

Los Premios

Premio Lasker 2015 a la investigación médica básica: la respuesta SOS

La *Albert and Mary Lasker Foundation* lleva más de 30 años otorgando los Premios Lasker (*Lasker Award*), que se conocen en el ámbito científico como los Nobel estadounidenses porque muchos de sus galardonados luego obtuvieron un premio Nobel. Esta vez se da la paradoja que el Premio Lasker 2015 de investigación médica básica se da al mismo tema (no a las mismas personas) que el Premio Nobel de Química 2015: la reparación del DNA. Mientras que el Nobel premia a los descubridores de la reparación por escisión de base (Tomas Lindahl), la reparación por escisión de nucleótidos (Aziz Sanchar) y la reparación de apareamientos erróneos (Paul Modrich), el Premio Lasker es para la respuesta SOS en los procariontes (Evelyn M. Witkin) y en los eucariotes (Stephen J. Elledge).

¿Por qué premiar la reparación?

El premio concedido a Evelyn M. Witkin y a Stephen J. Elledge por su trabajo sobre la respuesta SOS reconoce su contribución, de manera independiente, al esclarecimiento y comparación de las estrategias de reparación del DNA que usan las bacterias, las levaduras y las células humanas.

La reparación del DNA es un mecanismo de protección fundamental del genoma de todos los seres vivos. De hecho, todas las células de todos los organismos están expuestas durante su vida a continuas agresiones del DNA nuclear, desde las provocadas por reactivos químicos (que no tiene por qué proceder del medio externo, dado que las mitocondrias son el mejor oxidante celular) a las radiaciones ionizantes (es decir, las de alta frecuencia, con longitudes de onda del ultravioleta y menores, como los rayos X y los rayos γ). Dado que las células necesitan que el material genético permanezca inalterado, han desarrollado procesos para detectar dichas alteraciones (que suelen provocar paradas de la horquilla de replicación o de la burbuja de transcripción), repararlas y devolver la célula a una situación normal.

Las alteraciones pueden ser de muchos tipos, por lo que conviene que los mecanismos de reparación sean generalistas y arreglen el mayor número posible de problemas. Por ejemplo, las bacterias detienen el ciclo celular para dar tiempo a enmendar los desgastados, en un difícil compromiso entre dejarlo todo como estaba, o aprovechar las alteraciones y convertirlas en la fuente de variabilidad genética que les permitan adaptarse a los nuevos entornos.

Las células eucariotas detienen el ciclo celular para

reparar las mutaciones, pero cuando el ritmo de aparición de lesiones supera la capacidad de reparación (por ejemplo, sobreexposición a los rayos UV, o la sobreexposición a radiactividad), acaban suicidándose mediante un proceso que se denomina apoptosis. Tan delicado es el equilibrio entre reparar o suicidarse que muchas enfermedades (incluidas el cáncer, los trastornos neurodegenerativos o las deficiencias inmunitarias) tienen su origen en sistemas de reparación defectuosos.

Evelyn M. Witkin y los procariontes

La primera premiada inició su carrera científica en 1940 en el laboratorio que el genético ruso Theodosius Dobzhansky dirigía en la Universidad de Columbia (según sus biógrafos, llevada por sus ideas izquierdistas y su lucha contra el racismo). Pero Dobzhansky trabajaba con la mosca *Drosophila melanogaster* y Evelyn quería trabajar con la bacteria *Escherichia coli* inspirada en los trabajos de Luria y Delbrück. Así que Dobzhansky le recomendó que se fuera al Cold Spring Harbor Laboratory (CSHL) a trabajar con ellos, con lo que acabó aterrizando por allí en 1944 para empezar a trabajar en los mecanismos de reparación de las bacterias y establecer sus características generales. Esperemos que no sean sus ideas políticas las que hayan retrasado la concesión de un premio hasta los 94 años, como profesora emérita del Instituto Waksman de Microbiología de la Universidad de Rutgers (EE. UU.), sino otro olvido más, como el de Gregor Mendel o el de Barbara McClintok.

A su llegada al CSHL, todavía no había acuerdo en si el material genético era el DNA o las proteínas, pero se sabía que la radiación UV y los rayos X provocaban mutaciones heredables. Delbrück no pareció muy interesado en esta estudiante y le dio una lámpara ultravioleta para que hiciera mutantes de *E. coli* para su tesis, sin instruirla sobre las dosis que había que aplicar para la mutagénesis. En consecuencia, Witkin se pasó mucho tiempo achicharrando células. Afortunadamente para su carrera científica, le sobrevivieron 4 mutantes que son las que le sirvieron para encontrar los mecanismos de reparación del DNA, porque eran mucho más insensibles a la irradiación (de ahí que sobrevivieran).

El estudio de estos mutantes le permitió observar que había una inesperada conexión entre la sensibilidad a la radiación, la capacidad de división celular y la entrada del fago λ en el ciclo lítico. Al principio, nadie prestó atención a esta propuesta, pero poco después, otros científicos demostraron que una única mutación era responsable de estos fenómenos, lo que confirmó la hipótesis de Witkin (¿soy yo el único que ve el paralelismo con el hecho de que el descubrimiento de los

transposones en *E. coli* fue lo que hizo pensar a la comunidad científica que los descubrimientos de McClintock en las plantas debían ser ciertos?). No fue más que la primera vez que se confirmaba una hipótesis suya, y años después vendrían muchas más confirmaciones.

Cuando la comunidad científica aceptó que el material genético era el DNA, Witkin comprobó que la luz UV no provocaba los cambios heredables que llevaban décadas observando, sino que provocaba una serie de reacciones químicas en el DNA que lo hacían irreconocible. Por entonces solo se conocía la DNA polimerasa I de los procariontes, y se sabía que se detenía ante cualquier nucleótido que tuviera la menor anomalía. Por eso se le ocurrió proponer que la célula tenía que expresar otra polimerasa diferente, propensa a errores, que copiara el DNA incluso en presencia de esas modificaciones, y que sería esta enzima la que introduciría los cambios cuando la copia del DNA fuera inexacta. Así, en 1967 encontró que si se mutaba LexA, la célula era mucho más resistente a las mutaciones, por lo que propuso que era el represor de esa polimerasa propensa a errores. Dos años después descubrió la importancia de RecA en la reparación, y que formaba parte, junto con PolV, del mutasoma. Hoy se ha confirmado que esta polimerasa V existe. También figura en los libros de texto que LexA es el represor de lo que hoy conocemos como el regulón de la respuesta SOS.

A comienzos de la década de los 70 del siglo XX, el grupo de Miroslav Radman de la Universidad de Bruselas (Bélgica) encontró que LexA y RecA también eran claves en otros procesos mutagénicos y en la entrada del fago λ en el ciclo lítico. Radman acabó proponiendo que debía existir una respuesta, que denominó replicación SOS, en la que debían intervenir estas dos proteínas y la polimerasa propuesta por Witkin. Juntos, Radman y Witkin encontraron una legión de actividades de respuesta a la radiación UV que dependían de RecA y de LexA. Hoy sabemos que en la respuesta SOS intervienen más de 43 genes cuya expresión coordinada (o sea, el regulón SOS) va encaminada a devolver lo antes posible, y con la mayor eficacia, la secuencia correcta al DNA. De hecho, cualquier persona que haya estudiado la reparación del DNA en asignaturas como Genética o Biología Molecular, seguro que ha visto la respuesta SOS, la importancia del regulón de LexA, y la función de RecA en la reparación y la recombinación.

Las publicaciones que la Fundación Lasker considera más relevantes sobre el trabajo de Evelyn M. Witkin son:

- Witkin, E.M. (1947). Genetics of resistance to radiation in *Escherichia coli*. *Genetics*. 32, 221-248.
- Witkin, E.M. (1967). The radiation sensitivity of *Escherichia coli* B: a hypothesis relating filament

formation and prophage induction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 57, 1275-1279.

- Witkin, E.M. (1969). The mutability toward ultraviolet light of recombination-deficient strains of *Escherichia coli*. *Mutat. Res.* 8, 9-14.
- Witkin, E.M. (1974). Thermal enhancement of ultraviolet mutability in a *tif-1 uvrA* derivative of *Escherichia coli* B/r: evidence that ultraviolet mutagenesis depends upon an inducible function. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 71, 1930-1934.
- Witkin, E.M. (1976). Ultraviolet mutagenesis and inducible DNA repair in *Escherichia coli*. *Bacteriol. Rev.* 40, 869-907.
- Witkin, E.M., (1991). RecA protein in the SOS response: milestones and mysteries. *Biochimie*. 73, 133-141.
- Witkin, E.M. (2002). Chances and choices: Cold Spring Harbor 1944-1955. *Annu. Rev. Microbiol.* 56, 1-15.

Stephen J. Elledge y los eucariotas

Elledge ha tenido más suerte que Witkin, porque el premio le ha llegado a los 59 años, como catedrático de genética en la Facultad de Medicina de Harvard e investigador del Brigham and Women's Hospital, en Boston (EE. UU.). Ha recibido el Premio Lasker por extender a organismos más complejos las vías de reparación que la Dra. Witkin encontró en las bacterias.

Elledge se aficionó a la ciencia al vivir desde pequeño la carrera espacial y ser consciente de que la materia está compuesta de unidades cada vez más pequeñas. En el último año de carrera aprendió los mecanismos de la recombinación y se dio cuenta que la biología también se había vuelto molecular, y que cuanto más aprendía sobre el DNA, más le seducía. Así, a pesar de que era biólogo de formación, al acabar la carrera comenzó a trabajar en la respuesta SOS de Witkin en el Instituto Tecnológico de Massachusetts (EE. UU.) bajo la dirección de Graham Walker.

Como estaba mucho más interesado en los eucariotas, en 1987 inició una estancia posdoctoral con Ronald Davis en la Facultad de Medicina de la Universidad de Stanford para descifrar cómo se las apañaban los eucariotas para reparar el DNA. El hallazgo que marcó su carrera fue que, en las levaduras, el mRNA de la ribonucleótido reductasa se disparaba cuando había lesiones en el DNA y se paraba la replicación. En lugar de dejar de lado un comportamiento tan extraño (por entonces, todos estaban convencidos que los eucariotas debían tener una respuesta SOS como la de los procariontes), intentó buscarle explicación, y acabó proponiendo que

las levaduras debían poseer una especie de alarma antirrobo: un sistema de señalización que detectase las modificaciones del DNA (la alarma) y que a su vez reajustase la expresión de los genes que intervienen en la síntesis y reparación del DNA (la llegada de la policía). Era la primera vez que se proponía que el desencadenante de una vía de señalización procedía del interior de la célula y no del exterior.

Elledge pasó después por el Baylor College of Medicine y finalmente acabó en Harvard, siempre centrado en la regulación de la ribonucleótido reductasa de las levaduras. Había conseguido aislar cepas que inducían genes de reparación sin que hubiera lesiones, y otras que no los expresaban ni tan siquiera en presencia de lesiones graves. En las cepas que eran «ininducibles» Elledge encontró que la clave estaba en una cinasa, un tipo de enzima típica de la regulación, que denominó DUN1 (*DNA-damage uninducible 1*): cuando se dañaba el DNA, DUN1 se fosforilaba, con lo que se activaba y desencadenaba la expresión de los genes que repararían daños celulares, en un efecto amplificador de la señal (la alarma). También identificó otras cinasas nuevas que se encargaban de regular esta vía, como Rad53/Sad1, Mec1 y Tel1.

Elledge se interesó por la reparación del DNA en eucariotas más complejos, como los mamíferos, y sus resultados, junto a los de muchos otros investigadores, demostraron que los mamíferos respondían a las alteraciones en el DNA con un mecanismo parecido al que el propio Elledge descubrió en las levaduras. De hecho, las cinasas mencionadas antes pertenecen a la misma familia que la ATM humana, cuya modificación provoca la enfermedad mortal ataxia telangiectasia, caracterizada por una elevada incidencia del cáncer.

Saltar de los mamíferos a los humanos es algo habitual en muchos científicos, como Elledge. Descubrió que la aparición de DNA monocatenario, algo típico en muchas lesiones, es reconocido por RPA (proteína A de la replicación), a la cual se fija inmediatamente ATRIP (proteína que interacciona con ATR) que lleva asociada la proteína ATR (cinasa relacionada con ATM) cuya actividad cinasa desencadena la vía de respuesta a los daños en el DNA. En esta maquinaria quedan todavía muchas proteínas por descubrir. El propio Elledge vio en 2007 que ATM y ATR introducían fosfatos en más de 700 proteínas diferentes en respuesta a una lesión en el DNA.

Las publicaciones que la Fundación Lasker considera más relevantes sobre el trabajo de Stephen J. Elledge son:

- Elledge, S.J. and Davis, R.W. (1989). Identification of the damage responsive element of RNR2 and evidence that four distinct cellular factors bind it. *Mol. Cell. Biol.* 9, 5373-5386.

- Zhou, Z. and Elledge, S.J. (1993). DUN1 encodes a protein kinase that controls the DNA damage response in yeast. *Cell.* 75, 1119-1127.
- Sanchez, Y., Desany, B.A., Jones, W.J., Liu, Q., Wang, B., and Elledge, S.J. (1996). Regulation of RAD53 by the ATM-like kinases MEC1 and TEL1 in yeast cell cycle checkpoint pathways. *Science.* 271, 357-360.
- Sanchez, Y., Wong, C., Thoma, R.S., Richman, R., Wu, Z., Piwnica-Worms, H., and Elledge, S.J. (1997). Conservation of the Chk1 checkpoint pathway in mammals: linkage of DNA damage to Cdk regulation via Cdc25. *Science.* 277, 1497-1501.
- Matsuoka, S., Huang, M., and Elledge, S.J. (1998). Linkage of ATM to cell cycle regulation by the Chk2 protein kinase. *Science.* 282, 1893-1897.
- Zou, L. and Elledge, S.J. (2003). Sensing DNA damage through ATRIP recognition of RPA-ssDNA complexes. *Science.* 300, 1542-1548.
- Harper, J.W. and Elledge, S.J. (2007). The DNA damage response: ten years after. *Mol. Cell.* 28, 739-745. *Microbiol.* 56, 1-15.

Para saber más:

- Joseph L. Goldstein, (2015) *A Well-Hung Horse: Sired by Knowledge and Imagination*, *Cell* 162(6), 1179-1182.
- 2015 Albert Lasker Basic Medical Research Award.
- Nobel Prize in Chemistry 2015.

M. GONZALO CLAROS



Premio Lasker 2015 a la investigación médica básica: avances en inmunoterapia

James P. Allison: el estratega de la inmunoterapia del cáncer.

«Con la agradecida esperanza de un retorno seguro a sus casas después de una ausencia de nueve años, los griegos dedican esta ofrenda a Atenea (diosa de la guerra)», esta era la frase grabada en el flanco izquierdo del caballo de Troya. Pues bien, como si de un Odisseo del siglo XXI se tratara, el Dr. James P. Allison supo concebir un plan para ganarle batallas al cáncer y dar esperanzas a tantos pacientes que luchan durante años contra distintos tipos de cáncer, como melanomas, carcinomas de pulmón y genitourinarios. Uno de los ejemplos de estas nuevas versiones del «caballo de Troya» contra el cáncer del siglo XXI son los anticuerpos de tipo Ipilimumab o MDX-010, que aprovechan el conocimiento sobre los sofisticados circuitos moleculares del sistema inmune (aún no completamente caracterizados) y los avances biotecnológicas de las últimas décadas,

para diseñar una estrategia que aumenta la potencia del mecanismo natural por el que nuestro organismo lucha contra el cáncer.

¿Qué es Ipilimumab? Es una proteína (un anticuerpo monoclonal) obtenida por métodos biotecnológicos. Como otros anticuerpos se unen a su antígeno específico, en este caso mediante una interacción inactivante de una proteína denominada CTLA-4 (*Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated protein*). CTLA-4 es un receptor de membrana que actúa como modulador/represor del sistema inmune, más concretamente de la activación de los linfocitos T citotóxicos o CTLs. De modo que menos por menos es más: la inactivación del represor de la respuesta inmune de los CTLs debe tener un efecto potenciador de la acción citotóxica de estos linfocitos.

¿Cómo puede el sistema inmune (las CTLs) ayudar a acabar con el cáncer? Las células cancerosas tienen alterada su dotación genética en menor o mayor grado. Generalmente cuanto más progresa un tumor más alteraciones genéticas acumula, debido sobre todo a fallos cooperativos en los sistemas de control de la replicación, la reparación del genoma, y la biosíntesis de macromoléculas en general. Algunas de estos errores inducen la expresión de proteínas aberrantes. Estas «nuevas» proteínas o polipéptidos anómalos se pliegan, como todas, siguiendo leyes de la termodinámica, produciendo estructuras tridimensionales «extrañas» (antígenos) para nuestro sistema inmune. Estos antígenos finalmente son reconocidos por las CTLs que reaccionan contra ellas como si de un patógeno se tratara, disparando una respuesta inmune que tiene como finalidad la muerte de la célula aparentemente «invasora». La posibilidad de utilizar esta «confusión» del sistema inmune como base terapéutica del cáncer se denomina «inmunoterapia del cáncer». Sin embargo, las primeras iniciativas resultaron ser menos eficaces de lo esperado, ya que el sistema presenta mecanismos de represión (como aquel en el que actúa CTLA-4). La industria farmacéutica estaba a punto de abandonar esta estrategia terapéutica cuando el profesor Allison se fijó en CTLA-4 y formuló una nueva hipótesis, que fue posteriormente validada en ratones y publicada en 1996: «la neutralización de CTLA-4 por interacción física de un anticuerpo monoclonal (finalmente llamado Ipilimumab) potenciaría la

respuesta inmune antitumoral que conduciría a la destrucción de las células cancerosas. Aunque en principio la comunidad científica no fue muy receptiva, y a nivel molecular (y celular) quedan muchas preguntas sin responder sobre el mecanismo preciso por el cual CTLA-4 ejerce sus efectos, en la actualidad la estrategia propuesta por el Dr. Allison está dando resultados satisfactorios en pacientes de melanoma y carcinomas de pulmón, próstata y vejiga^[1]. La caracterización de CTLA-4 está cobrando interés también como elemento molecular potencialmente implicado en múltiples enfermedades autoinmunes^[2].

El profesor **J. P. Allison** es graduado en Microbiología y doctor en CC. Biológicas (Campus de Austin, Universidad de Tejas). Trabajó en varios de los campus más prestigiosos de California. Y en la actualidad es Catedrático del Departamento de Inmunología de la Universidad de Tejas, el estado en el que nació. Es vicedirector del Centro de investigación aplicada sobre cánceres genitourinarios de Tejas. Ha sido presidente de la asociación americana de Inmunólogos y es miembro de las Academias Americanas de las Ciencias, de Microbiología y de la Investigación sobre el cáncer. Su labor investigadora ha recibido multitud de premios de instituciones y fundaciones muy prestigiosas, como el que motiva este artículo. En definitiva, es un magnífico ejemplo para reforzar los ejemplos proporcionados por tantos grandes investigadores que han demostrado que para avanzar y llegar a nuevos descubrimientos notables no importa tanto el punto de partida, sino la trayectoria que uno se trace, y que un requisito indispensable es tener la capacidad de generar nuevas hipótesis mirando los problemas desde perspectivas no exploradas aún.

Referencias:

¹Page DB, Postow MA, Callahan MK and others. Immune Modulation in Cancer with Antibodies. *Annu Rev Med* 65: 185-202. 2014.

²Paterson AM, Lovitch SB, Sage PT and others. Deletion of CTLA-4 on regulatory T cells during adulthood leads to resistance to autoimmunity. *J Exp Med* 212(10): 1603-21. 2015.