



**Artículo de revisión**

**ROL DEL GEN SUPRESOR DE TUMORES SMARCB1/INI1  
EN EL DESARROLLO DE NEOPLASIAS PEDIÁTRICAS**

**Jesica Ramirez\*; Alejandra Mampel\*; María Echeverría\*; Adriana Calderón\*;  
Cecilia Arce\*; Gonzalo Nalda G\*\*; Leonor Ortiz\*\*\*; Julio Oliva \*\*\*; Miguel  
Marino\*\*\*\*; Ana Vargas\*.**

\* Instituto de Genética. Facultad de Ciencias Médicas. UNCuyo.

\*\* Servicio de Oncología Hospital H Notti.

\*\*\* Servicio de Anatomía Patológica Hospital H Notti.

\*\*\*\*Laboratorio de ADN. Facultad de Ciencias Médicas. UNCuyo.

Correo electrónico de contacto: [j.ramirez@fcm.uncu.edu.ar](mailto:j.ramirez@fcm.uncu.edu.ar)

## **Introducción**

La apariencia histológica de un grupo de tumores pediátricos entre los que se encuentra presente el neuroblastoma, el linfoma, el rhabdomyosarcoma, el sarcoma de Ewing y el tumor de Wilms, en su variedad blastemal, ha permitido agruparlos bajo la denominación de “tumores de células pequeñas, redondas y azules”. Otra de las neoplasias agresivas y letales en niños es el tumor rabdoide maligno (TRM). Este tumor presenta un inicio temprano de metástasis, resistencia a la quimioterapia y puede localizarse en riñón, sistema nervioso central (SNC) y otros tejidos blandos.

Se han descrito varios de los mecanismos moleculares y aberraciones cromosómicas implicadas en el desarrollo de sarcomas y tumores rabdoides renales y extra-renales. Aunque inicialmente el desarrollo de tumores rabdoides se relacionó a monosomía del cromosoma 22, posteriormente se ha descrito deleciones, translocaciones y otro tipo de mutaciones que involucran al gen supresor de tumor SMARCB1/INI1, contenido en el locus 22q11.2. Se considera a este gen como el principal miembro del complejo remodelador de la cromatina SWI/SNF y cualquier alteración del mismo determina a nivel nuclear la disminución o ausencia de la expresión de la proteína codificada. Se estima que la prevalencia de deleciones/mutaciones germinales es del 15- 30%. Con el fin de brindar un correcto diagnóstico, abordaje terapéutico y asesoramiento genético familiar se tiene en cuenta la edad, la localización tumoral y la histología. Algunos autores proponen la aplicación de técnicas moleculares que precisen el tipo de error en el gen, cuantifiquen la expresión proteica e investiguen la participación de mecanismos epigenéticos.

Los resultados de las investigaciones actuales sugieren que el gen SMARCB1 no sólo actúa sobre el ciclo celular sino que, además, interviene en la apoptosis y diferenciación de algunas líneas celulares. También favorece la inducción del potencial metastásico, interviene en los mecanismos de reparación del ADN y el mantenimiento de la estabilidad genómica.

### **Tumores Pediátricos**

Debido a su apariencia histológica semejante y primitiva caracterizada por núcleos hipercrómicos y escaso citoplasma, muchos tumores de la infancia se han denominado colectivamente “tumores de células pequeñas, redondas y azules”. En este grupo se incluye el neuroblastoma, el linfoma, el rhabdomyosarcoma, el sarcoma de Ewing y, en ocasiones, el tumor de Wilms<sup>1</sup>. Debido a la indiferenciación de estas neoplasias, en ocasiones, los hallazgos anatomopatológicos no permiten tipificarlos de manera certera. Es por ello que el diagnóstico diferencial debería comprender además de los datos clínicos, el diagnóstico por imágenes y el estudio cromosómico. El avance en el conocimiento de los mecanismos moleculares implicados en la génesis tumoral ha permitido establecer, para la mayoría, los genes y el tipo de error molecular involucrado planteando algunas pautas para optimizar la respuesta al tratamiento.

Otra de las neoplasias agresivas y letales en oncología pediátrica es el tumor rabdoide maligno (TRM) que inicialmente fue descrito en 1978 como una variante rhabdomyosarcomatoide del tumor de Wilms debido a su localización primaria renal y a la semejanza de sus células con los rhabdomyoblastos. La ausencia de diferenciación muscular llevó a Haas y colaboradores a acuñar el

término de tumor rabdoide. A diferencia del tumor de Wilms, el tumor rabdoide renal se caracteriza por un inicio temprano de metástasis regionales y a distancia y por su resistencia a la quimioterapia. Este tipo de tumor puede tener otras localizaciones como sistema nervioso central (SNC) y tejidos blandos denominándose en estos casos tumor rabdoide extra-renal.

La apariencia histológica del tumor rabdoide puede variar ampliamente incluyendo desde las clásicas células rabdoideas con un gran núcleo, un nucléolo prominente e inclusiones citoplasmáticas eosinofílicas pálidas hasta células con fenotipo pleomórfico e indiferenciado. Cuando aparece en SNC se conoce como teratoma atípico/tumor rabdoide (AT/RT) y demuestra una variedad de células primitivas neuroectodérmicas, epiteliales o mesenquimales que tornan dificultoso su diagnóstico diferencial con otros tumores neuroectodérmicos primitivos (PNET) o, incluso, con carcinomas de plexos coroideos.

La edad de aparición generalmente se describe en la infancia temprana, aunque se han publicado casos en los que los afectados son adolescentes o adultos<sup>2,3</sup>.

La técnica de inmunohistoquímica es una herramienta habitualmente aplicada aquí debido a la típica expresión de actina en músculo liso, antígenos de membrana epitelial y miogenina. El estudio de la pérdida de expresión de la proteína SMARCB1 es uno de los métodos planteados en la actualidad para establecer el diagnóstico diferencial de estas neoplasias <sup>4</sup>.

## **Hallazgos Citogenéticos, moleculares y epigenéticos en el desarrollo de tumores**

El advenimiento de diferentes técnicas moleculares aplicadas al diagnóstico ha permitido esclarecer en la actualidad algunos de los mecanismos implicados en el desarrollo de ciertas neoplasias de la infancia. Se describen actualmente los mecanismos moleculares y los hallazgos citogenéticos para varios tipos de sarcomas y tumores rabdoides renales y extra-renales.

Osuna y Álava postularon en el 2009 cinco tipos de mutaciones responsables del desarrollo de sarcomas<sup>5</sup>. **Delección:** pérdida de material genético que puede afectar el brazo de un cromosoma, un fragmento de un gen o sólo un par de bases nucleotídicas. **Amplificación:** la presencia de varias copias de un gen que conserva su estructura normal. **Translocación:** intercambio de material genético entre cromosomas no homólogos. El término translocación balanceada no implica pérdida de material genético, sin embargo, el intercambio puede resultar en el movimiento de secuencias génicas que coloque de manera contigua genes que codifican proteínas de fusión con actividad tumorigénica como la descrita en el sarcoma de Ewing (EWS/FLI1). **Inversión:** involucra un cromosoma en donde ocurren dos puntos de quiebra y el segmento delimitado se invierte y reinserta. Si el rearrreglo incluye al centrómero se denomina pericéntrica. **Mutaciones puntuales:** incluyen la sustitución de una base nucleotídica por otra.

Desde el punto de vista citogenético se agrupa a los sarcomas en dos categorías: la primera incluye alteraciones cromosómicas relativamente simples como las translocaciones balanceadas, la segunda está caracterizada por

cariotipos complejos, presencia de genes de fusión e incluso signos de inestabilidad cromosómica.

El desarrollo de tumores rabdoides, por su parte, ha sido inicialmente asociado a monosomía del cromosoma 22. Posteriormente se ha descrito deleciones, translocaciones y otro tipo de mutaciones que involucran el locus 22q11.2 que contiene al gen supresor de tumor SMARCB1/INI1.

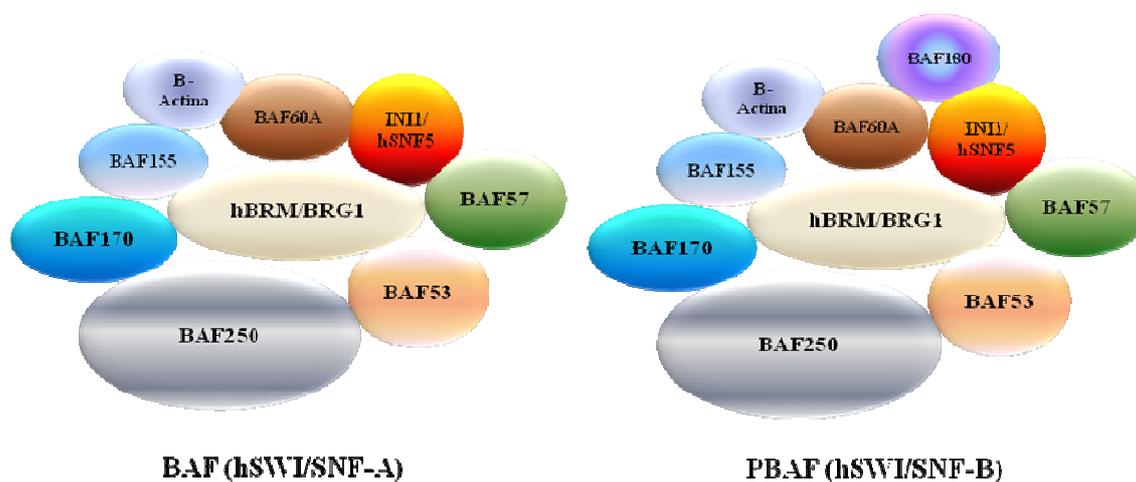
En relación a la función supresora de tumor de este gen se describe otro mecanismo involucrado en el desarrollo de neoplasias referido a la epigenética<sup>6</sup>. Bajo este término se agrupan cambios heredables en la función de un gen, en ausencia de algún cambio en la secuencia de ADN. Estas alteraciones incluyen modificaciones covalentes del ADN y las histonas así como cambios en el posicionamiento de nucleosomas que terminan por alterar la estructura de la cromatina y, como consecuencia, la accesibilidad de ciertos factores de transcripción a determinados genes blanco.

### **Rol de SMARCB1 como miembro del complejo remodelador de cromatina**

El nombre del gen SMARCB1 (SWI/SNF-related, matrix associated, actin-dependent regulator of chromatin, subfamily B, member 1) también conocido como INI1, SNF5 o BAF47, es el miembro principal del complejo remodelador de la cromatina SWI/SNF.

Se postula que los complejos remodeladores regulan la estructura de la cromatina y son componentes críticos que median la expresión de un gen. Estos complejos pueden dividirse en dos categorías: algunos modifican covalentemente a las histonas mediante acetilación, metilación o fosforilación. Otros, como el

complejo SWI/SNF, utilizan la energía proveniente de la hidrólisis del ATP para desplazar nucleosomas a lo largo de la hélice de ADN. Este desplazamiento se produce de una manera dinámica y sirve para regular la transcripción de blancos específicos. En mamíferos los complejos SWI/SNF, de aproximadamente 2 MDa, comprenden aproximadamente entre 8-14 subunidades proteicas. En células humanas se describen dos clases de complejos SWI/SNF conocidos como BAF (hSWI/SNF-A) y PBAF (hSWI/SNF-B) que difieren en la constitución proteica según se muestra en la **Figura 1**. Se ha establecido que esta heterogeneidad responde a actividades enzimáticas diferentes y les confiere especificidad funcional. Algunos estudios demuestran que PBAF estaría relacionado con la progresión del ciclo celular, mientras que BAF mediaría procesos de diferenciación celular. En ambos la presencia de la subunidad BRG1 habría sido ligada al crecimiento y tumorigénesis<sup>7</sup>.



**Figura 1.** Esquema representativo que muestra la diferente composición proteica de los dos tipos de complejos remodeladores de la cromatina (hSWI/SNF) en células humanas conocidos como BAF y PBAF. Se representa la diferencia en cuanto a las subunidades constitutivas. Imagen modificada. Stojanova and Penn. Biochem. Cell Biol (2009)

## **SMARCB1 y su rol supresor de tumor en la clínica**

El gen SMARCB1 tiene 9 exones, se localiza en 22q11.23 y funciona como supresor de tumor. Se sabe que la presencia de mutaciones germinales o deleciones en uno de sus alelos predispone al desarrollo de tumores rabdoides. Los individuos portadores de mutaciones germinales en algunos de sus progenitores en este gen estarían predispuestos al desarrollo de múltiples tumores rabdoides y en diferentes localizaciones ya que, cualquier mutación en una célula somática (teoría del doble impacto) o alteración en el segundo alelo, ocasiona la aparición de estas neoplasias. Se deduce, consecuentemente, que en estos pacientes las manifestaciones clínicas se presentan generalmente antes del año de vida y el pronóstico suele ser reservado.

En la mayoría de los niños, las mutaciones germinales y deleciones ocurren "de novo". Estos casos se consideran esporádicos, este paciente es el único miembro afectado y sus padres, por consiguiente, son sanos. Sin embargo, también se ha reportado familias con varios afectados en la descendencia de matrimonios sanos. En estas familias se aplica el mecanismo de mosaicismo gonadal. Este mecanismo de herencia propone que uno de los progenitores presenta la mutación en una proporción de sus células gonadales y, por lo tanto, puede transmitir la alteración a su descendencia sin presentar él mismo manifestaciones fenotípicas. Se estima que la prevalencia de deleciones/ mutaciones germinales es del 15- 30%, por lo tanto debe tenerse en cuenta el estudio molecular para brindar un correcto asesoramiento a la familia.

Por último, y en el contexto de las deleciones germinales que comprenden la región 22q11.2, se estima que, dependiendo del tamaño de la deleción, puede

aparecer en los pacientes, además de tumores rabdoideos, una serie de dismorfias asociadas como malformaciones cardíacas y auditivas, dismorfias faciales, retraso en el desarrollo psicomotor. Esto guarda estrecha correlación con la presencia de secuencia codificante presente (dosage sensitive genes)<sup>8</sup>. Este tipo de desorden genómico surge como consecuencia de la agrupación de secuencias repetidas (LCR low copy repeat) en esta región cromosómica lo que genera inestabilidad genómica y favorece la presencia de eventos de recombinación no alélica entre cromosomas homólogos (NAHR).

### **Rol de SMARCB1 en el desarrollo de tumores**

El análisis del gen SMARCB1 en biopsias de tumores rabdoideos ha demostrado una variedad de mutaciones que incluye deleciones homocigotas, mutaciones sin sentido y mutaciones que alteran el marco de lectura. Cualquiera sea la alteración presente en este gen determina a nivel nuclear la disminución o ausencia de expresión de la proteína codificada. Basados en estos principios, varios estudios están orientados a determinar las alteraciones en el gen como: análisis por secuenciación directa, detección de deleción/duplicación mediante MLPA (multiplex ligation probe amplification), SNP (Single Nucleotide Polymorphism) y CGH arrays (Comparative Genomic Hybridization). Otras técnicas como la inmunohistoquímica y el Western Blot están abocadas a la detección del producto proteico. Por último, ciertos autores investigan la intervención de mecanismos epigenéticos a través del estudio del ARN mensajero (ARNm) y ciertos factores de transcripción.

Si bien las alteraciones iniciales en el gen SMARCB1 fueron descriptas para tumores de tipo rabdoide con localización renal y extra-renal, la ausencia de la proteína codificada por el mismo comenzó a ponerse en evidencia en algunos otros tipos histológicos como el sarcoma epitelioides y el carcinoma medular renal<sup>9,10</sup>. Kreiger demostró la pérdida de expresión proteica INI1 a nivel nuclear en 5 de 17 muestras de sarcomas pediátricos indiferenciados a nivel histológico<sup>11</sup>. También se describe la coexistencia de mutaciones en los genes SMARCB1 y NF2 en familias con Schwannomatosis<sup>12</sup>. Un estudio reportado por Biegel y colaboradores en el año 2002 demostró que en el 75% de una muestra de 100 tumores rabdoides primarios y de sistema nervioso se encontró alguna alteración genética en SMARCB1. En el 25% de estos tumores se observó delección completa de los 9 exones del gen, lo que se tradujo en una ausencia total de la proteína a nivel nuclear.

Por último, es válido recordar los resultados aportados por Hoot y colaboradores en relación a la utilidad del análisis inmunohistoquímico de la proteína INI1 para distinguir tumores rabdoides de otros tipos de tumores pediátricos de partes blandas. En este estudio se observó la pérdida de expresión de la proteína INI1 en 44 muestras tumorales correspondientes al tipo histológico rabdoide. Además, con la finalidad de determinar la especificidad de este análisis, se aplicó el mismo ensayo en 45 muestras de tumores pediátricos de partes blandas, algunos de los cuales ocasionalmente mostraron diferenciación rabdoide. Esta segunda muestra incluyó los siguientes tipos histológicos: sarcoma de Ewing, tumor de Wilms, tumor desmoplásico de células redondas y pequeñas, sarcoma de células claras, nefroma mesoblástico congénito, sarcoma sinovial, sarcoma

indiferenciado, rabdomiosarcoma y sarcoma epitelioides. En este grupo se observó un patrón de tinción nuclear positivo en todos los tumores no rabdoideos examinados demostrando la presencia de proteína INI1 y, por lo tanto, la ausencia de alteraciones en SMARCB1. Un dato interesante para destacar fue que el patrón de tinción de los sarcomas sinovial y epitelioides mostró variabilidad en relación al resto<sup>13</sup>. Esto concuerda con lo publicado por otros autores.

### **Rol de SMARCB1 en el ciclo celular**

Los resultados de las investigaciones actuales sugieren que el gen SMARCB1 no sólo actúa sobre el ciclo celular sino que, además, interviene en la apoptosis y diferenciación de algunas células. También favorece la inducción del potencial metastásico en células tumorales.

Varios estudios sugieren que el mecanismo por el cual este gen supresor de tumor ocasiona proliferación celular es a través de su interacción con otros genes que median la progresión del ciclo. Los resultados de varias investigaciones indican que la continuidad del ciclo es debido a una disminución en la producción de p16<sup>INK4α</sup> y a un aumento de la expresión de las moléculas E2F y ciclina D1. Además de causar una sobre-regulación de los genes asociados a proliferación celular, SMARCB1 también activa los puntos de control del ciclo celular y puede, por lo tanto, inducir secuestro y apoptosis. Otros trabajos afirman que puede cooperar con p53 potenciando sinérgicamente la acción de ambos como factores altamente oncogénicos<sup>14,15</sup>.

En relación al comportamiento agresivo de los tumores rabdoideos se ha establecido que el potencial metastásico de estos estaría relacionado con el

control que SMARCB1 ejerce sobre el citoesqueleto de actina mediando un incremento de la señalización vía RhoA realizando, de esta manera, la actividad migratoria de ciertas líneas celulares<sup>16,17</sup>.

Se ha demostrado la importancia del complejo remodelador de la cromatina SWI/SNF, no sólo en la diferenciación de células neuronales y adiposas sino también en tipos celulares miogénicos, mieloides y eritropoyéticos. Esto, sumado a la acción que ejerce SMARCB1 sobre el ciclo celular, arroja las dos principales características de este tipo de neoplasias: la escasa diferenciación y la constante inducción a la proliferación celular.

Por último, debe resaltarse que aún es motivo de investigación la acción del complejo remodelador de cromatina SWI/SNF en los mecanismos de reparación del ADN y el mantenimiento de la estabilidad genómica en la génesis del cáncer<sup>18,19,20</sup>.

De lo expuesto en esta revisión se hace notar la importancia de complementar los estudios anatomopatológicos e inmunohistoquímicos con técnicas moleculares. Esto permitiría optimizar el conocimiento de los mecanismos subyacentes en las neoplasias pediátricas para mejorar el diagnóstico precoz y poner en evidencia aquellos síndromes de predisposición familiar. De esta manera podría realizarse el monitoreo continuo de los individuos susceptibles.

Además, el entendimiento de los mecanismos oncogénicos permitirá, en un futuro, identificar nuevas estrategias terapéuticas orientadas a mejorar el pronóstico para este grupo de tumores pediátricos.

## Referencias bibliográficas

- 1- Robbins, Cotran, Kumar, Abbas y Fausto. Patología Estructural y Funcional. Séptima edición. 2006. Elsevier. Madrid, España.
- 2- Zarovnya, et al. Atypical teratoid/rhabdoid tumor of the spine in an adult: case report and review of the literature. *J Neurooncol* (2007) 84:49–55.
- 3- Samaras, et al. Atypical teratoid/rhabdoid tumor of the central nervous system in an 18 years old patient. *Clin. Neuropathol.* 2009; 28(1): 1- 10.
- 4- Roberts and Biegel. The role of SMARCB1/INI1 in development of rhabdoid tumor. *Cancer Biol Ther.* 2009 March ; 8(5): 412–416.
- 5- Osuna and Álava. Molecular Pathology of Sarcomas. *Reviews on Recent Clinical Trials*, 200, 4: 12- 26.
- 6- Sansam and Roberts. Epigenetics and Cancer. Altered Chromatin Remodeling via Snf5 Loss leads to Aberrant Cell Cycle Regulation. [*Cell Cycle* 5:6, 621-624, 16 March 2006]; ©2006 Landes Bioscience.
- 7- Stojanova and Penn. The rol of INI1/hSNF5 in gene regulation and cancer. *Biochem. Cell Biol.* 87: 163- 177 (2009)
- 8- Lafay- Cousin, et al. Goldhenar phenotype in a child with distal 22q11.2 deletion and intracranial atypical teratoid rhabdoid. *American Journal of Medical Genetics. Part A* 149A:2855- 2859.
- 9- Modena, et al. SMARCB1/INI1 Tumor Suppressor Gene Is Frecuently Inactivated in Epitheliod Sarcomas. *Cancer Res* 2005; 65(10).
- 10- Cheng, et al. Renal medullary carcinoma: Rhabdoid features and the absence of INI1 expression as markers of aggressive behavior. *Mod Pathol* 2008; 21:647- 652.

- 11-Krieger, et al. Loss of INI1 expression defines a unique subset of pediatric undifferentiated soft tissue sarcomas. *Modern Pathology* (2009) 22, 142-150.
- 12- Boyd, et al. Alterations in the SMARCB1 (INI1) tumor suppressor gene in familial schwannomatosis. *Clin Genet* 2008; 74; 358- 366.
- 13-Hoot, et al. Immunohistochemical analysis of hSNF5/ INI1 distinguishes renal and extra-renal malignant rhabdoid tumors from other pediatric soft tissue tumors. *Am J Surg Pathol.* 2004 Nov; 28(11): 1485- 1491.
- 14-Betz BL, et al. Re-expression of hSNF5/INI1/BAF47 in pediatric tumor cells leads to G1 arrest associated with induction of p16ink4a and activation of RB. *Oncogene* 2002;21:5193–5203.
- 15-Isakoff MS, et al. Inactivation of the Snf5 tumor suppressor stimulates cell cycle progression and cooperates with p53 loss in oncogenic transformation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:17745–17750.
- 16-Medjkane S, et al. The tumor suppressor hSNF5/INI1 modulates cell growth and actin cytoskeleton organization. *Cancer Res* 2004;64:3406–3413.
- 17-Caramel J, et al.. RhoA-dependent regulation of cell migration by the tumor suppressor hSNF5/INI1. *Cancer Res* 2008;68:6154–6161.
- 18-Park JH, et al. Mammalian SWI/SNF complexes facilitate DNA double-strand break repair by promoting gamma-H2AX induction. *EMBO J* 2006;25:3986–3997.
- 19-Chai B, et al. Distinct roles for the RSC and Swi/Snf ATP-dependent chromatin remodelers in DNA double-strand break repair. *Genes Dev* 2005;19:1656–1661.

20- McKenna and Roberts. Epigenetics and cancer without genomic instability.

Cell Cycle 2009.8:1, 23-26.