

SITUSURILE FRAGILE ȘI PATOLOGIA UMANĂ

Șef lucr. dr. Daniela Diaconescu¹, as.univ.dr. Radu-Sorin Diaconescu¹,
dr. Andreea Drilea-Marga², as.univ.dr. Sebastian Toma¹

¹Universitatea „Transilvania” din Brașov, Facultatea de Medicină

²Policlinica de Diagnostic Rapid, Brașov

Abstract:

Fragile sites (FSs) are heritable gaps and breaks in chromosomes generated *in vivo* or by specific culture conditions. They are classified as rare or common depending on their frequency within the population. For the human genome there are 31 rare FSs and 88 common FSs identified. Several rare or common FSs have been molecularly characterized, but few have been studied extensively.

The aim of this study was to summarize the most important and extensive studied FSs and their relation to human pathology.

Keywords: fragile site, genes; tumour suppressor genes; disease, cancer

Introducere

Termenul „situs fragil”, introdus de către Frederick Hecht în anul 1969, desemnează o zonă de rezistență scăzută, transmisibilă ereditar, situată într-un punct specific în lungul cromozomului, la nivelul căruia, *in vivo* sau în anumite condiții de cultură, pot să apară „lacune” și rupturi. Situsurile fragile (SF) au fost clasificate, în funcție de frecvența lor în populație, în rare și comune. SF au fost subdivizate, la rândul lor, în funcție de tipul factorilor inductori ai acestei fragilități, în SF rare sensibile sau insensibile la acid folic, respectiv SF comune induse de aphidicolin sau bromdeoxiuridină. Proprietatea comună tuturor factorilor care generează fragilitate cromozomială o constituie capacitatea lor de a inhiba elongarea lanțului ADN în timpul procesului de replicare, îndeosebi la nivelul SF [10, 11].

În genomul uman sunt descrise până în momentul de față 31 SF rare și 88 SF comune [4], numărul real al acestora fiind încă necunoscut.

Majoritatea SF sunt considerate markeri normali. Excepție face SF FRAXA, situat pe brațul lung al cromozomului X (Xq27), asociat cu retardul mental (sindromul X fragil). Studii recente sugerează că unele situsuri ar putea avea un rol în progresia tumorală, rupturile în aceste situsuri inactivând unele gene supresoare ale tumorilor [3].

SF rare

SF rare sunt întâlnite în populația umană în procent de sub 5% și au tendință de agregare

familială. Majoritatea sunt induse de deficitul în acid folic, restul fiind consecința atașării unor substanțe la nivelul șanțului mic al dublului helix ADN [20].

O serie de SF sensibile la acid folic (FRA10A, FRA11B, FRA12A, FRA16A, FRAXA, FRAXE, FRAXF), respectiv insensibile la acid folic (FRA10B, FRA16B) au fost caracterizate din punct de vedere molecular. S-a constatat că toate reprezintă expansiuni ale unor secvențe de ADN repetitiv ca rezultat al unor mutații dinamice ce interesează repetițiile normale polimorfice CCG/CGG în cazul SF sensibile, respectiv repetițiile minisatelitare bogate în dinucleotidul AT în cazul SF insensibile la acid folic. S-a demonstrat că expansiunea ADN repetitiv are drept consecință, în primul rând, formarea, în anumite condiții, a unor structuri secundare stabile diferite de forma B (bucle intracatenare, structuri tetra-helicoidale), precum și o flexibilitate exagerată a secvențelor repetitive, în ambele situații fiind afectată dinamica procesului de replicare; în al doilea rând, expansiunile reduc eficiența asamblării nucleozomilor, producând anomalii ale decondensării vizibile sub formă de SF [6, 10, 14].

În tabelul 1 și tabelul 2 sunt prezentate cele mai bine studiate SF, genele asociate și locii cromozomiali ocupați de aceste gene la nivelul SF, precum și bolile asociate disfuncției acestor gene.

| Denumire | Locus | Gena asociată | Boli asociate |
|----------|---------|---|--|
| FRA11B | 11q23.3 | <i>CBL2</i> (calcineurin B-like protein 2) | Sindrom Jacobsen [3, 10] |
| FRAXA | Xq27.3 | <i>FMR1</i> (fragile X mental retardation 1) | Retard mental familial legat de X (sindrom X-fragil) [3, 10] |
| FRAXE | Xq28 | <i>FMR2</i> (fragile X mental retardation 2) | Retard mental legat de X nespecific [10] |
| FRAXF | Xq28 | <i>FAM11A</i> (family with sequence similarity 11 member A) | Retard mental legat de X nespecific [10] |

Tabel 1. Exemple de SF rare insensibile la acid folic

SF comune

SF comune sunt considerate structuri normale ale genomului uman, prezente la toții indivizii populației umane. Majoritatea SF comune sunt induse de aphidicolin, un inhibitor specific al ADN polimerazelor α și δ . În urma dobândirii fragilității, situsurile sunt implicate în recombinare intercromatidiană, deleții și translocății, amplificări genice, integrări plasmidice [6, 20].

Analiza moleculară a unor SF comune induse de aphidicolin (FRA2G, FRA3B, FRA4F, FRA6E, FRA6F, FRA7E, FRA7G, FRA7H, FRA7I, FRA8C, FRA9E, FRA16D, FRAXB) a arătat că acestea reprezintă arii

relativ bogate în AT, fără a prezenta secvențe repetitive amplificate. Analizând caracteristicile structurale ale ADN la nivelul unora dintre aceste SF (FRA2G, FRA3B, FRA6F, FRA7E, FRA7G, FRA7H, FRA7I, FRA16D, FRAXB) s-a constatat că ele conțin mai multe zone cu flexibilitate marcată a ADN și mai multe insule bogate în dinucleotidele AT comparativ cu regiunile învecinate nefragile [6,10].

SF comune prezintă un interes deosebit pentru studiile asupra cancerului, deoarece sunt frecvent alterate în procesul malign și sunt prezente la indivizi sănătoși [14].

| Denumire | Locus | Gena asociată | Boli asociate |
|----------|------------|---|--|
| FRA13A | 13q13.2 | <i>NBEA</i> (neurobeachin) | Tulburări neuropsihice [16] Gamapatii monoclonale benigne, mielom multiplu [13] |
| FRA15A | 15q22.2 | <i>RORA</i> (RAR-related orphan receptor A) | Cancer mamar, ovarian, prostatic [19] |
| FRA1B | 1p32-31 | <i>DABI</i> (disabled homolog 1) | Schizofrenie, autism, lisencefalie și alte boli ale sistemului nervos [12,17] |
| FRA3B | 3p14.2 | <i>FHIT</i> (Fragile histidine triad) | Cancer tract gastrointestinal, cervical, pulmonar, mamar [2,17] |
| FRA4B | 4q12 | <i>FIP1L1/PDGFRα</i> (Fip1-like1 / platelet-derived growth factor receptor alpha) | Leucemie cronică cu eozinofile [9] |
| FRA2F | 2q21.3 | <i>LRP1B</i> (low density lipoprotein-related protein 1B) | Cancer urotelial [8] |
| FRA6E | 6q25–27 | <i>PARKIN2</i> | Boala Parkinson tip 2 (juvenil, autozomal recesiv) [17] |
| FRA7I | 7q35 | <i>CNTNAP2</i> (Contactin associated protein-like 2) | Autism [1], schizofrenie, epilepsie [5] |
| FRA11F | 11q14.1 | <i>DLG2</i> (discs large homolog 2) | Oncocitom renal [21] |
| FRA16D | 16q23.1 | <i>WWOX</i> (WW domain containing oxidoreductase) | Cancer mamar, prostatic, pulmonar și esofagian cu celule scuamoase [3] |
| FRA18C | 18q22-qter | <i>DOK6</i> (Docking protein 6) | Sindrom Beckwith–Wiedemann [3] |
| FRA22B | 22q12.3 | <i>LARGE</i> (human like-acetylglucosaminyltransferase) | Distrofie musculară congenitală [7,18] |
| FRAXC | Xq22.1 | <i>DMD</i> (Duchenne muscular dystrophy) <i>IL1RAPL1</i> (interleukin 1 receptor accessory protein-like 1) | Distrofie musculară Duchenne Retard mental X-linkat [17] |
| GRID2 | 4q22.3 | <i>GRID2</i> (glutamate receptor ionotropic delta 2) | Cancer hepatic [15] |

Tabel 2. Exemple de SF comune induse de aphidicolin

În ciuda numeroaselor progrese recente înregistrate în elucidarea funcției normale, a mecanismelor generatoare și a rolului în patologie a SF, datele sunt în continuare insuficiente, necesitând studii suplimentare.

Bibliografie

- Arking D.E., Cutler D.J., Brune C.W., Teslovich T.M., West K., Ikeda M., Rea A., Guy M., et al. - A common genetic variant in the neurexin superfamily member CNTNAP2 increases family risk for autism, *Am J Hum Genet*, 2008, 82(1), 160-164.
- Bianchi F., Tagliabue E., Ménard S., Campiglio M. - Fhit expression protects against HER2-driven breast tumor development: unraveling the molecular interconnections, *Cell Cycle*, 2007, 6(6), 643-646.
- Debacker K., Kooy R.F. - Fragile sites and human disease, *Hum Mol Genet*, 2007, 16(R2), 150-158.
- Fechter A., Buettel I., Kuehnel E., Schwab M., Savelyeva L. - Cloning of genetically tagged chromosome break sequences reveal new fragile sites at 6p21 and 13q22, *Int J Cancer*, 2007, 120(11), 2359-2367.
- Friedman J.I., Vrijenhoek J.I., Mark X.S., Janssen I.M., Van der Vliet W.A., Faas B.H.W., Knoers N.V., et al. - CNTNAP2 gene dosage variation is associated with schizophrenia and epilepsy, *Mol psychiatry*, 2008, 13(3), 261-266.
- Glover T.W., Arlt M.F., Casper A.M., Durkin S.G. - Mechanisms of common fragile site instability, *Hum Mol Genet*, 2005, 14(Spec No), R197-205.
- Kanagawa M., A. Nishimoto A., Chiyonobu T., Takeda S., Miyagoe-Suzuki Y., Wang F., Fujikake N., Taniguchi M., et al. - Residual laminin-binding activity and enhanced dystroglycan glycosylation by LARGE in novel model mice to dystroglycanopathy, *Hum Mol Genet*, 2009, 18, 621-631
- Langbein S., Szakacs O., Wilhelm M., Sukosd F., Weber S., Jauch A., Lopez-Beltran A., Alken P., Kalble T., Kovacs G. - Alteration of the LRP1B gene region is associated with high grade of urothelial cancer, *Lab Invest*, 2002, 82, 639-643.
- Loules G., Kalala F., Giannakoulas N., Papadakis E., Matsouka P., Speletas M. - FIP1L1-PDGFR α molecular analysis in the differential diagnosis of eosinophilia, *BMC Blood Disorder*, 2009, 9, 1.
- Lukusa T., Fryns J.P. - Human chromosome fragility, *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1779(1), 3-16.
- McAvoy S., Ganapathiraju S.C., Ducharme-Smith A.L., Pritchett J.R., Kosari F., Perez D.S., Zhu Y., James C.D., Smith D.I. - Non-random inactivation of large common fragile site genes in different cancers, *Cytogenet Genome Res*, 2007, 118(2-4), 260-269.
- McAvoy S., Zhu Y., Perez D.S., James C.D., Smith D.I. - Disabled-1 is a large common fragile site gene, inactivated in multiple cancers. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 2007, 47(2), 165-174.
- O'Neal J., Gao F., Hassan A., Monahan R., Barrios S., Lee I., Chng W.J., Vij R., Tomasson M.H. - Neurobeachin (NBEA) is a target of recurrent interstitial deletions at 13q13 in patients with MGUS and multiple myeloma. *Exp Hematol*, 2009, 37(2), 234-244.
- Pichiorri F., Ishii H., Okumura H., Trapasso F., Wang Y., Huebner K. - Molecular parameters of genome instability: roles of fragile genes at common fragile sites. *J Cell Biochem*, 2008, 104(5), 1525-1533.
- Rozier L., El-Achkar E., Apiou F., Debatisse M. - Characterization of a coserved aphidicolin-sensitive common fragile site at human 4q22 and mouse 6C1: possible association with an inherited disease and cancer. *Oncogene*, 2004, 23(41), 6872-6880.
- Savelyeva L., Sagulenko E., Schmitt J., Schwab M. - Low-frequency common fragile sites: Link to neuropsychiatric disorders?, *Cancer Letters*, 2009, 232(1), 58-69.
- Smith D.I., Zhu Y., McAvoy S., Kuhn R. - Common fragile sites, extremely large genes, neural development and cancer, *Cancer Letters*, 2006, 232(1), 48-57.
- Yanagisawa A., Bouchet C., Van den Bergh P.Y.K., Cuisset J.M., Viollet L., Leturcq F., Romero N.B., Quijano-Roy S., et al. - New POMT2 mutations causing congenital muscular dystrophy: Identification of a founder mutation, *Neurology*, 2007, 69, 1254-1260
- Zhu Y., McAvoy S., Kuhn R., Smith D.I. - RORA, a rare common fragile site gene, is involved in cellular stress response, *Oncogene*, 2006, 25(20), 2901-2908.
- Zlotorynski E., Rahat A., Skaug J., Ben-Porat N., Ozeri E., Hershberg R., Levi A., Scherer S.W., Margalit H., Kerem B. - Molecular basis for expression of common and rare fragile sites, *Mol Cell Biol*, 2003, 23(20), 7143-7151.
- Zubakov D., Stupar Z., Kovacs G. - Differential expression of a new isoform of DLG2 in renal oncocyoma, *BMC*, 2006, 6, 106.