



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

---

---



**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**NÚCLEO CELULAR.**

**T E S I N A**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**C I R U J A N O   D E N T I S T A**

**P R E S E N T A:**

**DAVID ALBERTO GONZÁLEZ RAMÍREZ**

**TUTORA: Esp. CAROLINA VEGA RAMÍREZ**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## ÍNDICE

Introducción	3
Antecedentes	5
1. Núcleo celular	10
1.1 Nucleolema	10
1.1.1 Doble capa	11
1.1.2 Poros nucleares	13
1.2 Nucléolo	15
1.2.1 Composición bioquímica	16
1.2.2 Funciones	18
1.2.3 Organización	19
1.2.4 Cromatina	20
1.2.5 Nucleosoma	22
1.2.6 Posición de los nucleosomas en el ADN	27
1.2.7 Maquinaria remodeladora de cromatina	28
1.2.8 Modificaciones covalentes de las hebras de las histonas	31
2. Ácido desoxirribonucleico (ADN)	
2.1 Composición bioquímica	36
2.2 Funciones	37
2.3 Localización	38
2.4 Reacción Feülgen	40
2.5 Organización y estructura (modelo de Watson y Crick)	41
2.6 Mecanismos de replicación del ADN	44
3. Ácido ribonucleico (ARN)	
3.1 Composición bioquímica	55
3.2 Tipos de ARN	56
3.3 Funciones del ARN	58
3.4 Localización de los ARN	59
Conclusiones	63
Referencias bibliográficas	65



## Introducción

El núcleo celular es la organela más grande de las eucariotas, donde se encuentra todo el material genético de la célula, salvo las pequeñas cantidades de ADN mitocondrial, todo el resto de ADN celular se encuentra en el núcleo, por lo que este es el componente fundamental de la células del organismo por el cual es el que codifica la información que condiciona la estructura, la función de la celular y por consecuencia la de todo el organismo.<sup>1</sup>

El núcleo es el centro de control de toda la actividad celular por que contiene, en los cromosomas, todo el genoma (ADN) de la célula. Se llama genoma al conjunto completo de la información de todas las proteínas que va a sintetizar dicho organismo.<sup>2</sup>

Además de contener la maquinaria molecular para duplicar el ADN, el núcleo es responsable de la síntesis y procesamiento de todos los tipos de ARN (ARNm, ARNt, ARNr), que son exportados al citoplasma. Sin embargo el núcleo no sintetiza proteínas, sino que depende de las proteínas que en el citoplasma se producen y se envían al núcleo.<sup>1</sup>

Muy poco tipo de células totalmente diferenciadas carecen de núcleo y se caracterizan por haber perdido las capacidades de sintetizar proteínas y dividirse, por ejemplo los eritrocitos.<sup>1</sup>

El tamaño del núcleo varía de un tipo de célula a otro. Por lo general es de mayor tamaño en las células más grandes que en las más pequeñas; en la mayoría de células de mamíferos varía entre 5 y 10  $\mu\text{m}$ .<sup>3</sup>



La forma del núcleo suele ser esférico y de localización central, sin embargo en algunas células es fusiforme, oval, lobulado o incluso en forma de discoide.<sup>3</sup>

En la mayoría de las células, la cantidad de núcleos se limita a uno, pero por ejemplo, en los hepatocitos se suelen encontrar dos núcleos y en los osteoclastos múltiples núcleos (células multinucleadas). Los sincitios son grandes cantidades agrupadas de citoplasma que contiene numerosos núcleos, por ejemplo las fibras del músculo esquelético estriado.<sup>1</sup>

El tamaño, la configuración y forma del núcleo son generalmente constantes para cada tipo de célula en particular, hecho de utilidad en los diagnósticos clínicos sobre el grado de magnitud ciertas células cancerosas.<sup>3</sup>

Los principales componentes del núcleo son: la cromatina, material genético de la célula; nucléolo, centro para la síntesis del ARN ribosomal, y nucleoplasma, que contiene macromoléculas y partículas nucleares que participan en la conservación de la célula.<sup>4</sup>



## Antecedentes

El núcleo celular es donde se encuentra la mayor cantidad de ADN, fue aislado y caracterizado por primera vez por Friedrich Miescher en 1868. A esta sustancia que contenía fósforo la denominó nucleína. Hasta la década de 1940 con los trabajos de Oswald T. Avery, Colin MacLeod y Maclyn McCarty no hubo pruebas claras que el ADN era el material genético. Avery y colaboradores encontraron que el ADN extraído de una cepa virulenta de la bacteria *Streptococcus pneumoniae*, e inyectado a una cepa no virulenta de la misma bacteria, era capaz de transformar una cepa no virulenta en una forma virulenta. Ello les llevó a la conclusión que el ADN extraído de la cepa virulenta transportaba la información genética de la virulencia.<sup>6</sup>

Otro elemento de gran importancia en el descubrimiento de la estructura de ADN fue el trabajo de Erwin Chargaff y colaboradores a fines de la década de 1940. Estos científicos observaron que las cantidades relativas de las de las cuatro bases de los nucleótidos de ADN varían según el organismo y las cantidades relativas de ciertas bases eran prácticamente equivalentes.<sup>5</sup>

Estos datos acumulados a partir de los ADN dan un gran número especies diferentes, permitieron a Chargaff llegar a las siguientes conclusiones:<sup>5</sup>

- 1.- La composición de bases del ADN generalmente varía de una especie a otra.<sup>5</sup>
- 2.- La muestra de ADN aisladas a partir de tejidos diferentes de la misma especie tiene la misma composición de bases.<sup>5</sup>
- 3.- La composición de bases del ADN de una especie determinada no varía con la edad del organismo, ni con su estado nutricional, ni con las variaciones ambientales.<sup>5</sup>



4.- En todas las células, independientemente de la especie, el número de residuos de adenina es igual al de residuos de timina y el número de residuos de guanina es igual a los de citosina. A partir de estas relaciones se deduce que la suma de los residuos de purina es igual a la suma de los residuos de pirimidina.<sup>5</sup>

Estas relaciones cuantitativas, a veces denominadas leyes Chargaff, fueron confirmadas posteriormente por muchos investigadores. Fueron esenciales para la deducción de la estructura tridimensional del ADN y dieron pistas como la información genética esta codificada en el ADN y como se trasmite de generación en generación.<sup>7</sup>

Rosalind Frankliin y Maurice Wilkin utilizaron el poderoso método de la difracción de rayos X, para analizar fibras de ADN. A principios de la década de 1950 demostraron que el ADN produce un diagrama de difracción de Rayos X característico.<sup>7</sup>

A partir de este patrón se dedujo que las moléculas del ADN son helicoidales, con dos periodicidades a lo largo del eje longitudinal, una primaria  $3.4 \text{ \AA}$  y la otra secundaria de  $34 \text{ \AA}$ . El problema consistía en un modelo tridimensional de la molécula de ADN que pudiera explicar no solo con los datos de difracción de rayos X, sino también las equivalencias específicas entre bases,  $A=T$  y  $G=C$ , descubiertas por Chargaff, junto con otras propiedades químicas.<sup>7</sup>

James Watson y Francis Crick se basaron en esta información acumulada sobre el ADN para deducir su estructura. EN 1953 propusieron el modelo tridimensional para la estructura de ADN que tenía en cuenta todos los datos disponibles. Consiste en dos cadenas helicoidales de ADN enrolladas alrededor del mismo eje, formando una doble hélice dextrógira.<sup>8</sup>



Watson y Crick encontraron que los pares de bases unidos por enlaces de hidrógeno, eran los que mejor encajaban en la estructura y proporcionaban una explicación para las reglas de Chargaff.<sup>8</sup>

Cuando Watson y Crick construyeron su modelo donde tuvieron que decidir desde el principio si las hebras de ADN debían de ser paralelas o antiparalelas, la disposición antiparalela proporcionaba un modelo más satisfactorio, lo cual fue confirmado por análisis de difracción de rayos X.<sup>8</sup>

Con el fin de explicar las periodicidades observadas en el diagrama de difracción de rayos X de fibras de ADN, Watson y Crick construyeron diversos modelos moleculares hasta llegar a una estructura apiladas verticalmente en el interior de la doble hélice y separadas por una distancia de  $3.4 \text{ \AA}$ ; la repetición secundaria de unos  $34 \text{ \AA}$  se tomó en cuenta con la incorporación de 10 pares de bases en cada vuelta completa de la doble hélice.<sup>8</sup>

Los primeros estudios de replicación de ADN bacteriano y sus enzimas contribuyeron al establecimiento de varias propiedades básicas que han resultado ser aplicables a la síntesis del ADN de todo el organismo.<sup>5</sup>

La hipótesis de la replicación semiconservada fue propuesta por Watson y Crick poco después de la publicación de su artículo sobre la estructura del ADN en 1953, esta hipótesis fue confirmada en 1957 mediante ingeniosos experimentos diseñados por Matthew Meselson y Franklin Stahl. Estos investigadores cultivaron bacterias *Escherichia coli* durante varias generaciones en un medio cuya única fuente de nitrógeno ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) contenía  $\text{N}^{15}$ , el isótopo pesado del nitrógeno, en lugar del isótopo ligero normal y más abundante, el  $\text{N}^{14}$ . El ADN aislado de estas células tenía una densidad un 1% mayor que el normal.<sup>5</sup>



Las primeras indicaciones de que la replicación era un proceso altamente coordinado, en el que las cadenas parentales se desenrollaban y replicaban simultáneamente, fueron obtenidas por John Cairns mediante autorradiografía.<sup>9</sup>

Cairns incorporó radiactivamente en el ADN de *E. coli*, cultivó las células en un medio que contenía timidina marcada con tritio ( $H^3$ ). El ADN, cuidadosamente aislado y extendido, fue cubierto con una emulsión fotográfica durante varias semanas. La desintegración del  $H^3$  de la timidina impresionó los granos de plata de emulsión, formando una imagen de la molécula de ADN. Estas imágenes mostraron que el cromosoma intacto de *E. Coli* es un gran círculo único de 1.7 nm de longitud. El ADN radiactivo aislado de células en proceso de replicación mostraba una hebra extra.<sup>5</sup>

Cairns llegó a la conclusión de que la hebra en el ADN era el resultado de la formación de dos cadenas hijas radiactivas, cada una complementaria de una cadena parental.<sup>5</sup>

Uno o ambos extremos de la hebra son puntos dinámicos llamados horquilla de replicación, donde el ADN parental es desenrollado y las cadenas separadas rápidamente replicadas. Los resultados de Cairns demostraron que las dos cadenas del ADN se replicaban simultáneamente.<sup>5</sup>

Para determinar si la hebra de replicación se origina en un único punto del ADN, se necesitaba señales de referencia a lo largo de la molécula de ADN. Estas señales fueron proporcionadas por una técnica denominada cartografiado por desnaturalización, desarrollada por Ross Inman y colaboradores.<sup>5</sup>

Utilizando el cromosoma bacteriófago de 48.502 pares de bases, Inman demostró que las secuencias abundantes en pares de bases A=T pueden ser desnaturalizadas selectivamente.<sup>5</sup>



Es posible medir la posición y el progreso de las horquillas de replicación que se han de medir y cartografiar utilizando las regiones desnaturalizadas como puntos de referencia. Esta técnica reveló que las hebras de replicación siempre se inician en un punto único denominado origen. También confirmó observaciones anteriores que indicaban que la replicación es normalmente bidireccional.<sup>5</sup>



## 1. Núcleo celular

### 1.1 Nucleolema

El núcleo está rodeado por la membrana nuclear o nucleolema, donde está separado del contenido intranuclear del citoplasma y está integrando por dos membranas paralelas, la membrana nuclear interna y la membrana nuclear externa.<sup>3</sup>

En los cortes estudiados con microscopio óptico el núcleo está nítidamente delimitado por una línea oscura, la membrana nuclear (además de la cromatina periférica sobre la cara interna) que aparece como una única membrana delgada.<sup>1</sup>

Con el microscopio electrónico se demuestra que el nucleolema está compuesto por dos membranas concéntricas una externa y una interna, que encierran un espacio perinuclear estrecho, de unos 15 nm de ancho. Ambas membranas son de tipo trilaminar.<sup>1</sup>

Además el espacio perinuclear de las células que sintetizan proteínas puede contener proteínas ya sintetizadas, en consecuencia, el espacio perinuclear a menudo se denomina cisterna perinuclear.<sup>1</sup>

La membrana nuclear esta perforada a intervalos variables por poros nucleares, que permite la comunicación entre el citoplasma y el núcleo. En estos poros se fusionan entre si las membranas nucleares interna y externa.<sup>3</sup>

La envoltura nuclear es impermeable a iones y moléculas, de modo que el tránsito entre el núcleo y el citoplasma, es realizado por el complejo de poros nucleares.<sup>4</sup>



### 1.1.1 Doble capa

La membrana nuclear esta forma por dos membranas y son:

- Membrana nuclear interna

La membrana nuclear interna tiene alrededor de 6 nm de grosor y en su interior se halla el contenido nuclear.<sup>3</sup>

La superficie interna del nucleolema está recubierta por un denso reticulado de filamentos intermedios como la lamina, que en conjunto forman una capa delgada denominada lámina nuclear.<sup>3</sup>

La lámina nuclear es una red de entremezclado de filamentos intermedios de 80 a 100 nm de grosor, compuesta por las láminas A, B y C, situadas en la periferia del nucleoplasma.<sup>4</sup>

La lámina nuclear ayuda a organizar y proporcionar soporte a la membrana de la bicapa lipídica y además de participar en el ensamble de las vesículas para reformar la membrana nuclear después de la división celular.<sup>3</sup>

- Membrana nuclear externa

La membrana nuclear externa también posee alrededor de 6 nm de grosor, está orientada hacia el citoplasma.<sup>4</sup>

La superficie citoplasmática de la membrana externa esta densamente cubierta por ribosomas y a menudo la membrana se continúa con el retículo endoplásmico. Hacia final de la mitosis, cuando el núcleo se divide, se vuelve a formar el nucleolema a partir de los segmentos del retículo endoplásmico rugoso.<sup>1</sup>

Su superficie citoplasmática está rodeada por una malla laxa y delgada de filamentos intermedios, la vimentina, y tiene casi siempre ribosomas que sintetizan de manera activa proteínas transmembranales destinadas a la membrana nuclear externa o interna.<sup>3</sup>

La superficie externa está relacionada con el citoesqueleto, dado que los filamentos intermedios a menudo se fijan al nucleolema. De este modo el citoesqueleto también le confiere rigidez al núcleo, al mantener la forma y actuar como medio de anclaje en el citoplasma.<sup>1</sup> Fig. 1

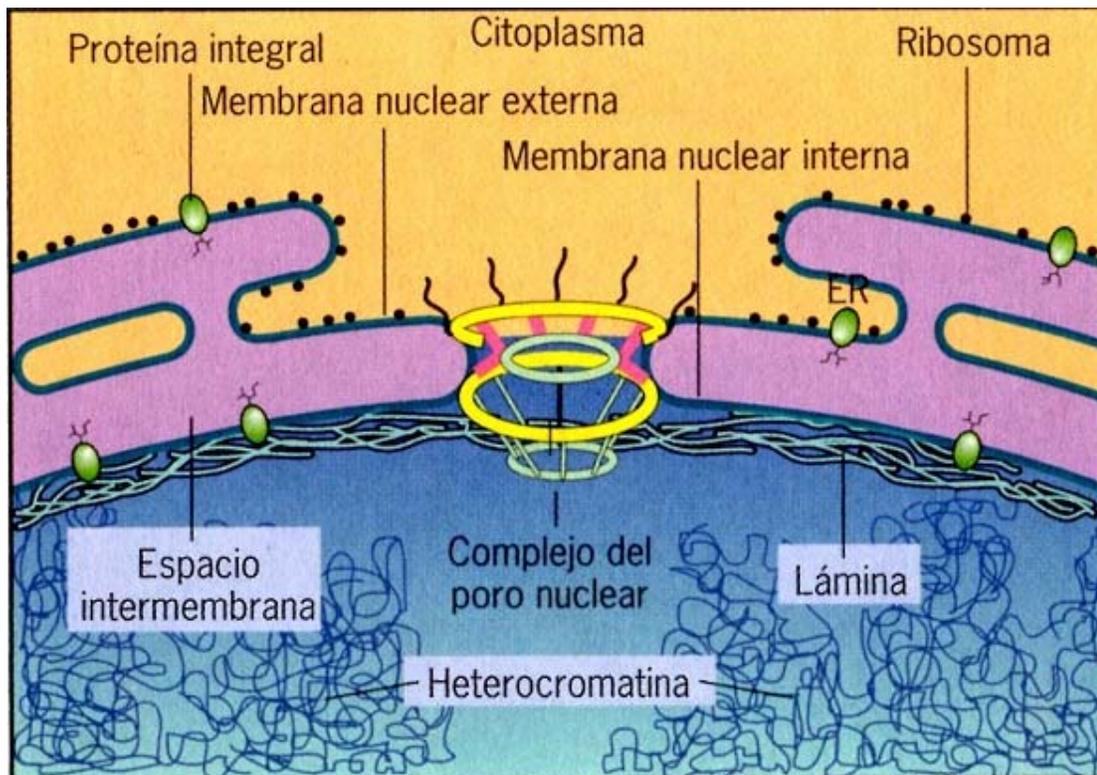


Fig. 1. Esquema que muestra la membrana nuclear doble, la lámina nuclear y la continuidad de la membrana con el retículo endoplasmático rugoso.

### 1.1.2 Poros nucleares

Los poros nucleares son estructuras electrodensas que se forman cuando las dos membranas del nucleolema se fusionan para formar los complejos de poros nucleares que representan el 15% de la superficie de la membrana.<sup>1</sup>

El complejo de poros es una estructura cíclica octagonal de un diámetro de 120 nm, el cual está constituido por un anillo citoplasmático externo, anillo citoplasmático interno, donde estas dos estructuras están formadas por ocho gránulos proteicos. Los gránulos de ambos anillos, externo e interno, están unidos entre sí mediante una estructura columnar, y de cada una de estas columnas parte de una prolongación en dirección al centro, es decir 8 prolongaciones en total. Los ejes llegan hasta un granulo central, denominado transportador central, dado que el complejo de poros parece tener un canal central de 10 nm de diámetro.<sup>1</sup> Fig. 2

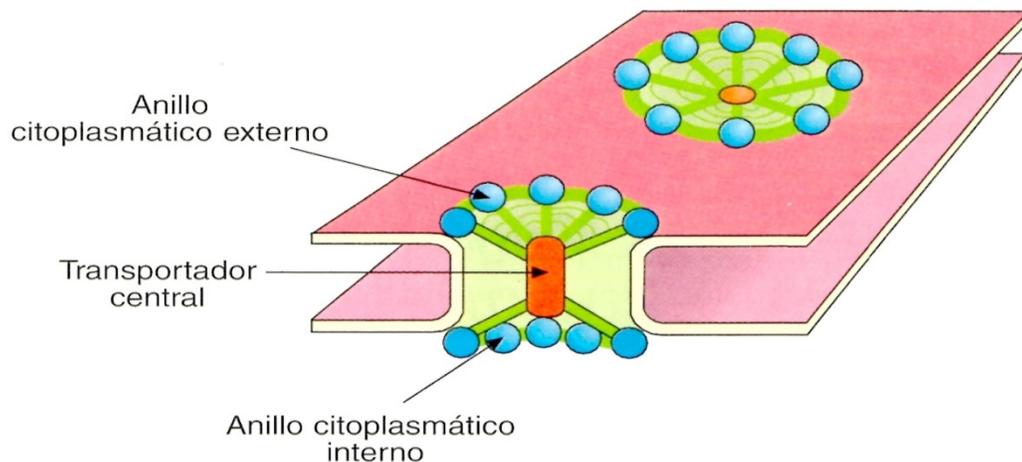


Fig. 2 Estructura de poros nucleares

Los complejos de poros nucleares funcionan como canales reguladores por los cuales se produce el intercambio de sustancias entre el nucleoplasma y el citoplasma. Por ejemplo: las moléculas pequeñas de 4 kD pasan por



difusión pasiva sin obstáculos, en cambio a medida que aumenta el tamaño como las de 60 kD, estas les impide el paso. Muchas moléculas de mayor tamaño suelen ser proteínas sintetizadas en el citoplasma que deben ser introducidas al núcleo o moléculas de ARN sintetizadas en el núcleo que deben pasar al citoplasma bajo la forma de de ribonucleoproteínas.<sup>1</sup>

Las proteínas que se deben introducir al nucleó celular tienen una secuencia peptídica definida, denominada secuencia de localización nuclear.<sup>1</sup>

En la primera etapa estas proteínas con una o más señales de destinación nuclear o secuencia de localización nuclear se unen a proteínas específicas de citosol, formando un complejo que se adhiere temporalmente a la periferia del poro nuclear, sin consumo de energía.<sup>2</sup>

En la segunda etapa, las moléculas proteicas con uno o más secuencia de localización nuclear son transportadas hacia el núcleo, usando energía de ATP y la proteína citosólica permanece en el citoplasma. 4 Se desconoce el mecanismo molecular por el cual se lleva a cabo este transporte a través de la porción central de poros.<sup>1</sup>

Probablemente, parte de la energía del ATP se consume para dilatar el canal del poro nuclear, durante el paso de la molécula o complejo molecular de más de 9 nm.<sup>4</sup>

También se desconoce la forma que se produce la orientación del transporte de las moléculas de ARN; pero se ha demostrado mediante inyección de moléculas de ARN con marca radiactiva que el pasaje es unidireccional en el núcleo y en el citoplasma.<sup>1</sup>

## 1.2 Nucléolo

El nucléolo es una estructura membranosa densa localizada en el núcleo, se observa solo durante la interfase por que se disipa durante la división celular.<sup>3</sup> Fig. 3

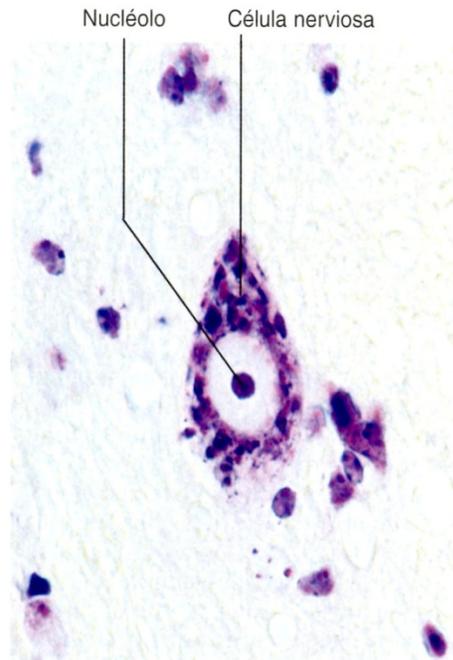


Fig. 3 Fotomicrografía de una célula nerviosa de la medula espinal. Se distingue un gran nucléolo central en el núcleo euromático claro. Coloreado con tiosina x660.

En los cortes con microscopio óptico el nucléolo suele teñirse intensamente con los colores básicos, pero la basofilia varía en los distintos tipos celulares; se debe al contenido de ribonucleoproteínas RNP.<sup>1</sup>

El nucléolo está formado principalmente por ARN y proteínas. Hay un poco de ADN (regiones organizadoras de nucléolos), pero la cantidad es tan pequeña que los preparados teñidos con tinción Feulgen para microscopio óptico no revelan positividad.<sup>4</sup>



No obstante, el nucléolo a menudo está rodeado por un anillo basófilo que da resultado positivo con la reacción de Feulgen, la denominada cromatina asociada al nucléolo, que se puede extender hacia el interior de la sustancia del nucléolo, pero esta no forma parte del nucléolo.<sup>3</sup>

El tamaño del nucléolo es variable según los distintos tipos celulares, puede alcanzar hasta alrededor de un micrómetro. Se observan nucléolos especialmente grandes en células con gran síntesis de proteínas, por ejemplo, en las células embrionarias y las células glandulares sintetizadores de proteínas. Por el contrario, el nucléolo puede estar ausente en las células que no sintetizan proteínas, por ejemplo en los espermatozoides.<sup>1</sup>

Casi nunca hay más de dos o tres nucléolos por célula, esto se debe a la inactivación de los genes por ciertas regiones organizadoras de nucléolos o por fusión de alguno de ellos.<sup>1</sup> El número total de nucléolos está determinado por las regiones organizadoras de nucléolos y en los cromosomas humanos hay 10 regiones organizadoras de nucléolos.<sup>1</sup>

El número, tamaño y forma se relaciona a menudo con la especie y actividad de la síntesis de la célula. En las células que se sintetizan proteínas en forma activa, el nucléolo puede ocupar hasta 25% del volumen nuclear.<sup>3</sup>

### 1.2.1 Composición bioquímica

El nucléolo está constituido por componente granular, centros fibrilares y componente fibrilar denso, estos elementos están incluidos en un retículo estructural de filamentos proteicos denominado matriz y el nucléolo se fija a la cromatina asociada a nucléolo.<sup>2</sup>

El componente granular por lo general representa la mayor parte de ribonucleoproteínas y está formado por gránulos electrodensos, con un diámetro alrededor de 15 nm (es decir, más pequeños que los ribosomas).<sup>2</sup>

Fig. 4

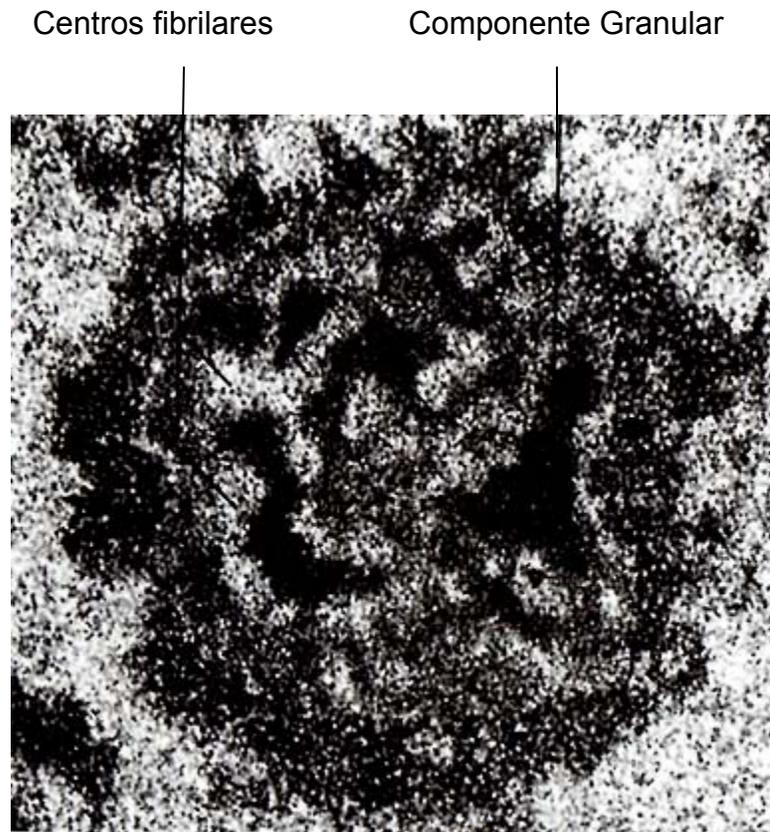


Fig. 4 Imagen con de un nucléolo de una célula glandular exocrina del páncreas, captada con microscopio electrónico x 25500

Los centros fibrilares se distinguen en la masa granular como una o varias zonas redondeadas poco electrodensas y con una estructura fibrilar.<sup>1</sup>

El componente fibrilar denso rodea los centros fibrilares como una capa electrodensa de material fibroso.<sup>1</sup>

### 1.2.2 Funciones

Una de su principal función de los nucléolos es que son las fábricas que producen los ribosomas.<sup>2</sup> Fig. 5

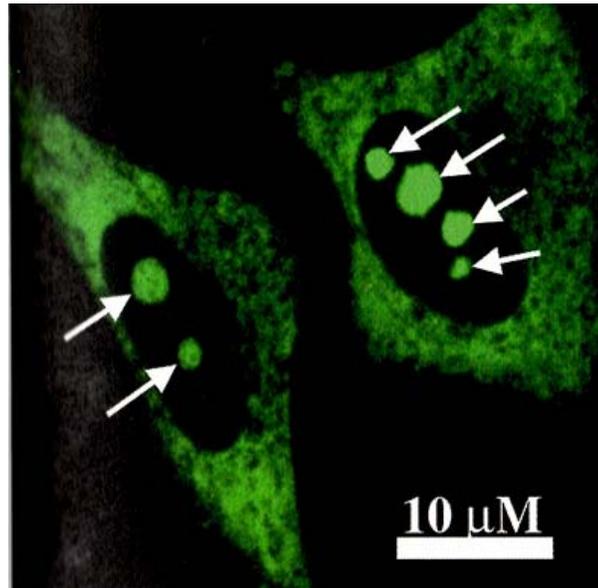


Fig. 5 Micrografía de las dos células humanas de HeLa transfectadas con un gen que codifica a una proteína ribosomal

Las subunidades ribosómicas de la célula se organizan y ensamblan dentro del nucléolo, excepto las localizadas en las mitocondrias.<sup>2</sup> Esto se ha demostrado por medio de experimentos en los que se destruyó el nucléolo mediante rayos laser y se observó que se destruye la inclusión de H<sup>3</sup> uracilo radiactivo en los ribosomas. Investigaciones posteriores, con *hibridación in situ*, han clarificado notablemente la relación de los distintos componentes nucleolares con la producción de ribosomas.<sup>4</sup>

Así los centros fibrilares son el asiento de la transcripción de las moléculas de pre-ARNr, dado que contiene las fibras extendidas de cromatina con actividad genética donde se localizan los genes codificadores de ARNr.<sup>1</sup>



Sin, embargo evidencias recientes muestran que el nucléolo realiza más funciones. Estas funciones adicionales incluyen regulación de algunos fenómenos del ciclo celular, como la citocinesis, desactivación de cinasas dependientes de ciclina mitótica mediante el secuestro de proteínas reguladoras del ciclo celular, modificación de pequeñas moléculas de ARN que moderan y modifican el pre-ARN; ensamble de ARN; participación en la exportación nuclear y cierto papel en el envejecimiento.<sup>3</sup>

Miller y Beaty demostraron mediante microscopia electrónica directa la transcripción de pre-ARNr a lo largo de secuencias de genes ADN correspondientes, al aislar nucléolos de cuyo núcleo fibrilar interior pudieron aislar las hebras ADN.<sup>1</sup>

### 1.2.3 Organización

Los nucléolos se forman sobre determinados cromosomas, correspondientes a zonas denominadas regiones organizadoras de nucléolos, que contiene la secuencia repetidas de ADN codificadoras ARNr.<sup>1</sup>

Asimismo, en las regiones de tinción pálida se localizan las puntas de los cromosomas 13, 14, 15, 21 y 22, en el ser humano, que contienen las regiones organizadoras de nucléolo, en donde se hallan los *loci* de los genes que codifican el ARNr.<sup>3</sup>

La síntesis del ARNr en los centro fibrilares es catalizada por la ARN polimerasa I que, junto con una serie de factores de transcripción, se fija a una secuencia promotora por encima de la secuencia codificadora del gen. Está contiene tres genes localizados uno a continuación al otro que codifica ARNr 18S, 5, 8S, 28S transcritos bajo la forma de una única molécula de pre-ARNr.<sup>3</sup>



Mediante *hibridación in situ* se ha demostrado que el componente 5Sr ARNr de los ribosomas es sintetizado por el núcleo y catalizado por la ARN polimerasa III y después de ingresa al centro fibrilar bajo la forma de ribonucleoproteínas y junto con el pre-ARN forman parte de la denominada partícula 80S.<sup>4</sup>

Esta sufre el primer tratamiento en el componente fibrilar denso y continúa como una partícula de ribonucleoproteína hacia el componente granular, donde tiene lugar el tratamiento ulterior y maduración, con transformación a las unidades ribosomales terminadas, que se exportan al citoplasma.<sup>1</sup>

#### 1.2.4 Cromatina

La cromatina es el complejo formado por el ADN cromosómico y dos clases de proteínas (histonas y no histonas).<sup>10</sup>

En la cromatina hay proteínas clasificadas en histonas y no histonas. Las proteínas no histonas comprenden a las polimerasas de ADN, ARN y proteínas reguladores de genes. Las proteínas histonas representan la mayor parte de las proteínas de la cromatina y son las principales responsables del empaquetamiento del ADN, dado que se fijan a este.<sup>1</sup>

Originalmente la palabra cromatina se introdujo como denominación del material nuclear basófilo que se acumula para formar cromosomas durante la mitosis. La basofilia de la cromatina se debe al contenido de ADN y de las proteínas (histonas y no histonas).<sup>1</sup>

Existen dos tipos de cromatina la **euromatina** y la **heterocromatina**. La heterocromatina se observa en el microscopio electrónico como fibras de cromatina densamente empaquetadas (30nm de diámetro) y teñida intensamente. La euromatina se observa con microscopio electrónico que está compuesta por fibras de 30 nm y se tiñe ligeramente.<sup>6</sup> Fig. 6

En análisis genético indica que la heterocromatina es en gran parte inactiva desde el punto de vista genético, en cambio la euromatina que es menos condensada tiende a ser genéticamente activa.<sup>6</sup>

Con frecuencia se puede demostrar que la heterocromatina permanece muy condensada durante todo el ciclo celular, mientras que la euromatina no es visible con el microscopio de luz durante la interfase.<sup>1</sup>

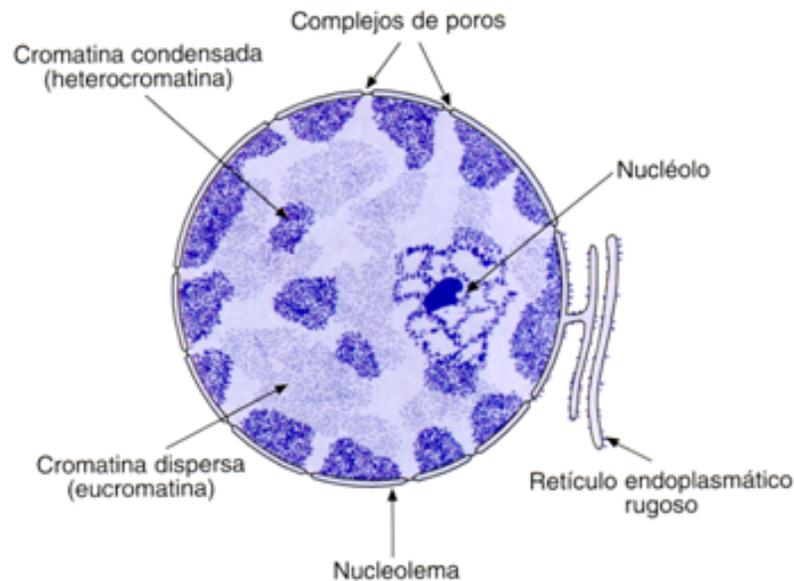


Fig. 6 Dibujo esquemático del aspecto en el microscopio electrónico de la organización de la cromatina en el núcleo



Los componentes de cromatina muy teñidos están compuestos por cromosomas enteros o segmentados, los cromosomas solo se condensan durante la mitosis y se descondensan o se extienden en la interfase donde aparece como cromatina dispersa.<sup>1</sup>

Por otra parte, la heterocromatina es abundante en secuencias de ADN que se repiten con alta frecuencia, arreglada una tras la otra.<sup>6</sup>

En una célula típica en interfase, aproximadamente el 10% del genoma se encuentra empaquetado en heterocromatina y no contiene genes. Sin embargo, los genes que se incorporan a la heterocromatina por lo general son resistentes a ser expresados debido al alto grado de empaquetamiento de la heterocromatina.<sup>10</sup>

### 1.2.5 Nucleosoma

Los nucleosomas son el nivel mínimo de organización de los cromosomas. Los cromosomas se componen de ADN y proteínas relacionadas, que en conjunto se conocen como cromatina. El empaquetamiento ordenado de ADN en una célula eucariota depende de las histonas, un importante grupo de pequeñas proteínas que poseen un inusual contenido alto de aminoácidos básicos argina y lisina.<sup>11</sup>

La organización estructural de los nucleosomas fue determinada después de aislarlos a partir de la cromatina descondensada, por digestión de un tipo de enzimas (denominadas nucleasas) que rompen el ADN cortándolo entre los nucleótidos. Tras una digestión suave, el ADN expuesto, ubicado entre los núcleos de las partículas nucleosómicas, el ADN espaciador es degradado.<sup>10</sup>

Cada nucleosoma está formado por histonas, que son pequeñas proteínas básicas con fuerte carga positiva.<sup>6</sup> Se clasifican en 5 tipos principales H1, H2A, H2B, H3, H4. El nucleosoma se compone de un octámero de 8 moléculas de histona (dos de cada tipo, excepto H1) que forma un núcleo de nucleosoma compacto alrededor de la cual la espiral doble de ADN se enrolla dos veces antes de continuar como delgado filamento hasta el próximo nucleosoma.<sup>1</sup> Fig. 7

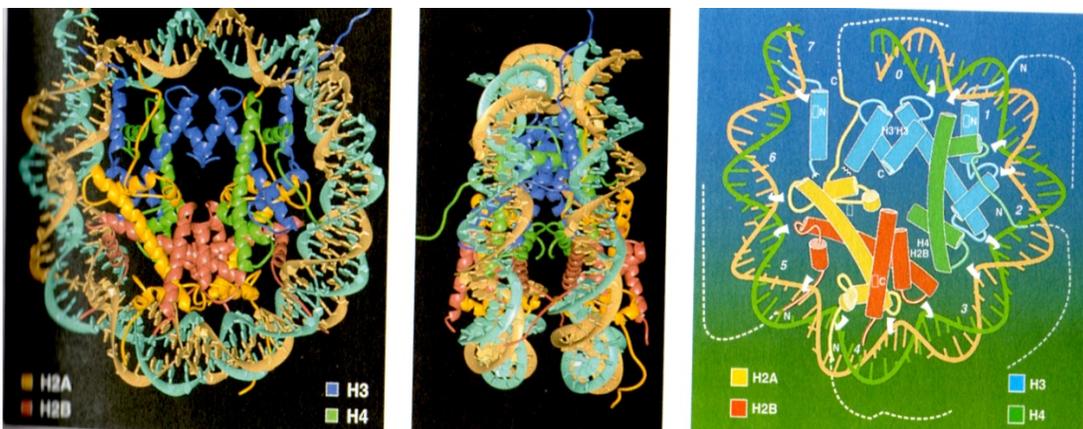


Fig.7 Estructura tridimensional de un nucleosoma como se revela mediante una cristalografía de rayos X

Las secuencias de aminoácidos de las histonas, en particular H3 y H4, experimentaron pocos cambios durante largos periodos de la evolución. Por ejemplo, las histonas H4 tanto de los guisantes como de vacas contienen 102 aminoácidos y sus secuencias difieren en solo dos residuos de aminoácidos.<sup>11</sup>

Las histonas están tan conservadas porque interactúan con el esqueleto de la molécula del ADN, que es idéntico en todo el organismo. Como resultado muy pocos aminoácidos de una histona pueden reemplazarse con otro aminoácido sin afectar de manera significativa la función de la proteína.<sup>11</sup>

La histona H1 es una proteína de unión porque conecta el ADN con una partícula del núcleo del nucleosoma con el siguiente. La proteína H1 y el octámero de histonas interactúan juntos con alrededor de 168 pares de bases del ADN.<sup>11</sup>

La proteína H1 favorece este empaquetamiento de los nucleosomas para formar la fibra solenoide de 30 nm de espesor. Se supone que este tipo de fibra de cromatina de 30 nm corresponde al que se observa en el reticulado de fibras de 30 nm en las imágenes al microscopio electrónico y que dan origen al aspecto granulado en las imágenes al microscopio electrónico de las zonas de heterocromatinas de los núcleos celulares intactos.<sup>1</sup> Fig. 8

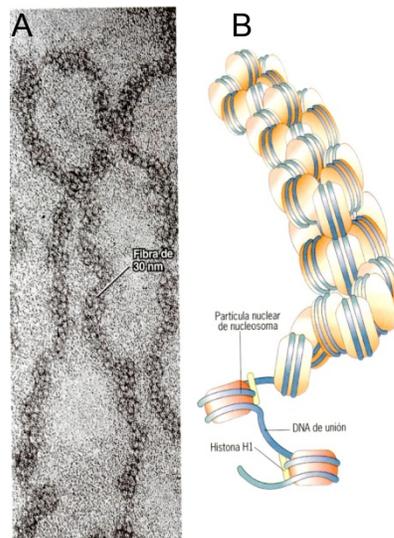


Fig. 8 A, Micrografía electrónica de una fibra de cromatina de 30 nm. B, Modelo de Solenoide de una fibra de 30 nm

Cuando los núcleos interfásicos se fragmentan suavemente y se examina con el microscopio electrónico se distingue la cromatina como un reticulado formado por fibras de 30 nm de diámetro.<sup>1</sup>

Si esta cromatina se somete a tratamientos que la descondensen, es posible verla al microscopio electrónico como una serie de cuentas de collar. El collar es el ADN y cada una de las cuentas está compuesto por partículas denominadas nucleosomas, de un diámetro de unos 10nm, que aparecen en hileras a espacios bastantes regulares, unidos por un filamento delgado de unos 2nm de diámetro. Este filamento delgado está compuesto por una molécula bicatenaria de ADN, mientras que el nucleosoma se compone de histoproteína rodeada por ADN.<sup>10</sup> fig. 9

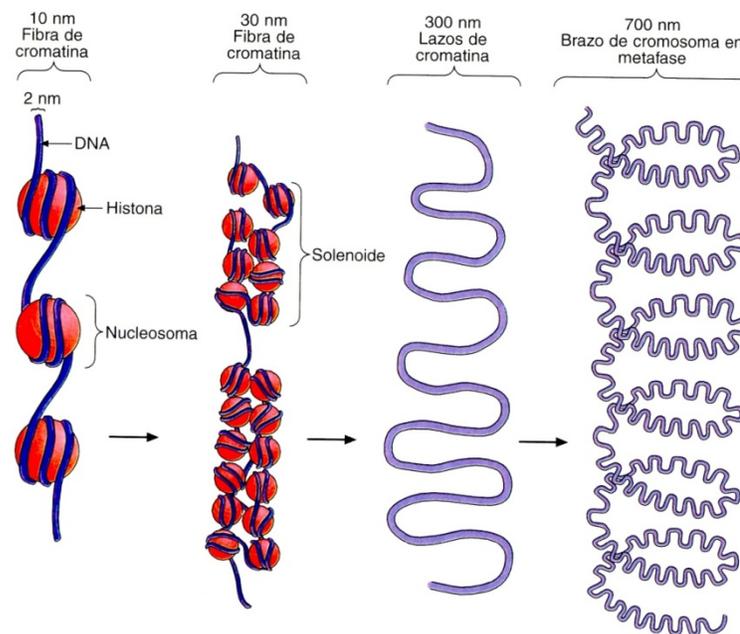


Fig. 9 Estructura de la cromatina.

El ADN es capaz de enrollarse y empaquetar a un más el ADN, dado que los nucleosomas se agrupan en cúmulos más densos y toda la estructura se denomina solenoide.<sup>1</sup>



Las fibras de solenoide de 30nm han sufrido empaquetamiento ulterior en el cromosoma, primero como apretadas asas de unos 300nm de diámetro mantenidas unidas mediante una estructura o esqueleto axial de proteínas de otro tipo, distinto de la histona.<sup>1</sup>

Los estudios estructurales indican por ejemplo, que el extremo amino terminal de una histona H4 de una partícula nuclear de nucleosoma puede alcanzar el exterior y hacer contacto extensivo, tanto con los enlaces de ADN entre las partículas de nucleosoma como con el dímero H2A/H2B de las partículas adyacentes. Se cree que estos tipos de interacción median el plegamiento de los filamentos nucleosómicos en fibras mucho más gruesas. De hecho las fibras de cromatina que pierden sus hebras son incapaces de plegarse en fibras de orden superior.<sup>11</sup>

Estas fibras de orden superior del ADN no son accesibles para la transcripción. Las asas de 300nm sufren enrollamiento ulterior para formar un espiral de 700nm de diámetro, que se condensa para formar un típico cromosoma de metafase relacionada con la mitosis.<sup>10</sup>

El empaquetamiento completo del ADN, desde la formación de los nucleosomas hasta la superespiral que forma el cromosoma de metafase, da un orden de aumento de unas 10 000 veces.<sup>10</sup>

En consecuencia cada cromosoma está compuesto por una única molécula muy larga de ADN, el cromosoma 1 humano es el más grande y contiene alrededor  $2.5 \times 10^8$  pares de nucleótidos; la molécula de ADN mide aquí varios centímetros de longitud, mientras que después del empaquetamiento ocupa el lugar de un cromosoma de apenas unos micrómetros de largo.<sup>1</sup>



### 1.2.6 Posición de los nucleosomas en el ADN

En la célula, los espacios entre los nucleosomas pueden ser irregulares a pesar que todas las secuencias del ADN pueden en principio plegarse al nucleosoma. Existen dos factores principales que determinan la posición de los nucleosomas en el ADN. Uno de ellos es la dificultad de doblar la doble hélice en dos vueltas cerradas alrededor del octámero de histona, un procedimiento que requiere una compresión importante del surco estrecho de la hélice. Dado que las secuencias abundantes de A-T en el surco estrecho se comprimen más fácilmente que la G-C, cada octámero de histona tiende a colocarse por sí mismo en el ADN de forma que la cantidad de A-T en el surco estrecho de la hélice de ADN sea máxima. Así, un segmento de ADN que contenga regiones cortas, que sean abundantes en A-T, separadas por vueltas enteras de ADN, será mucho más fácil de doblar alrededor del nucleosoma que una región de ADN que no tenga estas propiedades.<sup>10</sup>

El segundo factor que influye en el posicionamiento de los nucleosomas es la presencia de otras proteínas unidas íntimamente al ADN. Ciertas proteínas unidas favorecen la formación de un nucleosoma adyacente a ellas. Otras constituyen obstáculos que determinan el ensamblaje de los nucleosomas entre ellas. Finalmente, algunas proteínas pueden unirse estrechamente al ADN incluso si en lugar de unión forma parte un nucleosoma. Por lo tanto el posicionamiento exacto de los nucleosomas a lo largo de la hebra de ADN depende de factores entre los que se incluye la secuencia del ADN, la presencia y la naturaleza de otras proteínas unidas al ADN.<sup>10</sup>



### 1.2.7 Maquinaria remodeladora de cromatina.

Durante muchos años se pensó que, una vez formado el nucleosoma permanecía fijado en una posición debido a la estrecha asociación del núcleo de histonas con el ADN, pero se ha descubierto que las células eucariotas tienen complejos remodeladores de la cromatina, máquinas protéicas que modifican temporalmente la estructura de los nucleosomas, de tal forma que la unión de ADN al núcleo de histonas se relaja. El estado remodelado podría aparecer como consecuencia del desplazamiento de los dímeros H2A y H2B en el interior del nucleosoma; en cambio el tetrámero H3 y H4 es especialmente estable y resulta difícil que se reordene.<sup>10</sup>

La remodelación de la estructura del nucleosoma tiene dos consecuencias importantes. Primero permite el acceso de otras proteínas al ADN nucleosómico en las células, en especial las implicadas en la expresión de los genes, en la duplicación del ADN y en su reparación.<sup>10</sup>

Segundo los complejos de remodelación puede catalizar cambios en la posición de los nucleosomas a lo largo del ADN; algunos también pueden transferir un núcleo de histona de una molécula a otra de ADN.<sup>10</sup>

Las células tienen diferentes complejos remodeladores con propiedades ligeramente diferentes. Es probable que sea utilizado siempre que una célula eucariota necesite de un acceso directo al ADN para la expresión genética, para la replicación de ADN o para su reparación.<sup>11</sup>

Los complejos remodeladores de la cromatina usan la energía liberada por la hidrólisis de ATP para alterar la estructura de la cromatina y permite la unión de los factores de transcripción a los sitios de regulación en el ADN.<sup>11</sup>

Las “máquinas” que participan en la remodelación de la cromatina mejor estudiadas son miembros de la familia SWI/SNF.<sup>11</sup> Los complejos SWI/SNF también se les llaman BAF.<sup>12</sup>

Los complejos SWI/SNF fueron descubiertas en *Saccharomyces cerevisiae* como parte de un complejo de MDa.<sup>13</sup>

Los complejos SWI/SNF consisten en 9 y 12 subunidades, inclusive la proteína actina, cuya presencia en el núcleo es material de discusión. Se especula que la actina puede unir el complejo de remodelación con la matriz nuclear. Al parecer los complejos SWI/SNF se reclutan en promotores específicos por vías diferentes, el coactivador CBP acetila las histonas nucleares y genera un sitio de unión de alta afinidad para el complejo de remodelación.<sup>11</sup> Fig. 10

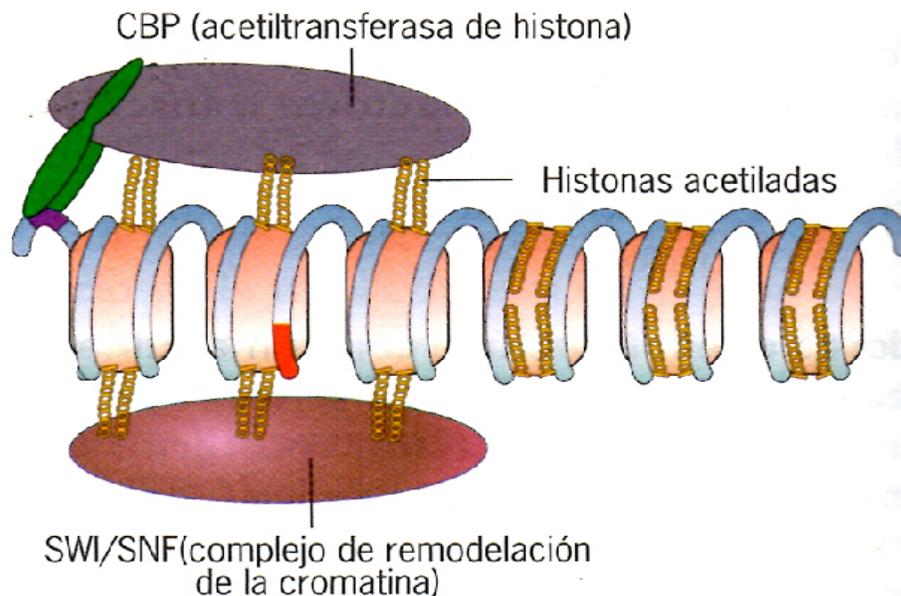


Fig. 10 Modelo de los complejos remodeladores de cromatina SWI/SNF



Se cree que una vez que los complejos de remodelación de la cromatina se reclutan en el promotor, alteran las interacciones histonas-ADN y pueden:<sup>11</sup>

1.- Promueve la movilidad del octámero de histona de modo que puede deslizarse a lo largo de ADN a nueva posición. En los casos mejor estudiados es la unión de los activadores transcripcionales del gen IFN- $\beta$  que conduce al desplazamiento de un nucleosoma clave alrededor de 35 pares de bases a lo largo del ADN, lo que expone la caja TATA que antes estaba cubierta por histonas.<sup>11</sup>

2.- Inducir al ADN para formar un asa transitoria o protuberancia en la superficie del octámero de histona, lo que hace el sitio más accesible para interactuar con proteínas reguladoras que se unen al ADN.<sup>11</sup>

Se piensa que el principal papel de algunos complejos de remodelación es el de facilitar el acceso del ADN nucleosómico mientras que para otros es el de modificar los nucleosomas, en situaciones que ya no requieren disponer de acceso al ADN.<sup>10</sup>

Los complejos remodeladores de cromatina están controlados por las células. Cuando los genes son activados o inactivados, estos complejos pueden ser trasladados a regiones específicas de ADN donde influirán sobre la estructura de la cromatina.<sup>10</sup>

### 1.2.8 Modificaciones covalentes de las hebras de las histonas.

Las células contienen un ordenamiento destacado y contienen enzimas que son capaces de agregar grupos químicos o remover residuos de aminoácidos específicos en las hebras de histonas.<sup>11</sup>

La hebra N-terminal de las cuatro histonas del núcleo de histonas tiene una secuencia altamente conservadora y juega un papel crucial en la regulación de la estructura de la cromatina. Cada hebra está expuesta a diferentes tipos de modificaciones covalentes, como la acetilación de las lisinas, metilación de las lisinas y fosforilación de las serinas.<sup>10</sup>

Hace pocos años surgió la hipótesis que se conoce como el “código de las histonas”, que postula que el estado de actividad de una región de cromatina depende de las modificaciones específicas, o combinación de modificaciones, de las hebras de histonas en esa región.<sup>11</sup> Fig. 11

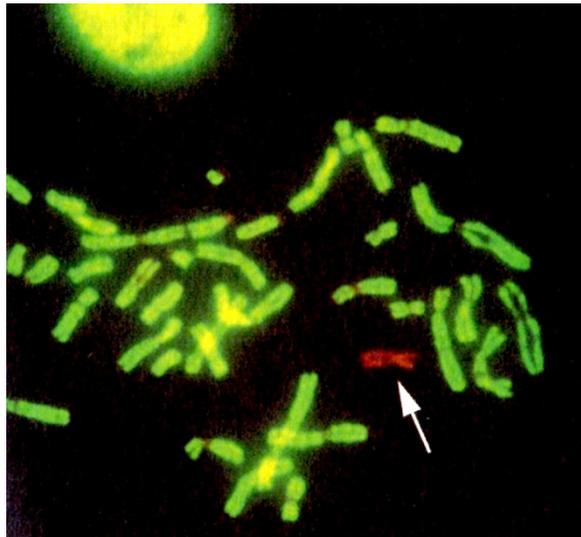


Fig. 11 Demostración experimental de la correlación entre la actividad de la transcripción y la acetilación de la histona floresce en verde



Dos propiedades interrelacionadas de la cromatina suelen depender del patrón de modificaciones de las histonas son: 1) el grado de compactación, en especial si una región de la cromatina es heterocromática o eucromática 2) la probabilidad que un gen o grupo de genes vaya a ser transcrito.<sup>11</sup>

Estas modificaciones son incorporadas y eliminadas por enzimas que residen en el núcleo, por ejemplo, los grupos acetilo son añadidos a las hebras de histonas por acetil transferasas de las histonas (HAT) y eliminados por las desacetilasas de las histonas (HDAC).<sup>11</sup>

En tanto que las enzimas HAT se vinculan con la activación de la transcripción, las enzimas HDAC se relacionan con la represión transcripciones. Las enzimas HDAC se presentan como subunidades de los grandes complejos descritos como correpresores. Los correpresores son similares a los coactivadores, excepto que ocasionan la represión de la transcripción del gen blanco en lugar de su activación.<sup>11</sup>

Esto es apoyado por la observación TSA que conduce a un aumento de los niveles histonas de acetilación en la periferia nuclear y que el tratamiento con este HDAC inhibidor provoca la represión transcripción de genes en los cromosomas atacados a la periferia nuclear.<sup>14</sup>

Las modificaciones de las hebras tiene muy poco efecto directo sobre la estabilidad del nucleosoma, parece ser que afectan a la estabilidad de 30nm de la cromatina y estructuras de orden superior, por ejemplo, la acetilación de las histonas tiende a destabilizar la estructura de la cromatina, quizás en parte debido que al añadir grupos acetilo se eliminan las cargas positivas de la lisina, haciendo más difícil la neutralización de las cargas de ADN que realizan las histonas en la cromatina condensada.<sup>10</sup>

Las hebras de las histonas pueden estar marcadas con diferentes combinaciones de modificaciones. Según ésta “hipótesis del código de histonas”, cada una de los marcajes conlleva un implícito significado específico que afecta a la región de la cromatina que las contiene.<sup>10</sup>

Sólo se conoce el significado de algunas de éstas modificaciones. La acetilación de la hebra H4 es reconocida por una proteína necesaria para expresión genética. En la histona H3, la metilación de la lisina 9 es reconocida por un grupo de proteínas que provocan la formación de una forma muy condensada de la cromatina que impide la expresión de los genes.<sup>10</sup>

La metilación de Lisina de H3 es catalizada por una enzima que al parecer se destina sólo a ésta tarea. Ésta enzima denominada SUV39H1 en humanos, puede encontrar en el interior de la cromatina, donde es posible que establezca la naturaleza de la heterocromatina de ésta región por medio de su actividad de metilación.<sup>11</sup> Fig. 12

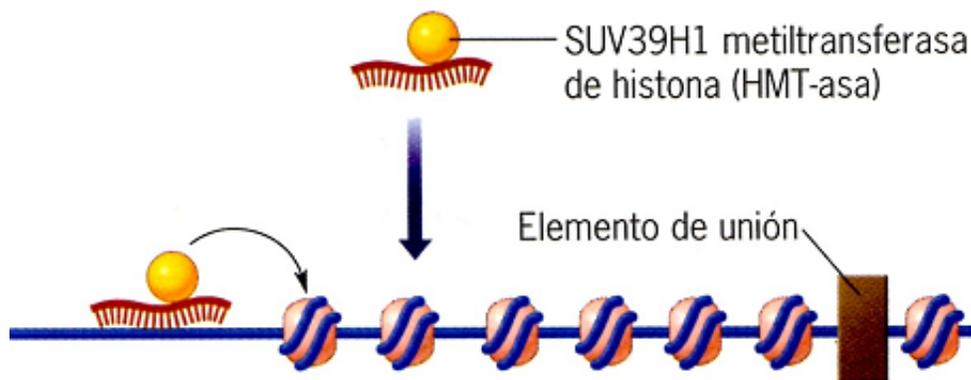


Fig. 12 Esquema de la enzima que es guiada a una porción de cromatina que se encuentre en estado condensada

La formación de una lisina metilada en la posición número 9 confiere a la hebra de histona H3 una propiedad importante: la capacidad de unirse con alta afinidad a proteínas que contiene un dominio particular.<sup>11</sup>

Ésta proteínas que se unen a las hebras de histonas H3 metiladas en la posición número 9 se encuentran en el genoma humano por lo menos 30 proteínas, la más estudiada es la proteína uno heterocromática (HP1).<sup>11</sup>

En células de mamíferos existen tres tipos de proteína uno heterocromática que son HP1a, HP1b y HP1c.<sup>15</sup>

La proteína HP1 participa en la formación y el mantenimiento de la heterocromatina. Una vez que HP1 se une a la hebra H3 se cree que interactúa con otras proteínas, inclusive SUV39H1 la enzima que metila la histona y otras moléculas de HP1 en los nucleosomas cercanos. Ésta propiedad de unión de la molécula de HP1 promueve la formación de una red interconectada de nucleosomas metilados, lo que conduce al estado de cromatina compactada de un orden superior.<sup>11</sup> Fig. 13

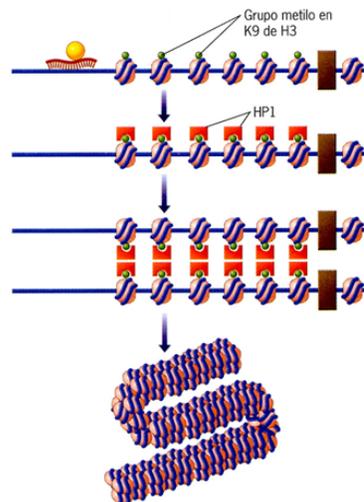


Fig. 13 Modelo que muestra los fenómenos posibles durante la formación de la heterocromatina



Las proteínas HP1 mamíferos se detectan no sólo en densas regiones heterocromáticas, sino también en los genes activos eucromática.<sup>10</sup>

En estos genes activos, las proteínas HP1 parecen estar presentes tanto en las fases donde no se lleva a cabo la transcripción del ADN y en la actividad de la transcripción.<sup>10</sup>

Los HP1 no siempre se asocian con la transcripción del ADN, ya que participa en la represión de la LTR, MMTV y el promotor Sox2. En la eucromatina, proteínas HP1 no son condensadores si no también reguladores probable de las actividades enzimáticas implicadas en la transcripción.<sup>10</sup>

La modificación de las hebras de histonas en una determinada posición puede tener diferentes significados dependiendo de las características de la estructura de la cromatina de su entorno, por ejemplo la fosforilación de la histona en la posición diez no está únicamente asociada con la condensación de cromatina que se produce en la mitosis y en la meiosis si no que también está relacionada con la expresión de ciertos genes.<sup>10</sup>

## 2. Ácido desoxirribonucleico (ADN)

### 2.1 Composición química

El ADN es un ácido nucleico que se compone de nucleótidos, los cuales están formados por un grupo fosfato, un azúcar de cinco carbonos (o pentosa) y un compuesto cíclico nitrogenado llamado base.<sup>17</sup>

Fig. 14

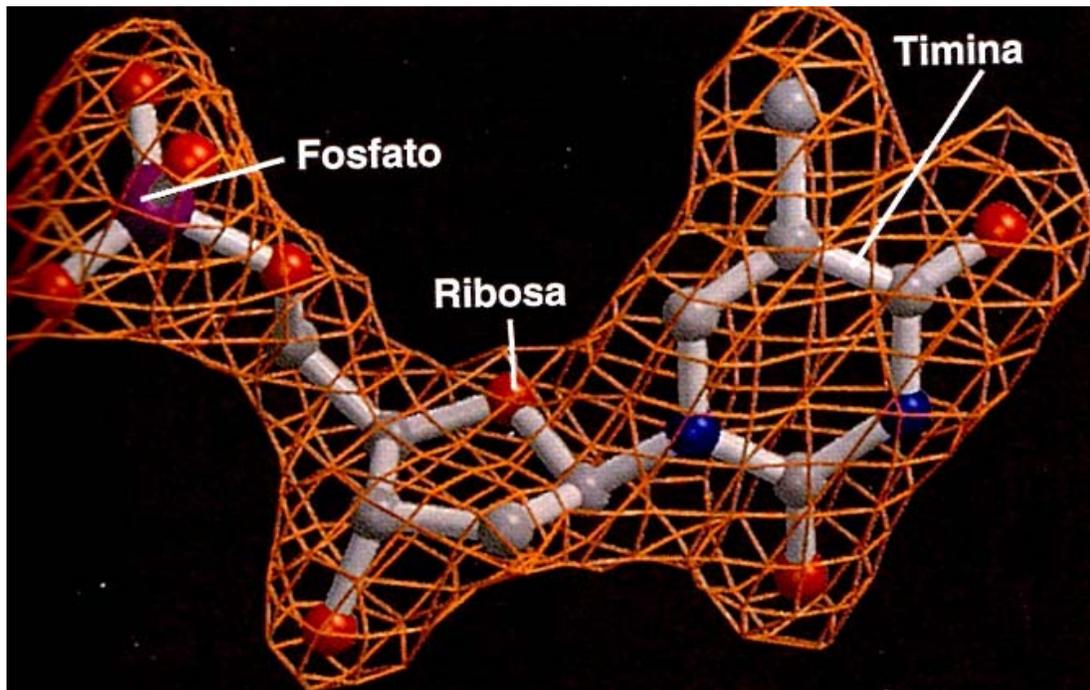


Fig.14 Esquema tridimensional de un nucleótido

Existen dos tipos de bases que se denominan purinas y pirimidinas. El ADN tiene dos purinas, adenina(A) y guanina (G), y dos pirimidinas, citosina (C) y timina (T).<sup>18</sup>

El ADN puede considerarse como un polímero formado por tres clases de monómeros. Los monómeros son moléculas de desoxirribosa fosforilada, con bases púricas o pirimidínicas unidas a sus carbonos 1'. En las purinas, la unión se realiza con el nitrógeno 9 y en las pirimidínicas con el nitrógeno 1. El enlace entre el carbono 1' del azúcar y el nitrógeno de la base se denomina enlace glucosídico.<sup>18</sup> fig. 15

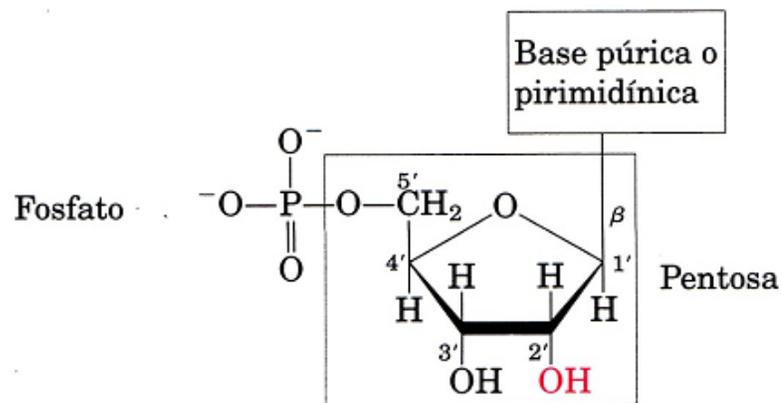


Fig.15 Estructura química del ADN

## 2.2 Funciones

Las funciones conocidas del ADN son el almacenamiento y transmisión de la información genética.<sup>5</sup>

El almacenamiento de información genética se da como material genético, donde el ADN debe contener un registro grabado de instrucciones que determinan las características heredables que un organismo puede exhibir. En términos moleculares, el ADN debe contener la información para el orden específico de aminoácidos de todas las proteínas que se sintetizan en el organismo.<sup>11</sup>



La transmisión de información genética es cuando el ADN debe contener la información para la síntesis de nuevas cadenas de ADN (replicación). La replicación del ADN permite que las instrucciones genéticas se transmitan de una célula a sus células hijas y de ésta forma de un individuo a su descendencia.<sup>11</sup>

### 2.3 Localización

El ADN se localiza en el núcleo celular en las células eucariotas y representa el 10% del volumen celular, salvo pequeñas cantidades de ADN se encuentra en las mitocondrias que es aproximadamente el 1% de todo el ADN de la célula.<sup>19</sup>

En el organismo, el ADN está distribuido en un conjunto de diferentes cromosomas que se encuentran en el núcleo. Por ejemplo el genoma humano es de aproximadamente unos  $3.2 \times 10^9$  nucleótidos está distribuido en 23 cromosomas diferentes.<sup>10</sup>

El genoma humano se integra de 46 cromosomas, que representan 23 pares homólogos de cromosomas. Un miembro de cada uno de los padres de cromosomas deriva de la madre y otro del padre. De los 23 pares, 22 de ellos se denominan autosomas, pero el par restante que determina el sexo corresponde a los cromosomas sexuales (gonosomas).<sup>3</sup> La parte de los de los pares de autosomas son idénticos desde el punto de vista morfológico. En la mujer esto también vale para los cromosomas sexuales, denominados cromosomas X, mientras que en el hombre los cromosomas sexuales son diferentes y se denominan XY.<sup>1</sup>

El genoma humano es el conjunto completo de información almacenada en el ADN de un organismo y contiene la información de todas las proteínas que va a sintetizar dicho organismo. La cantidad total de ésta información es asombrosa: cada célula humana contiene 2 metros de ADN. El genoma humano contiene información sobre unas 30 000 proteínas distintas.<sup>10</sup>

Cada cromosoma está formado por una sola molécula de DNA, muy larga, asociadas a proteínas que pliegan y empaquetan la fina hebra de ADN, formando una estructura más compacta. El complejo de ADN y proteínas se denomina cromatina.<sup>10</sup> fig.16

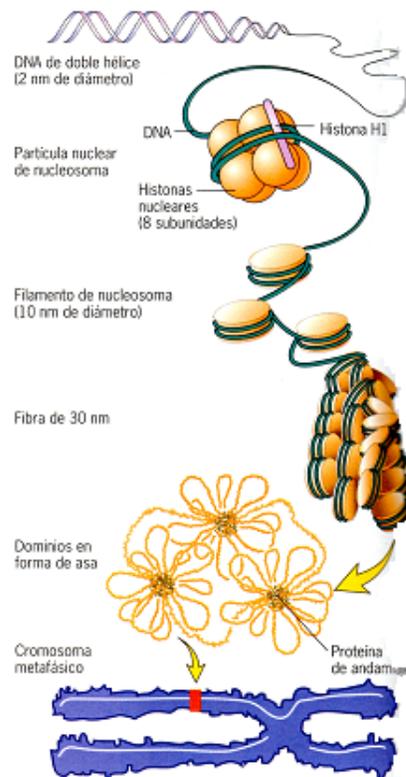


Fig. 16 Esquema de niveles de organización de cromatina



EL ADN se encuentra en el núcleo en forma de cromatina dispersa, cromatina periférica y cromatina asociada al nucléolo.<sup>19</sup>

La cromatina dispersa es desde el punto de vista genético activa ya que no se encuentra compactada lo cual permite que el ADN este expuesto y se pueda llevar a cabo la transcripción del ADN.<sup>20</sup>

La cromatina asociada al nucléolo rodea este organela como un anillo y envía sus prolongaciones hacia su interior. Esto permite que se expongan las hebras del ADN para que se puedan sintetizar ARNr.<sup>1</sup>

La cromatina periférica es la que se encuentra como cúmulos densos de tamaño variable en contacto estrecho con la membrana nuclear.<sup>1</sup>

Sin embargo, la expresión de muchos otros genes en células de mamíferos parece afectada por su proximidad de la cromatina asociada a la periferia nuclear.<sup>14</sup>

## 2.4 Reacción Feülgen

Es un método específico para la determinación histoquímica del ADN, sobre la base del contenido de la desoxirribosa en el ADN. Se eliminan los grupos purínicos del ADN por medio de una hidrólisis ácida suave. De esta manera se abre el anillo de la desoxirribosa y se forma un grupo aldehído, que reacciona con la reacción Schiff, con aparición de color rojo característico en el sitio que corresponde al ADN. Como control se utilizan cortes tratados con la enzima desoxirribonucleasa antes de la tinción Feulgen.<sup>1</sup>



Por lo general, los materiales positivos para Feulgen se limitan a la cromatina nuclear.<sup>1</sup>

Cuando se tiñen los cromosomas por diversos procedimientos, como la reacción Feulgen, que es específica del ADN, y se examina con el microscopio de luz, algunas regiones de los cromosomas se tiñen muy intensamente, mientras que otras regiones se tiñen ligeramente. Esto se debe, por qué el método Feulgen específico para ADN no incluye todo el material basófilo nuclear.<sup>1</sup>

El nucléolo está formado principalmente por ARN y proteínas. Hay un poco de ADN (regiones organizadoras de nucléolos), pero la cantidad es tan pequeña que los preparados teñidos con tinción Feulgen para microscopio óptico no revelan positividad.<sup>4</sup>

## 2.5 Organización y estructura (modelo de ADN)

En la actualidad el modelo Watson-Crick aceptado universalmente presenta la siguiente estructura para el ADN: la molécula de ADN es una doble hélice, como una escalera de caracol. Los barandales de la escalera son las dos hebras, cada uno formado por una cadena de polinucleótidos, enrollados entre sí en sentido dextrógiro. Los escalones de la escalera se componen de las bases nitrogenadas, apareadas de manera tal, que una base purínica siempre se une a una base pirimidínica, es decir Adenina-Timina o Citosina-Guanina.<sup>8</sup>

Las dos cadenas de nucleótidos se mantienen entonces unidas mediante los pares de bases, que a su vez se unen a través de enlaces de hidrógeno, de los que se forman dos enlaces entre A y T y tres enlaces entre C y G.<sup>8</sup> Fig.17

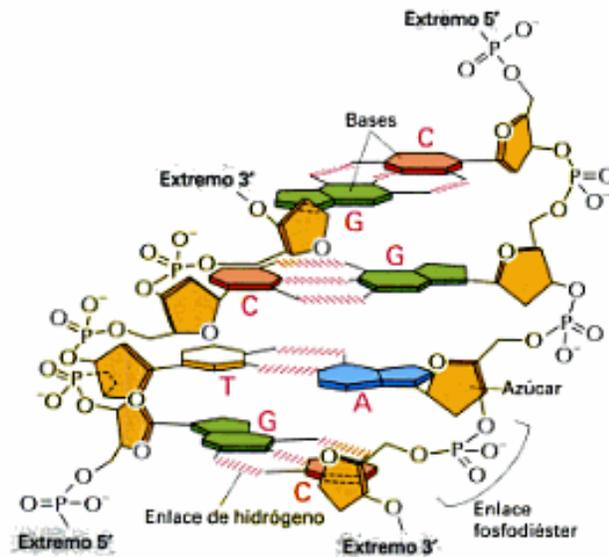


Fig. 17 Esquema, donde se muestra la unión de las bases por enlaces de hidrógeno

El apareamiento compensado de las cadenas da lugar a la formación de un surco mayor y surco menor en la superficie de la doble hélice. El surco mayor proporciona un acceso más directo a las bases, mientras que el surco menor está frente al armazón de la azúcar.<sup>5</sup>

Cada par de base presenta una rotación de  $36^\circ$ , es decir un giro completo de la doble hélice son  $360^\circ$ , de manera que se acomodan 10 pares de bases en cada vuelta de la doble espiral.<sup>18</sup>

Un giro completo de la doble espiral corresponde a 10 monómeros de nucleótidos y los 10 pares de bases se disponen en sentido perpendicular a la columna de pentosas y ácido fosfórico, con una distancia de 0.34 nm entre cada par de bases y un total de 3.4 nm por cada giro completo de la espiral. Sobre la base de los modelos espaciales del ADN se puede establecer que la doble hélice que la doble espiral tiene un diámetro promedio 2nm.<sup>1</sup> Fig.18

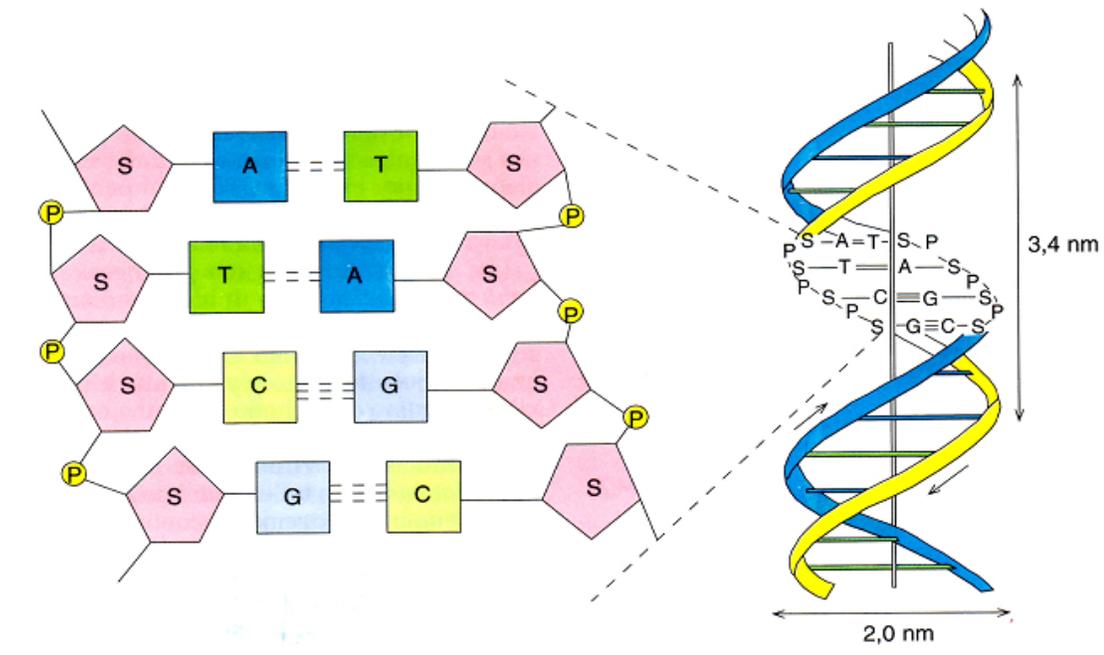


Fig. 18 Modelo Watson y Crick para la estructura del ADN

Los esqueletos de azúcar-fosfato de las dos cadenas complementarias del ADN transcurren en dirección opuesta, son antiparalelas y tienen una polaridad química opuesta, es decir, una presenta sentido 5'-3', mientras que la otra tiene un sentido 3'-5'.<sup>6</sup>

El alto grado de estabilidad de las hélices dobles de ADN resulta en parte del gran número de puentes de hidrógeno que hay entre los pares de bases y, en parte, de los enlaces hidrófobos entre los pares de bases apiladas.<sup>6</sup>

Los lados planos de las pares de bases son relativamente no polares, por lo que tiende a ser insolubles en agua (hidrófobos). Éste centro hidrófobo de pares de bases apiladas aportan considerable estabilidad a las moléculas de ADN presentes en los protoplasmas acuosos de las células vivas.<sup>17</sup>

La secuencia de las bases de una cadena de nucleótidos puede variar, pero en la cadena opuesta la secuencia debe ser complementaria.<sup>1</sup>

Ésta complementariedad tiene gran importancia para el mecanismo por el cual la molécula de ADN se duplica o se replica. Por lo tanto, la replicación es semiconservadora, es decir, la mitad de la molécula original se conserva en cada molécula hija.<sup>1</sup> Fig.19

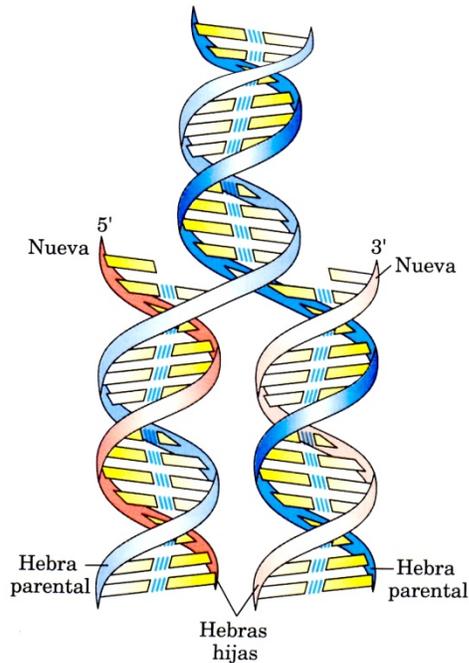


Fig. 19 Replicación del ADN

## 2.6 Mecanismos de replicación del ADN

El mecanismo de replicación del ADN tiene la finalidad de mantener la integridad de las secuencias de ADN. Todos los organismos vivos han de duplicar su ADN de una forma muy exacta antes de cada división celular.<sup>10</sup>

Las células de los organismos superiores pueden tener mil veces mucho más ADN que las bacterias, si bien los polímeros incorporan nucleótidos en el ADN a velocidades lentas. Para adecuar estas diferencias en las células eucariotas replican sus genomas en pequeñas porciones, denominadas replicones.<sup>11</sup>

Cada replicón tiene sus propios orígenes de replicación desde el cual avanza a la horquilla de replicación en ambas direcciones.<sup>11</sup>

En las células humanas la replicación comienza en alrededor de 10,000 a 100,000 diferentes orígenes de replicación. La existencia de replicones se demostró primero en experimentos de autorradiografías en lo que las moléculas de ADN únicas mostraron que la replicación se lleva a cabo de manera simultánea en diferentes sitios de la molécula.<sup>10</sup>

Todos los sistemas de replicación requieren helicasas, proteínas de unión de ADN de cadena sencilla, topoisomerasas, primasa, polimerasa de ADN y ligasa de ADN.<sup>5</sup> Fig. 20

El proceso de replicación comienza en un punto determinado, donde la enzima ADN helicasa induce la separación de las dos hebras del espiral y se une a una de ellas.<sup>5</sup>

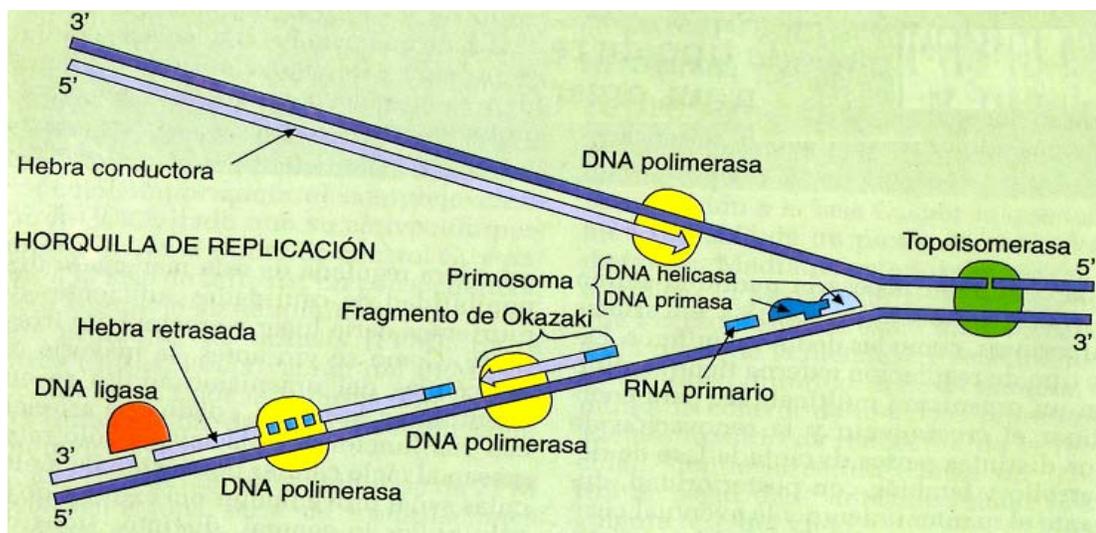


Fig. 20 Dibujo esquemático de una Horquilla de replicación y procesos moleculares de replicación del ADN



Las ADN helicasas fueron inicialmente aisladas como proteínas que hidrolizan ATP cuando se unen a moléculas de ADN de una sola cadena. Las ADN helicasas usan éste principio para desplazarse rápidamente por cadenas de ADN de una sola cadena; cuando encuentran una región de doble hélice, continúan desplazándose por la misma cadena, desenrollando así la hélice a una velocidad de hasta 1000 pares de nucleótidos por segundo.<sup>10</sup>

En principio, el desenrollamiento de la hélice de ADN patrón en la horquilla de replicación puede estar catalizada por dos ADN helicasas que actúa de forma concertada, una de ellas desplazándose por la cadena conductora y la otra por la cadena retrasada. Éstas dos helicasas deberían desplazarse en dirección opuesta a la largo de una molécula de ADN de cadena sencilla y por lo tanto debería de ser dos enzimas diferentes. En efecto, ambos tipos de ADN helicasa existen, pero algunos estudios en bacterias demuestra que la ADN helicasa que desempeña el papel principal es la de la cadena conductora.<sup>10</sup>

Las proteínas de unión a ADN de cadena sencilla (SSB, de single strand ADN-binding) también llamadas proteínas desestabilizadoras de la hélice se unen fuertemente y de un modo cooperativo a cadenas de ADN abiertas, sin cubrir las bases de la cadena, las cuales quedan disponibles para actuar como patrón. Éstas proteínas no son capaces de abrir directamente una larga cadena de ADN, pero colaboran con la hebra de ADN, estabilizando la conformación desenrollada de las cadenas sencillas. Además su unión cooperativa recubre completamente las regiones de ADN de cadena sencilla de la cadena retrasada evitando así la formación de cortas hélices en forma de horquilla que se forma rápidamente en cadenas sencillas de ADN, que impedirán la actuación de la ADN polimerasa.<sup>10</sup>

Éstas hélices en forma de horquilla puede impedir la síntesis de ADN catalizada por la ADN polimerasa<sup>19</sup> Fig. 21

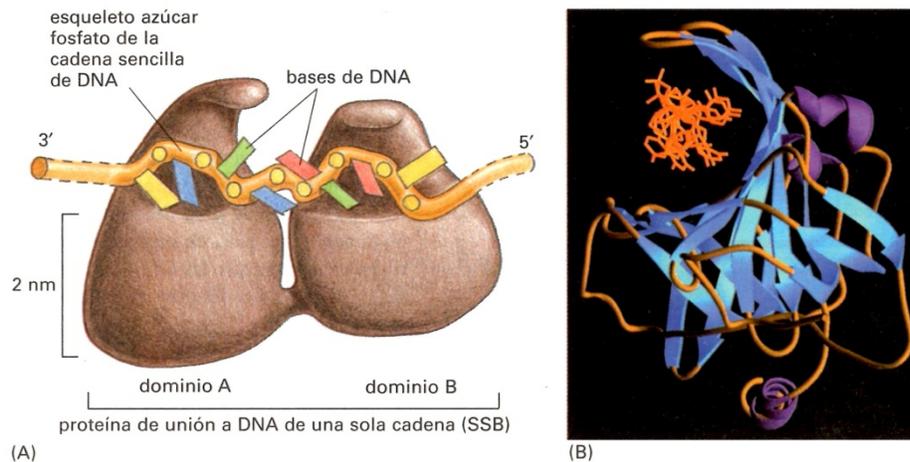


Fig. 21 Estructura de la proteína de unión a ADN a una sola cadena (SSB). A, vista frontal de los dominios de unión al ADN a la proteína SSB. B, diagrama de la estructura tridimensional, con la cadena de ADN (rojo) vista desde su parte final

Cuando las dos hebras de ADN se separa constituye dos estructuras en forma de Y denominada horquilla de replicación.<sup>1</sup>

Estudios adicionales señalan que la horquilla de replicación activa en un momento particular, no se distribuye de forma aleatoria a través del núcleo celular; en realidad se localiza en 50 a 250 sitios, conocidos como lugares de replicación. Se estima que cada uno contiene 40 horquillas de replicación que incorporan nucleótidos en las cadenas de ADN de manera simultánea.<sup>10</sup>

De éste modo las hebras de ADN quedan libres como hebra patrón para la síntesis de las dos nuevas hebras de ADN por apareamiento de bases complementarias. A partir del punto de inicio de la replicación, la horquilla de replicación se desplaza en dirección opuesta.<sup>1</sup>

El uso de ADN como patrón se refiere al proceso en el que la secuencia de nucleótidos de una cadena (o determinadas zonas de la cadena de ADN) es copiada mediante el apareamiento de bases complementarias, produciendo una secuencia complementaria de ADN. Esto requiere el reconocimiento de cada nucleótido patrón de ADN, por un nucleótido libre complementario y que las dos cadenas de la hélice de ADN estén separadas.<sup>10</sup> Fig. 22

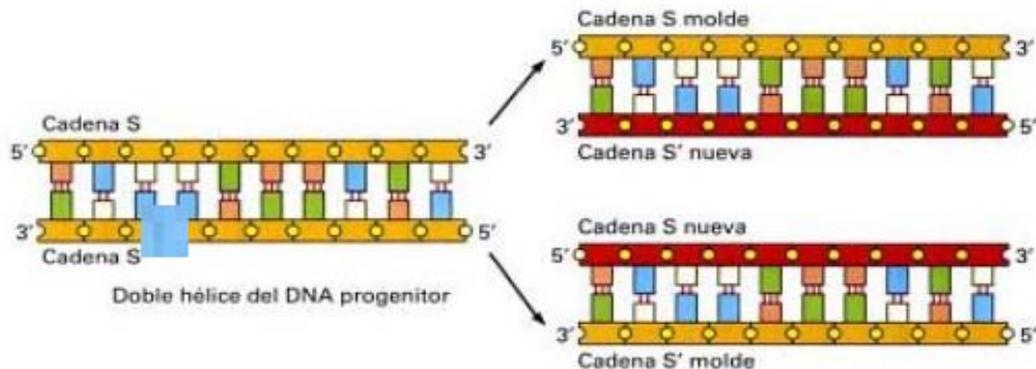


Fig. 22 Esquema de la doble hélice de ADN que actúa como patrón para la duplicación

Ésta separación permite que los grupos dadores y aceptores de los enlaces de hidrogeno de cada base de ADN queden libres para el apareamiento de bases. Así los nucleótidos libres adecuados se alinean y polimerizan mediante una reacción enzimáticamente, formando una nueva cadena de ADN.<sup>10</sup>

La síntesis de ADN es catalizado por la enzima ADN polimerasa, capaz de sintetizar ADN a partir de derivados trifosfatados de las cuatro bases de ADN, pero solo en dirección 5'3', es decir solo pueden agregar nuevos nucleótidos al extremo 3' de una hebra de ADN existente. Como se recordara las dos hebras de la doble espiral de ADN son antiparalelas, por lo que una de las hebras transcurre en dirección 3'5'.<sup>1</sup> Fig. 23

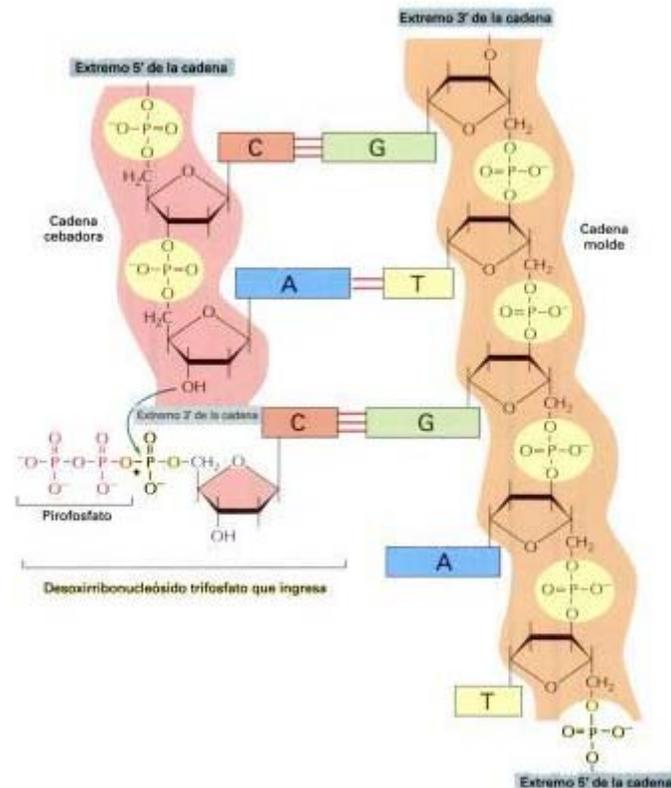


Fig.23 Esquema de la Síntesis del ADN en dirección 5'3'

Esto implica que solo una de las hebras de ADN, denominada hebra conductora se sintetiza continuamente, mientras que la otra, denominada hebra retrasada se sintetiza de forma discontinua, en trozos denominados fragmentos de Okazaki.<sup>1</sup>

Éstos fragmentos también son sintetizados por la ADN polimerasa, en dirección 5' 3', es decir, alejándose de la horquilla de replicación.<sup>1</sup>

Durante la replicación de ADN en la célula, cada uno de las dos cadenas de ADN antiguo sirve como patrón para la formación de una cadena completa.<sup>10</sup>



La ADN polimerasa sólo está en condiciones de agregar nucleótidos al extremo 3' del ADN. El comienzo de la síntesis es catalizada por la enzima ADN primasa, capaz de sintetizar fragmentos muy cortos de ARN con el ADN como patrón desde el inicio, por unión de los dos primeros nucleótidos de la molécula.<sup>8</sup>

Éstos segmentos corto de ARN se denominan ARN primarios en cuanto se forma uno de estos ARN primarios, la ADN polimerasa continua agregando nucleótidos al extremo 3' del primario.<sup>1</sup>

En la hebra conductora esto solo ocurre cuando comienza la síntesis de la molécula de ADN, mientras que en la hebra retrasada se comienza con una ARN primario en cada fragmento de Okazaki.<sup>1</sup>

En las eucariotas, éstos ARN primarios tienen aproximadamente 10 nucleótidos de longitud y son sintetizados a intervalos de 100–200 nucleótidos sobre la cadena retrasada.<sup>10</sup>

Los trozos de ARN se eliminan y son remplazados por ADN de la ADN polimerasa, tras lo cual los fragmentos de Okazaki son adosados por la ADN ligasa. Dado que el proceso tiene lugar durante toda la síntesis de la hebra retrasada, está relacionada con la ADN primasa que junto con la ADN helicasa constituye un complejo denominado primosoma.<sup>1</sup>

La mayoría de las ADN polimerasas solo sintetizan por sí mismas cortas cadenas de nucleótidos antes de separarse del ADN patrón. Ésta tendencia a dejar rápidamente la molécula de ADN, permite a la molécula de ADN polimerasa que acabe de sintetizar un fragmento de Okazaki sobre la cadena retrasada se disociación rápidamente, empezando de nuevo a sintetizar el siguiente fragmento de Okazaki sobre la misma cadena.<sup>10</sup>



La ADN polimerasa sólo está en condiciones de agregar nucleótidos al extremo 3' del ADN. El comienzo de la síntesis es catalizada por la enzima ADN primasa, capaz de sintetizar fragmentos muy cortos de ARN con el ADN como patrón desde el inicio, por unión de los dos primeros nucleótidos de la molécula.<sup>8</sup>

Éstos segmentos corto de ARN se denominan ARN primarios en cuanto se forma uno de estos ARN primarios, la ADN polimerasa continua agregando nucleótidos al extremo 3' del primario.<sup>1</sup>

En la hebra conductora esto solo ocurre cuando comienza la síntesis de la molécula de ADN, mientras que en la hebra retrasada se comienza con una ARN primario en cada fragmento de Okazaki.<sup>1</sup>

En las eucariotas, éstos ARN primarios tienen aproximadamente 10 nucleótidos de longitud y son sintetizados a intervalos de 100–200 nucleótidos sobre la cadena retrasada.<sup>10</sup>

Los trozos de ARN se eliminan y son reemplazados por ADN de la ADN polimerasa, tras lo cual los fragmentos de Okazaki son adosados por la ADN ligasa. Dado que el proceso tiene lugar durante toda la síntesis de la hebra retrasada, está relacionada con la ADN primasa que junto con la ADN helicasa constituye un complejo denominado primosoma.<sup>1</sup>

La mayoría de las ADN polimerasas solo sintetizan por sí mismas cortas cadenas de nucleótidos antes de separarse del ADN patrón. Ésta tendencia a dejar rápidamente la molécula de ADN, permite a la molécula de ADN polimerasa que acabe de sintetizar un fragmento de Okazaki sobre la cadena retrasada se disociación rápidamente, empezando de nuevo a sintetizar el siguiente fragmento de Okazaki sobre la misma cadena.<sup>10</sup>

Sin embargo, esta rápida disociación supondría una dificultad para que la polimerasa sintetizara largas cadenas de ADN en la horquilla de replicación, si no existiera una proteína accesoria que actuase como una abrazadera regulada. Ésta abrazadera mantiene la polimerasa firmemente unida al ADN cuando se desplaza, pero la libera en cuanto la polimerasa se detiene ante una región de doble cadena.<sup>10</sup> Fig 24

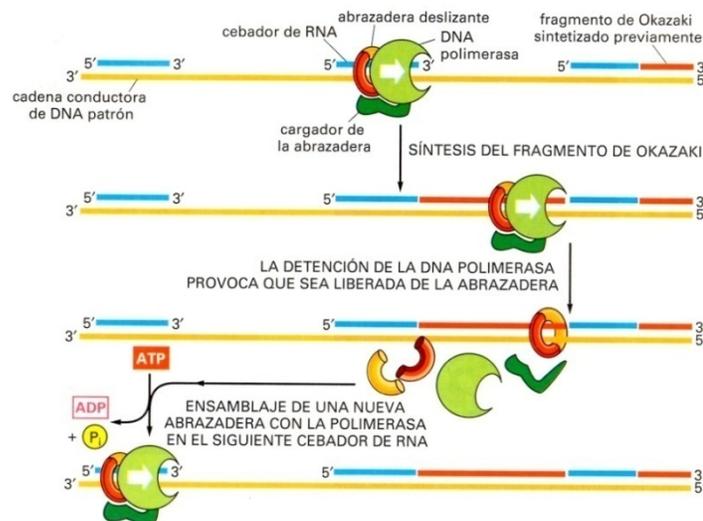


Fig. 24 Ciclo de carga y descarga de la ADN polimerasa y de la proteína abrazadera sobre la cadena retrasada

La estructura tridimensional de la proteína abrazadera indica que ésta proteína forma un amplio anillo alrededor de la hélice de ADN. Un lado se une a la parte trasera de la ADN polimerasa y el anillo completo se desliza libremente a medida que la polimerasa se desplaza por la cadena de ADN. El ensamblaje de la abrazadera alrededor del ADN requiere hidrólisis de ATP mediante un complejo de proteínas especial, el cargador de la abrazadera, que hidroliza el ATP cuando une la abrazadera al patrón cebador.<sup>1</sup> Fig. 25

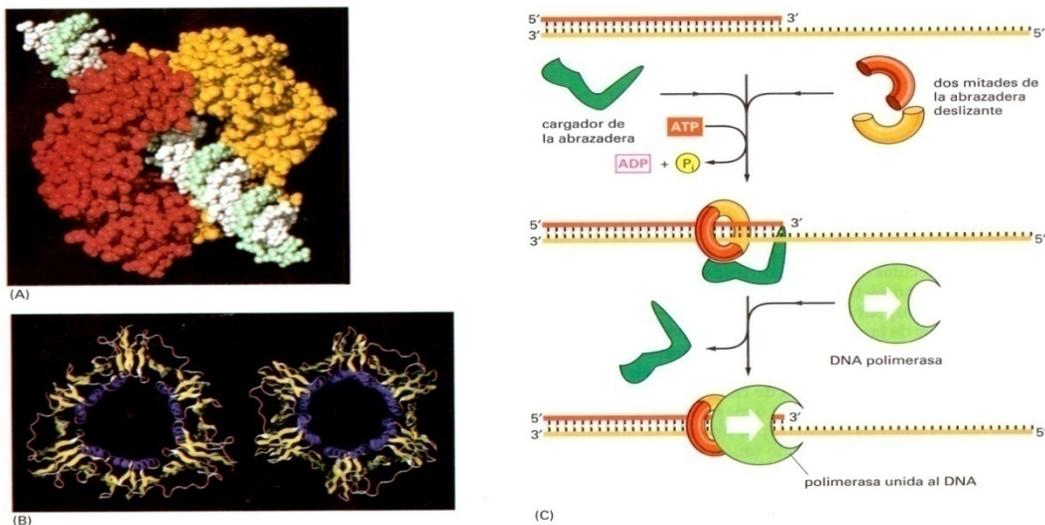


Fig. 25 A, Estructura deslizando de la E. Coli por cristalografía de rayos X. B, comparación de la abrazadera deslizando E. coli (izquierda) y de la proteína PCNA de humanos (derecha). C, ilustración esquemática que muestra como se ensambla la abrazadera uniéndose a una molécula de ADN.

En la cadena conductora patrón, la ADN polimerasa que se desplaza está fuertemente unida a la abrazadera y ambas permanecen asociadas durante un largo periodo de tiempo. En cambio en la cadena patrón retrasada, la polimerasa se libera cada vez que llega al extremo 5' del fragmento de Okazaki precedente; entonces ésta molécula de polimerasa se asocia a una nueva abrazadera en el cebador de ARN del siguiente fragmento de Okazaki precedente; ésta molécula de polimerasa se asocia a una nueva abrazadera en el cebador de ARN del siguiente fragmento de Okazaki.<sup>10</sup>

Otro grupo de enzimas también está relacionado con la replicación del ADN: el formado por la topoisomerasa I y II, localizadas por delante de la horquilla de replicación.<sup>10</sup>

A medida que una horquilla de replicación se va desplazando a lo largo de una doble cadena de ADN, genera lo que se llama un problema de enrollamiento y empaquetamiento. Cada 10 pares de bases replicadas en la horquilla corresponden a una vuelta completa del ADN que se replica alrededor del eje de la doble hélice. Por consiguiente, para que la horquilla



de replicación pueda desplazarse, todo el cromosoma que se halla por delante de la horquilla tendría que girar rápidamente, lo cual exigiría la utilización de grandes cantidades de energía para el acceso a los cromosomas largos. Por ello durante la replicación del ADN se utiliza una estrategia alternativa: unas proteínas conocidas como ADN topoisomerasas forma una plataforma giratoria en la hélice de ADN.<sup>19</sup>

Puede considerarse que una ADN topoisomerasa es una especie de nucleasa reversible que une covalentemente a un fosfato de del ADN rompiendo un enlace fosfodiéster de una cadena de ADN. Ésta reacción es reversible y el enlace fosfodiéster se vuelve a formar en cuanto la proteína se separa.<sup>11</sup>

La ADN topoisomerasa 1, genera transitoriamente un rompimiento en una sola cadena. Este rompimiento en el esqueleto fosfodiéster permite a las dos secciones de la hélice del ADN situadas a cada lado de la muesca girar libremente una respecto a la otra tomando como un punto de giro el enlace fosfodiéster de la cadena opuesta a la que se ha producido la muesca. Cualquier tensión que se genera en la hélice de ADN dirigirá la rotación en la dirección en la que ésta tensión se disipe. Como resultado de ello, la replicación del ADN podría ocurrir solo con la rotación de un corto tramo de hélice la zona que se halla justo por delante de la horquilla. El problema análogo a este que aparece durante la transcripción del ADN. Se resuelve de una forma similar a la descrita.<sup>11</sup>

Dado que el enlace covalente que una topoisomerasa al fosfato del ADN retiene la energía del enlace fosfodiéster roto, la nueva formación del enlace diéster es rápido y no requiere ningún aporte adicional de energía. En este sentido, el mecanismo de unión es diferente al que cataliza la enzima ADN Ligasa.<sup>10</sup>



Un segundo tipo de topoisomerasa, la topoisomerasa II, forma una unión covalente con ambas cadenas de hélice de ADN al mismo tiempo, generando transitoriamente un rompimiento en las dos cadenas de ADN. Estas enzimas son activadas por determinadas zonas de cromosomas en las que dos dobles hélices se cruzan entre sí. Cuando la topoisomerasa II se une a un lugar de cruce así, la proteína utiliza la hidrólisis de ATP para llevar a cabo de forma eficiente las siguientes reacciones: (1) rompe una de las dobles hélices, de forma reversible, generando una puerta en el ADN, (2) hace que la otra doble hélice pase a través de este rompimiento; (3) vuelve a unir las cadenas de ADN que había roto y se separa del ADN. De este modo, las ADN topoisomerasas de tipo II pueden separar de forma eficiente dos anillos de ADN entrelazados.<sup>10</sup>

Ésta misma reacción evita que se generen los graves problemas enrrollamiento que, en caso contrario, aparecería durante la replicación del ADN. Este papel queda bien ilustrado en mutantes de células de levadura que en lugar de la topoisomerasa II normal, produce una versión que inactiva a 37°C. Cuando las levaduras mutantes se calientan hasta ésta temperatura, sus cromosomas hijos quedan entrelazados después del proceso de replicación de ADN y no puede separarse.<sup>10</sup>

### 3 Ácido ribonucleico (ARN)

#### 3.1 Composición química

El ARN es un ácido nucleico que se compone de nucleótidos los cuales están compuestos de un grupo fosfato, un azúcar de cinco carbonos y un compuesto cíclico nitrogenado llamado base.<sup>6</sup>

Existen dos tipos de bases que se denominan purinas y pirimidinas. El ARN tiene dos purinas, adenina(A) y guanina (G), y dos pirimidinas, citosina (C) y uracilo (U).<sup>18</sup>

A primera vista, las cadenas de ARN y de ADN pueden parecer similares, pero presenta algunas variaciones en el grupo hidroxilo en posición 2' del azúcar del ARN con respecto al hidrógeno en la posición 2' en el azúcar de ADN y la sustitución de la timina por uracilo como las únicas diferencias. Sin embargo al contrario del ADN, la mayoría de ARN desempeña sus funciones en forma de una cadena sencilla.<sup>18</sup> fig. 26

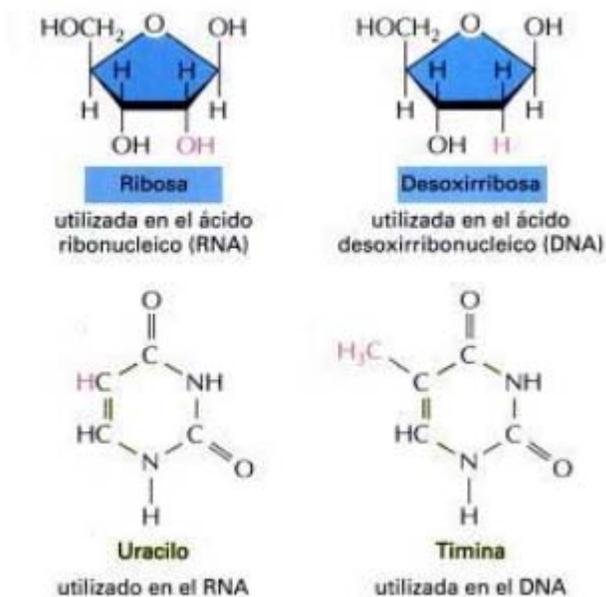


fig. 26 Diferencia en la estructura química entre el ARN y AD



Las cadenas de ARN se pueden plegar en una amplia variedad de formas, de la misma manera que las cadenas polipeptídicas se pueden plegar hasta alcanzar la forma final de una proteína. Ésta capacidad de plegarse en complejos, forman complejos tridimensionales que permite que algunas moléculas de ARN desarrollen funciones estructurales y catalíticas.<sup>18</sup>

El ARN tiende a adoptar una conformación helicoidal dextrógira, dominada por las interacciones de apilamiento de bases, que son más fuertes entre dos purinas, que entre una purina y una pirimidina o entre dos pirimidinas. La interacción purina-purina es tan fuerte que una pirimidina que se encuentra entre las dos purinas suele ser desplazada de la estructura de bases apiladas para que las dos purinas puedan interactuar.<sup>5</sup>

Las reglas de apareamiento son las mismas que en el ADN. Una diferencia es que el apareamiento entre residuos de G y U, muy raro en el ADN, es bastante frecuente en el ARN.<sup>5</sup>

### 3.2.-Tipos de ARN

Existen tres tipos principales de ARN: el ARN mensajero o (ARNm), el ARN de transporte o de transferencia (ARNt) y el ARN ribosómico o (ARNr). Los tres intervienen en la síntesis de proteínas en el citoplasma celular.<sup>16</sup> Fig.27

Los ARN mensajeros (ARNm) codifican la secuencia de aminoácido de uno o más polipéptidos especificados por un gen o por un conjunto de genes, bajo la forma de una secuencia de grupos de tres bases, cada una de las cuales se designan codón y codifica un aminoácido específico.<sup>1</sup>

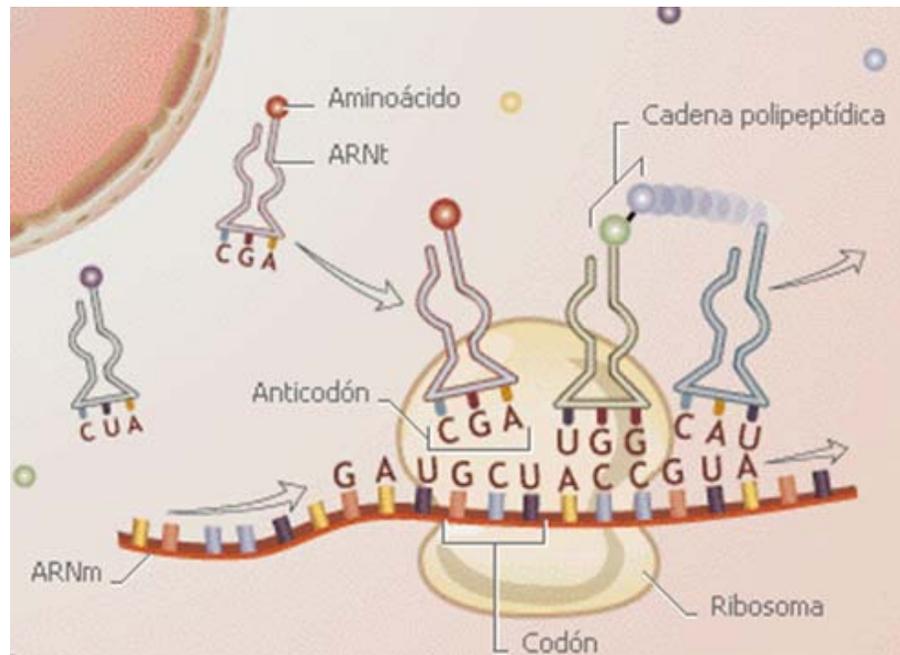


Fig. 27 Los tres tipos de ARN en el citoplasma

Los ARN de transferencia (ARNt) leen la información codificada en el ARNm y transfieren el aminoácido adecuado a la cadena polipeptídica en crecimiento durante la síntesis de proteínas.<sup>5</sup>

El ARNt busca los correspondientes aminoácidos en el citoplasma (existe por lo menos un ARNt para cada uno de los 21 aminoácidos que forman las proteínas) y los transporta hasta los ribosomas.<sup>7</sup>

Las moléculas de ARN ribosómico forman parte de los ribosomas, las complejas maquinarias celulares que sintetizan proteínas.<sup>20</sup>

Se compone de dos subunidades, cada una de ellas es exportada al citoplasma por separado, donde permanecen aisladas hasta que se incorpora al proceso de síntesis proteica.<sup>20</sup>

### 3.3 Funciones del ARN

Una de las principales funciones es la producción de proteínas, algunas de estas proteínas forman complejos proteicos que constituyen maquinarias moleculares muy elaboradas.<sup>1</sup>

Otra función del ARN es la expresión de la información genética, requiere generalmente la síntesis de una molécula de ARNm, transcrita a través de un molde de ADN, a este proceso se le denomina transcripción.<sup>5</sup>

El ARN es la única macromolécula conocida que tiene a la vez las funciones en el almacenamiento y la trasmisión de la información.<sup>5</sup> Fig. 28

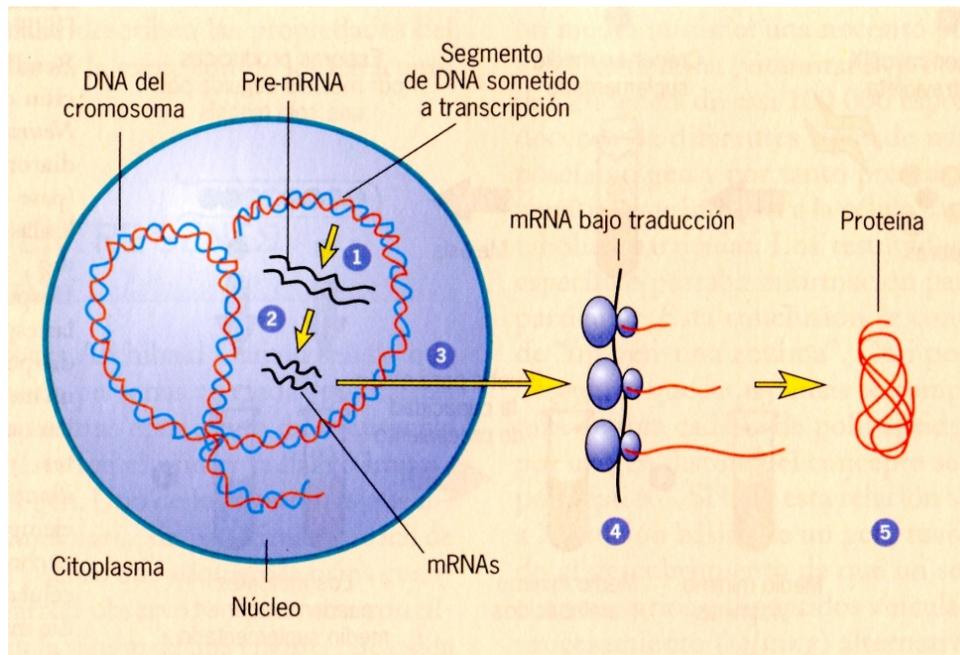


Fig. 28 Dibujo esquemático que muestra la traducción del ARN en proteínas.



### 3.4 Localización de los ARN

Los tres tipos de ARN se sintetizan en el núcleo celular donde son sintetizados por la transcripción del ADN y luego exportados al citoplasma.<sup>1</sup>

Las células eucariotas tienen tres distintas enzimas que transcriben, cada una encargada de la síntesis de un diferente grupo de ARN. La polimerasa ARN I sintetiza el ARN ribosomal grande (28S, 18S y 5.8S); la polimerasa de ARN II sintetiza el ARN mensajero y la mayoría de los ARN pequeños nucleares (ARNsn y ARNsno) y la polimerasa de ARN III sintetiza varios ARN de bajo peso molecular, incluidos los ARN transferencia, el ribosomal 5S y ARNsn U6.<sup>11</sup>

El proceso de transcripción comienza cuando la ARN polimerasa se une a una secuencia de ADN denominada promotor, localizada cerca de la región a transcribir. Como consecuencia, las dos hebras de la espiral de ADN se separan del promotor. De ésta manera la ARN polimerasa gana acceso a la hebra patrón.<sup>7</sup>

La unión entre la ARN polimerasa y el promotor es mediado por varias proteínas, denominada factores de transcripción.<sup>7</sup>

La transcripción, sin embargo, difiere de la replicación del ADN en varios aspectos importantes. La cadena de ARN no permanece unida por enlaces de hidrógeno a la hebra molde de ADN. Justo por detrás de la región en la que se va incorporando los nuevos ribonucleótidos, se va separando del ADN y la doble hélice se vuelve a formar. De esta manera las moléculas de ARN generadas en la transcripción son liberadas del molde de ADN en forma de cadenas de una sola hebra. Además, dado que solo se copia una pequeña región de ADN, las moléculas de ARN son mucho más cortas.<sup>1</sup>



Una molécula de ADN de un cromosoma humano puede tener hasta 250 millones de pares de bases de longitud, mientras que la mayoría de los ARN no tienen más que unos cuantos miles de nucleótidos y mucho de ellos son incluso mucho menores.<sup>10</sup>

Las ARN polimerasas que cataliza la formación de los enlaces fosfodiéster que uno de los nucleótidos formando una cadena lineal. La ARN polimerasa se desplaza, paso a paso, a lo largo del ADN, desenrollando la hélice de ADN un poco por delante del centro activo de polimerización, exponiendo la nueva región de la hebra molde para el apareamiento complementario de bases. De esta manera, la cadena naciente de ARN va creciendo nucleótido a nucleótido en dirección 5' 3'.<sup>10</sup>

Otra diferencia es que la ARN polimerasa puede iniciar una cadena de ARN sin ningún cebador. La ARN polimerasa comete aproximadamente un error cada  $10^4$  nucleótidos incorporados al ARN y la consecuencia de un error en la transcripción del ARN, son mucho menos relevantes que las de la replicación de ADN.<sup>9</sup>

Aunque las ARN polimerasa no son tan exactas como las ADN polimerasas también presentan ciertos mecanismo de corrección de lectura. Si se incorpora un ribonucleico incorrecto a la cadena de ARN, la polimerasa puede retroceder y su centro activo puede llevar a cabo una reacción de escisión a la reacción inversa polimerización, excepto por que utiliza agua en lugar de pirofosfato.<sup>10</sup>

La ARN polimerasa si se queda en un nucleótido mal incorporado dura más tiempo, que en la adición incorrecta, lo que se favorece la escisión de los nucleótidos incorrectos. Sin embargo, la ARN polimerasa también escinde muchas bases correctas, como parte del costo de esta mayor precisión.<sup>10</sup>

Las moléculas transcritas de ARN representan moléculas precursora más largas, que después de la transcripción sufre notables modificaciones.<sup>7</sup>

Las moléculas precursoras de ARNm y ARNt se modifican por eliminación o por agregado de secuencias de bases antes de ser exportadas al citoplasma como moléculas de ARN maduras.<sup>7</sup>

En consecuencia, las moléculas transcritas de ARNprimario y aún no modificado se denomina ahora pre-ARN.<sup>7</sup>

Las moléculas pre-ARN se unen primero a proteínas. Después la moléculas de ARN sufren recorte, que consiste en la eliminación o corte de las secuencias de nucleótidos no deseados, por lo que la longitud de la molécula de ARN se reduce notablemente en algunos casos hasta un 10% de la molécula de pre-ARN.<sup>1</sup>

El proceso de recorte tiene lugar porque los genes que codifican las moléculas de ARN, tienen secuencias no codificadoras, denominadas intrones y las secuencias codificadoras o exones, solo estas últimas forman parte del ARN maduro que se exportara en el citoplasma.<sup>1</sup> Fig. 29

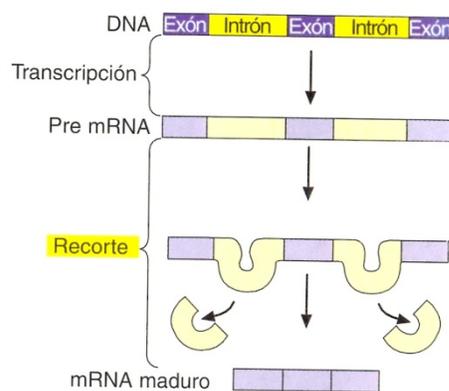


Fig. 29 ARNm



Durante el recorte se eliminan los trozos de intrones mediante un complejo de recorte, denominado esplicesoma, compuesto por varias partículas pequeñas de ribonucleoproteínas nuclear (RNPsc) o “snurps”.<sup>1</sup>

Las distintas partículas pequeñas de ribonucleoproteínas nuclear (RNPsc) son capaces de hallar los sitios 3' y 5' correctos para la escisión y la posterior unión de los extremos, después de haber eliminado los intrones. La porción extirpada es degradada después, de esta manera se degrada gran parte del ARN primario transcrito durante el tratamiento del pre-ARN para obtener el ARN maduro que finalmente es exportado al citoplasma.<sup>1</sup>

Los ARNr la transcripción se lleva a cabo en el nucléolo el cual fue descrito en el tema del nucléolo.<sup>1</sup>

Como se vio antes los ARNsn o snurps intervienen en el tratamiento de ARNm y ARNt, alguno de los genes codificadores de los ARN pequeños forma parte de los intrones de distintos genes de ARNm y se transcriben con ellos. Durante el posterior recorte de la molécula de pre ARNm se liberan las moléculas de ARN pequeños, a medida que los intrones de los que forman parte son recortados de la molécula de pre-ARNm<sup>1</sup>

La transcripción de los ARN pequeños es catalizado por la ARN polimerasa II o la ARN polimerasa III. Después de la transcripción y del eventual recorte, las moléculas de ARN se adosan a las proteínas y se forma los RNPsc terminados.<sup>1</sup>



## Conclusiones

En el núcleo celular se encuentra la mayor cantidad de ADN bajo la forma de euromatina y heterocromatina. Estos dos tipos de cromatina en el núcleo en interfase atrae la atención de investigaciones en todos los campos de la ciencia médicas. Sobresalen los estudios de heterocromatina porque se ha descubierto que podría ser un eslabón en la regulación de activación de los genes.

Estas investigaciones apoyan que para que la heterocromatina se active genéticamente, se deben realizar las modificaciones covalentes de las hebras de histona de los nucleosomas.

Estas modificaciones covalentes de las hebras terminales de histona, se caracteriza por la represión o activación de genes, por ejemplo cuando se metilan las cadenas terminales de las histonas tres en la lisina nueve, se produce que se forme heterocromatina y cuando se acetilan, se produce que la cromatina se descóndense y se forme la euromatina. Estas acetilaciones se lleva a cabo por maquinas remodeladoras de cromatina, como las HAT y hace que se pueda llevar acabo la expresión de cierto gen.

La importancia de las maquinas remodeladoras de cromatina es de que hace que la heterocromatina, que esta densamente empaquetada se pueda desdoblar exponiendo el ADN que se encuentra densamente empaquetado y se lleve a cabo la transcripción de un determinado gen.

Esto es importante en el campo de la odontología porque muchas patologías están asociadas en la expresión o inactivación de ciertos genes, por la deficiencia de una proteína o por la falta de diferenciación de células que provoquen alteraciones en el desarrollo.



Esto se podría resolver con la activación de heterocromatina, donde se podría modificar las hebras terminales histonas, para la activación del gen que esté relacionada con la patología.



## Referencias bibliográficas

- 1.- Geneser F. Histología sobre las bases moleculares. 2a.ed. Munksgaard, Copenhague: Editorial Médica Panamericana, 2000. Pp. 103-123
- 2.- Junqueira L., Carneiro J., Histología básica texto y atlas. 10a.ed. Brasil, Rio de Janeiro: Editorial Masson, 2004. Pp. 47-50
- 3.- Gartner LP., Hiatt JL., Texto Atlas de Histología. 3a.ed. E.U. Baltimore, Maryland: Editorial Mc Graw Hill interamericana, 2008. Pp. 44-47
4. – Ross MH., Kaye Gordon I., Wojciech P., Histología texto y atlas color con biología celular y molecular, 5a.ed. E.U. Baltimore: Editorial Mc Graw Hill interamericana, 2006. Pp. 37-40.
5. - Nelson DL., Cox M., *Principios de bioquímica*. 5a.ed. Estados Unidos: Editorial Omega, 2009. Pp. 271-278, 975- 993, 1033-1036
6. - Eldon J., Simmons J., Snustad D., Principios de Genética, 4a.ed. E.U. New York: Editorial LImusa Wiley, 2007. Pp. 91-94, 130-137
- 7.- Solari AJ., Genética Humana Fundamentos y aplicaciones en Medicina, 3a.ed. Buenos Aires: Editorial Médica panamericana, 2004. Pp. 434-436.
8. -Murray RK., Bender DA., Botham M., Kennelly P J., Rodwell V W., Weil AP., Harper Bioquímica ilustrada. 28a.ed. Toronto, Ontario: Editorial Mc Graw Hill interamericana, 2010. Pp. 221-222
9. – Nussbaum RL., McInnes Roderick R., Williard Huntington E., Genética en medicina, 5a.ed. E.U: Editorial Masson, 2005. Pp. 256-259
- 10.- Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K., Watson JD., Biología Molecular de la célula, 4a.ed. E.U. California, San Francisco: Editorial Omega, 2004. Pp. 530-533.
- 11.- Gerald K., Biología celular y molecular. 4a.ed. E.U. California: Mc Graw Hill interamericana, 2006. Pp. 590-592, 614-616.
- 12.- Guillermo P, Roser Z, Nacht S, Le Dily F. Two Chromatin Remodeling Activities Cooperate during Activation of Hormone Responsive Promoters. Rev. Med. PLoS Genetics 2009;5:1- 4.



13. –Euskirchen GM, Auerbach Raymond K, Davidov E, Guoneng Zhong G, Rozowsky J. Diverse Roles and Interactions of the SWI/SNF Chromatin Remodeling Complex Revealed Using Global Approaches. Rev. Med. PLoS Genetics 2011;7:1-3.
- 14.- Finlan LE, Sproul D, Thomson I, Boyle S, Kerr E, Perry P, Ylstra B, Chubb JR, Bickmore Wendy A. Recruitment to the Nuclear Periphery Can Alter Expression of Genes in Human Cells. Rev. Med. Plos Genetics 2008;4:1-12
- 15.- Lavigne M, Eskeland R, Azebi S, Violaine SA, Min Jang S, Batsche E. Interaction of HP1 and Brg1/Brm with the Globular Domain of Histone H3 Is Required for HP1-Mediated Repression. Rev. Med. PLoS Genetics 2009;5:1-11.
- 16.- Ne'meth A, Conesa A, Santoyo Lopez J, Medina I, Montaner D. Initial Genomics of the Human Nucleolus, Rev. Med. Plos Genetics 2010;6:1-11.
- 17.- Baynes J., Marek H., Bioquímica Médica, 2a.ed. E.U. Carolina: Editorial Elsevier, 2006. Pp. 421-439.
- 18.- Mathews CK., Holde VE., Ahern KG., Bioquímica. 3a.ed. E.U. Oregon: Editorial Addison Wesley, 2002. Pp. 95-97, 100
- 19.- Curtis H., Barnes NS., Biología. 6a.ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 2000. Pp. 320-325
- 20.- Watson J., Baker B., Biología molecular del gen. 5a.ed., E.U: Editorial Médica Panamericana; 2008. Pp. 373-276.