



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Estudios Superiores
"CUAUTITLAN"

LOS MECANISMOS MOLECULARES DE LAS
MUTACIONES

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
NABOR PAELO FLORES RIVERA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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 está 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.

INDICE

Introducción	1
Objetivos	3
I. Generalidades del ADN	4
I.1. Antecedentes	4
I.2. El Genoma Humano	5
I.3. Composición Cromosómica	6
I.4. Replicación del ADN y Expresión génica	8
II. Definición y Clasificación del fenómeno Mutación	13
III. Mutagénesis	19
III.1. Mutagénesis espontánea	19
III.1.a. Formas tautoméricas de las bases	19
III.1.b. Desaminación de las bases	21
III.1.c. Pérdidas de bases	21
III.2. Mutagénesis Química	24
III.2.a. Agentes alquilantes	24
III.2.b. Metabolización de agentes químicos a formas reactivas	27
III.2.c. Análogos de bases	27
III.2.d. Agentes intercalantes	29
III.3. Daño al ADN por Radiación	32
III.3.a. Radiaciones ionizantes	32
III.3.b. Radiación ultravioleta	33
IV. Las Mutaciones y la Expresión Génica	35
IV.1. Enfermedades Genéticas	35

IV.2. Activación de Oncogenes	41
IV.2.a. Proto-oncogenes	42
IV.2.b. Activación de Oncogenes	43
V. Discusión	46
VI. Conclusiones	47
VII. Bibliografía	48

INTRODUCCION

Todos los seres vivos conocidos se reproducen y desarrollan mediante las mismas moléculas y procesos básicos. Esta unidad molecular nos habla del origen monofilético de todos ellos; y muy probablemente todos derivan de un antecesor común. La reproducción, desarrollo y evolución de los seres vivos se realizan gracias a las propiedades singulares del material genético: los ácidos nucleicos (45). Estos ácidos nucleicos son las únicas moléculas capaces de codificar y transmitir información genética: llevan a cabo dos funciones que son fundamentales para la vida: la primera de ellas se pone de manifiesto en el momento de la división celular, al fabricar más material genético. La segunda se realiza entre dos divisiones celulares; el ADN dirige la síntesis de ARN, que a su vez dirige la síntesis de proteínas, las cuales como enzimas catalizan las reacciones celulares. De esta manera el ARN traduce la información genética del ADN al lenguaje de la fisiología y el crecimiento (164, 35). Cuando la célula se divide, cada una de las dos células hijas recibe cromosomas exactamente iguales, de esta manera las células formadas por divisiones sucesivas y, finalmente los individuos derivados de estas células tienden a heredar genes iguales a los que en un principio existían (132). Sin embargo, los genes pueden sufrir accidentes químicos llamados mutaciones; un gen mutado al duplicarse produce otro gen con la composición mutante, y si la mutación ocurre en las células reproductoras, la mutación se transmitirá a la generación siguiente (13). Agentes físicos como las radiaciones y una gran cantidad de agentes químicos, llamados en conjunto agentes mutagénicos, incrementan grandemente la tasa de mutación debido a su gran capacidad para interaccionar con

nuestro material genético: lo cual representa graves riesgos para la población, ya que esto se traduce en la aparición de cánceres y otras enfermedades genéticas (I06). Una mutación en un gen puede dar lugar a un cambio en su proteína codificada, este cambio puede conferir un efecto ventajoso para el individuo; cuando esto sucede su acumulación en la dotación genética del individuo le proporcionará beneficios adaptativos al medio imperante, multiplicándose con más facilidad que los demás individuos de la población, hasta llegar a reemplazar al antiguo gen y sustituirlo, dándose así paso a paso la evolución (I65). Por otro lado, la mutación puede dar lugar a una proteína defectuosa que provoca la aparición de caracteres desfavorables en el individuo que lo llevan a un acortamiento en su periodo de vida; y en algunos casos, la perturbación función al causada por el gen mutante es letal para el individuo portador de la mutación (I65); esto es, causa su muerte.

OBJETIVOS

Analizar el mecanismo molecular de las mutaciones que inciden sobre el material genético y, en el cual causan importantes efectos como la aparición de diversas patologías cuyo origen corresponde a un gen mutante. Además de ello, enfrentar la gran problemática que representa la recopilación de bibliografía sobre el tema, para llegar así a la elaboración de una monografía en la cual las personas interesadas encuentren un contexto amplio sobre el tema.

I. GENERALIDADES DEL ADN

I.1. Antecedentes

La Genética, ciencia de la herencia, nace de los trabajos largamente ignorados del monje botánico Gregor Mendel. Mendel, a partir de sus trabajos en guisantes postula que las características genéticas residen en factores hereditarios y establece las leyes esenciales que rigen la transmisión hereditaria de los caracteres de una generación a la siguiente (155, 107). Además de Mendel, el nacimiento de la Genética se debe también a Tomás H. Morgan, a quién se debe el mérito de haber hecho coincidir, a principios del siglo XX, las leyes de la herencia formuladas por Mendel con los datos de la Biología Celular; desde entonces quedó claro que los factores de la herencia de Mendel tenían una existencia totalmente concreta (los genes) y llega así a formular la "Teoría Cromosómica de la Herencia" (1, 107).

Desde luego, el punto clave para la comprensión del funcionamiento de los genes, radica en el conocimiento de su naturaleza y estructura. La primera evidencia de que el ADN, "la nucleína" -descubierta por Frederick Misher en 1869- es el material genético, provino de los experimentos de Avery, McCleod y McCarty realizados en 1944 (2). Estos investigadores repitieron los trabajos de transformación con neumococos efectuados desde 1928 por Frederik Griffith (62). Avery y colaboradores llevaron a cabo su experimento considerando la naturaleza del agente responsable de la transformación de una cepa de *Diplococcus pneumoniae* no virulenta a una virulenta. La bacteria no virulenta es incapaz de sintetizar una cubierta de polisacáridos y, como resultado, sus colonias tienen una apariencia rugosa en cultivo, una enzima es requerida para la síntesis de la cubierta de polisacáridos y ella está ausente en la cepa no virulenta. La evidencia de

que el agente transformante es el ADN, fué indicado por el hecho de que la actividad transformante puede ser suprimida por desoxirribonucleasa, no por ribonucleasa o enzimas proteolíticas (2). El ADN que pasa de una cepa virulenta a una no virulenta, no trae consigo la enzima ausente en la cepa deficiente pero sí la información genética requerida para su síntesis (2, 107). La confirmación del ADN como portador de la información genética, llegó con los experimentos de Martha Chase y Alfred Hershey (en 1952) quienes trabajaron sobre la multiplicidad del fago T2 en E. coli (123). Luego de exponer a las bacterias a un virus marcado radiactivamente, encontraron que el virus actúa como una aguja hipodérmica inyectando su ADN en la bacteria y dejando su capa proteínica fuera de ella. Ya dentro de la bacteria, el ADN viral asume el mando y produce copias exactas de sí mismo; estos experimentos demostraron en forma concluyente que el ADN es la materia básica de la vida (119, 2). Inspirado en los trabajos de Avery, E. Chargaff se avocó a buscar diferencias químicamente demostrables entre los ácidos nucleicos (en 1950) a partir de preparaciones de ADN (153), ello lo conduce al descubrimiento de las equivalencias A=T y G=C conocidas como los cocientes de Chargaff (155,2). Estas equivalencias fueron de gran ayuda para que James D. Watson y Francis H.C. Crick pudieran elaborar en 1953 el modelo de la doble hélice apoyados también en los datos espectroscópicos facilitados por Maurice F. Wilkins y Rosalind Franklin (46).

I.2. El Genoma Humano

El genoma humano completo está codificado por 23 pares de cromosomas, 22 de los cuales son autosomas; esto es, aparecen en ambos sexos. El par número 23, los cromosomas sexuales, está constituido por dos tipos de cromosomas: un cromosoma X grande y un pequeño cromoso-

ma Y. El genotipo femenino es XX, y el masculino es XY; los huevos llevan uno de los dos cromosomas X maternos y el espermatozoide lleva el cromosoma X o Y del padre (23, 24). Un cromosoma de cada uno de los 23 pares proviene de un miembro del par correspondiente en la madre, y el otro deriva de su par correspondiente en el padre, en cada caso el cromosoma heredado es seleccionado al azar de cada par paterno (23) para darnos una constitución cromosómica diploide.

I.3. Composición cromosómica

El elemento básico de cada cromosoma es una larga molécula de ácido desoxiribonucleico (ADN), un polímero fosfato-azúcar-base, este conjunto constituye un nucleótido y los enlaces internucleotídicos son conocidos como enlaces fosfodiéster (25), dos cadenas antiparalelas entrelazadas de azúcar-fosfato constituyen el esqueleto de la molécula del ADN; ligadas a cada unidad azúcar-fosfato para formar un nucleótido se encuentran las bases púricas y pirimidicas (63). Las purinas, adenina (A) y guanina (G) son estructuras de doble anillo, y las pirimidinas, timina (T) y citosina (C), son estructuras de anillo sencillo; cada base se halla unida a la otra de la cadena opuesta mediante dos o tres enlaces de hidrógeno (45). Dada la estructura de las bases, así como también su tamaño, su distribución exige que una adenina de una cadena aparezca con una timina de la otra y que la guanina aparezca con citosina. Así pues, la molécula de ADN está construida como una escalera de caracol, los azúcares y los fosfatos forman los barandales de la escalera y los pares de bases semejan los peldaños (ver figura 1)(25, 46). El azúcar, el cual tiene cinco carbonos es llamado desoxiribosa.

Asociadas con los ácidos nucleicos en la matriz cromosomal, o cromatina, hay varias proteínas básicas (histonas) y muchas otras proteínas de carácter ácido y neutras (2, 133).

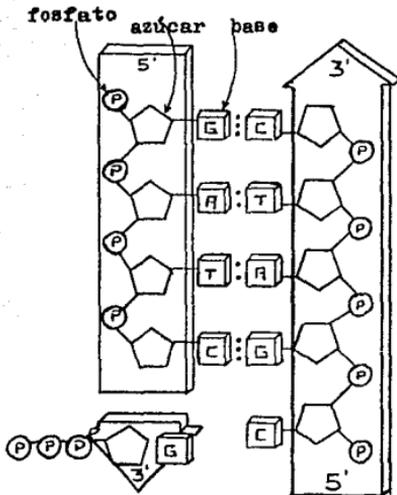


Figura 1. Estructura del ADN. El esqueleto de cada cadena está compuesto de azúcares y fosfatos alternantes. Direccionalmente es definida por la vía de que cada azúcar está unida a un fosfato por un enlace 5', y a otro fosfato por un enlace 3'. Cada azúcar está también unido a una base la cual está apareada con su base complementaria de la otra cadena. En la polimerización, una guanina unida a un azúcar fosfato se añadirá al extremo 3' y dos grupos fosfato serán removidos (120).

El núcleo de una célula humana contiene dentro de sus 23 pares de cromosomas bastante ADN, que se estima tener una longitud de 3-5 billones de bases, que codifican para más de un millón de proteínas; y sólo una pequeña proporción, quizá de tres a cinco por ciento del total de ADN, es del tipo codificador de proteínas; sin embargo, una gran parte del ADN de los organismos superiores es del tipo inoperante, es decir, no determina ninguna proteína (77, 89), su función actualmente no es clara, pero se presume que está involucrado en la expresión génica durante el desarrollo, diferenciación y otros procesos que varían durante la vida del individuo. En el ADN humano, la denominada secuencia Alu, la cual consiste de casi 300 bases y se repite 300,000 veces en el genoma humano (77, 90).

El ADN nuclear está involucrado en dos procesos vitales: la replicación y la expresión génica.

I.4. Replicación del ADN y Expresión génica

El requisito primordial de todo material hereditario, es el que sea capaz de reproducirse. Por complicada que sea la arquitectura y por muy elaborado que sea el mensaje del ADN, no habría vida sobre la tierra si esta extraordinaria sustancia no tuviera la excepcional propiedad, única entre los compuestos químicos de reproducirse (119). Antes de la división celular, el ADN se replica. Primero, la molécula se desenrolla y las bases de una cadena se separan de la otra, las nuevas cadenas hijas son entonces formadas acorde a la ley de complementariedad de las bases: adenina aparea con timina y guanina con citosina (ver figura 2)(45, 46). Entonces, en un proceso catalizado por la ADN polimerasa, cada una de las cadenas dirige la síntesis de su cadena complementaria, y el resultado es una réplica exacta de las dos cadenas originales (89).

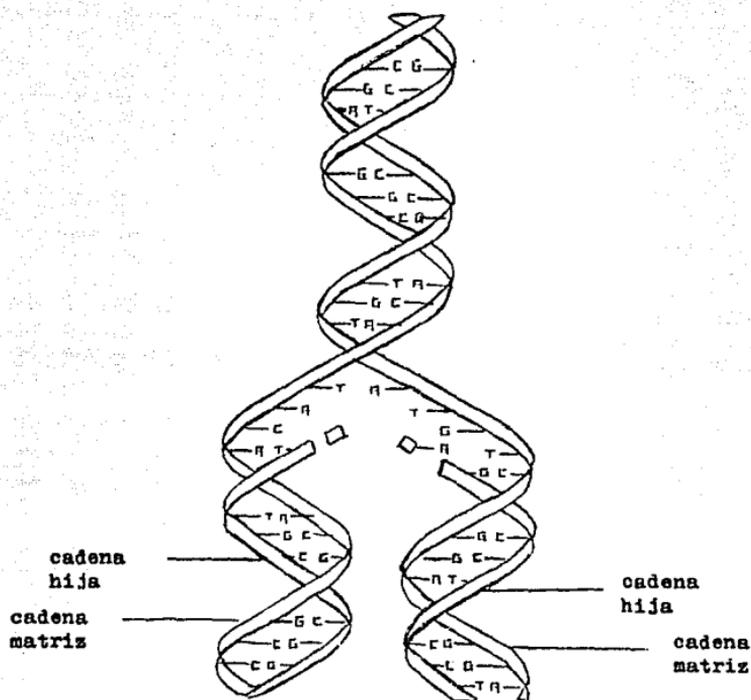


Figura 2. Replicación del ADN. En la replicación las dos cadenas de ADN parental se separan, y entonces la ADN polimerasa sintetiza - cadenas hijas tomando como molde las cadenas parentales (134)

La vida es algo más que una creación. Una vez que ha nacido un organismo, tiene que continuar viviendo, esto se consigue gracias a una formidable conjunción de compuestos muy versátiles denominados proteínas. Aunque hay millares de estas, todas tienen una cosa en común: se fabrican de acuerdo a las precisas instrucciones dictadas por el ADN (119).

La expresión génica comienza con la transcripción del ADN a ácido ribonucleico. El patrón de replicación del ADN, en el cual purinas especifican pirimidinas y pirimidinas especifican purinas, también prevalece en la transcripción (52), sólo una pequeña diferencia es notada; la timina no aparece en el ARN; en su lugar es insertada uracilo (U) como complemento de adenina, y el azúcar que forma parte del ARN es ribosa. El ARN es sintetizado en la dirección 5' a 3' (procediendo del extremo 5'-hidroxilo de una desoxiribosa a el extremo 3' de otra) en un proceso catalizado por la ARN polimerasa (25, 52).

La cadena transcrita de ARN puede contener secuencias intermedias, o intrones, que no son traducidos a proteínas, antes de que el ARN salga del núcleo, esos intrones son eliminados y las secuencias codificadoras o exones se ligan para formar el ARN mensajero (63). El ARNm puede contener también secuencias específicas que preceden (a el extremo 5') o siguen (a el extremo 3') a la parte de la molécula que es traducida a proteína, los componentes situados por arriba del extremo 5' intervienen en la iniciación de la traducción, y los situados por abajo del extremo 3' no están bien caracterizados, excepto por el hecho de que contienen un codón que finaliza la traducción (52, 45, 25). Frecuentemente una cadena de adeninas (poli-A) es añadida al extremo 3' del ARNm y aparentemente incrementa su estabilidad. Excepto para aquellos tripletes de ARNm que indican el comienzo o fin de la traducción, cada juego de tres bases en el ARNm, denomi-

nado codón, codifica para un aminoácido específico. Durante la traducción estos aminoácidos codificados por el ARNm están comunicados a un sitio de ensamble de otra clase de ARN, el ARN de transferencia los cuales dirigen a los aminoácidos a el ribosoma, lugar de la síntesis proteica (63, 120).

La especificidad del triplete original en el ADN es conservado a través de la transcripción y traducción. Esta especificidad es primero transferida al ARNm, y durante la traducción el codón de ARNm guía a un ARNt específico hacia el ribosoma y así se dirige la inserción de un aminoácido específico dentro de la cadena proteica en crecimiento (ver figura 3)(89, 120). Arregladas en forma de tripletes, las cuatro bases en el ARNm pueden teóricamente codificar para 64 diferentes aminoácidos, pero debido a que sólo 20 aminoácidos son incorporados a las proteínas, hay un potencial de redundancia y la posibilidad de que dos o más diferentes tripletes puedan dirigir la inserción de un aminoácido; por ejemplo, AAA y AAG codifican para lisina (120, 45). Algunos tripletes indican el comienzo (AUG) y fin de la transcripción (UGA).

Las investigaciones, principalmente a partir de bacterias sugieren que los genes estructurales que son transcritos a ARNm están bajo control de un gen operador y un gen regulador que pueden producir un factor represor. Un gen operador puede controlar la expresión de un número de diferentes genes estructurales, o cistrones; a tales grupos de genes se les llama un operon (120, 134). En organismos superiores, la iniciación de la transcripción parece estar regulada por dos mecanismos: secuencias promotoras localizadas unas 100 bases por arriba del sitio de iniciación; y un sitio rico en secuencias timina-adenina, denominada caja TATA (90, 52) que enlaza a la ARN polimerasa.

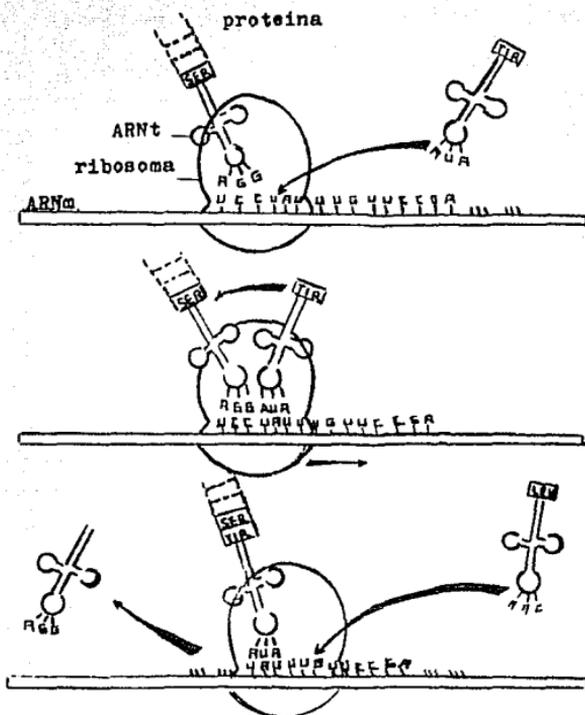


Figura 3. En la traducción cada codón sobre la cadena de ARNm codifica para un aminoácido. Cada molécula de ARNt enlaza solo a el aminoácido correspondiente a un codon particular. Un ARNt reconoce un codón en el ARNm por medio de su anticodón. Un ARNt entrante portando tirosina se enlaza al codon expuesto sobre el ribosoma y forma un enlace con serina, el ultimo aminoácido sobre la proteína. El ribosoma avanza un codón exponiendo el sitio de enlace al siguiente ARNt y el ARNt de serina es eliminado (40).

II. DEFINICION Y CLASIFICACION DEL FENOMENO MUTACION

Una de las características que debe reunir cualquier sustancia para considerarla como el material genético de la célula viva, es la capacidad para replicarse conservando la información específica que contiene. Sin embargo, los organismos son susceptibles de sufrir cambios que se hacen permanentes y hereditarios en la célula, en respuesta a alteraciones del medio ambiente (78). En efecto, el ADN está sujeto a alteraciones en la química y secuencia de nucleótidos. Muchos de estos cambios surgen como consecuencia de errores introducidos durante las funciones propias del ADN, tales como la replicación y reparación. Estas alteraciones inducidos principalmente por agentes del ambiente se dan como consecuencia de cambios en el apareamiento normal de las bases, lo cual altera la información que porta el ADN; y se provoca la aparición de una mutación (135, 136).

Nuestros genes están expuestos a cambios y estos generalmente tienen lugar para empeorar. De padres normales, en ocasiones surge un niño anormal, esta anomalía puede ser relativamente pequeña o puede ser grave como en el caso de una deficiencia mental. Excepcionalmente, estos defectos se deben a un accidente sufrido por la madre preñada; pero muy frecuentemente reconocen como origen a un gen alterado, estas alteraciones de los genes se han denominado mutaciones (119), cuando no se deben únicamente a fenómenos de segregación o re combinación (124).

Es pues, un cambio en una característica de un organismo que se presenta súbita y espontáneamente y se transmite a la descendencia (64). Fué Hugo de Vries en 1886 quién introduce el término mutación, al observar que la formación de nuevas especies eran debidas a cambios discontinuos (107, 166, 47, 3) causados por simples modificaciones individuales y por variaciones más profundas dotadas de gran tenden-

cia a heredarse (107). Sin embargo, se consideran las mutaciones como cambios bruscos de caracteres estables de las estructuras hereditarias (167), en ellas sólo está involucrado una parte de la secuencia de bases del ADN de un gen (89) resultando un alelo mutante (4). Este alelo resulta de un pequeño cambio en la estructura química de los segmentos de ADN que corresponden a un gen particular (36) o factor de herencia (79).

Aunque se sabe que el gen es usualmente estable, puede sufrir estos cambios (48) que son el resultado de errores que tienen lugar durante la replicación (89), que implican apareamiento anormal de las bases cuando estas se encuentran en una forma tautomérica rara (53), lo cual da lugar a un error de lectura del código genético, y de esta manera el ADN hijo no será idéntico al ADN molde original.

Como consecuencia de esto, es posible establecer que se han producido alteraciones a nivel estructural del gen y en casos más drásticos afecta a varios genes (24). Si la alteración es considerable el organismo muere, pero si no es importante el daño, no morirá, aún cuando muy posiblemente algunas de sus funciones estén alteradas (54). Estos cambios, por el periodo en que ocurren y por la célula en que se manifiestan son transmitidos a la descendencia (14,80).

Así pues, la mutación ocurre generalmente en la replicación, evento en el cual la información genética es transmitida a la descendencia, por tanto, un mensaje genético que ha sufrido este fenómeno dará lugar frecuentemente a proteínas distintas a las especificadas por el gen original (91). Estos cambios moleculares se originan al azar y pueden ser útiles e inútiles e inclusive letales (168), registrándose así un cambio génico que en algunas ocasiones es posible identificar con respecto a individuos normales (5). La mayoría de las mutaciones tienen un efecto neutral, por lo que su identificación re --

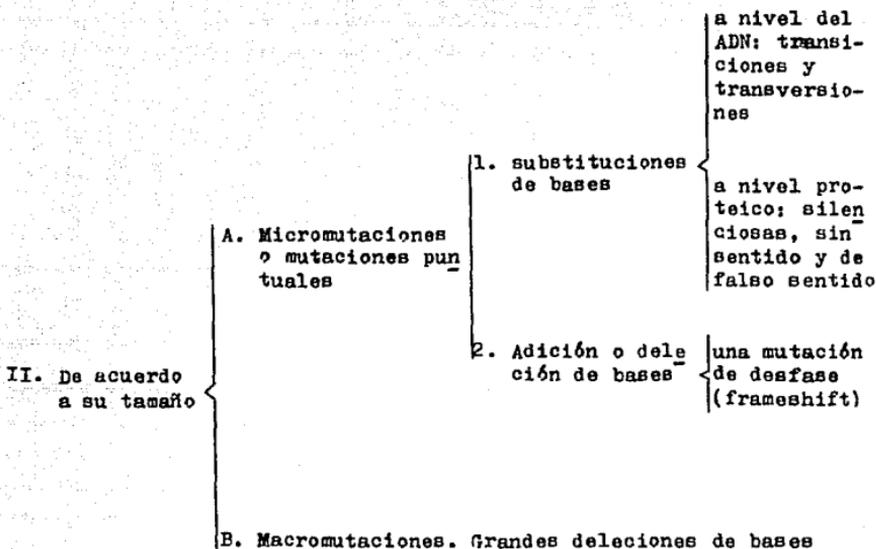
quiere de técnicas especiales, y tienen lugar en todos los seres vivos y se producen en todos los sentidos (a favor y en contra) apoyando la evolución y la selección natural (111).

Las mutaciones constituyen entonces la materia principal de la naturaleza para llevar a cabo la evolución y son también elementos principales del genetista para el estudio de los genes (111), por lo tanto, la mutación es un evento que da lugar a una alteración heredable del genotipo que se manifiesta a diferentes efectos sobre el fenotipo (5, 111), esto es, en los caracteres del organismo.

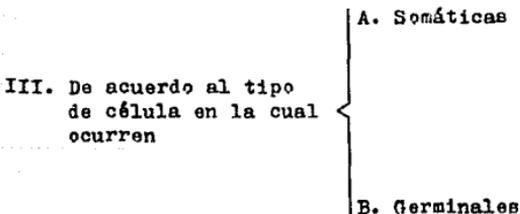
Clasificación de las mutaciones.

- | | | |
|---|---|---------------------------------------|
| I. De acuerdo al tipo de material genético en que ocurren | } | A. Mutaciones en ADN cromosómico |
| | | B. Mutaciones en ADN extracromosómico |

(referencias 6,7,37,49,137,156)



(referencias 6,37,65,92,138,156,157)



(referencias 8,26,54,138)

IV. De acuerdo a su dirección

A. Irreversibles

B. Reversibles

1. Reversiones exactas

2. Reversiones equivalentes

3. Supresor de mutaciones

(referencias 6,8,41,54,66,137,138,156,15)

V. De acuerdo a su origen

A. Espontáneas

B. Inducidas

C. Control genético
(por genes mutadores)

(referencias 9,10,37,49,65,67,139,140)

- VI. De acuerdo al modo de herencia
- A. Dominantes
 - B. Recesivas
 - C. Ligadas al cromosoma sexual X

(referencias 4,138,139,141,156)

- VII. De acuerdo a su efecto sobre la viabilidad
- A. Subletales
 - B. Letales

(referencias 37,49,138)

Nota: es importante indicar respecto a esta clasificación de mutaciones, que estas se sobreponen debido a que una mutación puntual puede ser recesiva, y al mismo tiempo letal y de aparición espontánea ó inducida.

III. MUTAGENESIS

La palabra mutagénesis, como lo indica el término significa el origen de la mutación y cuyo hecho esencial es la modificación química que sufre el ADN por la interacción con diversos agentes físicos y químicos presentes en nuestro entorno (142).

La principal fuente mutacional ocurre durante el metabolismo normal del ADN, debido a la presencia de bases que han sufrido modificación por factores intrínsecos de nuestro organismo; o por errores en la incorporación de nucleótidos por parte de nuestra maquinaria de replicación (55, 56).

Algunos químicos como el bisulfito de sodio, ácido nitroso, metoxilamina reaccionan con las bases del ADN provocando apareamientos no específicos entre las bases trayendo como consecuencia sustituciones de bases cuando el ADN se replica (143, 144, 81). Así mismo, entre los agentes físicos, las radiaciones son también muy susceptibles de dañar al ADN; sobre todo aquellas de alta energía que son capaces de interactuar directa o indirectamente (160) con el material genético.

III.1. Mutagénesis espontánea

III.1.a. Formas tautoméricas de las bases

Cada una de las bases normales del ADN pueden sufrir espontáneamente un rearrreglo, denominado cambio tautomérico a una forma estructural isómera que provoca alteraciones en las propiedades normales de apareamiento de las bases (ver figura 4)(170). Normalmente la adenina y citosina están en la amina (NH_2) y ocasionalmente pasan a la forma tautomérica imino (NH), similarmente la guanina y timina pasan de la forma ceto ($\text{C}=\text{O}$) a la configuración rara enol ($\text{C}-\text{OH}$) (49). Así pues, durante la replicación la forma rara de la adenina aparece con

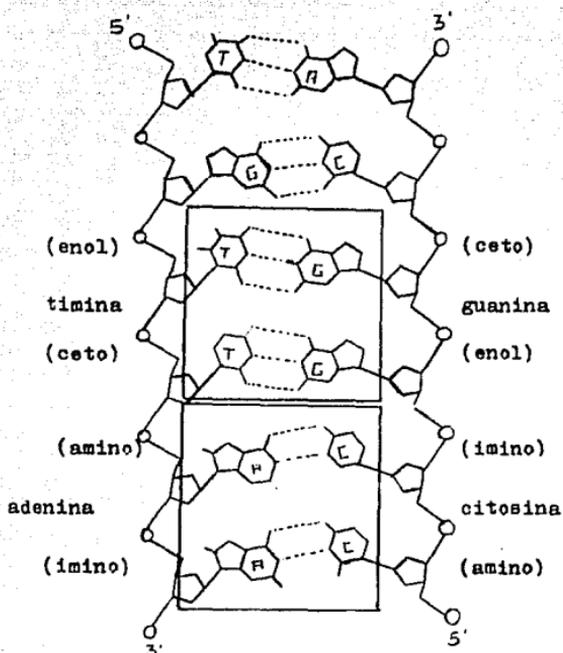


Figura 4. Las anomalías en el apareamiento de las bases involucra la aparición de formas - tautoméricas. Cuando la timina ó guanina están en su forma rara (enol), ellas pueden aparearse entre sí, similarmente, cuando adenina y citosina están en la forma rara imino, pueden aparearse entre sí (43)

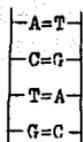
citosa, de igual manera un tautómero raro de guanina puede aparearse con timina lo cual da lugar a mutaciones de transición (ver figura 5)(126).

III.1.b. Desaminación de las bases

Tres de las cuatro bases normalmente presentes en el ADN (citosa, adenina y guanina) contienen grupos amino fuera de su ciclo, y la pérdida de ellos ocurren espontáneamente debido a reacciones dependientes de pH y temperatura (135,94); el resultado es la conversión de las bases a uracilo, hipoxantina y xantina respectivamente; en este estado, la hipoxantina actúa como una guanina y aparece con citosa, el uracilo actúa como timina y aparece con adenina; esto causa un gran número de transiciones de G=C a A=T al ocurrir la replicación del ADN (ver figura 6)(126,38). El mecanismo químico involucrado en la conversión a estas formas proviene del ataque directo a los grupos amino exocíclicos por iones hidroxilo (135) ocurriendo su reemplazo por grupos ceto.

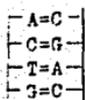
III.1.c. Pérdidas de bases

Las pérdidas de bases del ADN son una de las más importantes causas de mutación; ello resulta entre otros factores por efecto del pH dándose así la aparición de los llamados sitiosapurínicos/apirimídínicos provocados por el desdoblamiento de los enlaces N-glicosilo que conectan a las bases con el azúcar (95,96). Esta reacción es referida como una depuración ó depirimidinación, y la alteración en el ADN se conoce como un sitio AP (108,82). La depuración es probablemente la mutación espontánea más frecuente bajo condiciones fisiológicas, a pH de 7 su incidencia es aproximadamente de 100 a 500 veces más grande que la depirimidinación.



error de apareamiento en el:

primer par



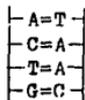
A=T → G=C

C=G C=G

T=A T=A

G=C G=C

segundo par



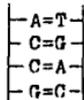
A=T A=T

C=G → T=A

T=A T=A

G=C G=C

tercer par



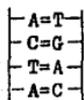
A=T A=T

C=G C=G

C=G ← T=A

G=C G=C

cuarto par



A=T A=T

C=G C=G

T=A T=A

A=T ← G=C

Figura 5. Formación de pares anormales al tiempo de la replicación debido a la aparición de estados tautoméricos de las bases. Las flechas indican las transiciones ocurridas (126).

En células de mamíferos se ha calculado que ocurren casi 10 000 depuraciones por célula en un día (97, 98). Estos sitios AP pueden resultar de la hidrólisis espontánea o remoción enzimática de las bases alteradas por ADN-glicosilasas: esto sugiere que estas enzimas forman parte del sistema de defensa contra posibles daños al ADN (145, 158), y de hecho juegan un papel central en los procesos de reparación del ADN (158).

La mutación ocurre debido a la incorporación errónea de nucleótidos frente a sitios AP por parte de la ADN-polimerasa (83, 146) la cual puede insertar cualquiera de las cuatro bases posibles en estos sitios dándose con ello la aparición de transiciones y transversiones (96) durante la replicación del ADN (ver figura 7).

III.2. Mutagénesis química

III.2.a. Agentes alquilantes

Los efectos mutagénicos de los agentes alquilantes radican esencialmente en su gran reactividad con las bases nucleicas formando enlaces covalentes y añadiendo grupos alquilo a sus anillos para así formar aductos en el ADN (42): esto hace muy lábil sus enlaces N-glicosilo, por lo cual puede ocurrir su eliminación por glicosilasas y creación de sitios AP (156, 98), originándose mutaciones por la inserción de nucleótidos al azar por parte de la ADN-polimerasa frente a estos sitios; como se ha verificado en el gen Lac-I de E. coli en el que aparecen transversiones G=C → T=A (43, 50) inducidas por estos agentes mutagénicos.

Su gran reactividad se debe a su carácter electrófilo con gran afinidad por centros nucleofílicos de las bases nucleicas (ver figura 8); debido a ello estos agentes pueden reaccionar con dos diferentes centros nucleofílicos en el ADN dando lugar a la formación de enlaces -

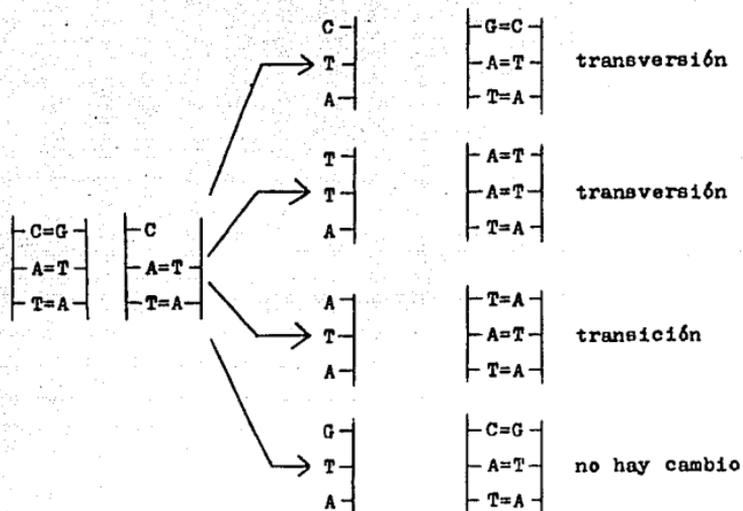


Figura 7. La pérdida espontánea ó inducidas por agentes químicos de las bases en el ADN provoca la aparición de mutaciones de transición y transversión (126).

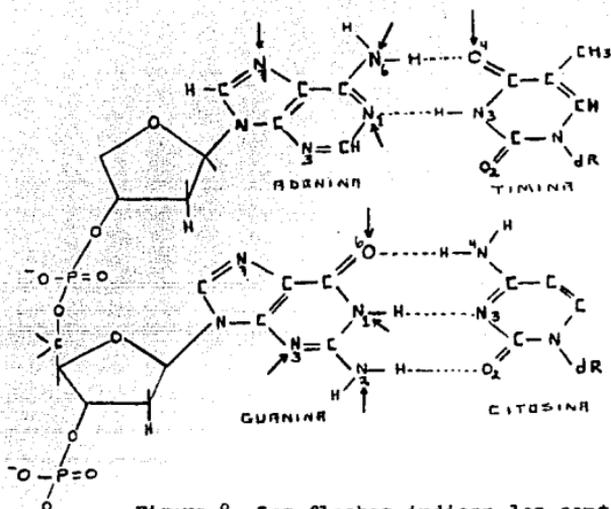


Figura 8. Las flechas indican los centros nucleofílicos en el ADN que son más reactivos a agentes alquilantes (132).

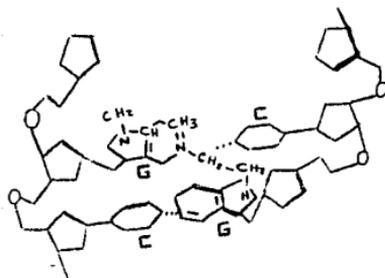


Figura 9. Representación esquemática de enlaces cruzados que pueden ocurrir en el ADN por interacción de agentes alquilantes (27).

entre nucleótidos de una misma cadena si estos centros nucleofílicos están situados sobre la misma cadena de un ADN dúplex; o pueden ser formados enlaces intercadenas si los dos centros están sobre cadenas opuestas (ver figura 9)(136); esto es de graves consecuencias para la célula, ya que bloquean el avance de la replicación (ver figura 9) (27) y causar la muerte celular.

III.2.b. Metabolización de agentes químicos a formas reactivas

Algunos agentes químicos pueden sufrir activación metabólica a formas reactivas, las cuales, como los agentes alquilantes interaccionan con centros nucleofílicos en el ADN (109). Se sabe que la activación metabólica es realizada por sistemas enzimáticos en las células afectadas, estos sistemas enzimáticos en condiciones normales protegen a la célula contra efectos citotóxicos por conversión de estos agentes a formas inocuas excretables (ver figura 10)(112). Muchos de ellos como el N-2-Acetil-2-Aminofluoreno (AAF), un carcinógeno es activado a formas electrofílicas particularmente reactivas con los centros C^8 , y N^2 de residuos de guanina para formar enlaces covalentes entre las cadenas de ADN (99); así mismo, el benzo(a)pireno, otro carcinógeno, puede sufrir activación metabólica a epóxidos muy reactivos con grupos amino de la guanina, que se une covalentemente al epóxido de benzo(a)pireno por intermedio de su carbono número 10 (ver figura 11)(100, 147); en la formación de estos enlaces covalentes radica su potente acción carcinógena.

VII.2.c. Análogos de bases

Los análogos de bases son compuestos químicos tan parecidos a las bases nucleicas del ADN, que debido a ello son incorporadas en él, sin embargo, sus propiedades de apareamiento son diferentes del de las bases normales y por tanto dan lugar a mutaciones por

carcinógenos químicos y
otros contaminantes
ambientales

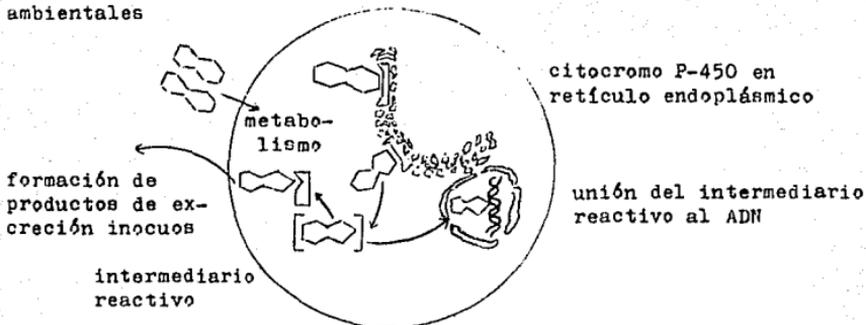


Figura 10. Esquema que representa la activación metabólica de agentes químicos policíclicos por por la cadena de citocromo P-450 en una célula de mamífero para formar intermediarios reactivos que se unen a centros nucleofílicos en el -ADN (112)

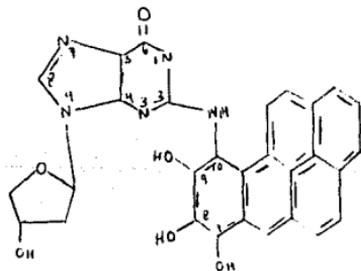


Figura 11. Interacción covalente del epóxido de benzo(a)pireno con el grupo amino exocíclico de la desoxiguanosina (147)

incorporación errónea de nucleótidos (156). Entre los más estudiados están el 5-bromouracilo, 5-fluoruracilo y 5-iodouracilo que son análogos de timina, además existe la 2-aminopurina que es un análogo de adenina también mutagénico (148,156). Un importante factor que aumenta la actividad mutagénica del 5-bromouracilo se debe a que posteriormente sufre de formas tautoméricas con más frecuencia que timina lo que hace que su existencia sea mayor y también mayor la frecuencia de mutaciones de transición causadas (ver figura 12)(126).

La 2-aminopurina no tautomeriza fácilmente, pero su efecto mutagénico radica en el apareamiento con timina y citosina, es decir, los puede reemplazar durante la replicación y producir transiciones de A=T a G=C (ver figura 13)(148,127)

III.2.c. Agentes químicos intercalantes

Este tipo de mutágenos, entre los que se encuentran el anaranjado de acridina, proflavina, acriflavina y psoraleno entre otros, ejercen su efecto mediante un proceso de intercalación entre las bases del ADN formando un enlace químico con una base de un filamento y otro enlace con la base del otro filamento esto causa un alargamiento de la doble hélice y al momento de la replicación puede sucederse la adición ó eliminación de nucleótidos en estos lugares (ver figura 14) lo cual puede desfazar completamente la lectura del ARNm en la traducción a proteínas (126,101).

Este tipo de lesiones son muy tóxicas para la célula, ya que los dos filamentos están dañados al mismo nivel y por tanto los sistemas de reparación carecen de ADN intacto frente a la lesión (101) que pueda servir como matriz para la reparación.



Figura 14. Ciertas moléculas, como el anaranjado de acridina suelen intercalarse entre las bases y establecer enlaces covalentes entre ellas. Al ocurrir la intercalación se produce un alargamiento de la doble hélice, y puede suceder la inserción de un nucleótido dentro de la cadena en desarrollo (149).

III.3. Daño al ADN por radiación

III.3.a. Radiaciones ionizantes

La radiación ionizante constituye otra fuente muy importante de daño al ADN, y que tiene severas consecuencias para su funcionamiento. Sus peligrosos efectos radican en la formación de moléculas excitadas y especies ionizadas; las cuales interaccionan fácilmente con el ADN causándole fragmentaciones (44). La interacción con nuestro material genético puede ocurrir mediante el denominado "efecto directo", es decir, la interacción directa de la energía de radiación con el ADN, y los "efectos indirectos" resultan de la interacción de moléculas reactivas formadas por la radiación con el ADN (169).

Por tanto, al saber que en nuestras células el ADN coexiste en un ambiente que contiene numerosas especies moleculares como iones orgánicos y agua, así como también especies potencialmente reactivas como son los radicales iónicos y radicales libres, es lógico suponer que está muy expuesta al daño por la mayoría de las radiaciones ionizantes (122,169). Debido al gran contenido de agua en los sistemas biológicos, la mayor fuente de daño proviene del peróxido de hidrógeno, radicales hidroxilo formados por la interacción de la radiación con el agua; principalmente a través de radicales hidroxilo, los cuales inducen destrucción de las bases del ADN (169,28).

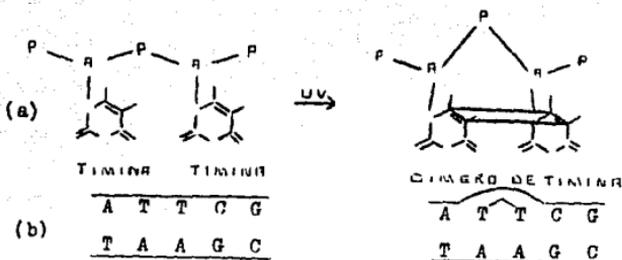
Aunque la destrucción de anillos nucleotídicos y de desoxiribosa es importante, la más trascendente consecuencia biológica de la radiación ionizante sobre el ADN, es la producción de roturas en sus cadenas por desdoblamiento de enlaces fosfodiéster, estas roturas en las cadenas de ADN se ven incrementadas por la presencia de oxígeno; esto es, esos sitios de rotura se tornan más lábiles bajo condiciones de radiación en presencia de oxígeno (162,169).

Este fenómeno sucede por el llamado "efecto del oxígeno" sobre las radiaciones ionizantes y sobre el cual se puede observar que las células son más sensibles a la radiación, cuando son irradiadas en presencia de oxígeno lo cual incide en la gran formación de peróxidos que reaccionan fácilmente con el ADN causándole dichas fragmentaciones (122,162). Así pues, el ADN puede ser dañado por efectos directos e indirectos de la radiación ionizante; considerándose de mayor importancia el efecto indirecto a través de radicales hidroxilo por hidrólisis de enlaces fosfodiéster, destrucción de anillos nucleotídicos y de azúcares (44) que finalmente causan mutación e inactivación del material genético.

III.3.b. Radiación ultravioleta

Cuando el ADN es expuesto a radiaciones ultravioleta, cuyas longitudes de onda están cercanas a su absorción máxima (260 nm), pirimidinas adyacentes se unen covalentemente y dan lugar a la formación de dímeros de pirimidinas (149). La radiación ultravioleta induce varios tipos de daños en el ADN celular; pero el más conocido y estudiado por sus importantes efectos sobre la replicación, son los dímeros de pirimidinas; que se sabe están influenciados por la composición nucleotídica, por ejemplo, la irradiación del ADN con alto contenido de pares de bases A=T resulta en la formación de grandes cantidades de dímeros de timina (69). Entre otros tipos de daños al ADN por radiación ultravioleta, está la adición de moléculas de agua para dar lugar a pirimidinas hidratadas; uno más es la unión del carbono número 6 de una timina y el carbono número 4 de otra; sin embargo, sus más graves efectos biológicos son la formación de los dímeros que se producen al chocar un fotón de la radiación con el ADN, lo cual provoca la unión covalente entre dos pirimidinas adyacentes

situadas sobre una misma cadena; ello rompe los enlaces de hidrógeno que las unen con las bases de la cadena opuesta debido a la distorsión local en el ADN por la presencia de estas lesiones (84,171). Esta ausencia de apareamiento explica en gran parte las consecuencias biológicas de tales lesiones; que se ven reflejadas a nivel de la síntesis del ADN, la cual puede llegar a interrumpirse por la presencia de estas lesiones.



La figura representa la formación de un dímero de pirimidina por radiación UV. (a) dímero de timina formado através de un enlace carbono-carbono. (b) la dimerización causa una distorsión en la región alterada del ADN dúplex, a el lugar donde se sitúa el dímero (169).

IV. LAS MUTACIONES Y LA EXPRESION GENICA

IV.1. Enfermedades genéticas

Las enfermedades causadas por una variación en el material genético son denominadas enfermedades genéticas, esto es, son debidas a la presencia de uno o varios genes anormales o defectuosos en el patrimonio genético de un individuo (150). Estos defectos genéticos pueden tener expresión a nivel metabólico, como en la fenilcetonuria (150) en la cual la fenilalanina aportado por los alimentos no es metabolizado por las células y se acumula en los tejidos provocando un retraso en el desarrollo nervioso y mental.

Por otro lado, la expresión génica puede tener lugar en moléculas proteicas de la sangre; como en la anemia falciforme, estado patológico en el cual, la cadena β de la hemoglobina sufre la sustitución de un aminoácido por otro (29). Esta minúscula anomalía causa que la hemoglobina pierda una carga eléctrica y que las células rojas de la sangre asuman, en estados de ausencia de oxígeno una forma aberrante falciforme con deficiencias en el transporte de oxígeno.

Fue precisamente a partir de este estudio de la anemia falciforme, que se proporcionó la primera evidencia molecular correspondiente a una enfermedad humana: una condición hereditaria causada por un péptido anormal; un cambio aminoacídico sencillo en la cadena β de la hemoglobina, proveniente a su vez de una mutación puntual a nivel del ADN (115,30). Las mutaciones, pueden surgir en varios sitios del ADN; el más simple de ellos es la sustitución de una pirimidina ó purina por otra en el ADN. En la anemia falciforme, el clásico ejemplo de una enfermedad causada por una mutación puntual, una valina es insertada en lugar de ácido glutámico (29). Los tripletes en el ARN que codifican para glutámico son GAA ó GAG, mientras que para valina

son GUA, GUC, GUG, y GUU; entonces, la alteración que causa la anemia puede involucrar un cambio de adenina a uracilo en la segunda base en el codón de ARNm y un cambio de timina a adenina en el ADN original (29,115,30,85).

Generalmente hablando, los errores innatos del metabolismo surgen como consecuencia de mutaciones puntuales; las hemoglobinopatías por ejemplo, ocurren por la presencia de estas anomalías en el material genético. Las anomalías incluyen la presencia de secuencias en el ADN que especifican la prematura terminación de la traducción (mutación sin sentido), inserciones y deleciones de bases que provocan un cambio en la pauta de lectura del ARNm (mutación "frameshift") y grandes deleciones de secuencias (159,39). Dentro de las hemoglobinopatías existen las llamadas β -talasemias, término que se refiere a un grupo heterogéneo de condiciones caracterizadas por deficiencias en la producción de globina β en células rojas, debido a mutaciones que afectan el gen β -globínico; que pueden ocasionar la ausencia completa de esta globina (β^0 -talasemia); o su presencia pero en cantidades ínfimas (β^+ -talasemia) (172).

Así pues, estas mutaciones identificadas mediante clonación molecular, secuenciación del ADN y análisis funcional de los genes mutantes afectados, afectan aspectos generales de la función génica: transcripción, procesamiento del ARN y su traducción (159,102).

En algunos casos de β^+ -talasemia se han encontrado mutaciones por sustitución de bases que afectan estos genes, específicamente se suceden dentro de elementos promotores; es decir, secuencias encargadas de la regulación transcripcional. Las posiciones implicadas son la número 87 y 88 lo cual afecta la secuencia distal

Pu-C-Pu-C-C-C que provoca que la expresión del gen β -globínico se vea reducida hasta un 20-30% en relación al normal (116).

La caja -TATA- otro elemento regulador también se ve afectado por mutaciones de este tipo en genes β -talasémicos. Los cambios de bases en las posiciones 28 y 29 observadas en pacientes chinos y negros generan una gran disminución en la expresión del gen mutante, cerca de un 20 % menos de ARN- β en relación al generado por el gen normal (11, 117).

Algunas sustituciones de bases en β -talasemias dan lugar a codones del mismo sentido (mutación silenciosa) e implican un cambio a nivel del codón 24 de GGA---GGT (ambos codifican para glicina) pero ello basta para producir un decremento en su ARNm y que induce el fenotipo β -talasémico (57). Estas mutaciones en genes regulatorios ilustran la importancia de estos elementos en los procesos transcripcionales que provocan una disminución considerable en la expresión de los genes estructurales (14). Otros genes β -talasémicos contienen mutaciones sin sentido ó mutaciones "frameshift" que llevan a una prematura terminación del péptido en síntesis; en estos casos ninguna globina es producida (fenotipo β^0 -talasemia)(16). En un paciente de este tipo, dos sustituciones de base TGG---TAG ó TGG---TGA dentro del gen, producen en el ARNm un codón sin sentido (UAG ó UGA) que lleva a la eliminación total del gen β -globínico (16), y en otros casos la aparición de la β^0 -talasemia es debida a deleciones de bases a nivel del codón 44, que provoca la aparición de un codón de paro UGA a la altura del codón 60 que especifica el fin de la transcripción del gen β -globínico (86,151). De igual manera, un cambio de G---A en el codón 15 del gen β -globínico en un paciente hindú provoca la aparición de un codón sin sentido, asociado con reducidos niveles de ARNm y nula síntesis de globina (87). A nivel de organismos inferiores (D. melanogaster) se han verificado también este tipo de mutaciones, específicamente en el gen alcohol deshidrogenasa; el gen -

mutante codifica para una forma defectiva de la enzima debido a una mutación en el codón TGG para triptófano a un codón de termina-cadena que es responsable del acortamiento en el tamaño de la enzima mutante (110). Las talasemias surgen también como consecuencia de inserciones y deleciones de bases que dan lugar a las llamadas mutaciones de desfase (frameshift)(121). En una de ellas es posible detectar una deleción de cuatro nucleótidos a nivel de los codones 41 y 42 del gen β -globínico -4(TCTT) (51), y otra consiste de una inserción de guanina a la altura del codón 8 +1(G) ambas encontradas en pacientes β^0 -talasémicos (87), estas mutaciones alteran la pauta de lectura del mensaje genético; ya que alteran el orden de las bases del gen y desplazan el punto de partida de la transcripción, como resultado cada aminoácido codificado a partir del punto de inserción (+) o deleción (-) a el final del gen se leen desfasados; y en estos casos hay una pérdida completa de la globina (87,51).

La metahemoglobinemia Iwate es también una hemoglobinopatía que causa en quienes la padecen una cianosis crónica, el defecto es causado por una transición de citosina a timina en la primera posición del codón 87 del gen globínico, esto da lugar a una mutación de falso sentido a nivel proteico: histidina es sustituida por tirosina en la cadena polipeptídica (70). Por otro lado, existen hemoglobinopatías como la HbS-Kenya en la que la condición mutante es debida a grandes deleciones secuenciales (macromutaciones) de casi 22 Kb en en el ADN del cromosoma Kenya (118) que causa la deleción del gen globínico. La hemofilia B, una condición hemorrágica causada por defectos en el factor IX necesario para la coagulación sanguínea, es un ejemplo de mutaciones ligadas al cromosoma sexual X; es decir, es un rasgo ligado al sexo (71). En algunos casos de hemofilia B, se ha encontrado que el defecto es causado por grandes deleciones de bases

de casi 33 Kb en el locus del factor IX (72) que da lugar a una delección casi total del gen. Sin embargo, una mutación puntual es también causa de hemofilia B, en este caso se ha encontrado que en el gen mutante hay solamente una diferencia con respecto al gen normal del factor IX; y que consiste en una mutación de -G-T- a -T-T- que está implicada en la disfunción del factor IX (128).

Otra enfermedad íntimamente ligada a mutaciones en el cromosoma X, es la distrofia muscular de Duchenne (DMD), caracterizada por una degeneración muscular progresiva, mortal hacia los 20 años (17), aunque no se ha logrado identificar la mutación origen de esta enfermedad, los estudios realizados han localizado al gen en una región del cromosoma X a partir de pacientes con la enfermedad que presentan translocaciones autosomal X, que involucran en cada caso la banda -Xp21, lo que sugiere que el gen responsable de la enfermedad está dentro de dicha banda (152). La enfermedad de Lesch-Nyhan, otra enfermedad transmitida como un rasgo ligado al sexo; se manifiesta en forma de un desarrollo cerebral retardado y problemas nerviosos que se traducen en comportamientos progresivos de autoutilación causados por una deficiencia en la enzima hipoxantina-guanina-fosforibosil transferasa (HPRF) en las células nerviosas; esta deficiencia enzimática es debido a mutaciones en el gen que determina su síntesis (12,129).

Las mutaciones de acuerdo al modo de herencia son generalmente clasificadas como recesivas ó dominantes. Las mutaciones recesivas son eventos que tienen manifestación sólo cuando están en dosis doble (homocigosis); esto es, sólo se manifiesta cuando ambos miembros de un par cromosómico son portadores del gen mutante (12). La homocistinuria, otro error innato del metabolismo, es una condición causada también por una deficiencia enzimática de cistationina β-sintetasa proveniente de mutaciones en el gen codificador, lo cual provoca un -

El incremento en el plasma de homocisteína (173).

La porfiria en el hombre es también una enfermedad transmitida como un rasgo recesivo; causada por una deficiencia en uroporfirinógeno, en una familia con esta enfermedad se identificó que el problema es causado por una rápida degradación de la enzima, causado a su vez por una mutación en el gen estructural que induce el reemplazamiento de un residuo de glicina por ácido glutámico en la posición número 251 de la enzima (40).

Las mutaciones dominantes son aquellas que se expresan fenotípicamente aún cuando una sola copia del gen mutante está presente en uno de los miembros del par cromosómico; por tanto, cada individuo portador del gen defectuoso manifiesta el rasgo. Un caso típico de mutación heredada de una forma dominante, lo constituye la enfermedad de Huntington (corea de Huntington) cuya máxima expresión ocurre en el sistema nervioso central provocando la aparición de demencia progresiva e incoordinación motora (corea); lo dramático de la enfermedad, es que no presenta marcadores presintomáticos y su aparición ocurre en la edad adulta; cuando el enfermo ya ha transmitido la mutación a la progenie (31,73). Los pacientes afectados observan pérdida neuronal y disminución en el nivel de neurotransmisores debido a una mutación génica; aunque no ha sido posible localizar el locus génico mutante, recientes estudios en familias afectadas se les ha encontrado que sufren translocaciones que involucran al cromosoma número 4, por lo que se le ha asignado a este cromosoma el locus génico responsable de la enfermedad (73,58). Otra enfermedad genética diferente de la anterior en cuanto al cuadro clínico, pero también causada por mutaciones, es la inmunodeficiencia causada por una mutación en el gen adenosina desaminasa (ADA), la cual provoca deficiencias en esta enzima (ADA) y déficits inmunitarios que causan en los niños afectados

gran susceptibilidad a infecciones; hecho por el cual tienen que ser recluidos en recintos estériles (12). En estas enfermedades se ha también encontrado como factores causales, mutaciones de punto; en algunos casos, dos mutaciones son responsables de la deficiencia enzimática (163), específicamente sustituciones de aminoácidos en la posición 80 (Lys a Arg) y 304 (Leu a Arg) de la enzima; y en uno más una sola mutación a nivel del codón 101 (CCG a CAG) da lugar a un cambio de arginina a glutamina (18) lo cual basta para producir una enzima defectuosa.

IV.2. Activación de Oncogenes

Ciertos agentes físicos, químicos y biológicos han sido identificados como carcinógenos en humanos (44), estos agentes pueden actuar en órganos específicos o en múltiples sitios; por ejemplo, la luz ultravioleta del sol puede causar melanomas oculares y cáncer en zonas expuestas de la piel, e igualmente puede inducir leucemias, sarcomas y carcinomas en múltiples sitios (160). Con respecto a compuestos químicos, se conocen sin lugar a dudas muchos de ellos que inducen cáncer en humanos y animales de laboratorio (19,59).

Las primeras investigaciones sobre oncogenes celulares comenzaron por descifrar cómo son controlados los rasgos expresados por una célula cancerosa; tales rasgos podrían ser controlados por genes específicos en la célula y que lógicamente implica a la molécula de ADN; ó su control podría deberse a mecanismos regulatorios no genéticos, por medio de proteínas regulatorias que controlan la expresión génica (20). Los estudios de compuestos carcinógenos indican que su carcinogenicidad depende directamente de su capacidad para mutar el aparato genético de las células blanco (106), además las anomalías cromosomales encontradas en el cariotipo de células tumorales -

evidencian la importancia de los mecanismos genéticos (177).

Una estrategia para diferenciar los mecanismos genéticos de los no genéticos surgió del uso de un procedimiento conocido como transferencia génica o transfección. Este procedimiento fué usado para probar si el fenotipo de una célula cancerosa está codificado en su ADN; e implica el aislamiento de moléculas de ADN de células de ratón que han sido neoplásicamente transformadas por el carcinógeno 3-metilcolantreno. Este ADN fué luego introducido en células normales, algunas de las cuales fueron transformadas como lo indicó su desarrollo maligno en cultivo y en ratones que fueron inyectados con las células (174). Este experimento demostró que la información para el fenotipo canceroso es transferido de una célula a otra mediante ADN desnudo y estableció que las bases del fenotipo canceroso de las células transformadas fué genético (153).

IV.2.a. Proto-oncogenes

Sólo una pequeña parte de los 50 000 ó más genes en el genoma humano pueden ser llamados proto-oncogenes, un término que implica un gen celular normal tiene la capacidad para expresar actividad oncogénica por interacción entre el gen y ciertos agentes con poder cancerígeno, convirtiéndose de esta manera en un oncogen (20). Genes muy íntimamente relacionados a oncogenes humanos son portados por todos los vertebrados y especies tan lejanamente relacionados a humanos como *D. melanogaster* y las levaduras. La conservación de estos genes através de grandes intervalos filogenéticos indica que la información que ellos portan es tan importante, que no puede ser alterada por los procesos evolutivos que cambian a la mayoría de los genes (60,74), y que según estudios actuales, tal información es indispensable para la fisiología celular normal.

IV.2.b. Activación de oncogenes

A. Activación retroviral: Un mínimo de 20 proto-oncogenes celulares distintos han sido aislados e identificados debido a su asociación con retrovirus. Un ejemplo típico de estos virus, es el virus del sarcoma de Rous, cuyo genoma porta el oncogen src, que transfiere a las células que el virus infecta, el mecanismo de activación es debido a que en el curso de la infección, el virus puede atrapar un proto-oncogen de la célula infectada y activarlo por incorporación dentro del genoma viral, en algunas ocasiones ocurren rearranglos secuenciales que permiten a la progenie viral salir de la célula con una copia del ARN oncogénico empotrado en su genoma viral; estas nuevas partículas pueden entonces introducir el oncogen activado dentro de otra célula (20,174). Otro proto-oncogen, myc se ha encontrado activado en pollos por retrovirus que no contienen el oncogen, pero insertan su genoma viral cerca de myc desregulando su expresión actuando como una inserción promotora (75). Sin embargo, este mismo oncogen está activado en malignidades hematopoyéticas en humanos; pero no hay evidencia de que ellos sean activados por factores virales por tanto su activación debe provenir de factores no virales.

B. Activación no viral: Como todos los demás genes, los proto-oncogenes constan de una región reguladora y una estructural, la primera regula la expresión génica de acuerdo a estímulos fisiológicos, mientras que la segunda codifica la secuencia de aminoácidos en la proteína. Se ha encontrado que mutaciones en ambas regiones pueden crear un oncogen activo (113); por tanto, la activación no viral está dada por mutaciones estructurales (i) y mutaciones regulatorias (ii).

i) Mutaciones estructurales.

Estos cambios ocurren generalmente por mutaciones puntuales vía sustituciones de bases que afectan la secuencia aminoacídica de la -

proteína codificada por el proto-oncogen y que la convierten a estructura y función aberrante. Un ejemplo bien caracterizado lo constituyen los oncogenes ras en leucemia mieloblástica aguda, en los cuales se detecta que su potencial transformante en células NIH/3T3 es debido a una mutación puntual en el codón GGT correspondiente al aminoácido número 12 que produce el reemplazamiento de glicina por ácido aspártico en la proteína producida por el gen (61). Otros oncogenes del tipo N-ras tienden a tener reemplazamientos que afectan el residuo aminoacídico 61 de la proteína en leucemias (21) y sarcomas humanos, descubriéndose en este último caso que la mutación afecta al codón CAA mutándolo al codón CAT y reemplazando al aminoácido glutamina por histidina (32). Estos sitios de reemplazamiento (12 y 61) proporcionan evidencia de ser sitios críticos y preferenciales para la activación oncogénica N-ras. Las mutaciones de punto dentro del gen myc pueden también contribuir a aumentar el potencial transformante, alterando también la estructura de la proteína C-myc como se ha encontrado en linfomas de Burkitt; la mutación ocurre en el residuo de treonina de la proteína C-myc (130). Está actualmente bien establecido que estas mutaciones y además rearrreglos del ADN contribuyen a la activación oncogénica que en conjunto desregulan la expresión del gen C-myc en estas neoplasias malignas (130,131,154).

ii) Mutaciones regulatorias.

En estos casos, los cambios que llevan a la tumorigénesis no involucran mutaciones de punto; sino que están implicados grandes rearrreglos del ADN que afectan la cantidad de la proteína codificada por el oncogen (33,85,88). Uno de los más bien documentados cambios de este tipo en humanos es una translocación cromosómica que afecta al segmento regulatorio del proto-oncogen myc, dicho segmento se rompe y es reemplazado por un segmento regulatorio derivado de un gen -

inmunoglobulínico (103), en esta translocación, el gen reestructurado especifica una proteína normal, pero sus cantidades no están apropiadamente reguladas. Un caso muy semejante ocurre en el linfoma de Burkitt, en donde el oncogen c-myc está involucrado en una translocación con loci de inmunoglobulinas en un 100% de los casos. El gen c-myc yuxtapuesto a estos loci inmunoglobulínicos es desregulado por elementos genéticos de los genes de inmunoglobulina y es transcrito a niveles altos (34).

Un mecanismo un poco distinto que lleva también a cambios regulatorios, es la amplificación oncogénica, en la cual se observan múltiples copias de oncogenes en lugar de las dos copias normales que poseen los cromosomas; esto provoca consecuentemente un incremento en los transcritos ARN y proteínas codificadas por el oncogen (175). Este fenómeno se ha observado en carcinomas del colon (176) y en células cancerosas del pulmón (104) en las cuales existen un gran número de copias de los oncogenes c-myb y c-myc respectivamente.

Estas amplificaciones son de gran importancia, ya que el grado de amplificación correlaciona con un estado avanzado de la enfermedad (22) como en casos de retinoblastoma y neuroblastoma que presentan múltiples copias del oncogen n-myc (105,114,161), lo cual redundo en niveles de expresión muy elevados de su proteína.

V. DISCUSION

A través de la revisión del presente trabajo, hemos podido constatar la enorme importancia de las mutaciones en la vida de los seres humanos. Estos eventos son fenómenos físico-químicos de gran diversidad ocasionados por un amplísimo espectro de agentes presentes en nuestro entorno, a partir de trastornos a nivel molecular que en muchos de los casos conducen a cambios fenotípicos que inciden en favor ó en contra de las especies. A su favor implica que en determinado momento la mutación da lugar a una mayor adaptación al medio imperante. Pero por otro lado, la mutación puede ocurrir en genes que juegan un papel importante en el mantenimiento vital de los organismos; en estos casos, el gen mutante será factor causal de diversas patologías, como son los errores innatos del metabolismo y malignidades cancerosas.

Sin embargo, a pesar de los efectos dañinos de todos estos agentes del ambiente sobre el ADN; es importante mencionar que todo organismo vivo posee a su vez mecanismos celulares que promueven conjuntamente la reparación del daño sufrido por el ADN. En efecto, algunas enzimas del ADN continuamente lo exploran buscando en él posibles anomalías en sus bases; cuando esto sucede, las bases anómalas son eliminadas e inmediatamente después son insertadas nuevas bases sin daño. Esta es la reparación del ADN, que atenua en gran medida los efectos dañinos de los agentes mutagénicos.

VI. CONCLUSIONES

Debido al carácter químico y tamaño gigante de la molécula de ADN, esta es muy susceptible de sufrir daño por agentes físicos y químicos que pueden desencadenar el fenómeno mutacional por diversos mecanismos que incluyen principalmente sustituciones y deleciones de bases, lo cual y debido al papel central del ADN en la transmisión de la información, puede tener severas consecuencias para la integridad funcional del organismo.

La mutación es un fenómeno de gran importancia, nos ayuda en la adaptación al medio y nos perjudica causando enfermedades; por tanto es trascendental difundir entre la población su importancia, - así como también concientizar, de que el acelerado aumento de mutágenos en el ambiente (pruebas nucleares, industrialización, etc.) inminentemente aumentará la tasa de mutaciones y por consiguiente aumentará también la aparición de casos de enfermedades genéticas y cánceres, es por ello que deben de existir medidas estrictas de contención con respecto a estos agentes etiológicos.

El presente trabajo engloba amplios aspectos respecto al origen e importancia que las mutaciones tienen en los mecanismos básicos de la vida, y proporciona además amplia bibliografía unificada en este trabajo, de tal manera que puede ser útil y de fácil acceso a las personas interesadas.

VII. BIBLIOGRAFIA

- 1) Allen E.G: Tomás H. Morgan y el nacimiento de la Genética Moderna. Mundo Científico 5:726-733 1985
- 2) Ansay M.A, Hanset H.R: Codyng, synthesis and biological functions of protein molecules. In World Animal Science, volume 8. A.B. Chapman, ed., p.335. Amsterdam:Elsevier 1985
- 3) Anfinsen C.B: The Molecular Basis of Evolution. New York:Jhon Wiley 1963
- 4) Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Watson J.D: Molecular Biology of the Cell. New York:Garland 1983
- 5) Ambrose A.J: The Nature and Origen of the Biological World. New York:John Wiley 1982
- 6) Auerbach C: Mutation Research. London:Chapman 1976
- 7) Averbeck D, Moustacchi B: Induction of cytoplasmic "petite" mutation. Mutat Res 68:133-138 1980
- 8) Avers C: Genetics. New York:Educational Publishing 1980
- 9) Aida M, Yamane K, Nagata C: An explanation of the induction of mutations by 2-aminopurine. Mutat Res 137:44-54 1986
- 10) Akiyama M, Hariuchi T: Molecular cloning and nucleotide sequence of the mut T mutator of E.coli that causes A=T to C=G transversion. Mol Gen Genet 206:9-16 1987
- 11) Antonarakis S.B, Orkin S.H: B-thalassemia in american blacks novel mutations in the TATA box. Proc Natl Acad Sci USA 81: 1154-1158 1984
- 12) Anderson M.F: El tratamiento de las enfermedades genéticas. Mundo Científico 6:620-630 1985
- 13) Berry J.L, King R.A: Familial neurofibromatosis resulting from a probable germinal mutation. Am J Hum Genet 36:44-45 1984

- 14) Barry J.M: Molecular Biology. New Jersey:Prentice Hall 1964
- 15) Brandensburger A, Godsen G. N: tRNA, supression, and the code (missense supression and frameshifting). Ann Rev Genet 19:57-80 1985
- 16) Boehm C.D, Dowling P.G: Use of oligonucleotide hybridization in the characterization of a B⁰-thalassemia gene in a saudiarabian family. Blood 67:1185-1188 1986
- 17) Becker P.E: Dominant autosomal muscular distrophy with early contractures. Human Genetics 74:184-186 1986
- 18) Bantrom D.T, Markham A.F: Identification of a point mutation in the adenosine deaminase gene responsible for immunodeficiency. J Clin Invest 76:894-897 1985
- 19) Blumberg B.S, London W.T: Hepatitis B virus and the prevention of primary cancer of the liver. J N C I 74:267-270 1985
- 20) Bishop J.M: Cellular oncogenes and retroviruses. Ann Rev Biochem 52:301-354 1983
- 21) Bas J.L: Aminoacid substitution at codon 13 of the N-ras oncogene in human acute myeloid leukaemia. Nature 315:726-730 1985
- 22) Brodeur G.M, Seeger R.C, et al: Amplification of a N-myc in untrated human neuroblastomas correlates with advanced disease stage. Science 224:1121-1123 1984
- 23) Crow J.F: Transmission genetics. In World Animal Science, volume 8. A.B. Chapman ed., p.6. Amsterdam:Elsevier 1985
- 24) Crow J.F: Genetics at the level individual. In World Animal Science volume 8. A.B. Chapman ed., p.16. Amsterdam:Elsevier 1985
- 25) Campbell N.P: Biochemistry Illustrated. London:Churchill Livingstone 1982
- 26) Cavalli-Sforza L: Elements of human Genetics. Second edition Menlo Park:Benjamin 1977

- 27) Chun E.H: Difference in the in vivo alkylation and cross linking of nitrogen mustard-sensitive and resistant lines of Litte-Erllich ascite tumors. *Cancer Res* 29:1184-1194 1969
- 28) Chetsanga C.J, Lozon M: Purification and characterization of E.coli formamidopyrimidine-DNA glycosylase that excise damaged 7-methyl guanine from deoxyribonucleic acid. *Biochemistry* 20:5201-5207 1981
- 29) Chang J.C, Kan Y.W: A sensitive new prenatal test for sickle-cell anemia. *N Engl J Med* 307:30-35 1983
- 30) Corner B.J, Reyes A.A: Detection of sickle cell B-globin allele by hibrydization with syntetic oligonucleotide. *Proc Natl Acad Sci USA* 80:278-282 1983
- 31) Conneally A.P: Huntington Disease: Genetics and epidemiology. *Am J Hum Genet* 36:506-526 1984
- 32) Chardin P, Yeramian P, Madaule P: N-ras gene activation in the RD Rhabdomyosarcoma cell line. *Int J Cancer* 35:647-652 1985
- 33) Croce C.M, Nowell P.C: Molecular basis of human B cell neoplasia. *Blood* 65:1-4 1985
- 34) Croce C.M: Role of chromosome translocations in human neoplasia. *Cell* 49:155-156 1987
- 35) Darnell E.J: RNA. *Scientific American* 253:68-78 1985
- 36) Dowdeswell W.H: *Evolution*. London:Heinneman 1984
- 37) Drake W.J: *The Molecular Basis of Mutation*. San Francisco:Holden Day 1970
- 38) Duncan B.K, Miller J: Mutagenic deamination of cytosine residues in DNA. *Nature* 287:560-561 1980
- 39) Dobkin C, Pergolizzi R.G, Bank A: Abnormal splice human B-globin gene not at the site of a mutation. *Proc Natl Acad Sci USA* 80: 1184-1188 1983

- 40) De Verneuil H, Grandchamp E: Uroporphyrinogen descarboxilase structural mutant (Gly to Glu) in a cause of porphyria. *Science* 234:732-735 1986
- 41) Evans D.M, et al: Increased neurovirulence associated with a single nucleotide change in a noncoding region of the Sabin type 3 poliovaccine genome. *Nature* 314:546-550 1985
- 42) Everson R.B, Randerath E: Detection of smoking-related covalent DNA adducts in human placenta. *Science* 231:54-56 1986
- 43) Eisenstadt E, Warren A.J: Carcinogenic epoxides of Benzo(a) pyrene induce base substitutions via specific transversions. *Proc Natl Acad Sci USA* 79:1945-1949 1982
- 44) Encyclopaedia Britannica: The new encyclopaedia britannica. Volume 26, 15th edition. Chicago:Encyclopaedia Britannica 1985
- 45) Felsenfield G:DNA. *Scientific American* 253:58-67 1985
- 46) Fletcrick R.J, Schröer R.J: Molecular Structure. London:Blackwell Scientific 1985
- 47) Ford J.M, Monroe J.E: Living Systems. Third edition. San Francisco Canfield Press 1977
- 48) Fox K.E: A feeling for the Organism. San Francisco:Freeman 1983
- 49) Fristrom J.W, Spieth P.T: Principles of Genetics. New York:Chiron Press 1980
- 50) Foster P.L, Eisenstadt E: Base substitution mutation induced by metabolically activated aflatoxina B. *Proc Natl Acad Sci USA* 80: 2695-2698 1983
- 51) Fukumaki Y: Gene analysis in thalassemia deffects of B-thalassemia *Acta Haematol* 48:1982-1992 1982
- 52) Gilden R.V, Rice N: Oncogenes. *Gene Anal Techn* 1:23-33 1984
- 53) Goodenough U: Genetics. Second edition. Philadelphia:Saunders College 1978

- 54) Grobstein C: La Estrategia de la Vida. Madrid:H.Blume 1973
- 55) Galas D.J, Branscomb E.W: Enzymatic determinants of DNA polymerase Theory of coli-phage T4 polymerase mechanisms. J Mol Biol 124: 653-687 1978
- 56) Goodman M.F: Studies on the biochemical basis of spontaneous mutations.Rate model for DNAPolymerase-effected nucleotide misincorporation. J Mol Biol 88:423-429 1984
- 57) GoldsmithM.E, Humphries R.K: "Silent" nucleotide substitution in a B-thalassemia globin gene activates splice site in a coding sequence RNA. Proc Natl Acad Sci USA 80:2318-2322 1983
- 58) Gusella J.F, Wexler N.S, Conneally P: A polymorphic DNA marker genetically linked to Huntington Disease. Nature 306:234-236 1983
- 59) Gallo R.C, Sala Huddin S: Frequent detection and isolation of cytophatic retrovirus from patients with aids risk for AIDS. Science 224:500-505 1984
- 60) Gallwitz D, Donath T: A yeast gene encoding a protein homologous to the human c-Ha-ras proto-oncogen product. Nature 306:704-707 1983
- 61) Gambke C, Hall A: Activation of an N-ras gene in acute myeloblastic through somatic mutation in the first exon. Proc Natl Acad Sci USA 82:879-882 1985
- 62) Hathkiss D.R, Weiss B: La transformación bacteriana. En Facetas de la Genetica. p.4. Madrid:H.Blume 1978
- 63) Helene C: Las estructuras del ADN. Mundo Científico 4:742-754 1984
- 64) Hansen E: Understanding evolution. Oxford:University Press 1981
- 65) Herzkowitz I: Principles of Genetics. Second edition. New York: McMillan 1977
- 66) Hauser J, Levin S, Dixon K: Unique pater of point mutation arising gene into mammalian cells. B M B O J 6:63-67 1987

- 67) Hecht M, Saurer R: Phage lambda repression revertants. Aminoacid substitutions that restore activity to mutant proteins. *J Mol Biol* 186:53-63 1985
- 68) Hamsey S, Cullen B: Radiation injury in mouse lung:dependence an oxygen levels in the inspired gas. *Int J Radiat Biol* 50:471-476 1986
- 69) Harm W: Biological effects of ultraviolet radiation. Cambridge: University Press 1980
- 70) Herst J: Hemoglobin Iwate is caused by a C--T transition in a codon 87 of the human globin gene. *Human Genetics* 75:53-55 1987
- 71) Hohenboken D: Inheritance associated with sex. In *World Animal Science*. Volume 8. A.E. Chapman ed., p.30. Amsterdam:Elsevier 1985
- 72) Hasson H, Leonardi A: Hemophilia B with inhibitor:Molecular analysis of the subtotal deletion of the factor IX gene. *Blood* 66: 728-730 1985
- 73) Hayden M, Jorsman D: Balanced translocation t(4,5)(q21:p25) in a family with Huntington disease. *Am J Hum Genet* 36:54-65 1985
- 74) Hoffman P.M: Oncogenes. *Cell* 35:393-396 1983
- 75) Hayward W, Neel B.G: Activation of a cellular onc gene by promoter insertion in ALV-induced lymphoid leukosis. *Nature* 290:475-480 1981
- 76) Heisterkamp N, Stam K: Structural organization of the bcr gene and its role in Ph' translocation. *Nature* 315:758-760 1985
- 77) Kourilsky P, Gachelin G: La organización de la información genética *Mundo Científico* 4:718-727 1984
- 78) Kornberg A: DNA replication. San Francisco:Freeman 1980
- 79) King R: A dicctionary of genetics. Second edition. New York: Oxford University Press 1974
- 80) Korn W, Korn O: Contemporary perspectives in biology. New York: John Wiley 1971

- 81) Kanonaga J, Knowless J: A simple and efficient method for chemical mutagenesis. *Nucleic Acids Res* 13:1733-1745 1985
- 82) Kunkel T.A: Mutational specificity of depurination. *Proc Natl Acad Sci USA* 81:1494-1498 1984
- 83) Kunkel T, Loeb L: Depurination induced infidelity of deoxyribonucleic acid synthesis. *Biochemistry* 22:2378-2384 1983
- 84) Kittler L, Leber G: Photochemistry of the nucleic acids. *Photochem Photobiol Rev* 2:39-42 1977
- 85) Kan Y, Dozy A: Polymorphism of DNA sequence adjacent to the human B-globin structure gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 75:5631-5638 1978
- 86) Kinniburgh A, et al: mRNA-deficient B-thalassemis results from a single nucleotide deletion. *Nucleic Acids Res* 10:5421-5427 1982
- 87) Kazazian S, Orkin S, Antonaraski S: Molecular characterization of seven B-thalassemia mutations in Asian Indians. *E M B O J* 3: 593-598 1984
- 88) Klein G, Klein E: Evolution of tumors and the impact of molecular oncology. *Nature* 315:190-195 1985
- 89) Lewin B: *Genes*. Second edition. New York:John Wiley 1985
- 90) Lewin R: Repeated DNA still in search of a function. *Science* 217: 621-624 1982
- 91) Lehninger A, L: *Biochemistry*. Second edition. New York:Worth Publishers 1975
- 92) Luria S.E: *Lectures in Biology*. Cambridge:MIT Press 1975
- 93) Loeb L, Kunkel T: Fidelity of DNA synthesis. *Ann Rev Biochem* 52: 429-433 1981
- 94) Lindahl T: Glycosylases, endonucleases for apurinic/apyrimidinic sites and bases excision repair. *Prog Nucleic Acids Res Mol Biol* 22:135-139 1979

- 95) Lindalt T, Nyberg B: Rate of depurination of native deoxyribonucleic acid. *Biochemistry* 11:3610-3615 1982
- 96) Loeb L: Apurinic sites as mutagenic intermediates. *Cell* 40: 483-484 1985
- 97) Lindalt T: DNA repair enzymes. *Ann Rev Biochem* 51:61-65 1982
- 98) Loeb L, Bradley D: Mutagenesis by apurinic/apyrimidinic sites. *Ann Rev Genet* 20:201-230 1986
- 99) Leng M, Sage E: DNA chemically modified by N-acetoxy-N-2 acetylaminofluorene. In *Chromosome Damage and Repair*, R. Seeberg and K. Kleppe eds., p.31. New York:Plenum 1982
- 100) Lewin W: Properties of the liver microsomal monooxygenases system and epoxide hydrase. In *origins of human cancer*. H.H. Hiatt and J.D. Watson eds., p.659. New York: Cold Spring Harbor 1977
- 101) Loechler E, King J: Identification of the 9-aminoacridine/DNA complex responsible for inactivation of P22. *Biochemistry* 25: 5858-5864 1986
- 102) Ley T, Anagnou N: RNA processing errors in patients with B-thalassaemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 79:4775-4779 1983
- 103) Leder P, Lenoir G: Translocation of c-myc into the immunoglobulin heavy-chain locus in human acute B-cell leukaemia. A molecular analysis. *E M B O J* 5:905-911 1986
- 104) Little C, Nau M: Amplification and expression of the c-myc oncogene in human lung cancer cell line. *Nature* 306:194-196 1983
- 105) Lee W, Murphree A: Expression and amplification of the N-myc gene in retinoblastoma. *Nature* 309:458-460 1984
- 106) McCann J, Ames B: Detections of carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome test. *Proc Natl Acad Sci USA* 73:950-955 1976
- 107) Moore R: *Evolución*. Segunda edición. México:Time Life 1980

- 108) Male R, Kleppe K: Polyamine induced hydrolysis of apurinic sites in DNA. *Nucleic Acids Res* 10:6305-6317 1982
- 109) Miller E: Some current perspectives on chemical carcinogenesis in humans and experimental animals. *Cancer Res* 38:1479-1483 1978
- 110) Martin P: UGA nonsense mutation in the alcohol deshydrogenase gene of *D. Melanogaster*. *J Mol Biol* 184:221-229 1985
- 111) Nei M: Genetic polymorphic and the role of mutation in evolution. In evolution of genes and proteins. M. Neid and K. Richard eds., p. 189. Sunderland:Sinauer 1983
- 112) Nebert D, Negishi M: Multiple forms of inducible drug-metabolizing enzymes. Abstracts:Intrascience symposium-new directions in cancer causation. Santa Monica, Calif. 1980
- 113) Needleman S, Kraus M: High frequency of N-ras activation in acute myelogenous leukemia. *Blood* 67:753-757 1986
- 114) Nau M, Brooks B: Human small-cell lung cancer show of amplification and expression of the N-myc gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 83: 1092-1096 1986
- 115) Orkin S, Little P: Improved detection of the sickle mutation by DNA analysis. *N Eng J Med* 307:32-36 1983
- 116) Orkin S, Kazazian H: Linkage of B-thalassemia mutation and B-globin gene polymorphism with DNA polymorphism in the human B-globin gene cluster. *Nature* 296:627-631 1982
- 117) Orkin S, Sexton J: ATA box transcription mutation in B-thalassemia. *Nucleic Acids Res* 11:4727-4734 1983
- 118) Ojwang P, Huisman T: Gene deletion as the molecular basis for the Kenya condition. *Hemoglobin* 7:115-123 1983
- 119) Pfeiffer J: La Célula. Segunda edición. México:Time Life 1980

- 120) Ptashane A: A genetic switch. Cambridge:Blackwell 1986
- 121) Pirastu M, Kan Y: A distant deletion affects globin gene function in an atypical B-thalassemia. *J Clin Invest* 76:1554-1558 1985
- 122) Quintiliani M: The oxygen effect in radiation inactivation of DNA and enzymes. *Int J Radiat Biol* 50:471-474 1986
- 123) Robert M: *La Biología Contemporánea*. México:UNAM 1983
- 124) Rieger R, Michaelis A: A glossary of genetics. Third edition. New York:Springer 1968
- 125) Radman M, Dohet C: High fidelity devices in the reproduction of DNA. In chromosomes damage and repair. E. Seeberg and K. Kleppe eds., p. 431. New York:Plenum 1981
- 126) Rothwell N: *Understanding Genetics*. Baltimore:Williams 1976
- 127) Ripley L: Influence of diverse gene 43 DNA polymerase on the incorporation and replication in vivo of 2-aminopurine at A=T base-pairs in bacteriophage T4. *J Mol Biol* 150:197-216 1981
- 128) Rees G, Riza C: Hemophilia B caused by a point mutation in a donor splice junction of the human factor IX gene. *Nature* 316:643-645 1985
- 129) Robert O: El diagnóstico prenatal. *Mundo Científico* 5:812-822 1985
- 130) Rabbitts T, Hamlyn P: Effect of somatic mutations within translocated c-myc genes in Burkitt lymphoma. *Nature* 317:434-435 1984
- 131) Rabbitts T: Truncation of exon I from the c-myc gene results in prolonged c-myc mRNA stability. *EMBO J* 4:3727-3731 1985
- 132) Stebbins L, Ayala F: The evolution of darwinism. *Scientific American* 253:72-82 1985

- 133) Slein G: Proteínas cromosómicas y regulación génica. En facetas de la genética. p.160. Madrid:H.Blume 1978
- 134) Stryer L: Biochemistry. Second edition. San Francisco:Freeman 1981
- 135) Shapiro R: Damage to DNA caused by hydrolysis. In chromosome damage and repair. E. Seeberg and K. Kleppe eds., p. 3. New York:Plenum 1981
- 136) Singer E, Kusmiereck J: Chemical mutagenesis. Ann Rev Biochem 52:665-685 1982
- 137) Suzuki D, Griffith R: An introduction to Genetics Analysis. Second edition. San Francisco:Freeman 1981
- 138) Stanfield D.W: Genetics. New York:McGraw-Hill 1969
- 139) Soyfer V: Chemical basis of mutation. In evolutionary biology volume 8. T. Dobzhansky and M.K. Hecht eds., p.125. New York: Plenum 1975
- 140) Scheuerman R, Echals H: A separate editing exonuclease for DNA replication:the subunit E.coli DNA polymerase III haloenzyme. Proc Natl Acad Sci USA 81:7745-7751 1985
- 141) Searle A, Edwards J: The estimation of risks from the induction of recessive mutations after exposure to ionising radiation. J Med Genet 23:220-226 1986
- 142) Sowers L, Shaw B: DNA base modification;ionized base pairs and mutagenesis. Mutat Res 177:201-218 1987
- 143) Shortle D, Bostein D: Directed mutagenesis with sodium bisulfite Methods Enzymol 100:457-459 1983
- 144) Smith M: In vitro mutagenesis. Ann Rev Genet 19:423-462 1985
- 145) Strauss B: Cellular aspects of DNA repair. Adv Cancer Res 45: 45-97 1985
- 146) Sagher D, Strauss B: Insertion of nucleotides opposite apurinic/apyrimidinic sites. Biochemistry 22:4518-4525 1983

- 147) Selkirk J, McLeod M: Species variance in the metabolic activation of polycyclic hidrocarbons. In mechanisms of chemical carcinogenesis. C.C. Harris and P.A. Cerruti eds., p.331. New York: Alan R. Liss 1982
- 148) Salts Y, Ronen A: Neighbor effects in the mutation of ochre triplets in the T4 II gene. *Mutat Res* 13:109-114 1981
- 149) Sarasin A: El cáncer y la reparación del ADN. *Mundo Científico* 1: 724-733 1981
- 150) Scriver C, Clow C: Phenylketonuria: epitome of human biochemical genetics. *N Eng J Med* 307:1336-1341 1983
- 151) Spritz R, Forget B: Molecular mechanisms of human genetics. *Am J Hum Genet* 35:333-361 1983
- 152) Saito P, Tonomura A: High resolution banding study of an X/4 translocation in a females with Duchenne muscular dystrophy. *Human Genetics* 71:370-371 1985
- 153) Shih C, Shilo B: Passage of phenotypes of chemically transformed cells via transfection of DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 76:5714-5718 1979
- 154) Showe L, Ballantine M: Cloning and sequence of a c-myc in a Burkitt's lymphome cell line. *Moll Cell Biol* 5:501-509 1985
- 155) Tavlitzky J: De los guisantes a la genética molecular. *Mundo Científico* 4:702-716 1984
- 156) Tamarin R.H: Principles of Genetics. Boston:Willard Press 1982
- 157) Tanaka K, Kawada N: Leukemogenesis and chromosome aberrations; de novo leukemia in humans. *Acta Haematol Jap* 48:1830-1835 1985
- 158) Teebor G, Frenkel K: The initiation of DNA excision repair. *Adv Cancer Res* 38:23-52 1983
- 159) Treisman R, Orkin S: Specific transcription and RNA aplicing defects in five cloned B-thalassemia genes. *Nature* 302:591-593 1983

- 160) Tucker M, Shields J: Sunlight exposure as risk factor
intraocular melanoma. *N Eng J Med* 303:789-792 1981
- 161) Taya Y, Hosogai K: A novel combination of K-ras and c-myc
amplification accompanied by point mutation activation of K-ras
in human lung cancer. *E M B O J* 3:2943-2946 1984
- 162) Vander S, Vos O: The influence of oxygen on the induction of
radiation damage in mammalian cells after sensitization by
intracellular glutathion depletion. *Int J Radiat Biol* 50:453-458
1986
- 163) Valerio D, Dekker B: One adenosine deaminase allele in a patient
with severe combined deficiency contains a point mutation
abolishing enzyme activation. *E M B O J* 5:113-119 1986
- 164) Weinberg R: The molecules of life. *Scientific American* 253:48-57
1985
- 165) Wilson A: The molecular basis of evolution. *Scientific American*
253:164-173 1985
- 166) Whitehouse H: The mechanisms of heredity. Third edition. London:
Arnold 1973
- 167) Weinberg S: Biology: an injury into the nature of life. Boston:
Allyn and Bacon 1974
- 168) Woodward O, Woodward W: Molecular Genetics. New York:McGraw-Hill
1977
- 169) Ward J: Molecular mechanisms of radiation-induced damage to
nucleic acids. *Adv Rad Biol* 5:181-198 1975
- 170) Watson J.D: Molecular Biology of the gene. Third edition.
Menlo Park:Benjamin 1976
- 171) Walker J: Mutagenesis and inducible responses to deoxyribonucleic
acid damage in E.coli. *Microbiol Rev* 48:60-66 1984
- 172) Weatherall D, Clegg J: The thalassemia syndrome. Boston:
Blackwell 1981

- 173) Wilcken D, Wilcken B: Homocystinuria-effects of betaine in the treatment not responsive to piridoxine. N Eng J Med 309: 448-452 1983
- 174) Weinberg R: Molecular basis of cancer. Scientific American 249: 126-132 1983
- 175) Winter E, Perucho M: Oncogene amplification during tumorigenesis of established rat fibroblasts reversibility transformed by activated human ras oncogenes. Moll Cell Biol 6:2562-2570 1986
- 176) Winvist D, Leprince D: Mapping of amplified c-myb oncogene, sister chromatide exchanges, and karyotypic analysis of the COLO 205 colon carcinoma cell line. Cancer Genet Cytogenet 18:251-256 1985
- 177) Yunis J: The chromosomal basis of human neoplaasia. Science 221: 227-231 1983