



ADN al que se le unió la ADN ligasa, una enzima que une nucleótidos rotos.

Tomada de http://copro.com.ar/Reparacion_del_ADN.html

Reparar errores: cuestión de vida o muerte

Iván de Jesús Arellano Palma

La molécula de los premios Nobel

La molécula más famosa en biología vio la luz en un artículo de tan sólo dos hojas. La noche del 7 de marzo de 1953, Watson y Crick terminaron de armar su modelo y poco después, el 2 de abril del mismo año mandaron el artículo –que todos los estudiantes de biología molecular hemos leído y algunos disfrutado– a la revista *Nature* donde detallaban la estructura que proponían. El 25 de ese mismo mes se publicó y causó conmoción pues los que trabajaban en el problema se dieron cuenta de que el asunto estaba concluido. Casi diez años después, en 1962, Watson, Crick y Wilkins

recibieron el premio Nobel de Medicina y Fisiología por su trabajo. Si bien es cierto –como dijo el evolucionista Theodosius Dobzhansky– que en biología nada tiene sentido si no es a la luz de la evolución, también mucha de la coherencia y unificación que tiene la biología se debe al ADN. El descubrimiento de la estructura del ADN ha sido un elemento unificador en la biología, pues ayudó a entender cabalmente el proceso de evolución postulado por Darwin y Wallace en el siglo antepasado, de ahí su fama e importancia como molécula (ver en *Cienciorama* “Paradigmas evolutivos o la evolución de la evolución” y “¿Jaque mate a la neosíntesis?”). Además es universal y ¡toda la vida! hasta donde se sabe, se basa en los filamentos retorcidos de ADN. Por si esto fuera poco la molécula de ADN ha dado para otorgar, directa o indirectamente, unos 15 premios Nobel tanto en medicina y fisiología como en química. El penúltimo premio Nobel de Química, el de 2015, se otorgó a Tomas Lindahl, Paul Modrich y Aziz Sancar por sus investigaciones sobre la reparación del ADN, y éste es el tema del presente artículo.

La célula y la escalera de dos metros

Si vemos una célula a través de un microscopio, admiramos el pilar de la vida y con suerte hasta observamos el proceso de la mitosis o división celular. Manipulando los objetivos del microscopio podremos lograr un mayor acercamiento, y si coloreamos la célula con pinturas especiales como el lugol y azul de metileno, podremos observar con paciencia, en el caso de una célula vegetal, la pared celular, la membrana, los cloroplastos, las vacuolas y el núcleo. Nos maravillamos al saber que ahí reside el material genético que hace única a cada especie de microorganismo, hongos, animales o vegetales. Por último, si se agrega al entorno de la célula una solución hipotónica que haga que absorba agua, la célula estallará y sólo faltará usar un nuevo colorante llamado Giemsa para que los cromosomas se tiñan intensamente y queden al descubierto. Entonces los podremos incluso contar y hasta podremos hacer un cariotipo con ellos, es decir, una

imagen del conjunto de cromosomas único de cada especie (ver en *Cienciorama* “Caras vemos, cromosomas sexuales no sabemos”). Por último la cereza del pastel, podemos observar lo más interesante que hay en una célula y que conforma cada cromosoma: el ADN siempre acompañado de unas proteínas llamadas histonas.

El ADN consta de dos cadenas muy largas de nucleótidos. Cada uno de ellos se forma con una base nitrogenada de cuatro posibles: adenina (A), guanina (G), citosina (C) y timina (T), un grupo fosfato y un azúcar conocida como desoxirribosa (ver “Sobre la boa que se comió un elefante” en *Cienciorama*). Las bases de una cadena se presentan apareadas a las de otra siempre de la siguiente manera: A con T y C con G. El apareamiento produce entre otras cosas, la doble hélice del ADN (figura 1). Si al ADN se le quitarán las histonas y se desenrollara, la doble hélice mediría dos metros, ¡sí, dos metros!

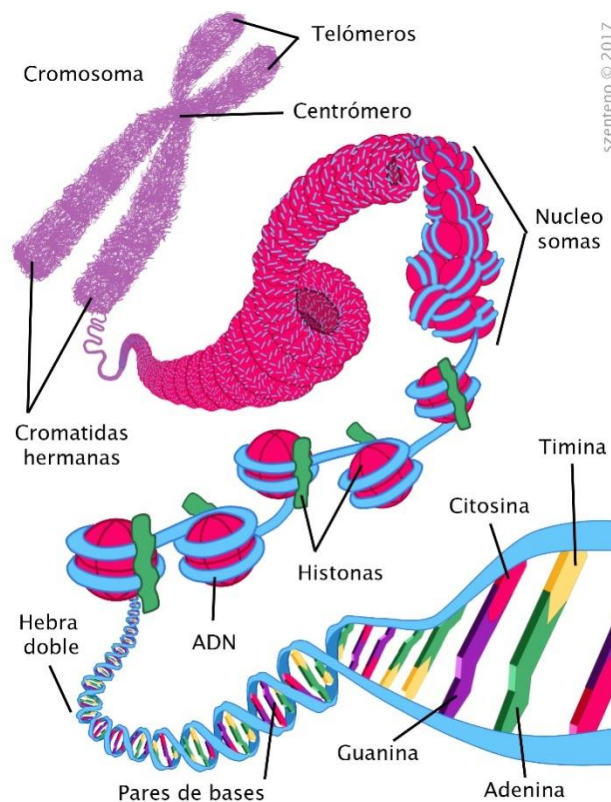


Figura 1. Podemos observar que en el núcleo celular se encuentran los cromosomas –que se dividen para su estudio en nucleosomas– hechos de ADN y proteínas llamadas histonas. Por último vemos las pares de bases que conforman al ADN. Imagen tomada de: https://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_desoxirribonucleico modificada por Silvia Zenteno

Para poder transmitir la valiosa información que guarda, el ADN debe apoyarse en su colega el ARN. Este proceso es conocido como transcripción (ver en *Cienciorama* “Secuencias IRES: ¿reglas en la traducción?”) y forma parte del llamado dogma central de la biología molecular, nombre otorgado por Crick. Un dogma es un sistema de pensamiento, proposición o doctrina que se tiene por cierta y no se puede poner en duda, o sea es indiscutible. Por lo tanto, un dogma es lo opuesto al funcionamiento de la ciencia. Crick, como cuenta Raúl Alzogaray, en su libro *Una tumba para los Romanov*, se percató de su error al utilizar la palabra dogma, en realidad Crick confundió dogma con axioma. Se refería a los procesos que describen cómo fluye la información genética contenida en el ADN al ARN y de ahí a las proteínas (figura 2). Cuando el ARN copia la información del ADN, tiene que salir del núcleo hacia el citoplasma celular donde encuentra un organelo celular llamado ribosoma. Éste junto con diferentes tipos de ARN –mensajero, ribosomal y de transferencia– lleva a cabo la traducción, es decir, el cambio de lenguaje de bases nitrogenadas a aminoácidos, los “ladrillos” con los que se forman todas las proteínas. Dado que el llamado “dogma” ha sido modificado en varias ocasiones, el dogma no es un dogma (ver en *Cienciorama* “¡Científico! ¡Hay un virus en mi ciencia!”).

El ADN puede sufrir de forma natural o exacerbada modificaciones por el medio ambiente. Éstas pueden alterar el apareamiento de las bases, producir roturas de la cadena y adicionar grupos químicos que impiden una correcta lectura del ADN, y que ocasionan la producción y fijación de mutaciones o cambios en la secuencia de los nucleótidos. Afortunadamente existen mecanismos de reparación del ADN que lo protegen, y evitan posibles

mutaciones y enfermedades como el cáncer y el síndrome de Bloom, una patología que se caracteriza por una marcada inestabilidad cromosómica que afecta la piel que es extremadamente sensible a la luz UV y a otras enfermedades más.

Primer obstáculo: la radiación UV

La atmósfera terrestre protege a los seres vivos de la radiación ultravioleta de forma natural o exacerbada (UV) proveniente del Sol, pero es pertinente decir que no la absorbe en su totalidad, por eso no hay que olvidar el protector solar. La investigación del turco Aziz Sancar mencionado al principio, que trabaja en la Universidad de Carolina del Norte, se concentró en los daños causados por radiaciones como la UV en el ADN de bacterias como *E.coli*.

Cuando se expone a las bacterias a la radiación UV se provoca una notable disminución de su reproducción. Sancar y sus colaboradores identificaron la intervención de tres proteínas que reparan en el ADN los efectos de la radiación a partir de un fenómeno llamado escisión de nucleótidos. Estas tres proteínas presentes en las bacterias forman un complejo que funciona de la siguiente manera: primero se identifica la zona dañada del ADN donde se unen dos estructuras de las bases y en especial de la timina, que producen deformaciones en la doble hélice. Segundo, una enzima -catalizador biológico o acelerador de un proceso- señala mediante una marca química la zona dañada y con ello “llama” a otra enzima que “despega” o corta el ADN “marcado”.

Finalmente aparecerán otras dos enzimas, la ADN polimerasa que es una enzima que agrega los nucleótidos complementarios o faltantes en el ADN y el proceso se da por terminado cuando una ADN ligasa une los extremos fosfato del ADN y queda rellena y reparada la doble hélice (figura 2).

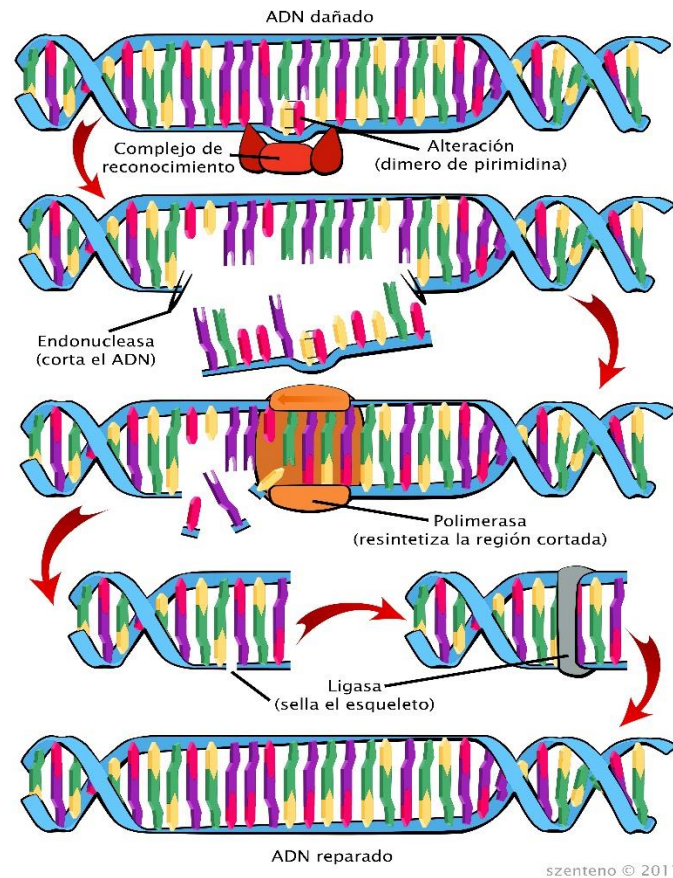


Figura 2. Mecanismo de reparación por escisión de nucleótidos. Se tiene que reconocer el daño –parte superior izquierda– para que la endonucleasa corte un fragmento de 12 a 13 nucleótidos para que la polimerasa pueda sintetizar el nuevo ADN y la ligasa termine la obra. Imagen tomada de la Universidad de Cantabria de España y modificada por Silvia Zenteno <http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/biogerontologia/materiales-de-clase-1/capitulo-8.-danos-en-el-genoma-y-el-envejecimiento/8.3-mecanismos-de-reparacion-del-adn>

Nadie es perfecto... y tampoco la ADN polimerasa

Cada vez que la célula se divide tiene que duplicar su ADN para que vaya una copia de éste en cada célula “hija”, y la enzima que hace esta chamba se llama ADN polimerasa (imagen inicial del texto). La ADN polimerasa es sorprendente pues el copiado que hace del ADN es absolutamente fidedigno, parece no equivocarse nunca, ¡pero claro que se puede equivocar! Y cuando esto sucede al ADN le sale un “chipote” debido al mal apareamiento de las bases. Cualquier cambio en el orden en el apareamiento de las bases deforma el ADN y con esto en mente podremos entender la reparación por

desapareamientos descubierta y descrita por Paul Modrich en 1976, investigador de la Universidad de Druke, en Carolina del Norte.

Veamos cómo funciona este mecanismo. Cuando la enzima ADN polimerasa llega a equivocarse, ella misma corrige el error, pero puede fallar de nuevo y entonces sí vienen los problemas y hay de dos: reparar o mutar.

Supongamos que el ADN fue duplicado y el desapareamiento se consumió. En una futura duplicación del ADN habrá un problema ya que la polimerasa encontrará un par de bases mal apareadas, y es un problema grave porque ahora no es posible saber cuál es la base apareada incorrectamente y se habrá fijado una mutación; o sea, se produce un cambio que podrá reproducirse en el futuro.

Veamos cómo actúa este mecanismo de reparación, para que la mutación no se fije. El sistema debe ubicar rápidamente dónde falló la polimerasa y se guiará por alguna modificación en las bases, por ejemplo marcas epigenéticas, que son cambios bioquímicos que regulan las actividades del ADN y que responden a la influencia del medio ambiente. Es como una segunda capa de información relacionada con el ADN. Existen varios mecanismos epigenéticos, por ejemplo la metilación o la fosforilación (ver en *Cienciorama* “Epigenética: El laberinto alrededor de los genes”). Generalmente algunos palíndromos de ADN –secuencias que se leen igual de izquierda a derecha y viceversa– suelen metilarse. Por ejemplo, Átate demoniaco Caín o me delata, y GATC y CTAG en el ADN ¿lo ves?

En la metilación está la clave de este sistema de reparación. Las enzimas de este proceso se encargan de reconocer la hebra dañada que no se metila. Es decir, es como si la metilación fuera un signo de vejez, la hebra molde es la vieja y metilada y las enzimas reconocen que la hebra modificada y dañada es la nueva, es decir, la no metilada. Una vez reconocido el daño es eliminado y la síntesis de nuevo ADN se lleva a cabo por la ADN polimerasa y la ADN ligasa (figura 3). El propio Modrich descubrió

en 1986 que si este mecanismo falla da origen a células cancerosas, particularmente en el colon.

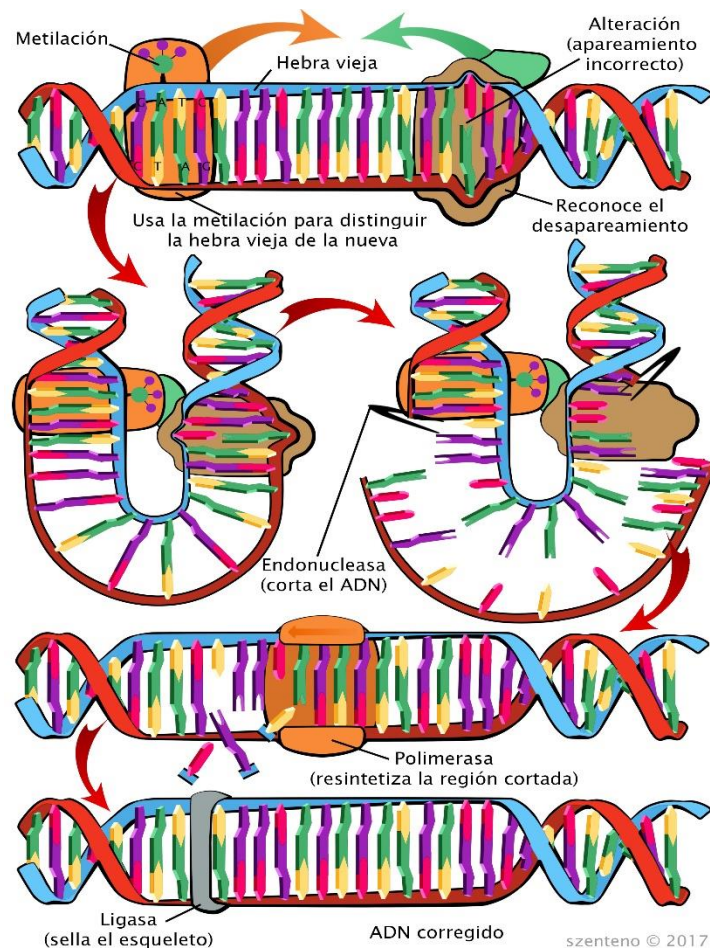


Figura 5. Sistema de reparación de desapareamientos. Para una explicación del proceso, ver el texto. Imagen creada por Silvia Zenteno

¿Mutaciones continuas?: la escisión o división de bases

No hubiéramos llegado ni al segundo día de nacidos si nuestro mecanismo de reparación de ADN estuviera colapsado. Normalmente pensamos que el ADN se daña sólo por agentes ambientales, como la ya mencionada radiación UV, la contaminación ambiental, los residuos del cigarrillo, etc. Aunque es cierto, también lo es que los daños al ADN pueden ser espontáneos y contados por ¡miles cada día! Menudo problema. Y si es así te preguntarás

¿cómo es que puedo seguir leyendo este artículo en *Cienciorama* si mi ADN está sufriendo daños ahora mismo?

El mecanismo que nos permite seguir vivos y leyendo este artículo fue descubierto en las bacterias por Tomas Lindahl, investigador emérito del Instituto Francis Crick de Londres en 1974 y recreado en las células humanas *in vitro* en 1996. Lindahl se percató de que los miles de daños diarios en el ADN no se reflejaban en mutaciones, entonces dedujo que debía existir un mecanismo continuo de reparación de los daños. El mecanismo que describió se llama reparación por escisión de bases.

Como el nombre lo dice esta reparación se centra en las irregularidades de la naturaleza química de las bases que forman los nucleótidos. En este tipo de reparación hay ausencia de bases nitrogenadas debido a que hay una rotura de la unión base-azúcar. Cuando la ADN polimerasa empieza a sintetizar nuevo ADN y hay un sitio abásico, es decir sin base, la polimerasa se detiene o salta creando una mutación. El sistema de reparación que impide las mutaciones continuas es comandado por diversos sistemas enzimáticos que reparan de forma diferente los daños producidos en el ADN.

Podemos decir que el proceso se puede resumir simplemente como una extracción de la base dañada para después introducir la correcta, pero es muy complejo pues participan ¡ejércitos de enzimas! (figura 6).

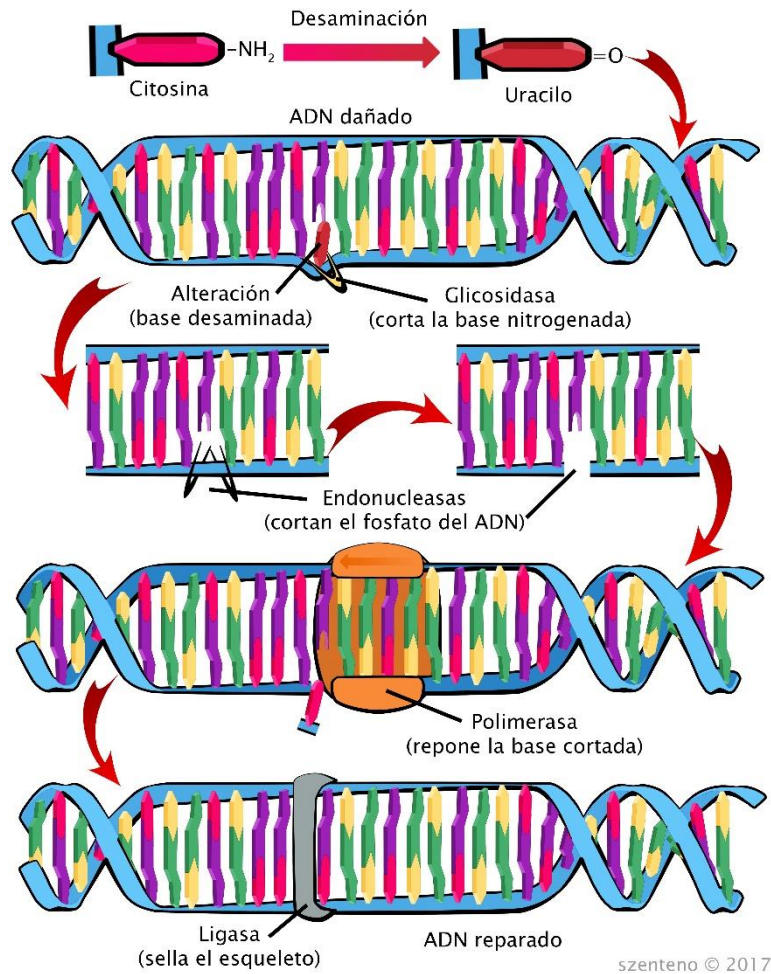


Figura 6. Reparación por escisión de bases. Primero hay un reconocimiento del ADN dañado, posteriormente se elimina la base dañada para que la polimerasa rellene el sitio abásico y la ligasa deje todo como nuevo. Imagen inspirada de la Universidad de Cantabria: <http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/biogerontologia/materiales-de-clase-1/capitulo-8-danos-en-el-genoma-y-el-envejecimiento/8.3-mecanismos-de-reparacion-del-adny> modificada por Silvia Zenteno

Lo asombroso de estos tres mecanismos es que son universales, ubicuos y constitutivos; es decir, que se encuentran en todos los organismos, en todas sus células y son la base molecular que permite la vida, pues mantiene fiel y estable el ADN.

Estas investigaciones ya están dando ideas para ser aplicadas en enfermedades como el cáncer, por ejemplo en el reciente trabajo de Tom Fleming de la Universidad de Oxford. En él se aprovecha la ventaja de los

mecanismos de reparación del ADN para evadir los efectos de la quimioresistencia a drogas como el cis-platino (ver en *Cienciorama* “Cis-platino, el súper héroe”). La quimioresistencia de las células cancerosas se debe a que se especializan en un mecanismo de reparación para inhibir el efecto del fármaco. Fleming y colaboradores se percataron de que normalmente la célula cancerosa usa un solo mecanismo de reparación que es a la vez que su ventaja su talón de Aquiles. Un ejemplo de un fármaco de este tipo es Olaparib, un inhibidor de una proteína llamada PARP que participa en la reparación del ADN. Actualmente se trabaja para crear nuevos fármacos que bloqueen proteínas que involucren diferentes mecanismos de reparación. Por último, debo mencionar que los tres mecanismos descritos no son los únicos, hay muchos más como el sistema SOS, el sistema de reparación de tramo corto (NER), la unión de extremos no homólogos (NHEJ) y otros, pero los que menciono están entre los más importantes.

¿Y qué pasa cuando el que no debe fallar falla?

Está visto que reparar el ADN es un asunto de vida o muerte pues las lesiones alteran el producto final del flujo genético: las proteínas. Además, las células hijas, derivadas de la mitosis, pueden ver afectada su supervivencia.

La velocidad de reparación del ADN depende de muchos factores como la edad, el tipo de célula y hasta su ambiente extracelular. Aquella célula que no pueda reparar sus daños eficazmente entra en uno de los tres estados posibles: de inactividad llamada senescencia, suicidio celular llamado apoptosis (ver en *Cienciorama* “Una muerte que sienta bien”) o alguna enfermedad como el cáncer.

Por último, se sabe que los humanos tenemos dos tipos de ADN: el ADN nuclear que se encuentra en el núcleo de todas las células y el ADN mitocondrial que está en las mitocondrias de las células. Se dice que el ADN mitocondrial está desnudo porque no tiene histonas que lo protejan. Esto es lo que se sabe aunque hay grupos de investigación que dicen que

esto no es cierto. Lo que sí se sabe es que el ADN mitocondrial no tiene formas de repararse y debido a esto y a otros factores viene el proceso de envejecimiento.

Referencias

Divulgación

- García Fernández, Horacio, “La cacería del genoma humano”, en colección *¿Cómo ves?*, libro núm. 8, 2009
- Vázquez-Ramos Jorge, “Reparación del ADN; un asunto de vida... y de premios Nobel”, *Educación Química* (2016) 27, 93-96

Especializada

- Lindahl, T. (1979), “DNA glycosylases, endonucleases for apurinic/apyrimidinic sites, and base excision-repair”, *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*, 22, 135-192.
- Su, S. S. y Modrich, P. (1986), “Escherichia coli mutS-encoded protein binds to mismatched DNA base pairs. PNAS”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 83, 5057-5061.