

Osotasun genomikoa hertsiki babesturik dago zelularen zaintza-mekanismoei esker, baina horien erregulazio ezak DNA molekularen kaltea, ezegonkortasun genomikoa eta zelulen asaldura patologikoa bultzatzen ditu. Ondorioz, zahartzaroa, minbizia eta beste hainbat gaixotasun garatzen dira. Berrikustapen honetan ezegonkortasun genomikoaren inguruko aurkikuntza nagusiak jorratuko ditugu; bereziki, ezegonkortasunaren eragileetan eta erantzun zelularretan zentratuko gara. Halaber, bereizgarri horren ustiapenean oinarrituriko aurrerapenen inguruan eztabaidatuko dugu, minbizien eta beste gaixotasun batzuen tratamendura zuzendurikoak.

Giltza-Hitzak: Minbizia. Zahartzaroa. Mutazioa. Ezegonkortasun genomikoa. Zelula zikloa. Onkogenea. Tumore-ezabatzailea.

La integridad genómica está fuertemente protegida por los mecanismos de vigilancia celular, pero su falta de regulación favorece el daño de la molécula de ADN, la inestabilidad genómica y la alteración patológica de las células. Como consecuencia, se promueve el envejecimiento y el desarrollo de enfermedades como el cáncer. En esta revisión abordaremos los principales hallazgos sobre la inestabilidad genómica, centrándonos especialmente en los causantes de la inestabilidad y en las respuestas celulares. Asimismo, debatiremos sobre los avances basados en la explotación de este distintivo, dirigidos al tratamiento de cánceres y otras enfermedades.

Palabras Clave: Cáncer. Vejez. Mutación. Inestabilidad genómica. Ciclo celular. Oncogen. Supresor de tumor.

L'intégrité du génome est fortement protégée par les mécanismes de surveillance cellulaire mais, son absence de régulation favorise l'apparition de dommages sur la molécule porteuse d'ADN, l'instabilité génomique et les troubles pathologiques cellulaires. En conséquence, le vieillissement et le développement de maladies telles que le cancer sont favorisés. Cet examen sera l'occasion de nous pencher sur les principales découvertes concernant l'instabilité génomique, en nous concentrant notamment sur les causes de l'instabilité et sur les réponses cellulaires. Nous discuterons également des progrès réalisés dans l'exploitation de cette notion, appliquée au traitement des cancers et d'autres maladies.

Mots-clés : Cancer. Vieillesse. Mutation. Instabilité génomique. Cycle cellulaire. Oncogène. Suppresseur de tumeur.

Genomaren ezegonkortasuna, minbiziaren eta zahartzapenaren arretagunean

(Genome instability, at center
stage of cancer and aging)

Mitxelena Sánchez, Jone

Ikerbasque, Basque Foundation for Science,
Plaza Euskadi, 5. 48009 Bilbo
jone.michelena@ehu.eus

Zubiaga Elordieta, Ana M.

Euskal Herriko Unibertsitatea. Zientzia eta Teknologia
Fakultatea. Genetika, Antropologia Fisikoa eta Animalien
Fisiologia Saila. Sarriena auzoa, z/g. 48940 Leioa
ana.zubiaga@ehu.eus

*“That is why curiosity-based research is so important.
You never know where it is going to lead... A little luck helps, too.” Paul Modrich*

1. Sarrera

DNA molekulan sortutako mutazioak, aniztasun genetikoaren iturri diren heinean, onuragarriak dira espezie baten egokitzapen eta biziraupenerako. Indibiduo-mailan aldiz, DNAREN mutazioek ondorio katastrofikoak izan ditzakete gure osasunean. Ondotxo ezagutzen ditugu mutazioen eraginak zahartzaroarekin erlazionatutako gaixotasunen garapenean, hala nola minbiziaren agerpenean eta bere progresioan.

DNAREN mutazioak hainbat motatakoak izan daitezke. Genetistek bi maila bereizten dituzte mutazioen artean: mutazio genikoak (eskala txikiko mutazioak ere deritzenak) eta mutazio kromosomikoak (eskala handikoak direnak). Mutazio genikoek gene bakarrari eragiten diote, eta ondorioz, kromosoma jakin bateko gunee txiki eta zehatz batean eragiten dute aldaketa. Aldaketa horien artean bereiz daitezke bai nukleotidoen ordezkapenak, hau da, nukleotido bat beste baten ordezkatzatzen denean; baita nukleotidoen txertaketak edo galerak ere, nukleotido bati edo askori eragin diezaieketenak. Mutazio txiki horiek genearen eskualde kodetzailean edo ez-kodetzailean gerta daitezke, eta euren ondorio funtzionalak oso desberdinak izan daitezke. Eskualde kodetzaileko mutazioek proteinaren egitura, eta ondorioz euren funtzioa aldaraz dezakete, zelularen fisiologian askotariko ondorioak eragin ditzaketenak. Adibidez, RAS proteinaren 12. posizioako glizina aminoazidoa balina aminoazidoagatik ordezkatzatzen bada, etengabe aktiboa den RAS onkoproteina sortzen da. Hiperaktibatutako proteina hori gai da zelularen hazkuntza behartzeko inolako seinale aktibatzailearik egon ez arren, eta horrek oso ondorio latzak izan ditzake. Izan ere, mutazio hori ohikoa da koloneko, birrikako eta pankreako minbizietan, eta gaixotasunaren pronostiko txarrarekin asoziatu dago kasu gehienetan (Stephen *et al.*, 2014). Genearen eskualde ez-kodetzailean gertatzen diren mutazioen ondorioei dagokienez, eragina auresatea zailagoa da. Oro har, eskualde genomiko ez-kodetzaileetan proteina eta RNA molekula ugari elkar-

tzen dira, besteak beste, gene-adierazpena arautzen dutenak. Hori horrela, ikusi da eskualde horietan topatutako mutazio askok transformazio tumoralean partekatzen duten geneen erregulazio desarautua sustatzen dutela. Adibide aipagarriak dira telomerasa genearen eskualde sustatzailean aurkitutako mutazioak. Telomerasa zelulen ugalketa bermatzen duen entzima bat da. Bere zeregin nagusia kromosoma muturreko DNA sekuentzien, hots, telomeroen luzera mantentzea da. Telomeroak zelulen ugalketa bermatzen duten ezinbesteko egiturak dira. Hala, telomero laburreko kromosomak dituzten zelulek ugaltzeko gaitasuna galduta daukate. Nabarmenki, tumore zeluletan telomerasaren adierazpen maila emendatua dago maiz, gene horren eskualde sustatzaileko mutazio genikoak direla-eta (Fredriksson *et al.*, 2014). Ondorioz, kromosometako telomeroen neurria luze mantentzen da, eta zelulek etengabe jarrai dezakete ugaltzen, minbizi bultzatzeraino.

Mutazio kromosomikoak eskala handiko mutazioak direla esaten da, kromosoma bati edo hornidura kromosomiko osoari eragiten dietelako. Aldaketa horien ondorioz, sarritan, kromosometako geneen antolaketa berriak sortzen dira. Kromosoma batetik besterako DNA zatien lekualdatze edo translokazioek ondorio larriak ekar diezazkiekete zelulei, esate baterako, eraldaketa tumorala. Giza neoplasia batekin erlazionatutako lehen aberrazio kromosomikoa Philadelphia kromosoma deritzon asaldura genetikoa izan zen. Philadelphia kromosoma Nowell eta Hungerford Philadelphia-ko ikerlariek deskribatu zuten 1960. urtean, leuzemia paitratzen zuen gaixo baten minbizi-zeluletan. Kromosoma hori 9. eta 22. kromosomen arteko translokazioaren ondorioa da, *BCR* eta *ABL1* geneen arteko fusio-genea sortzen duena. Gene berri horrek etengabe aktibatuta dagoen proteina hibrido bat kodetzen du, zelula kontrolik gabe ugaltzera bultzatzen duena, eta ondorioz, leuzemia sorrarazten duena.

Tumore-zelula bihurtzeko, zelula normalek mutazioak metatzen dituzte, eta zelularen funtzionamenduan aldaketak eragiteaz gain, mutazio horiek transformazio tumoralararen prozesuan zehar hautespen-abantailak ematen dituzte. Hala, oso ohikoa da minbizi bakar batean ehunka edota milaka mutazio zenbatzea. Izatez, tumore-zelulek mutazioak pilatzeko joera dute, bai gene mailakoak bai eta kromosoma mailakoak ere. Izaera hori, *ezegonkortasun genomiko* deritzona, tumorigenesirantz bultzatzen duen indar nagusizat hartzen da, eta 2000. urtean Hanahan eta Weinberg-ek minbiziaren bereizgarrien artean barneratu zuten “Minbiziaren bereizgarriak” (ingelesez *Hallmarks of cancer*) izenburuko artikulu ospetsuan (Hanahan eta Weinberg, 2000; Hanahan eta Weinberg, 2011). Minbiziaren bereizgarrien artean kokatu izanak, ezegonkortasun genomikoa minbizi-biologiaren eta ikerketa biomedikoaren erdigunean jartzea ekarri du. Giza tumoreen %60-80k ezegonkortasun genomikoak eragindako asaldura geniko eta kromosomikoak aurkezten dituztela kalkulatu da (Carter *et al.*, 2012), eta ezegonkortasun genomikoak tumore-estadioarekin, metastasiarekin eta terapiarekiko erresistentzia garapenarekin korrelazio positiboa duela proposatu da (Bakhoum eta Cantley, 2018). Beraz, ezegonkortasun genomikoaren eragileak ezagutzea funtsezkoa da minbiziaren garapena ulertu nahi bada.

Berrikustapen honetan ezegonkortasun genomikoaren kausak eta ondorio biologikoak jorratuko ditugu minbiziaren testuinguruan, eta gure zelulek mehatxu

horri aurre egiteko garatu duten sare molekular konplexua ere aztertuko dugu. Horretarako, gure ikerketa-taldeak Euskal Herriko Unibertsitatean arlo honetan eskuraturiko emaitzen inguruan, eta munduan zehar hainbat ikerketa-taldek egindako lan garrantzitsuenen inguruan eztabaidatuko dugu. Halaber, ezegonkortasun genomikoa minbizi mota ezberdinek komunean duten ezaugarria dela kontuan izanda, minbizien tratamendurako bereizgarri horren ustiapenaren gainean jardungo gara, eta martxan dauden garapen garrantzitsuenak aurkeztuko ditugu. Azkenik, minbizitik at, ezegonkortasun genomikoak giza osasunean duen garrantziaz jabetzeko, horrek zahartzean eta patologien sorburuan duen eraginaz arituko gara. Berrikustapenaren helburua ezegonkortasun genomikoaren inguruko oinarriko ikerkuntzak zein ikerketa klinikoak eskaintzen duen potentziala agerian jartzea da, gizakion fisiologia eta patologia hobeto ulertu eta kudeatu ahal izateko.

2. Ezegonkortasun genomikoa: minbiziaren bereizgarria

DNA molekulan agertzen diren mutazioek hainbat jatorri izan ditzakete, eta maiz bi taldetan sailkatzen dira: eragile exogenoak (konposatu genotoxikoak, argi ultramoreak...) eta eragile endogenoak, hau da, modu naturalean sortutako metabolitoak. Esaterako, erradiazio ultramorearen edo zelulako metabolismoaren ondorioz sortzen diren oxigeno espezie erreaktiboek (superoxidoek, hidroxiloek eta abarrek) nukleotidoak oxidatu eta DNAn mutazioak eragin ditzakete. Hala eta guztiz ere, nabarmendu behar da mutazio gehienen jatorria DNAn bikoizketan edo erreplikazioan gertatzen diren akatsetan dagoela. Mutazioak direla eta, gure zeluletako material genetikoaren osotasuna etengabe arriskuan dago. Hala ere, zelulek DNAn gertatutako kalteak konpontzeko dituzten mekanismo molekular sofistikatuei esker, gure genomak egonkor mantentzeko gaitasun harrigarria du. Bidezidor molekular horiek etengabe dihardute genomak gertaturiko edozein aldaketa detektatzen eta konpontzen, sortutako mutazioak hurrengo zelula-belaunaldietara igaro ez daitezten. Funtsezko mekanismo biologiko horien inguruan lortutako ezagutza garrantzitsuek aitortza akademiko gorena lortu dute berriki. Hala, 2015. urtean, Tomas Lindahl, Paul Modrich eta Aziz Sanchar ikerlariek Kimikako Nobel Saria jaso zuten, DNAn konponketa mekanismoen aurkikuntzengatik eta informazio genetiko nola babesten den deskribatzeagatik (<https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2015/summary/>) (1. Irudia). Haien ekarpena zinez erabakigarria izaten ari da zelulen funtzionamendua hobeto ulertzeko; baita zenbait herentziazko gaixotasunen oinarri molekularrak eta minbiziaren garapenaren eta zahartzapenaren atzean dauden mekanismoak ezagutzeko ere.

Gizakiok DNAn konponketan diharduten ehundik gora gene ditugu. Gene multzo hori gure genomako gene talderik ugariena da. Horrek agerian uzten du DNAn konponketa mekanismoek zelulen ongizaterako duten garrantzia. Mekanismo horiek gabe, gure genomaren, eta beraz, zelulen patua katastrofikoa izango litzateke. Hala ere, ohikoa da minbizi zeluletan konponketa mekanismo horiek akatsak izatea, eta ondorioz, tumore-zelulek mutazio kopuru oso handiak metatzen dituzte, ezegonkortasun genomikoa bultzatzen dutenak. Aldi berean, mutazio-tasaren emendapen horrek tumoreen hazkuntza eta biziraupena ahalbidetzen duten mu-



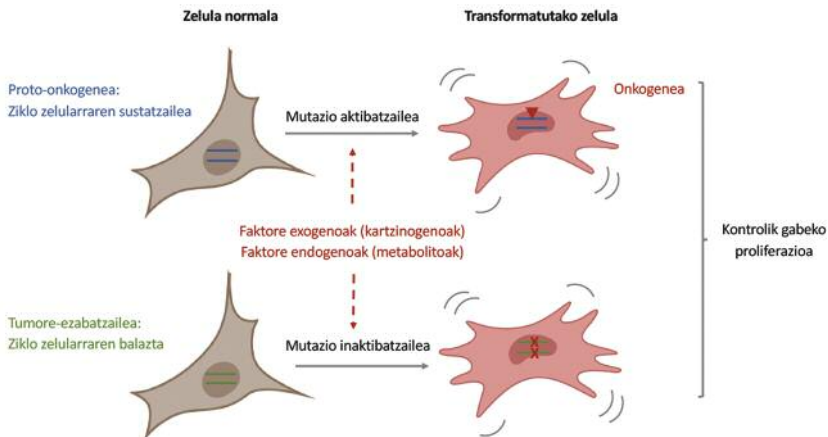
1. Irudia: 2015. urteko Kimikako Nobel saridunak, Aziz Sancar, Thomas Lindahl eta Paul Modrich (ezkerretik eskumara), DNA-ren konponketa mekanismoen funtsezko aurkikuntzengatik. Irudiaren iturria: Wikimedia Commons.

tazioak metatzeko probabilitatea handitzen du, eta minbizien garapena sustatu. DNAREN konponketako geneetan sortutako mutazioak ohikoak dira herentziako minbizietan. Adibidez, herentziako bularreko eta obulutegiko minbizi kasuen ehuneko handi baten sorrera DNAREN konponketan parte hartzen duten *BRCA1* eta *BRCA2* geneen bertsio mutatuak zor zaie. Aurkikuntza horiei esker, jakina, mutazio horiek biomarkatzaile gisa erabiltzen ari dira esparru klinikoan, herentziako minbiziak pairatzen duten familietako senideen diagnostikorako eta tratamenduen kuideketarako, hain zuzen.

DNAREN konponketa-geneetan sortutako mutazioak herentziako minbizietan ohikoak badira ere, minbizi esporadikoetan (herentziakoak ez direnetan) gene horien mutazioak identifikatzeko ahaleginek arrakasta mugatua izan dute (Negrini, Gorgoulis eta Halazonetis, 2010). Horregatik da nahiko urria, gaur gaurkoz, minbizi esporadikoek erakusten duten ezegonkortasun genomikoaren oinarri molekularren inguruan daukagun ezagutza. Proposatu izan da minbizi esporadikoek aurkezten duten ezegonkortasun genomikoaren tasa altua hainbat urratsetako porroten ondorioa izan daitekeela; DNAREN erreplikazio akastunetik hasi, eta kromosomen okerreko banaketaraino joan daitekeena. Edonola ere, ezegonkortasun genomikoa eragiten duten kausa guztien artean, DNAREN erreplikazioan zehar gertatzen diren akatsak dira ohikoenak (Aguilera eta García-Muse, 2013). Izan ere, ugaztun zelula bat zatitzen den aldiro, bere material genetiko guztia bikoiztu egin behar da, hau da, milaka milioi nukleotido zehatz-mehatz kopiatu behar dira. Hori dela eta DNAREN erreplikazioa prozesu kritikoenetakoa da zelula zikloaren progresioan. Horrela izanda, erreplikazio prozesua estuki kontrolatua dago etapa guztietan, informazio genetikoaren bikoizketa fidela bermatzeko. DNAREN erreplikazio fisiologikoaren erregulazio ezak *erreplikazio-estres* gisa ezagutzen den egoera dakar. Erreplikazio-estresak tumoreen ezegonkortasun genomikoaren sorreran, eta horien garapenean izan dezakeen garrantziaz jabetzeak, gaia ikerketa askoren xede bilakatu du azken hamarkadan. Ondorengo ataletan zehaztuko ditugu ezegonkortasun genomikoaren eragile nagusiak, eta zelulek garatu dituzten mekanismoak egoera arriskutsu horiei erantzuteko.

2.1. Eraldaketa onkogenikoa eta erreplikazio-estresa

70eko hamarkadarako bagenituen minbizia mutazio genetiko batek edo gehiagok sortutako gaixotasuna zenaren zantzuak. Hala ere, gerora egindako zenbait azterlanek agerian utzi dute minbizia etapa anitzeko prozesu konplexua dela (Jeggo, Pearl eta Carr, 2016). Horrela erakusten dute bonba atomikoaren egoera dramatikotik bizirik atera zirenen azterketa epidemiologikoez edo laborategian saguekin eta zelula-lerroekin egindako azterketek. Gaur egun, badakigu zelula baten eraldaketa gaiztoa gene jakin batzuetan mutazioak metatzearen ondorioz gertatzen dela. Gene horiek minbiziaren giltzarri molekularrak dira, eta bi taldetan banatzen dira: proto-onkogeneak eta gene tumore-ezabatzaileak (2. Irudia). Proto-onkogeneek zelulen ugalketan funtsezkoak diren proteinak kodetzen dituzte, eta mutatu direnean onkogene bihurtzen dira. Haien etengabeko jarduerak zelula-makinaria kontrolik gabe behartu, eta zelulen hazkuntza anarkikoa bideratzen du. 80ko hamarkadan, Mariano Barbacid ikerlariaren lanari esker, gizakion lehen onkogenea isolatzea, eta giza minbiziaren garapenari lotutako lehen mutazio genikoa identifikatzea lortu zen, RAS onkogenearena hain zuzen ere (Reddy *et al.*, 1982). Aurkikuntza horiek, aldi berean beste bi taldek ere egindakoek, aparteko garrantzia izan dute giza minbiziaren oinarri molekularrak ezartzeko bidean (Reddy *et al.*, 1982; Parada *et al.*, 1982; Der, Krontiris eta Cooper, 1982). Arestian aipatu bezala, minbiziaren gene giltzarrien bigarren taldea tumore-ezabatzaileek osatzen dute, organismo osasuntsuan zelulen ugaltzea kontrolpean mantentzen dutenak. Hazkuntzaren erregulatzaile negatiboak dira, eta zelulan agertzen ez direnean edo mutazioen ondorioz inaktibo daudenean, zelulak kontrolik gabe zatitzen dira. p53 deritzon proteina dugu tumore-ezabatzaileen artean ospetsuena. Izan ere, giza tumoreen erdiek p53 gene funtzionalik ez dutela zenbatetsi da (Muller eta Vousden, 2013).



2. Irudia: Eraldaketa tumorala. Giltzarri molekularrak: onkogeneak eta tumore-ezabatzaileak. Onkogeneen edota tumore-ezabatzaileen mutazioek kontrolik gabeko zelula-hazkuntza sustatzen dute.

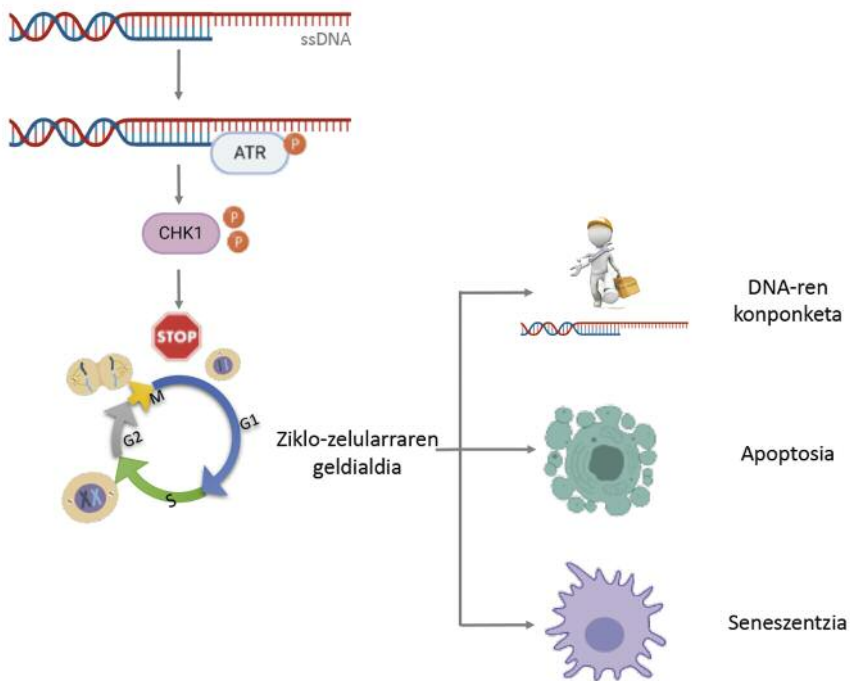
Onkogeneen edo gene tumore-ezabatzaileen adierazpen aldatu batek zelulen funtzio fisiologiko normala desbideratzen du, eta zelulen eraldaketa onkogenikoa sustatu. Eraldaketa onkogenikoaren eta ezegonkortasun genomikoaren arteko erlazioa 90eko hamarkadaren hasieran frogatu zen, RAS proteinaren bertsio mutatuak zelula-lerroetan espresatzean genomaren ezegonkortasuna gertatzen zela aurkitu zenean (Denko *et al.*, 1994). Ondorengo ikerketa lanek frogatu zuten hori ez zela RAS onkogeneari esleitutako fenomeno isolatua, beste onkogene batzuen adierazpenaren ondoren ere ikusten baitzen (Mai *et al.*, 1996; Felsher eta Bishop, 1999). Adierazpen onkogenikoaren eta ezegonkortasun genomikoaren arteko lotura horrek interes handia piztu zuen, eta ordutik aurkeztutako lanen artean, 2005ean Halazonetis eta Bartek ikerlariak argitaratutako lanak dira aipatzekoak (Gorgoulis *et al.*, 2005; Bartkova *et al.*, 2005). Ikerlari horien taldeek, minbiziaren fase goiztiarreko lesio pre-tumoraletan zentratuz, aurkitu zuten lehen aldiz onkogeneen aktibazioak edota gene tumore-ezabatzaileen inaktibazioak DNAn kalteak sortzen dituela. Emaitza horiek iradokitzen dute onkogeneek bultzatutako erreplikazio azeleratu eta kontrolgabea izango litzatekeela erreplikazio-estresa eta asaldura genomikoak sortuko lituzkeena. Horren guztiaren ondorioa ezegonkortasun genomikoa eta eraldaketa gaiztoa izango lirateke (Bartkova *et al.*, 2005; Gorgoulis *et al.*, 2005). Beraz, erreplikazio-estresaren sustapena izan daiteke tumoreak sortzeko mekanismo nagusia.

Aktibazio onkogenikoaren ondorioz erreplikazio-prozesuan ager daitezkeen arazoak hainbat motatakoak izan daitezke. Horien artean ikertuenak hauek dira: DNaren erreplikazio desarautua, DNaren sintesirako beharrezkoak diren nukleotidoen metabolismo akastuna, oxigeno espezie erreaktiboek sorrera, edota berez erreplikatzeko zailak diren eskualdeen hauskortasuna. Guztiek eragin dezakete erreplikazio-estresa. Hurrengo ataletan gehiago sakonduko dugu akats mota bakoitza.

DNA doi-doi eta soilik behin bikoiztu behar da zelula ziklo bakoitzean, erreplikazio-estresa eta genomaren ezegonkortasuna saihesteko. Genomaren erreplikazioa oso prozesu konplexua da; lehendabizi DNA kate bikoitza banatu behar da, eta ondoren, kate bakoitzaren osagarria sintetizatu. Kate osagarria sintetizatzen ari den bitartean, kate bakarreko DNA molekulak (ingelesez *single strand DNA*, ssDNA) agerian geratzen dira. Erreplikazioa motel gertatzen den eskualde genomikoetan, ssDNA agerian egoten da luzaroan. Zelulak egoera hori estres-egoera gisa interpretatzen du, ssDNA molekula ezegonkorra baita, eta, beraz hausturak pairatzeko arrisku handiagoa baitu. Egoera normal batean, erreplikazio-estres horri aurre egiteko, organismoek erantzun fisiologiko bat garatu dute, ATR eta CHK1 izeneko bi kinasek abiarazia (Cimprich eta Cortez, 2008; López-Contreras eta Fernández-Capetillo, 2010) (3. Irudia). ATR/CHK1 bidezidorraren funtzio nagusia hau da: zelularen estresarekiko erantzuna eta ziklo zelularren progresioa koordinatzea, DNA kaltetua duten zelulak ugaltzea ez daitezen. Ehunaren eta kaltearen mailaren arabera, ATR/CHK1ek zuzenduriko seinaleak zelula zikloaren geldialdi iragankorra bidera dezake, zelulak DNaren konponketarako denbora izan dezan. Kaltea gehiegizkoa bada, ordea, seneszentzia deritzon geldialdi iraunkorra aktibatuta daiteke edo baita zelularen heriotza ere (apoptosia) (González Besteiro eta Gottifredi, 2015) (3. Irudia). ATR/CHK1en mendeko alerta-seinalea funtsezkoa da ze-

lularen eta ehunen oreka fisiologikoa mantentzeko, hots, homeostasirako, eta be-
 nonen gabeziak enbrioien heriotza dakarrela ikusi da (Brown eta Baltimore, 2000;
 de Klein *et al.*, 2000; Liu *et al.*, 2000). Aurkikuntzok agerian jartzen dute errepli-
 kazioan sor daitezkeen asalduren prebentzioan proteina horiek bideratutako eran-
 tzunak duen ezinbesteko garrantzia.

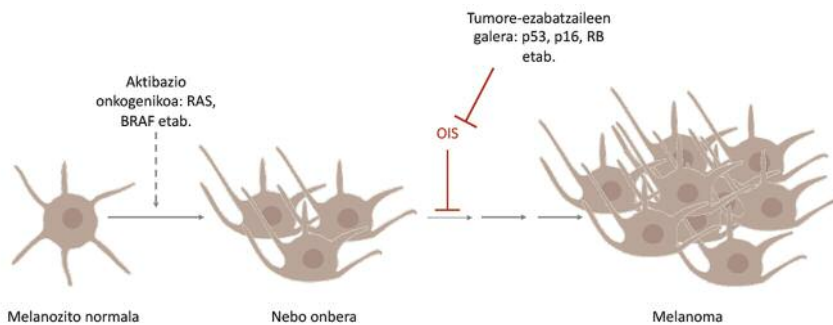
Alerta-seinalea zabaltzeko eta kaltearen aurrean erantzun zelular orokorra
 antolatzeko, ATR eta CHK1ek zenbait proteina fosforilatzen dituzte beraien aktibi-
 tatea erregulatzeko. Proteina horietako askok DNArri lotzeko, eta kaltetutako es-
 kualde genomikoetan foku izeneko agregatuak eratzeko gaitasuna dute. Hala,
 H2AX histonaren 139. posizioako serina fosforilatzen denean (γ H2AX deritzo horri),
 γ H2AX hori kalte-fokuetan kokatzen da, eta konponketa-ekintzak kalteturiko gu-
 neetara mugatzen ditu. p53 tumore-ezabatzailea ere bidezidor horretako partaide
 garrantzitsua da. DNA kaltetzean, p53 aktibatu egiten da, eta hainbat generen
 transkripzioa indusituz, lesionaturiko zelulen erantzuna bideratzen du. Kalteen la-
 rritasunaren arabera, p53 proteinak bultzatuko du zelulen hazkuntza (kaltea txikia



3. Irudia: Erreplikazio-estresari erantzuten dion ATR/CHK1 bidezidorraren eskema sinplifikatua. Kate ba-
 karreko DNA-ren (ssDNA) metaketaren ondorioz, kontrol-puntu honen aktibazioak denbora-leiho bat sor-
 tzen du kaltetutako DNA konpontzeko. DNA gehiegi edo modu iraunkorrean kaltetzen bada,
 kontrol-seinaleek apoptosia edo seneszentzia ere eragin dezakete, genoma akastunen hedapena saihe-
 steko. P: fosforilazioa.

bada) edo heriotza (kaltea handia bada). p53 gene funtzionalik egon ezean, minbizi gaizto gehienetan bezala, DNAREN kaltearekiko kontrol-puntua ez da aktibatzen eta, ondorioz, mutazio eta berrantolaketa kromosomikoen maiztasuna handitu egiten da. Gainera, beste mutazio batzuk agertzeko probabilitatea emendatzen da, zelulen ugaltzea bultzatzen duten edo apoptosia zein seneszentzia inhibitzen duten mutazioak agertzeko aukera handituz.

Onkogeneen aktibazioak eragindako erreplikazio-estresaren mehatxuari aurre eginez, DNAREN kalteari erantzuten dieten mekanismo zelularrek transformazio onkogenikoarekiko lehendabiziko oztopo gisa jarduten dute (Bartkova *et al.*, 2006; Di Micco *et al.*, 2006). Horrela, onkogeneen aktibazioak (RAS-enak, adibidez) “onkogeneek eragindako seneszentziaren” ezarpena bultzatzen du (ingelesez *Oncogene Induced Senescence*, OIS), eta tumoreen garapena saihesten du. Seneszentzia erreplikatiboa deritzon fenomenoa 60ko hamarkadan deskribatu zen lehenengoz, laborategian hazitako giza zeluletan, 50-70 zatiketen ondoren zelulak gelditze itzulezin batean sartzen zirela behatzean (Hayflick, 1965). 90eko hamarkadan, Serrano eta Lowe-ren ikerketek frogatu zuten aktibazio onkogenikoaren on-



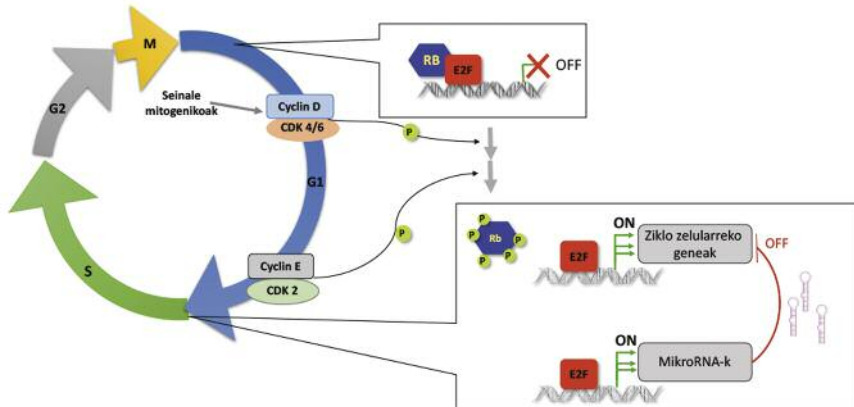
4. Irudia: Melanozitoetan, onkogeneek eragindako seneszentziari esker nebo onberen sorrera bultzatzen da, eraldaketa gaiztoa saihestuz. Tumore-ezabatzaileen galerak melanomaren garapena zuzertzen du. OIS: onkogeneek induzituriko seneszentzia.

dorioz, geldialdi itzulezina eta goiztiarra eragin zitekeela transformazioaren aurkako defentsa moduan (Serrano *et al.*, 1997). Lan hori beste azterketa askoren abiapuntua izan da. Aipagarriak dira gure taldeko zenbait lan, Serrano doktorearekin lankidetzan egindakoak barne, aktibazio onkogenikoari eta estres erreplikatiboari erantzunez p53 tumore-ezabatzaileak zelula-seneszentziaren ezarpenean duen garrantzia berretsi dutenak (Palmero *et al.*, 2002; Iglesias-Ara *et al.*, 2010; Iglesias-Ara *et al.*, 2015). Onkogeneek eragindako seneszentzia, beraz, *in vivo* diharduen mekanismo anti-tumoral garrantzitsua da (Campisi eta d’Adda di Fagagna, 2007; Yaswen eta Campisi, 2007). Hala, azaleko nebo onberen kasuan, aktibazio onkogenikoari erantzunez melanozitoak seneszente bilakatzen dira (4. Irudia), eta mekanismo horrek melanomaren garapena oztopatzen du (Mooi eta Peeper, 2006).

2.2. DNAREN erreplikazio desarautua

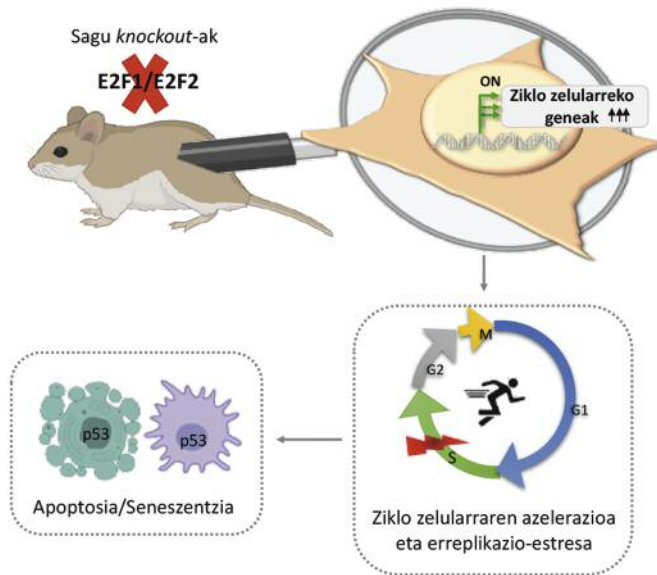
Zelularen ziklo bakoitzean, genoma osorik bikoizten dela ziurtatzeko, DNAREN sintesia erreplikazio-abiapuntu anizetatik bideratzen da ziklo zelularreko sintesi (S) fasean. DNAREN erreplikazioaren hastapena ziklinen-menpeko kinasek (ingelesez *Cyclin-Dependent Kinases*, CDK) eta erretinoblastoma (RB)/E2F faktoreek kontrolatzen dute. Laburki, seinale mitogenikoek CDK kinasen bidezko RB-ren fosforilazioa eta inaktibazioa eragiten dute. Gertaera horren ondorioz, E2F faktoreek gene ugariaren adierazpena indultzeko gaitasuna eskuratzen dute, DNAREN erreplikazioa sustatzen duten funtsezko geneena bereziki, *MCM2-7*, *TK1*, *GMNN* edota *CCNE*, besteak beste (Chen, Tsai eta Leone, 2009) (5. Irudia). Hainbat ikerketa lanek deskribatu dutenaren arabera, CDK entzimen gehiegizko jarduera onkogenikoak edo RB/E2F bidezidorraren kontrolpeko geneen mutazioek erreplikazio-abiapuntu berrien emendapena bultzatzen dute (Beck *et al.*, 2010; Sørensen eta Syljuåsen, 2012). Horrek,aldi berean, programatu gabeko erreplikazio-abiapuntuen aktibazioa eragiten du, erreplikazio-makinariaren progresio fisiologikoa arriskuan jartzen duena. Finean, horrek erreplikazio-estresa sustatzen du. Ondorioz, zelulak erreplikatu gabeko edota behin baino gehiagotan erreplikaturako guneekin sartzen dira mitosian, berrantolamendu kromosomikoak eta ezegonkortasun genomikoa zuzpertuz. Ia minbizi mota guztietan aurkitu dira mutazioak bidezidor honen funtsezko osagai batean edo gehiagotan, hala nola bularreko, birrikako eta prostatako minbizietan, eta kasu guztietan E2Fren mendeko geneen erregulazioa galduta dagoela ikusi da (Tsantoulis eta Gorgoulis, 2005).

Gure laborategian, E2F transkripzio faktoreen familiako kideen erregulazioa eta funtzio fisiologiko zein patologikoak aztertu ditugu azken urteotan, horretarako



5. Irudia: RB/E2F-k bideratutako ziklo zelularren erregulazioa, proteina-kodetzaille eta mikroRNA geneen adierazpenaren kontrolaren bidez. G1 fasearen hasieran RB/E2F faktoreek gene ituen adierazpena erpimitzen dute. G1 fasean zehar, CDK kinasak RB fosforilatu eta inhibitzen dute, E2F-rangandik askatuz. Orduan, E2F faktoreek gene ituen transkribapena sustatzen dute, eta zelulek DNA bikoizteko gaitasuna hartzen dute.

zelula- eta animalia-ereduak garatu ditugu. Lan horiei esker, frogatu ahal izan dugu E2F faktoreek duten garrantzia erreplikazio-estresa murrizteko eta egonkortasun genomikoa bermatzeko. Hala, genetikoki eraldatutako E2F1 eta E2F2 transkripzio faktorerik ez duten sagu-ereduak erabiliz, hots, sagu *knockout*-ak (KO), gure ikerketa lanek erakutsi dute faktore horien jarduera ezabatuz gero, DNAREN erreplikazioa modu azeleratu eta goiztiarrean gertatzen dela, eta horrek erreplikazio-estres egoerara bultzatzen dituela zelulak (6. Irudia). Erreplikazio desegoki horren oinarrian E2Fren mendeko gene itxurak gainadierazpena dago. Sagu KOetako hainbat zelula motatan ikusi da fenotipo hori; linfuzitoetan, makrofagoetan eta pankreako zeluletan, besteak beste (Murga *et al.*, 2001; Iglesias-Ara *et al.*, 2010; Iglesias-Ara *et al.*, 2015; Infante *et al.*, 2008). Gainera, E2F1/E2F2rako mutanteak diren zeluletan pilaturiko erreplikazio-estresak ATR/CHK1 bidezko alerta-seinaleak pizten ditu, eta zelula motaren arabera, p53ren mendeko seneszentzia edo apoptosia ezartzen da (Iglesias-Ara *et al.*, 2010; Iglesias-Ara *et al.*, 2015, eta argitaratu gabeko datuak). Aldiz, zelula horietako p53 genea mutaturik badago, orduan tumoreen garapena bizkortzen da. Aurkikuntza horiek agerian uzten dute E2F1 eta E2F2 faktoreen esku dagoela zelula diferentziatuetako DNAREN erreplikazioa kontrolpean izateko mekanismoa. Izan ere, haiek gabe erreplikazio-estresa eta ezegonkortasun genomikoa emendatu egiten dira, eta horrekin batera tumorigenesiaren probabilitatea.

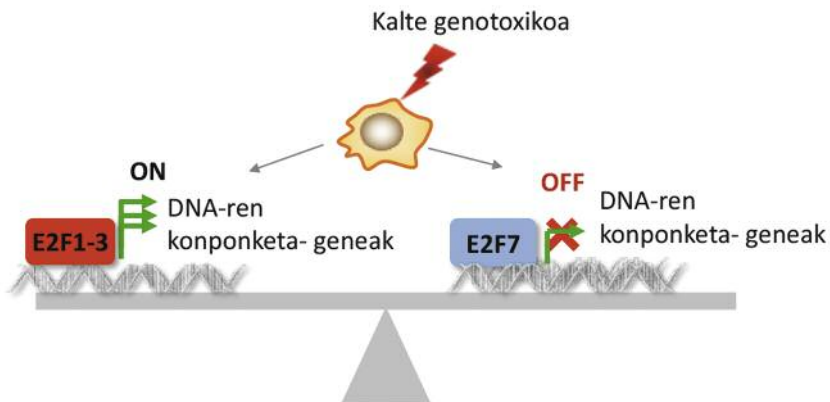


6. Irudia: E2F1 eta E2F2-ren galerak zelulen endekapena eragiten du. E2F1/2 faktoreen jarduera sagetan inaktibatzeak ziklo zelularreko geneen gainadierazpena eta zikloaren azelerazioa eragiten ditu. Ondorioz, egoera anormal horrek genomaren ezegonkortasuna eta p53-menpeko apoptosia edo seneszentzia eragiten ditu zeluletan, ehunaren testuinguruaren arabera.

E2F faktoreek erreplikazio-estresa ere murrizten dute zenbait mikroRNA molekulen (miRNA) adierazpen genikoa erregulatzean. Izan ere, Marcos Malumbresek in adostutako lankidetzari esker hau aurkitu dugu: E2F1 eta E2F3 faktoreek hainbat miRNAren adierazpena indultzen dutela fibroblasto enbrionarioetan, *let-7a-d*, *let-7i*, *mir-15b-16-2* eta *mir-106b-25* miRNAak horien artean, zeintzuek zelula zikloko S fasearen sarrera inhibitzen dute. Hortik ondorioztatzen da miRNA horiek erreplikazio prozesua kontrolpean mantentzen laguntzen dutela, zelula zikloko erregulatuzaile ugariaren adierazpena inhibituz, erreplikazio-estresa eta eze-gonkortasun genomikoa saihesten baitute (Bueno *et al.*, 2010) (5. Irudia).

Nabarmentzekoa da, zelula zikloko erregulazioaz gain, E2F faktoreek zeregin aktiboa betetzen dutela estresarekiko erantzuna bideratzen duten geneen erregulazioan (Bertoli *et al.*, 2013; Bertoli *et al.*, 2016). Izan ere, berriki argitaratutako lanek erakutsi dutenez, ugaztun zeluletan erreplikazio-estresaren kudeaketan parte hartzen duten proteina askoren adierazpena iraupen laburrekoa da. Hori horrela, erreplikazio-estresari aurre egiteko, E2Fren mendeko transkripzioa beharrezkoa da proteina horien mailari eusteko (Bertoli *et al.*, 2016). Erreplikazio-estresaren erantzunean parte hartzen duten E2Fren gene ituen artean *CHK1* eta *RRM2* geneak daude, erreplikazio-estresaren moteltzaile gisa ezagutzen direnak (Lecona eta Fernández-Capetillo, 2014). Izan ere, proposatu da E2Fren gene itua horien adierazpen emendatua babesgarria dela erreplikazio-estres altua aurkezten duten sagu-eredu onkogenikoetan, eta baita *ATR* mutaturak duten saguetan ere. Horrek iradokitzen du E2F faktoreek bideratutako erregulazioa onuragarria dela erreplikazio-estresarekin erlazioz dutako testuinguru batean (López-Contreras *et al.*, 2012; López-Contreras *et al.*, 2015).

DNAREN kaltearekiko erantzunaren eta konponketaren kontrol-eza tumore-zelulen eze-gonkortasun genomikoarekin eta kimioterapiarekiko erresistentziarekin ere lotu izan dira. Adibidez, E2F-ren itua den eta DNAREN konponketan parte har-



7. Irudia: E2F kide ezberdinek DNA konpontzeko jarduerak bideratzen dituzten geneen adierazpena orekan mantentzen dute.

tzen duen *RAD51* genearen gehiegizko adierazpena bularreko minbiziekin erlazionatu da (Martin *et al.*, 2007). Horrek erakusten du genomaren egonkortasuna mantentzeko ezinbestekoa dela gene gakoak aktibatzeaz gain, behin kaltea konponduta, horiek ixilaraztea. Ildo horretatik, gure laborategian eginiko ikerketek erakutsi dute erreplikazioari lotutako DNAREN kalteak konpontzeko beharrezkoak diren geneen inhibizioa E2F familiako beste kide baten mendekoa dela, E2F7 faktorearena hain zuzen (7. Irudia). E2F7ren eginkizunari esker, DNA konpontzeko jarduerak ziklo zelularraren fase bakarrera murrizturik geratzen dira, zehazki S fasera (Mitxelena *et al.*, 2016; Mitxelena *et al.*, 2018). Mekanismo horren bidez, DNA konpondutakoan, E2F7k konponketa-faktoreen desaktibazioan parte hartu dezake, ekintza desegokia eta informazio genetikoaren endekapena saihestuz, ezegonkortasuna ekiditeko (Mitxelena *et al.*, 2018).

2.3. Nukleotidoen metabolismoa

Aktibazio onkogenikoak eragindako erreplikazio-tasaren emendapenak albo-ondorio arriskutsu bat ekar lezake: DNAREN bikoizketarako beharrezkoak diren nukleotidoak agortzea, hain zuzen. Horrek, bada, erreplikazio-urkilak aurrera egitea eragotz lezake, eta erreplikazio-estresa sortu. Nukleotidoak erreplikazio-makinariaren eraikuntza-blokeak dira, eta beraz, nukleotidoen egituraren edo mailan gertatutako edozein asaldurak berehalako eragina du DNAREN sintesian. Nukleotidoen ekoizpenaren eta degradazioaren arteko koordinazioak finkatzen ditu nukleotido mailen aldaketak zelula zikloan zehar, eta horrekin batera, baita DNAREN erreplikazioaren zehaztasuna ere. Berez, nukleotido mailen aldaketek, txikiak izanda ere, nabarmen eragiten dute erreplikazio-makinariaren jardueran (Bester *et al.*, 2011; Gay *et al.*, 2010; Chabosseau *et al.*, 2011). Kalkulatu da ugaztun zeluletako nukleotidoen gordelekuak minutu gutxiren buruan agortuko lirakekeela erreplikazioan zehar etengabe berrituko ez balira (Murthy eta Reddy, 2006). Horren harira, nukleotidoen sintesiaz arduratzen diren entzimen erregulazio transkripzionala E2F faktoreen mendekoa dela frogatu dute hainbat lanek, tartean gurek (Infante *et al.*, 2008; Iglesias-Ara *et al.*, 2015).

Nukleotidoen sintesiaren urrats kritikoa erribonukleotido erreduktasak (RNR) katalizatzen du. Entzima horrek erribonukleotidoak erreduzitzen ditu desoxirribonukleotido (dNTP) bihurtzeraino. RNR proteina tetramerikoa da, bi azpiunitate katalitiko (RRM1) eta bi azpiunitate erregulatuzaile (RRM2, RRM2B) osatua. RNR holoentzimaren jarduera entzimatikoa RRM2ren adierazpen mailak mugatzen duenez, zelulako dNTPen maila RRM2ren kontrolpean dago nagusiki. Hori dela eta, DNA bikoizteko beharrezkoak diren dNTP maila orekatuak mantentzeko, RRM2ren transkripzio-maila estuki erregulatuta dago. Bere adierazpena S fasean induzitzen da, E2F transkripzio faktoreek bideratutako erregulazio geniko bidez (Chabes, Björklund eta Theletaer, 2004). Zelula zikloko gainontzeko faseetan berriz, RRM2ren adierazpena ixilduta mantentzen da, besteak beste E2F7k bideraturiko erreprezioagatik (Mitxelena, 2014, tesia, argitaratu gabeko datuak).

Eragile genotoxikoek edota ATR/CHK1en inhibizioak piztutako erreplikazio-estresari aurre egiteko, zelulek E2Fren mendeko RRM2ren adierazpena emendatzen dute, eta horrela nukleotidoen sintesia azkartzea eta ezegonkortasuna

saihestea lortzen dute (Zhang *et al.*, 2009; Buisson *et al.*, 2015). Erreplikazio-estresaren erantzunean, nukleotidoen ekoizpenak duen garrantzia gure taldekide ohia den Oskar Fernández-Capetillok zuzendutako laborategiak aztertu izan du modu adierazgarri batean, horretarako *RRM2*ren alelo gehigarria duen sagu eredua garatu zuten. Sagu horien zelulek RNR entzimaren jardura emendatua aurkezten dute, eta gai dira *ATR*ren inhibizioaren ondorioz sustaturiko erreplikazio-estresa murrizteko (López-Contreras *et al.*, 2015).

DNAREN bikoizketa-tasari eusteko *RRM2*ren eta nukleotidoen metabolismoko beste proteina batzuren jardura nahikoa ez denean, erreplikazio-estresa sortzen da. Orain urte batzuk, Bester eta lankideek deskribatu zuten onkogeneen eraginatik RB/E2F bidezidorra neurrigabe aktibatzeak, zelulako nukleotido mailak modu esanguratsuan murriztea dakarrela, eta horrek erreplikazio-estresa sortzen duela. Aldiz, nukleotidoak exogenoki hornituz gero, onkogeneek eragindako erreplikazio-estresa eta transformazio tumoral ezabatzea lortu zuten (Bester *et al.*, 2011). Emaizta horiekin bat datoz gure laborategian berriki eskuratutako datuak: frogatu dugu nukleotido exogenoen gehipenak E2F1 eta E2F2 faktoreen gabeziak eragindako erreplikazio-estresa arintzen duela (argitaratu gabeko emaitzak). Arestian aipatutako lanen emaitzak norabide berean doaz: nukleotidoen mailari eutsi ezean, erreplikazio-estresa sor daiteke. Halaber, ikerketa horiek guztiak onkogenesiaren hastapenaren mekanismoak ulertzeko eredutzat har daitezke. Lanen arabera, zelulen hazkuntza arautzen duten faktoreen aktibazio ez-koordinatuak nukleotido maila baxuegiak metatzera bultzatzen du, eta horrek genomaren erreplikazio normala eta egonkortasuna arriskuan jartzen ditu.

Nukleotidoen metabolismoan parte hartzen duten proteinen ekoizpena hainbat faktoreen mendekoa da. Esaterako, c-MYC onkogeneak melanoma zeluletao nukleotidoen ekoizpenean parte hartzen duten hainbat gene indutzten ditu. Horri esker, dNTP mailak handitu daitezke eta zelulei ugaltzeko aukera ematen zaie (Mannava *et al.*, 2008). c-MYCEk erregulatutako geneen artean timidilato sintasa entzima dugu (TS), timidina nukleotidoaren sintesirako funtsezkoa dena. Zenbait ikerketa talderen emaitzek erakutsi dute RB/E2F bidezidorraren erregulazio ezak ere badakarrela TS genearen gainadierazpena (Kasahara *et al.*, 2000; Infante *et al.*, 2008). Izan ere, ohikoa da minbizietan TS maila altuak izatea. Are gehiago, entzima horren maila altuek besteak beste koloneko, bularreko, eta biriketako minbizietan pronostiko txarra daukatela ikusi izan da (Rahman *et al.*, 2004). Aurrerago zehaztuko den moduan, minbizi askotarako, TSren inhibizioa klinikoki balioztaturik dago hurbilketa terapeutiko gisa; TSren inhibizioaren ondorioz, zelularen timidina nukleotidoaren mailak murriztu egiten dira, eta horrek erreplikazio-estresa eta ezegonkortasun genomikoa bultzatzen du. Baliteke, beraz, estrategia terapeutiko hori bereziki c-MYC edota RB/E2F bidezidorrak desarautuak dituzten minbizien tratamendurako eraginkorra izatea.

2.4. Oxigeno-espezie erreaktiboan metabolismoa

Minbizi-zelulek hazkuntza azkarra ahalbidetzen dieten eraldaketa nabarmenak aurkezten dituzte beren metabolismoan. Horien artean daude energia-mailari eusteko ATPa sortzeko gaitasun handia, makromolekulen sintesi emendatua, eta zelularen

erredukzio-oxidazio egoera mantentzeko gaitasuna. Metabolismo eraldatu honen ondorioz, ezaguna da oxigeno-espezie erreaktiboen (ingelesez *Reactive Oxygen Species*, ROS) ekoizpena handitzen dela, eta DNAr kalte egiten diotela. ROSak, hazkuntza baldintza normaletan, metabolismo aerobikoaren azpiproduktu gisa sortutako erradikal aske mota bat dira (Holmström eta Finkel, 2014). ROS maila baxalek funtzio zelular fisiologikoak betetzen dituzte, erredukzio-oxidazio motako erreakzio biokimikoen parte diren heinean. Aldiz, ROS maila areagotuek oxidazio-estresa eragiten dute, eta lipidoak, proteinak eta DNA molekulak kaltetzen dituzte. Ahalmen hori dela eta, ROSak transformazio tumoralaren garapenerako parte-hartzaile garrantzitsutzat dauzkagu. Esaterako, *RAS* eta *c-MYC* onkogeneek ROS maila emendatzen dutela aspalditik dakigu, horrek DNAREN kalteak eta ezegonkortasun genomikoa eragiten ditu (Lee et al., 1999; Vafa et al., 2002).

ROSen emendapenaren eta ezegonkortasun genomikoaren arteko korrelazioa zenbait testuinguru tumoraletan frogatu den arren, ez dago argi zein den lotura honen mekanismoa. D'Adda di Fagagna ikerlariak zuzendutako lanen arabera, *RAS* onkogeneak induzitutako ROSEk kontrolik gabeko proliferazioa bultzatzen dute, eta hazkuntza desegoki horrek, orduan, erreplikazio-estresa eragingo luke (Ogrunc et al., 2014). Ikuspuntu horren arabera, ROSEk bideratutako ezegonkortasun genomikoaren oinarrian kontrol gabeko mitosi-tasa areagotuak egongo lirateke (Ogrunc et al., 2014). Are gehiago, *RAS* onkogenearen aktibazioak dakarren ROSen emendapenari esker, zuzenean erreplikazioaren hastapenerako behar diren proteinen jarduera bultzatzen dela proposatu dute beste lan batzuek (Weyemi et al., 2012). Horrela, *RAS*en aktibazioaren ondorioz metatutako oxigeno erradikalak S fase goiztiarraren erantzule zuzenak izango lirateke. Hala ere, ikerketa lan gehiago behar da ROSen ekoizpenak erreplikazio-dinamikari eta erreplikazio-estresari nola eragiten dien zehazteko.

Organismoen zahartze-tasa ere ROSen ekoizpenaren emendapenarekin lotu izan da. Organismo osasuntsu gazteak gai dira ingurumen- eta barne-estresei eraginkortasunez erantzuteko, adibidez oxidazio-estresari; aldiz, erregulazio-prozesu horien efizientzia nabarmen murrizten da zahartzaroan. Zelula zaharkituak estresei eraginkortasunez erantzuteko gai ez izateak hainbat ondorio latz ekartzen ditueta uste da, hala nola DNAREN mutazioak, metabolismoaren azpiproduktuak edota oxidatutako proteinen eta proteina-agregatuen metaketa. Horrekin bat, oraintsu aurkitu da oxidazio-estresarekiko erresistentziaren eta espezie batzuren (legamia, har, fruta-euli eta sagu) bizitza luzatzen duten mutazioen artean erlazioa dagoela. Kontuan izanda zahartzaroan estres oxidatiboa metatzen dela, eta zahartzaroan minbiziaren intzidentzia altua dela, aspalditik zegoen susmoa DNAREN oxidazioa izan zitekeela mutagenesi-iturri nagusietariko bat. Oxigeno-espezie erreaktiboek DNAN eragiten duten lesio ohikoenetako bat guanina nukleotido arrunta oxidatu, eta 8-oxoguanina (8-oxoG) bilakatzea da (Rai et al., 2009). Guanina arrunta zitosinarekin parekatzen da, baina 8-oxoG hori adeninarekin pareka daiteke. Beraz, DNA erreplikatu aurretik akatsa detektatzen eta konpontzen ez bada, G>T mutazioak (guaninaren ordeztimina) sor ditzake. Hala ere, oraindik ez da aurkitu DNAREN oxidazio-lesioei eslelitutako mutazio-sinadura bat minbizietan (Helleday, Eshtad eta Nik-Zainal, 2014), agian kalte horien konponketa oso eraginkorra delako (Banerjee, Santos eta Verdine, 2006). Ikerketa lan gehiago behar dira, beraz, estres oxi-

datiboaren, zahartzaroaren eta minbizien garapenaren arteko kausazko erlazioa eutsi dezaketen datuak jaso ahal izateko.

2.5. Gune hauskorrak

Onkogeneek eragindako DNAREN kaltea ez da genomaren edozein tokitan gertatzen. Aitzitik, hausteko joera handia duten eskualde genomikoetan, hots gune hauskorretan, gertatzen da batez ere (ingelesez *Common Fragile Sites*, CFS) (Sarni eta Kerem, 2016). CFS-ak erreplikazio-estresarekiko bereziki sentikorrek dira, eta maiz berrantolamendu kromosomikoak azaltzen dituzte tumore-zeluletan (Debatisse et al., 2012). Gune hauskorren eta minbizi-zeluletako kromosomen haustura-puntu konkretu batzuen arteko erlazioa 80ko hamarkadan proposatu zen lehendabizikoz (Yunis eta Soreng, 1984), egungo sekuentziazio masiboan oinarritutako lanek baieztatu dutena. Minbizi-mota ezberdinetan behin eta berriz agertzen diren translokazio-puntu gehienak CFSak inplikatzeko dituztela frogatu da (Burrow et al., 2009; Tsantoulis et al., 2008; Bignell et al., 2010). Nabarmenki, onkogeneak kokaturik dauden eskualde genomikoak, anplifikatuta agertzen direnak tumore-zelula askotan, CFSak izan ohi dira. Adibidez, *MET* eta *MYCN* onkogeneak *FRA7G* eta *FRA2C* izena hartzen duten eskualde hauskorren barnean kokatzen dira. Onkogene horiek anplifikaturik aurkitu dira hainbat minbizitan, neuroblastoma eta kartzinoma gastriko batzuetan, adibidez. Anplifikazio hori CFSetan gertaturiko berrantolaketa kromosomikoen ondorioa dela uste da (Hellman et al., 2002; Blumrich et al., 2011). Bestalde, badira zenbait CFS tumore-ezabatzaileak kodetzen dituzten geneak barneratzen dituztenak. Izan ere, minbizi-mota ezberdinetan behatutako tumore-ezabatzaileen delezioak kasuen erdian baino gehiagotan CFSetan sortzen direla kalkulatu da (Le Tallec et al., 2013). Adibidez, *RORA* gene tumore-ezabatzailea, *FRA15A* eskualde hauskorren erdian kokatzen dena, bularrereko, prostatiko eta obulutegiko ehun osasuntsuetan adierazten da, baina, sarritan, inaktibatutako ageri da organo horietako minbizietan (Hazan, Hofmann eta Aqeilan, 2016).

CFSak, oro har, oso gene luzeetan kokatzen dira eta, sarritan, gene horien ezegonkortasuna beren adierazpen genikoarekin erlazionaturik dago ehun jakin batzuetan (Helmrich, Ballarino eta Tora, 2011; Wilson et al., 2015). Adibidez, gure generik luzeenak, distrofina izenekoak (*DMD*), 2 Mb pasa ditu, eta 16 ordu behar ditu osorik transkribatzeko. Nabarmenki, *DMD* geneak hauskortasuna aurkezten du muskulu zeluletan, horietan adierazten baita bereziki (Helmrich, Ballarino eta Tora, 2011). Gene horren hauskortasunaren kausa erreplikazio- eta transkripzio-makinariak elkarri eragiten dioten traban egon daitekeela proposatu da. Izan ere, gene handiek guztiz transkribatzeko behar duten denbora ezin denez zelula ziklo batean osatu, transkripzioa eta erreplikazioa ez dira espazialki ondo banatzen, eta sorturiko trabak ezegonkortasun genomikoa dakar (Helmrich, Ballarino eta Tora, 2011). Are gehiago, oro har, CFSetan erreplikazio abiapuntu gutxi daude, eta oso berandu erreplikatzeko dira S fasean zehar (Le Tallec et al., 2011; Letessier et al., 2011). Hori dela eta, arrisku handia dago CFSak guztiz erreplikatu barik zelula mitosian sartzeko, eta ondorioz, hauskortasuna eta berrantolaketa kromosomikoak sortzeko (Debatisse et al., 2012).

Leku hauskorren bigarren kategoria bat erreplikazio-goiztiarreko leku hauskorak dira (ingelesez *Early Replicating Fragile Sites*, ERF), S fasearen hasieran erreplikatzeko diren eta transkripzio maila oso altua daukaten geneak barneratzen dituztenak. Kasu horretan ere uste da ERF eskualdeen hauskortasuna erreplikazio-eta transkripzio-makinariaren arteko trabengatik gerta daitekeela (Barlow *et al.*, 2013). Izan ere, Nussenzweig-en taldeak B linfoblastoetan identifikatutako ERFak linfometaiko anplifikazio edota delezio genomikoen eragile nagusia direla ondorioztatu zuen (Barlow *et al.*, 2013).

2.6. Krisi telomerikoa eta kromotripsia

Telomeroetan sortutako akatsek ere ezegonkortasun genomikoa sor dezakete. Gogo aipatu bezala, telomeroak kromosomen amaieran kokatzen diren egitura nukleoproteikoak, eta sekuentzia errepikakorrez osatuta daude. Gizakion telomeroek TTAGGG DNA sekuentzia ehunka aldiz jarraian errepikatuta aurkezten dute. Egitura horiek kromosomen muturrak babesten dituzte arriskutsuak izan daitezkeen fusio-kromosomikoetatik. Telomeroen erreplikazioa neketsua da; izan ere, erreplikazio makinariarentzako hainbat oztopo potentzial aurkezten dituzte, hala nola sekuentzia errepikakorrek, kromatinaren paketamendu maila altua eta kate bikoitzeko DNA molekularen topologiaren ondorioz sortutako tortsio-estresa (Gilson eta Géli, 2007). Gainera, CFSen kasuan bezala, oro har, telomeroek erreplikazio-abiapuntu berantiarrek eta ahulak dituzte (Sfeir *et al.*, 2009). Are gehiago, ziklo zelular bakoitzean telomeroeko sekuentzia errepikakorren luzera laburtuz joaten da harik eta kromosomen muturrak laburregiak eta ezegonkorak bilakatzen diren arte. Orduan, DNAREN kaltearekiko erantzunaren aktibazioa sustatzen da, zelulen seneszentzia edo apoptosia eraginez, modu fisiologikoan zelulen ugalketa mugatu dezakeena (d'Adda di Fagagna *et al.*, 2003). Kontrol-puntu horrek transformazio tumoralak ekiditeko mekanismo garrantzitsu gisa jokatzeko duela proposatu da. Krisialdi telomeriko moduan izendatu den egoera horretatik ihes egiteko, tumoreek mekanismo ezberdinak garatzeko gaitasuna erakutsi dute. Zelula eraldatuek seneszentzia saihesteko gaitasuna izan dezakete, adibidez p53 mutaturik baldin badaukate. Horrez gain, minbizi-zelula gehienetan telomerasa entzima aktibatua dagoelako, telomeroen krisialditik ihes egiteko gaitasuna daukate. Egoera fisiologikoan, entzima hau hozi zelula eta ama zeluletan baino ez da adierazten, kromosoma muturraren osotasuna bere horretan mantentzeko. Telomerasaren jardura zelulen diferentziazioan zehar galduz doa, eta horrekin batera krisi telomerikoa etor daiteke eta zelularen ugaltzeko ahalmenaren bukaera. Telomerasaren aktibazioak aukera eman diezaieke zelula gaiztoei telomeroen krisia gainditzeko. Zehazki, mutur kromosomikoetan *de novo* errepikapen telomerikoak sintetizatuz, telomero laburtuak luzatu eta ugaltzeko gaitasuna berrezarri ditzake (Chin *et al.*, 2004; Lin *et al.*, 2010; Barthel *et al.*, 2017; Roger *et al.*, 2013; Jones *et al.*, 2014).

Beste prozesu nagusi bat oraintsu aurkituriko *kromotripsia* deritzona da, beharhalako ezegonkortasun genetikoaren eragiten duena (Maciejowski *et al.*, 2015). Kromotripsia prozesuan berrantolamendu kromosomiko masiboak sortzen dira eskualde kromosomiko konkrituak hautsi eta beste modu batean elkartzerakoan (Stephens *et al.*, 2011). Tumorigenesiaren ikuspegi tradizionalaren arabera, mu-

tazioen metaketa modu mailakatuan gertatzen dela uste izan da. Kromotripsian oinarrituriko ikuspegi berritzaileak zelula-zatiketa gutxi batzuetan ehunka berrantolaketa kromosomiko azkar metatzeko mekanismoa eskaintzen du. Kromotripsiak hainbat modutan lagun lezake tumorigenesian. Adibidez, berrantolatutako zatiek tumorearen hazkuntza bultzatzen duten fusio onkogenikoak sortuz edo gene tumore-ezabatzaileak ezabatuz. Oraintsu argitaratutako ikerketa batean, kromotripsi gertaerak detektatu dituzte tumore kasuen erdietan zenbait minbizi-motatan, hala nola melanoman, glioblastoman edo birikietako adenokartzinoman. Gertaera horiei lotuta aurkitu ziren hainbat onkogenen anplifikazioak (*CCND1*, *MDM2* eta *MYC*, esaterako). Are gehiago, kromotripsia gene tumore-ezabatzaileen eta DNA konpontzeko geneen galerarekin ere erlazionatu zuten, eta iradoki dute kromotripsi gertaerak tumoreen eboluziorako selektiboki abantailatsuak izan daitezkeela (Cortés-Ciriano et al., 2020).

3. Ezegonkortasun genomikoaren ustiapena minbiziaren tratamendurako

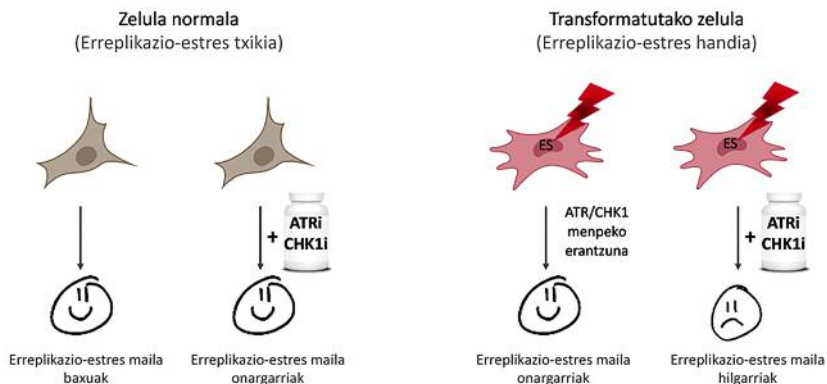
Nola geldiaraz daiteke stop botoia hautsita izanda kontrolik gabe korrika doan makina bat? Balaztei eragitea aukera bat da, eta horretan oinarritzen da, hain zuzen, minbiziaren tratamendurako kimioterapia klasikoa. Hala ere, kasu askotan aukera hori ez da nahikoa makina guztiz gelditzeko. Beste aukera bat makinaren gainarako kontrol-puntuak deuseztatzea da. Horrela, gehiegizko abiadura hartzean, motorra gehiegi berotuko da eta pitzadurak eragingo ditu harik eta triskatu arte. Azken ikuspegi suntsitzaile horrek makina modu iraunkorrean geldituko luke. Kontzeptu horretan oinarrituta, ezegonkortasun genomikoa sorraraztea edo emendatzea da minbiziak tratatzeko beste alternatiba bat. Berez, ezegonkortasun genomikoak tratamenduekiko erresistentziaren garapena faboratzen duela ikusi da. Hala ere, zelulen ezegonkortasun genomikoaren mailek muga bat daukate, eta mutazioen gehiegizko metaketa gertatzen bada, minbizi zelulenzako katastrofikoak izan daitezke, heriotza eragiteraino. Adibidez, mutazio horiek zelulen biziraupenerako beharrezkoak diren gene esentzialen funtzio galera eragiten badute. Beraz, transformazio tumoralaren ikuspuntutik, minbizi-zelulak tarteko egonkortasun-maila bilatzen ahaleginduko dira euren bideragarritasuna bermatzeko, oreka horretatik aldentuz gero minbiziaren endekapena letorkeelako (Burkard eta Weaver, 2017). Minbizien biziraupena oreka horren mendekoa dela kontutan hartuta, ez da harritzekoa azken urteetan ezegonkortasun genomikoa ikuspuntu terapeutiko batetik ustiatu daitekeen ideia indartuz joatea.

Minbiziaren aurkako kimioterapiaren abiapuntua ustekabeko behaketen ondorioz gertatu zen. DNA kaltetzen duten zenbait konposatu, mustarda-gasak adibidez, ezaugarri antitumoralak aurkezten zituztela ikusi zuten. Hori dela eta, lehendabiziko farmakoen garapena konposatu genotoxikoetan oinarritu zen, eta horietako batzuk oraindik oso erabiliak dira terapia antitumoraletan, guztiek nola-baiteko erreplikazio-estresa sortzen baitute. Esparru klinikoan erabili ziren lehen botika antitumoralen artean, nukleotidoen metabolismoan eragiten duten gemzitatina eta 5-fluorouraziloa oraindik ere sarri erabiltzen diren farmakoak dira, na-

gusiki maskuriko, pankreako, koloneko eta bularreko minbizia tratatzeko. Biek ala biek DNA erreplikatzeko eta konpontzeko eskura dauden nukleotidoen kantitatea murrizten dute; gemzitabinak erribonukleotido erreduktasa entzima inhibituz, eta 5-fluorouraziloak timidilato sintetasa inhibituz (Ubhi eta Brown, 2019). Nukleotidoen metabolismoan eragiten duten sendagai horiekin alderatuta, agente alkilatzaileek eta platinoan oinarritutako konposatuek berriz, zuzenean DNA kaltetzen dute (Wang eta Lippard, 2005; Fu, Calvo eta Samson, 2012). Gliomak tratatzeko erabiltzen den temozolomida bezalako farmako alkilatzaileek DNA molekulan *aduktu* izeneko eraldaketa kobalenteak eratzen dituzte, DNA polimerasak erreplikazioan aurrera egitea oztopatzen dutenak. Bestalde, platinoan oinarritutako agenteek, hala nola zisplatinoak eta karboplatinoak, DNA kateen arteko lotura kobalenteak katalizatzen dituzte. Ondorioz, helikasek ezin dituzte DNA kateak elkarrengandik banatu, eta erreplikazioa bertan behera geratzen da (Deans eta West, 2011).

Erreplikazio-estresa eragiten duten terapia tradizional horiek asko erabili diren arren, duten egokigarritasuna eta eraginkortasuna mugatuak dira, sortzen duten toxikotasunagatik eta erresistentzien garapenagatik. Esan bezala, terapia horien helburua DNAREN erreplikazioa oztopatzea da, eta beraz, eragin handia dute azkar hazten diren zelula guztiengan, heste-epitelioko eta hezur-muineko zelula osasuntsuengan barne. Horrek albo kalte larriak eragiten ditu gaixoengan, hala nola digestio arazoak pairatzea, infekzioak harrapatzeko arriskua areagotzea odoleko globulu zurien murrizketagatik, edota hemorragiak pairatzea odoleko plaketa kopuruaren beherakadagatik. Horren argitan, arrazionalki diseinatutako zenbait terapia saio klinikotan daude egun, tumore-zelulekiko espezifikotasuna handitzeko xedearekin. Terapia horietako askoren helburua minbizi-zeluletan erreplikazio-estres bortitzagoa sortzea da. Halaber, zelula zikloaren kontrol-puntuak dituzte itu moduan. Horrela, zelula gaiztoak mitosira behar baino lehen sarraraziz, mitosi anormalak eragindako heriotza zelularra bultzatzen dute, *katastrofe mitotikoa* deritzona (Mansilla, Bataller eta Portugal, 2006).

S fasea erregulatzen duten ATR eta CHK1 kinasak dira gaur egun ikertzen ari diren terapien itu nagusietako batzuk. DNAn kalteak daudenean, proteina horiek erreplikazio-abiapuntuen aktibazioa atzeratu eta erreplikazio-urkilak egonkortzeko gaitasuna daukate, zelulari denbora emanez kaltea konpontzeko. ATR eta CHK1en inhibizioak, ordea, DNAREN sintesia abiarazten du normalean inaktibo dauden hainbat erreplikazio-abiapuntutatik, eta erreplikazio zehatza bermatzeko baliabideak agortzeaz gain, erreplikazio urkilak desegonkortzen ditu (Saldivar, Cortez eta Cimprich, 2017). ATR eta CHK1en inhibizioak ere goizegi sarrarazten ditu zelulak mitosian, nahiz eta DNA guztia erreplikatua ez egon, eta horrek berrantolaketa eta hauskortasun kromosomikoa eragiten du (Eykelboom *et al.*, 2013). ATR eta CHK1en inhibitzaileak terapian erabiltzearen arrazoiketa nahiko sinplea da: erreplikazio-estresa kudeatzen duten proteinak inhibitzea bereziki toxikoa izango litzateke jadanik erreplikazio-estres maila altuak dituzten tumore-zelulentzat (8. Irudia). Aldiz, zelula osasuntsuen erreplikazio-estresa baxuagoa denez, horiek ez lirateke hain sentikorak izango ATR edo CHK1en inhibitzaileekiko, eta terapia antitumoralaren albo-ondorioak murriztuko lirateke. ATRren jarduera inhibitzeko aurkitu zen lehen konposatua kafeina izan zen. Baina ATR inhibitzeko kafeina oso dosi handietan era-



8. Irudia: ATR eta CHK1-en inhibitzaileen erabilera minbiziaren aurkako kimioterapian. Erreplikazio-estres zelula-zatiketa bakoitzean gertatzen da eta ATR eta CHK1-en menpeko erantzunak estres hau detektatu eta kudeatzen du. Kontrol puntu hauen aurkako inhibitzaileek estres mailak areagotzen dituzte, azken batean heriotza zelularra eragin dezaketenak, bereziki erreplikazio-estres maila endogeno altuak dituzten zelula tumoraletan. ATRi: ATR inhibitzailea; CHK1i: CHK1 inhibitzailea.

bili behar da, eta dosi horiek beste entzima batzuk ere inhibitzen dituztenez, ez da eremu klinikoan erabiltzeko moduko produktua (Sarkaria *et al.*, 1999). Egun, ATR eta CHK1en inhibitzaile berri eta eraginkor batzuk entsegu klinikoetan daude, tumore solido ezberdinen tratamendurako balioetasuna aztertzeko helburuarekin (Ubhi eta Brown, 2019; Lecona eta Fernetaz-Capetillo, 2018).

ATR eta CHK1en inhibitzaileek minbiziaren sagu-ereduetan monoterapia gisa eraginkortasuna erakutsi duten arren, haien erabilera klinikoa, ziur aski, terapia osagarriekin konbinaturako erregimenetan integratu beharko da. Izan ere, beraien ekintza-mekanismoa dela-eta, ATR eta CHK1en inhibitzaileek sinergia aurkezten dute erreplikazio-estres eragiten duten konposatuekin. Horrela izanda, obulute-giko, biriketako eta pankreako minbizietan, inhibitzaile horiek 5-fluorourazilo moduko nukleotido analogoen arrakasta handitzen dutela ikusi da; baita platinoin oinarritutako konposatuena ere biriketako, urdaileko, obulute-giko, maskuriko eta bularreko minbizian (Ubhi eta Brown, 2019). Gainera, ATRren inhibitzaileen eraginkortasuna areagotu egiten da CHK1en inhibitzaileekin konbinatzen direnean. Efektu gehigarri hori CHK1ek genomaren osotasuna babesteko ATRrekiko independenteak diren funtzio gehigarriak dituelako gerta liteke. Tamalez, orain arte garaturako CHK1en inhibitzaileek ez dute arrakasta handirik izan eremu klinikoan, neurri handi batean sorrarazten dituzten albo-kalteengatik, kardiopatiak bereziki (Dobbelstein eta Sørensen, 2015). Hala ere, egun saio klinikoetan dauden belaunaldi berriko CHK1en inhibitzaileak etorkizun handikoak omen dira, toxikotasun-profil onargarria erakutsi baitute (Hong *et al.*, 2016).

Arestian aipatu bezala, tumore askotan p53 tumore-ezabatzailea mutaturago, zelula zikloko G1/S trantsizioa erregulatzen duen proteina gakoa. Horregatik, mitosirako sarrera kontrolatzen duen G2/M kontrol-puntua funtsezkoa bilakatu da minbizi-zelula askorentzat. G2/M kontrolgune horrek ziurtatzen du erreplikatu

gabeko edo kaltetutako DNA duten tumore-zelulek ez dutela jasango katastrofe mitotikorik. Horrela izanda, gaur egun garatzen ari diren etorkizun handiko terapiak preseski G2/M kontrolgunea deuseztatzea daukate helburu. Horien artean, mitosirako sarrera kontrolatzen duen WEE1 kinasaren inhibitzaileek emaitza onak erakutsi dituzte saio klinikoetan (Leijen *et al.*, 2016). Are gehiago, erreplikazio-estres handia duten tumore-zelulen biziraupenerako G2/M kontrol-puntuak duen garrantzia kontutan izanda, gaur egun zenbait azterketa kliniko egiten ari dira WEE1 inhibitzaileak eta erreplikazio-estresa areagotzen duten farmakoak elkartzuz, terapia konbinatuak ebaluatzeko xedearekin.

DNAREN kaltearekiko erantzunean eta konponketan oinarritutako beste estrategia terapeutiko bat minbizi konkretuekiko espezifikoak diren tumore-ezabatzailen galera ustiatzea da. Kasu batzuetan, galera horien ondorioz, minbizi-zelulek askoz ere mendekotasun handiagoa daukate oraindik mutatu gabe dituzten bidezidorrekiko, zelula normalekin erkatuz. Minbizian hainbat bidezidor mutatuak egozteagatik, egoera fisiologikoan funtsezkoa ez den bide jakin bat funtsezko bilakatu daiteke minbizi-zelulan. Fenomeno horri *letalitate sintetikoa* deritza. Urrats garrantzitsuak eman dira jadanik norabide horretan. Izan ere, DNAREN kalteen konponketan parte hartzen duten *BRCA1/BRCA2* geneak mutaturik dituzten minbizi-zelulak bereziki sentikorak dira PARP deritzon DNA konpontzailearen inhibitioarekiko (Bryant *et al.*, 2005; Farmer *et al.*, 2005). Hala, olaparib izena hartu zuen PARPen inhibitzaileak *BRCA1/BRCA2* geneak mutaturik dituzten obulutegiko minbiziak tratatzeko onspena lortu zuen 2014. urtean FDAren eskutik (The United States Food eta Drug Administration). Minbizi hori tratatzeko duen arrakasta ikusita, PARP inhibitzaileen erabilera beste neoplasia batzuren tratamendurako ere zabaldu da, bularreko, pankreako eta prostatako minbizi metastasikoenak horien artean. BRCA-PARP paradigmaren emaitza bikainak kontuan hartuta, egun letalitate sintetikoa ustiatzen duten terapia gehiago garatzen ari dira.

Kimioterapiarekiko erresistentzia ohiko arazoa da praktika klinikoan, eta PARP inhibitzaileekin ere gertatzen da. Erresistentziari aurre egiteko PARP inhibitzaileak beste agente batzuekin konbinatzeko ahaleginak egin dira. Hala, PARPen inhibitzioak ATRRen inhibitzaileekin efektu sinergikoak dituela frogatu da bularreko, obulutegiko eta koloneko minbizietako zelula lerroetan (Lecona eta Fernández-Capetillo, 2018). Martxan dagoen entsegu kliniko batek aztertuko du ea PARPen eta ATRRen inhibitzaileen konbinazioak eragina duen platinoan oinarritutako kimioterapeutikoeikiko erresistenteak diren obulutegiko minbizia duten gaixoengan. Nabarmenki, PARP entzimaren hiperaktibitatea zenbait gaixotasun kardiobaskularrekin ere erlazionatu da, eta PARPen inhibitzioa minbizien tratamendurako ez ezik, gaixotasun horiek osatzeko ere erabil daitekeela iradoki da (Pacher eta Szabó, 2007).

Minbizien bereizgarria den ezegonkortasun genomikoa sustatzen eta erregulatzen duten mekanismoak ikerketa bizian daude, nahiz eta euren ustiapen terapeutikoa oraindik haurtzaroan dagoen. Mekanismo horiek giza osasunean eragiten dutela ikusita, datozen urteetan gaixotasunen tratamendurako DNA kaltearen erantzunean eta konponketan parte hartzen duten osagai ezberdinak inhibitzeko gai diren konposatu askoren garapena ikusiko dugu ziur asko.

4. Ezegonkortasun genomikoaren ondorioak minbiziaz haratago: zahartzarora, neuroendekapenezko gaixotasunak eta bestelako giza patologiak

Genomaren ezegonkortasuna minbiziaren funtsezko ezaugarria bada ere, eta nagusiki testuinguru horretan ikertu bada ere, egun badakigu zerikusi estua duela ere zahartze prozesuarekin; eta zenbait giza gaixotasunen patogenesiarekin, adibidez neuroendekapenezko asalduren garapenarekin (Jackson eta Bartek, 2009).

Zahartzapena funtzio fisiologjkoen narriadura progresiboa da, hiltzeko arriskua emendatzen duena. Azken bi hamarkadetan egindako hainbat lanek agerian jarri dute zahartze prozesuak DNA kalteen metaketa eragiten duela (Schumacher, Garinis eta Hoeijmakers, 2008). Hipotesi hori babestuz, zenbait lanek erakutsi dute ehun eta ama zelula zahartuetan DNA kaltearen markatzaileak azaltzen direla, eta kaltearekiko erantzuna aktibatuta dagoela (Fernández-Capetillo, 2010). Halaber, hainbat DNAREN konponketa genetean sorturiko mutazioek laborategiko sagu-ereduen eta gizakien zahartze-prozesua bizkortu dezaketela frogatu da (Schumacher, Garinis eta Hoeijmakers, 2008). Are gehiago, zenbait organismotan behatu denez, biziraupena erregulatzen duten bide genetikoak, intsulinaren bidezidorra horien artean, desarautu egiten dira DNAREN kaltea metatzean edo bestelako estres-baldintzen aurrean. Horrek agerian uzten du egonkortasun genetikoak ehunen homeostasian eta biziraupenaren erregulazioan duen garrantzia.

Zahartze goiztiarreko sindromei, hots sindrome progeroideei, buruzko ikerketak funtsezkoak izan dira genomaren ezegonkortasunaren eta zahartzarora arteko erlazioaren oinarriak ezartzen hasteko. Patologia horiek pairatzen dituzten gaixoez ohiko zahartze-sintomen espektroaren proportzio handia aurkeztzen dute modu goiztiar eta azeleratuan. Ileaen galera, larruazaleko arazoak, gaixotasun kardiobaskularrak, osteoporosia eta kasu askotan baita minbizien garapena ere (Carrero, Soria-Valles eta López-Otín, 2016). Sindrome progeroideen oinarri molekularrak ikertu ahala, gehienetan etiologian genomaren ezegonkortasuna agertzen dela ikusi izan da. Adibidez, Aziz Sancar Nobel saridunak aztertutako kalte ultramorearekiko erantzuteko geneen jaiotzetiko akatsek giza gaixotasun arraro anitz eragiten dituzte, eta guztiek argiarekiko sentikortasuna erakusten dute. Horien artean daukagu *xeroderma pigmentosum* deritzon sindrome progeroidea, kakexia, neuronen endekapena eta azaleko minbizia garatzeko joera handia (indibiduo osasuntsuek baino 1.000 aldiz handiagoa) duen gaixotasun bakana.

Sindrome progeroideen kausa genetiko garrantzitsu bat nukleoa inguratzen duen mintzaren osagaietan gertaturiko mutazioak dira (Burla et al., 2018). Nagusiki nukleoko mintzaren antolamenduan parte hartzen duten lamina izeneko proteinen mutazioek eragindako gaixotasunak aztertu dira. Laminopatia progeroideen taldea osatzen dute horiek. Oso goiz adierazten diren gaixotasun pediatrikoak dira. Hutchinson Gilford Progeria Sindromea (HGPS) da laminopatia progeroideen artean ikasiena. HGPS asaldura genetiko dominante oso arraroa da, 18 milioi lagunetik bati eragiten diona (The Progeria Research Foundation, 2020; <https://www.progeriaresearch.org/prf-bythe-numbers/>). HGPSa pairatzen duten hurrek hazkuntzaren atzerapen larria, alopezia, larruazalpeko gantzaren galera, osteoporosia eta gaixotasun kardiobaskularrak garatzen dituzte, besteak beste, heriotza goiztiarra

eragiten dutenak 14 urte bete orduko. Gaixotasun hori *LMNA* genearen mutazio txiki batek eragiten du, nukleotido bakar baten ordezkapenak hain zuzen, progerina gisa ezagutzen den proteina mutaturia kodetzen duena. Progerinak nukleoko deformazioa, telomeroen laburtzea, oxidazio-estresa eta erreplikazio-estresa eragiten dituela deskribatu da. Eragin horien ondorioz, progerinak zelulen seneszentzia goiztiarra sustatzen du gorputzeko hainbat ehunetan, horien zahartze azkarra dakarrena (Gonzalo eta Coll-Bonfill, 2019). Tamalez, pazienteak tratatzeko egungo estrategia bakarrak sintomak arintzea dauka helburu. Berriki, Lopez-Otin ikerlariaren taldeak CRISPR-Cas9 bidezko ingeniari-tza genetikoan oinarritutako estrategia bat diseinatu du progerina kaltegarriaren adierazpen maila murriztu nahian (Santiago-Fernández *et al.*, 2019). Estrategia horrek progeriako sagu-eredu batean eta gaixotzatik eratorritako zeluletan arrakasta handia izan du, eta horregatik, orain arte sendaezina zirudien HGPSari genetikoki aurre egiteko itxaropena piztu du.

Hala ere, oraindik ez dakigu DNAREN kalteek nola eragiten duten zahartze fisiologikoa. Baliteke zelulen biziraupenerako beharrezkoak diren geneetan zoriz sorturiko mutazioek zahartze prozesua bultzatzea. Hala ere, gaur egungo ebidentziek ikuspegi alternatibo hau proposatzen dute: urteetan zehar genomatik pilaturiko DNAREN kalte mailak atalase jakin bat gainditzean, zelularen kontrol-mekanismoek kaltetutako zelulak heriotzara bideratzen dituzte, edo bestela, haien hazkuntza modu iraunkorrean geldiarazi. Erantzun hori ama zeluletan aktibatzen bada, ondorio zuzena izango du ehunen birsorkuntzan, kaltetutako ehunen konponketa mugatuz eta, ondorioz, zahartzapena sustatuko da. Eredu hori babesten duen zenbait lan argitaratu da, horien artean aipagarria da Seckel sindrome progeroideari buruzkoa. Izan ere, sindrome horren jatorria erreplikazio-estresaren erantzulea den ATR mutazioetan dago (O'Driscoll *et al.*, 2003). Erreplikazio-estresak zahartze prozesuan daukan eragina aztertzeke, Fernández-Capetillo ikerlariaren taldeak Seckel sindromearen sagu-eredu bat garatu zuen, *ATR* genea mutaturik zuena, eta ondorioz kinaasa horren urritasun larria zuena (Murga *et al.*, 2009). Dagoneko enbrionogenesian, Seckel saguek erreplikazio-estres handia erakutsi zuten, eta sagu helduek zahartzapen bizkorra. Gainera, efektu hori are nabarmenagoa zen p53 tumore-ezabatzailea ere mutaturia zeukaten sagu-ereduetan. Emaizta horiek ondoko ereduak iradokitzen dute: urteetan zehar organismoek metaturiko erreplikazio-estresak zahartze prozesua faboratzen du. Ostera, ezegonkortasun genomikoa zelatatzen duten ATR eta p53 moduko proteinek orekatu egiten dute prozesua, eta zahartzea moteldu.

Neuronetako DNAN gertaturiko kalteen metaketa neuroendekapenezko zenbait asalduren garapenarekin lotuta dagoela proposatu da ataxia, Alzheimer, Huntington eta Parkinson gaixotasunak horien artean. Oro har, sistema neuronaleko zelulek DNAREN kalte ugari metatzeko joera daukate. Horren arrazoia guztiz argituta ez dagoen arren, badirudi neuronon arnasketa mitokondrial handiaren ondorioz ekoizten diren gehiegizko ROSetan egon daitekeela gakoa. Gainera, gizakiok helduaroan zelula neuronalak ordezkatzeko dugun gaitasun mugatuak azaldu lezake nerbio-sistemak ezegonkortasun genomikoarekiko duen sentikortasun handia. DNAREN kalteen konponketa-bideek homeostasi neuronalaren mantenuan funtsezko zeregina daukate, eta horregatik, ez da harriztekoa bide horietako akatsak neuroendekapenezko asaldura ezberdinen garapenarekin erlazionatuta egotea.

Adibidez, DNAREN konponketan partekatzen duen *ATM* geneko mutazioak ataxia telangiectasia (A-T) sindromearen erantzule dira (Rass, Ahel eta West, 2007). Haurtzaroan garatzen den A-T gaixotasunak ezaugarri hauek ditu: ibileraren eta mintzamenaren atzerapena, apraxia okulomotorra, zerebeloko atrofia, antzutasuna eta erradiosentikortasuna. A-T duten pazienteen %10-15ak minbizia garatzen du, bereziki leuzemia linfositiko akutua eta linfoma. Sindrome horren eragilea *ATM* kinasela ezagutzen denetik, A-T-ren diagnostikoa asko erraztu da. *ATM* zuzenean aztertu daiteke bai proteina mailan, bai eta DNA mailan ere, eta hori bereziki garrantzitsua da jaio aurretiko diagnostikoetarako. A-T-ren tratamenduari dagokionez, oraindik ez dago neuroendekapena moteldu edo geldiarazteko gai den tratamendurik, beraz gaixoen tratamendu bakarra sintomatikoa eta lagungarria da. Baina egun martxan dauden hainbat proiekturen helburua da CRISPR-Cas9 genomaren edizio-teknologia erabiliz *ATM* genea modu iraunkorrean konpontzeko estrategiak garatzea, gene akastuna konpontzeak zelulei proteina egokia ekoizteko aukera emango dielakoan (Ovchinnikov *et al.*, 2020).

Oro har, genetikoki ezegonkorak diren DNAREN errepikapen-sekuentzien hedapenak edo uzkurketak zenbait gaixotasunen atzean daitezke. Badirudi DNAk gune horietan izaten dituen ez-ohiko konformazioak erreplikazio eta konponketa mekanismoentzako oztopo direla, eta horrek eragiten duela ezegonkortasuna. Ondorioz garatzen diren gaixotasunen artean daude X hauskorraren sindromea, Friedrich ataxia, Creutzfeldt-Jakob gaixotasuna eta Huntington gaixotasuna (Jackson eta Bartek, 2009).

Azken hamarkadetan, DNAREN kaltearen jatorrien eta zelularen erantzunen inguruan asko ikertu da. Hala ere, oraindik asko geratzen da sare konplexu horren korapilo guztiak xehe-xehe ezagutzeko. Etorkizunerako erronken artean dago DNAREN kaltearekiko erantzunean eta konponketan parte hartzen duten proteinen jarduerak nola kontrolatzen diren zehatzago ulertzea. Zelula eta ehun ezberdinen arteko berezitasunak zehaztea ere aztertu beharreko kontu garrantzitsua da, antzeko prozesu zelularrek maiz oso bestelako erantzunak sortzen bait dituzte. Hala ere, proteina ezberdinen asaldurek minbizi mota eta patologia ezberdinen garapenean duten parte hartzean ere are gehiago sakondu behar da. Ezagutza horrek guztiak, ezegonkortasun genomikoaren biologjaren ulermena hobetzeaz gain, aukera itxaropentsuak eskainiko ditu, zalantzarik gabe, giza osasuna eta gaixotasuna hobeto ulertzeko eta kudeatzeko.

Esker onak

Gure eskerrik beroenak Nerea Osinalderi, testua zuzentzen eta orrazten laguntze-
agatik. Eta nola ez, mila esker lehengo eta oraingo laborategiko kide guztiei. Guz-
tien lan finari esker lortzen ari gara minbiziaren isilpeko bereizgarriak argitan jartzen.

Bibliografia

- AGUILERA, A.; GARCÍA-MUSE, T. Causes of genome instability. *Annu Rev Genet*, 47, p. 1-32, 2013.
- BAKHOUM, S. F.; CANTLEY, L. C. The Multifaceted Role of Chromosomal Instability in Cancer and Its Microenvironment. *Cell*, 174, n. 6, p. 1347-1360, 09 2018.
- BANERJEE, A.; SANTOS, W. L.; VERDINE, G. L. Structure of a DNA glycosylase searching for lesions. *Science*, 311, n. 5764, p. 1153-1157, Feb 2006.
- BARLOW, J. H.; FARYABI, R. B.; CALLÉN, E.; WONG, N. *et al.* Identification of early replicating fragile sites that contribute to genome instability. *Cell*, 152, n. 3, p. 620-632, Jan 2013.
- BARTHEL, F. P.; WEI, W.; TANG, M.; MARTINEZ-LEDESMA, E. *et al.* Systematic analysis of telomere length and somatic alterations in 31 cancer types. *Nat Genet*, 49, n. 3, p. 349-357, Mar 2017.
- BARTKOVA, J.; HOREJSÍ, Z.; KOED, K.; KRÄMER, A. *et al.* DNA damage response as a candidate anti-cancer barrier in early human tumorigenesis. *Nature*, 434, n. 7035, p. 864-870, Apr 2005.
- BARTKOVA, J.; REZAEI, N.; LIONTOS, M.; KARAKAIDOS, P. *et al.* Oncogene-induced senescence is part of the tumorigenesis barrier imposed by DNA damage checkpoints. *Nature*, 444, n. 7119, p. 633-637, Nov 2006.
- BECK, H.; NÄHSE, V.; LARSEN, M. S.; GROTH, P. *et al.* Regulators of cyclin-dependent kinases are crucial for maintaining genome integrity in S phase. *J Cell Biol*, 188, n. 5, p. 629-638, Mar 2010.
- BERTOLI, C.; HERLIHY, A. E.; PENNYCOOK, B. R.; KRISTON-VIZI, J. *et al.* Sustained E2F-Dependent Transcription Is a Key Mechanism to Prevent Replication-Stress-Induced DNA Damage. *Cell Rep*, 15, n. 7, p. 1412-1422, 05 2016.
- BERTOLI, C.; KLIER, S.; MCGOWAN, C.; WITTENBERG, C. *et al.* Chk1 inhibits E2F6 repressor function in response to replication stress to maintain cell-cycle transcription. *Curr Biol*, 23, n. 17, p. 1629-1637, Sep 2013.
- BESTER, A. C.; RONIGER, M.; OREN, Y. S.; IM, M. M. *et al.* Nucleotide deficiency promotes genomic instability in early stages of cancer development. *Cell*, 145, n. 3, p. 435-446, Apr 2011.
- BIGNELL, G. R.; GREENMAN, C. D.; DAVIES, H.; BUTLER, A. P. *et al.* Signatures of mutation and selection in the cancer genome. *Nature*, 463, n. 7283, p. 893-898, Feb 2010.
- BLUMRICH, A.; ZAPATKA, M.; BRUECKNER, L. M.; ZHEGLO, D. *et al.* The FRA2C common fragile site maps to the borders of MYCN amplicons in neuroblastoma and is associated with gross chromosomal rearrangements in different cancers. *Hum Mol Genet*, 20, n. 8, p. 1488-1501, Apr 2011.
- BROWN, E. J.; BALTIMORE, D. ATR disruption leads to chromosomal fragmentation and early embryonic lethality. *Genes Dev*, 14, n. 4, p. 397-402, Feb 2000.
- BRYANT, H. E.; SCHULTZ, N.; THOMAS, H. D.; PARKER, K. M. *et al.* Specific killing of BRCA2-deficient tumours with inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase. *Nature*, 434, n. 7035, p. 913-917, Apr 2005.
- BUENO, M. J.; GÓMEZ DE CEDRÓN, M.; LARESGOITI, U.; FERNÁNDEZ-PIQUERAS, J. *et al.* Multiple E2F-induced microRNAs prevent replicative stress in response to mitogenic signaling. *Mol Cell Biol*, 30, n. 12, p. 2983-2995, Jun 2010.
- BUISSON, R.; BOISVERT, J. L.; BENES, C. H.; ZOU, L. Distinct but Concerted Roles of ATR, DNA-PK, and Chk1 in Countering Replication Stress during S Phase. *Mol Cell*, 59, n. 6, p. 1011-1024, Sep 2015.
- BURKARD, M. E.; WEAVER, B. A. Tuning Chromosomal Instability to Optimize Tumor Fitness. *Cancer Discov*, 7, n. 2, p. 134-136, 02 2017.
- BURLA, R.; LA TORRE, M.; MERIGLIANO, C.; VERNÌ, F. *et al.* Genomic instability and DNA replication defects in progeroid syndromes. *Nucleus*, 9, n. 1, p. 368-379, 12 2018.
- BURROW, A. A.; WILLIAMS, L. E.; PIERCE, L. C.; WANG, Y. H. Over half of breakpoints in

gene pairs involved in cancer-specific recurrent translocations are mapped to human chromosomal fragile sites. *BMC Genomics*, 10, p. 59, Jan 2009.

CAMPISI, J.; D'ADDA DI FAGAGNA, F. Cellular senescence: when bad things happen to good cells. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 8, n. 9, p. 729-740, Sep 2007.

CARRERO, D.; SORIA-VALLES, C.; LÓPEZ-OTÍN, C. Hallmarks of progeroid syndromes: lessons from mice and reprogrammed cells. *Dis Model Mech*, 9, n. 7, p. 719-735, 07 2016.

CARTER, S. L.; CIBULSKIS, K.; HELMAN, E.; MCKENNA, A. *et al.* Absolute quantification of somatic DNA alterations in human cancer. *Nat Biotechnol*, 30, n. 5, p. 413-421, May 2012.

CHABES, A. L.; BJÖRKLUND, S.; THELANDER, L. S Phase-specific transcription of the mouse ribonucleotide reductase R2 gene requires both a proximal repressive E2F-binding site and an upstream promoter activating region. *J Biol Chem*, 279, n. 11, p. 10796-10807, Mar 2004.

CHABOSSEAU, P.; BUHAGIAR-LABARCHÈDE, G.; ONCLERCQ-DELIC, R.; LAMBERT, S. *et al.* Pyrimidine pool imbalance induced by BLM helicase deficiency contributes to genetic instability in Bloom syndrome. *Nat Commun*, 2, p. 368, Jun 2011.

CHEN, H. Z.; TSAI, S. Y.; LEONE, G. Emerging roles of E2Fs in cancer: an exit from cell cycle control. *Nat Rev Cancer*, 9, n. 11, p. 785-797, Nov 2009.

CHIN, K.; DE SOLORZANO, C. O.; KNOWLES, D.; JONES, A. *et al.* In situ analyses of genome instability in breast cancer. *Nat Genet*, 36, n. 9, p. 984-988, Sep 2004.

CIMPRICH, K. A.; CORTEZ, D. ATR: an essential regulator of genome integrity. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 9, n. 8, p. 616-627, Aug 2008.

CORTÉS-CIRIANO, I.; LEE, J. J.; XI, R.; JAIN, D. *et al.* Comprehensive analysis of chromothripsis in 2,658 human cancers using whole-genome sequencing. *Nat Genet*, 52, n. 3, p. 331-341, 03 2020.

D'ADDA DI FAGAGNA, F.; REAPER, P. M.; CLAY-FARRACE, L.; FIEGLER, H. *et al.* A DNA damage checkpoint response in telomere-

initiated senescence. *Nature*, 426, n. 6963, p. 194-198, Nov 2003.

DE KLEIN, A.; MUIJTJENS, M.; VAN OS, R.; VERHOEVEN, Y. *et al.* Targeted disruption of the cell-cycle checkpoint gene ATR leads to early embryonic lethality in mice. *Curr Biol*, 10, n. 8, p. 479-482, Apr 2000.

DEANS, A. J.; WEST, S. C. DNA interstrand crosslink repair and cancer. *Nat Rev Cancer*, 11, n. 7, p. 467-480, Jun 2011.

DEBATISSE, M.; LE TALLEC, B.; LETESSIER, A.; DUTRILLAUX, B. *et al.* Common fragile sites: mechanisms of instability revisited. *Trends Genet*, 28, n. 1, p. 22-32, Jan 2012.

DENKO, N. C.; GIACCIA, A. J.; STRINGER, J. R.; STAMBROOK, P. J. The human Ha-ras oncogene induces genomic instability in murine fibroblasts within one cell cycle. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 91, n. 11, p. 5124-5128, May 1994.

DER, C. J.; KRONTIRIS, T. G.; COOPER, G. M. Transforming genes of human bladder and lung carcinoma cell lines are homologous to the ras genes of Harvey and Kirsten sarcoma viruses. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 79, n. 11, p. 3637-3640, Jun 1982.

DI MICCO, R.; FUMAGALLI, M.; CICALESE, A.; PICCININ, S. *et al.* Oncogene-induced senescence is a DNA damage response triggered by DNA hyper-replication. *Nature*, 444, n. 7119, p. 638-642, Nov 2006.

DOBBELSTEIN, M.; SØRENSEN, C. S. Exploiting replicative stress to treat cancer. *Nat Rev Drug Discov*, 14, n. 6, p. 405-423, Jun 2015.

EYKELENBOOM, J. K.; HARTE, E. C.; CANAVAN, L.; PASTOR-PEIDRO, A. *et al.* ATR activates the S-M checkpoint during unperturbed growth to ensure sufficient replication prior to mitotic onset. *Cell Rep*, 5, n. 4, p. 1095-1107, Nov 2013.

FARMER, H.; MCCABE, N.; LORD, C. J.; TUTT, A. N. *et al.* Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy. *Nature*, 434, n. 7035, p. 917-921, Apr 2005.

FELLSHER, D. W.; BISHOP, J. M. Transient excess of MYC activity can elicit genomic instability and tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96, n. 7, p. 3940-3944, Mar 1999.

- FERNANDEZ-CAPETILLO, O. Intrauterine programming of ageing. *EMBO Rep*, 11, n. 1, p. 32-36, Jan 2010.
- FREDRIKSSON, N. J.; NY, L.; NILSSON, J. A.; LARSSON, E. Systematic analysis of noncoding somatic mutations and gene expression alterations across 14 tumor types. *Nat Genet*, 46, n. 12, p. 1258-1263, Dec 2014.
- FU, D.; CALVO, J. A.; SAMSON, L. D. Balancing repair and tolerance of DNA damage caused by alkylating agents. *Nat Rev Cancer*, 12, n. 2, p. 104-120, Jan 2012.
- GAY, S.; LACHAGES, A. M.; MILLOT, G. A.; COURBET, S. *et al.* Nucleotide supply, not local histone acetylation, sets replication origin usage in transcribed regions. *EMBO Rep*, 11, n. 9, p. 698-704, Sep 2010.
- GILSON, E.; GÉLI, V. How telomeres are replicated. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 8, n. 10, p. 825-838, Oct 2007.
- GONZALO, S.; COLL-BONFILL, N. Genomic instability and innate immune responses to self-DNA in progeria. *Geroscience*, 41, n. 3, p. 255-266, 06 2019.
- GONZÁLEZ BESTEIRO, M. A.; GOTTIFREDI, V. The fork and the kinase: a DNA replication tale from a CHK1 perspective. *Mutat Res Rev Mutat Res*, 763, p. 168-180, 2015 Jan-Mar 2015.
- GORGOLIS, V. G.; VASSILIOU, L. V.; KARAKAIDOS, P.; ZACHARATOS, P. *et al.* Activation of the DNA damage checkpoint and genomic instability in human precancerous lesions. *Nature*, 434, n. 7035, p. 907-913, Apr 2005.
- HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. The hallmarks of cancer. *Cell*, 100, n. 1, p. 57-70, Jan 2000.
- HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144, n. 5, p. 646-674, Mar 2011.
- HAYFLICK, L. THE LIMITED IN VITRO LIFETIME OF HUMAN DIPLOID CELL STRAINS. *Exp Cell Res*, 37, p. 614-636, Mar 1965.
- HAZAN, I.; HOFMANN, T. G.; AQEILAN, R. I. Tumor Suppressor Genes within Common Fragile Sites Are Active Players in the DNA Damage Response. *PLoS Genet*, 12, n. 12, p. e1006436, Dec 2016.
- HELLEDAY, T.; ESHTAD, S.; NIK-ZAINAL, S. Mechanisms underlying mutational signatures in human cancers. *Nat Rev Genet*, 15, n. 9, p. 585-598, Sep 2014.
- HELLMAN, A.; ZLOTORYNSKI, E.; SCHERER, S. W.; CHEUNG, J. *et al.* A role for common fragile site induction in amplification of human oncogenes. *Cancer Cell*, 1, n. 1, p. 89-97, Feb 2002.
- HELMRICH, A.; BALLARINO, M.; TORA, L. Collisions between replication and transcription complexes cause common fragile site instability at the longest human genes. *Mol Cell*, 44, n. 6, p. 966-977, Dec 2011.
- HOLMSTRÖM, K. M.; FINKEL, T. Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 15, n. 6, p. 411-421, Jun 2014.
- HONG, D.; INFANTE, J.; JANKU, F.; JONES, S. *et al.* Phase I Study of LY2606368, a Checkpoint Kinase 1 Inhibitor, in Patients With Advanced Cancer. *J Clin Oncol*, 34, n. 15, p. 1764-1771, 05 2016.
- IGLESIAS-ARA, A.; ZENARRUZABEITIA, O.; BUELTA, L.; MERINO, J. *et al.* E2F1 and E2F2 prevent replicative stress and subsequent p53-dependent organ involution. *Cell Death Differ*, 22, n. 10, p. 1577-1589, Oct 2015.
- IGLESIAS-ARA, A.; ZENARRUZABEITIA, O.; FERNANDEZ-RUEDA, J.; SÁNCHEZ-TILLÓ, E. *et al.* Accelerated DNA replication in E2F1- and E2F2-deficient macrophages leads to induction of the DNA damage response and p21(CIP1)-dependent senescence. *Oncogene*, 29, n. 41, p. 5579-5590, Oct 2010.
- INFANTE, A.; LARESGOITI, U.; FERNÁNDEZ-RUEDA, J.; FULLAONDO, A. *et al.* E2F2 represses cell cycle regulators to maintain quiescence. *Cell Cycle*, 7, n. 24, p. 3915-3927, Dec 2008.
- JACKSON, S. P.; BARTEK, J. The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature*, 461, n. 7267, p. 1071-1078, Oct 2009.
- JEGGO, P. A.; PEARL, L. H.; CARR, A. M. DNA repair, genome stability and cancer: a historical perspective. *Nat Rev Cancer*, 16, n. 1, p. 35-42, 01 2016.

- JONES, R. E.; OH, S.; GRIMSTEAD, J. W.; ZIMBRIC, J. *et al.* Escape from telomere-driven crisis is DNA ligase III dependent. *Cell Rep*, 8, n. 4, p. 1063-1076, Aug 2014.
- KASAHARA, M.; TAKAHASHI, Y.; NAGATA, T.; ASAI, S. *et al.* Thymidylate synthase expression correlates closely with E2F1 expression in colon cancer. *Clin Cancer Res*, 6, n. 7, p. 2707-2711, Jul 2000.
- LE TALLEC, B.; DUTRILLAUX, B.; LACHAGES, A. M.; MILLOT, G. A. *et al.* Molecular profiling of common fragile sites in human fibroblasts. *Nat Struct Mol Biol*, 18, n. 12, p. 1421-1423, Nov 2011.
- LE TALLEC, B.; MILLOT, G. A.; BLIN, M. E.; BRISON, O. *et al.* Common fragile site profiling in epithelial and erythroid cells reveals that most recurrent cancer deletions lie in fragile sites hosting large genes. *Cell Rep*, 4, n. 3, p. 420-428, Aug 2013.
- LECONA, E.; FERNANDEZ-CAPETILLO, O. Targeting ATR in cancer. *Nat Rev Cancer*, 18, n. 9, p. 586-595, 09 2018.
- LECONA, E.; FERNÁNDEZ-CAPETILLO, O. Replication stress and cancer: it takes two to tango. *Exp Cell Res*, 329, n. 1, p. 26-34, Nov 2014.
- LEE, A. C.; FENSTER, B. E.; ITO, H.; TAKEDA, K. *et al.* Ras proteins induce senescence by altering the intracellular levels of reactive oxygen species. *J Biol Chem*, 274, n. 12, p. 7936-7940, Mar 1999.
- LEIJEN, S.; VAN GEEL, R. M.; PAVLICK, A. C.; TIBES, R. *et al.* Phase I Study Evaluating WEE1 Inhibitor AZD1775 As Monotherapy and in Combination With Gemcitabine, Cisplatin, or Carboplatin in Patients With Advanced Solid Tumors. *J Clin Oncol*, 34, n. 36, p. 4371-4380, 12 2016.
- LETESSIER, A.; MILLOT, G. A.; KOUNDRIOUKOFF, S.; LACHAGÈS, A. M. *et al.* Cell-type-specific replication initiation programs set fragility of the FRA3B fragile site. *Nature*, 470, n. 7332, p. 120-123, Feb 2011.
- LIN, T. T.; LETSOLO, B. T.; JONES, R. E.; ROWSON, J. *et al.* Telomere dysfunction and fusion during the progression of chronic lymphocytic leukemia: evidence for a telomere crisis. *Blood*, 116, n. 11, p. 1899-1907, Sep 2010.
- LIU, Q.; GUNTUKU, S.; CUI, X. S.; MATSUOKA, S. *et al.* Chk1 is an essential kinase that is regulated by Atr and required for the G(2)/M DNA damage checkpoint. *Genes Dev*, 14, n. 12, p. 1448-1459, Jun 2000.
- LOPEZ-CONTRERAS, A. J.; SPECKS, J.; BARLOW, J. H.; AMBROGIO, C. *et al.* Increased Rrm2 gene dosage reduces fragile site breakage and prolongs survival of ATR mutant mice. *Genes Dev*, 29, n. 7, p. 690-695, Apr 2015.
- LÓPEZ-CONTRERAS, A. J.; FERNANDEZ-CAPETILLO, O. The ATR barrier to replication-born DNA damage. *DNA Repair (Amst)*, 9, n. 12, p. 1249-1255, Dec 2010.
- LÓPEZ-CONTRERAS, A. J.; GUTIERREZ-MARTINEZ, P.; SPECKS, J.; RODRIGO-PEREZ, S. *et al.* An extra allele of Chk1 limits oncogene-induced replicative stress and promotes transformation. *J Exp Med*, 209, n. 3, p. 455-461, Mar 2012.
- MACIEJOWSKI, J.; LI, Y.; BOSCO, N.; CAMPBELL, P. J. *et al.* Chromothripsis and Kataegis Induced by Telomere Crisis. *Cell*, 163, n. 7, p. 1641-1654, Dec 2015.
- MAI, S.; FLURI, M.; SIWARSKI, D.; HUPPI, K. Genomic instability in MycER-activated Rat1A-MycER cells. *Chromosome Res*, 4, n. 5, p. 365-371, Aug 1996.
- MANNAVA, S.; GRACHTCHOUK, V.; WHEELER, L. J.; IM, M. *et al.* Direct role of nucleotide metabolism in C-MYC-dependent proliferation of melanoma cells. *Cell Cycle*, 7, n. 15, p. 2392-2400, Aug 2008.
- MANSILLA, S.; BATALLER, M.; PORTUGAL, J. Mitotic catastrophe as a consequence of chemotherapy. *Anticancer Agents Med Chem*, 6, n. 6, p. 589-602, Nov 2006.
- MARTIN, R. W.; ORELLI, B. J.; YAMAZOE, M.; MINN, A. J. *et al.* RAD51 up-regulation bypasses BRCA1 function and is a common feature of BRCA1-deficient breast tumors. *Cancer Res*, 67, n. 20, p. 9658-9665, Oct 2007.
- MITXELENA, J.; APRAIZ, A.; VALLEJO-RODRÍGUEZ, J.; GARCÍA-SANTISTEBAN, I. *et al.* An E2F7-dependent transcriptional program modulates DNA damage repair and genomic stability. *Nucleic Acids Res*, 46, n. 9, p. 4546-4559, 05 2018.

- MITXELENA, J.; APRAIZ, A.; VALLEJO-RODRÍGUEZ, J.; MALUMBRES, M. *et al.* E2F7 regulates transcription and maturation of multiple microRNAs to restrain cell proliferation. *Nucleic Acids Res*, 44, n. 12, p. 5557-5570, 07 2016.
- MITXELENA, J. Transcriptional mechanisms regulating cell cycle progression and DNA damage response by E2F7 transcription factor. *Doktorego Tesia (Euskal Herriko Unibertsitatea, UPV/EHU)* 2014.
- MOOI, W. J.; PEEPER, D. S. Oncogene-induced cell senescence--halting on the road to cancer. *N Engl J Med*, 355, n. 10, p. 1037-1046, Sep 2006.
- MULLER, P. A.; VOUSDEN, K. H. p53 mutations in cancer. *Nat Cell Biol*, 15, n. 1, p. 2-8, Jan 2013.
- MURGA, M.; BUNTING, S.; MONTAÑA, M. F.; SORIA, R. *et al.* A mouse model of ATR-Seckel shows embryonic replicative stress and accelerated aging. *Nat Genet*, 41, n. 8, p. 891-898, Aug 2009.
- MURGA, M.; FERNÁNDEZ-CAPETILLO, O.; FIELD, S. J.; MORENO, B. *et al.* Mutation of E2F2 in mice causes enhanced T lymphocyte proliferation, leading to the development of autoimmunity. *Immunity*, 15, n. 6, p. 959-970, Dec 2001.
- MURTHY, S.; REDDY, G. P. Replisome: complete machinery for DNA synthesis. *J Cell Physiol*, 209, n. 3, p. 711-717, Dec 2006.
- NEGRINI, S.; GORGOULIS, V. G.; HALAZONETIS, T. D. Genomic instability--an evolving hallmark of cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 11, n. 3, p. 220-228, Mar 2010.
- O'DRISCOLL, M.; RUIZ-PEREZ, V. L.; WOODS, C. G.; JEGGO, P. A. *et al.* A splicing mutation affecting expression of ataxia-telangiectasia and Rad3-related protein (ATR) results in Seckel syndrome. *Nat Genet*, 33, n. 4, p. 497-501, Apr 2003.
- OGRUNC, M.; DI MICCO, R.; LIONTOS, M.; BOMBARDELLI, L. *et al.* Oncogene-induced reactive oxygen species fuel hyperproliferation and DNA damage response activation. *Cell Death Differ*, 21, n. 6, p. 998-1012, Jun 2014.
- OVCHINNIKOV, D. A.; WITHEY, S. L.; LEESON, H. C.; LEI, U. W. *et al.* Correction of ATM mutations in iPS cells from two ataxia-telangiectasia patients restores DNA damage and oxidative stress responses. *Hum Mol Genet*, 29, n. 6, p. 990-1001, Apr 2020.
- PACHER, P.; SZABÓ, C. Role of poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP-1) in cardiovascular diseases: the therapeutic potential of PARP inhibitors. *Cardiovasc Drug Rev*, 25, n. 3, p. 235-260, 2007.
- PALMERO, I.; MURGA, M.; ZUBIAGA, A.; SERRANO, M. Activation of ARF by oncogenic stress in mouse fibroblasts is independent of E2F1 and E2F2. *Oncogene*, 21, n. 19, p. 2939-2947, May 2002.
- PARADA, L. F.; TABIN, C. J.; SHIH, C.; WEINBERG, R. A. Human EJ bladder carcinoma oncogene is homologue of Harvey sarcoma virus ras gene. *Nature*, 297, n. 5866, p. 474-478, Jun 1982.
- RAHMAN, L.; VOELLER, D.; RAHMAN, M.; LIPKOWITZ, S. *et al.* Thymidylate synthase as an oncogene: a novel role for an essential DNA synthesis enzyme. *Cancer Cell*, 5, n. 4, p. 341-351, Apr 2004.
- RAI, P.; ONDER, T. T.; YOUNG, J. J.; MCFALINE, J. L. *et al.* Continuous elimination of oxidized nucleotides is necessary to prevent rapid onset of cellular senescence. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106, n. 1, p. 169-174, Jan 2009.
- RASS, U.; AHEL, I.; WEST, S. C. Defective DNA repair and neurodegenerative disease. *Cell*, 130, n. 6, p. 991-1004, Sep 2007.
- REDDY, E. P.; REYNOLDS, R. K.; SANTOS, E.; BARBACID, M. A point mutation is responsible for the acquisition of transforming properties by the T24 human bladder carcinoma oncogene. *Nature*, 300, n. 5888, p. 149-152, Nov 1982.
- ROGER, L.; JONES, R. E.; HEPPPEL, N. H.; WILLIAMS, G. T. *et al.* Extensive telomere erosion in the initiation of colorectal adenomas and its association with chromosomal instability. *J Natl Cancer Inst*, 105, n. 16, p. 1202-1211, Aug 2013.
- SALDIVAR, J. C.; CORTEZ, D.; CIMPRICH, K. A. The essential kinase ATR: ensuring faithful duplication of a challenging genome. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 18, n. 10, p. 622-636, 10 2017.
- SANTIAGO-FERNÁNDEZ, O.; OSORIO, F. G.; QUESADA, V.; RODRÍGUEZ, F. *et al.*

- Development of a CRISPR/Cas9-based therapy for Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nat Med*, 25, n. 3, p. 423-426, 03 2019.
- SARKARIA, J. N.; BUSBY, E. C.; TIBBETTS, R. S.; ROOS, P. *et al.* Inhibition of ATM and ATR kinase activities by the radiosensitizing agent, caffeine. *Cancer Res*, 59, n. 17, p. 4375-4382, Sep 1999.
- SARNI, D.; KEREM, B. The complex nature of fragile site plasticity and its importance in cancer. *Curr Opin Cell Biol*, 40, p. 131-136, 06 2016.
- SCHUMACHER, B.; GARINIS, G. A.; HOEIJMAKERS, J. H. Age to survive: DNA damage and aging. *Trends Genet*, 24, n. 2, p. 77-85, Feb 2008.
- SERRANO, M.; LIN, A. W.; MCCURRACH, M. E.; BEACH, D. *et al.* Oncogenic ras provokes premature cell senescence associated with accumulation of p53 and p16INK4a. *Cell*, 88, n. 5, p. 593-602, Mar 1997.
- SFEIR, A.; KOSIYATRAKUL, S. T.; HOCKEMEYER, D.; MACRAE, S. L. *et al.* Mammalian telomeres resemble fragile sites and require TRF1 for efficient replication. *Cell*, 138, n. 1, p. 90-103, Jul 2009.
- STEPHEN, A. G.; ESPOSITO, D.; BAGNI, R. K.; MCCORMICK, F. Dragging ras back in the ring. *Cancer Cell*, 25, n. 3, p. 272-281, Mar 2014.
- STEPHENS, P. J.; GREENMAN, C. D.; FU, B.; YANG, F. *et al.* Massive genomic rearrangement acquired in a single catastrophic event during cancer development. *Cell*, 144, n. 1, p. 27-40, Jan 2011.
- SØRENSEN, C. S.; SYLJUÅSEN, R. G. Safeguarding genome integrity: the checkpoint kinases ATR, CHK1 and WEE1 restrain CDK activity during normal DNA replication. *Nucleic Acids Res*, 40, n. 2, p. 477-486, Jan 2012.
- TSANTOULIS, P. K.; GORGOLIS, V. G. Involvement of E2F transcription factor family in cancer. *Eur J Cancer*, 41, n. 16, p. 2403-2414, Nov 2005.
- TSANTOULIS, P. K.; KOTSINAS, A.; SFIKAKIS, P. P.; EVANGELOU, K. *et al.* Oncogene-induced replication stress preferentially targets common fragile sites in preneoplastic lesions. A genome-wide study. *Oncogene*, 27, n. 23, p. 3256-3264, May 2008.
- UBHI, T.; BROWN, G. W. Exploiting DNA Replication Stress for Cancer Treatment. *Cancer Res*, 79, n. 8, p. 1730-1739, 04 2019.
- VAFA, O.; WADE, M.; KERN, S.; BEECHE, M. *et al.* c-Myc can induce DNA damage, increase reactive oxygen species, and mitigate p53 function: a mechanism for oncogene-induced genetic instability. *Mol Cell*, 9, n. 5, p. 1031-1044, May 2002.
- WANG, D.; LIPPARD, S. J. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nat Rev Drug Discov*, 4, n. 4, p. 307-320, Apr 2005.
- WEYEMI, U.; LAGENTE-CHEVALLIER, O.; BOUFRAQECH, M.; PRENOIS, F. *et al.* ROS-generating NADPH oxidase NOX4 is a critical mediator in oncogenic H-Ras-induced DNA damage and subsequent senescence. *Oncogene*, 31, n. 9, p. 1117-1129, Mar 2012.
- WILSON, T. E.; ARLT, M. F.; PARK, S. H.; RAJENDRAN, S. *et al.* Large transcription units unify copy number variants and common fragile sites arising under replication stress. *Genome Res*, 25, n. 2, p. 189-200, Feb 2015.
- YASWEN, P.; CAMPISI, J. Oncogene-induced senescence pathways weave an intricate tapestry. *Cell*, 128, n. 2, p. 233-234, Jan 2007.
- YUNIS, J. J.; SORENG, A. L. Constitutive fragile sites and cancer. *Science*, 226, n. 4679, p. 1199-1204, Dec 1984.
- ZHANG, Y. W.; JONES, T. L.; MARTIN, S. E.; CAPLEN, N. J. *et al.* Implication of checkpoint kinase-dependent up-regulation of ribonucleotide reductase R2 in DNA damage response. *J Biol Chem*, 284, n. 27, p. 18085-18095, Jul 2009.