T, el PMC G1-S es deficiente. Esta deficiencia parece ser causada principalmente por un defecto en la fosforilación (dependiente de ATM) de la proteína P53. La noción de que P53 es un blanco de ATM fue introducida por Kastan et al. (1992). Esos investigadores demostraron que como respuesta a la RI, las células de pacientes con A-T carecían de estabilización de P53 y del PMC G1-S (mediado por P53). En células de A-T, la respuesta de P53 ocurre con cinética reducida y retardada (Kaliberov & Buchsbaum, 2012). Aún más, las células de homocigotes A-T demostraron el defecto en la respuesta de P53 a la luz ultravioleta, sugiriendo que diferentes tipos de daño de ADN pueden señalar diferentemente a P53 y que, después de un asalto a la célula con RI, ATM es específicamente requerido para la estabilización de P53 (Kaliberov & Buchsbaum, 2012). Los datos experimentales sugieren que ATM y ATR actúan en paralelo en respuesta al daño del ADN, teniendo las dos proteínas varios puntos de contacto, pero respondiendo principalmente a diferentes tipos de daño del ADN (Ludwig et al. 2013). La Figura 5

ilustra cómo ATM, y su blanco Chk2 (que también depende de ATM para su activación), pueden actuar en sincronía para garantizar una óptima estabilización y activación de P53.

Punto de Monitoreo/Chequeo Intra-S. La activación del PMC de la fase S (i.e. Intra-S) es manifestada como una retardo en la síntesis de ADN replicativo en respuesta a la lesión del ADN. En A-T, las células tienen un PMC de

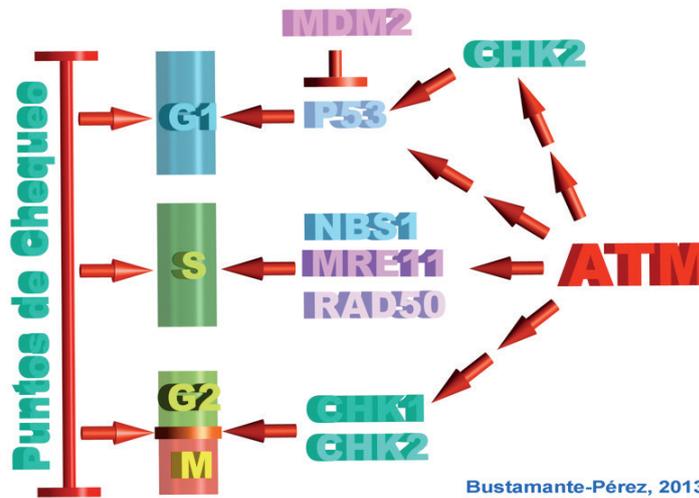


Figura 5: Control del ciclo celular por ATM.
Fuente: Autor

la fase S que es deficiente, lo que es demostrado por la radioresistencia de la síntesis de ADN. Esas características también son observadas en células de pacientes con NBS y enfermedades relacionadas a A-T (AT-LD por A-T like disorder). La identificación de NBS1/Nibrina (el producto del gene deficiente en NBS), como parte de un complejo con MRE11 y RAD50, dio la primera conexión entre el complejo MRE11 y el PMC a la fase S (p.ej., Carney et al. 1998). La superposición entre los fenotipos de A-T, NBS y AT-LD sugiere que el complejo MRE11 funciona en el mismo camino de señalización que ATM (p.ej., Ludwig et al. 2013; Shiloh & Ziv, 2013). Esta hipótesis es apoyada por el hecho de que ATM fosforila Nibrina y que las mutaciones de este local de fosforilación interrumpen el PMC de la fase S (p.ej., Ludwig et al. 2013; Shiloh & Ziv, 2013).

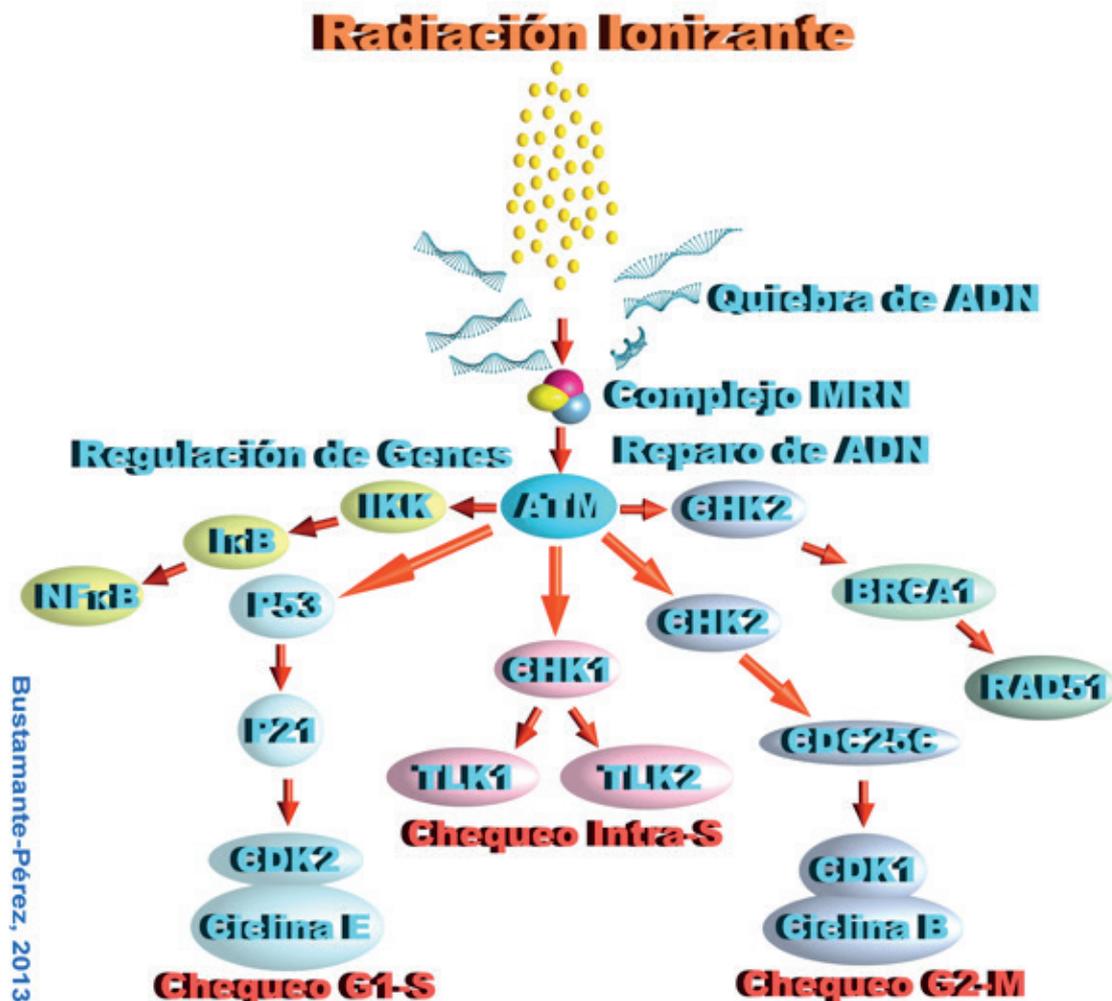
Punto de Monitoreo/Chequeo G2-M. Cuando las lesiones del ADN ocurren durante la fase G2, este punto impide el que las células entren en la fase de mitosis (M). A diferencia de las células normales, las células en A-T no consiguen parar su entrada en la fase M cuando irradiadas durante G2. La RI estimula la fosforilación/activación de Chk1 y Cds1/Chk2. La activación de Chk2 depende de ATM (p.ej., Ludwig et al. 2013). Aparte de eso, ATM puede activar directamente Chk2, lo que parece ser requerido para una mayor activación de Chk2 después de RI (ver Ludwig et al. 2013; Shiloh & Ziv, 2013). La Fig. 6 ilustra un esquema simplificado de las relaciones entre ATM, sus factores estimuladores (i.e. complejo MRN) y algunos de sus

blancos moleculares. Note que las flechas indican conexión entre ATM y factores relacionados. Así, por ejemplo, MRN antecede a la activación de ATM y esta última antecede a la activación del factor de transcripción NFκB.

Conclusión

El papel que ATM desempeña en el reparo del daño de ADN causado por las RI demuestra la complejidad del análisis de los efectos a largo plazo de la radiación ambiental causada por el desastre de Fukushima. Los mecanismos de señalización relacionados con ATM permiten entender la complejidad de los efectos colaterales de las RI (p.ej., Fernet & Hall, 2004). El avance en el área de la genómica y de la ingeniería genética permite que en el futuro próximo sea posible anticipar la radiosensibilidad de individuos a partir de la genómica y que sea posible tratar la radiosensibilidad a través por medio de ingeniería genética (ver, p.ej., Gueven et al. 2006).

Las revelaciones por miembros del gobierno japonés y de la industria nuclear japonesa de que no fueron honestos con el pueblo en relación a la información dada al mundo sobre el nivel de daño causada en el desastre de Fukushima (y por eso obtuvieron la sede de los próximos Juegos Olímpicos), nos alerta a estar vigilantes y resueltos a solicitar con firmeza a nuestros gobiernos que comiencen a tomar acción para contrarrestar la contaminación tóxica-y-radio-lógica causada por la liberación de los elementos



Bustamante-Pérez, 2013

Figura 6: Esquema simplificado de la relación entre RI, ATM y sus estímulos y blancos moleculares.
Fuente: Autor

más mortíferos conocidos por la humanidad: plutonio, uranio, etc (ver Bustamante Pérez, 2013). La Universidad de Guayaquil (UG) está en un proceso de re-estructuración y planificación para el futuro próximo. Fukushima ofrece una gran y única oportunidad para implementar programas académicos de enseñanza e investigación, que ayudan a proteger la costa Ecuatoriana y todo nuestro país (ver Bustamante, 2013). Este esfuerzo resultará, sin duda, en reconocimiento nacional e internacional de la UG^{III}.

Desde mi llegada a Guayaquil, he encontrado con frecuencia vegetales deformados. La Figura 7 ilustra unas muestras compradas por mí. Si las defor-

maciones genéticas son debidas a RI o a tóxicos usados en la agroindustria es imposible determinar en este momento porque, desde mi llegada a Ecuador en Noviembre de 2012, he tratado sin éxito de encontrar a alguien que me preste instrumentos portátiles para medir la radiación ambiental. Esta es una de las razones que me han motivado a proponer Programas Estratégicos de Investigación y Vinculación con la Sociedad que incluyan monitoreo de la radioactividad ambiental. Este esfuerzo puede ser coordinado con el Programa de Biofísica de la Escuela Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), programa con quien el autor ya ha discutido proyectos de colaboración sobre este tema.

^{III} No podemos tomar la palabra de los gobernantes del Japón y de la industria nuclear como honestas. Ya nos han engañado lo suficiente. En Ecuador tenemos el caso de la catástrofe ambiental y secuela de Salud Pública dejada por Chevrón. En Vietnam, Laos y Cambodia, tuvimos el Agente Naranja que, aparte de haber causado una catástrofe ambiental en Indochina, dejó la secuela de malformaciones teratogénicas. En Iraq todavía tenemos la catástrofe ambiental y secuela de malformaciones causadas por los EUA y aliados usando desecho radioactivo como arma militar (desecho llamado cariñosamente como uranio empobrecido o DU - ver Bustamante Pérez, 2013). No tenemos el lujo de permanecer pasivos y apáticos ante tal ataque ambiental por los geo-ingenieros del mundo, que nos imponen impuestos de carbón y nos empujan la propaganda del efecto estufa, mientras dispersan radioactividad por el mundo entero.

A**B**

Figura 7: Tomates comprados por el autor en Guayaquil durante 2013.

Fuente: Autor

Reconocimientos

El autor es beneficiado por el Proyecto Becas Prometeo de la Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación (SENESCYT), República del Ecuador. El autor, por tan-

to, desea extender su agradecimiento por tal honor y privilegio. El autor ofrece su gratitud al Proyecto Becas Prometeo por revisar el manuscrito y hacer recomendaciones para su versión final antes del envío del manuscrito a esta Revista¹.

Bibliografía

1. Alsbeih G, El-Sebaie M, Al-Harbi N, Al-Hadyan K, Shoukri M, Al-Rajhi N. 2013. SNPs in genes implicated in radiation response are associated with radiotoxicity and evoke roles as predictive and prognostic biomarkers. *Radiat. Oncol.* 8: 125.
2. Anderson PD, Bokor G. (2013). Nuclear and radiological terrorism: continuing education article. *J. Pharm. Pract.* 26(3):171-82.
3. Azzam EI, Jay-Gerin JP, Pain D. (2012). Ionizing radiation-induced metabolic oxidative stress and prolonged cell injury. *Cancer Lett.* 327(1-2): 48-60.
4. Bentzen SM, Overgaard M. (1991). Relationship between early and late normal-tissue injury after postmastectomy radiotherapy. *Radiother. Oncol.* 20(3): 159-165.
5. Burdak-Rothkamm S, Prise KM. (2009). New molecular targets in radiotherapy: DNA damage signaling and repair in targeted and non-targeted cells. *Eur. J. Pharmacol.* 625(1-3): 151-155.
6. Bustamante JO. (2005). Research methodologies for the investigation of cell nucleus. En: *Nuclear Import and Export In Plants and Animals*. Editores: Tzfira T & Citovsky V. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, pp. 206-224.
7. Bustamante JO. (2006). Current concepts in nuclear pore electrophysiology. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 84(3-4): 347-365.
8. Bustamante Pérez JO. (2013). Canal José Pérez de YouTube. Canal creado por el autor de este artículo para albergar videos y artículos relevantes a este trabajo (dado el número rápidamente creciente de referencias bibliográficas). Ver Listas de Reproducción en la sección del canal denominada Acerca de (i.e., que contiene la descripción del canal). Consultado el 17 de noviembre de 2013 en: http://www.youtube.com/channel/UCxK7ttV_kq6BwXK8QFZr-8A
9. Byrd PJ, Srinivasan V, Last JI, Smith A, Biggs P, Carney EF, Exley A, Abson C, Stewart GS, Izatt L, Taylor AM. (2012). Severe reaction to radiotherapy for breast cancer as the presenting feature of ataxia telangiectasia. *Br. J. Cancer* 106(2): 262-268.
10. Carney JP, Maser RS, Olivares H, Davis EM, Le Beau M, Yates JR3rd, Hays L, Morgan WF, Petrini JH.

¹ El lector debe notar la incorporación del apellido de mi madre Pérez en mi nombre. Esto se debe al hecho de que cuando me mudé para Canadá en 1978, los oficiales del servicio de inmigración me dijeron que solamente se usaba un apellido en Canadá. Cuando viví en Brasil (1997-2009), no tuve la oportunidad porque en Brasil, el segundo apellido es el del padre. Como ahora vivo en Ecuador, aprovecho esta oportunidad para honrar a mi fallecida madre reincorporando su apellido a mi nombre original.

- (1998). The hMre11/hRad50 protein complex and Nijmegen breakage syndrome: linkage of double-strand break repair to the cellular DNA damage response. *Cell* 93(3): 477-486.
11. Cesaretti JA, Stock RG, Lehrer S, Atencio DA, Bernstein JL, Stone NN, Wallenstein S, Green S, Loeb K, Kollmeier M, Smith M, Rosenstein BS. (2005). ATM sequence variants are predictive of adverse radiotherapy response among patients treated for prostate cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 61(1): 196-202.
 12. Chen L, Gilkes DM, Pan Y, Lane WS, Chen J. (2005). ATM and Chk2-dependent phosphorylation of MDMX contribute to p53 activation after DNA damage. *EMBO J.* 24(19): 3411-3422.
 13. Chua ML, Rothkamm K. (2013). Biomarkers of radiation exposure: can they predict normal tissue radiosensitivity? *Clin. Oncol. (R. Coll. Radiol.)* 25(10): 610-616.
 14. Difilippantonio S, Nussenzweig A. (2007). The NBS1-ATM connection revisited. *Cell Cycle* 6(19): 2366-2370.
 15. Falck J, Coates J, Jackson SP. (2005). Conserved modes of recruitment of ATM, ATR and DNA-PKcs to sites of DNA damage. *Nature* 434(7033): 605-611.
 16. Falck J, Mailand N, Syljuasen RG, Bartek J, Lukas J. (2001). The ATM-Chk2-Cdc25A checkpoint pathway guards against radioresistant DNA synthesis. *Nature* 410(6830): 842-847.
 17. Fang Z, Kozlov S, McKay MJ, Woods R, Birrell G, Sprung CN, Murrell DF, Wangoo K, Teng L, Kearsley JH, Lavin MF, Graham PH, Clarke RA. (2010). Low levels of ATM in breast cancer patients with clinical radiosensitivity. *Genome Integr.* 1(1): 9. doi: 10.1186/2041-9414-1-9.
 18. Fernet M, Hall J. (2004). Genetic biomarkers of therapeutic radiation sensitivity. *DNA Repair (Amst)* 3(8-9):1237-1243.
 19. Girard P-M, Foray N, Stumm M, Waugh A, Riballo E, Maser RS, Phillips WP, Petrini J, Arlett CF, Jeggo PA. (2000). Radiosensitivity in Nijmegen breakage syndrome cells is attributable to a repair defect and not cell cycle checkpoint defects. *Cancer Res.* 60(17): 4881-4888.
 20. Goldberg M, Stucki M, Falck J, D'Amours D, Rahman D, Pappin D, Bartek J, Jackson SP. (2003). MDC1 is required for the intra-S-phase DNA damage checkpoint. *Nature* 421(6926): 952-956.
 21. Goodarzi AA, Jonnalagadda JC, Douglas P, Young D, Ye R, Moorhead GB, Lees-Miller SP, Khanna KK. (2004). Autophosphorylation of ataxia-telangiectasia mutated is regulated by protein phosphatase 2A. *EMBO J.* 23(22): 4451-4461.
 22. Gueven N, Fukao T, Luff J, Paterson C, Kay G, Kondo N, Lavin MF. (2006). Regulation of the Atm promoter in vivo. *Genes Chromosomes Cancer* 45(1):61-71.
 23. Haber AH, Rothstein BE. (1969). Radiosensitivity and rate of cell division: "law of Bergonie and Tribondeau". *Science* 163(3873): 1338-1339.
 24. Helt CE, Cliby WA, Keng PC, Bambara RA, O'Reilly MA. (2005). Ataxia telangiectasia mutated (ATM) and ATM and Rad3-related protein exhibit selective target specificities in response to different forms of DNA damage. *J. Biol. Chem.* 280(2): 1186-1192.
 25. Jeggo PA, Löbrich M. (2005). Artemis links ATM to double strand break rejoining. *Cell Cycle* 4(3): 359-362.
 26. Kaliberov SA, Buchsbaum DJ. (2012). Chapter 7: Cancer treatment with gene therapy and radiation therapy. *Adv. Cancer Res.* 115: 221-263.
 27. Kang J, Ferguson D, Song H, Bassing C, Eckersdorff M, Alt FW, Xu Y. (2005). Functional interaction of H2AX, NBS1, and p53 in ATM-dependent DNA damage responses and tumor suppression. *Mol. Cell. Biol.* 25(2): 661-670.
 28. Kastan MB, Zhan O, El-Deiry WS, Carrier F, Jacks T, Walsh WV, Plunkett BS, Vogelstein B, Fornace AJ. (1992). A mammalian cell cycle checkpoint pathway utilizing p53 and GADD45 is defective in ataxia-telangiectasia. *Cell* 71(4): 587-597.
 29. Krenzlin H, Demuth I, Salewsky B, Wessendorf P, Weidele K, Bürkle A, Digweed M. (2012). DNA damage in Nijmegen Breakage Syndrome cells leads to PARP hyperactivation and increased oxidative stress. *PLoS Genet.* 8(3): e1002557.
 30. Lavin MF, Khanna KK. (1999). ATM: the protein encoded by the gene mutated in the radiosensitive syndrome ataxia-telangiectasia. *Int J Radiat Biol.* 75(10): 1201-1214.
 31. Le PN, Maranon DG, Altina NH, Battaglia CL, Bailey SM. (2013). TERRA, hnRNP A1, and DNA-PKcs Interactions at Human Telomeres. *Front Oncol.* 3: 91. doi: 10.3389/fonc.2013.00091.
 32. Liang N, Jia L, Liu Y, Liang B, Kong D, Yan M, Ma S, Liu X. 2013. ATM pathway is essential for ionizing radiation-induced autophagy. *Cell Signal* 25(12):2530-2539.
 33. Lisby M, Barlow JH, Burgess RC, Rothstein R. (2004). Choreography of the DNA damage response: spatiotemporal relationships among checkpoint and repair proteins. *Cell* 118(6): 699-713.

34. Löbrich M, Jeggo PA. (2005). Harmonising the response to DSBs: a new string in the ATM bow. *DNA Repair (Amst)* 4(7): 749-759.
35. Lomax ME, Folkes LK, O'Neill P. (2013). Biological consequences of radiation-induced DNA damage: relevance to radiotherapy. *Clin. Oncol. (R. Coll. Radiol.)* 25(10): 578-585.
36. Lou Z, Chini CC, Minter-Dykhouse K, Chen J. (2003). Mediator of DNA damage checkpoint protein 1 regulates BRCA1 localization and phosphorylation in DNA damage checkpoint control. *J. Biol. Chem.* 278(16): 13599-13602.
37. Ludwig LB, Valiati VH, Palazzo RP, Jardim LB, da Rosa DP, Bona S, Rodrigues G, Marroni NP, Prá D, Maluf SW. (2013). Chromosome instability and oxidative stress markers in patients with ataxia telangiectasia and their parents. *Biomed. Res. Int.* 2013: 762048.
38. McKinnon PJ. (2004). ATM and ataxia telangiectasia. *EMBO Rep.* 5(8): 772-776.
39. Morgan JL, Holcomb TM, Morrissey RW. (1968). Radiation reaction in ataxia telangiectasia. *Am. J. Dis. Child.* 116(5): 557-558.
40. Savitsky K, Bar-Shira A, Gilad S, Rotman G, Ziv Y, Vanagaite L, Tagle DA, Smith S, Uziel T, Sfez S, Ashkenazi M, Pecker I, Frydman M, Harnik R, Patanjali SR, Simmons A, Clines GA, Sartiel A, Gatti RA, Chessa L, Sanal O, Lavin MF, Jaspers NGJ, Taylor MR, Arlett CF, Miki T, Weissman SM, Lovett M, Collins FS, Shiloh Y. (1995). A single ataxia-telangiectasia gene with a product similar to PI-3 kinase. *Science* 268(5218): 1749-1753. Shiloh Y, Ziv Y. (2013). The ATM protein kinase: regulating the cellular response to genotoxic stress, and more. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 14(4): 197-210.
41. Short SC, Bourne S, Martindale C, Woodcock M, Jackson SP. (2005). DNA damage responses at low radiation doses. *Radiat. Res.* 164(3): 292-302.
42. Smith J, Tho LM, Xu N, Gillespie DA. (2010). The ATM-Chk2 and ATR-Chk1 pathways in DNA damage signaling and cancer. *Adv. Cancer Res.* 108: 73-112.
43. Stracker TH, Roig I, Knobel PA, Marjanovic M. (2013). The ATM signaling network in development and disease. *Front Genet.* 2013 Mar 25;4:37. doi: 10.3389/fgene.2013.00037.
44. Taylor AMR, Harnden DG, Arlett CF, Harcourt SA, Lehmann AR, Stevens S, Bridges BA. (1975). Ataxia-telangiectasia: a human mutation with abnormal radiation sensitivity. *Nature* 4(5534): 427-429.
45. Tobi SE, Moquet JE, Edwards AA, Lloyd DC, Itzhaki RF. (1990). Chromosomal radiosensitivity of lymphocytes from Alzheimer's disease patients. *J Med Genet.* 27(7):437-40.
46. Viniegra JG, Martinez N, Modirassari P, Losa JH, Parada Cobo C, Lobo VJ, Luquero CI, Alvarez-Vallina L, Ramon y Cajal S, Rojas JM, Sanchez-Prieto R. (2005). Full activation of PKB/Akt in response to insulin or ionizing radiation is mediated through ATM. *J. Biol. Chem.* 280(6): 4029-4036.



◀ **José O. Bustamante Pérez, PhD.**

*Investigador Prometeo Viejo Sabio
 Proyecto Becas Prometeo - SENESCYT
 Escuela de Medicina, Universidad de Guayaquil
 Bustamante.Perez.Prometeo@Outlook.Com
 Bustamante.Perez.Prometeo@Gmail.Com
 Telf. 098-626-8100*